REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master

En Biologie

Spécialité : **Microbiologie appliquée**

Présenté par

KOSSEIR Baya, **BOULDOUM** Assia &**HADJERSI** Soumia

Projet fin d'étude

Isolement et sélection des souches d'actinomycètes Productrice d'antibiotiques.

Soutenue publiquement le : 21 /09/2020

Devant le jury composé de :

Président : Mme. BOUMEDIENE. F	MAA	Université de Médéa
Examinateur 1 : Mme. BALKACEM. I	MCB	Université de Médéa
Examinateur 2 : Mr. AINAS. M	MCB	Université de Médéa
Encadreur : Mme. ZERGOUG. A	MCB	Université de Médéa

Année universitaire 2019/2020

REMERCIEMENT

Nous aimerions en premier lieu remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force, la volonté, la patience et le courage durant ces longues années d'étude, pour accomplir ce travail modeste et d'avoir éclairé le chemin de la réussite.

En second lieu, nous remercions chaleureusement notre adorable promotrice Madame ZERGOUG Amina pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail, pour ses orientations, sa patience et sa disponibilité.

Nous remercions Mr NABI pour son aimable fourniture des produits .

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Mme BOUMEDIENE. F, Mme. BALKACEM. I et Mrs AINAS. M .M. Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leur compétence nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Parfois dire merci n'est pas suffisant pour exprimer ce que l'on peut ressentir
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, pour toutes les personnes que j'aime, C'est tout simplement que je dédie ce travail

Mon très cher père,
Aucune dédicace ne saurait exprimer, l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi.
Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

Ma chère mère,

Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mes frères et ma sœurs que dieu vous protège pour moi

Mon cher mari, merci d'être toujours à côté de moi pour m'encourager, par ton amour et ton soutien et à croire que tout cela aurait une fin heureuse.

A toutes la famille Hadjersi ,et Kalache

A ma chère tante zineb

Je n'oublierai certainement pas mes chères amies surtout à Kaouther, Assia et Baya et sa sœur Salima mille merci ,que nous avons passés des moments inoubliables et agréables.

Soumia

Dédicace

C'est avec une profonde émotion que je dédie ce travail :

A mes très chers et magnifiques parents : Fatiha et Hocine Sources de mes joies, secrets de ma force qui m'ont soutenu tout au long de ma vie.

A mes chères sœurs: Zineb, Samah et Miassa.

Sans oublier Lotfi et Mohamed.

A mes deux neveux :Rayan et Amir

A tous mes oncles et tantes (Hamida et Nadjia)

A mon grand-père Ali.

A tous mes cousins et cousines sans exception.

A toute la famille Bouldoum et Boutaghou et ma 2ème famille Chiker

A ma voisine : Malika et ses Enfants.

A Mes collègues : Soumia , Baya et sa sœur Salima.

A toutes mes copines :Kaouther ,Soumia ,Nour ,Ikram,Chaimaa,

Ihssan,Touba,Batoul,Sarah

A tous mes collègues de la promotion 2019/2020. Et A tous ceux que je porte dans mon cœur et je n'ai pas pu citer le nom.

Assia

Dédicace

Je dédie cet humble travail

A la lumière de ma vie **. . .**

Mon Père *et* ***Ma Mère*** *Aucune dédicace, aucun mot, ne saurait exprimer réellement mon profond amour, mon respect et ma vive gratitude, pour votre support permanant durant mon parcours d'étude, veuillez trouver dans ce manuscrit le fruit de toutes vos peines et vos sacrifices.*

A la mémoire de mes grands-pères et ma grande mère Qu'Allah leur accorde son vaste paradis.

A ma grande mère Baya.

A ma chère adorable sœur Salima.

À tous mes oncles et tantes.

A tous mes cousins et cousines sans exception.

À toute la famille KOSSEIR et DJAIFER.

À mes collègues Assia et Soumia, mes copines avec qui j'ai partagé des moments inoubliables.

A mes chères voisines et cousines Nachida , Feriel et Afef.

À mes très chères copines kouather , Chaima , ikram.

À tous mes amis de la promotion Microbiologie 2019/2020 ; Tous ceux qui m'ont aidé et Soutenu.

Baya

Sommaire

LISTE DES TABLEAUX
LISTE DES FIGURES
LISTE DES ABRÉVIATIONS
RÉSUMÉ
ABSTARCT

ملخص

Introduction 1
ChapitreI.Généralités des sols 3
1. Définition 3
2. Les diverses phases du sol 4
2.1. Phase liquide du sol 4
2.2. Phase gazeuse du sol 5
2.3. Phase solide du sol 5
3. Fractions constitutives du sol 6
3.1. Fractions minérales 6
3.2. Fractions organiques 7
4. Propriétés physiques du sol 7
4.1. Structure 7
4.2. Texture 7
5. La microflore du sol 8
5.1. Les bactéries 9
5.2. Les champignons 9
5.3. Les algues 10
5.4. Les protozoaires 10
5.5. Les virus 10
5.6. Les actinomycètes 10
ChapitreII. Généralités sur les actinomycètes 11
1.Historique 11
2.Définition 11
3. Taxonomie 13
3.1. Systématique 13
3.2. Critères actuels d'identifications 13
3.2.1. Morphologiques 13
3.2.2. Chimio-taxonomiques 16
3.2.3. Physiologiques 18

3.2.4. Moléculaires 19
4. Caractéristique culturaux des actinomycètes 19
4.1. Morphologie 19
5. Ecologie 21
5.1. Le sol 21
5.2. L'eau 21
5.3. L'air 22
5.4. Les composts 22
6. Cycle de développement 24
6.1. Formation de mycélium du substrat et du mycélium aérien 24
6.1.1. Mycélium primaire 24
6.1.2. Mycélium secondaire 24
6.2. Les spores 25
6.3. Structures particulières 27
7. Méthodes d'isolement des actinomycètes dit « rares » 27
8. Importance 30
8.1. Les actinomycètes en tant que des microorganismes utiles 30
8.1.1. En agronomie 30
8.1.2. En biotechnologie 30
8.2. Autre rôles 32
8.3. Les Actinomycètes en tant que microorganismes pathogènes et nuisibles 32
ChapitreIII. Production des antibiotiques par les actinomycètes 33
1. Métabolisme des actinomycètes 33
1.1. Métabolisme primaire 33
1.2. Métabolisme secondaire 33
2.Substances bioactives 34
2.1. Les enzymes 34
1.2.Les vitamines 35
2.3. Les pigments 35
2.4. Les bioherbicides 36
2.5. Les agents antitumoraux 36
2.6. Les antifongiques et antiparasitaires 37
2.7. Les antibiotiques 38
2.7.1. Définition 38
2.7.2. Classification des antibiotiques 39
2.7.3. Mode d'action des antibiotiques 41

2.7.4. Extraction et purification des antibiotiques....42
ChapitreIV. Matériel et Méthodes....43
1.L'objectif....43
2.Période et lieu de stage....43
3.Origine du prélèvement des échantillons de sols....43
4. Isolement des actinomycètes....45
4.1. Traitement....45
4.2. Dilution....45
4.3. Les milieux de cultures....45
4.3.1. Milieux de cultures utilisés pour les échantillons de sol non traités :....45
4.3.2. Le milieu de culture utilisé pour le sol traité....45
4.4. Ensemencement....46
5. Repiquage et purification des isolats....47
6. Conservation des souches....47
6.1. Conservation sur gélose pente....48
6.2. Conservation à long terme....48
7. Caractérisation macroscopique et microscopique des isolats....48
7.1. Caractérisations macroscopiques....48
7.2. Observation microscopique....48
7.2.1. Coloration de Gram....48
7.2.2. Culture sur lamelle....49
Chapitre V. Résultats et discussion....50
1.Isolement des souches d'actinomycètes....50
2.Caractérisation macroscopique....53
3. Observation microscopique....59
4. Production d'antibiotique....60
4.1. Méthode des stries croisées....60
4.2. Technique des cylindres d'agar....63
CONCLUSION....66
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE
ANNEXS

Liste Des Tableaux

Tableau 01 : Le nombre du microorganisme du sol sur une profondeur de 0 à15 cm. …..08
Tableau 02 : Caractéristiques chimio-taxonomiques et morphologiques ……...17
des principaux groupes génériques d'actinomycètes.
Tableau 03 :Répartition des actinomycètes dans la nature ……23
Tableau 04 : Principales différences entre les métabolites primaires……..34
et secondaires chez les eucaryotes.
Tableau 05 :classification des antibiotiques selon leur structure chimique……..39
Tableau 06 : Importance relative de groupes microbiens producteurs ……..41
d'antibiotiques.
Tableau 07 :Résultats d'isolement en fonction de milieu de culture ……51
et répartition géographique et traitement avec le CaCo3.
Tableau 08 :Résultats d'isolement en fonction de milieu de Bennett…….52
sans antifongique et sans antibactérien.
Tableau 09 : Caractéristiques des souches d'actinomycètes……..53

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Formation du sol …….03
Figure 02 : Proportion des principaux composants de sol en volume ……04
Figure 03 : Micromorphologie des principaux genres d'actinomycètes……15
Figure 04 : Types de chaines de spores rencontrés chez les espèces de *Streptomyces*…..16
Figure 05 : Apparence d'isolats d'Actinomycètes sur milieu caséine amidon ……..20
Figure 06 : Cycle de développement des actinomycètes ……..24
Figure 07 : Structure d'une endospore actinomycétale……..25
Figure 08 : Types des chaines des endospores chez les actinomycètes…….…26
Figure 09 : Types des chaines des exospores chez différentes……..26
genres d'actinomycètes
Figure 10 : Schéma récapitulatif de l'isolement séléctif des……30
actinomycètes «rares».
Figure 11 : Applications biotechnologiques des actinomycètes……..31
Figure 12 : Pigments diffusibles produits par diverses actinobactéries……36
dans le milieu amidon-caséine agar
Figure 13 : Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes…….37
Figure 14 : Age d'or de la découverte des antibiotiques ……..38
Figure 15 : Principales cibles et modes d'action des antibiotiques ……....40
Figure 16 : Exemple de Protocol générale de purification des antibiotiques……42
Figure 17 : Carte géographique des sites du prélèvement…….43
des échantillons région de Médéa .
Figure 18 : Les zones de prélèvement ……..44
Figure 19 : Les points des prélèvements des échantillons……46
Figure 20 : Les étapes suivies pour l'isolement d'actinomycètes…….46
à partir d'échantillons de sol
Figure21 :Technique de culture sur lamelle……49
Figure 22 : Nombre d'isolats d'actinomycètes obtenus en fonction des trois……..…52
milieux de culture sélectifs utilisés pour les sols traités et non traités.
Figure 23 : Actinomycètes isolés des échantillons traités sans ……..…54
antifongique sur milieu Bennet.prise personnelle.2020.
Figure 24 : Actinomycètes isolés des échantillons no traités sans ……54
antifongique sur milieux Bennet et Yega. Prise personnelle, 2020.
Figure 25 : Actinomycètes isolés des échantillons avec l'antifongique ……55
sur milieux et Yega. Prise personnelle, 2020.
Figure 26 : Résultats de purification des Actinomycètes…….....56
sur milieu Yega .Prise personnelle, 2020.
Figure 27 : observation microscopique de culture sur lamelle des actinomycètes……..59
Figure 28 : Coloration de Gram des souches d'actinomycètes isolés…….59
Figure 29 : Activité antibactérienne de quelques isolats d'actinomycètes vis-à…….61
-vis les bactéries pathogènes testées par la technique des stries croisées
Figure 30: Activité antibactérienne par la technique des cylindres d'agar……63

LISTE DES ABREVIATIONS

MO : matière organique.
HAP : hydrocarbures aromatique polycyclique.
ISP : International *Streptomyces* Project (milieu de culture).
MA : mycélium aérien.
MS : mycélium du substrat.
ADN_r : acide désoxyribonucléique ribosomique.
g: gramme.
CMI : concentration minimale inhibitrice.
SDS : Sodium Dodecyl Sulfate.
ARN_r : L'acide ribonucléique ribosomique.
Aw : activité d'eau.
°C : degré Celsius.
PH: Potentiel d'hydrogène.
PCR : Polymerase Chain reaction.
% : pourcent.
µm : micromètre.
UFC/ml : unités format colonies pal millilitre.
Nacl : Chlorure de sodium.
m : mètre**.**
cm : centimètre.
cm^3/h : centimètre cube par heure**.**
l : litre.
mn : minut**e.**
YEGA : yeast extract glucose agar (milieu de culture).
DO : densité optique.
UV : ultra-violet.
V : volume.
λ :longueur d'onde .
$CaCO_3$: carbonate de calcium .

RESUME

La résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses justifient l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. L'objectif de ce travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et le criblage des actinomycètes capables de synthétiser des substances antibactériennes. Pour cela, soixante isolats ont fait l'objet de cette étude.

L'isolement des souches d'actinomycètes a été fait en utilisant des échantillons de sol provenant de différentes régions de la wilaya de Médéa par deux méthodes : en 1er lieu tous les échantillons de sol provenant de Tamezguida et Ktitten n'ont pas subies de traitement (méthodes classiques), en 2eme lieu l'échantillon de sol provenant de Ktitten a subi un traitement chimique au $CaCO_3$.

L'étude des caractères morphologiques après observation macroscopique a montré que la majorité des colonies sont petites, régulières ou non, aplaties ou bombées, pigmentées, sporulées et poudreuses avec une odeur terreuse. Après coloration simple et coloration de Gram l'observation microscopique a montré que les isolats sont formés de filaments, ramifiés et de coloration de Gram positive.

Mots clés : **Actinomycètes, sol, isolement, Médéa, antibiotiques.**

ABSTRACT

The bacterial resistance to antibiotics and the emergence of new infectious diseases justify the emergency of having new antimicrobial molecules. The objective of this studies researching and screening actinomycetes able to synthesize antibacterial substances. For this, sixteen isolates were the subject of this.

The isolation of actinomycetes strains was done using soil samples from the region of Medea by two methods: in the first place the soil samples resulting from Tamezguida, and Ktitten have not undergone treatment (conventional methods); in 2 nd place soil samples resulting from Ktitten have undergone a chemical treatment with $CaCO_3$.

The study of morphological characters after macroscopic observation has shown that the majority of the colonies are small, regular or irregular, flattened or bulging, pigmented, sporulated and powdery with an earthy odor. After simple staining and Gram staining, microscopic observation showed that the isolates are filamentous, branched and Gram positive.

Keywords: Actinomycetes, soil, isolation, Medea, antibiotics.

ملخص

ان المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية وظهور أمراض معدية جديدة تبرر الحاجة الملحة إلى جزيئات جديدة من مضادات الميكروبات. الهدف من هذا العمل هو البحث وفرز الأكتينوميسات القادرة على تصنيع المواد المضادة للبكتيريا. لأجل هذا,ستين عزلة كانت الهدف في هذه الدراسة.

تم عزل سلالات الأكتينوميسات باستخدام عينات من التربة من مناطق مختلفة من ولاية المدية بطريقتين: أولاً جميع عينات التربة القادمة من تمزقيدة و قطيطن لم تتم معالجتها (طرق تقليدية) ، ثانيًا ، خضعت عينة التربة القادمة من قطيطن إلى معالجة كيميائية باستخدام$CaCO_3$.

أظهرت دراسة الصفات المورفولوجية بعد الملاحظة العيانية أن غالبية المستعمرات صغيرة ، منتظمة أو غير منتظمة ، مفلطحة أو منتفخة ، مصطبغة ، مبوغة ومسحوقية برائحة ترابية. بعد التلوين البسيط وتلوين جرام, أظهرت الملاحظة المجهرية أن العزلات خيطية ومتفرعة وموجبة الجرام.

الكلمات المفتاحية :الاكتينوميسات ,التربة, عزل ,المدية , مضادات حيوية.

INTRODUCTION

Introduction

Les sols présentent une grande diversité en terme de composition chimique mais également biologique ; Le nombre important des microorganismes du sol constituent la biodiversité de l'écosystème terrestre. Cette biodiversité microbienne reste encore mal connue et inexploité. Elle est essentiellement constituée par les bactéries et les champignons. Dans un gramme de sol il existe une multitude de cellules microbiennes actives dont plus de10^8/g. **(Moreaux, 1973 ; Raoul, 2013 ; Hoorman et Islam, 2010)**, Parmi ces microorganismes on trouve les actinomycètes qui sont des bactéries à Gram positif à majorité filamenteuses, saprophytes, omniprésentes dans presque tous les milieux même ceux où la vie est extrêmement hostile **(Goodfellow et William, 1983 ; Okami et Hotta, 1988)**. L'abondance et l'activité des actinomycètes dans le sol sont influencés par plusieurs facteurs, la disponibilité des nutriments, la nature et l'abondance de la matière organique, la salinité, la teneur en humidité relative, la température, le pH et la végétation du sol.

Les sols d'Algérie bien que soumis à un climat aride à subhumide, montrent une biodiversité surprenante d'actinomycètes rencontrés sur tous les substrats naturels et jouent un rôle dans la décomposition des matériaux biologiques et dans le processus d'humification **(Larpent et Sanglier, 1989)**. Ils représentent la principale source naturelle de métabolites anti cellulaires **(Higashide, 1984)** et les plus utilisés en biotechnologie grâce à leurs métabolites secondaires (antimicrobiens) ; très importantes sur le plan thérapeutique **(Masand et Menghani, 2015)** et commercial comme l'industrie, l'agriculture et les sciences vétérinaire **(Oskay *et al*., 2004, George et *al*., 2012)**.

Le genre *Streptomyces* est très répandu dans le sol où il représente souvent 70 à 90% des actinomycètes. Leur densité augmente dans les sols alcalins et décroit dans les sols submergés **(Goodfellow et williams, 1983)**. Leur présence dans les sols est très importante en raison de leur aptitude à dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons **(Crawford, 1993)**, et à produire des substances prébiotiques et antibiotiques **(Kieser *et al*., 2000).**

A l'heure actuelle, les problèmes de la résistance aux antibiotiques et la sensibilité des patients associer à l'incapacité de contrôler certaines maladies infectieuses ont conduit à la

recherche continue de nouveaux antibiotiques et d'autres substances bioactives, à fin de combattre les organismes résistants parfois à plusieurs antibiotiques. De nombreuses recherches se sont orientées vers le criblage de nouvelles souches productrices d'antibiotiques. Parmi ceux-ci, les Actinomycètes**.** Les actinomycètes, surtout celles qui ont une structure mycélienne sont réputées pour la production d'antibiotiques **(Solecka et *al*., 2012)** en particuliers le genre *Streptomyces* qui produit jusqu'à 75 % des antibiotiques connus à l'heure actuelle **(Alliouch, 2014)**. D'autres molécules bioactives sont également sécrétées par les actinomycètes telles que, les enzymes, les vitamines, les immunosuppresseurs, les insecticides, les herbicides **(Genilloud et *al*., 2012)**.

Les actinomycètes représentent une source biologique utile d'antimicrobiens contre des mycètes et des bactéries pathogènes. En effet environ 70% des molécules actives sont d'origine microbienne **(Okami et Hotta., 1988).**

La présente étude a été réalisée afin de mettre en évidence des souches d'actinomycètes qui ont une activité antibactérienne et l'extraction de ces molécules bioactives.

Pour cela, notre travail est structuré en deux parties essentielles à savoir :

- Une synthèse bibliographique portant sur les généralités des sols et des Actinomycètes.
- Une partie expérimentale dont la méthodologie et protocoles détaillée du travail, le second est consacré aux résultats obtenus et discussion.
- Enfin, nous présentons une conclusion et des perspectives.

CHAPITRE I : GENERALITES DES SOLS

I. Généralités des sols

1. Définition

Les sols sont des systèmes multiphasiques complexes et hétérogènes, composés d'air, d'eau et de particules solides (sable, limon, argile, matière organique (MO), nutriments …etc.). En outre, les sols sont des médias ouverts et dynamiques, échangeant de la matière et de l'énergie avec l'atmosphère, la biosphère et l'hydrosphère **(Sposito, 1997).** Selon **Nortcliff**, **(2002),** ils doivent avoir cinq fonctions principales :

- Offrir un habitat physique, chimique et biologique pour les organismes vivants.
- Réguler les flux d'eau, le stockage et le recyclage des cycles des nutriments et d'autres éléments.
- Maintenir les activités et les diversités biologiques pour subvenir à la croissance des plantes et la productivité des animaux.
- Filtrer, tamponner, transformer, immobiliser et détoxifier les substances organiques et inorganiques.
- Fournir un support mécanique aux organismes vivants et à leurs structures.

D'après **Duchaufour**, **(1984)** et **Boulaine**, **(1989),** l'épaisseur du sol peut varie de quelques centimètres à plusieurs mètres. Il résulte de plusieurs facteurs au cours du temps, comme la transformation de la roche-mère sur laquelle il s'est développé, des facteurs environnementaux tels que le climat, le relief et la végétation (Fig. 01).

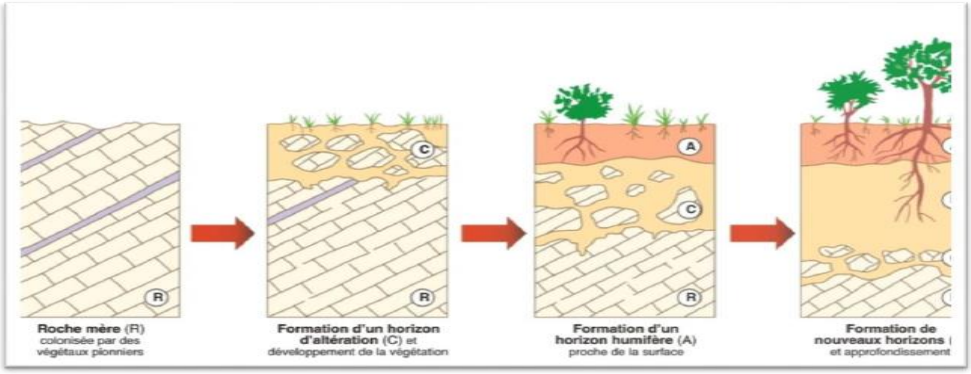


Figure 01 : Formation du sol (Brady et *al.*,2002).

2. Les diverses phases du sol

Le sol est de trois phases composées, la phase solide (minérale et organique), la phase liquide et la phase gazeuse (Fig. 02) **(White, 2006).**

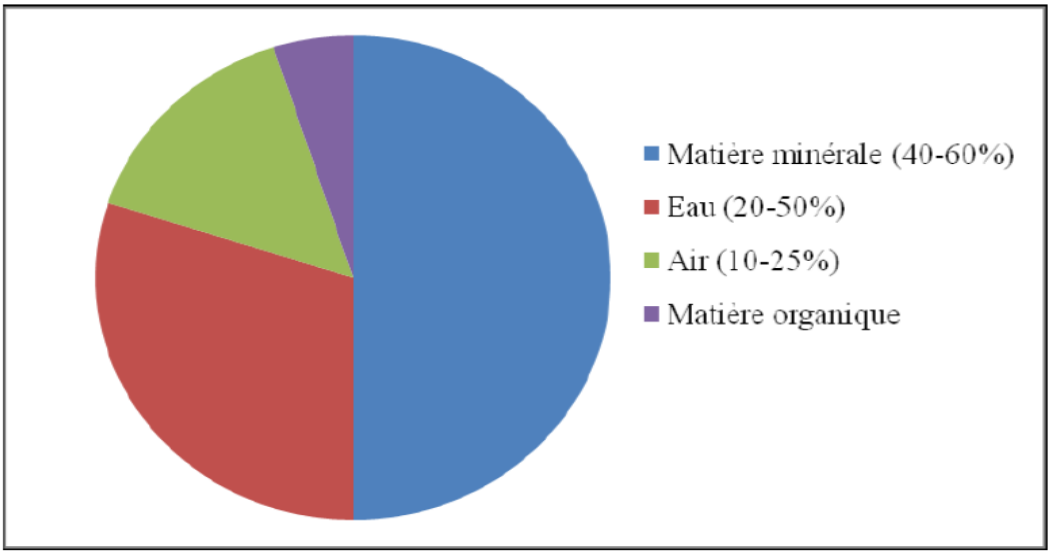


Figure 02 : Proportion des principaux composants de sol en volume (White, 2006).

2.1. Phase liquide du sol

La phase liquide du sol est souvent désignée par le terme « solution du sol », occupe une partie de la porosité du sol, est constituée d'eau où se trouvent diverses substances organiques et minérales dissoutes et des particules en suspension **(Duchaufour, 1984).** La composition de la solution du sol varie selon :

- Le climat.
- Les apports anthropiques (fertilisants, produits de traitement phytosanitaire etc.).
- L'activité biologique du sol (exsudats racinaires, produits de synthèse et de dégradation microbienne etc.).

2.2. Phase gazeuse du sol

D'après **Calvet (2003),** dans un sol bien aéré, les gaz qui règnent dans l'atmosphère du sol sont :

- L'azote (78 à 80%).
- L'oxygène (18 à 20%).
- Le dioxyde de carbone (0,2 à 3%).

D'autres molécules gazeuses d'origine anthropique telles que les pesticides ou les HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques) peuvent également être détectées dans l'atmosphère du sol. Ces gaz peuvent exister dans le sol soit à l'état libre ou dissous dans la solution du sol.

La composition de cette phase est déterminée par :

- Les échanges avec l'atmosphère par diffusion moléculaire couplée à la volatilisation et à sa dissolution.
- La respiration des organismes vivants.
- Les échanges avec la solution du sol.
- Les apports de diverses substances organiques volatiles, qu'ils soient volontairement (les traitements avec des pesticides gazeux) ou accidentels (dépôts de déchets industriels incontrôlés)

Cependant, dans certaines conditions ; la phase gazeuse peut être absente. Tout l'espace poral du sol est occupé par l'eau et le sol (sol saturé) **(Duchaufour, 1984 ; Hillel, 1982 ; Calvet, 2003).**

2.3. Phase solide du sol

Calvet (2003), rapporte dans ses travaux que la phase solide du sol est en totalité minérale et elle comprend :

- Éléments grossiers : Ce sont des éléments > 2 mm et on les classe par dimensions (0,2 à 2 cm graviers ; 2 à 5 cm cailloux ; 5 à 20 cm pierres ; > 20 cm blocs.).
- Terre fine : C'est la fraction de terre qu'il reste lorsqu'on retire les éléments grossiers (donc < 2 mm, au tamis). On peut classer les éléments de la terre fine par dimensions (2mm à 0,2 mm sable grossiers ; 0,2mm à 50 µm sable

fins ; 50 µm à 20 µm limons grossiers ; 20 µm à 2 µm limons fins ; < 2 µm argiles).

Elle comprend aussi une fraction organique dont le taux varie selon le type de sol et les conditions de pédogenèse. Les sols cultivés présentent des taux de matières organiques compris dans une gamme allant de 1 à 20% de la masse du sol.

3. Fractions constitutives du sol

Le sol contient deux fractions intervenant principalement dans la constitution du sol sorption des polluants à savoir les fractions organiques et minérales **(Pansu et Gautheyrou, 2001).**

3.1. Fractions minérales

Selon **sposito (2008),** il existe trois catégories dans le sol :

- **Les silicates :** Ce sont des oxydes de silice qui ont des structures très diverses (Unités isolées (olivine (Fe, Mg)2 [SiO4]); Chaine (pyroxène (Mg, Fe)2(SiO3)2) ; Feuillet (smectite) .

- **Les oxydes, oxy-hydroxydes et hydroxydes :** Ils sont les plus importants et abondants dans les sols, la gibbsite (oxyde d'aluminium Al(OH) 3), La goethite et l'hématite (oxydes de fer ((FeO-OH), (Fe2O3)), la birnessite et la lithiophorite (oxydes de manganèse).

- **Les carbonates :** Les plus abondants sont les carbonates de calcium (Calcite) et les carbonates de magnésium (Dolomite (Ca, Mg) (CO3)2). Ceux-ci peuvent Co-précipiter avec d'autres métaux (exemple : calcite magnésienne) ou former un revêtement sur d'autres minéraux en changeant ainsi leurs propriétés de surfaces.

3.2. Fractions organiques

En ce qui concerne la phase organique du sol, elle correspond à tout ce qui est constitué de carbone organique issue des êtres vivant ou non (insectes, plantes, humus, microorganismes etc.) **(Pansu et Gautheyrou, 2001).** L'humus est un terme qui regroupe l'ensemble de la matière organique non vivante du sol et qui peut être classé en deux catégories :

- **Substances non humiques :** Correspondent à la fraction de matière organique dont les caractéristiques bio physicochimiques sont reconnaissables (ex les hydrates de carbone, les protéines, les acides aminés, les lipides etc.).

- **Substances humiques :** Ils sont issus de la transformation chimique ou biologique (altération, polymérisation etc.) de la matière organique du sol**.**

4. Propriétés physiques du sol

4.1. Structure

La stabilité structurale dépend de la Matière organique des sols, le complexe argilo-humique joue un rôle structurale, son importance est en fonction des teneurs en eau du type d'argile sol.

La matière organique augmente la stabilité des agrégats, une mauvaise structure peut empêcher l'écoulement des eaux dans le sol et les échanges gazeuses avec l'atmosphère. Une bonne structure va assurer une grande circulation d'eau et assure une bonne germination, aération et pénétration profondes des racines, ce qui facilité l'exploration des ressources nutritives du sol **(Soltner, 2004).**

4.2. Texture

La texture du sol présente une propriété de base, elle traduit de manière globale la composition granulométrique de la terre fine **(Gobat et *al.*, 2010).** La texture est un caractère fondamental du sol, car elle influe sur plusieurs paramètres :

- **Perméabilité du sol à l'eau et à l'air** : La perméabilité est indépendante du taux de la matière organique. Le critère retenu pour mesurer la perméabilité est la vitesse de percolation de l'eau exprimée en cm3 /h. Le taux élevé de la matière organique n'implique pas une bonne perméabilité **(Redlich et *al.*, 1975).**
- **Rétention de l'eau** : Sous forme de vapeur ou liquide, l'eau occupe environ un quart du volume d'un sol, quand ce dernier est saturé, l'eau qui percole à travers une tranche du sol le fait sous l'influence de la gravité **(Koller, 2004).** La teneur en air est complémentaire de la teneur en eau, puisque ces deux fluides se partages l'espace portal **(Blanc, 1985).**
- **Connectivité** : Elle exprime l'importance des connexions entre les pores qui est un élément déterminant de la continuité de la phase gazeuse (l'écoulement de l'air) **(Boudouch, 2009).**

5. La microflore du sol

Les microorganismes du sol sont constitués de 5 principaux groupes : les virus, les algues, les champignons, les bactéries et les actinobactéries. Toutefois, ces trois derniers groupes représentent définissent la quantité et la qualité essentielle de la biomasse microbienne du sol (Tab.01) **(Lavelle et Spain, 2001 ; Focht et Martin, 1979).**

Tableau 01: Le nombre du microorganisme du sol sur une profondeur de 0 à15 cm (Hoorman et Islam, 2010).

Microorganismes	**Nombre germe/g sol**	**Biomasse (g/m^2)**
Bactéries	**10^8 - 10^9**	**40 - 500**
Actinomycètes	**10^7 - 10^8**	**40 - 500**
Champignons	**10^5 – 10^6**	**100 - 1500**
Algues	**10^4 – 10^5**	**1 - 50**
Protozoaires	**10^3 – 10^4**	**Variée**

5.1. Les bactéries

Ce sont des êtres vivants avec une morphologie simple, de taille inférieure de 0,5 à 3µm. Elles différent des autres microorganismes par leur nature procaryote (absence du noyau différencié).

Leur comportement physiologique est très varié, certaines peuvent réaliser des réactions chimiques dont les êtres vivants sont incapables **(Messiaen *et al.*,1991).** La répartition des divers microbes dans le sol est variable suivant la nature du terrain **(Cornil, 1890).** Les bactéries interviennent dans un grand nombre de processus, et interactions mutualistes ou antagonistes avec les autres organismes du sol. Elles jouent un rôle fondamental dans les cycles : de l'azote (ammonification, nitrification, dénitrification, fixation symbiotique de N2) ; du carbone (la décomposition et la minéralisation); du phosphore ; du soufre et dans le recyclage des déchets et des polluants comme les pesticides **(Toop *et al.*,1997 ; Leung *et al.*, 1997).**

5.2. Les champignons

Les champignons sont des eucaryotes dotés d'une structure filamenteuse végétative appelée mycélium. La plupart sont des eumycètes, ils ont une membrane chitineuse, et leur organe reproducteur est dépourvu de flagelles. Les eumycètes sont constitués de quatre principaux groupes qui diffèrent par la structure de leur mycélium et de leur organe reproducteur survivant dans le sol. On a les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deutéromycètes **(Lavelle et Spain, 2001)**.Elles présentent une grande diversité, des études récentes estiment le nombre d'espèces à 1,5 Millions approximativement **(Hawks worth et Mound, 1991).**Cependant, les champignons jouent des rôles très importants dans les cycles des nutriments du sol comme les autres microorganismes notamment dans la décomposition de la matière organique (Thom, 1997 ; Bloem et *al.*,1994). Ils sont aussi impliqués dans les chaînes alimentaires complexes du sol, par leurs interactions trophiques (mutualistes : mycorhizes, champignon-termites ; commensales ; compétitives) avec la faune et les autres microorganismes du sol (symbioses, parasites ou prédateurs). Les champignons jouent un rôle dans le recyclage des déchets, des sécrétions chimiques et excrétions des racines des plantes, des animaux et des microorganismes **(Moore et de Ruiter, 1991).**

5.3. Les algues

Les algues sont des photo-autotrophes se présentes sur la surface du sol ou en subsurface pour recevoir un minimum de la lumière qui est nécessaire pour assurer la photosynthèse. Elles sont de l'ordre de 5000 à 10000 cellules/g de sol. Certaines sont hétérotrophes qui (euglènes) peuvent vivre en profondeur. De nombreuses algues présentent une couche mucilagineuse qui peut abriter de nombreuses bactéries **(Maier *et al.*,2000).**

Quatre groupes majeurs sont retrouvés dans le sol, il s'agit des algues vertes, vert-jaunes, rouge et des cyanobactéries. Elles participent aux processus de formation de sol et certaines espèces ont la capacité de fixer l'azote **(Wild, 1993).**

5.4. Les protozoaires

Les protozoaires font partie du règne des protistes, sous-règne des protozoaires.

Trois embranchement existent dans le sol est sont importants : les Zoomastigophores ou zooflagéllés, les Rhizopodes et les ciliés. Ce sont des êtres unicellulaires eucaryotes, leurs mode de reproduction est asexuée. Ils donnent un très grand potentiel biotique (capacité maximale de prolifération d'une espèce). Leurs tailles font partie de la microfaune (3 µm, parfois jusqu'à 3mm). Plus de 80000 espèces qui sont connues dont leurs habitas diffèrent, eau interstitielle du sol et eau pelliculaire à la surface des agrégats. Ils mènent un mode de vie libre, mais il y a des espèces parasites et symbiotique dans le sol **(Gobat *et al.*,2010).**

5.5. Les virus

Les virus sont souvent associés aux argiles à partir desquelles ils peuvent pénétrer dans les racines des plantes par des blessures.

5.6. Les actinomycètes

Ce sont des bactéries filamenteuses hétérotrophes et la plupart sont de Gram-positifs. Ces bactéries possèdent un mycélium ramifié dont le diamètre varie de 0,5 à 1 µm. Il est plus fin que celui des champignons **(Berthelin et Toutain, 1979).** Leur classification est basée sur la structure de l'appareil végétative (bâtonnets ou Mycéliums), le mode de reproduction (fragmentation, formation de conidies végétative ou sporangiospores sexuel) etc.

Les actinomycètes sont des décomposeurs primaires des matières végétales résistantes comme l'écorce, les feuilles et les tiges. Ils sont efficaces dans la dégradation de la cellulose, de la chitine, et de la lignine. D'après certains auteurs, les espèces du Genre *Frankie* forment

des symbioses fixatrices d'azote en associations avec les casuarinacées et d'autres plantes supérieures **(Stolp, 1988 ; Normand *et al.*,2000; Lavelle et Spain, 2001).** Encore, les actinomycètes jouent dans le sol un rôle important, elles peuvent produire des substances des vitamines et des antibiotique ou même des toxique **(Clement et Lozet, 2011).**

CHAPITRE II :

Généralité sur les actinomycètes

II. Généralités sur les actinomycètes

1. Historique

L'histoire des actinomycètes peut être divisée en 5 grandes périodes :

La première période qui va entre 1877 et 1890, a été nommée « période médicale » vu que les actinomycètes ont été connues par leurs propriétés pathogènes seulement **(Baldacci, 1962).**

La seconde période (1900-1940) **(Mariat et Sebald, 1990)** deux groupes d'actinomycètes ont été distingués : les pathogènes et les saprophytes après des études faites à propos des actinomycètes de sol.

L'époque suivante est liée à la découverte des antibiotiques produits par les actinomycètes en 1940. En 1944, la streptomycine produite par *Streptomyces griseus* **(Le minor, 1989 ; Sanglier et Trujillo, 1997)** est découverte par Waksman**.**

Ainsi, la période entre (1940 _1970) la classification des actinomycètes par des critères morphologiques et biochimiques ainsi la physiologie et l'intérêt de ses bactéries dans la production de métabolites secondaire.

Enfin, en 1960 l'amélioration de la classification des espèces **(Ventura, 2007)** par les méthodes de génétiques, initiées par Hopwood **(Chater, 1999 ; Hopwood, 1973)** ; puis de génomique **(Hopwood, 2003)**, ainsi les méthodes de découvertes de métabolites secondaires **(Donadio, 2002)** et la découverte du potentiel biotechnologique de ces microorganismes.

2. Définition

Les actinomycètes sont défini comme des bactéries filamenteuses, septées, ramifiées, formant des colonies circulaires constituées d'hyphes, qui irradient par croissance centrifuge tout autour du centre de développement, cela explique leur dénomination ‹‹Actinomycètes›› (**Dommergurs et Mangenot, 1970 ; Aouar, 2006**).

Etymologiquement, le mot actinomycètes du grecs «Aktis», qui veut dire rayon et «mykes» qui veut dire champignon ; « champignons rayonnants» **(Lamari, 2006)**.

Généralement, ils sont souvent été confondus avec les champignons (eucaryotes)**,** du fait de l'allure mycosique des maladies qu'ils provoquent et aussi de leurs morphologies fongoïdes. Leurs propriétés chimiques, physiologiques et immunologiques, permettent de les classifier parmi les procaryotes **(Perry et *al.*, 2004)**. Les Actinomycètes ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et les champignons, avec toutefois des filaments «des pseudos mycélium» qui ont un diamètre deux fois plus faible (0,5 à 1,2µm) que ceux des champignons.

Ces procaryotes, sont caractérisés par une morphologie typiquement bactérienne telle que les formes simples Mycobacteriacées, ainsi que, leurs sensibilités aux attaques des actinophages, aux antibiotiques antibactériens et aux lysozymes. Actuellement, ce problème est résolu et ce groupe de microorganismes est définitivement classé parmi les procaryotes **(Lansing et *al.*, 2003)**, toutefois, ces microorganismes présentent des similitudes à la fois avec les bactéries et avec les champignons **(Perry et *al.*, 2004)**.

Les Actinomycètes sont des bactéries de coloration Gram positif dont le coefficient de Chargaff est supérieur à 55%, généralement compris entre 60-70 %. Ce sont des bactéries hétérotrophes, ainsi leur paroi cellulaire ne renferme pas ni la chitine, ni la cellulose mais du peptidoglycane contenant la lysine ou de l'acide diaminopimélique **(Prescott et *al.*, 2010).** Ils sont sensibles à certains antibiotiques antibactériens mais pas aux antifongiques **(Reghioua et *al.*, 2006*).***

La plupart des Actinomycètes sont toujours immobiles, certains types produisent des spores flagellés, permettant leur désertion dans les habitats aquatiques **(Boucheffa, 2011).**

Elles constituent une proportion importante de la microflore tellurique respectivement (104-106 UFC/ml) et (107-108 UFC/ml) (**Shrivastava *et al.*, 2008** ; **Hoorman et Islam, 2010**). Une grande difficulté de la classification des actinomycètes existe, elle est généralement basée sur les caractères morphologiques et la couleur du mycélium aérien et végétatif.

Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyen est environ 2 à 3 heures **(Beckers *et al.*, 1982)**.

3. Taxonomie

3.1. Systématique

Les actinomycètes forment un grand groupe de microorganismes procaryotes appartenant à l'ordre des Actinomycétales crée par Buchanan en 1916.

Actuellement, le phylum Actinobacteria tel qu'il figure dans le Bergey's manual (2012) renferme cinq classes : *Acidimicrobiia, Coriobacteriia, Nitriliruptoria, Rubrobacteria et Thermoleophilia* qui sont subdivisées en 19 ordres, 50 familles et 221 genres **(Goodfellow M, 2012).**

3.2. Critères actuels d'identifications

La taxonomie des actinomycètes est basée sur plusieurs critères : morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires.

L'identification des genres est facilitée par des études :

3.2.1. Morphologiques

Les caractères morphologiques font appel aux caractéristiques culturales et micro morphologiques.

A) Caractères macromorphologiques

D'après **Bouras (2006)** et **Boudjella*et al.* (2007)**, Parmi les caractères culturaux importants pour la différentiation de genre :

- **La production ou non du mycélium aérien ou du mycélium du Substrat :**

Plusieurs genres peuvent ne pas produire de mycélium aérien (MA), mais un seul uniquement ne produit pas de mycélium du substrat (MS) : *Sporichtya.*

- **La couleur du mycélium aérien :**

La couleur exacte du MA est déterminée en utilisant une charte de couleur. Le nombre d'espèces de *Streptomyces* est tellement élevé que celles-ci sont classées, d'après justement la couleur du MA, dans 7 séries différentes « gris, rouge, jaune, blanc, bleu, vert et violet ».

Dans chaque série, plusieurs nuances de couleur peuvent exister :

Exemple : série des « gris » gris foncé, gris clair, gris jaunâtre, gris rougeâtre,...

- **La couleur du mycélium du substrat et des pigments solubles**

Dans le cas des *Streptomyces*, les espèces peuvent produire :

- un MS de couleur caractéristique : couleur vive ou foncée : rouge, orange, jaune vif, vert, bleu, violet, noir... Ces couleurs permettent de caractériser les espèces.
- un MS de couleur non caractéristique : soit non coloré, soit coloré de manière assez claire, beige, jaune orangé clair, jaune brunâtre, brun ou olive pâle. Ces couleurs peuvent varier suivant, les souches d'une même espèce. Les mêmes remarques que pour le MS sont également valables dans le cas des pigments solubles.

B) Caractères micromorphologiques

Les critères micro- morphologiques importants selon **Boudjalal (2012)**, sont:La micromorphologie des principaux genres et quelques types de chaines de spores sont donnés respectivement dans les Figures 03 et 04.

- **La production de spores :** Le MA et/ou le MS peuvent, soit être stériles, soit produire des spores rondes, ovales ou en bâtonnets.
- **L'agencement des spores :** Les spores peuvent être produites isolément, par deux, par quatre ou en de courtes ou de longues chaines. Elles peuvent être sessiles ou produites par des sporophores bien Individualisés pouvant être verticillés ou non, ou encore de manière très irrégulière, le long des filaments mycéliens.
- **La morphologie des chaînes de spores :** Les chaines de spores peuvent être droites à flexueuses (type « rectus-flexibilis » = RF), en crochets ou en boucles (type « retinaculum-apertum » = RA) ou en spirales (type « spira » = S). Ces dénominations sont particulièrement importantes pour la classification des espèces de *Streptomyces*. Qui peuvent ainsi être placées dans différentes sections. Des morphologies intermédiaires (RFRA, RFS et RAS) sont également souvent rencontrées.
- **L'ornementation de la surface des spores :** Les spores peuvent avoir une surface lisse (type « smooth » = sm), rugueuse (type «

warty » = wa), épineuse (type « spiny » = sp) ou chevelue (type « hairy » = ha).

- **la fragmentation du mycélium du substrat :** Le MS peut se fragmenter, avec une intensité plus ou moins grande, en éléments coccoïdes et/ou en bâtonnets, non mobiles ou parfois mobiles.
- **La production de structures particulières :**
  - La présence ou non de sporanges dans le MA le MS, la Forme de ces sporanges, le nombre de spores qu'ils contiennent, la mobilité et la forme des sporangiospores.
  - La production d'endospores, de sclérotes, de synnemata.

La figure n°3 montre l'aspect micromorphologique des principaux genres d'actinomycètes.

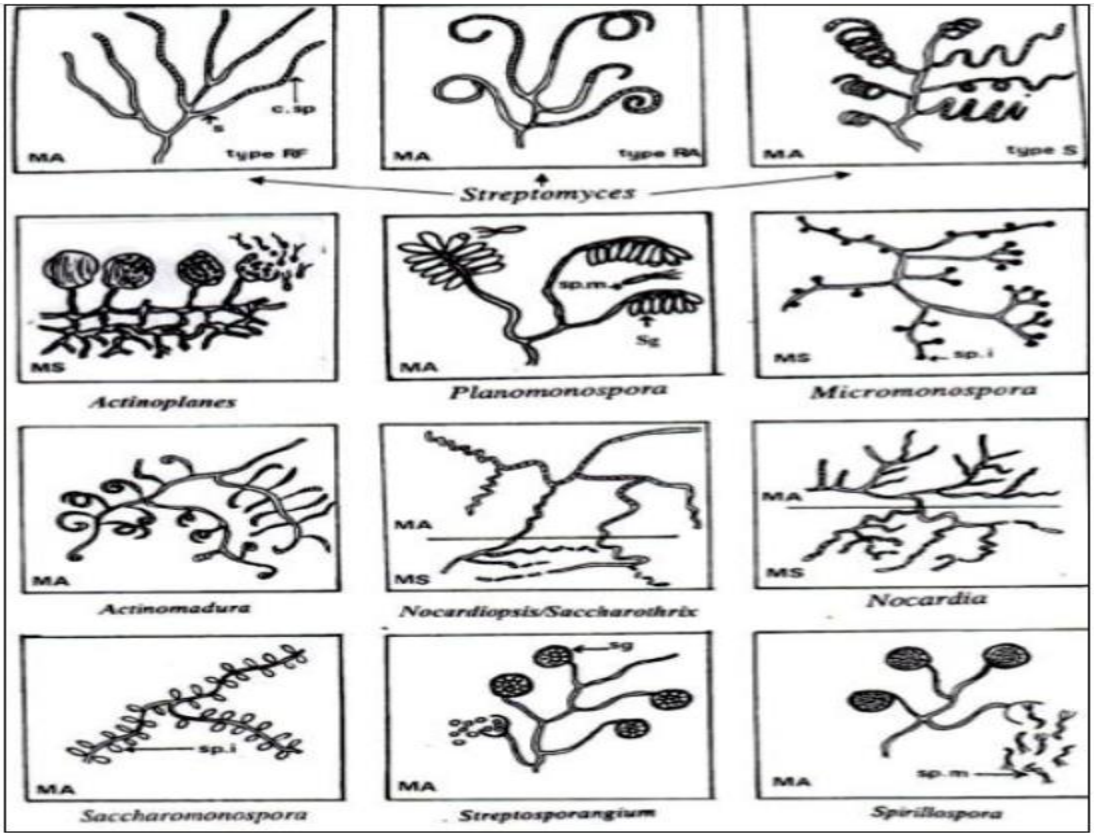


Figure 03 : Micromorphologie des principaux genres d'actinomycètes (Sabaou, 1988)**.**

Types : RF = Rectus Flexibilis, RA = Retinaculum Apertum, S = spira, MA = Mycélium Aérien, MS = Mycélium de Substrat, bv = biverticille, mv = monoverticillé, s = sporophore, c.sp = chaîne de spore, sp.i = spores isolées, sp.m = spores mobiles, sg = sporange.

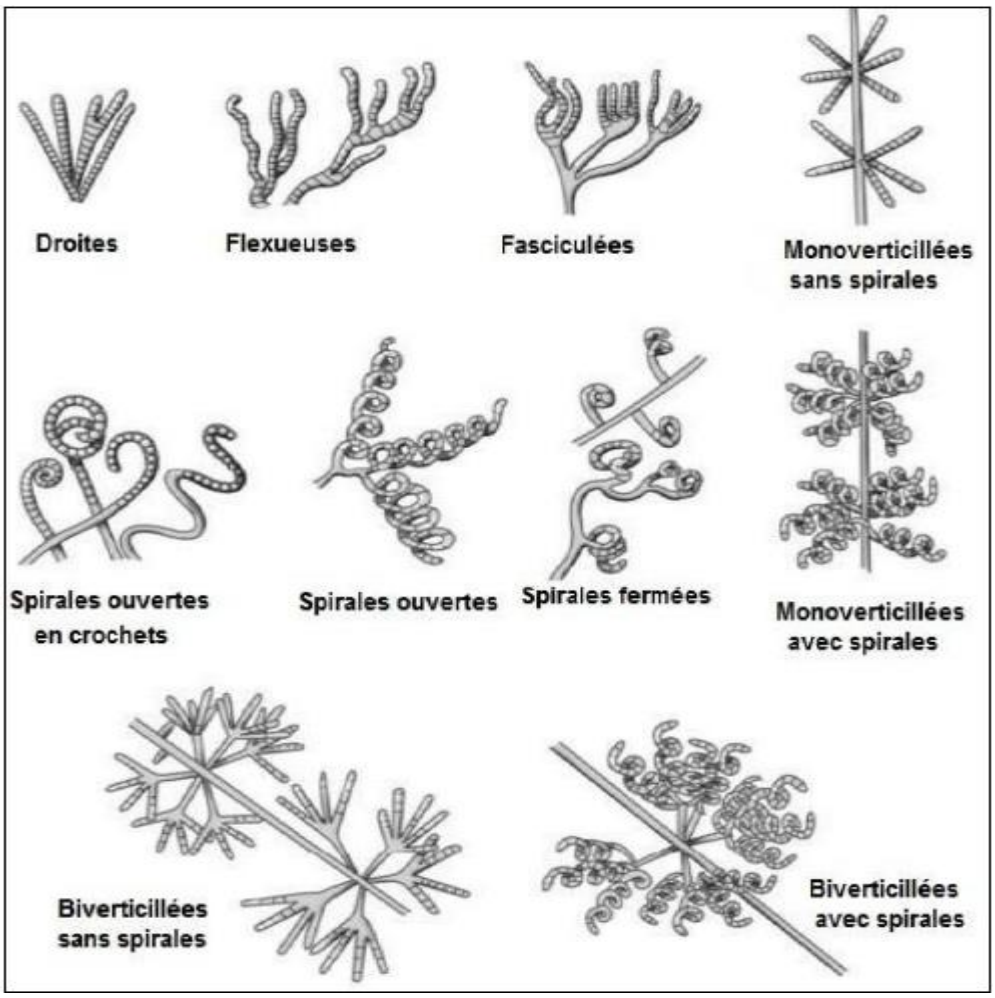


Figure 04 : Types de chaines de spores rencontrés chez les espèces de *Streptomyces* (Madigan et *al.*,2011).

3.2.2. Chimio-taxonomiques

(Différenciation des espèces par composition chimique), c'est-à-dire la composition cellulaire en acides aminées, en sucres et en lipides… etc.

Tableau 02: Caractéristiques chimio-taxonomiques et morphologiques des principaux groupes génériques d'actinomycètes (Prescott *et al.*, 2003).

Groupe générique	Type de paroi (peptidoglycane)	Type de composition en sucres cellulaires	Disposition des spores	Présence de sporanges	Genres représentatifs
Actinomycètes nocardioformes	**I , IV**	**A**	**Variable**	**Non**	***Nocardia,*** ***Thodococcus,*** ***Nocardioides ,*** ***Saccharomonospora***
Actinomycètes a sporanges a loges multiples	**III**	**B,C,D**	**Amas de spores**	**Habituellement**	***Geodermathophilus*** ***Dermathophilus*** ***Frankia***
Actinoplanes	**II**	**D**	**Variable**	**Habituellemnt**	***Actinoplanes*** ***Pilimelia*** ***Dactulosporangium*** ***Micromonospora***
***Streptomyces* et genres apparentés**	**I**	**Sans valeur taxonomique**	**Chaines de 5 à plus de 50 spores**	**Non**	***Stremptomyces*** ***Sporichtya***
Maduromycètes	**III**	**B ,C**	**Variable**	**Oui ou Non**	***Actinomadura*** ***Microbispora*** ***Planomonospora*** ***Streptosporongium***
***Thermomonospora* et genres apparentés**	**III**	**C (parfois B)**	**variable**	**Non**	***Thermonospora*** ***Actinosynnema*** ***Nocardiopsis***

3.2.3. Physiologiques

Les principaux caractères physiologiques utilisés en taxonomie des actinomycètes sont: l'oxygène, les optima du pH et de la température de croissance, la sensibilité au chlorure de sodium et aux antibiotiques …ect.

- **L'oxygène :** On peut diviser les actinomycètes selon leurs types respiratoires en deux groupes :
  - Les formes fermentatives anaérobies, représentées par le genre type *Actinomyces*, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs, Ils font partie de la flore de Veillons **(Avril *et al.*, 1992).**
  - Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces*, sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol **(Avril *et al.*, 1992).**
- **Le pH :** Pour le pH, la plupart des actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8.Mais on peut observer une croissance à des valeurs de pH inférieurs à 4 **(McKinney, 2004),** telle est le cas pour les souches acidophiles comme le genre *Streptacidiphilus* **(Wang *et al.*, 2006).**
- **La température :** La température optimale de croissance est entre 25 à 30°C, mais les espèces thermophiles peuvent croitre à des températures entre 55 et 65°C **(Rangaswami *et al.*,2004).**
- **L'activité de l'eau (Aw) :** La germination des spores de la plupart des actinomycètes peut être observée à des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0.67, l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est égal à 0,98 **(Zvyagintsev *et al.*, 2005).**
- **Tolérance en NaCl :** Selon leurs exigences en NaCl, les microorganismes sont divisés en deux groupes :
  - Les halophiles : ont besoin de sel (NaCl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (P/V) pour les faiblement halophiles, jusqu'à 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes.

- Les halotolérants : acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolèrent de 6 à 8 % de NaCl (P/V)) ; les modérément tolérants (tolèrent de 18 à 20 % de NaCl (P/V)) et les extrêmement tolérants (se développent de 0 % jusqu'à saturation en NaCl) **(Nanjani, 2011).**

- **Matière organique :** Le taux des actinomycètes est corrélé positivement avec le taux de la matière organique, quelque soit le taux de la salinité. Cela a été rapporté par plusieurs auteurs tels que **Henis** en **1986**et **Lee** et **Hwang** en**2002**.

3.2.4. Moléculaires

Un outil de choix pour l'identification des actinomycètes est l'analyse moléculaire (des acides nucléiques). Le %GC donne une indication sur la famille, tandis que le séquençage de l'ADNr 16S permet de différencier nettement les genres **(Pridham et Gottlieb, 1948)**. Les séquences de l'ADNr 16S ont servi à tracer toute la phylogénie des actinomycètes **(Stackebrandt, 1997; Ventura, 2007; Zhi, 2009).** Ces analyses moléculaires reposent sur une réaction de polymérase en chaîne (PCR), utilisant soit des amorces universelles bactéries, soit des amorces spécifiques des Actinobacteria **(Farris et Olson, 2007; Schäfer *et al.*, 2010).**

4. Caractéristique culturaux des actinomycètes

4.1. Morphologie

La morphologie des différents groupes d'actinomycètes varie de simple bacille diphtéroïde à des formes mycéliennes complexes **(Gottlieb, 1973).** Certains peuvent présenter un mycélium développant sur et dans les milieux. Mycélium végétatifs, ou de substrat constitué par des hyphes, qui pénètrent dans le milieu ou se propagent à sa surface ainsi que la présence ou non de mycélium aérien (MA) **(Michel et *al.*,1991).** Les couleurs du MA, du MS

et de des pigments diffusibles (en cas de production) sont déterminées à l'aide d'une charte de couleur **(Kelly et Judd, 1976).** Le mycélium de substrat est dénommé mycélium primaire. Sa couleur varie du blanc ou pratiquement incolore. Cette formation montre la capacité des actinomycètes à dégrader la matière organique insoluble grâce à leurs enzymes extracellulaires (Fig.5) **(Locci, 1976).**

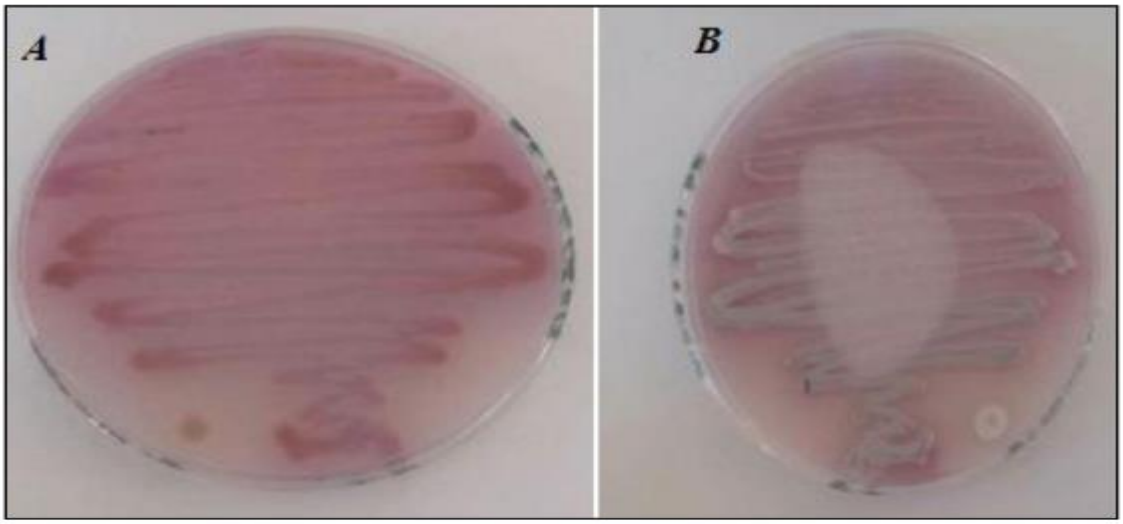


Figure 05 : Apparence d'isolats d'Actinomycètes sur milieu caséine amidon (Boudia, 2019).

A:Mycélium de substrat (MS).

B: Mycélium aérien (MA).

Les colonies formées sur milieu solide par les actinomycètes sont très particulières. Elles résultent de l'accumulation des hyphes ramifiés et non pas de cellules comme c'est le cas chez les bactéries non filamenteuses. Le diamètre des colonies est variable de 1 à 10 mm. L'aspect des colonies peut être compact, sec, lisse, rugueux à contours lisse ou échancrés. Les colonies sont souvent pigmentées (blanc, crème, jaune, violet, rose, gris, etc., ...) **(Perry *et al.*, 2004).**

Les colonies formées sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- Colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
- Colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
- Colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens

attachés au milieu par des crampons.

5. Ecologie

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires que l'on rencontre dans la plupart des niches écologiques aquatique et terrestre **(Barka et *al.*, 2016)** et sont capables de se développer sur une large gamme de substrats. La plupart des actinomycètes sont saprophytes mais quelques-uns peuvent être pathogènes ou symbiotes des plantes et des animaux **(Suzuki *et al.*,1994).**

5.1. Le sol

Les actinomycètes sont abondants dans le sol terrestre, et sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol et jusqu'à 2 m de profondeur c'est-à-dire dans la rhizosphère **(Nonomura, 1969; Yamamoto et *al*., 1999)**. Le nombre de ces microorganismes atteint d'après **(Goodfellow et Williams, 1983)** généralement les 106 germes par gramme de sol séché. D'après **(Waksman, 1967)**, le rapport Microorganisme totaux / Actinomycètes, diminue au fur et à mesure que la profondeur augmente .Elles sont présentes dans des sols polaires gelés en permanence tout comme dans les sols désertiques chauds et secs, dans le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec les métaux lourds.

5.2. L'eau

Ces bactéries sont aussi abondantes en milieu hydrique : dans les eaux des lacs (les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés), des rivières, des ruisseaux et également des mers et des océans **(Cheraiti et *al*., 2012).**

- **Dans le milieu marin**: Selon certains auteurs, les souches d'actinomycètes isolées des milieux marins présentent que des formes terricoles adaptées à la salinité de l'eau. D'autres part, il existe une flore d'actinomycètes propre aux sédiments marins caractérisée par sa barotolérance, son halophile à une température optimale faible. Certaines souches Nocardioformes isolées à plus de 2000 m de profondeur se développent sous les pressions hydrostatiques de 500 bars en présence d'eau de mer à 18°C **(Weyland, 1981).**

- **Eaux douces**: Certains genres d'Actinomycètes préfèrent les eaux douces, comme les Micromonospara qui sont abondants dans les lacs .Des souches d'Actinoplanes et de Streptosporangiumont été facilement isolées, ils se trouvent essentiellement dans les lacs extrêmement alcalins, les lacs salés. Par contre, ils sont absents dans les eaux minières très acides (pH <1) et les sources thermales très chaudes d'origine volcanique. **(Boucheffa,2011 ; Gerard et *al*., 2001).**

5.3. L'air

L'air constitue pour les actinomycètes un moyen de transport et non pas un habitat **(Gazenko et *al*., 1998).** A l'aide des spores des Actinomycètes dispersées dans la poussière dans l'air, elles se déplacent par le vent **(Michael et John, 2007).**

5.4. Les composts

La décomposition biologique thermophile de déchets organiques en présence d'oxygène et dans des conditions contrôlées, sous l'action de micro et macro-organismes produit du compost. Certains genres d'actinomycètes semblent préférer certains habitats par rapport à d'autres, comme Thermoactinomyces qui se trouve fréquemment dans les composts **(Song et *al*., 2001).**

Les actinomycètes sont très actifs dans les attaques des polymères résistants comme la cellulose, l'hémicellulose et la lignine en stades finale du compostage.

Tableau 03 : Répartition des actinomycètes dans la nature (Goodfellow,1983).

Habitat	Genres
Sol	***Actinomodora*** ***Actinoplanes*** ***Microbispora*** ***Micromonospora*** ***Nocardia*** ***Rhodococcus*** ***Stremptomyces*** ***Streptosporangium***
Eau	***Actinoplanes*** ***Micromonospora*** ***Nocardia*** ***Rhodococcus*** ***Streptomyces***
Litière	***Actinoplanes*** ***Rhodococcus*** ***Streptomyces***
Matière en décomposition	***Sacharomonospora*** ***Thermomonospora***
Nodule de racine	***Frankia***
Fumier	***Rhodococcus***

6. Cycle de développement

Les actinomycètes possèdent une structure des procaryotes, mais un cycle biologique complexe qui ressemble à celui de certains champignons **(Larpent et Sanglier, 1989),**et leurs développement concerne la formation du mycélium (aérien et de substrat) et la formation des spores (endospore et exospore).

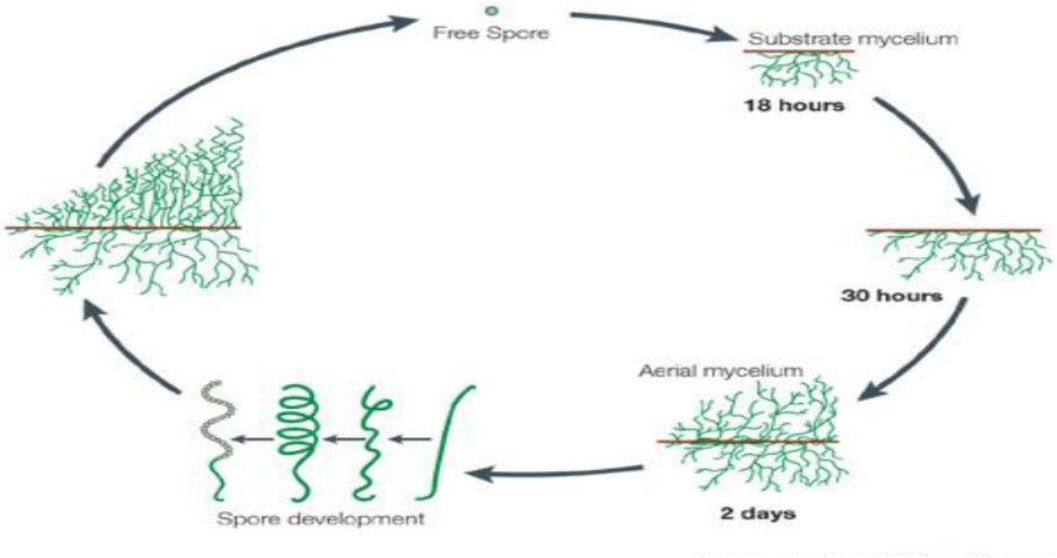


Figure 06: Cycle de développement des actinomycètes (Breton *et al.*,1989).

6.1. Formation de mycélium du substrat et du mycélium aérien

6.1.1. Mycélium primaire

Le mycélium primaire est appelé aussi mycélium végétatif, mycélium de substrat ou mycélium intra matriciel, c'est un ensemble de filaments multi nucléaires formés à partir du tube germinal (hyphe) issue d'une spore. Cet hyphe s'allonge par croissance apicale et se ramifie à maintes reprises. Son développement, sur la surface et à l'intérieur du milieu solide, donne naissance à des jeunes colonies, formées par des filaments attachés en matrice complexe.

6.1.2. Mycélium secondaire

Le mycélium secondaire est appelé aussi mycélium aérien, il se forme lorsque la colonie sera plus âgée. Les hyphes primaires donnent des branches spécialisées qui se développent loin de la surface de la colonie en donnant un mycélium reproductif dans l'air. Contrairement à celui du substrat, le mycélium aérien est plus épais et peu ramifié, il est

protégé par sa paroi hydrophobe et peut se développer sur milieu pauvre en sources nutritionnelles, dans la plupart des cas, par la dégradation du mycélium de substrat dont les produits assurent un apport de nutriments pour sa croissance loin de la colonie.

6.2. Les spores

La plupart des actinomycètes possèdent la capacité de sporuler, cependant, le mode de sporulation diffère et constitue un critère de classification **(Michael et John, 2007),** on trouve deux types de spores :

- **Les endospores**

Les endospores sont produites par des actinomycètes thermophiles, elles sont formées d'une réorganisation du cytoplasme avec une formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe. Ces spores produites par des actinomycètes thermophiles sont semblables aux spores de *Bacillus* avec une paroi externe épaisse, multicouche, très résistante, enveloppant la membrane cytoplasmique, le cortex, le manteau sporale et l'espace intra-cytoplasmique Qui contient les ribosomes et le matériel génétique. Ces spores contiennent de l'acide dipicolinique à une concentration de 6,5 à 7 %. Cet acide peut être associe à des ions de calcium et magnésium ce qui confère une résistance à la chaleur des spores **(Leclerc *et al*,.1977).**

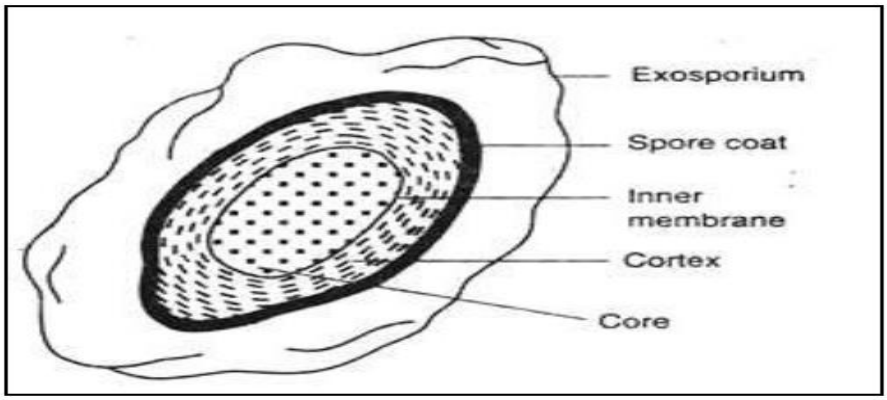


Figure 07: Structure d'une endospore actinomycétale**.**

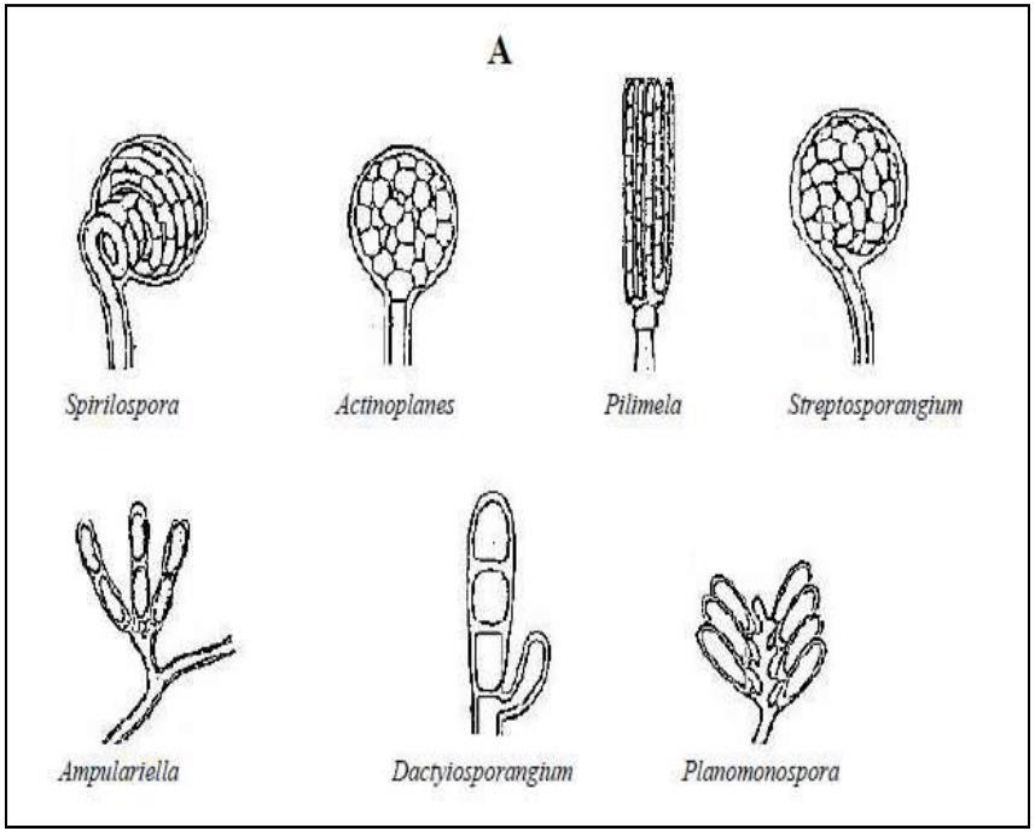


Figure 08 : Types des chaines des endospores chez les actinomycètes (Messaoudi, 2013).

- **Les exospores**

Beaucoup d'actinomycètes qui forment des hyphes, produisent des exospores par Septation et fragmentation des hyphes, ces spores sont dépourvues de structures Spécialisées, mais font néanmoins preuve de résistance notamment vis-à-vis de la Dessiccation et de certains produits chimiques **(Loucif, 2008).**

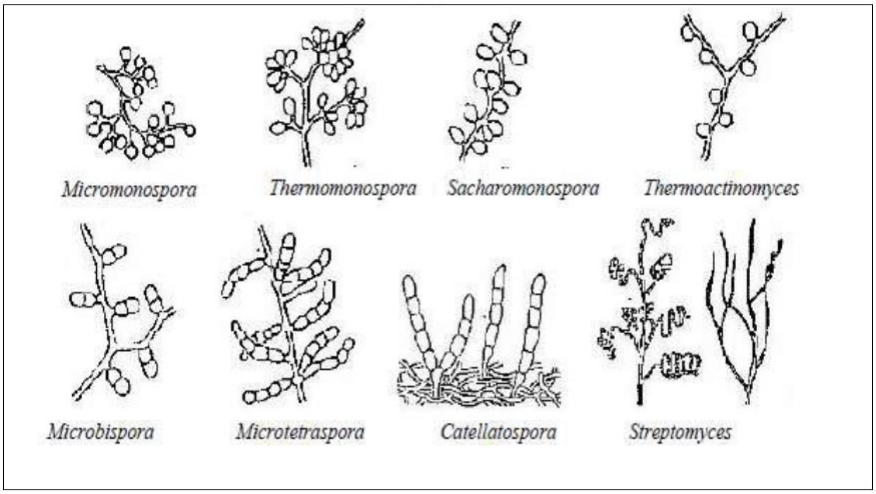


Figure 09 : Types des chaines des exospores chez différentes genres d'actinomycètes (Messaoudi, 2013).

6.3. Structures particulières

Certains actinomycètes forment des structures particulières (sclérotes, sporanges, synemata,…) qui ne correspondent ni au mycélium ni aux spores et dont la fonction n'est pas toujours définie.

- **Les sclérotes** trouvés chez *chainia* sont constitués par une masse d'hyphes cloisonnées dont les vacuoles sont chargées de glycérides et d'acide gras ramifiés.
- **Les sporanges** sont des sacs contenant des spores. Ils peuvent être rencontrés sur le mycélium aérien bien développé ou sur la surface de colonies dépourvues ou ayant un mycélium aérien peu développé.
- **Les synnemata**, appelés également corémies, sont des assemblages compacts d'hyphe dressées, parfois fusionnées et portant des conidies apicales ou latérales**.** Cette structure est caractéristique du genre *Actinosynnema* **(Theilleux *et al.*,1993).**

7. Méthodes d'isolement des actinomycètes dit « rares »

Les actinomycètes, qui n'appartiennent pas au genre *Streptomyces*, sont dits « rares ». Ils appartiennent, entre autres, aux genres *Microspora , Microtetraspora, Amycolatopsis , Actinomadura* ou *Saccharothrix.* Les actinomycètes « rares » ont été généralement considérés comme des souches d'actinomycètes dont la fréquence d'isolement par des méthodes conventionnelles est beaucoup plus faible que celle des souches streptomycètes **(Sateesh et *al.*, 2011)**. Cette présence relativement faible des actinomycètes «rare », contrairement aux diverses espèces de *Streptomyces* , dérive du fait qu'ils sont difficiles à isoler dans l'environnement et du fait qu'ils sont difficiles à cultiver et à conserver par les méthodes classiques **(Berdy,2005)**.

Diverses procédures de traitement et divers milieux sélectifs sont utilisés pour l'isolement des actinomycètes « rares ». La figure (10), résume les différentes étapes à suivre pour leur isolement sélectif.

1. Prélèvement des échantillons de sol provenant de différents habitats écologiques.

↓

2. Enrichissement des échantillons de sol en utilisant des méthodes chimiques et physiques approuvées.

2.1. Les méthodes chimiques

1. Traitement germicide
2. Traitement par le carbonate de calcium et addition de chitine.
3. Utilisation de milieux sélectifs.
4. Utilisation d'antibiotiques.
5. Procédé chimiotactiques.
6. Traitement au SDS et addition d'extrait De levure.
7. Traitement a la chloramine-T.

2.2. Les méthodes physiques

1. Séchage a l'air.
2. Chauffage a sec
3. Incubation humide et Dessiccation.
4. Centrifugation différentielle
5. Réhydratation et centrifugation sur saccharose.

3. Observations microbiologiques des isolats pour la détection préliminaire des germes.

↓

4. Utilisation des techniques moléculaires pour la caractérisation préliminaire des isolats ; genre/espèce

↓

5. Vérification de l'activité antibactérienne des isolats en utilisant différentes

Méthodes

5.1. Screening primaire par les méthodes

-Des stries croisées

-Des cylindres d'agar

5.2.Screening secondaire par l'extraction avec des solvants selon les méthodes

-Des disques de papier

-Techniques de diffusion des puits

6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI) du filtrat de culture en Utilisant la méthode des dilutions.

7. Caractérisation des composés bioactifs sur la base du spectre d'absorption aux UV et utilisation de la chromatographie sur couche mince.

8. Caractérisation des souches au niveau de l'espèce par l'approche polyphasique englobant le génotype, le phénotype et étude chimiotypes.

Etude phénotypique **Etude génotypique** **Etude chimiotypique**

-Séquence du gène ARNr 16S

-Construction de l'arbre phylogénétique

-Hybridation ADN-ADN

-Analyse de la paroi cellulaire

-profil de l'ester méthylique d'acide gras

-Morphologies sur différents milieu.

-Croissance à différentes températures, et salinités et à différents pH.

-Analyse biochimique.

Figure 10 : Schéma récapitulatif de l'isolement sélectif des actinomycètes « rares » selon Khanna,et *al* (2011).

8. Importance

8.1. Les actinomycètes en tant que des microorganismes utiles

8.1.1. En agronomie

Les actinomycètes ont un rôle important dans le recyclage de la matière organique grâce à leur capacité de dégrader des substances complexes et incapables d'êtres décomposer par les autres bactéries non mycéliennes et les champignons **(Lamari, 2006),** telles que la lignine, la cellulose, la chitine, la kératine **(citer par Bakour, 2006)**. Ils participent donc activement à la fertilisation des sols et décomposent les déchets urbains à haute teneur en produits chimiques.

Les actinomycètes exercent une influence sur la croissance des plantes, et protègent-les racines contre les invasions des champignons **(Yilma *et al.*,2008).**

Le genre *Frankia* est également très important pour un bon nombre de plantes, provoquant des nodulations aux racines permettant ainsi la fixation de l'azote par la plante hôte **(Zaitlin et Watson, 2006).**ainsi ils participent dans la solubilisation de phosphate et La production de phytohormones.

Les actinomycètes sont utilisées également comme des insecticides (mikkomycine), pesticides (antimycine A), et des herbicides (phinotricine) **(Petrosyn *et al.*,2003).**

8.1.2. En biotechnologie

Ce sont des microorganismes d'intérêt industriel par excellence, un producteur important des antibiotiques et d'autres molécules et substances bioactives **(Yala, 2001).**Jusqu'ici, environ deux tiers des antibiotiques connus ont été sécrétés par les

actinomycètes **(Xue, 2009)**, le genre *Streptomyces* sécrète plus de 80% de ces molécules et il est très exploité **(Badji *et al.*,2006)**.

La majorité des antifongiques naturels est d'origine microbienne et près de la moitié est synthétisée par les actinomycètes, en particulier, par *Streptomyces* **(Badji *et al.*,2005)**. En ce qui concerne l'activité antifongiques des actinomycètes, elle ne se limite pas seulement aux champignons filamenteux mais s'entend aux levures et aux dermatophytes.

Ils sont également une source prometteuse de large gamme d'enzymes importantes, qui sont produites à l'échelle industrielle (Laccase, tyrosinase et cellulase…ect). Ils produisent des inhibiteurs enzymatiques utiles pour le traitement du cancer et les immunmodifiants qui améliorent la réponse immunitaire, ils ont la capacité de dégrader une large gamme d'hydrocarbures, de pesticides et de composés aromatiques et aliphatiques **(SKolovska *et al.*,2003)**, ils effectuent des transformations de composés organiques.

Les actinomycètes sont aussi une grande source de molécules possédant des activités biologiques variées telles que des agents antitumoraux, des antiviraux, des immunosuppresseurs.

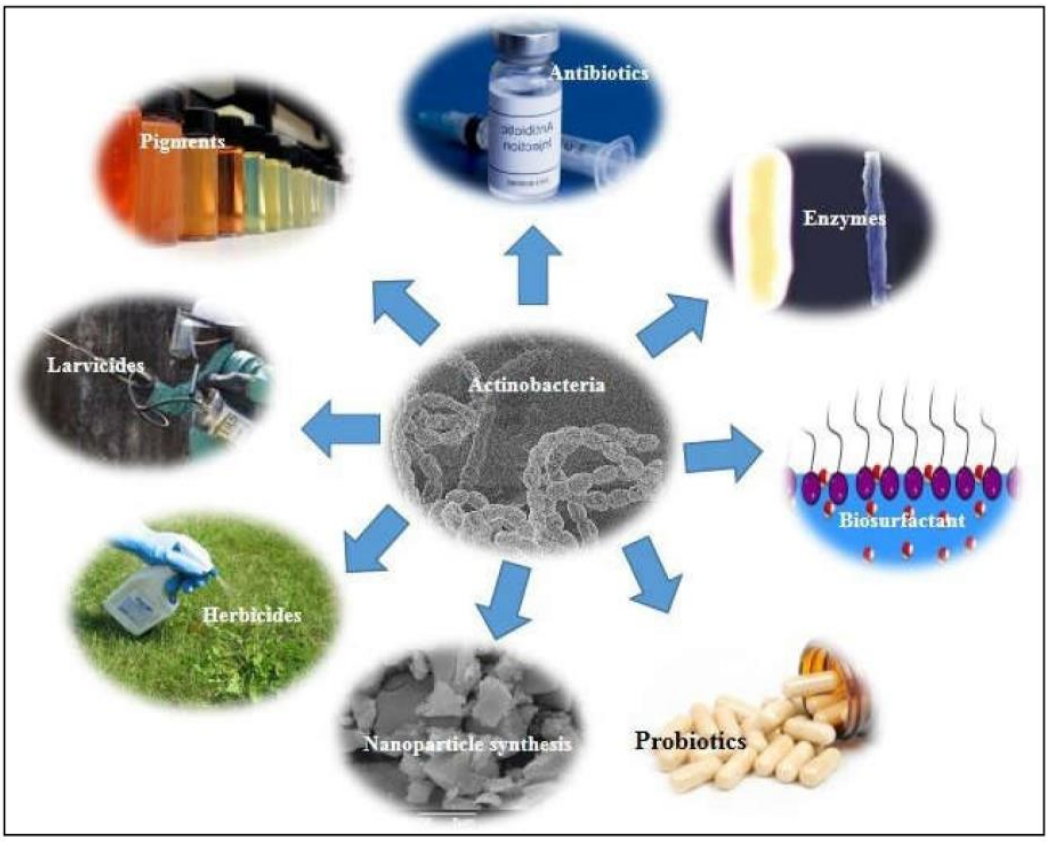


Figure 11 : Applications biotechnologiques des actinomycètes (Anandan, 2016).

8.2. Autre rôles

Certaines espèces d'actinomycètes se sont révélées capables de dégrader ou de transformer des toxines produites par des champignons toxinogènes (mycotoxines), certaines substances, comme la piramicine sont utilisées pour le traitement, les emballages et d'autres pour la protection de certains fromages **(Boudjella, 2007).**

La géosmine qui donne à la terre une odeur de moisi (terreux) et à l'eau des réservoir un goût et une odeur désagréables, est produite par certaines espèces d'actinomycètes appartenant aux genres *Streptomyces*, *Nocardiopsis*, etc. **(Lechevalier, 1981; Goodfellow et Williams, 1983).**

8.3. Les Actinomycètes en tant que microorganismes pathogènes et nuisibles

Les actinomycètes peuvent être phytopathogènes. *Nocardia vaccini*, *Rhodococcus fasciens* et quelques espèces de *Streptomyces* dont *S.scabies*, infectent plusieurs plantes. Dont la pomme de terre **(GoodFellow et Williams, 1983)** . Plus nombreux sont les genres et espèces d'actinomycètes pathogènes pour l'homme et les animaux. Certains sont connus depuis très longtemps, comme les agents de la tuberculose et la lèpre (*Mycobacterium*). Des espèces comme *Nocardia asteroides*, *Actinomyces israelii*, *Dermatophilus congolensis*, *Streptomyces somaliensis*, sont également responsables de diverses infections telles que les antimycoses, les nocardioses pulmonaires et systémiques. D'autres genres et espèces peuvent être des pathogènes opportuniste **(Mishra et *al.*, 1980; Lechevalier1981)**. Certains sont responsables de sérieuses réactions d'hypersensibilité et d'allergies pulmonaires **(Lacey, 1981)**.

CHAPITRE III : LA PRODUCTION DES ANTIBIOTIQUES

III. Production des antibiotiques 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. Certaines espèces ont la capacité de solubiliser le phosphore, d'autres sont impliquées aussi, dans le control phytopathologique et dans la production des composés antifongiques **(Gebreselema, 2013 ; Hsu et Lockwood, 1975).**

Les actinomycètes sont la source des substances antitumorales (actinomycine), anti cholestérol, des insecticides (mykkomycine), des pesticides (antimycine A), des herbicides (phinotricine) et de substances ayant des activités immunosuppressive, et immunostimulantes (la rapamycine) **(Chun *et al.*, 1997 ; Snaglier et Trujillo, 1997 ; Moore *et al.*, 1999 ; Petrosyan *et al.*, 2003).**

1. Métabolisme des actinomycètes

En général, les actinomycètes sont des bactéries chimioorganotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les bio polymères complexes (chitine, cellulose, lignine). Mais, plusieurs espèces sont capables aussi d'une croissance chimio-autotrophe utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz Carbonique comme source de carbone **(Mariat et Sebald, 1990)**.

Les métabolismes des actinomycètes peuvent être divisés en deux parties : le métabolisme Primaire et le métabolisme secondaire **(Strub, 2008)**. Leurs propriétés sont différentes en fonction de la phase au cours de laquelle ils sont synthétisés **(Delaunay *et al.*,2003).**

1.1. Métabolisme primaire

Le métabolisme primaire des actinomycètes est semblable à celui des autres organismes.

Les métabolites primaires ou généraux essentiels forment la structure cellulaire et permettent le fonctionnement du métabolisme général **(Theilleux, 1993)**.

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 (**Theilleux, 1993)**. De manière générale, le métabolisme secondaire est considéré comme l'ensemble des voies de synthèse de composés qui n'ont ensuite pas des fonctionsapparentes dans le métabolisme cellulaire (**Colombié, 2005)**.

Tableau 04: Principales différences entre les métabolites primaires et secondaires chez les eucaryotes (Delaunay et *al*., 2003).

Métabolite primaire	**Métabolite secondaire**
Synthétisé pendant la trophophase (phase de croissance cellulaire)	Synthétisé lors de l'idiophase (phase de ralentissement et stationnaire)
Présent tout du long du cycle cellulaire	Apparition a un moment du cycle cellulaire
Nécessaire a l croissance	Inutile pour la croissance
Rôle physiologique connu	Rôle physiologique mal connu
« turn-over » élevé	« turn - over » pratiquement nul
Produit dans des conditions de culture diverses	Produit dans des conditions de culture bien définies
Ubiquitaire	Spécifique
Enzymes a spécificité étroite	Enzymes a spécificité large
Voies de synthèse simple et courte	Synthèse longue et complexe
Synthèse d'un produit bien défini	Synthèse d'un mélange de produit
Structure chimique généralement simple	Structure chimique souvent complexe
Concentration élevée	Concentration faible

2.Substances bioactives

2.1. Les enzymes

Les enzymes sont les produits industriels les plus importants des actinomycètes **(Theilleux, 1993)**. En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telles que les protéases, les chitinases **(Tanaka et Omura, 1990 ; Vonothini et *al*., 2008)**, les amylases, les cellulases, les xylanases et les lipases **(Park et *al*.,2002)**. A titre d'exemple : la D-xylose isomérase, plus connue sous le nom de glucose isomérase, produite par l'espèce *Actinoplanes missouriensis* et plusieurs espèces de *Streptomyces*, est utilisée pour obtenir des sirops riches en D-fructose. Un complexe amylasique issu de *Streptomyces hydroscopicus* et *Streptomyces.*

*praecox*a été exploité pour préparer des sirops riches en maltose. Les protéases d'actinomycètes sous forme libres ou immobilisées sont employées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, en tannerie et comme additifs dans les détergents (ex : pronase de*S. griseus*) **(Theilleux, 1993)**.

Par ailleurs, les actinomycètes produisent de fortes quantités de chitinases et de β-1-3-glucanase et causent des plasmolyses et des lyses des parois cellulaires des pathogènes (**Conn, 2005**). D'après **Park et *al*., (2002)**, les chitinases produites et sécrétées par les actinomycètes agissent sur les cuticules des nématodes adultes et provoquent ainsi leur mort.

Notamment l'espèce *Streptomyces coelicolor* qui sécrète de nombreuses hydrolases incluant : 60 protéases/ peptidases, 13chitinases/ chitosanases, 8 cellulases/ endoglucanases, 3 amylaseset 2 pectates lyases (**Bentley et *al*., 2002**).

1.2. Les vitamines

La vitamine B12 telle qu'elle existe dans la nature peut être produite par des bactéries ou des actinomycètes. L'isolement de la vitamine B12 à partir des fermentations d'actinomycètes a suscité un intérêt considérable pour la production possible de vitamines par des fermentation microbiennes (**Rickes *et al.*, 1948 ; Lichtman *et al.*, 1949**). L'addition de sels de cobalt aux milieux semble être un précurseur pour toute les actinomycètes pour produire de la vitamine. Comme le cobalt est un agent bactéricide assez efficace, ce précurseur doit être ajouté avec précaution. Il a été également démontré que les actinomycètes produisaient d'autres vitamines hydrosolubles, telles que, la thiamine et le dérivé d'acideptèroyl glutamique qui favorise la croissance de certaines souches de *Leuconostoc citrovorum* et de la coenzyme A (**Anandan, 2016**).

2.3. Les pigments

Les actinomycètes sont caractérisées par la production de divers pigments sur des milieux naturels ou synthétiques, ces pigments sont considérés comme une des caractéristiques culturales importantes dans la description des organismes. Tous les changements phénotypiques induits par des influences environnementales aideront les actinomycètes car, ils montrent des colonies morphologiquement distinctives et produisent une variété de pigment et de filaments appelés hyphes aériens **(Goodfellow et *al*., 2012)**Ces pigments apparaissent habituellement dans différentes nuances de bleu, violet, rouge, rose, jaune, vert, brun, et noire. (Fig12).

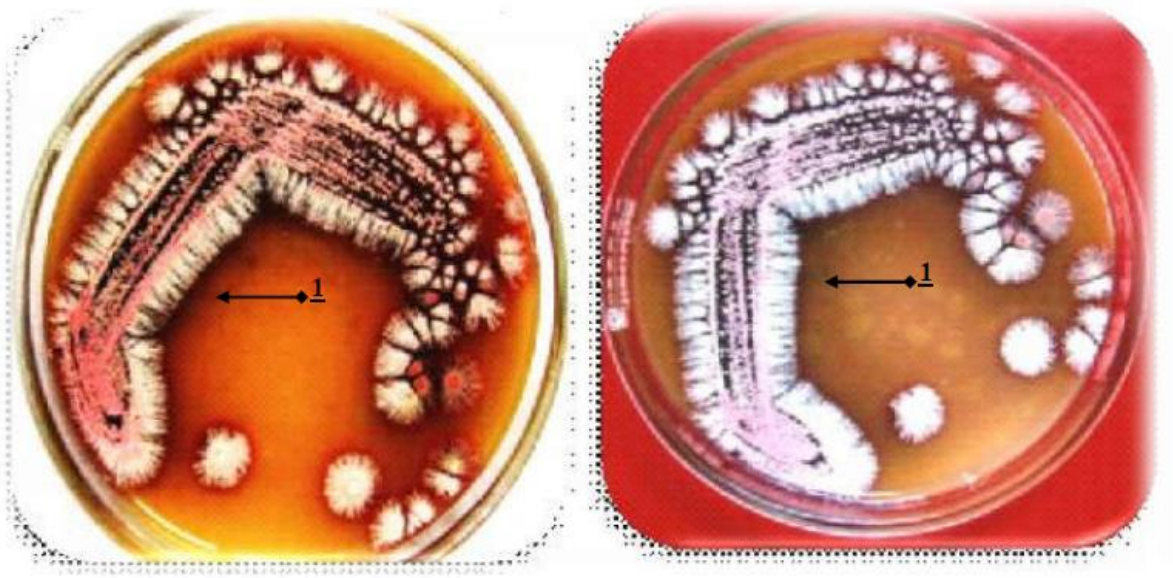


Figure 12 : Pigments diffusibles produits par diverses actinobactéries dans le milieu amidon-caséine agar (Anandan, 2016).

2.4. Les bioherbicides

Une autre application intéressante de l'actinobactérie est l'utilisation de leurs métabolites secondaires comme herbicides contre les mauvaises herbes. *Streptomyces saganonensis* produit des herbicides (herbimycine) qui contrôlent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones. L'espèce de *S. hygroscopicus* produit de la coformycine carbocyclique et de l'hydantocindine, ce qui peut réduire la synthese l'aclenylosuccinate en augmentant le contenu de l'ATP (**Pillmoor, 1998**).

2.5. Les agents antitumoraux

Le cancer constitue l'une des pathologies humaines responsables d'un grand nombrede 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 ou encore la Mitomycine C. 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 (**Sobell, 1985**).

2.6. Les 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* (**Fjaervik et Zotchev, 2005**).

Les antagonistes microbiens sont largement utilisés en lutte biologique contre les champignons phytopathogènes. L'activité antagoniste de *Streptomyces* vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires et des enzymes hydrolytiques **(Prapagdee *et al.*,2008)**. En plus des *Streptomyces*, d'autres genres appartenant aux actinomycètes sont également des producteurs de molécules possédant des activités antifongiques **(Sanglier et Trujillo, 1997)**.

Les ramicidines sont par exemple des antifongiques produits par une souche *d'Actinomadura bibisca* **(Tomita *et al.*,1990).**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.

La Figure 13 résume les différentes molécules bioactives produites par les actinomycètes.

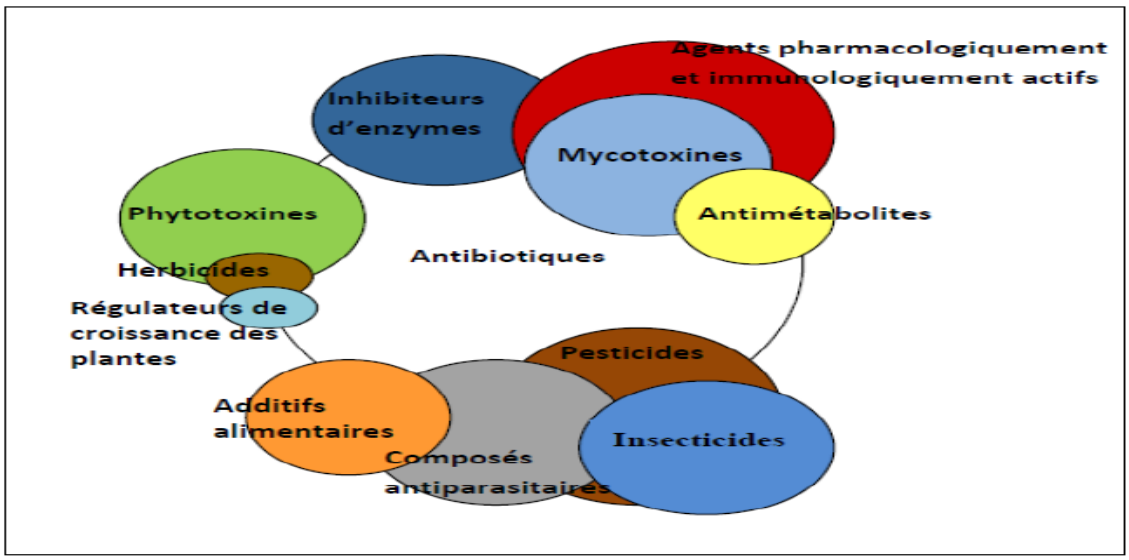


Figure 13 : Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes (Conn, 2005).

2.7. Les antibiotiques

2.7.1. Définition

Le terme désigne tout composé chimique élaboré par un microorganisme (ou produit par synthèse), dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des microorganismes sensibles. On distingue les activités bactériostatiques, qui inhibent la croissance microbienne, et les activités bactéricides, qui tuent. Souvent un même antibiotique peut exercer l'un ou l'autre de ces effets, en fonction de sa concentration **(Prescott, 1995).**

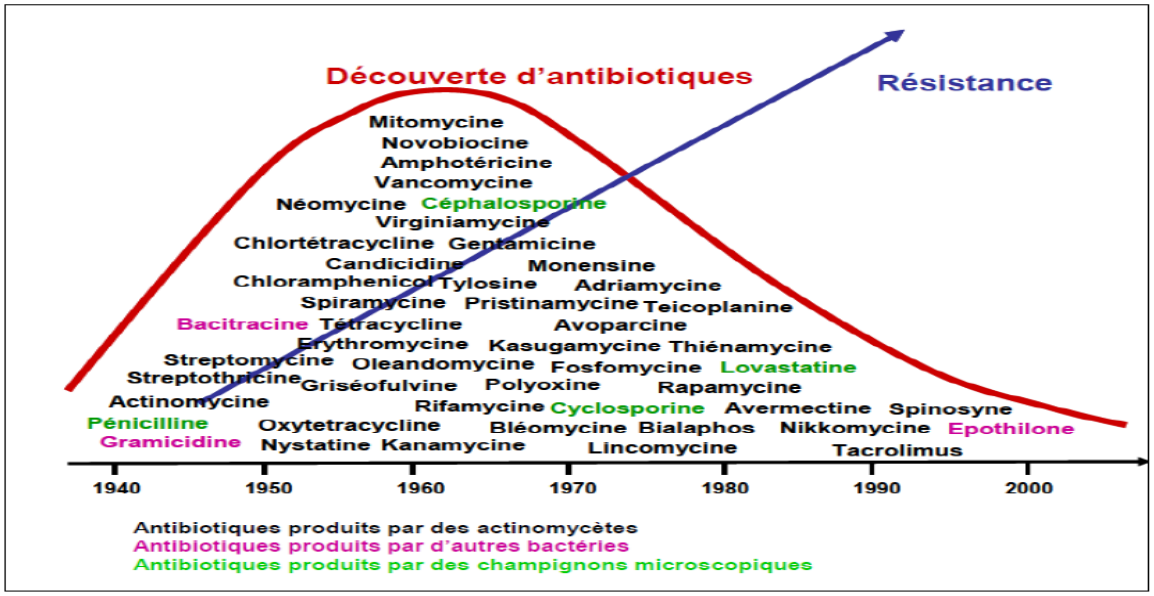


Figure 14 : Age d'or de la découverte des antibiotiques, d'après Hopwood (2007).

2.7.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotique utilisés a l'heure actuelle peuvent êtres classés selon plusieurs critères

- Spectre d'action (qui peut être large ou étroit).
- Mode d'action (agit sur la membrane plasmique, paroi, génome).
- Type d'action (bactériostatique, fongistatique, bactéricide ,fongicide).
- Origine (métabolisme respiratoire).
- Structure chimique qui est la plus utilisés.

Les actinomycètes produisent un grand nombre d'antibiotiques de structure chimique très variée (aminoglycosides , anthracyclines , glycopeptides , beta-lactamines , tetracyclines , macrolides , nucliosides ……) qui ont de nombreuses applications

thérapeutiques **(Okami et Hota , 1988).** Le tableau 05 montre la classification des antibiotique en fonction de leurs structures chimiques.

Tableau05 : classification des antibiotiques selon leur structure chimique (Berdy et *al*., 1987) .

Familles d'antibiotiques		Sous-familles	Exemples
1	Antibiotiques contenant des glucides et apparentés	Glucides purs	- Nojirimycine
		Aminoglycosides	Streptomycine, Gentamicine, Kanamycine
		Glycopeptides	C-glycosides :Vancomycine N-glycoside : Streptothricine
		Glycolipides	Moenomycine
2	Lactones macroliques	Macrolides	Streptomycine, Erythromycine
		Polyènes	Amphotericine, Nystatine, Candicine
		Macrotétrolides	Tétranactine, nonactine
		Macrolactames	Rifamycine
3	Quinones et apparentés	Composés polycycliques condensés linéairement	Tétracyclines
		Anthraquinones	Anthracyclines
		Naphtoquinones	Rubomycine
		Benzoquinones	Mitomycine, Saframycine
4	Acides aminés et peptides	Dérivés d'acides aminés	Pénicilline, Cyclosérine, Nocardicine
		Homopeptides	Bacitracine, Yyclosporine
		Hétéropeptides	Aculéacine
		Peptolides	Valinomycine
5	Hétérocycles à azote	Hétérocycles non condensés	Caerulomycine, Mildiomycine
		Hétérocycles condensés	Phénazines, Herbicidine
6	Hétérocycles à oxygène	Polyéthers	Monensines, Nigéricine
7	Composés alycycliques	Dérivés du cycloalcane	Cycloheximide
		Terpènes	Acide marasmique
		Oligoterpènes	Acide fusidique
8	Aromatiques	Dérivés benzéniques	Chloramphénicol
		composés aromatiques condensés	Griséofulvine
		Composés non benzéniques	Fusariocine
		Autres dérivés aromatiques	Novobiocine
9	Aliphatiques	Dérivés des alcanes	Elaiomycine
		Dérivés d'acides carboxyliques	Cérulénine
		Composés soufrés ou phosphorylés	Fosfomycine

2.7.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotique ont divers modes d'action pour inhiber ou contrôler la croissance de microorganismes , comme l'inhibition de la formation de la paroi cellulaire) pénicillines, céphalosporines , novobiocines) , les protéines (tétracyclines , aminosides) la synthèse de la membrane cytoplasmique (polymyxines , tyrothricine) **(Cloutier , 1995)** .(Voir Fig 15).

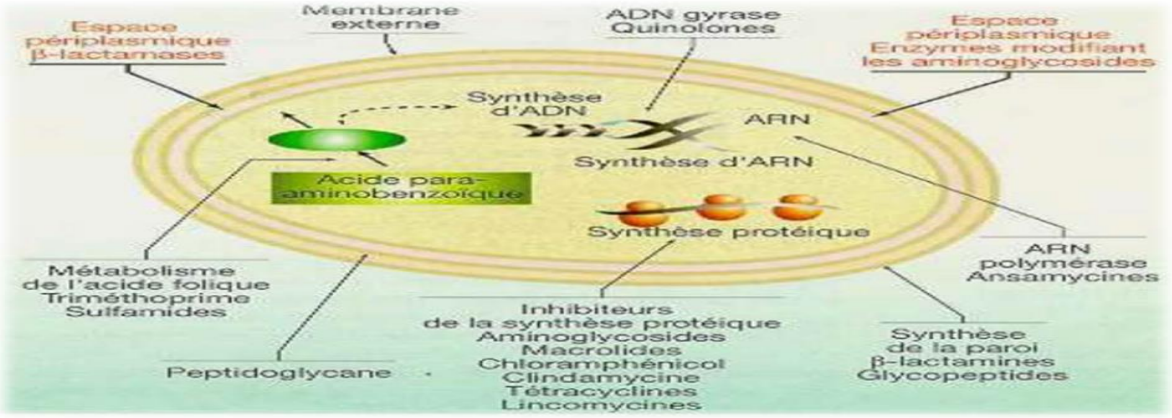


Figure 15 : Principales cibles et modes d'action des antibiotiques (Davies et Mazel , 1997).

Les antibiotiques produits par les actinomycètes manifestent des activités biologiques de nature principalement antibactérienne, antifongique, anticancéreuse, antivirale ou antiparasitaire **(Leveau et Bouix, 1993 ; Oskay et *al.*,2004 ; Gebreselema, 2013).** Les antibiotiques présentent un intérêt significatif dans le domaine de la santé humaine, animale, de l'élevage et de l'agriculture **(Leveau et Bouix, 1993)**.

Les antibiotique sont synthétisés a la fin de la phase exponentielle (trophophase) et au début de la phase stationnaire (idiophase).

Les *Streptomyces* ont la capacité de produire différents types d'antibiotiques environ plus de 80% à l'heure actuelle **(Demain, 2000).** La néomycine et la streptomycine sont parmi les antibiotiques produits essentiellement par *Streptomyces griseus* et *Streptomyces fradiae,* qui sont caractérisés par leur propriété bactéricide, fongicide et herbicide contre les Streptocoques multi-résistants et les bactéries à Gram positif **(Rudi et *al.*,2012).** Jusqu'à présent, environ 10 % de ces molécules sont largement utilisées dans le domaine thérapeutique humain et vétérinaire, ainsi qu'en agriculture et en industrie agroalimentaire, le type de composé synthétisé est propre à chaque espèce productrice **(Demain, 2000 ;Colombié, 2005).**

Parmi les souches isolées d'actinomycètes, 50 à 75% produisent des antibiotiques et sont à l'origine des 70% des antibiotiques naturels connus dans le monde (tableau 06) **(Okami et Hotta, 1988).**

Tableau 06 : Importance relative de groupes microbiens producteurs d'antibiotiques (Okami et Hotta, 1988).

Microorganismes producteurs d'antibiotiques	Pourcentage (%) du total des antibiotiques décrits
Lichens et algues	0,8
Champignons	
Penicillum	4,1
Aspergillus	3,0
Fusarium	1,2
Cephalosporium	0,8
Autres champignons imparfaits	5,4
Basidiomycètes et Ascomycètes	5,0
Bactéries	
Pseudomonadaceae	1,3
Bacillaceae	7,0
Autres Eubactéries	1,7
Actinomycètes	69,7

2.7.4. Extraction et purification des antibiotiques

Bien qu'il n'y ait pas de technique universelle de purification des antibiotiques, l'étude des antibiotiques ou d'autres substances naturelles nécessite plusieurs techniques et étapes d'extraction par différents solvants de polarité différentes et protocoles de purification. Les méthodes de purification choisies dépendent des caractéristiques physicochimiques prédéterminées complexe actif et de sa concentration dans le milieu de production. D'après **Badji , (2006)** l'extraction liquide –liquide à l'aide de solvants non miscibles avec l'eau est une opération de purification partielle.

La figure 16 résume un des protocoles qui peut être utilisé pour la purification d'antibiotique décrit par **Zitouni, (2005).**

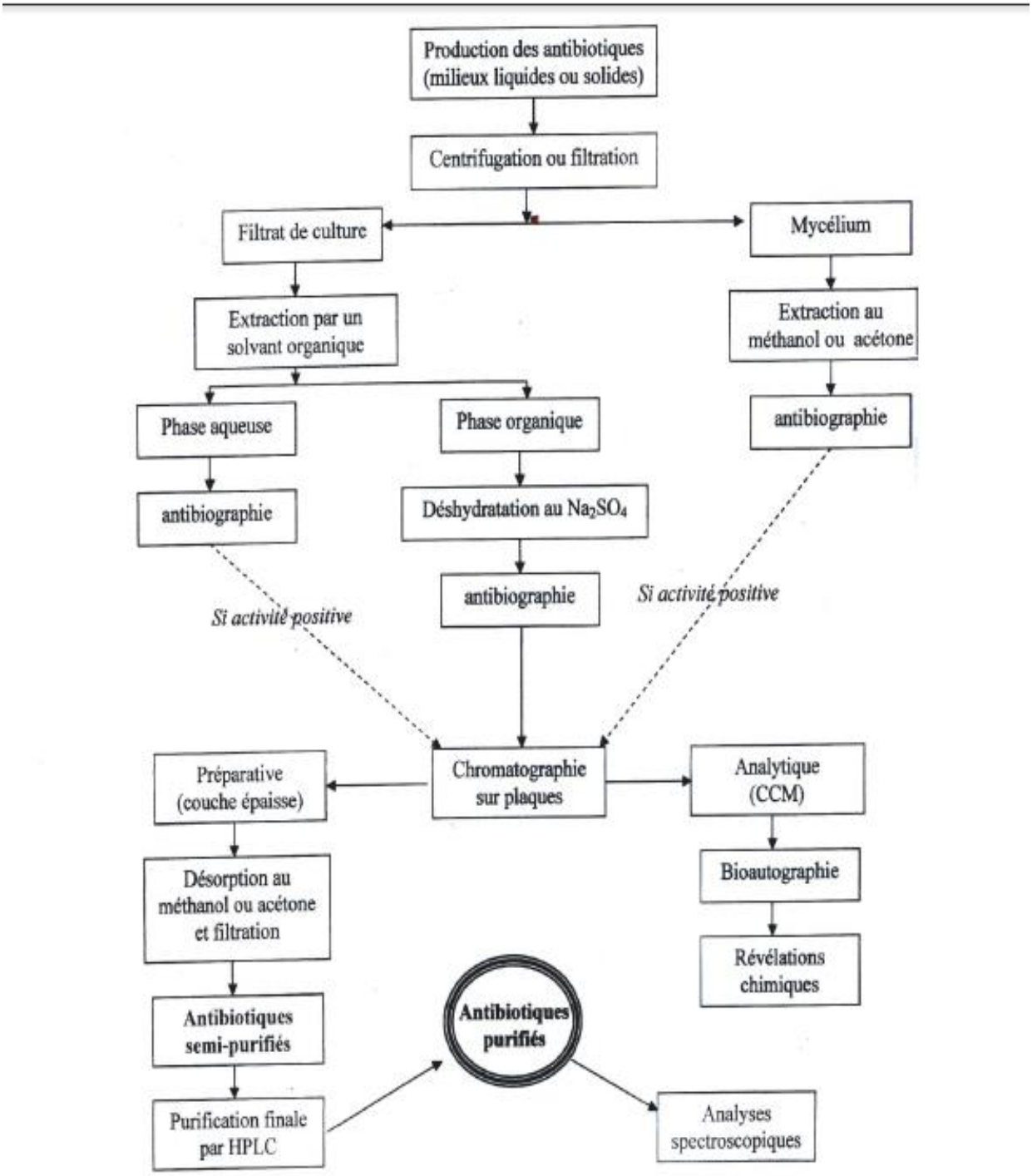


Figure 16 : Exemple de Protocol générale de purification des antibiotiques (Zitouni, 2005).

CHAPITRE IV :

MATERIEL ET METHODES

IV. Matériel et Méthodes

1. L'objectif

L'objectif principal de notre travail est basé sur l'isolement et identification des actinomycètes isolés de différents sols de la région de Médéa. Afin de sélectionner les souches les plus performantes afin de les caractériser pour la production d'antibiotiques.

2. Période et lieu de stage

Notre étude expérimentale a été réalisée au début du mois de février jusqu'au mois de mars 2020, au niveau des laboratoires pédagogiques de microbiologie, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université Yahia Feres Médéa.

3. Origine du prélèvement des échantillons de sols

Quatre échantillons de sol Médéen ont été prélevés selon la technique de **Pochon** et **Tardieux, (1962)** à partir :

- La région de ktitten qui se situe à 2 km de Médea.
- La région d'Ouzera qui se situe à 8 km au sud de Médéa.
- La région de Tamezguida qui se situe à 10 km au nord-ouest de Médéa.
- La région d'Oued Harbil qui se situe à 16 km au sud-ouest de Médéa



Figure 17 : Carte géographique des sites du prélèvement des échantillons région de Médéa. (Google maps).

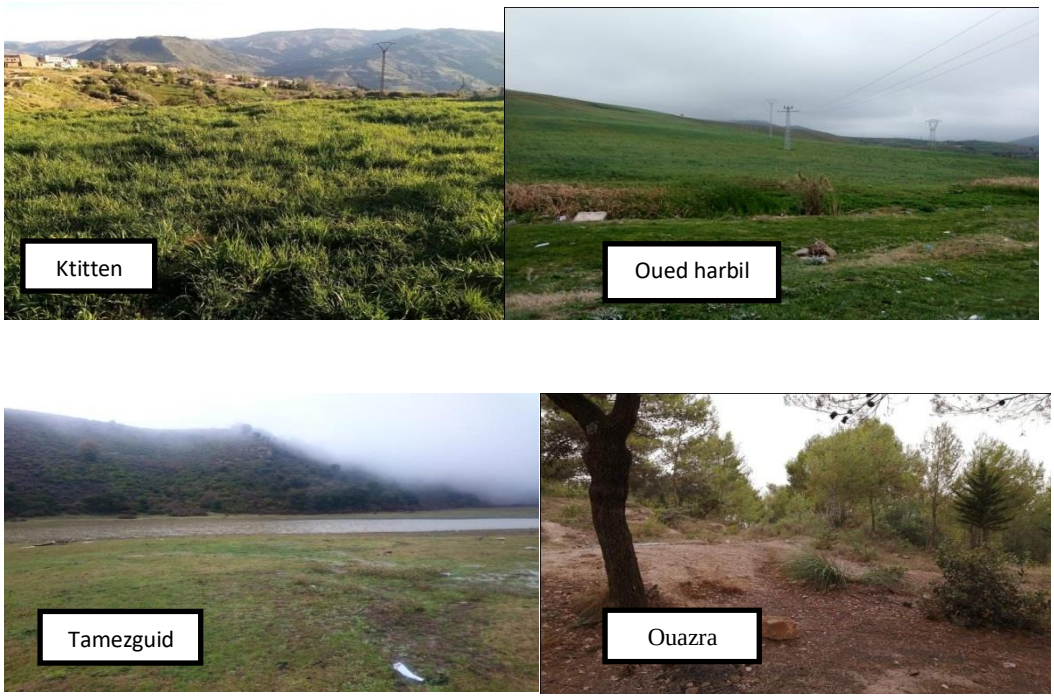


Figure 18 : Les zones de prélèvement

les prélèvements des échantillons ont été effectués durant les mois de février et mars dans des conditions d'asepsie a l'aide d'une cuillère stérile à 15 cm de profondeur en écartant les cinq premiers cm de la couche superficielle du sol, une quantité de sol est déposée dans un flacon, préalablement stérilisé, après élimination des gros débris (pierres, racine, etc.) **(Kitouni, 2007).**Les quatre échantillons ont été transportés le plus rapidement possible au laboratoire et à température ambiante. (**Pochon et Tardieux, 1962).**



Figure 19 : Les points des prélèvements des échantillons.

A : les quatre points de prélèvement ; B : l'estimation de fond et C : la profondeur d'un échantillon (15 cm).

4. Isolement des actinomycètes

4.1. Traitement

Le traitement consisté à ajouter à 1g de sol de l'échantillon provenant de la région de ktitten , 0,1g du carbonate de calcium (CaCO3), le mélange a été porté à incubation à une température de 28°C pendant 7jours **(Cavalla et Eberlin, 1994 ; Boussaber et *al*., 2012).**

4.2. Dilution

1g d'échantillon de sol traité ou pas a été dilué dans 09 ml d'eau physiologique stérile (NaCl 9g/l) puis des dilutions décimales ont été réalisées de (10^{-1}à10^{-5}) puis agitées au vortex deux fois pendant 5 mn.

Les isolats ont été obtenus à partir des échantillons de sol par la méthode des suspensions dilutions **(Badji et *al*., 2005 ; Boussaber el *al*., 2012).**

4.3. Les milieux de cultures

4.3.1. Milieux de cultures utilisés pour les échantillons de sol non traités :

L'isolement a été effectué en utilisant des milieux de cultures différents pour les régions (Ktitten et Tamezguida) :

-Bennett **(Badji, Riba et *al.* ; 2005).**

-YEGA **(Badji, Riba et *al*., 2005).**

-Czapek **(Lawrence, 1956).**

4.3.2. Le milieu de culture utilisé pour le sol traité

L'isolement a été effectué en utilisant un milieu de culture pour le prélévement de la région de ktitten :

-Bennett **(Badji, Riba et *al.* ; 2005).**

Les milieux sont tous additionnés de nystatine à 50 µg/mL sauf pour le milieu Bennett(sol ktitten non traité).

Les compositions des milieux sont données en annexe N° 02.

4.4. Ensemencement

Après homogénéisation du contenu du tube à essai contenant la suspension la plus diluée, un volume de 0.4 ml a été prélevé a l'aide d'une micropipette de chaque dilution. Puis, L'ensemencement a été effectué par la technique d'étalement en surface par râteau (Le râteau en verre est flambé avant et après chaque utilisation), ensuite, Trois (03) boites de Pétri ont été ensemencées, pour chaque milieu de culture. La procédure est reprise pour toutes les dilutions préparées, allant du plus dilué au moins dilué, jusqu'à l'ensemencement à partir de l'échantillon mère .Les boites de pétri portante les indications nécessaires (dilution, type du milieu de culture, origine de souches, la date) sont ensuite incubées à 28° C pendant 7 à 14 jours **(Lemriss *et al.*,2003)**. Par la suite, Des boites de chaque milieu ont été incubées, sans ensemencement, comme témoins de stérilité des milieux de culture.

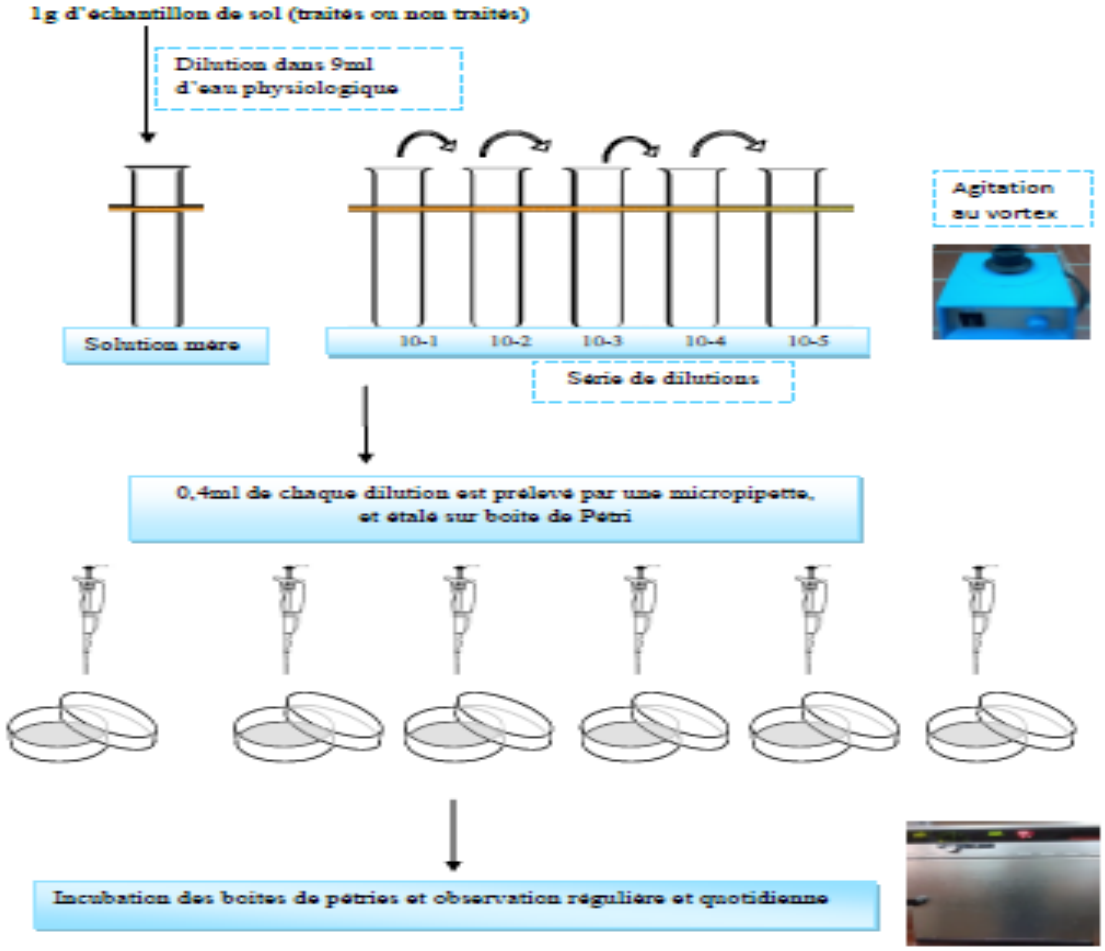


Figure 20 : Les étapes suivies pour l'isolement d'actinomycètes à partir d'échantillons de sol.

5. Repiquage et purification des isolats

La purification des isolats est une étape essentielle dans notre travail, elle permet d'obtenir des colonies bien isolées et pures. Les différentes colonies obtenues ayant un aspect caractéristique des actinomycètes ont été repiquées sur le même milieu d'isolement par la méthode des stries puis incubées pendant 5 jours à 30°C.

6. Conservation des souches

6.1. Conservation sur gélose pente

Une conservation des isolats d'actinomycètes de courte durée a été effectuée sur gélose inclinée en tubes à essai ou sur milieu YEGA et conservée a 4°C.**(Botton et *al.*,1990).**

6.2. Conservation à long terme

A partir d'une culture pure, quelques colonies d'actinomycètes sont prélevées à l'aide d'une anse stérile puis mises en suspension dans un eppendorf stérile contenant 1ml de glycérol 20% (v/v) **(Isik et *al.*,1999).** Les eppendorf sont immédiatement placés dans un congélateur à-20 °C ou -80°C.

7. Caractérisation macroscopique et microscopique des isolats

7.1. 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, présence ou absence d'une masse sporale, etc.). L'importance de la croissance et le développement du mycélium aérien sur chaque milieu sont observés. La pigmentation du mycélium aérien et celui du substrat (le dos de la colonie) et la présence de pigments diffusibles dans la gélose autre que les pigments mélanoïdes sont notés **(Shirling et Gottlieb, 1966).**

7.2. Observation microscopique

Les isolats d'actinomycètes sont observés au microscope optique en utilisant la coloration de Gram et la technique de culture sur lamelle.

7.2.1. Coloration de Gram

C'est un procédé qui permet de diviser les bactéries en deux groupes distincts : les bactéries à coloration de Gram positive et les bactéries à coloration de Gram négative. Elle permet aussi de déterminer quelques caractères morphologiques des actinomycètes, concernant les indications sur leurs formes (principalement la forme des filaments) et la présence ou l'absence de spores isolées. **(William et *al*., 2010).**

Les frottis sont colorés en premier lieu par une solution de violet de Gentiane qui est un colorant basique, pendant une minute. Ensuite les lames sont rincés par une solution iodo-iodurée (Lugol) qui agit comme mordant en augmentant les interactions entre le colorant et les cellules afin que celle-ci soient contrastées. Sans rincer, les lames sont inclinées à 45°, les frottis sont décolorés par lavage d'alcool. Par la suite, les lames sont rincées à l'eau distillée afin d'arrêter la décoloration. Enfin, les frottis sont recolorés par un colorant basique de couleur rose : la Fuschine, pendant une minute puis rincés abondamment à l'eau de robinet. Une fois séchées, les lames sont examinées au microscope optique à immersion (Gx100)**(Prescott et *al.*, 2010)**.. Les résultats sont photographiés à l'aide d'un appareil photographique numérique **(Delarras, 2007; Duraipandiyan et *al.*, 2010).**

7.2.2. Culture sur lamelle

L'observation *in situ* de la morphologie des chaines de spores et l'étude du mycélium aérien et du mycélium de substrat ont été effectuées selon la technique décrite par **Cross(1989).** Cette technique consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans un milieu YEGA de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec celui-ci (Figure 21). Une goutte de chaque inoculum des souches est déposée sur la lamelle en contact avec le milieu gélosé.

Après 21 jours d'incubation à 30 °C, la lamelle est retirée soigneusement de la gélose entrainant quelques fragments du mycélium, elle est ensuite déposée sur la lame avec une goutte de bleu de méthyle et examinée au microscope optique à grossissement (Gx100).

(Holt et *al.*, 1994).

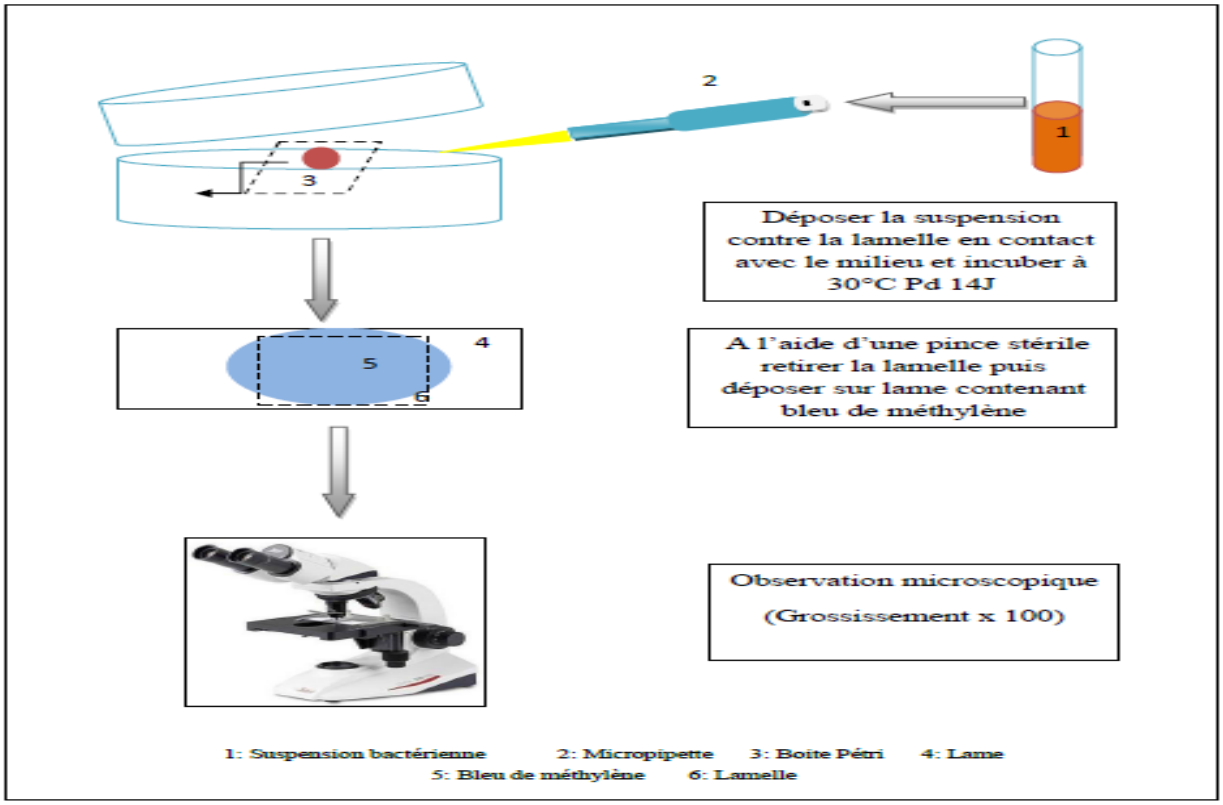


Figure 21 : Technique de culture sur lamelle (Holt et *al.*, 1994).

CHAPITRE V : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Isolement des souches d'actinomycètes

Dans le but d'augmenter la probabilité d'isolement de genres rares, trois milieux de culture sélectifs des actinomycètes ont été employés. Au total, 60 isolats présentant une morphologie caractéristique des actinomycètes ont été obtenues par la méthode des suspensions-dilutions et cela à partir de 2 échantillons de sol prélevés dans la région de Médéa.

Les résultats présentent :

-36 résultats (+) ont été obtenues à partir des échantillons de sol de (Tamezguida et Ktitten) non traités.

- 8 résultats (+) ont été obtenues après traitement de sol de Ktitten avec le $CaCO_3$.

(Voir Tab 07).

-18 résultats (+) ont été obtenues à partir de sol Ktitten isolé sur milieu Bennett sans antifongique. (Voir Tab 08).

- Le milieu Bennett permet l'obtention d'un plus grand nombre d'actinomycètes.

-Le sol provenant de Ktitten et traité au $CaCO_3$, puis isolé sur milieu Bennett a donné un faible rendement des actinomycètes par rapport à l'isolement effectué sans traitement.

- Le sol provenant de Tamezguida est plus riche en actinomycètes.

-Il a été constaté que le nombre de colonies d'actinomycètes est plus élevé lorsque les échantillons ne sont pas traités.

Tableau 07 : Résultats d'isolement en fonction de milieu de culture et répartition géographique et traitement avec le $CaCO_3$**.**

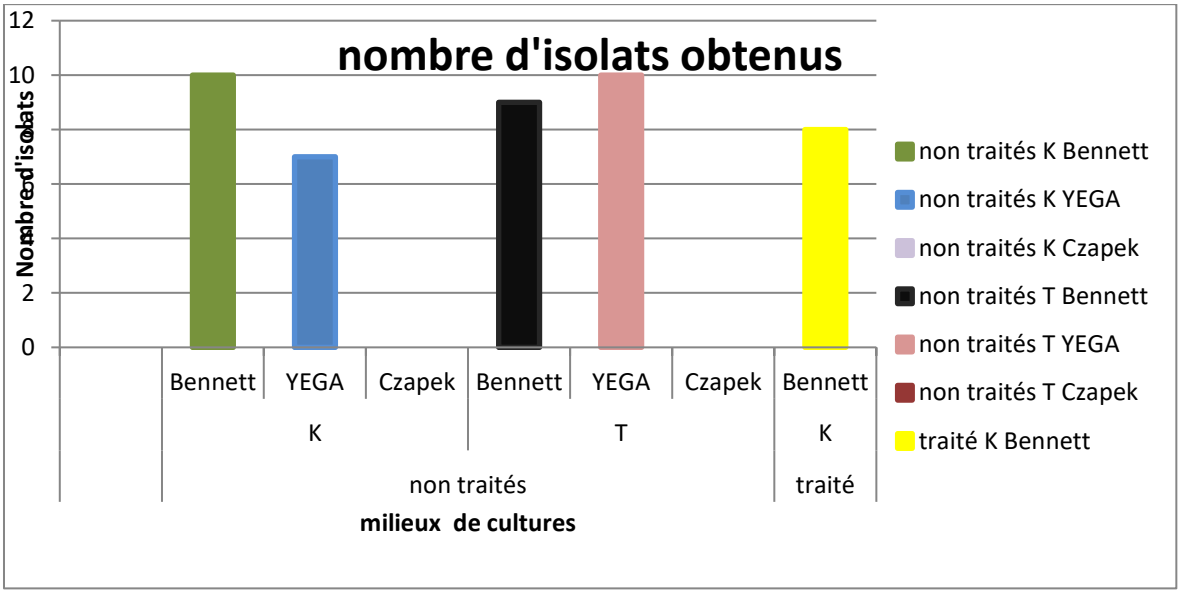
Echantillons	**Non traités**						**traités**
Origine du sol	K			T			K
Milieux utilisées	Bennett	YEGA	Czapek	Bennett	YEGA	Czapek	Bennett
Nombre d'isolats obtenus	10	7	0	9	10	0	8
Pourcentage	22.72%	15.9%	0%	20.45%	22.72%	0%	18.18%

K : Ktitten ; T : Tamezguida

Tableau 08 : Résultats d'isolement en fonction de milieu de Bennett sans antifongique et sans antibactérien.

Echantillon	**Non traité**
Origine du sol	K
Nombre d'isolats obtenus	18

K : Ktitten



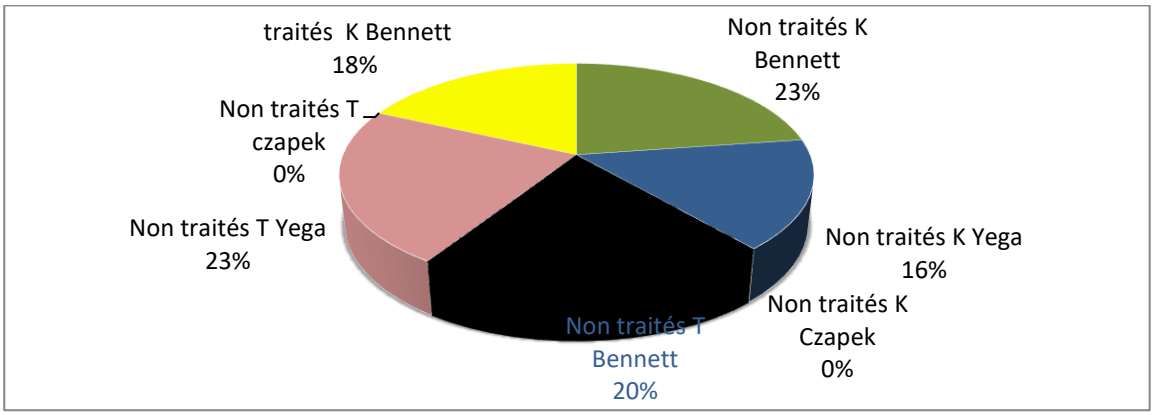


Figure 22 : Nombre d'isolats d'actinomycètes obtenus en fonction des trois milieux de culture sélectifs utilisés pour les sols traités et non traités.

2. Caractérisation macroscopique

Après 8 jours d'incubation sur milieu Bennett, les colonies d'actinomycètes ont été reconnues par leurs aspects morphologiques macro et microscopiques.

Les actinomycètes ont un aspect morphologique très caractéristique. Les colonies apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, avec un mycélium moyen aérien et végétatif en général, certains d'entre eux présentent seulement un mycélium de substrat. Les colonies de taille moyenne, poudreuses, régulières ou non, aplaties ou bombées, avec une odeur terreuse caractéristique des actinomycètes à croissance lente. On a constaté que les échantillons de sol sont riches et diversifies en actinomycètes.

Les résultats montrent après l'isolement qu'il existe une multitude de souches d'actinomycètes isolés du sol des deux régions.

La forme est variable bombé, ronde, aplatie etc. possédant un mycélium végétatif surmonté d'un mycélium aérien de couleurs différentes jaune, blanche, beige.

Tableau 09 : Caractéristiques des souches d'actinomycètes

Caractéristiques	Variétés
Aspect Couleur de mycélium aérien	Poudreux/pâteux Rose, noire, Gris marron blanc beige
Couleur de mycélium de substrat	Marron gris blanc beige
Couleur de pigment	Jaune, marron, noir



Figure 23 : Actinomycètes isolés des échantillons traités sans antifongique sur milieux Bennett .prise personnelle 2020**.**





Figure 24 : Actinomycètes isolés des échantillons non traités sans antifongique sur milieux Bennett . Prise personnelle, 2020.



Figure 25 : Actinomycètes isolés des échantillons avec l'antifongique sur milieux et YEGA. Prise personnelle, 2020.



Figure 26 : Résultats de purification des Actinomycètes sur milieu YEGA .Prise personnelle, 2020.

Au cours de notre étude, le criblage orienté en employant 3 milieux d'isolements différents a été choisi pour mettre en évidence des actinomycètes dans le sol. Cette stratégie s'accorde parfaitement avec celle de plusieurs auteurs. En effet, d'après **Cross, (1982)**, il est conseillé de varier les stratégies et les milieux d'isolements dans le même screening afin de réussir l'isolement de la plupart de la flore actinomycétale présente dans l'échantillon.

La période d'incubation pour l'isolement des actinomycètes peut être critique sachant que les non-streptomycètes actinomycètes ne poussent pas rapidement en comparaison avec les *Streptomyces sp.* **(Cross, 1982).** D'après nos résultats, On remarque que la plupart des Isolats sont apparus après un temps d'incubation de 24 et 72 h, ce qui suggère que ces isolats pourraient appartenir, entre autre, au genre Streptomyces puisque les espèces de ce genre ont une croissance relativement rapide **(Goodfellow, 1983)** ; alors que les autres isolats qui ont Poussé après 4 et 18 jours ont une forte chance d'être des non-streptomycètes actinomycètes.

L'analyse des résultats obtenus nous permet de mieux connaître la richesse des différents sites de prélèvement en actinomycètes.

L'observation de l'envers de la colonie (dos de la boite de Pétri) permet de déterminer la couleur du mycélium de substrat qui peut être (blanc, beige, rouge, orangé, jaune, vert, violet, marron, brun ou noir). Selon **Shirling et Gottlieb (1976)**, l'identification des actinomycètes repose en grande partie sur les caractéristiques morphologiques qui sont

considérées comme des caractères stables. Les colonies apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, de taille moyenne, poudreuses, régulières ou non, aplaties ou bombées, avec un mycélium moyen aérien et végétatif en général, certains d'entre eux présentent seulement un mycélium de substrat **(Boudemagh *et al*., 2005).**

La richesse des milieux YEGA et Bennett en source de carbone, d'azote et peptone rend ces milieux favorable au développement des actinomycètes.

Le sol provenant de Tamezguida est plus riche en actinomycètes, ceci peut s'expliquer par le fait que d'une part le site Tamezguida est plus riche en matière organique que les autres sites, bien que le degré de salinité des autres sites soit inférieur à celui de l'échantillon Tamezguida. Ceci est corroboré par la bibliographie des actinomycètes qui affirme que le nombre des actinomycètes est corrélé positivement avec le taux de matière organique quel que soit le taux de la salinité du sol **(Lee et Hwang ,2002).**

En fait, le nombre d'actinomycètes isolées est inversement proportionnel aux taux d'humidité des échantillons **(Sykes et Skinner, 1973 ; Basilio, 2003).**

Tous les échantillons contiennent une flore microbienne variée qui peuvent gêner l'isolement des actinomycètes **(Crawford et *al.*,1993).**

Toutefois, aucun isolat d'actinomycètes n'a été obtenu sur milieu Czapek, En effet, les boites de ce milieu ont été complètement envahies par des champignons du fait qu'il contient l'extrait de malt favorable aux développements de ces microorganismes. Le taux de contamination obtenu peut être explique par le fait que la nystatine n'est pas un antifongique à large spectre de plus il existe des champignons résistants a ce dernier d'où la nécessite d'utiliser des Antifongiques à larges spectres ou une combinaison d'antifongiques.

Le mélange des antifongiques nystatine (50 µg/mL) et actidione (50 µg/mL) ajouté au milieu sélectif a permis d'éliminer presque la totalité de contaminants fongiques indésirables.**(Belyagoubi . ,2014).**

Le milieu Bennett permet l'isolement d'un grand nombre d'actinomycètes avec plusieurs champignons et d'autres bactéries que les actinomycètes, de ce fait on a utilisé la nystatine comme un antifongique pour inhiber la croissance des champignons.

Nous n'avons pas utilisé d'antibiotique vu son indisponibilité.

Williams et Davies (1965) ont testé cet antifongique sur des champignons isolés du sol, ils ont constaté qu'il a inhibé leur croissance en majorité à une concentration de 50 µg/ml, en plus cet antifongique lorsqu'il est testé sur les actinomycètes n'a pas altéré leur croissance.

Les avis concernant l'utilisation des antibiotiques sont cependant controversés. Selon **Porter *et al.* (1960)** la plupart des antibactériens utilisés inhibent beaucoup d'actinomycètes. En revanche, **Dulaney et *al.* (1955)**, **Williams et Davies (1965),** recommandent l'utilisation d'un mélange d'antifongiques et d'antibactériens pour l'isolement des actinomycètes.

Il a été constaté que le nombre de colonies d'actinomycètes est plus élevé lorsque les échantillons ne sont pas traités.

Le milieu Bennett traité avec le $CaCO_3$ a donné un meilleur rendement, ce résultat correspond aux résultats **de Kitouni (2007), Bousseaber et *al*., (2012)** qui font apparaitre que le milieu Bennett permet un bon isolement d'actinomycètes par rapport au milieu Glucose-asparagine. Cela peut être du a la richesse de milieu Bennett en matière organique.

Le traitement chimique au carbonate de calcium ($CaCO_3$) rend les milieux moins favorables à la croissance des bactéries autre que les actinomycètes et donc minimise les contaminants (**El-Nakeeb et lechevalier, 1963, ;Cavalla et Eberlin ,1994).**

D'autre chercheurs ont trouvé que Le prétraitement à la chaleur des échantillons de sol, est l'une des techniques de traitement les plus utilisées dans les programmes de screening des Actinomycètes, il conduit lors des isolements, à une réduction importante du nombre de bactéries indésirables (**Agate et Bath, 1963, Pisano *et al*., 1987, Nonomura et Hayakawa, 1988, Kyung et Yong, 1996**). Ces techniques de chauffage, utilisent la grande résistance des Arthrospores des actinomycètes vis-à-vis des conditions de sécheresse et de température (**Agate et Bath, 1963**, **Shearer, 1987, Nonomura et Ohara, 1969, Cavala, 1994**).

3. Observation microscopique

La culture sur lamelle permet une observation du mycélium aérien et de substrat avec les spores sans altérer leurs structures et leurs morphologies. Sur cela, les résultats obtenus après observations au microscope optique, sont représentés par la Figure 27.

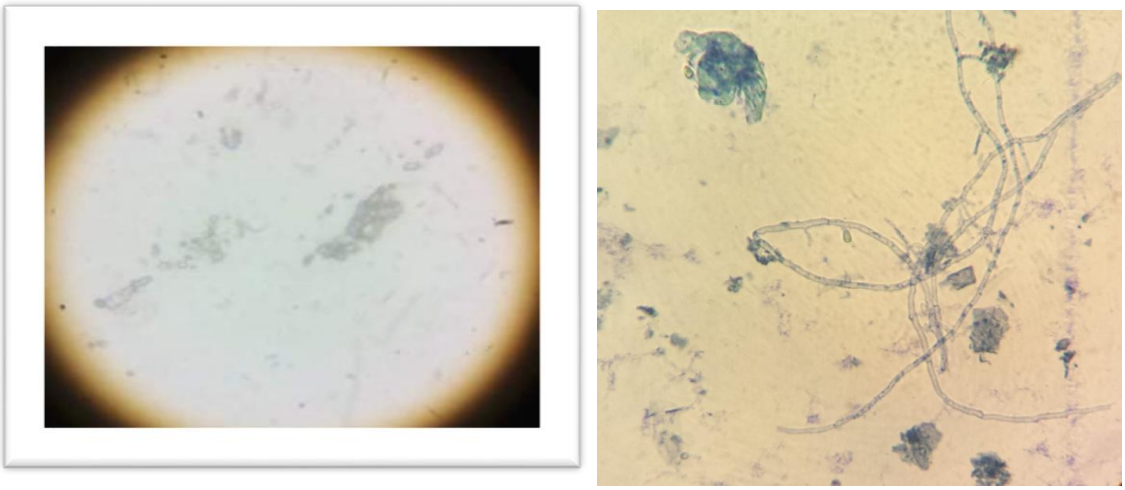


Figure 27 : observation microscopique de culture sur lamelle des Actinomycètes. Prise personnelle, 2020.

Les résultats de la coloration reflètent la composition chimique de la paroi des bactéries d'une manière générale particulièrement celle des actinomycètes.

L'observation microscopique gx100 à l'immersion confirme que la plupart des souches d'actinomycètes sont des bactéries à coloration de Gram+, les actinomycètes possèdent une forme filamenteuse fins ramifiées et enchevêtrés.

La figure 28 montre quelques aspects microscopiques des isolats après une coloration de Gram.

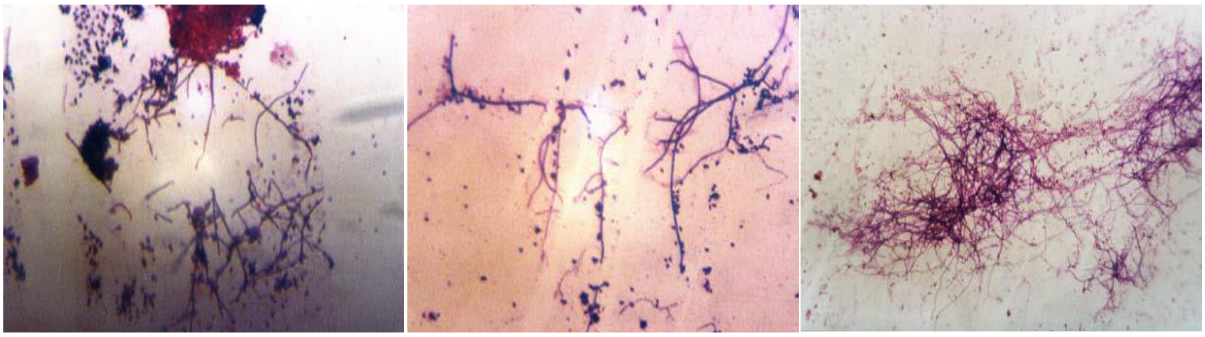


Figure 28: Coloration de Gram des souches d'actinomycètes isolés. (Loucif.,2006).

D'après, **Balasubramaniam et *al*. (2011),** les couleurs du mycélium aérien ne sont pas les mêmes que celui de substrat. La plupart ont une couleur blanchâtre et d'autres des couleurs différentes telles que le gris, beige, marron. Ces résultats confirment les résultats constatés.

Le mycélium végétatif apparait sous forme d'un réseau très ramifié d'hyphes longue et enchevêtrés non fragmentés ni sporulés sur le milieu utilisé. Il supporte un mycélium secondaire abondant et bien sporulé. Les chaînes de spores immobiles en forme spiralées qui se fragmentent en spores sphériques dont le nombre qui varie d'un même milieu de culture peut atteindre 40 spores par chaîne **(zidane et Maddi, 2017).**

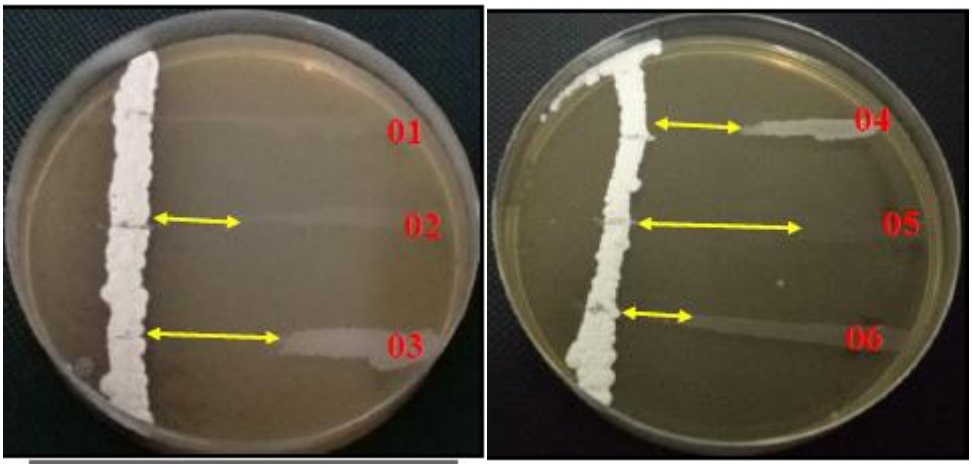
Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, elles constituent le groupe bactérien le plus variable et le plus importants de point de vue écologique et biotechnologique. Lorsqu'ils évoluent sur un substrat solide, comme la gélose, ils se développent sur la surface et à l'intérieur du milieu de culture **(Prescott, 2010).** Ce qui explique leurs dénominations en grec « Champignons à rayons » ou « champignons rayonnants » **(Gottieb, 1973).**

Il s'est avéré que les souches actinomycètes isolées sont des bactéries filamenteuses, à coloration de Gram positive. D'après **Aouiche*et al.* (2012), Rosilma*et al*. (2016)**, ont confirmé que tous les actinomycètes sont de Gram positive.

4. Production d'antibiotique

4.1. Méthode des stries croisées

Le spectre d'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes a été recherché par la méthode des stries croisées vis-à-vis des souches de bactéries à Gram positives et des souches bactériennes à Gram négatif, afin de sélectionner les isolats les plus producteurs de substances actives.



02,03,04,05 : bactérie gram positive 01,06 : bactérie gram négative

Figure 29 : Activité antibactérienne de quelques isolats d'actinomycètes vis-à-vis les bactéries pathogènes testées par la technique des stries croisées (Ouazen et *al.* ,2019).

Les résultats de **Dahmani** et **Bouzid (2017)** obtenus montrent une importante activité antibactérienne vis-à-vis les microorganismes testés par la méthode des stries croisées.

À partir des isolats d'actinomycètes obtenus, ont trouvés que :

- Des isolats produisant des Substances antibactériens contre les bactéries Gram positif et des bactéries Gram négatif.
- isolats ne sont pas active contre tous les bactéries teste.

ces résultats convergent parfaitement avec ceux de **Mustafa et *al.*, 2004**, qu'été observé chez les isolats *streptomycessp*(5c8) .

-Des isolats ont montré une forte activité antibactérienne contre la pluparts des bactéries gram négatif. Par contre, pour les bactéries cibles Gram positif assez faibles. Ces résultats non comparables avec les travaux de **Mellouk et *al.*, 2016**; qui montre que l'isolat *Streptomycètes sp*(TA4) est fortement active contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) avec des diamètres d'inhibition de 40 et 32 mm, respectivement; aucune activité n'est enregistrée contre les bactéries à Gram négatif.

Donc l'activité antibactérienne contre les bactéries-tests de Gram négatif apparait plus Importante que celle contre les bactéries Gram positif.

-Des isolats montrent une activité antibactérienne variable sur toutes les bactéries-test à coloration de Gram positive. Alors que, des isolats montrent une activité à la fois sur les bactéries-test à coloration de Gram positive et négative. D'autre part, un isolat produit des molécules bioactives qui ont un spectre étroit et qui agit vis-à-vis une seule bactérie cible.

C'est probablement la structure de la paroi cellulaire, constituée principalement de peptidoglycane, qui rend de groupe de bactérie à Gram positif plus sensible aux extraits. Par contre la paroi des bactéries à Gram négatif est formée d'une couche externe composée d'un complexe lipopolysaccharides, des phospholipides et des protéines. Cette couche est une barrière sélective ce qui les rend moins vulnérables aux extraits que les bactéries à Gram positif (**Kim et *al.*, 1994 ; Sateesh*et al.*, 2011 et Singh et *al.*, 2016**). Plusieurs chercheurs ont aussi observé une résistance remarquable des bactéries à Gram négatif par apport à leur homologues bactéries Gram positif (**Ullah*et al.*, 2012**).

Selon **Srivibool et Sukchotiratana,(2006)** ils expliquent que l'absence d'activité vis-à-vis des bactéries a Gram négatives ne signifie pas forcément que la substance est absente ou pas assez active, mais cela peut être du a une mauvaise diffusion de celle-ci, dans le milieu , car les molécules d'antibiotiques pourraient ne pas être polaire ou bien constituées de composés non polaire. Par ailleurs le développement de milieu de culture sélectif est spécifique est nécessaire. C'est pourquoi plusieurs auteurs **(Juntao Feng et *al.*, 2011 ;Ameur et Ghoul et *al* .,2012)** se sont orienté vers l'optimisation des milieux de culture pour une meilleure production d'antibiotique

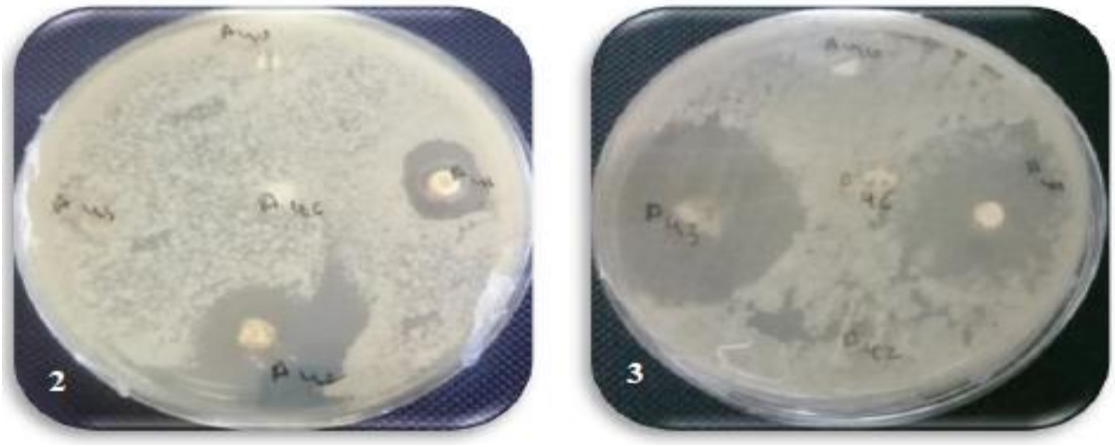
-les resultats obtenues par **Ouazen** et ***al* . ,(2019)** sont montrés actifs envers au moins une bactérie-test avec des zones d'inhibition variables de 0,5 à 39 mm de diamètre, sur le même milieu de culture et d'une bactérie-test à une autre. Tandis que, quelque isolats n'ont montré aucune zone d'inhibition envers aucune bactérie-test utilisée.

-Ces résultats sont semblables avec ceux obtenus par **Elbenday et *al.* (2018)**, qui trouvent que les bactéries Gram– sont plus résistantes que les bactéries Gram+. Ils sont aussi comparables avec les résultats de **Ghadbane (2014),** qui prouve que les isolats testés montrent une forte activité contre la plupart des bactéries Gram+. Par contre, les bactéries cibles Gram- se sont montrées plus résistantes. **Jihani . , (2013)**.

Selon **Alharbi et *al* .,(2012)** ,la production des métabolites antibactériens est parfois influencé par la composition du milieu de culture et les conditions de culture tel que l' aération , agitation, pH , température d'incubation, la salinité ,temps d'incubation, source de carbone et azote, et cela varié de microorganisme a un autre .

4.2. Technique des cylindres d'agar

Afin de comparer et de confirmer l'activité antibactériennes de nos isolats, nous avons utilisé une autre technique celle des cylindres d'agar. Qui montre la sensibilité des bactéries testées vis-à-vis les substances bioactives sécrétées par nos isolats.



02 : bactérie gram positive. 03 : bactérie gram négative.

Figure 30: Activité antibactérienne par la technique des cylindres d'agar (Ouazen.F et *al.,2019).*

Les résultats de **Ouazen** et ***., al*** ont montré que :

- des isolats d'actinomycètes; ont une activité antibactérienne sur au moins une bactérie-test avec des zones d'inhibition variables de 6,5 à 38 mm de diamètre, sur le milieu de culture MH. Tandis que, quelque isolat ne montre aucune zone d'inhibition vis-à-vis les bactéries cibles.

-D'autre part, des isolats ont une activité antibactérienne variable sur toutes les bactéries-test à coloration de Gram positive .ces résultats concordent avec ceux de **sateech et *al*. ,(2012)** ,qui ont isolées à partir de Karwar sur la côté ouest de Inde, ou le nombre d'actinomycète isolées été de 54 souches et dont le nombre de souche active vis-à-vis des germes cibles été de 28 isolats .**Jihani et *al* .,(2012)** ont isolés six souches à partir d'un vielle maison du Maroc sont actives vis-à-vis des bactéries a Gram positif et a Gram négatif ,et dont le germe a été rapproché au *Streptomycessp*. Aussi **Ali alharbi et *al* ., (2012),** ont isolés des souches à partir du sol d'Arabie Saoudite actives vis-à-vis des bactéries a Gram positif et a Gram négatif .

-Certains isolats produisent des molécules bioactives avec un spectre étroit qui agit vis-à-vis une seule bactérie.

-des isolats qui inhibent des bactéries a Gram négatives seulement.

-Cette action est d'intensité variable selon les souches cibles, les résultats de **Ouazen** et ***al* . ,(2019)** confirment ceux de la technique des stries croisées.

Ouazen et ***al* . ,(2019)** ont conclues que des isolats d'actinomycètes ont un large spectre d'action ce qui rend l'optimisation de la production et de la purification de ces métabolites antibactériens souvent difficile (différentes substance antimicrobienne vis-à-vis de chaque type de bactérie).

les résultats de **Ouazen et., *al* (2017)** sont parfaitement cohérents avec ceux obtenu par **Messaoud (2013),** qui a isolé 18 actinomycètes à partir de différents échantillons de sol de la sebkha de Kenadsa (Bechar) et qui possèdent une activité antimicrobienne contre au moins un microorganisme test utilisé. Quinze isolats sont actifs contre la bactérie *S. aureus*, suivie par les bactéries *E. faecalis*et *B. cereus*avec 12 isolats actifs pour chacune. Tandis que la plus résistante est *K. pneumoniae*avec cinq isolats actifs seulement.

Harir (2018), montre que sur 32 isolats, 04 isolats présentent le plus important pouvoir inhibiteur antibactérien vis-à-vis des souches indicatrices *S.aureus*et *B.subtilis*.

AmeurGhoul et., *al* (2012), ont isolé sept actinomycètes à partir d'un échantillon du sol de Sétif (Algérie), dont une appartient au genre *Streptomyces*) et présentent une activité antimicrobienne intéressante

Kitouni (2007), annonce que sur les 45 souches d'actinomycètes isolées, seules 17 souches (37,78%) sont actives sur au moins une des bactéries-tests étudiées.

Zerizer (2014), dit que parmi les 49 isolats cliniques d'actinomycètes aérobies, 45 (soit 91,83 %) sont actifs contre au moins un des microorganismes-tests dont 35 appartiennent au genre *Streptomyces*.

Ouazen et., *al* (2017) ont montré que la technique des stries croisées a donné un résultat plus important d'isolats actifs par rapport à la technique des cylindres d'agar. ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par d'autres auteurs qui évoquent la sensibilité des bactéries à Gram positif aux sécrétions d'actinobactéries par rapport aux bactéries à Gram négatif **(Sabaou*et al.*, 1998 ; Prescott *et al.*, 2002)**. Cette hypothèse peut

nous orienter et nous renseigner sur la nature de ces substances antimicrobiennes. Pour ce qui est de la technique utilisée, la méthode des stries croisées est souvent employée comme premier screening de l'activité antimicrobienne selon **Parthasarathi et *al.*, 2010; Ravikumar et *al*., 2010**; **Baskaran et *al*., 2011; ValanArasu et *al.*, 2012 ; Messaoud, 2013 et Harir, 2018).** C'est une technique simple qui permet de tester l'activité d'une souche d'actinomycète sur plusieurs microorganismes et sur la même boite de pétri.

CONCLUSION
ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Actinomycètes, micro-organismes largement distribués dans la nature, habitent principalement le sol. Ces procaryotes sont largement responsables de la production de divers métabolites comme les antibiotiques.

Le présent travail portant sur «Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices d'antibiotiques», nous a permis l'obtention de 60 isolats d'actinomycète ont été isolées à partir du sol de la région de Médéa (Ktitten , Tamezguida), dont 18 résultats (+) ont été obtenues à partir de sol non traité de ktitten sans utilisation de l'antifongique (nystatine), 36 résultats (+) ont été obtenues à partir des échantillons des sols non traités ; Ktitten et Tamezguida ensemencés sur trois milieux (Bennett ,YEGA et Czapek) et 8 résultats (+) souches d'actinomycètes sont obtenus à partir d'échantillon de sol traité au $CaCO_3$ provenant de ktitten ensemencé sur milieu Bennett avec l'ajout de l'antifongique.

Cependant, après la sélection, la purification, ainsi que, les observations macro et microscopiques, les colonies obtenues ont des tailles moyennes. Leurs forme sont variables bombé, ronde, aplatie, possédant un mycélium végétatif surmonté d'un mycélium aérien de couleurs différentes jaune, blanche, beige etc.

En fin, les résultats obtenus méritent une étude plus approfondie, dont il est souhaitable de :

- Isolement et sélection des souches d'actinomycètes productrice d'antifongique.
- Isolement des souches d'actinomycètes de déférents régions et déférents sols.
- L'extraction et la purification des molécules antibactériennes.
- L'élargissement des tests antagonistes contre de nombreux germes pathogènes à l'Homme (bactéries ou champignon).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- **Agate A.D., Bhat J.V., (1963)** A method for the preferential isolation of actinomycetes from soils. *Antonie Van leeuvenhoek*., 29: 297-304. Cavalla M, Eberlin T. Isolement des Streptomycetes du sol. L'opéron. (1994) 13-17.
- **Alharbi S.A.,Arunachalam C., murugan A.M., Wainwright M., (2012).** Antibacterial activity of actinomycetes isolated from terretial siol of saudia Arabia . journal of foof , agriculture and environment .2 (10),1093-1097.
- **Alliouch-Kerboua C, GacemiKirane D, La Scola B.(2014)** . Activité antimicrobienne d'uneActinomycetale isolée d'une lagune en Algérie. Ann Biol Clin73(2) : 176-80 doi:10.1684/abc.2015.1030.•
- **Ameur. H . Ghoul. M . (2012).** Screening of ActinomycetesProducingAntibacterial Substances and Indole AceticAcid (IAA) and Optimization of Growth and IAA Production Conditions in Streptomyces sp. SF5. International Journal of Pharmaceutical &Biological Archives. Vol 3(3). Pp :545-551.
- **Anandan R., Dharumadurai D., ManogaranG.P**.**(2016)**. Au Introduction to Actinobacteria. In : Dhanasekaran D., Jiang Y. (eds) Actinobacteria : Basics and Biotechnological Applications. Intech, Rijeka, pp.3-37.
- **Anandan R., Dharumadurai D., ManogaranG.P**.**(2016)**. Au Introduction to Actinobacteria. In : Dhanasekaran D., Jiang Y. (eds) Actinobacteria : Basics and Biotechnological Applications. Intech, Rijeka, pp.3-37.antifungal activity of isolated strains. Journal of MedicalMycology. **15**, 39-44.
- **Aouar L., (2006)**. Mise en évidence des actinomycètes aérobies pathogènes impliqués dans les infections traitées au service des maladies infectieuses du CHU de, Constantine.Etude des caractéristiques culturales des souches isolées et purifiées. Mémoire de Magister. En Biochimie et Microbiologie appliquées. Université Mentouri Constantine. P : 4-8
- **Aouiche**, **Adel and Sabaou, Nasserdine and Meklat, Atika and Zitouni, Abdelghani and Mathieu, Florence and Lebrihi, Ahmed (2012).** Activité antimicrobienne de Streptomyces sp. PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxinogènes résistants aux antibiotiques. Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology, vol. 22 (n° 1). pp. 42-51. ISSN 1156-5233.
- **Avril, J, L., & al. (1992)**. Bactériologie clinique.2 éd. Paris : ellipses. Pp. 511.
- **Badji B, Riba A., Mathieu F., Lebrihi, et Sabaou N., (2005).** Antifungal activity of saharan*Actinomadura* strain against various pathogenic and toxigenic fungi. *J. Mycol Med*. **15:** 211 219.

- **Badji B., (2006).** Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura* et *Nonomurea*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou p 226.
- **Badji B., Riba A., Mathieu F., Lebhiri A., Sabaou N., (2005).** Activité antifongique d'une souche d'actinomadura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxinogènes. Journal de Mycologie Médicale. 15, 211-219.
- **Bakour L., (2006).** Caractérisation chimique de nouvelles mutatimicynes synthetisées par *Saccharothrix* SA103 et influence des sources de carbone et d'azote sur la production. Mémoire de magistère, université A. Mira de Bejaia**.**
- **Balasubramaniam V, Ganesh S, Karunanithi V, Perumal P (2011),** Improved Culturing, Screening and Fermentation of Soil Actinomycets for Antimicrobial Agents, Int. J.Pharm and Ind. ResVol (01) Issue (02): P 153-159.
- **BALDACCI,E.(1962).**Tendances actuelles de la classification des actinomycetes .Ann . Soc.BelgeMed.Trop.4:633-646.
- **Barka E., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Klent HP., Clément C., Ouhdouche Y., et Wezel GP van (2016)** Taxonomy, physiology and natural products of Actinobacteria. Microbial MolBiol rev., 80 : 1 – 43.
- **Basilio, A., González, I., Vicente, M.F., Gorrochategui, J., Gabello, A., González, A., Genilloud, O. (2003).** Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *J Appi Microbiol*, 95 : 814–823.
- **Baskaran, M. (2011).** Po-210 and Pb-210 as atmospheric tracers and global atmospheric Pb-210 fallout: A review.Journal of EnvironmentalRadioactivity,102(5), 500–513. https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2010.10.007
- **Beckers.h. J. A. Van Der Hoeven. J. S. (1982).**Growth Rates of Actinomyces viscosus and *Streptococcus mutans* During Early Colonization of Tooth Surfaces in. Gnotobiotic Rats. Infection and immunity. Vol. 35. N°. 2. Pp: 583-587.
- **Belyagoubi .L.(2013)** . Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie, Université AboubakrBelkaïd-Tlemcen ..
- **Bentley S.D; Chater K.F; Cerdeno-Tarraga. A.-M; Challis. G.L; Thomson. N.R; James. K.D; Harris. D.E; Quail. M.A; Kieser. H; Harper. D; Bateman. A; Brown. S; Chandra. G; Chen. C.W; Collins. M; Cronin. A; Fraser. A; Goble. A; J. Hidalgo; T. Hornsby; S. Howarth; C.- H. Huang; T. Kieser; L. Larke; L. Murphy; Oliver. K; O'Neil. S; Rabbinowitsch. E; Rajandream. M.-A; Rutherford. K; Rutter. S; Seeger. K; Saunders. D; Sharp. S; Squares. R;**

Squares. S;Taylor. K; Warren. T; Wietzorrek. A; Woodward. J; Barrell. B.G; Parkhill. J; and Hopwood. D.A. (2002). – Complete genome sequence of the model actinomycete Streptomyces coelicolor A3(2). Nature, 417, 141-147.

- **Berdy J.(2005)** Bioactive microbiol metabolites.J. antibiotechnol.(Tokyo).58,1-26.
- **Berdy, J., Aszalos, A., and McNitt, K.L.(1987)**. Handbook of antibi-otic compounds. XIII. Vols. 1, 2, 3. Microbial metabolites. CRCPress, Boca Raton, Fla.
- **Berthelin, .&Toutain, F., (1979).** Biologie des sols. In Duchafour P. &Souchier B (eds) Pédologie. 2. Constituants et propriétés du sol. Masson, Paris. P121-160.
- **Blanc. D. (1985)**. Les Structures Hors Sol INRA Ed Louis.Paris. p409.
- **Bloem, J., Lebbink, G., Zwart, K. B., Bouwman, L. A., Burges , S., Devos, J. A. & De Ruiter, P.C., (1994).** Dynamics of microorganisms, microbivores and nitrogen mineralization in whinter wheat fields under conventional and integrated management. Agriculture, Ecosystems andEnvironment 51, P129-143.
- **Botton B., Breton A., Fevre M., Guy Ph., Larpent. & Veau P.,(1990).** Moisissures utiles et nuisibles (importance industrielle). Masson, France.pp48-98.
- **Boucheffa K., (2011).** Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyèniques : Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits. Mémoire de Magister. En microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes. Université Abderrahmane Mira Bejaia. P : 3-15.
- **BOUDEMAGH A., KITOUNI M**., **BOUGHACHICHE F., HAMDIKEN H., OULMI L., REGHIOUA S., ZERIZER H., COUBLE A., MOUNIEE D., BOULAHROUF A. et BOIRON P., (2005).** Isolation and mlecular identification of actinomycetes microflora of some saharian soils of South-East Algeria (Biskra, El-Oued and Ouargla).
- **Boudjelal-bencheikh .F.(2012).** Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus*sp. AH97 .Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole nationale superieure agronomique .El-harrachalger.
- **Boudjella H., (2007).** Etude taxonomique et des proprietes antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens et caracterisation des principaux antibiotiques secretes par trois souches. These de Doctorat institut National Agronomique El-Harrach (Alger).p177.
- **Boudouch.O., (2009)**. « Étude De Dépollution Des Sols Par Extraction Sous Pression Réduite .Application Au Traitement Des Composes Organique Volatiles ». Thèse De Doctorat. Institut National Des Sciences Appliquées De Lyon.

- **Boulaine, J., (1989)**.Histoire Des Pédologues Et De La Science Du Sol. Ed. INRA. 285P.
- **Bourass,N . (2006).** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèced'actinomycète, Saccharothrixalgeriensis. Thèse de Doctorat. Université de TiziOuzou (Algerie). pp 186.
- **Boussaber E., Kadmiri I. M., Hilali L., Hilali A., (2012).** Comparaison de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes isolées de milieux variés. ScienceLib Editions Mersenne. 121203 (4).
- **Boussaber E., Kadmiri I. M., Hilali L., Hilali A., (2012).** Isolement des souches productrices de substances antifongiques. ScienceLib Editions Mersenne. 121203 (4).
- **Brady N.C., Weil R.R., (2002).** The nature and properties of soils. 13th edition. Pearson Education, Inc., New Jersey, USA. 960p.
- **Breton B, Mikolajczyk T, Danger JM, Gonnet F,Saint-Pierre S, Vaudry H (1989)** Neuropep-tide Y (NPY) modulates in vitro gonadotropinrelease from rainbow trout pituitary glands.Fish Physiol Biochem 7, 77-83.
- **Calvet, R., (2003).** Le Sol : Propriétés Et Fonctions. Tome 1 : Constitution Et Structure, Phénomènes Aux Interfaces. Ed. France Agricole. 456 P.
- **Cavalla M., Eberlin T**., **(1994).** Isolement des streptomyces du sol. L'Opéron. XIX, 13-17.
- **Chater, K. (1999).** David Hopwood and the emergence of Streptomyces genetics. Int Microbiol, 2(2): 61–68.
- **Cheraiti N et Gacemi Kirane D (2012).** Isolement des souches d'Actinomycètes productrices de nouvelles molécules antifongiques. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 6, N°1, p : 18-34.
- **Chun J., Youn H. D., Yim, Y. I., Lee H., Kim M.Y., Hah Y.C., Kang S. O., (1997).** Streptomyces seoulensis sp.nov.Int J Syst Bacteriol 47, 492-498.
- **Clement , M ., et Lozet, J. , (2011).** Dictionnaire encyclopédique de science du sol collection :sciences sup company, baltimore, U.S.A. company. Canda,pp.79-82 curves.eur J Biochem.240 .p584-591.Collections. In Hawks worth D. L. (ed.) *The biodiversity* of microorganisms and invertebrates: itsraie in susrainable agriculture. CAB International. Wallington, UK. 17-29P.
- **Cloutier MJ**, **(1995).** antibiotics mechanisms of action and of and of the acquisition of résistance,Am J Pharm Educ , 59.

- **Colombié. V. (2005).** Description de la production de spiramycine par Streptomyces ambofaciens.Modélisation métabolique, simulation et capteurlogiciel. Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées deToulouse. pp174.
- **Conn, V.M. (2005)**. - Molecular Interactions of EndophyticActinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University. pp 29.
- **Conn. V.M. (2005).** - Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University. pp 297. dans : Starr M.P., Stolp H., Truper H.G., Ballows A. et Schlegel H.G. The prokaryote.
- **Cornil A.V., (1890) .**Les bactéries et leur role dans l'étiologie et l'histologie p 213..Denationalizing Science: The Contexts of InternationalPractices. Kluwer Academic Publishing: Dordrecht.
- **Crawford D. L., Lynch J. M., Whipps J. M., Ousley M. A.,(1993)**. Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. Applied and Environmental Microbiology., 59: 3899-3905.
- **Cross T., (1989)**. The actinomycetes II. Growth and examination of actinomycetessome guidelines. In Williams S. T., SHARPE M. E. and HOLT J. G., (1989). Bergey s Manual of Systematic Bacteriology. Volume 4. Williams and Wilkins. Baltimore. P2340 – 2343.
- **Cross, N. (1982).** Designerly ways of knowing.Design Studies, 3(4), 221e227.
- **Dahmani.F.,Bouzid.W. (2016-2017).** Activité antimicrobienne des actinobactéries isolés de la rhizosphère de *Daucus sahariensis* Murb. Mémoire de master en biotechnologie,Université Mohamed Boudiaf-M'sila.
- **Delaunay S., Rondags E. etGermain P. (2003)**. Production d'antibiotiques par biotechnolgies. Techniques de l'ingénieur. Opérationsunitaires, génie de la réactionchimique. J 6 008 1-12.
- **DellarasC .(2007).** Microbiologiepratique pour le laboratoired'analysesou de contrôle sanitaire, Tec & doc Lavoisier.P: 492.
- **Demain AL, Sanchez S. (2000).** Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot (Tokyo)*. **62(1)**:5-16.
- **Dommergues Y.,Mangenot F., (1970).** Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie Editeurs, paris.Pp 23,27, 29.
- **Donadio, S., Sosio, M., Lancini, G. (2002).** Impact of the first Streptomyces genome sequence on the discovery and production of bioactive substances. Appl Microbiol Biotechnol, 60(4) : 377–80.

- **Duchaufour, P.,(1984).** Abrégés De Pédologie. Ed. Masson. Paris, 220P.
- **Dulaney,E., Larsen,A., Stapley,E.(1955).** A note on the isolation of microorganisms from natural sources. Mycologia,47:420-422.
- **Duraipandiyan .v ,sasi . A.h. ,islam .v.i.h., valanarasu .m , Ignacimuthu . S. (2010).** Antimicrobialproperties of actinomycetesfrom the soil of Himalaya. Journal de Mycologie Médicale vol 20, 15-20.
- **El-Nakeeb,M., Lechevalier,H.(1963).**Selective isolation of aerobic actinomycetes. Appl.Microbiol.,11:75-77.
- **Farris, M.H., Olson, J.B. (2007).** Detection of Actinobacteria cultivated from environmental samples reveals bias in universal primers. *Lett Appl Microbiol*, 45(4): 376–381.
- **Fjaervik E, Zotchev SB. (2005).** Biosynthesis of the polyene macrolide antibiotic nystatin in Streptomyces noursei. *Appl Microbiol Biotechnol.* **67(4)**:436-43. Prapagdee B, Chanprasert M, Mongkolsuk S. Bioaugmentationwith cadmium-resistant plant growth-promoting rhizobacteria to assist cadmium phytoextraction by Helianthus annuus L. Chemosphere 2013; 92: 659-66.
- **Focht, D. D. & Martin, J. P., (1979).** Microbiological and Biochemical Aspects of Semi-arid.
- **Gazenko SV, Reponen TA, Grinshpan SA, Willeke IC, (1998). Analysis of airborne actinomyeete spores with flurogenic substrates. Applied and Environmental Microbiology. 64:4410-4415.**
- **Gebreselema .G ;S.Samuel& R. Nagappan (2013)**. Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 6. P: 426-435
- **Gerard T.,(2001)**. Microbiologie. 2eme édition. Canada. P : 152-154
- **Gobat .J.M, Aragno M et Matthey, W., (2010)**. Le Livre (Le Sol Vivant : Base De Pédologie Et Biologie Des Sols). 3eme Edition Revue Et Augmentée .150-165P.
- **Gobat J.M., Michel A.,Willy M., (2010).** Le sol vivant bases de pédologie- Biologie des sols .Ed 3ème :revue et augmentée, page423.
- **Goodfellow .M.Stach .J.E.M .Brown.R.Bonda .A.N.Jones .A.L.Mexson .J.Fielder .H.P.Zucchi .T.D.Bull.A.T.Verrucosispora Maris .sp.(2012**) .nov.a novel deep .sea .actinomycète isolated from a marine sediment which produces Abyssomicins .Antonie van leeuwenhoek .101.185.193.
- **Goodfellow M et Williams S.T., (1983).** Ecology of actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37: 189-216.

- **GOODFELLOW M. et WILLIAMS S.T., 1983**. Ecology of actinomycetes.Ann. Rev. Microbial., 37: pp 139-216.
- **Goodfellow M., (2012).** Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In: Goodfellow et al. (Editors). Bergey Manuel of Systematic Bacteriology, The Actinobacteria, second edition, vol. V, part A,New York, Dordrecht, Heidelberg, London. pp. 1–28.
- **Goodfellow, M., Whitman, W. B. & Bergey, D. H. (2012)**.Bergey'sManual of Systematic Bacteriology: Volume 5, The Actinobacteria, 2 edn. NewYork, NY: Springer.
- **Googlemaps,surhttps://www.google.com/maps/place/M%C3%A9d%C3%A9a/@36.2839431,2.7028379,12z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x128f6ac2a7224223:0x150a7a4487ede93e!8m2!3d36.2637078!4d2.7587857 , consulté 20 /08/2020 a 14 h 30.**
- **Gottlie D., (1973).** Général considération and implication of the Actinomycetales. In: actinomycetales caracteristics and practical importance. Edited by G. Sykes and F. A. Skinner. AcademicPress, London, New York.
- **Harir. M.(2018).**Caractérisation des molécules bioactives produits des souches d'actinobactéries isolées des sols arides e semi arides d'Algérie. Thèse de Doctorat.
- **Hawks worth, D. L. &Mound.,(1991)**. Biodiversity databases: the crucial significance of fungi.
- **Henis, Y. I., Gutman, O., and Loyter, A. (1986)** Exp. Cell Res. 160, 514-526.
- **Higashide** E. **(1984).** "The macrolides: properties, biosynthesis and fermentation" Drugs pharm.Sci, 22, pp. 452-508.
- **Hillel, D. (1982).** Introduction to Soil Physics. Ed. Academic Press. New York, USA, 364P.
- **Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T**., (**1994)**. Bergey's Manual of Determination. Bacteriol. 9th ed.
- **Hoorman J. J., R. Islam.,(2010).** Understing soil microbes and nutrient recycling. FACT SHEET. Agriculture and Natural Resources. The Ohio State University, pp.1-5.
- **Hoorman, J. J. et R. Islam.,(2010)**. Understingsoil microbes and nutrientrecycling. http:/www.Univ-Lyon 1 .Fr/mycolgie/Sitejabo_myco/enseignements/Thèses autres.htm. industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. 34-428P.
- **Hopwood DA. (2007).** Streptomyces in Nature and Medecine. The Antibiotic Makers. Oxford Ed.
- **Hopwood, D.A. (1973).** Genetics of the Actinomycetales. Soc Appl Bacteriol Symp Ser, 2: 131–53.
- **Hopwood, D.A. (2003).** Streptomyces genes: from Waksman to Sanger. J Ind Microbiol Biotechnol, 30(8): 468–471.

- **Hsu, S. C., and Lockwood, J. L. (1975).** Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *Appl. Microbiol.* 29, 422–426. doi: 10.1128/aem.29.3.422-426.1975
- **Isik K., Chun J., Hah Y.C. and Goodfellow M. (1999).***Nocardia Salmocida*: a fish pathogen. *Inter. J. Syst. Bacteriol.* 49: 833-837.
- **Jihani S, K Brodolin, M Iraqui, S Ibnsouda,andAHaggoud. 2012.** Isolation and molecular identification of antibiotic-producing actinomycetes from an old house in the media of Fez, Morocco. African Journal of Microbiology Research 6, 7370-6.
- **Juntao feng,wugang Zhang, Lirong Han , Xing Zhang.(2011).**statistical optimization of mediaum components to improve the antibiotic activity of streptomyces sp.19G-317.African Journal of Agriculture Research.6(19),4424-4431.
- **Khanna M.,Solanki R., Lal R., (2011)**, Selective isolation of rare actinomycetes producing novel antimicrobial compounds .
- **Kieser T., Bibb M. J., Buttner M. J., Chater K F. and Hopwood D. A. (2000).** Practical *Streptomyces* Genetics. *The John Innes Foundation, Norwich, UK* : 613.
- **Kim J, Rees D C. (1994).** Nitrogenase and biological nitrogen fi-xation.Biochemistry-US.33: 389–397
- **Kitouni M. (2007).** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaires des souches actives et caractérisation préliminaires des substances élaborées. *Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine. Algérie*.
- **Kitouni, M. (2007).** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extremes. Identification moléculairedes souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat en Microbiologie appliquée. Université Mentouri-Constantine. Algérie. 170p.
- **KollerEmilian**.,(**2004).** Traitement Des Pollutions Industrielles. Edition DUNOD Paris. 277-347P.
- **KYUNG MAN YOU and YONG KEUN PARK (1996).** A new method for selective isolation of actinomycetes from soil. Biotechnology Techniques. **10**: 541-546.
- **LACEY J., (1981)**. Airborne actinomycete spores as respiratory allergens.Z.Bakt. Microbiol . Hyg. Suppl ., 11: pp 243-250.
- **Lamari L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis.* Thèse de Doctorat. Université de Tizi Ouzou (Algerie).**
- **Lansing M., P John., A Donald., (2003).**Microbiologie. 2ème édition .Française.P : 599-541.
- **Larpent JP, Sanglier JJ. (1989).** In: Biotechnologie des antibiotiques. Paris: Ed.Masson. p. 481.

- **lavelle, P &spain,A.V., (2001).**Soil ecology.kluwer academic publishers. Dordrecht, the Netherlands.p654 .
- **Lawrence C.H**. **(1956).** A method for isolating actinomycetes from scabby potato
- **Le Minor , L and Véron M. 1989. Bactériologie médicale, 2éme édition , Flammarion Médecine-Sciences, Paris.2:428-432.**
- **LECHEVALlER M.P., 1981.** Ecological associations involving actinomycetes.In: Actinomycetes. Schaal and Pulverer (Eds.) . Zbl. Bakt. suppl., 11 , Gustav Fisher Verlag, Stuttgart-New-York., pp 159-166.
- **Leclerc H, Buttiaux R., Guillaune J., Wattre P. (1977).** Microbiologie Appliquée. *Doin éditeurs 8-place de l'odéon 7500-Paris VI-P* : 68-69.
- **Lee, J.Y., Hwang, B. K. (2002).** Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Can J Microbiol*, 48(5): 407–417.
- **Lemriss . S. Laurent.F. Couble.A. Casoli .E. Lancelin .J.M .Saintpierre-Bonaccio .D .Rifali.S. Fassouane.a. Boiron.p.(2003).**screening of non polyenic antifungal metabolites produced by clinicalisolates of actinomycetes . Candian journal Microbiology.49(11) .669-74.
- **Leung, K. T, Errampalli, D., Cassidy, M., Lee, H., Hall, B., Trevors, J. T, Okamura, H. & Bach, H.-J.,(1997).** A case study of bioremediation of pollued soil: biodegradation and toxicity of chlorophenols in soil. In: Van Eisas J. D, Trevors J. T & Wellington E. M. H. (eds) Modem soil microbiology. Marcel Dekker, INC. New York. 577-605P.
- **Leveau .J .Y &M Bouix ., (1993).** Microbiologie Industrielle. Paris. P : 424-439.
- **Lichtman H., Watson J., Ginsberg V., Pierce J.V., Stokstad E.L., Jukes T.H. (1949)**. Vitamin B12b some properties and its therapeutic use. Experimental Biology and Medicine., 72(3), 643-645.
- **Locci R, Sharples G.(1984).** Morphology, p 165–199.InGoodfellow M, Mordarski M, Williams ST (ed), The biology of Actinomycetes. Academic Press, London, United Kingdom.
- **Locci R.**(**1976).** Developmental micromorphology of actinomycetes.In :Actinomycetes,the boundary microorganisms.Arai T.Ed.,*Tokyo.*170-180.
- **Loucif .L (2006).**recherche des souches d'actinomycetes productrices de molecules antibacteriennes « cas des eaux du lac OUBEIRA d' ELKALA». Mémoire magister en microbiologie .universite BADJI MOKHTAR ANNABA.

- **Loucif K. (2011).** Recherche de substances antimicrobiennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. *Mémoire de magistère en microbiologie. Université Mentouri-Constantine.*
- **Madigan, A.-M., Hopman, C., & Levin, Y. (2011)**,ApJ,738, 99
- **Maier, R. M., I. L. Pepper et C. P. Gerba.,(2000)**. Microorganisms in surface soils.
- **Mariat F. et Sebald M., (1990).** Les actinomycètes. In: Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.935-949
- **Mariat F., Sebald M.1990.** Actinomycétales..In:LeMinor. L., Véron M. Bactériologie.médicale.Medecine-Sciences.Flammation.France. Deuxième partie : 933-999
- **Masand M. et Menghani E. (2015).** Antimicrobial activity of isolates of actinomycetes from soils of semi arid regions of Rajasthan. *Word journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Volume 4, Issue 04,1549-1556.*
- **Massaoudi, (2013).** Contribution à la caractérisation des souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la Sebkha de Kenadsa (Bechar). *Mémoire de magistère en microbiologie appliquée. Université Abou Bakr Belkaid-Telemcen. Algérie.*
- **McKinney. R.E.(2004)**. Environmental Pollution Control Microbiology. CRC Press : New York. Pp: 448.
- **Mdigan M.T.,Martinoko J .M.StahlD.Clark D.P .(2011)**..Brock biology of microorganism .13th Edition Hardcover .ISBN.-13:978-0-321-64963-8.
- **Mellouk I., Meklat A., Nalubega F., Chaabane C., Fawzia., Ait Yahia A., Bounas N., Mokrane S., Mathieu F., et Sabaou N., (2016)** Description et potential antagoniste d'une nouvelle souche d'actinobactéries isolée de la cote de Tipaza., 9(1): 65-78.
- **Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F.**et **Lafon R., (1991).** Les maladies des plantes maraichères. p48.
- **Michael M& M John (2007)** Biologie des microorganismes.11ème édition. France.7p
- **MISHRA S.K., GORDON R.E. et BARNETT D.A., 1980**. Identification of Nocardiae and streptomycetes of medical importance. J.Clin. Microbiol., 11: pp728-736.
- **Moore B. S., Trischman J. A., Seng D., Kho D., Jensen P. R., Fenical W. S., (1999)**. Antiinflamatory depsipeptides from a marine streptomyceetes. J. Org. Chem.64. 1145-1150.

- **Moore, J. C. & De Ruiter, K. H.,(1991)**. Temporal and spatial heterogeneity of tropic interactions within below-ground food-web. Agriculture, Ecosystems and Environment 34,P371-391.
- **Mustafa O., Usame T., and Cem A., (2004)** .Antibacterial activity of some actinomycetes isolated fromframing soils of turkey.African Journal of Biotechnologie., 3(9): 441-446.
- **Nanjani. S. G & Soni. H. P. (2011)**. Isolation and characterization of extremely halotolerant and halophilic organisms from dwarka and veraval. Bioinformatica .Vol: 1. N°: 1. Pp: 1-15.
- **NOMURA H., OHARA Y., (1969).** The distribution of actinomycetes, in soil. VI. A selective plate-culture isolation method for Microbispora and Streptosporangium strains. Part 1. J. Ferment. Technol. 47: 463-469.
- **NONOMURA H., HAYAKAWA (1988).** New methods for selective isolation of soil actinomycetes. In " Okami y., Beppu T. and ozawara H., (ed.) Biology of actinomycetes. Japan scientific societies Press Tokyo. pp 288-293.
- **Normand, P., Navaro, l. &Domenach, A. M.,(2000).** La symbiose fixatrice d'azote Frankia plantes actinorhiziennes. Bulletin de la Société Fançaise de Microbiologie 15,241-244.
- **Nortcliff.S., (2002).**Standardization Of Soil Quality Attributes. Agriculture. Ecosystems&Environment 88(2).161-168P.
- **Okami Y, Hotta K.,(1988)**. Search and discovery of new antibiotics, In: Goodfellow M, Williams ST, Mordarski M (Ed). Actinomycetes in Biotechnology. Academic Press, Inc., San Diego, 33-67.
- **Oskay M ; AU Tamer & C.Azeri (2004)** *antibacterial activity of some actinomycétes isolated from farming soils of Turkey. African Journal of Biotechnology*. Vol, 3(9), P: 441-446.
- **Ouazen F, Ouazen N (2019**) . *Etude de l'activité antibactérienne de quelques isolats d'actinomycètes isolés du sol.mémoire master. Université Djilali Bounaama Khemis Miliana.p38.*
- **Pansu, M. And Gautheyrou, J., (2001)**.L'analyse Du Sol Minéralogique, Organique Et Minérale. Edition Springer.Phynotypic identification of Actinomyces and related species isolated from Human sources.j.clin Microbiol.39(11) :3955-3961.
- **Parthasarathi S., Kim C.J., Lee J.C., Sathya S., Manikandan M., Manikandan T. and BalakriShnan K. (2010).** - Taxonomiccharacterization and UV/VIS analysis of antagonistic marine actinomyceteisolatedfrom South Pacific Coast of Philippines. Int. J. Med. Res., 1, 99-105.pathogen. *Inter. J. Syst. Bacteriol.* 49: 833-837.
- **Perry J. J., Staley J. T., Lory S., (2004).** Microbiologie. Dunod, Paris. P : 497–498.

- **Petrosyan P., Garci'a Valera M., Luz Madrigal A., Huitro'n C., Flores M. E.(2003).** Streptomyces mexicanus sp. Nov., a xylanolitic micro-organism isolated from soil. Int. J. Sys. Ev. Microbiol. 53, 269-273.
- **Pillmoor J.B. (1998)**. Carbocyclic coformycin: a case study of the opportunities and pitfalls in the industrial search for new agrochemicals from nature. Journal of Pesticide Science., 52(1), 75-80.
- **PISANO M.A., SOMMER M. J., *et al*., (1987).**Application of pretreatments for the isolation of bioactive actinomycetes from marine sediments.**27**: 214-217.
- **Pochon J., Tardieux P**., 1962. Techniques d'analyses en ,!1/icrobio-logie des sols, 105 p., Editions de la Tourelle, St-Mandé.
- **PORTER J.N., WILHE J.J. TRESNER H.D., (1960).** Method for preferential isolation of actinomycetes from soils. Appl. Microbiol. **8**: 174-178.
- **Prapagdee B., Akrapikulchart U. and Mongkolsuk S. (2008).** Potential of a soil-borne Streptomyces hygroscopicusfor biocontrol of anthracnose disease caused by Colletotrichum gloeosporioidesin orchid. Journal of Biological Sciences 8(7):1187-1192.
- **Prescott, L.,Harley , J.P.,Klein D.A.(2003).**Microbiologie tomeII.DeBoeked (Berlin),2éme édution, pp539.
- **Prescott., (2010).**Microbiologie. 3ème édition. Paris. P : 589-603.
- **Prescott.M.B.Conger.S.A,(1995**).Information technology innovation: a classification by IT locus of impact and research approach , ACMSIG MIS Database: the DATABASE FOR Advances in information systems ,26(2-3),20-41.
- **Pridham, T.G., Gottlieb D. (1948).** The utilization of carbon compounds by some actinomycetales as an aid for species determination. *J Bacteriol*, 56(1) : 107–114.
- **Rangaswami. G. Bagyaraj. D. J. Bagyaraj D.G. 2004**. Agricultural Microbiology. PHI: New Delhi. Pp: 440.
- **Ravikumar .S .Krishnakumar .S.Inbaneson .S.J.Gnanadesigan .M. (2010**).Antagonistic activity of marine actinomycètes from Arabin Sea coast .Archives of Applied science research . 2(6).273-280.
- **Redlich G/C Et Verdure., (1975).**Le Comportement Physique Des Tourbes En Cours De Culture PHM.Revue Horticole.160. 13-20P.
- **Reghioua,S.Boughachiche,F.Zerizer,H.Oulmi,L.Kitouni,M.Boudemagh,A.Boulah rouf ,A..(2006).Activitéantibactérienned'actinomycètesraresisoléesd'échantillons de sol aride du Sud-est Algérien.Antibiotiques.8: 147-152.**
- **Rickes E.L., Brink N.G., Koniuszy F.R., Wood T.R., Folkers K. (1948).** Crystalline vitamin B12. Science., 107(2781), 396-397.

- **Rudi, E., N. Fadli. (2012).**Community of herbivoryreef fishes in northern Acehnese reef. Depik, 1(1): 37-44.
- **Sabaou, N.(1988)**.Contribution à l' etude des Actinomycetes , des sols des palmeraies Algériennes : systématique et écologie . Thèse de Doctorat en Microbiologie des sols Université des Sciences et de la technologie Houari Boumediene .Alger . 192p.
- **Sabaou, N., Boudjella, H., Bennadji, A., Mostefaoui, A. et al., (1998)**. Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. Sécheresse, 9, 147–153.
- **Sanglier, J.J., Trujill M., (1997).**Substances bioactives produites par les actinomycetes, strategie de selection de souches. Bull Soc Fr Microbiol, 12(3): 269–276.
- **Sateesh V., Naikpail Rathod J.L.,(2011).**Antimicrobial and Cytotoxic activity of actinomycetes from Karwar Coast , West Coast of India. World Journal of Sciences and Technology.1(1),7-10.
- **Sateesh V., Naikpail Rathod J.L.,(2011).**Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar . Journal of Ecobiotechnology.3(10),48-53.
- **Schäfer, J., Jäckel, U., Kämpfer, P. (2010).** Development of a new PCR primer system for selective amplification of Actinobacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 311(2): 103–112.
- **SHIRLING, E. B. & D. GOTTLIEB .(1968).** Cooperative description of type cultures of Streptomyces. III. Additional species descriptions from first and second studies. Internat. J. System. Bacteriol. 18: 318-319.
- **Shirling, E. B., Gottlieb, D**. **(1966).** Methods for characterization of Streptomyces species. Int J Syst Bacteriol, 16(3): 313–340.
- **Shrivastava S., S. F. D'Souza., P. D. Desai.,(2008)**. Production of indole-3-acetic acid by immobilized actinomycete (*Kitasatospora* sp.) for soil applications. Current Sci. 94(25) :1595-1604.
- **Singh V. Haque S .Singh H. Verma J. VibhaK . Singh R. Jawed R. Tripathi. C. K. M .(2016)**.Isolation, Screening, and Identification of Novel Isolates of Actinomycetes from India for Antimicrobial Applications.Vol 07 .01.921
- **Sobell HM. (1985).** Actinomycin and DNA transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **82(16)**:5328-31.
- **Sokolovska I., Rozenberg R., Riez C., Rouxhet P.G., Agathos S.N., Wattiau P.,(2003).** Crabon source-induced modification in mycolic acid content and cell wall permeability of *Rhodococcus erythrepolis* El. Application. Environnment. Microbiology, 69,701.

- **SoleckaJ.Zajko J .Postek M .RajniszA .(2012).**Biologically active secondary metabolites from actinomycètes .Central European Journal of biology 7.373-390.
- **Soltner, D.,(2004).** Distribution Liquid Et Voie Métabollique Chez Quatres Bactéries Gram négative Hydro carbonoclaste. Variation En Fonction De Sources De Carbone. Docteur De L'université PARIS 6.
- **Song J, Weon HY, Yoon SH, Parrk DS, Go SG, Suh JW (2001).** Phylogenetic diversity of thermophilic actinomycetes and Thermoactinomycetes isolated from mushroom composts in Korea based on 16S rRNA gene sequence analysis. FEMS Microbiol Lett, 202(1): 97–102.
- **Sposito, G., (2008).** The Chemistry of Soils. Oxford University Press, New York.
- **Sposito. G.,(1997)**.The Chemical Composition Of Soils. The ChemesteryOf Soils. Oxford University Press.New-York:3-27P.
- **Srivibool R**.,**Sukchotiratana M.,(2006).**Bioperspective of actinomycetes isolates from coastal soils : A new source of antimicrobial producers. Songklanakarin J.Sci.Technol,28(3),493-499.
- **SRIVIBOOL,R.&SUKCHOTIRATANA, M. (2006).** Bioperspective ofactinomycetes isolates from coastal soils: a new source ofantimicrobial producers.Songklanakarin Journal of Science andTechnology,28, 493–499.
- **Stackebrandt, E., Rainey, F. A. & Ward-Rainey, N. L. (1997).** Proposal for a hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. Znt J Syst Bacteriof 47,479-491.
- **Stolp, H., (1988)**. Microbial Ecology: organisrns, habitats, activities: Camblidge University Press.New York. P308.
- **Strub C. 2008**. Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez,***Saccharothrix algeriensis***. Thèse de doctorat. Université de Toulouse INP-ENSAT. France. **174**p.
- **Suzuki K., Nagai K., Shimizu Y. and Suzuki Y., (1994). Search for actinomycetes in screening for new bioactive compounds. *Actinomycetologica*, 8, 122–127.**
- **SuzukiC. and Nikkuni S. (1994).** - The primary and subunit structure of a novel type killer toxin produced by a halotolerant yeast Pichiafarinosa. J. Biol. Chem., 269, 3041-3046.
- **Sykes, G., Skinner, F.A. (1973).** Actinomycetales: Characteristics and praticai importance. Academic press. London. New York.
- **Tanaka**. **Y; and OMURA. S. (1990).** – Metabolism and products of Actinomycetesan introduction. Actinomycetologica, 4 (1), 13-14.

- **Theilleux J., (1993).** Les actinomycètes *In* : Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel, Lavoisier, Tech et Doc, V 612p, pp 425.
- **Theilleux J.In levreau J.Y and Bouix M (1993)** Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel .lavoisier.Paris ch :6 425-481.technique et documentation. Lavoisier.Paris.
- **Thom, G.,(1997).** The fungi in soil. ln: Van Eisas J. D, Trevors J. T. & Wellington E. M. H. (eds) Modem soil microbiology. Marcel Dekker, INC. New York.P 63-127.tissue and soil with minimal contamination. Canad. J. Bot. **34**, 44-47.
- **Tomita, K., M. Nishito, K. Sitoh, H. Yamamoto, Y. Hashino, H. Okhuma, M. Konishi,T. Miyaki et T. Oki. 1990**. Pramicidins A, B and C: new antifungul antibiotics. I. Taxonomy, production and physico-chemical properties. J. Antibiot. 43: 755-762.
- **Toop, E., Vallaeys, T. &Soulas, G.,(1997).** Pesticides: Microbial degradation and effeets on microorganisms. In: Van Eisas J. D, Trevors J. T. & Wellington E. M. H. (eds) Modem soil.
- **Ullah. I, Masood Arshad. M, Chuadhry. I. J. M, Noureen. U, Jadoon. W. A; Jadoon. M. A. (2012)**. Actinomycetes screening for bioactive potentialisolatedfrom the moistforestsoils of Pakistan. Rec. Zool. Surv. Pakistan. Vol : 21. Pp: 10-13.
- **Valan Arasu M, Duraipandiyan V, Agastian P, Ignacimuthu S**. Antimicrobial activity of Streptomyces spp. ERI-26 recovered from Western Ghats of Tamil Nadu. Journal de mycologie médicale. (2008) 18: 147-153.
- **Ventura, M**., **Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G.F., Chater, K.F., van Sinderen, D. (2007).** Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol Mol Biol Rev*, 71(3): 495–548.
- **Vonothini. G; Murugan. M; Sivakumar. K; and Sudha. S. (2008).** – Optimization of protease production by an actinomycete Strain, PS-18A isolated from an estuarine shrimp pond. African Journal of Biotechnology, 7 (18), 3225-3230.
- **WAKSMAN S.A., (1967).** Distribution, isolation and methods of study. In : The actinomycetes- a summary of current knowledge. The ronald Press Company. New york. pp: 9-21.
- **Wang L; Huang. Y; Liu. Z; Goodfellow. M & Rodriguez. C.(2006)**. *Sreptacidiphilus oryzae sp. Nov.* an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. In. J. Sys. Ev. Microbiol. Vol 56. Pp: 1257-1261.

- **Weyland H. (1981).** Distribution of actinomycetes on the sea floor. In : Actinomycetes.Eds : K. Schaal, G. Pulverer. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York. *Zbl. Bakt. Suppl*. 11 : 185-193.
- **White R.E., (2006).** Principles and practice of soil science. The soil as a natural resource. *Fourth edn: Blackwell Publishing.*
- **Wild, (1993)**. Soils and the environment. An introduction, pp. 281. In: Cambridge
- **William B. R.,Whitman., T Krieg ., T James ., R Daniel .,P Brian Hedlund., J. Paster.**, **(2010).**Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology. Springer New York Dordrecht Heidelberg, London.pp 25-49.
- **WILLIAMS S.T., DAVIES F.L., (1965).** Use of antibiotics for selective isolation and enumeration of actinomycetes in soil. J. Gen. Microbiol. **38**: 251-261.
- **Xue Q., (2009).** Classification et la tolérance aux sels des actinomycètes dans l'eau de lac dans Quinghai et le sol salin (lackde) . *Jof subst devl.*2 :107-110.
- **Yala D., Merad A. S., Mohamed D., Ouar Korich M. N., (2001).** Classification et mode d'actiondes antibiotiques. *Medecine de Maghreb. N° 91*.
- **Yamamoto SP, Bouvet JM and Harayama S (1999).** PhylogenetiC structures of the genus Acinetobacter based on gyrB sequences: comparison with the grouping by DNA-DNA hybridisation. Intemational Joumal of Systematic Bacteriology. 49:87-95.
- **Yilma S., Cannon-Sykora J., Samoylov A., Loc T., Liu N., Brinker C. J., Neely(2008).**
- **Zerizer. H.(2014).** Les genres d'actinomycètes (hors mycobactéries) impliqués dans les infections dans la région de Constantine. Thèse de Doctorat en Biochimie et Microbiologie Appliquées. Université Constantine 1.
- **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 descriptions of the existing higher taxa. *Int J Syst Evol Microbiol*,59 (Pt 3): 589–608.
- **Zidane H,. Maddi A,.(2017).**optimation et modélisation de la production des molécules bioactives par une souche d'actinobacterie streptomyces sp.d2 universite de Béjaia.
- **Zitouni A.,(2005)**.Etude taxonomique des proprieties antagonistes des nocardiopsisPar saccharothrix des sols saharienset production de nouvaeaux antibiotique par saccharothrix sp.103.Thése de Doctorat,230p.

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

ANNEXES

Annexe 01 : Appareillages et verreries

Appareillage	**Verreries**	**Autre matériel**
• Autoclave • Bain marie • Balance électrique • Etuve • Réfrigérateur • Congélateur • Microscope optique • pH-mètre • Plaque chauffante • vortex	•Becher • Boite de pétrie • Erlenmeyer • Fiole • Flacons • Lame et lamelles • Verre de montre	• Anses de platine • Papier aluminium • Pince en platine • Pissettes •Tube Eppendorf • Spatule • Bec Bunsen • Gants jetables • Marqueurs • Micro pipette • Portoir pour tube

Annexe 2 : Milieux de cultures utilisés et colorants

Milieux pour l'identification

Préparation et composition des milieux de culture pour 1litre.

Technique de préparation :

Pour chacun des milieux, les ingrédients sont pesés à l'aide d'une balance de précision et déposés dans une erlenmeyer puis rajouter le volume d'eau distillée a raison de 1000ml.le ph est mesurés par un PH-mètre puis ajusté par l'ajout soit du KOH ou du HCL ensuite répartir dans des flacons de 250 ml et autoclavés a 120C°pendant 20 minutes, une fois refroidies a 45C°.L'antifongique (nystatine) est rajouté à raison de 5ml/l à l'aide d'un micro-filtre stérile de diamètre 0.22µm.

- **Bennett**

Extrait de levure 1g

Extrait de viande 1g

Peptone …… 2g

Glucose .....10 g

Agar 15g

Eau distillée .....1000 ml

PH 7,2

- **YEGA (yeast extract agar) :**

Extrait de levure.....10g

Glucose.....10g

Agar 10g

Eau distillé.....1000ml

PH.....6.8

- **Czapek**

Nitrate de soduim.....0.3g

Hydrogénophosphate de potassium.....1g

Sulfate de magnésium.....0.5g

chlorure de potassium.....0.5g

sulfate de fer.....10mg

amidon.....10g

agar.....18g

eau distillé.....1L

PH.....7

milieux pour test antimicrobien

- **Mueller Hinton**

Infusion de viande de bœuf……..…. 2 g
Amidon ……..……15 g
Hydrolysat de caséine……..……. 17,5g
Agar ……..……..17 g
Eau distillée ……..…….1000 ml
PH……..…….7, 3

- **ISP2**

Extrait de malt .....10 g
Extrait de levure .....04 g
Glucose .....04 g
Agar .....20 g
Eau distillé .....1000 ml
PH 7.2

N.B. l'ajustement du pH des milieux de cultures s'effectue à l'aide d'une solution de NaOH ou d'une solution d'HCL.

NaOH : 10g de NaOH dans 250 ml d'eau distillée.
HCL : 200 ml d'HCL dans 16.40 ml d'eau distillée.

- **Eau physiologique**

Chlorure de sodium .....09 g

Eau distillée .....1000 ml

Colorants

- **Violet de Gentiane**

Violet de Gentiane……..1g
Ethanol ……...10ml
Phénol …….2g
Eau distillée…… 100 ml

- **La solution de lugol**

Iodure de potassium ……2g
Iode métalloïde l2 ……..…….1g
Eau distillée ……100ml

- **La solution de fuchsine**

Fuchsine basique …….10g
Phénol…….. 50g
Ethanol…… 100 ml
Eau distillé…….. 1 L