République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Dr.Yahia Farès de Médéa

Thèse de Mémoire

Département SNV

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par

Mekhtiche Nessma

Guidoum Ratiba

Hadeg Lilia

Thème :

Etude in vitro de l'activité biologique de quelques extraits organiques préparés à partir des micro-organismes

Soutenu publiquement le Mercredi 22/ 06/ 2022

Devant le jury composé de :

Mr. Atsamnia Djamel	MCB–SNV–Univ Médéa	Président
Mr. Azizi Ahmed	MCA–ST–Univ Laghouat	Promoteur
Mr. Ainas Mahfoud	MCB–SNV–Univ Médéa	Co- Promoteur
Mlle. Euldji Amel	MAA–SNV–Univ Médéa	Examinatrice

Médéa 2021/2022

ÉTUDE IN VITRO DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE QUELQUE EXTRAITS ORGANIQUES PREPARES A PARTIR DES MICRO-ORGANISME

RESUME. Les **molécules bioactives** d'**origine microbienne** constituent une source potentielle dans la recherche de nouvelles molécules capables de jouer le rôle des **antibiotiques** ou **antifongiques**. Le but d'étude est de rechercher in vitro des nouveaux micro-organismes productrices des substances actives.32 souches des bacillus, 12 souches des actinomycètes et 22 souches des champignons ont été isolées à partir de sept échantillons du sol Saharien de différentes régions du territoire national (Biskra, d-Djelfa, Laghouat). Et un échantillon d'origine d'une source d'eau thermale (région AKfadou). Les souches isolées ont été criblés sur la base de production d'anti métabolite. Les trois méthodes (la méthode de diffusion (NCCLS), La méthode de diffusion des puits par milieu liquide et l'extraction par solvant organique) utilisées laissaient nous de détecter 15 souches de bacillus, 6 souches d'actinomycètes et 4 souches de champignons à l'encontre de cinq souches, quatre souche bactériennes : *salmonella typhimurium* (ATCC14028), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027), *Escherichia coli* (ATCC8739) et *Staphylococcus aureus*(ATCC6538) et deux autres souches : un champignon qui est *Aspergillus brasiliensis* (ATCC16404) et une levure qui est *Candida albicans* (ATCC10231).

MOTS-CLES : Molécules Bioactives ; Origine Microbienne ; Antibiotique ; Antifongique.

IN VITRO AND IN SILICON STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME ORGANIC EXTRACTS PREPARED FROM MICRO-ORGANISMS

ABSTRACT: Bioactive molecules of microbial origin constitute a potential source in the search for new molecules capable of playing the role of antibiotics or antifungals. The aim of the study is to search in vitro for new microorganisms producing active substances.32 strains of bacillus, 12 strains of actinomycetes and 22 strains of fungi were isolated from seven samples of Saharan soil from different regions of the national territory (Biskra, Djelfa, Laghouat). And one sample from a thermal spring (AKfadou region). The isolated strains were screened on the basis of anti metabolite production. The three methods (diffusion method (NCCLS), liquid media well diffusion method and organic solvent extraction) used let us detect 15 bacillus strains, 6 actinomycetes strains and 4 fungi strains against five strains, four bacterial strains: Salmonella typhimurium (ATCC14028), Pseudomonas aeruginosa (ATCC9027), Escherichia coli (ATCC8739) and Staphylococcus aureus(ATCC6538) and two other strains: a fungus that is Aspergillus brasiliensis (ATCC16404) and a yeast that is Candida albicans (ATCC10231).

KEYWORDS: Bioactive molecules; Microbial origin; Antibiotic; Antifungal.

دراسة النشاط البيولوجي لبعض المستخلصات العضوية المحضرة من الكائنات الحية الدقيقة

ملخص. تشكل الجزيئات النشطة بيولوجيا من أصل جرثومي مصدرا محتملا في البحث عن جزيئات جديدة قادرة على لعب دور المضادات الحيوية أو المضادات الفطرية. الغرض من هده الدراسة هو البحث مخبريا عن كائنات دقيقة جديدة تنتج مواد فعالة. تم عزل 32سلالة من العصيات ,12سلالة من الفطريات الشعاعية و22 سلالة من الفطريات منسبعة عينات مجموعة من التربة الصحراوية من مناطق مختلفة من التراب الوطني (بسكرة ,الجلفة , الاغواط).وسلالة ناشئة في منبع مائي حراري (منطقة اكفادوا). تم فرز السلالات المعزولة على أساس إنتاج المواد النشطة . بتطبيق ثلاثة طرق للفرز سمحت لنا باكتشاف 15 سلالة من العصيات و6 سلالات من الفطريات الشعاعية و سلالات من الفطريات. التي تظهر نشاطا مضادا للبكتيريا والفطريات ضد خمس سلالات, 4 سلالات من البكتيريا, *salmonella typhimurium* (*ATCC14028*), *Pseudomonas aeruginosa (ATCC9027) Escherichia coli (ATCC8739) Staphylococcus aureus(ATCC6538)* وسلالات أخرى : سلالة فطرية وهي *aspergillus brasiliensis (ATCC10231) candida albicans (ATCC16404).*

الكلمات الرئيسية. مواد فعالة, أصل ميكروبي, مضاد حيوي , مضاد فطري

Remerciements

Dieu "الله" merci pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé.

Tout d'abord nous exprimons notre gratitude et nos remerciements à Mr AZIZI Ahmed (MCA) notre promoteur de recherche qui n'a jamais cessé de nous prodiguer conseils, pour avoir dirigé ce travail et pour sons aides pendant toute la durée de réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre gratitude aux membres du jury :

Mr AINAS Mahfoud (Co-promoteur), Mme Amel EULDJI et Mr Djamel ATSAMNIA d'avoir accepté de juger ce travail.

Notre profond remerciement à toute les ingénieures de laboratoire de biologie dans la faculté et de lycées avec les ingénieures de laboratoire biologie (SAIDAL) de Médéa.

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

Ratiba Guidoum ; Nessma Mekhtiche & LiliaHadeg.

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah"ه الله ,"le miséricordieux, qui m'a doté de volonté, du courage, de force et de patience pour pouvoir continuer dans les moments les plus difficiles… de m'avoir aidé à franchir tous les obstacles, me permettant de mener à terme ce modeste travail. J'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie:

À Mon bras droit, mon pères l'homme qui m'encourage dans tous le moment ' Ahmed guidoum' et ma tout vie Maman 'Allag Tawass'.

À mes sœurs et mes frères et, ma cousine Dawia ; ma puce Sabrina qui je partagée avec elle les bon souvenir de ma vie.mes amis Zahra, Chaima, Sana, SOumia, Hanane, Ratiba.

À Mon soutien Merwan pour donne afin de ma donner l'énergie pour compléter et affronter les difficultés.

Ratiba Guidoum

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah"ه الله_____ ,"le miséricordieux, qui m'a doté de volonté, du courage, de force et de patience pour pouvoir continuer dans les moments les plus difficiles… de m'avoir aidé à franchir tous les obstacles, me permettant de mener à terme ce modeste travail. J'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie:

À Mon bras droit, mon pères l'homme qui m'encourage dans tous le moment ' Ali Mekhtiche' et ma tout vie Maman 'Fatimazahra Mouzaoui'.

À mes sœurs 'Loubna, Aya et Rahma' et mes frères ' Abd-el-malek et Iyed', ma cousine 'Wafaa' ; ma puce 'Manel ' qui je partagée avec elle les bon souvenir de ma vie.

À mes amis Zahra, Sana, SOumia, Hanane, Ratiba, et tous les étudiants de ma promotion et bien sur mes collègues 'Ratiba et Lilia' qui ont partagé les souvenir de préparation de ce travaille.

À Mon soutien Mohammed pour donne afin de ma donner l'énergie pour compléter et affronter les difficultés et que je les considère comme une deuxième famille.

À l'âme de mes grands parents qui nous ont quitté la vie, et mon grand père 'Rabeh Mekhtiche' que dieu le protège.

À mes touts famille dont le soutien et les encouragements m'ont été salutaires.
Tout nos professeurs qui nous ont enseigné et à tous ceux qui nous sont chers.

Nessma Mekhtiche

Dédicaces

A l'aide d'Allah""ه_____الله tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui ma apporté son appui durant toutes mes années D'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

A mon cher père qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.

A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mes chers frères pour leur appui.

A ma chère tante MOUNIA sans oublier mes cousines Achouak, Samah, Manoula et Feriel

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,

À mes copines : Nadia, Amel,Yousra,Lyna, Célia, Lamia et Manel et toute la promo sans oublier mes trénomesNessma et Ratibaqui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

A tous ceux que j'aime

Merci d'être toujours là pour moi.

LiliaHadeg.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIÈRES	*I*
ABRÉVIATIONS & NOMENCLAUTRES	*Iv*
LISTE DES FIGURES	*Xi*
LISTE DES TABLEAUX	*Xiii*
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
INTRODUCTION GÉNÉRALE	3
CHAPITRE 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES	3
1 .1 évaluation des activités biologiques des extraits des micro-organismes	3
1 .2. L'étude des activités biologiques des extraits des micro-organismes in vitro	3
1.2.1 Etude de sol	3
1.2.2 composition du sol	4
1.2.3 les micro-organismes du sol	4
1.2.3.1 Les bactéries	4
1.2.3.2 champignons	5
1.2.3.3 protozoaires et algues	6
1.2.4 Actinomycètes	6
1.2.4.1 Cycle de vie	7
1.2.4.2 Rôle écologique des actinomycètes	8
1.2.4.3 Caractéristiques morphologiques	10
1.2.4.4 Caractéristiques chimiques	13
1.2.5 Le genre bacillus	15
1.2.5.1 Les bacillus halophiles et halotolérants	17
1.2.5.2 Formation des spores	17
1.2.6 Champignons	18
1.2.6.1 Cycle de développement	20
1.2.6.2 Classification des champignons	21
1.2.6.3 Caractéristiques morphologiques des champignons	22
1.2.6.4 Importance économique des champignons	23
1.3 Les métabolismes secondaires	24
1.3.1 La lutte biologique	25
1.3.2 Les molécules bioactive	25
1.3.3 Les antibiotiques	25
1.3.3.1 Les antibiotiques d'origine des actinomycètes	26
1.3.3.2 Les antibiotiques d'origine fungiques	27
1.3.3.3 Les antibiotiques d'origine bacillus	28
1.3.4 Les antifungiques	28
1.3.4.1 Les antifungiques d'origine des actinomycètes	28
1.3.4.2 Les antifungiques d'origine bacillus	29
CHAPITRE 2. PRODUITS, MATERIELS & METHODES	
2.1 Produits chimiques	30
2.2 Matériels	30
2.2.1 Matériels utilisé *in vitro*	30
2.3. Méthodes	31

2.4 Etude in vitro	31
2.4.1 prélèvement	31
2.4.2 Étude les caractéristiques du sol	31
2.4 .3 Dilution	32
2.5 Isolement et purification	33
2.5.1 Les actinomycètes	33
2.5.2 Les bacillus	34
2.5.3 Les champignons et les moisissures	34
2.6 Le criblage de l'activité anti métabolite	35
2.6.1 Screening primaire	35
2.6.1 Screening secondaire	36
2.6.1.1 La méthode de diffusion des puits par milieu liquide	37
2.6.2.2 Extraction à partir du filtrat de culture (choix de solvant d'extraction)	38
2.7 Identification des Actinomycètes et les bacillus et les bacillus productrices d'anti-métabolite	40
2.7.1 Etude morphologique	40
2.7.1.1 Étude macroscopique	40
2.7.1.2 Étude microscopique	40
2.7.2 Études physiologiques	41
2.7.2.1 Recherche de catalase	41
2.7.2.2 Recherche d'oxydase	41
2.7.2.3 Étude de type respiratoire	41
2.7.2.4 Etude de la mobilité	42
2.7.3 Etude de l'activité enzymatique	42
2.7.3.1 Amylase	42
2.7.3.2 Protéase	42
2.7.3.3 Lipase	43
2.7.4 Etude biochimique	43
2.8 Identification des champignons producteurs d'anti métabolite	43
2.8.1 Etudes macroscopiques	43
2.8.2 Étude microscopique	44
CHAPITRE 3. RESULTATS & DISCUSSION	
3.1 In vitro	45
3.2 Isolements et purification	45
3.2.1 Actinomycètes	46
3.2.2 Bacillus	47
3.2.3 Champignons	47
3.3 Criblage de l'activité anti métabolite	48
3.3.1 Screening primaire	48
3.3.2 Screening secondaire	52
3.3.2.1 La méthode de diffusion des puits par milieu liquide	52
3.3.2.2 Extraction à partir du filtrat de culture	53
3.4 Identification des souches productrices d'anti métabolite	55
3.4.1 Actinomycètes	55
3.4.1.1 Etude macroscopique	55
3.4.1.2Étude microscopique	59
3.4.1.3 Étude physiologique et enzymatique	61
3.4.2 Bacillus	63
3.4.2.1 Étude macroscopique	63
3.4.2.2 Étude microscopiques	63
3.4.2. 3 Étude physiologique	64

3.4. 2.4 Étude enzymatique	64
3.4.2.5 Etude biochimique	66
3.4.3 Les champignons	66
3.4.31 Étude macro-microscopique	66

LISTE DES ABREVIATIONS& NOMENCLATURES

Abréviation	Signification
ATB	Antibiotique
CCRB	Center For Computationnel Structural Biologie
CM	Centimètre
DAP	Diaminopimélique
DHN	Dihydroxynaphtalène
L-DOPA	L-Dihydroxyphénylalanine
MGL	Molecular Graphics Laboratory
NF ISO	Norme Française International Organization For Standardization
PC	Phosphatidylcholine
PE	Phosphatidyléthanolamine
PGI	Phosphatidylglycérol
PI	Phosphatidylinositol
PMV	Python Molecular Viewer
QSAR	Quantitative Structure-Activity Relationship: Relation Quantitative Structure-Activité
RD-QSAR	ReceptorDependent Quantitative Structure-Activity Relationship : Relation Quantitative Structure-Activité Dépendante Du Récepteur

LISTE DES FIGURES

Numéros	Titres des figures	Pages
1.1	Aspect morphologique d'isolats d'actinobactéries sur gélose amidon caséine. (a) et (c) Tapis mycélien des isolats actinobactériens. (b) et (d) Morphologie des colonies individuelles.	7
1.2	Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes sporulant.	8
1.3	Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide	11
1.4	Micromorphologie de quelques espèces d'actinobactéries halophiles (observations faites au microscope électronique à balayage).	12
1.5	Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec des hyphes vivants (bleus-verts) et morts (blancs).	13
1.6	La spore est constituée par un cytoplasme de texture homogène	18
1.7	Cycle de développement des champignons	21
1.8	Type de thalles des champignons	23
2.1	Etape de préparation la solution mère	32
2.2	l'étape de préparation des dilutions après fait la solution mère	32
2.3	Organigramme des étapes d'isolement des actinomycètes	33
2.4	Organigramme des étapes d'isolement des bacillus	34
2.5	Repiquage des boites au centre sur deux milieux	35
2.6	Mise en évidence de l'effet antagoniste des substances produites par les souches isolées	37
2.7	Protocole d'extraction des antibiotiques à partir des filtrats de cultures	39
3.1	Le nombre des différentes souches bacillus isolés à partir les huit échantillons	46
3.2	Nombre des souches productrices d'antibiotiques.	49
3.3	Extraction avec l'acétate d'ethyle	54
3.4	coloration de grame des souches d'actinomycètes testé	60
3.5	Résultat de l'activité enzymatique	61
3.6	résultat de dégradation de mannitol	61
3.7	L'aspect microscopique des souches bacillus après la coloration de Gram	64
3.8	résultats de test de recherche de lipase chez les souches de bacillus	65
3.9	résultats de test de recherche de caséinase chez les souches des bacillus	65
3.10	résultats de test de recherche d'amylase chez les souches des bacillus	65
3.11		

LISTE DES TABLEAU

Numéros	Titre des tableaux	Pages
1.1	Nombre des microorganismes du sol sur une profondeur de 0 à 15 cm	6
1.2	Pourcentage de genres d'Actinomycètes dans le sol	7
1.3	Pourcentage de production d'ATB par les micro-organismes	10
1.4	Chimio types rencontrés chez les Actinobacteria	14
1.5	Types de phospholipides membranaires rencontrés chez les Actinobacteria	15
1.6	Classification des Bacillus selon Wang W. et Sun, M. 2009 avec quelques exemples pour chaque groupe.	16
1.7	Les principaux radicaux par ordre d'importance décroissante	22
1.8	Taux de production d'antibiotiques selon les groupes microbiens	26
1.9	Exemples d'antibiotiques produits par les actinobactèries	27
1.10	mycètes producteurs d'antibiotiques	27
1.11	Activité antimicrobienne de la souche Actinomadura sp.AC170	29
2.1	Description de la nature de différent point de prélèvement sur le territoire national	31
3.1	Le nombre des micro-organismes isolés à partir les huit échantillons.	47
3.2	Résultats de test d'antagonisme entre les souches isolés et les souches testes	51
3.3	Zone d'inhibition obtenue par La méthode de diffusion des puits par milieu liquide.	53
3.4	Résultats de test d'antagonisme entre les souches isolés et les souches testes	54
3.5	Aspect macroscopiques des souches d'actinomycètes obtenu sur trois milieux.	56-59
3.6	Résultats des activités enzymatiques des 6 souches d'actinomycètes sélectionnées.	61
3.7	Résultats de l'aspect macro-microscopique des souches des champignons.	67
3.8	Identification des souches de moisissures isolées	68

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'avènement de l'antibiothérapie, dans les années 1940, a complètement révolutionné le domaine médical et entraîné une réduction significative de la mortalité associée aux maladies infectieuses. Malheureusement, la résistance bactérienne aux antibiotiques traditionnels a rapidement constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale. La résistance à la pénicilline s'est développée dans les années 1950, aux céphalosporines de première génération dans les années 1970 et aux céphalosporines de troisième génération dans les années 1990. Au cours des dernières années, la fréquence et l'ampleur des infections causées par des bactéries résistantes ont augmenté autant en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire. On peut maintenant observer de la résistance chez presque toutes les bactéries potentiellement pathogènes. Il y a environ 25 millions d'ordonnances d'antibiotiques écrites annuellement au Canada, et l'on considère que plus de 50 % des antibiotiques prescrits seraient inappropriés, il n'est donc pas surprenant de constater le développement de résistance, (Sylvie Carle, B.Pharm, M. SC ; 2009).

Les voies de recherche de futur en matière de chimiothérapie anti-infectieuse sont difficiles à définir. En effet ,les problèmes actuels seront-ils ceux de demain ?

Il y a quelques décennies, le monde croyait que la sciène avait triomphé des maladies infectieuses et que tout était sous contrôle. Les vaccins et les antibiotiques ont effectivement permis de vaincre ou contrôler certains fléaux comme la variole ou la tuberculose. On a même cru, un bref instant, que les menaces bactériennes et virales appartenaient au passe. Mais certains événements nous rappellent que nous devrions toujours faire face à de nouveaux défis infectieux : 8400 patients dans plus de 30pays ont été atteints du syndrome respiratoire aigu (SRAS) en 2003. La grippe aviaire s'est transmise aux humains, le SIDA (le grand fléau du siècle passé) continue de faire des victimes, les épidémies de fièvre hémorragiques font des ravages en Afrique et de nombreuses questions restent ouvertes sur la maladie de Creutzfeldt-Jakob.

L'émergence de nouveaux microbes et la transmission de ceux-ci ont été favorisées, entre autres, par la mobilité croissante des gens, l'exportation d'animaux et de nourriture, une population plus âgée avec des Co-mobilités plus importantes (HIV, patients transportes, patients immunodéprimés) ainsi que par des attitudes thérapeutiques parfois plus agressives, en particulier dans le contexte des soins intensifs. L'apparition de nouvelles maladies et la

réémergence d'anciennes ne sont finalement que des signes d'une impressionnante adaptabilité des microorganismes à notre environnement changeant et à nos moyens de défense.

Dans leur compétitivité, les organismes vivants ont développés divers moyens afin d'assurer leur survie en synthétisant des substances naturelles bioactives telles que :

- les défensines chez les mammifères.
- Les magainines et les dermaseptiques chez les amphibiens.
- Les cecropines et les cératoxines chez les insectes.
- Les bactériocines, les antibiotiques, les peptides NRPS (Non Ribosomal PeptidesSynthetase) chez les microorganismes (Morisset, 2003).

L'émergence de la résistance des microorganismes pathogènes aux antibiotiques, couramment utilisés en médecine, pose actuellement un sérieux problème. Pour combattre cette situation alarmante, de nouveaux antibiotiques sont nécessaires. Ces derniers peuvent être obtenus par voie naturelle à partir de nouvelles souches microbiennes notamment les actinobactéries (Sghairi, 2012).

De nombreuses bactéries du genre Bacillus sont reconnues pour leur effet antagoniste contre plusieurs agents phytopathogènes via différents modes d'action (Hinarejos et al. 2016). La rhizobactérie formatrice d'endospores Bacillus subtilis - le système modèle pour les organismes Gram-positifs, est capable de produire plus de deux douzaines d'antibiotiques avec une étonnante variété de structures (T.Stein. 2005).

La présente étude, porte sur l'exploration d'une souche d'origine microbienne appartenant à produire des molécules bioactives. Le but objectif de notre étude c'est de rechercher in vitro de nouveaux micro-organismes producteurs des substances actives, passant par les étapes de travail tracé comme suivant:

- La production de molécules bioactives sur déférent milieux répondre aux besoins des chaque souches étudiées.
- L'extraction des molécules par différents solvants organiques
- La mise en évidence des activités antibactérienne et antifongique des extraits organiques obtenus.
- L'identification des souches productrices d'anti métabolite

CHAPITRE 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

1. SYNTHÈSES BIBLIOGRAPHIQUES

1.1 EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS DES MICRO-ORGANISMES

La recherche de nouveaux agents antimicrobiens efficaces est une préoccupation de santé mondiale et se justifie par l'échec thérapeutique qu'enregistrent les antibiotiques utilisés actuellement contre de nombreuses souches super résistantes (Wright, 2017).

En tant que chercheurs et étudiants, nous travaillons sur une recherche permanente pour trouver des solutions à ce problème en étudiant les micro-organismes et en travaillant pour trouver une nouvelle activité biologique d'origine microbienne connus ou en découvrant des nouveaux micro-organismes qui ont une activité in vitro.

1.2. ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS DES MICRO-ORGANISMES IN VITRO

1.2.1Étude de Sol

Le sol est défini comme la couche supérieure de la croûte terrestre composée de particules minérales, de matières organiques, d'eau, d'air et d'organismes (NF ISO 15799, 2004). Il est une zone d'échanges entre la biosphère et la lithosphère, le sol est un milieu vivant.

Le sol est un milieu extrêmement riche en organismes vivants. Un gramme de sol contient au minimum des millions d'individus bactériens et d'archées, appartenant eux-mêmes à plusieurs milliers de groupes différents. Ce même gramme de sol peut contenir plusieurs centaines de mètres d'hyphes mycéliens. A coté de ces micro-organismes, on trouve également un grand nombre de protozoaires, d'amibes, de vers de terre, de larves de touts sortes, d'invertébrés et, bien sur, une énorme quantité de racines fines que sont spécialisées dans l'absorption de l'eau et des nutriments qui y sont dissous. Tous sont entourés de particules minérales, de grains de sable ou de calcaire, de limon, d'argile, d'eau, de gaze et de matière organique contrainte (Luc ABBADIE, 2007).

1.2.2Composition du sol

Tous types de micro-organismes existent dans les sols, quelques soit des eucaryotes (champignons, algues et protozoaires), ou des procaryotes (bactéries et cyanobactéries). Leur biodiversité est considérable, Leur distribution est en fonction non seulement de la présence de substrats énergétiques (essentiellement des résidus végétaux) et d'éléments minéraux, mais aussi de nombreux facteurs physiques et chimiques caractérisant chaque sol, notamment la structure, l'aération, le PH la salinité, la température et la teneur en eau. En général, les champignons contribuent pour plus de la moitié de la biomasse microbienne dans le sol. Mais, dans les sols hydro morphes, les algues ont tendance à proliférer en surface et les bactéries anaérobies en profondeur. Les virus sont souvent associés aux argiles à partir lesquelles ils peuvent pénétrer dans les racines des plantes par des blessures. Le sol renferme aussi des enzymes libres, qui sont soit intracellulaires, c'est-à-dire incluses dans des cellules encore vivantes ou mortes, soit extracellulaires, c'est-à-dire à l'état libre ou adsorbées sur les colloïdes argileux. En plus de la microflore, le sol héberge une microfaune composée de nématodes, vers de terre et autres invertébrés (en particulier des insectes) qui peuvent aussi jouer un rôle considérable (Yvon DOMMERGUES).

1.2.3 Microorganismes du sol

Les micro-organismes du sol sont extrêmement abondants et d'une grande diversité taxonomique et fonctionnelle. Ils comprennent des bactéries, des champignons, des micro-algues, des archées et des protistes. Le fonctionnement biologique des sols est fortement lié à l'activité microbienne, ce qui confère à ces micro-organismes un rôle majeur dans de nombreuses fonctions du sol comme nous le verrons ci-après (Bertrand, J ; 2011).

1.2.3.1 Les bactéries

Sont très abondantes dans les sols : 1 milliard d'individus par gramme de sol en moyenne (2,5 t/ha en équivalent carbone). Ce sont des organismes procaryotes parmi les plus petits des être vivant dans les sols avec les conditions aérobieques à une longueur de 1 à 2 (en présence d'O2) ou anaérobies ("sans" O2). Les bactéries du sol consomment des molécules organiques en sécrétant des enzymes dans l'espace extracellulaire permettant de les hydrolyser (découper) en molécules simples absorbables au travers de leur paroi et de leur membrane plasmique. L'acquisition de ces ressources permet à la bactérie de croître jusqu'à une taille

suffisante pour se diviser, division qui produit alors deux bactéries identiques. En général, les bactéries ont une croissance rapide. Mais cette vitesse de croissance est vite ralentie en fonction des conditions de milieu (facteurs militants) et dépend des ressources nutritives disponibles et d'humidité du sol... (SOLAG 2018).

Les Actinomycètes sont des Bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes, c'est-à-dire de filaments qui irradient, par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance. Cela explique leur dénomination : le mot « Actinomycètes » provient de deux substantifs grecs et signifie « Champignons à rayons » ou « Champignons rayonnants », expression utilisée pour les désigner en anglais (*Ray fung*) et aussi en allemand et en russe. Ainsi les a-t-on désignés par référence soit à la morphologie des jeunes colonies dont les hyphes ramifiées rayonnent à partir du centre de la croissance, soit à la disposition radiée des hyphes épaissies en massues que l'on trouve dans les concrétions que produisent les formes pathogènes responsables des actinomycoses et des mycétomes actinomycétiques. Les formes les plus évoluées des Actinomycètes rivalisent en complexité morphologique avec les moisissures (Champignons imparfaits) mais en diffèrent radicalement puisque, comme toutes les autres Bactéries, ce sont des Procaryotes (cellules sans enveloppes autour du matériel génétique). Un corollaire de leur structure cytologique est le diamètre de leurs hyphes qui est de l'ordre de 0,5 µm, soit approximativement un dixième de celui de la plupart des hyphes fongique (Hubert A .LECHEVALIER. 2022).

1.2.3.2 Champignons

Les champignons sont des eucaryotes pluricellulaires et ou unicellulaires.
Le taxon « champignon » est devenu ambigu et considéré par la science actuelle comme obsolète car il ne désigne pas un groupe monophylétique mais plusieurs taxons distincts. Il a en effet été divisé en *eumycètes, oomycètes, chytridiomycètes* et *mycétozoaires*. Leurs cellules sont pourvues d'une paroi chitineuse ou cellulosique, sont immobiles et se nourrissent par l'absorption des molécules organiques directement dans le milieu. les cellules sont dépourvues de chlorophylles ou de plastes car ces organismes sont hétérotrophes vis-à-vis du carbone. Ils n'appartiennent donc pas au règne des végétaux. Leur appareil végétatif est un thalle : ce sont donc des thallophytes qui adoptent un mode de vie filamenteux (l'ensemble des filaments appelés hyphes formant le mycélium). Ces caractéristiques, qui peuvent

être perdues secondairement dans certains taxons, permettent de regrouper des organismes appartenant à des groupes distincts dans la phylogénie. (K.D. Hyde ; 1998).

I.2.3.4 Protozoaires et algues

Les protozoaires sont des organismes unicellulaires, ils sont en général incolores et mobiles au moins à un stade de leur développement. Ils se distinguent des procaryotes par leur taille en général plus grande, des algues par l'absence de chlorophylle, des levures et des autres champignons par l'absence de paroi cellulaire dans la plupart des cas.

Ils se présentent sous différentes formes et colonisent tous les milieux (mers, eaux douces, milieux biologiques et sol humide). Ils sont hétérotrophes. Certains sont libres, d'autres sont parasites ou symbiotes (BENSIGHIR .H ; 2018).

Tableau1.1. Nombre des microorganismes du sol sur une profondeur de 0 à 15 cm (Hoorman et Islam, 2010).

Microorganismes	Nombre (g/sol)	Biomasse (g/m^2)
Bactéries	10^8–10^9	40–500
Actinomycètes	10^7–10^8	40–500
Fungi	10^5–10^6	100–1500
Algue	10^4–10^5	1–50
Protozoaire	10^3–10^4	Varie

1.2.4 Actinomycètes

Les Actinomycètes sont pris comme matériel d'étude, par le fait qu'ils secrètent des métabolismes primaire et secondaire. D'une manière générale, les activités biologiques des actinobacteria sont issues des métabolismes secondaires ; et l'extrait éthanolique des Actinomycètes contient des molécules actives.

C'est ainsi que l'étude des Actinomycètes se trouve au centre de la présente recherche.

Les actinomycètes sont des bactéries à Gram positif avec un pourcentage G+C élevé. Ces bactéries colonisent différents écosystèmes (le sol en est le réservoir principal, l'air et les milieux aquatiques). Les actinomycètes sont bien connus en tant que producteurs potentiels de métabolites secondaires biologiquement actifs d'importance économique élevée comme les antibiotiques dont 60 % de ces molécules sont produites par les actinomycètes, les enzymes et les antioxydants (Boucherma, Rabiha ;2013

Tableau 1.2. Pourcentage de genres d'Actinomycètes dans le sol (Nonomura & Ohara, 1969).

Genre	Pourcentage (%)
Streptomyces	**95,34**
Nocardia	1,98
Micromonospora	1,40
Thermomonospora	0,22
Actinoplanes	0,20
Microbispora	0,18
Mycobacterium	0,14
Streptosporagium	0,10
Actinomadura	0,10
Microspolyspora	0,10
Pseudonocardia	0,06
Microellobosporia	0,04

1.2.4.1Cycle de vie

Le cycle de vie de nombreux actinomycètes commence par la germination des spores (Fig.1.1), processus qui nécessite la présence des ions de calcium. Cette germination donne naissance à un mycélium primaire ramifié (O 'Gara & al, 2008). Ils se reproduisent par fission binaire ou en produisant des spores ou des conidies. L'aspect morphologique des actinobactéries est compact, souvent coriace, donnant un aspect conique avec une surface sèche sur les milieux de culture et sont souvent recouverts de mycélium aérien (Anandan et al, 2016).

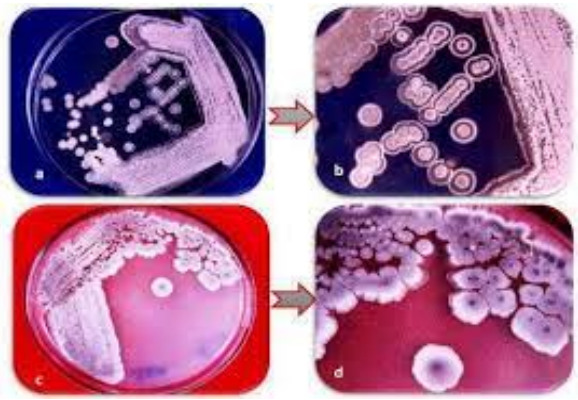


Fig.1.1 Aspect morphologique d'isolats d'actinobactéries sur gélose amidon caséine. (a) et (c) Tapis mycélien des isolats actinobactériens. (b) et (d) Morphologie des colonies individuelles (Anandan et al, 2016).

Un mycélium aérien vient de se dresser au-dessus du mycélium de substrat. En effet ce dernier s'autolyse et les produits de la lyse sont utilisés par le mycélium aérien, c'est à ce moment la que les composés médicalement utiles sont synthétisés, et on les appelle métabolites secondaires (Smaoui, 2010).

A l'extrémité du mycélium aérien se forme des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores, ces spores naissent par séptation du mycélium primaire habituellement en réponse à un stresse d'environnement (manque de nutriment). Si les spores sont localisées dans des sporanges, on les appelle des sporongiospores. Généralement ces spores ne sont pas résistantes à la chaleur, mais résistent bien à la dessiccation et ont de ce fait une importante valeur adaptative, les actinomycètes sont immobiles, excepte pour les spores de certains genres (Actinoplan, Spirillospora….etc.) (Prescott & al, 2010).

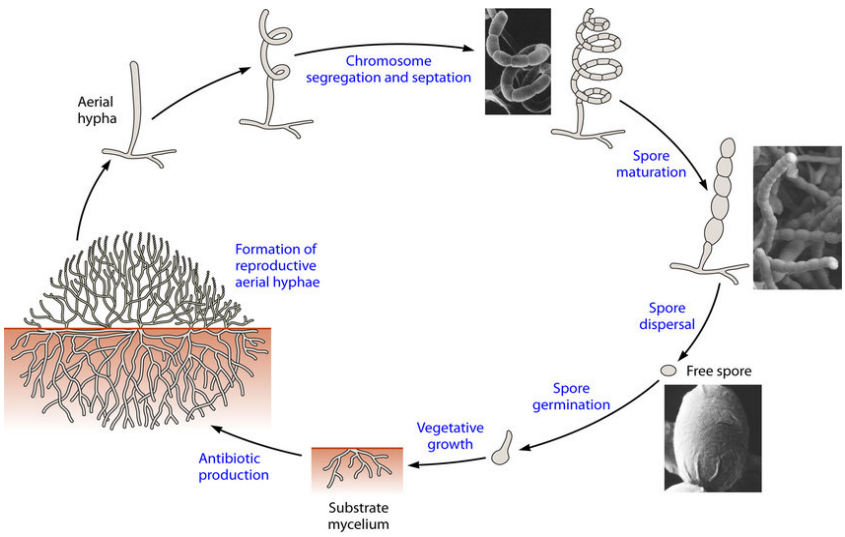


Fig.1.2. Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes sporulant.(Microbiology and molecular biology reviews: MMBR Novembre 2015)

1.2.4.2Rôleécologique des actinomycètes

Les activités microbiennes au niveau du sol accroissent la vitesse de synthèse et de minéralisation de la matière organique permettant ainsi une bonne nutrition pour les plantes. Les Actinomycètes occupent une place de choix en raison de leurs nombreuses activités (Ames et al, 1987 ; Hayakawa et Nonomura, 1989 ; Jarak et al, 2006).

La capacité des Actinomycètes à produire des substances qui ont des effets sur les autres organismes et leur environnement est vraiment remarquable. Cela signifie que la relation entre les Actinomycètes et leur environnement peut avoir un effet bénéfique pour l'environnement ou au contraire, un effet non souhaitable ou désavantage pour les autres organismes

Avantages

Les bactéries de la famille des Actinomycètes retiennent particulièrement l'attention et semblent être d'excellentes candidates productrices de substances aux propriétés intéressantes. En plus de leur rôle dans la décomposition de la matière organique pour habitat naturel le sol (Gaberiel P. 2005), ils sont connus aussi par à la production de nombreuses enzymes lytiques extra cellulaires comme par exemple les amylases, les xylanases, les lipases.

Il existe une réelle demande au niveau industriel pour des enzymes d'origine microbienne afin d'améliorer certains procédés de fabrication. Les domaines d'application enzymatiques sont très divers : industrie textile (décoloration de jeans), papeterie (procédé de blanchiment de la pâte à papier), dépollution (attaque des substances phénoliques), industrie alimentaire (boulangerie, .. .), ... Les Actinomycètes en général, et plus particulièrement les Streptomyces sont également d'importance médicale et industrielle parce qu'ils synthétisent des antibiotiques de structures très diverses et en quantité abondante. En effet, plus de cinquante antibiotiques différents ont été détectés chez le genre de Streptomyces, y compris la streptomycine, la néomycine, le chloramphénicol et les tétracyclines. (Davail Stéphane et al).

Les actinomycètes jouent un rôle très important dans le domaine pharmaceutique et particulièrement dans le domaine agroalimentaire. La propriété la plus importante chez ces bactéries filamenteuses est leur potentiel de produire une large gamme d'enzymes hydrolytiques (nucléases, lipases, etc.…).

Certaines espèces ont la capacité de solubiliser le phosphore (Crawford et al, 1993). D'autres sont également impliquées dans le contrôle phytopathologique et dans la production des composés antifongiques (Riedlinger et al, 2006).

Tableau 1.3. Pourcentage de production d'ATB par les micro-organismes (Okami, 1988).

Microorganismes producteurs d'antibiotiques	% du total des ATB décrits
Lichens et algues	0,8
Champignons	
Penicillium	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

Inconvénients

Certaines espèces d'Actinomycètes sont pathogènes pour les autres organismes notamment pour les végétaux, les animaux et l'Homme (Mc-Neil & Brown, 1994) ; (Boiron, 1995). Les exemples les plus connus sont :

- Streptomyces scables, responsable de la gale de la pomme de terre.
- Actinomyces bovis, responsable d'une actinomycose chez le bétail.
- Mycobacterium tuberculosis agent de la tuberculose et Mycobacterium leprae, agent de la lèpre.
- Nocardia astéroïdes, responsable de la nocardiose humaine.
- Micropolysporafaeni, responsable d'une pneumonie allergique chez l'Homme.

1.2.4.3 caractéristiques morphologiques

2 groupes morphologiques peuvent se distinguer :

- Le premier a des caractéristiques morphologiques particulières et est formé par un ensemble de filaments ramifiés sous forme d'une masse (Mycélium).
- Les microorganismes du deuxième groupe sont typiquement plus complexes par rapport au premier groupe (Lechevalier and Lechevalier, 1985). On peut y rencontrer

des bacilles et des coccobacilles comme Rhodococcus et Mycobactérium (Avril, 1992).

L'analyse par imagerie des hyphes des actinobactéries indiquent l'existence de deux catégories de filaments (Fig.1.3) :

- Pellet : un agrégat de plusieurs hyphes enchevêtrés, leurs diamètres peuvent varier de plusieurs micromètres à plusieurs millimètres.
- Hyphes dispersés : se présentent sous deux formes « freely dispersed » et « mycélium clumps ou aggrégate » (Cox et al, 1998).

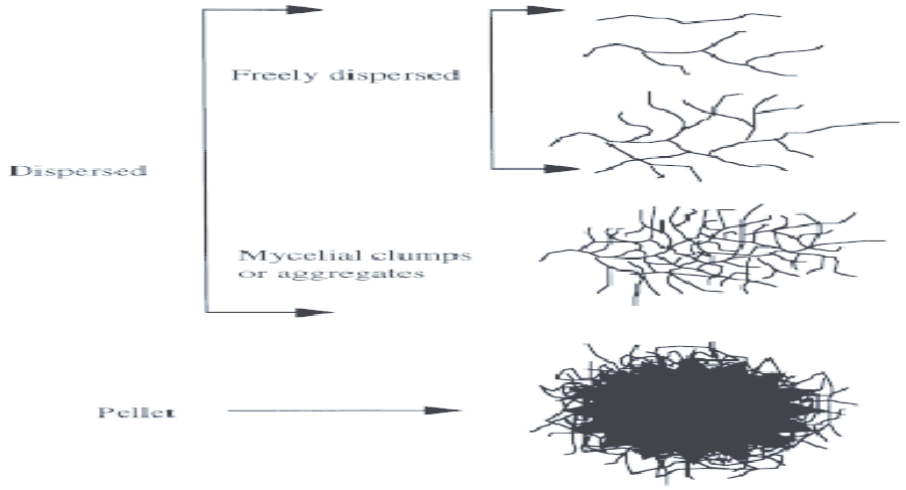


Fig.1.3 Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide (Almaris, 2007).

Le mycélium des actinobactéries présente une diversité morphologique (Figure.1.4) :

Les espèces dont le mycélium est rudimentaire au point d'être inexistant (la plupart des Mycobacterium) ;

Les espèces au mycélium fugace, qui se fragmente (certaines Nocardia) ;

Les espèces au mycélium développé et persistant comme dans le genre Streptomyces.

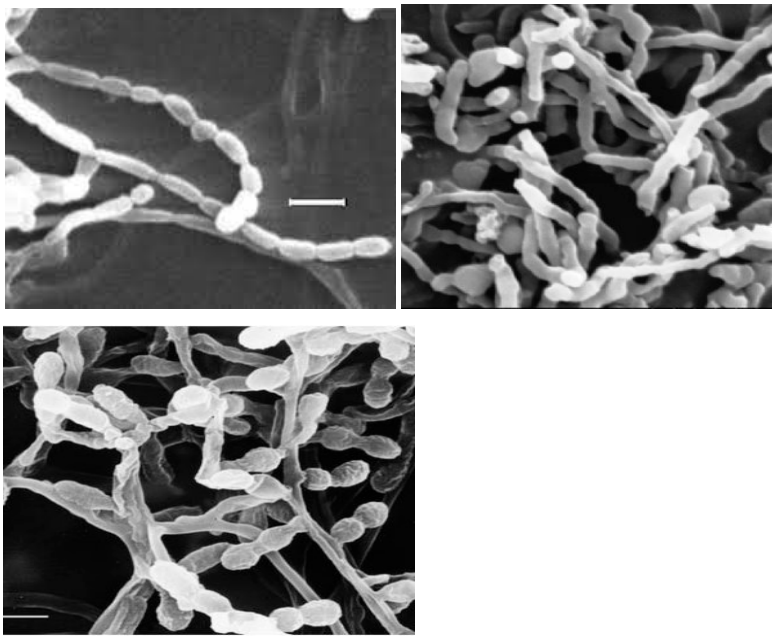


Fig.1.4 Micromorphologie de quelques espèces d'actinobactéries halophiles (observations faites au microscope électronique à balayage).

A: Nocardiopsis sinuspersici HM6T (Hamedi et al ; 2010).

B: Saccharopolyspora indica VRC122T (Vaddavalli.R et al ; 2014).

C: Saccharomonospora halophila 8 T (Al Zarban et al ; 2002).

Les actinobactéries sont caractérisées par la formation d'un réseau ramifié d'hyphe sur un substrat solide, ce réseau se développe à la fois à la surface du substrat et à l'intérieur de ce dernier pour former un mycélium végétatif et appelé aussi le mycélium du substrat ou mycélium primaire (Figure1.5) (Prescott et al, 2003). Ainsi, lorsque le mycélium du substrat se développe vers la partie superficielle, il donne lieu au mycélium aérien, les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores, qui sont des agents de dissémination répétition (Smaoui, 2010). 1 µm

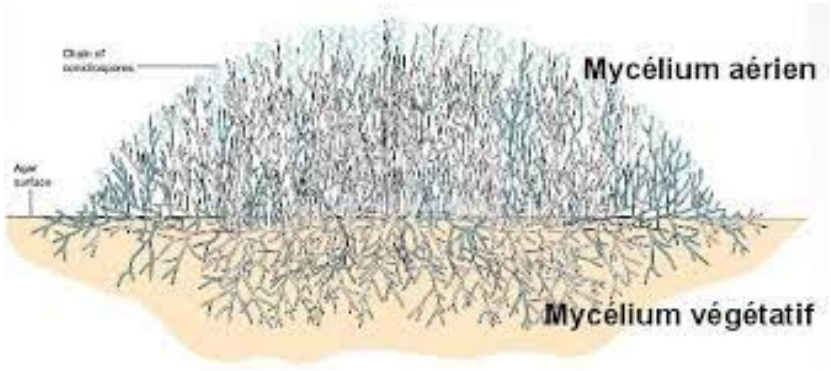


Fig.1.5 Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec des hyphes vivants (bleus-verts) et morts (blancs) (Prescott et al. 2003).

1.2.4.4 caractéristiques chimiques

Parfois, les caractères morphologiques peuvent être insuffisants pour la détermination de certains genres d'actinomycètes. Une étude chimiotaxonomique des constituants de leur paroi cellulaire est donc nécessaire pour cette détermination. Cette étude est basée sur l'analyse de la composition cellulaire en acides aminés pariétaux, en glucides cellulaires, en phospholipides membranaires, en ménaquinones, en acides gras membranaires et en acides mycoliques pariétaux (Boudjelal-Bencheikh, 2012).

Glucides

Sur l'ensemble des glucides cellulaires des actinomycètes, certains ont une grande importance taxonomique. Ils sont répartis en quatre groupes majeurs (Harir, 2018) :

-le couple « arabinose-galactose » caractéristique des genres Nocardia, Saccharopolyspora, ...

- le couple « arabinose-xylose » caractéristique des genres Micromonospora, Actinoplanes, …

-le couple « rhamnose-galactose » caractéristique des genres Saccharothrix, Lentzea, …

-Madurose (3-0-méthyl-galactose) caractéristique des genres Actinomadura ;

Streptosporangeium,

Cette composition glucidique détermine donc cinq chimiotypes A, B, C, D et E. Les actinomycètes n'ayant pas des sucres d'importance taxonomique sont classés dans le chimiotype C (Table.1.4).

Acides aminés

Les Actinomycètes peuvent contenir dans leur paroi de la glycoprotéine avec de la lysine ou le plus souvent, de la glycoprotéine avec de l'acide LL-2,6 diaminopimélique. Le premier type se rencontre chez les formes fermentatives (par exemple le genre Actinomyces), et le

second type, chez les formes oxydatives retrouvées essentiellement dans le sol (par exemple le genre Streptomyces). (Hery Rado.2017), Deux acides aminés présentent une importance taxonomique pour les actinomycètes. Il s'agit de l'acide diaminopimélique (DAP), qui peut être sous formes isomériques LL ou DL (méso) ou parfois remplacé par d'autres acides aminés tels que la lysine, l'ornithine ou l'acide diaminobutyrique, et la glycine qui peut être présente ou absente. Selon leur composition cellulaire en glucides et en acides aminés, les actinomycètes ont été classés en dix chimiotypes (Tableau.1.4) (Bouaziz, 2018) :

Tableau.1.4. Chimio types rencontrés chez les Actinobacteria (Harir, 2018).

Chimio types	Acides aminés	Sucres caractéristiques	Genre
Type IC	L_L DAP Glycine	Pas de sucres caractéristiques	Streptomyces, Nocadioides
Type IID	DL_DPA	Glycine,arabinose ,xylose	Actinoplanes, Micromonospora
Type IIIB	DL_DPA	Madurose	Streptosporangium, actinomadura
Type IIIC	DL_DPA	Pas de sucres caractéristiques	Thermomonospora, Nocardioposis
Type IIIE	DL_DPA	Galactose,Rhamnose	Saccharothrix, Actinosynnema
Type IVA	DL_DPA	Arabuinose,galactose	Nocardia,Amycolatopsis,Pseudonocardia
Type V	Lysine, ornithine	Pas de sucres caractéristiques	Actinomyces
Type VI	Lysine	Pas de sucres caractéristiques	Oerskovia,Promicromonospora
Type VII	Glycine,DAB	Pas de sucres caractéristiques	Agromyces,Clavibacter
Type VIII	Ornithine	Pas de sucres caractéristiques	Aureobacterium ,Curtobacterium

Lipides

La composition en lipides pariétaux et membranaires des actinomycètes constitue aussi un facteur important dans leur taxonomie. Ce sont des lipides complexes insaturés : les phospholipides, les ménaquinones, les acides gras et les acides mycoliques (Bouaziz, 2018).

Trois types de lipides peuvent être retrouvés chez les Actinomycètes :

Les phospholipides d'origine membranaire sont les lipides polaires les plus communs chez les Actinomycètes (Lechevalier & Lechevalier, 1980).

Les ménaquinones sont des lipides qui possèdent dans leur structure un noyau quinone méthylé et une chaîne carbonée aliphatique composée d'unités isoprènes. Ils sont classés suivant le nombre de ces unités et le degré de saturation de la chaîne (Collins, 1977).

Les acides gras, les chaînes des AG peuvent être droites ou ramifiées, saturées ou insaturées. Le nombre d'atomes de carbones contenus dans la chaîne est caractéristique de ce genre. Les acides gras rencontrés chez les Actinomycètes sont, soit des molécules de 12 à 20 atomes de carbone, soit un groupe d'acides mycoliques de 20 à 90 atomes de carbone.

L'analyse des phospholipides a permis de distinguer cinq profils phospholipidiques notés de PI à PV caractérisés par la présence d'un ou deux phospholipides caractéristiques (Tableau.1.5) (Bouaziz, 2018) :

Tableau.1.5 Types de phospholipides membranaires rencontrés chez les Actinobacteria (Harir, 2018).

Type de phospholipides	PE	PC	PG	PGI	Exemple
PI	–	–	–	V	Actinomadura
PII	+	–	–	–	Streptomyces,Pseudonocardia
PIII	–	+	–	V	Nocardiopsis,Amycolatopsis
PIV	+	–	+	–	Nocardia,Nonomuraea
PV	–	–	+	+	Oerskovia

1.2.5 Le genre bacillus

Les bactéries du genre Bacillus sont des bâtonnets à Gram positif, mobiles ou immobiles pour certaines, souvent disposées en paire ou en chaînettes à extrémités arrondies ou carrées et possédant généralement une seule endospore. Les endospores sont généralement ovales ou parfois rondes ou cylindriques et sont très résistantes aux conditions défavorables (de vos P, et al .2009), Les bacilles se trouvent dans de nombreux groupes taxonomiques de bactéries. Cependant, le nom *Bacillus* , en majuscule et en italique , fait référence à un genre spécifique de bactéries. (Collège technique des Midlands ; 2016) Les Bacillus sont des procaryotes qui appartiennent à l'embranchement des Firmicutes, à la classe des Bacilli, à l'ordre des Bacillales et à la famille des Bacillaceace (de vos P,et al .2009). Ce genre est l'un des plus

grands et des plus répandus (Celandroni F,et al.2019), il comprend actuellement plus de 268 espèces (Parte AC.2018). Sur la base de l'identification moléculaire, avec le gène de l'ARNr 16S, le genre Bacillus compte actuellement neuf (09) groupes phylogénétiques (Wang W, Sun M.2009) (Tableau 1.6).

Tableau 1.6. Classification des Bacillus selon Wang W. et Sun, M. 2009 (Wang W, Sun M.2009) avec quelques exemples pour chaque groupe.

Groupes	Espèces
I	B.pumilus,B.subtilis,B.safensis,B.licheniformis,B.mojavensis,B.amyloliquefaciens,B. altitudinis,B.aerophilus,B.sonorensis
II	B.antrhacis,B.cereus,B.thuringiensis etB.megaterium
III	B.bataviensis
IV	B.infernus
V	B.indicus et B.litoralis
VI	B.macyae
VII	B.arsericus,B.berbericus
VIII	B.saliphilus
IX	B.salarius,B.halophilus

Les représentants du genre sont largement distribués dans le sol. L'air et l'eau (Harwood, 1989).

Les bactéries de ce genre sont caractérisées par leur capacité à produire une multitude d'enzymes, des antibiotiques, des métabolites (bactériocines et biosurfactants) et sont utilisées dans de nombreux processus médicaux, pharmaceutiques, agricoles et industriels (Elshaghabee FMF,et al 2017) (Banat MI,et al.2010) (Celandroni F,et al.2019). Plusieurs espèces sont utilisées pour leur grande capacité à produire des enzymes et des composés utiles à l'Homme comme B. subtilis, B. amyloliquefaciens, B. thuringiensis et B. coagulans (Erginkaya GKIaZ.2018) (OHBA M, et al.2009). Les Bacillus présentent plusieurs intérêts d'ordre médical, agronomique, pharmaceutique et industriel (Carr, 1983 ; Gordon et al. 1973 ; Hara et Veda, 1982 ; Parry et al. 1983).

1.2.5.2 Bacillus halophiles et halotolérants

Bien que les Haloarchaea soient mieux adaptées aux salinités élevées, les Bacillus halophiles et halotolérants sont largement répartis dans différents environnements salins et hypersalins (McGenity et al. 2000).

Les espèces halophiles du genre Bacillus et apparentées sont caractérisées par une croissance optimale dans un milieu contenant 3 à 15% (p / v) de NaCl (Ventosa et al. 1998). On rentrouvre des espèces légèrement halophiles comme Bacillus xiaoxiensis (Chen et al, 2011), des espèces modérément halophiles comme Bacillus chagannorensis (Carrasco et al, 2007) et Bacillus coahuilensis (Cerritos et al, 2008).

De nombreux Bacillus halotolérants ont été décrites et qui peuvent croitre entre 0 à 10%(p / v) de NaCl comme Bacillus luteolus (Shi et al, 2011) et Bacillus seohaeanensis (Lee et al, 2006).

D'autres espèces du genre Bacillus ne sont pas concernées que par la salinité mais aussi par l'alcalinité c'est le cas de Bacillus aurantiacus (Borsodi et al. 2008), de Bacillus okhensis (Nowlan et al, 2006) et de Bacillus neizhouensis (Chen et al, 2009).

1.2.5.3 Formation des spores.

L'endospore ou spore est un organite facultatif qui se forme au sein du cytoplasme de certaines bactéries et qui diffère de la cellule végétative par sa forme, sa structure, son équipement enzymatique et par sa résistance aux agents physiques et chimiques ce qui lui permet de survivre dans des conditions très défavorables.

La sporulation est le phénomène de différenciation qui conduit de la forme végétative à la spore.

La transformation inverse est appelée la germination. Les endospores ne sont présentes principalement que chez des bactéries à Gram positif.

Les principales espèces capables de sporuler appartiennent aux genres Bacillus, Clostridium.

Morphologie et structure des endospores Au microscope en contraste de phase, la spore apparaît comme un espace clair très réfringent et limité par un contour net et régulier. Elles sont rondes ou ovales, d'un diamètre variant de 0,2 à 2 mm. Si le diamètre est supérieur à celui de la cellule végétative la spore est qualifiée de déformante, dans le cas contraire elle est non déformante. Sa situation à l'intérieur de la cellule permet de reconnaître des spores centrales, sub-terminales ou terminales (Fig.1.7).

On ne trouve qu'une seule spore par bactérie en général.
La spore (Fig.1.7) est constituée par un cytoplasme de texture homogène, pauvre en ARN, en enzymes et en eau mais contenant une quantité d'ADN proche de celle de la cellule végétative.
La membrane cytoplasmique, analogue à celle de la cellule végétative, est entourée de la paroi sporale et du cortex.
Le cortex, très transparent aux électrons, contient le quasi totalité d'un constituant spécifique des spores, l'acide dipicolinique sous forme de dipicolinate de calcium.
Appliqué contre le cortex on trouve la ou les tuniques (appelées alors intine ou tunique interne et exine ou tunique externe) formées de protéines riches en ponts disulfures puis, éventuellement, l'exosporium, (Figure.1.7).

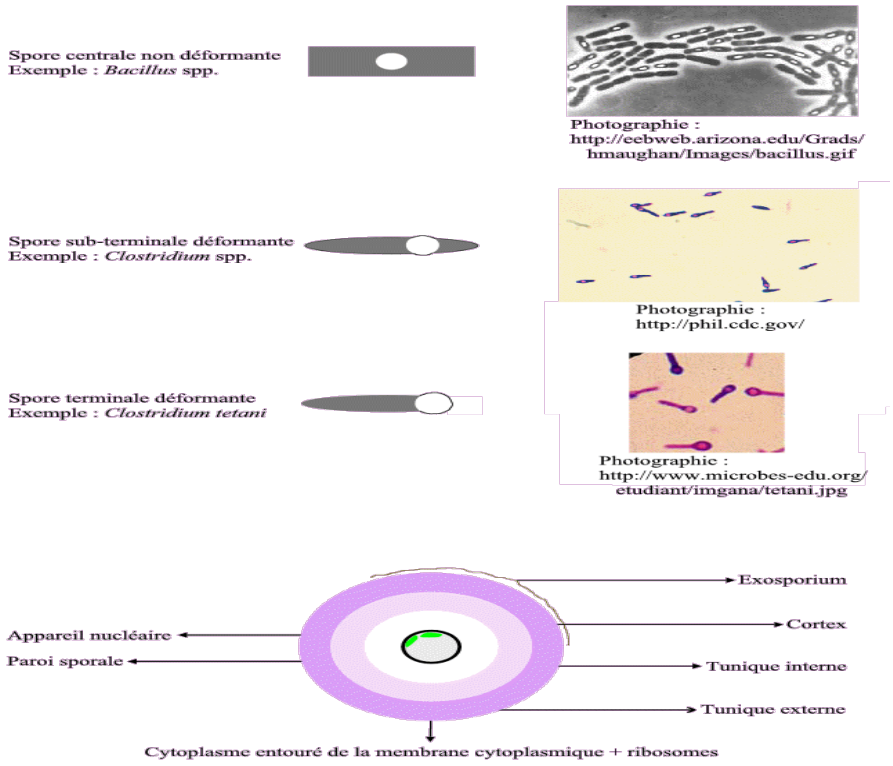


Fig1.6. La spore est constituée par un cytoplasme de texture homogène (http://www.biologiemarine.com/micro/spore.htm).

1.2.6 Les champignons

Les champignons « Fungi » (écrit en lettres italiques comme référence à un taxon linné en formel) sont considérés comme des organismes formant un règne à part dans l'arbre du

vivant. Ce sont des organismes eucaryotes et la plus part sont pluricellulaires. Les traits évolutifs qui correspondent aux champignons vrais (eumycètes) parviennent tous d'un ancêtre commun ce qui fait de ce groupe un clade monophylétique (James et al, 2006 ; Steenkamp et al, 2006).

Caractéristiques

- Organismes unicellulaires ou pluricellulaires dont les cellules possèdent un noyau (eucaryote)
- Se nourrissent par absorption et utilisent le carbone organique comme source de carbone

(Ce sont des hétérotrophes)

- Leur paroi cellulaire contient typiquement de la chitine et du glucan
- Ils peuvent se reproduire de façon sexuée et/ou asexuée (Philippe Dufresne Guy St-Germain ; 2021).

Généralités sur la pathogénicité des champignons

- Plus de 100 000 espèces connues
- Elles sont pour la plupart saprophytiques ; moins de 0,5 % sont reconnus pathogènes
- Principaux obstacles à l'invasion des tissus :
    - Température élevée (37 °C)
    - Défenses cellulaires
- Distribution géographique : parfois restreinte, parfois mondiale
- Prévalence : très élevée pour certaines mycoses (dermatophytoses, candidose); faible pourd'autres.
- Contagiosité : exception faite des dermatophytoses et de cas rares de candidose et de pneumocystose, les mycoses sont très peu contagieuses.
- Mortalité élevée lorsque l'infection est invasive (Philippe Dufresne Guy St-Germain ; 2021).

Principaux types de champignons d'importance médicale

- Dermatophytes
- Saprophytes pathogènes (champignons dimorphes – mycoses endémiques)

- Saprophytes opportunistes (levures et champignons filamenteux (Philippe Dufresne Guy St-Germain ; 2021).

1.2.6.1 Cycle de développement

Le cycle de développement d'une moisissure comprend une phase végétative de croissance et de nutrition, et presque simultanément, une phase reproductive. La germination des spores est à l'origine de la phase végétative. Durant cette phase, la moisissure développe un réseau mycélien permettant la colonisation du support et la recherche de nutriments. Généralement, la présence de ces filaments sur les œuvres nous alerte de la potentialité d'une contamination.

Durant la phase reproductive, la moisissure va produire des particules de quelques microns, appelées « spores » qui assurent la dispersion de l'espèce. Ces spores, produites en très grande quantité, germent aussitôt si les conditions environnementales sont propices à cette germination. Ceci explique la propagation fulgurante des spores qui est à l'origine des contaminations fongique. Par ailleurs, ces spores ont la particularité d'avoir un métabolisme réduit et d'être entourées de parois protectrices qui leurs confèrent une très grande résistance. Ainsi, elles peuvent rester inertes plusieurs années, attendant les conditions favorables pour leur germination et leur développement. Cet état s'appelle la « dormance » ou encore la « latence ».

Dans les conditions ambiantes naturelles, les spores sont en suspension dans l'air, associées à des particules de plus grosses tailles que l'on nomme « poussière » (fibre animale, fibre végétale, textiles, squame...). Par sédimentation, ces spores se déposent sur toutes les surfaces : collection, rayonnage, sol, mur... Cette poussière est donc à la fois une réserve de spores et une source nutritive pour leur développement **(**T. Basset et C. Laffont ; 2011**).**

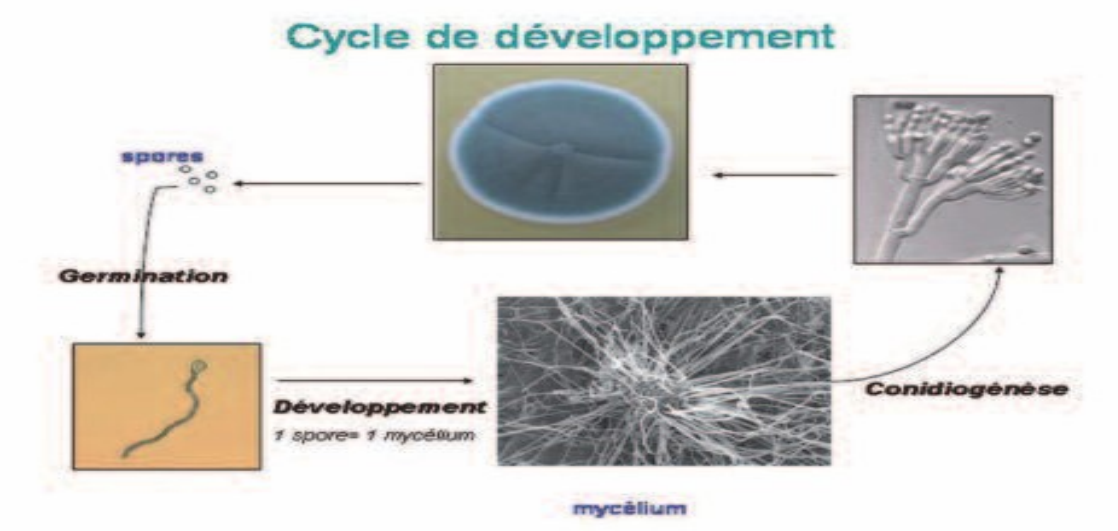


Fig.1.7. Cycle de développement des champignons (référence bibliographique réservé une partie pour les sites web)
(https://journals.openedition.org/ocim/docannexe/image/994/img-2.jpg)

1.2.6.2 Classification des champignons

Déterminer l'ampleur et les modèles de la diversité des espèces fongiques est un défi permanent pour les mycologues. (Hawksworth 1991, 2001, 2004 ; Hawksworth and Rossman 1997 ; Hyde 2001 ; Hawksworth and Mueller 2005).

La première tentative de classification des champignons a été basée sur des critères morphologiques. Les progrès en microscopie et en biochimie durant les XVIIIe , XIXe et XXe siècles ont permis d'affiner cette classification. Les avancées rapides de la biologie moléculaire depuis les années 1980 permettant à la classification de mieux refléter les relations évolutives entre les divers groupes de champignons (Jonathan et al. 2020).

La classification de Hawksworth, Sutton et Ainsworth (1970) modifiée par Kwon Chung et Bennett (1992), puis par de Hoog (1995), est la plus utilisée actuellement. On différencie quatre divisions selon les modalités de la reproduction sexuée : les Mastigomycotina, les Zygomycotina, les Ascomycotina et les Basidiomycotina. En outre, lorsque la reproduction sexuée n’est pas connue, la division est appelée Deuteromycotina ou Fungi imperfecti (Chabasse et al. 2002). Le règne fongique présent différent taxons, le radical terminal indique la place de chaque taxon dans l’échelle des rangs hiérarchiques (Sylvie, 2006).

Tableau 1.7 Les principaux radicaux par ordre d'importance décroissante (Villard et al, 2005).

Taxo	**Terminaison**
Division ou Embranchement	Mycota
Sub-division ou Sous embranchement	Mycotina
Classe	Mycete
Sous-classe	Mycetideae
Ordre	Ales
Sous-ordre	Ineae
Famille	Aceae
Sous-famill	Oideae

1.2.6.3 Caractéristiques morphologiques des champignons

Structure de la paroi

La paroi cellulaire fongique c'est un squelette hautement élastique qui protège la cellule de diverses contraintes, assure la rigidité et définit la structure cellulaire. La paroi cellulaire est uniquement constituée de :

-*Glucanes* : Le glucan est le polysaccharide structural le plus important de la paroi cellulaire fongique et représente 50 à 60% du poids sec de cette structure (Rubio, et al, 2020).

-*Chitine* : La teneur en chitine de la paroi fongique varie en fonction de la phase morphologique du champignon. Il représente 1 à 2% du poids sec de la paroi cellulaire de la levure tandis que chez les champignons filamenteux, il peut atteindre 10 à 20%. La chitine est synthétisée à partir de la n-acétylglucosamine par l'enzyme chitine synthase, qui dépose des polymères de chitine dans l'espace extracellulaire à côté de la membrane cytoplasmique (Rubio, et al, 2020).

- *Les glycoprotéines* : Les protéines composent 30 à 50% du poids sec de la paroi fongique. La plupart des protéines sont associées aux glucides par des liaisons O ou N donnant des glycoprotéines. Les protéines de la paroi cellulaire ont différentes fonctions, notamment la participation au maintien de la forme cellulaire, les processus d'adhésion, la protection cellulaire contre différentes substances, l'absorption de molécules, la transmission du signal, la synthèse et la réorganisation des composants de la paroi (Rubio, et al, 2020).

-***Mélanine*** **:** La mélanine est un pigment de poids moléculaire élevé chargé négativement, Les champignons produisent de la mélanine par deux voies, à partir du 1, 8-dihydroxynaphtalène (DHN) intermédiaire et de la L-3, 4- dihydroxyphénylalanine (L-dopa) (Rubio, et al, 2020).

Le thalle

Les thalles peuvent être unicellulaires ou filamenteux

-chez certaine champignons inferieur tels que les chytrides, plasodiophora, levure, etc. Le thalle est constitué d'une seule cellule, les cellules des chytrides ont une structure plus ou moins sphérique. Dans plasodiophora, c'est une masse amiboïde nue (Iswary, 2018).

-thalle filamenteux ; la plus part des champignons ont un thalle filamenteux, il provient de la germination des spores, les spores germent en tombant dans un substrat appropriée donnent naissance à une masse de thalle duveteux constituée d'une masse cotonneuse de fins filaments ramifies. Ces filaments sont appelés hyphes, collectivement, les hyphes comprennent le corps végétatif d'un champignon appelé mycélium (Iswary, 2018).

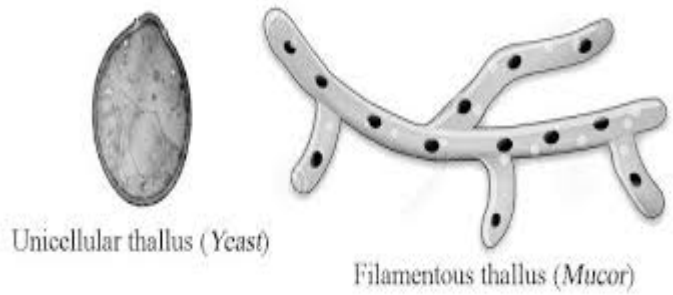


Fig1.8 Type de thalles des champignons (Hill, 2014).

1.2.6.4 Importance économique des champignons

Importance économique des champignons en médecine

Les champignons jouent un rôle important dans le domaine de la médecine, car ils travaillent pour produire divers antibiotiques contre les bactéries pathogènes en plus de lutter contre les maladies infectieuses. Ils produisent également des antibiotiques tel que pénicilline par l'espèce P. chrysogenum, ces antibiotiques sont des substances organiques qui tuent les bactéries G +. Certains antibiotiques fongiques sont également donnés aux animaux d'abattage pour favoriser une croissance rapide et améliorer la qualité des produits carnés. La calvacine, substance anticancéreuse, est obtenue à partir de la boule géante Clavatia. Ce champignon empêche les tumeurs de l'estomac. L'agent antifongique griséofulvine est produit à partir du

mycélium de Penicillium griseofulvum. Cet antibiotique n'agit sur les hyphes qu'en interférant avec la formation de la paroi, en conséquence, il provoque la courbure et l'arrêt de la croissance des extrémités des hyphes. Il est également utilisé pour le traitement des maladies fongiques de la peau telles que la teigne et la maladie du pied d'athlète (Sourav, 2020).

Importance économique des champignons dans l'industrie

Beaucoup de champignons sont utilisés dans la production de l'alcool comme la levure de la boulangerie pour rendre les pains et les gâteaux d'aspect spongieux. Quelques fromages ont également fabriqués à partir quelque espèce de Pénicillium (Roquefort et Camembert) (Hussin, 2018).

Importance économique des champignons en agriculture

Plusieurs membres fongiques comme Rhizoctonie, Tricholome, Bolet, Phallus, Amanite etc., associée avec les racines des plantes forment des relations mycorhize. Les fournitures de partenaire fongique en eau et minéraux, ils prennent leur nutrition de la plante. En plus les champignons aider à augmenter les minéraux et autre substances, ce qui augmente la fertilité du sol (Hussin, 2018).

Importance économique des champignons dans alimentaire

Les champignons peuvent être utilisés pour produire des matières à valeur nutritive telles que des vitamines, des acides aminés et des lipides pour les rendre plus nutritives et appétentes. Les champignons sont cultivés pour produire des corps fruitiers directement consommés comme aliments et cellules de levure, le mycélium de moisissure est cultivé dans des fermenteurs pour produire des protéines unicellulaires qui peuvent être utilisées comme nourritue (Yuvaraj & Ramasamy, 2019).

1.3 LES METABOLISMES SECONDAIRES

Les métabolites secondaires (aussi appelés produits naturels) sont des molécules organiques. Qui sont produites par un organisme à un moment **particulier** de son cycle de vie (souvent à la fin de croissance). La synthèse de ces molécules n'est pas indispensable à la croissance (Charlesworth,etal. 2015). Ils ne sont pas indispensable à la croissance du microorganisme lui-même, leur absence peut limiter la survie, la fécondité ou l'apparence d'un microorganisme

mais peut aussi n'avoir aucun effet. Ils sont de structure et d'activité biologique très diverses. Les microorganismes produisent leurs métabolites secondaires après avoir terminé leur phase de croissance et avoir entamé la phase stationnaire, appelé idiophase (Tortora et al, 2003). Ces molécules sont très diverses et ont chacune des rôles différents. Il est donc difficile de les classifier mais également de faire la différence entre le métabolisme dit "primaire" et "secondaire (Charlesworth, et al.2015).

1.3.1 La lutte biologique

La lutte biologique utilisant le potentiel antagoniste naturel contre les pathogènes est une alternative potentiellement viable et écologique (Jiménez-Díaz et al. 2011).

L'antagonisme est un phénomène par lequel l'action des antagonistes supprime ou inhibe la croissance, le développement et l'activité normale des agents phytopathogènes qui se trouvent à proximité (Heydari et Pessarakli, 2010).

1.3.2 Les molécules bioactives

Les molécules bioactives sont des substances antimicrobiennes naturelles d'origine biologique élaborées par les microorganismes. Les molécules bioactives diffèrent les unes des autres sur leur mode de synthèse et leur spectre d'activité. Ils sont variées et diversifiées on distingue (les antibiotiques, les antifongique et l'anti levures).

1.3.3 Les antibiotiques

Un antibiotique (ATB) est l'un des métabolites secondaires, c'est une substance thérapeutique qui a pour but de lutter contre des bactéries responsables d'infection, exerçant une action toxique (Abdelaziz, 2006), ont été particulièrement étudiés du fait de leur importance en thérapie humaine et vétérinaire (Coates & Hu, 2007).

Un antibiotique est une substance thérapeutique qui a pour but de lutter contre des bactéries responsables d'infection. Les antibiotiques sont des substances naturelles produites par des bactéries du sol ou certains champignons ; extraits de substances d'organismes vivants, leur origine est dite naturelle mais ils peuvent aussi être synthétisés de façon totale ou partielle (origine semi-synthétique) (CMIT.2006).

Ils sont extraits de substances d'organismes vivants, leur origine est dite naturelle mais ils peuvent aussi être synthétisés de façon totale ou partielle (Ait & Mouhoub, 2015). Les antibiotiques agissent sur les bactéries soit en les tuant ils sont donc dites bactéricide - soit en stoppant leur croissance - ils sont alors Dites bactériostatique. Les antibiotiques sont sans effet sur les virus (Michel & Nayla, 1997).

Tableau 1.8. Taux de production d'antibiotiques selon les groupes microbiens (Berdy, 1985).

Antibiotique		
Type d'organisme	**Pourcentage**	**Quantité**
Actinomycètes	4600	43
Champignons	1600	15
Bactéries	950	9

1.3.3.1 Les antibiotiques d'origine des actinomycètes

Environ deux tiers de tous les antibiotiques connus sont produits par des actinomycètes, principalement par Streptomyces. (barka,E ;A et al, 2015).On pense que les actinomycètes sont à l'origine d'environ 61% de toutes les substances bioactives dérivées de micro-organismes découvertes à ce jour (felling.R.H ; et al.2003),16% du total provenant des « actinomycètes rares », principalement des Micromonosporaceae, avec déplus petites contributions des pseudonocardiaceae et Thermomonosporaceae. Cela suggère que les actinomycètes rares sont une source précieuse de nouveaux composés, et que des stratégies d'isolement améliorées sont nécessaires pour augmenter la fréquence à laquelle ils sont isolés (Tiwari,K ;Gupta,R.K..2012).

Les actinobactéries sont notables en tant que source microbienne de produits naturels bioactifs, comme les antibiotiques (l'érythromycine, daptomycine), les composés anticancéreux (adriamycine et bléomycine), les immunosuppresseurs (FK-506 et rapamycine), les agents de lutte contre les insectes, l'avermectine et le spinosad (mélange de spinosyne A et spinosyne D) (Tao et al, 2019).

Les actinobactéries ont une grande importance dans le domaine de la biotechnologie, en tant que producteurs d'une pléthore de métabolites secondaires bioactifs avec de nombreuses applications industrielles, médicales et agricoles (Ait Barka et al, 2016).

Les premiers antibiotiques découverts étaient l'actinomycine de Streptomyces antibioticus en 1940, streptothricine de Streptomyces lavendulae en 1942 et la streptomycine de Streptomyces

griseus en 1944, qui ont tous été découverts par Waksman et ses collègues (Ait Barka et al, 2016).

Tableau 1.9. Exemples d'antibiotiques produits par les actinobactèries (Ait Barka et al, 2016).

Espèces	Antibiotiques
Amycolatopsis orientalis	Vancomycine
Streptomyces griseus	Cycloheximide
Streptomyces spp	Pristinamycine
Streptomyces mediterranei	Rifamycine
Streptomyces aureofaciens	Tétracycline
Streptomyces niveus	Novobiocine

1.3.3.2 Les antibiotiques d'origine fungiques

Beaucoup de mycètes peuvent produire des composés appelés métabolites secondaires (Demain et fang, 2000). Chez les mycètes, la production de métabolites secondaires est un processus couplé au développement morphologique en particulier à la phase de sporulation (Hapwood, 1988 ; Demain et Fang, 2000 ; Calvo et al, 2002). Les métabolites secondaires peuvent avoir certaines activités quelle est la production des antibiotiques :

La grande majorité d'entre eux provient de microorganismes .parmi ceux –ci, l'ensemble des bactéries, actinomycètes compris, produits 80% des antibiotiques, les champignons étant à l' origine d'environ 20% (Larpent & Sanglier, 1989).

Tableau 1.10.mycètes producteurs d'antibiotiques (Larpant & Larpant, 1996).

Organismes producteurs	Antibiotiques
Aspergillus flavus Acide	Aspergillique
Aspergillus fumigatus	Fumagilline
Cephalosporium acremoniumu	Céphalosporine
Cephalisporium caerulens	Cérulinine
Helminthsporium siccans	Siccanine
Paecilomyces variotti	Variotine
Penicillium chrysogenum	Pénicilline
Penicillium griseofulvum	Griséofluvine
Fusidium coccineum	Acide fusidique

1.3.3.3 Les antibiotiques d'origine bacillus

Les Bacillus contribuent ainsi à la détoxication du manioc en permettant un contact facile entre les linamarases et les glucosides cyanogéniques. Par leur action, les souches de Bacillus ont également la capacité de produire des molécules d'intérêt biotechnologique, ce qui constitue l'une des propriétés les plus prisée de ces souches (Waites et al. 2001). Les molécules produites peuvent être utilisées dans le domaine de l'agriculture notamment dans la lutte biologique (Aboussaid et al. 2009).

Les espèces de Bacillus productrices d'antibiotiques sont B. subtilis, B. polymyxa, B.brevis, B. licheniformis, B. circulans, B. cereus. Les antibiotiques polypeptidiques produits par Bacillus les plus utilisés dans les traitements médicaux sont la bacitracine, la gramycidine S, les polymyxines, la tyrotricidine (Morikawa et al, 1992 ; Perez et al, 1993 ; Drablos et al, 1999).

1.3.4 Les antifungiques

Les antifongiques sont des substances naturelles, semi-synthétiques ou synthétiques capables d'inhiber ou d'arrêter la croissance des champignons à différentes concentrations (Lortholary et al .2008) (Petit Jean et al.2012).

Les microorganismes produisent des métabolites secondaires antifongiques qui inhibent la croissance et le métabolisme des agents pathogènes. L'application des agents antagonistes dans la lutte contre les maladies présentent certains avantages par rapport aux fongicides synthétiques, notamment : l'absence de résidus toxiques, respectueuse de l'environnement, durable, efficace, facile à appliquer (Bonaterra et al. 2012).

1.3.4.1 Les antifungiques d'origine des actinomycètes

La fréquence des maladies fongiques invasives a considérablement augmenté au cours des dernières années en raison du nombre croissant de patients immunodéprimés. Candida sp. Et Aspergillus sp. sont lesprincipaux agents pathogènes pouvant entraîner de graves complications infectieuses, en particulier chez les patients neutropéniques, les receveurs de greffes de cellules souches hématopoïétiques allogéniques ou en cas de transplantations d'organes solides, ainsi que les patients dans les unités de soins intensifs présentant de multiples facteurs de risque (par exemple, antibiotiques à large spectre, insuffisance rénale, dialyse, intubation à long terme) (Gangneux et al., 2018).

Tableau 1.11. Activité antimicrobienne de la souche Actinomadura sp.AC170 (B.Badji et al.2005).

Germes cibles	Inhibition (mm)
Champignons filamenteux	
Alternaria sp.	18
Ascochyta lentis	43
Ascochyta pisi	42
Aspergillus sp.	20
Botrytis fabae	42
Botrytis cinerea	12
Cladosporium sp.	31
Fusarium culmorum	31
F. equiseti	26
F. oxysporum f.sp. albedinis	9
Mucor ramannianus	21
Phoma sp.	45
Pythium irregulare	14
Levures	
Rhodotorula mucilaginosa	5
Saccharomyces cerevisiae	18

1.3.4.2 Les antifungiques d'origine bacillus

Les bacillus ont un large spectre d'action et sont utilisés comme agents antifongiques (Milner et al. 1995).Plusieurs espèces du genre Bacillus sont efficaces dans le biocontrôle de divers champignons phytopathogènes (Williams et Asher, 1996 ; Landa et al. 1997 ; Commare et al. 2002 ; Swain et Ray, 2006).

Les agents antagonistes utilisés pour lutter contre les champignons pathogènes appartiennent à plusieurs groupes taxonomiques, notamment les bactéries telles que Pseudomonas sp et Bacillus sp (Mercado-Blanco et al. 2004).et champignons tels que Trichoderma virens (Hanson, 2000).

CHAPITRE 2. MATERIELS & METHODES

CHAPITRE 2. PRODUITS, MATERIELS & METHODES

2.1 PRODUITS CHIMIQUES

Les produits chimiques utilisés durant cette étude sont de qualité analytique, sans purification préalable. Les solutions ont été préparées avec de l'eau distillée ou avec les solutions tampons.

Les produits utilisés dans cette étude sont: chlorure de sodium (NaCl) ; carbonate de calcium ($CaCO_3$) ; érythromycine($C_{37}H_{67}NO_{13}$) ; nystatine ($C_{47}H_{75}NO_{17}$); gentamicine ($C_{21}H_{43}N_5O_7$); acétate d'éthyle ($C_4H_8O_2$) ; *myristate* ($C_{17}H_{34}O_2$); peroxyde d'oxygène (H_2O_2) ; oxalate de N-diméthyle paraphénylène diamine ; Lactophénol bleu de coton.

2.2 MATERIEL

2.2.1 Matériels utilisé *in vitro*

Dans notre stage de fin d'étude nous avons utilisé des appareils(Annexe1), des milieux de culture(Annexe2).

Bactéries

Pour la réalisation de notre étude nous avons utilisé des souches qui ont été isolé à partir de sol saharien de différentes régions du territoire national.Les souches séléctionées sont : des actinomycètes, des bacillus et des champignons.

La recherche de l'activité anti-métabolite nécessite des bactéries test.les souches utilisées sont : *Salmonella typhimurium(*ATCC14028*), Pseudomonas aeruginosa (*ATCC9027*), Escherichia Coli (*ATCC8739),*Staphylococcus aureus(*ATCC6538*) ,Candida albicans(*ATCC10231*) et Aspergillus brasiliensis (*ATCC16404).

Echantillons

L'échantillonnage à été effectué durant la période de décembre à janvier 2021/2022 à partir de différentes régions du territoire national.

Tableau.2.1. Description de la nature de différents points de prélèvement sur le territoire national

E	Localisation géographique	Profondeur	Nature de prélèvement
1	Tintoy-Tabenkort-Bordj Omar Driss	30 cm	Sol Saharien
2	El Hjira	20 cm	Sol Saharien
3	Tintoy-Tabenkort	30 cm	Sol Saharien
4	20 km Avant El Hdjira	20 cm	Sol Saharien
5	Tintoy-Tabenkort-Bordj Omar Driss	35 cm	Sol Saharien
6	Oued Jdey-Wlad Djellal-Biskra	20 cm	Sol Saharien
7	Avant Mas'ad-Djelfa	20 cm	Sol Saharien
X	Akafadou	---	Eau thermal

2.3. METHODES

Dans notre stage de fin d'étude nous avons utilisé des méthodes différentes *in vitro*

2.4 ETUDE *IN VITRO*

Ce présent travail est réalisé au niveau de Laboratoire de Faculté de science à l'université de Docteur Yahia Fares. Il porte sur l'isolement et l'identification des moisissures, des bacillus et des actinomycètes isolés du sol, ainsi que l'étude de leur activité anti-métabolite.

2.4.1 Prélèvement

On prélève avec une petite spatule stérile dans la couche sous-jacente (entre 15 et 40 cm de profondeur). Et environ 50g sont placés dans un flacon stérile et transportés le plus rapidement possible au laboratoire pour analyse (Pochon et Tardieu, 1962).

2.4.2 Etude des caractéristiques du sol

Humidité

Une pesée de 5g (P1) de chaque échantillons du sol est prélevé à l'aide d'une spatule et répartie dans des boites de pétrie en verre, puis séchant les dans une étuve à 105°C pendant 24h, refroidies à la température ambiante dans un dessiccateur et une deuxième pesée (P2) est réalisée.

L'humidité est calculée selon la formule : $\mathbf{H\%} = (\mathbf{P1} - \mathbf{P2})\mathrm{X}\frac{100}{\mathbf{P2}}$

P1 : le poids du sol humide **; P2 :** le poids du sol sèche

Mesure de pH

Une pesée de 20g de l'échantillon du sol de terre fine séchée à l'aire, est introduite dans un volume de 50ml d'eau distillée à fin de mesurer la valeur de pH. Le mélange est soumis à une agitation pendant quelques minutes, reposé pendant 2h et la valeur de pH est déterminée à l'aide d'un pH-mètre.

2.4 .3 Dilution

Les figures ci-dessous représentent les étapes de la préparation de la solution mère et la serie de dilutions à suivre.

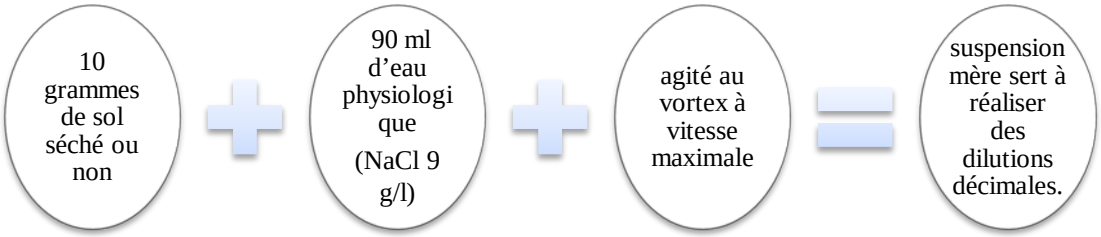


Fig.2.1. Etape de préparation la solution mère

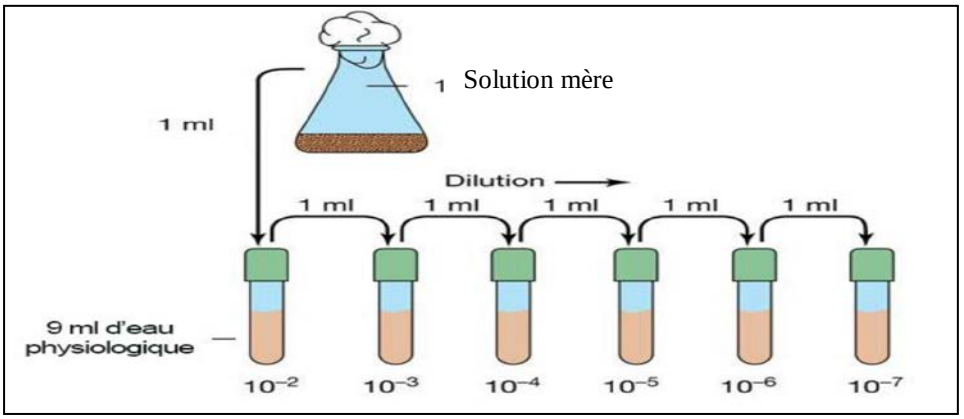


Fig.2.2 Etape de préparation des dilutions après fait la solution mère

2.5 ISOLEMENT ET PURIFICATION

2.5.1 Les actinomycètes

En réalisant l'isolement et la purification des actinomycètes selon les étapes présentés dans la figure. (Fig.2.3)

Traitement

***.Le traitement* (T1) :** Consiste à chauffer deux grammes (2g) de chaque échantillon à 60°C pendant 30 minutes

- ***Le traitement* (T2) :** Un gramme de chaque sol séché à l'air est mélangé avec 0,1 g de CaCO3 et incubé à 26°C-28°C pendant 7 jours dans une atmosphère saturée d'humidité (Cavala, 1994).

↓

Ensemensement

- Les milieux utilisés dans cette étude sont les suivants : **Milieu Bennett-Milieu SCA** (Annexe2)
- Les deux milieux sont additionnés de 10 µL/ml d'érythromycine (inhibe les bactéries gram +), 10 µL/ml de gentamicine (inhibe les bactéries gram -) et 50 µg/ml de nystatine (inhibe la flore fongique).

↓

Incubation

- à 28 °C pendant 21 jours
- Des observations régulières sont effectuées chaque semaine.

↓

Purification

- Les colonies d'actinomycètes obtenues subissent une purification, en réalisant les repiquages successifs nécessaires sur trois milieux :**-Milieu SCA-Milieu Amidon de caséine -Milieu casitone** (Annexe2).
- Les trois milieux sont additionnés de 10 µL/ml d'érythromycine (inhibe les bactéries gram +), 10 µL/ml de gentamicine (inhibe les bactéries gram -) et 50 µg/ml de nystatine (inhibe la flore fongique).

↓

Conservation

- Les souches obtenues sont conservées en gélose inclinée sur milieu Amidon de caséine à 4 °C pour une durée de deux mois environ.

Fig.2.3 organigramme présente l'étape d'isolement et purification des actinomycètes (Boudemagh ; 2007).

2.5.2 Les bacillus

L'isolement et la purification des bacillus étaient selon le processus présenté dans la figure. (Fig.2.4)

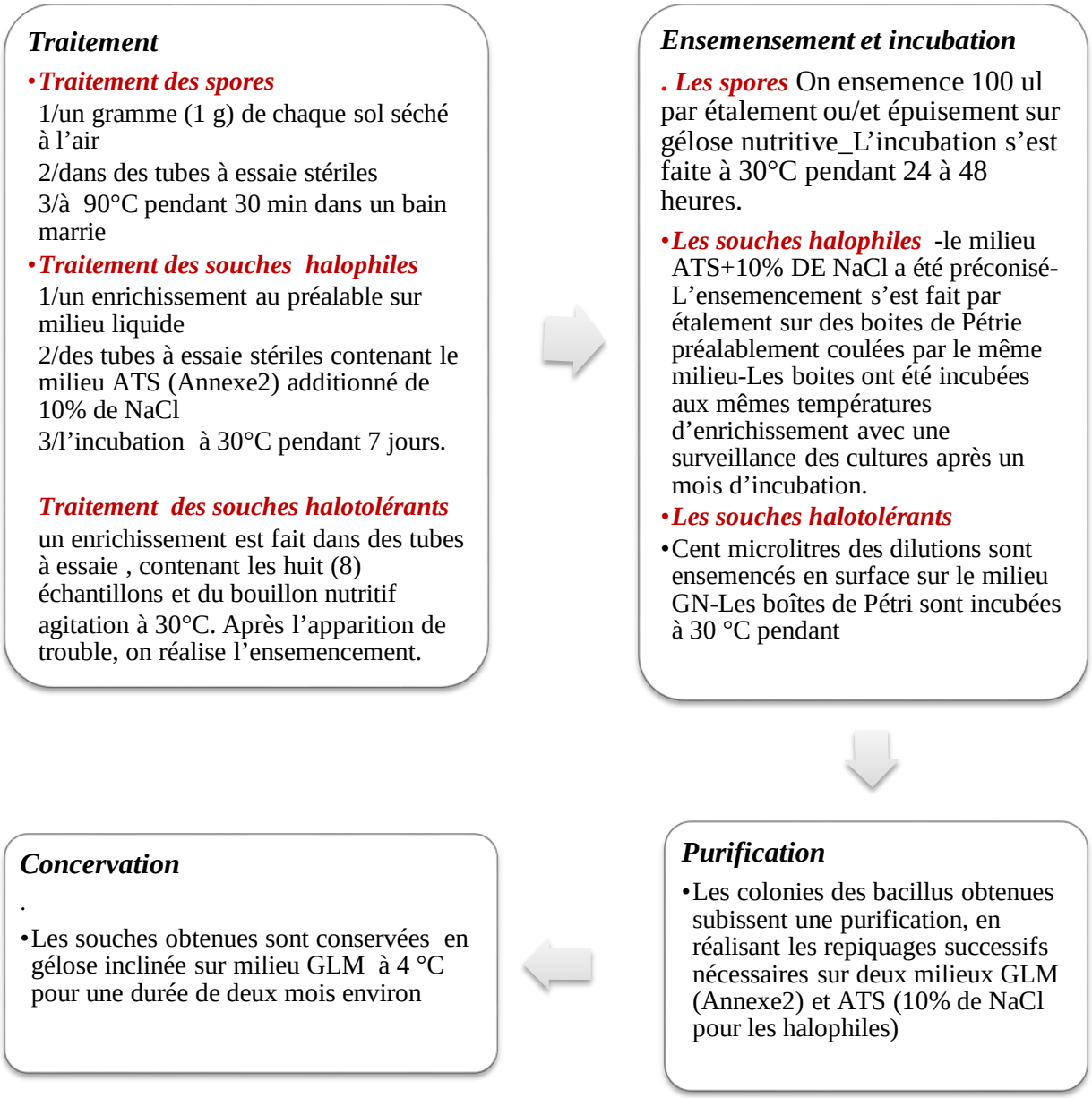


Fig.2.4 Organigramme des étapes d'isolement des bacillus (Amziane touazi ;2014)

2.5.3 Les champignons et les moisissures

Ensemencement et incubation

Le milieu utilisé pour l'isolement des moisissures du sol est la gélose PDA (potato dextrose agar). La croissance bactérienne est inhibée par l'addition de 5 mg/l d'érythromycine (inhibe

les bactéries gram(+), 5 mg/l de gentamicine (inhibe les bactéries gram -). Les boîtes de Pétri sont incubées à 28 °C pendant 7 jours (Botton et *al.* 1999).

Repiquage et purification

Après un bon développement des colonies, on effectue des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boite de Pétri une seule colonie d'un champignon donné (Guiraud, 1998).

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boite sur milieux Sabouraud et PDA. Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boite sur laquelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boite de prélèvement. Le repiquage se fait aseptiquement près du bec Bunsen et les boites sont incubées à 28°C pendant six jours jusqu'à obtention des souches pures.

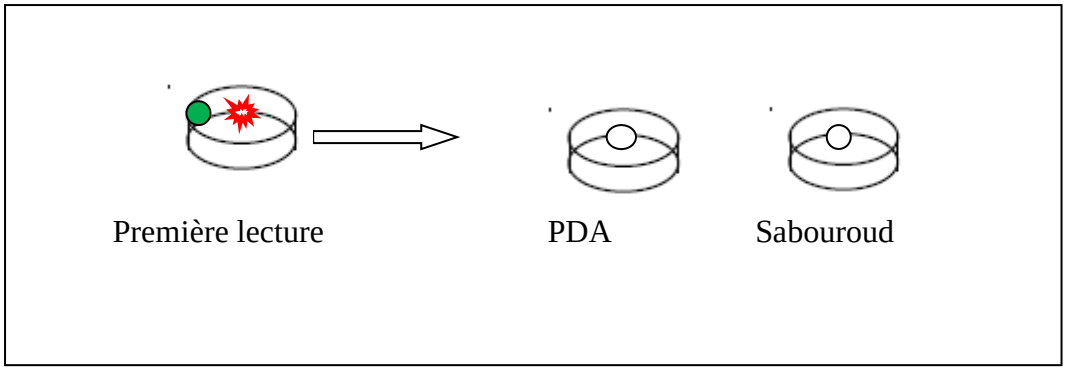


Fig.2.5 Repiquage des boites au centre sur deux milieux

Les souches obtenues sont conservées en gélose inclinée sur milieu sabouroud à 4 °C pour une durée de deux mois environ.

2.6 LE CRIBLAGE DE L'ACTIVITE ANTI-METABOLITE

2.6.1 Screening primaire

Cette étape est importante pour réduire le nombre des souches étudiés, et cela est du au nombre énorme obtenue lors de l'étude des différents échantillons du sol où on a sélectionné les souches productrices d'une zone d'inhibition.

Recherche de l'activité antibactérienne

Les activités antibactériennes des souches ont été recherchées en utilisant la méthode de diffusion (NCCLS) « National Committee for Clinical Laboratory Standards », qui permet de

détecter les souches présentant une activité antibactérienne à l'encontre d'autres germes de référence.

On prépare une suspension de 0.5 Mc Farland à partir d'une culture âgée de 18h de bactéries tests qui sont : *salmonella typhimurium*(*ATCC14028*), *Pseudomonas aeruginosa* (*ATCC9027*) et *Escherichia coli* (*ATCC8739*).

Sur une boite de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton et à l'aide d'un écouvillon stérile, on ensemence la suspension bactérienne (bactérie test) par des stries serrées sur toute la surface, de haut en bas. Cette opération est répétée trois fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois, tout en retournant l'écouvillon sur lui-même.

Puis, à partir des boites contenant les souches à étudier, on découpe des disques de gélose d'un diamètre de 4 à 5mm contenant les colonies, et on les dépose aseptiquement sur la gélose déjà ensemencée avec le germe test à raison de cinq disques par boite. L'incubation se fait à 30° C pendant 24 à 48 heures.
Un résultat positif se traduit par une zone d'inhibition autour du disque de gélose, ce qui indique la synthèse de molécules antibactériennes.

Recherche de l'activité antifongique

L'activité antifongique est testée vis-à vis de un champignon pathogènes et Phytopathogène, qui est *Aspergillus brasiliensis(ATCC16404)* et une levure qui est Candida albicans (*ATCC10231*).

Dans le but d'avoir des cultures fraiches et jeunes, on ensemence les champignons à tester dans le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) et on incube les boites à 28°C pendant 72h. Les souches à tester sont ensemencées dans leur milieu de culture adéquat et aux conditions optimales de leurs croissance dans le même but.
Après obtention des cultures fraîches, à partir des boites contenant les souches à étudier, on découpe des disques de gélose d'un diamètre de 4 à 5mm contenant les colonies, et on les dépose aseptiquement sur la gélose sabouroud déjà ensemencée avec les champignon test à raison de quatre disques par boite, puis 4 disques équidistants tout autour des souches. L'incubation se fait à 30°C pendant 72 heures et plus si nécessaire, avec des lectures quotidiennes.

2.3.2 Screening secondaire

La suite de la procédure serait selon deux méthodes qui sont les suivantes :

2.3.2.1 La méthode de diffusion des puits par milieu liquide

- Prélever la souche productrice de la substance antibiotique.
- Inoculer dans un bouillon nutritif pour les bacillus, milieu SCA liquide pour les actinomycètes et sur milieu Sabouroud liquide pour les champignons.
- Centrifuger le milieu liquide après culture et/ou filtrer sur membrane de porosité 0,45 µm; récupérer le filtrat et l'annoter.
- Effectuer un test de sensibilité par la méthode adaptée de l'antibiogramme sur milieu gélosé : recouvrir par étalement à l'écouvillon une gélose Mueller-Hinton d'une bactérie-test : *Salmonella typhimurium(*ATCC14028*), Pseudomonas aeruginosa (*ATCC9027*), Escherichia Coli (*ATCC8739),*Staphylococcus aureus(*ATCC6538*) ,Candida albicans(*ATCC10231*) et Aspergillus brasiliensis (*ATCC16404)
- Réaliser des puits dans la gélose et verser le surnageant récupéré dans ces derniers
- Incuber 24 h pour les bactéries et 72 h pour les champignons et les actinomycètes à 30°C.
- Rechercher la présence d'un halo d'inhibition de culture

Un résultat positif se traduit par une zone d'inhibition autour du disque de gélose, ce qui indique la synthèse de molécules antibactériennes.

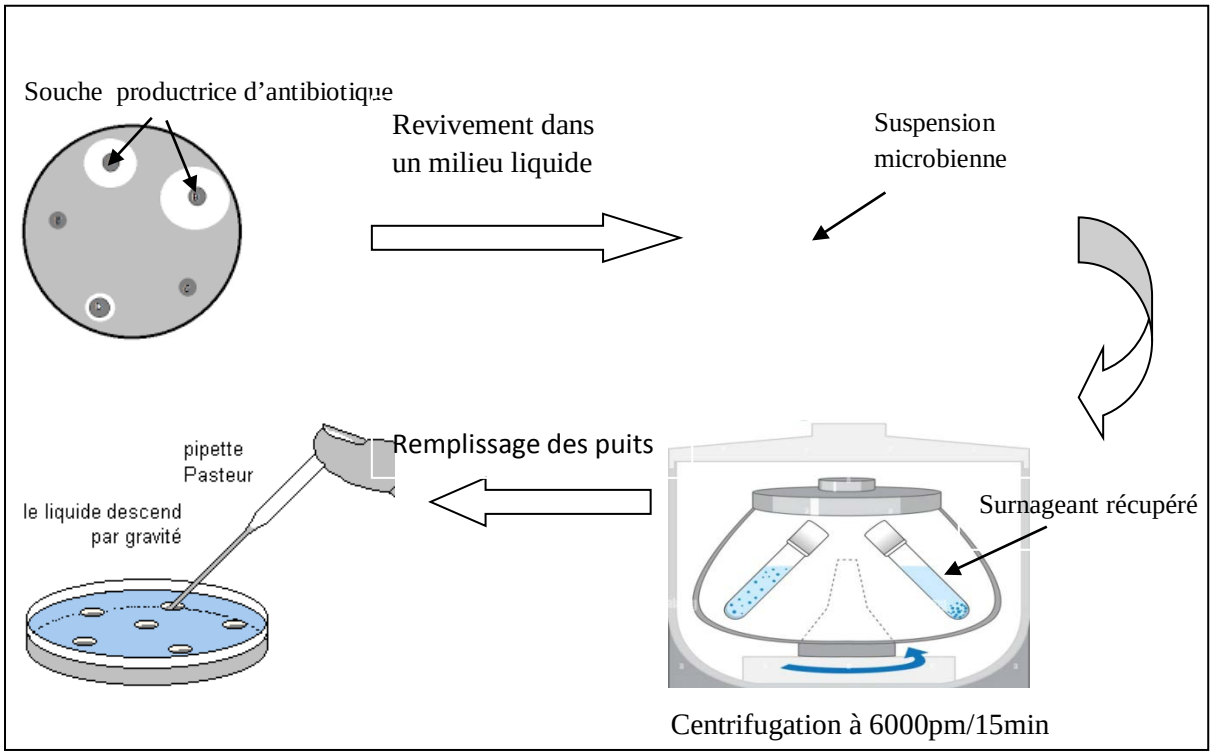


Fig.2.6. Mise en évidence de l'effet antagoniste des substances produites par les souches isolées

2.3.2.2 Extraction à partir du filtrat de culture (choix de solvant d'extraction)

L'extraction des antibiotiques à partir du filtrat de culture nécessite le choix d'un solvant non miscible avec l'eau. Un solvant de polarité croissante a été utilisé qui est l'acétate d'éthyle (Badji et all., 2005 ;Aouiche et all.,2012 ; Hbibeche, 2013)

Le filtrat est mélangé dans une ampoule à décanter avec un volume égale de solvant. Les phases organiques récupérées, sont concentrées à l'aide d'un rota-évapore puis reprises dans un volume minimum de *myristate* pour êtres testées par des disques vierge qui ont été préalablement trempé dans ce dernier. Le myristate est utilisé comme témoin négatif.

Les souches test utilisés dans ce stade sont : *Salmonella typhimurium(*ATCC14028*), Pseudomonas aeruginosa (*ATCC9027*), Escherichia Coli (*ATCC8739),*Staphylococcus aureus(*ATCC6538*) ,Candida albicans(*ATCC10231*) et Aspergillus brasiliensis (*ATCC16404).

Le processus présenté dans la figure. (Fig.2.7) explique les étapes

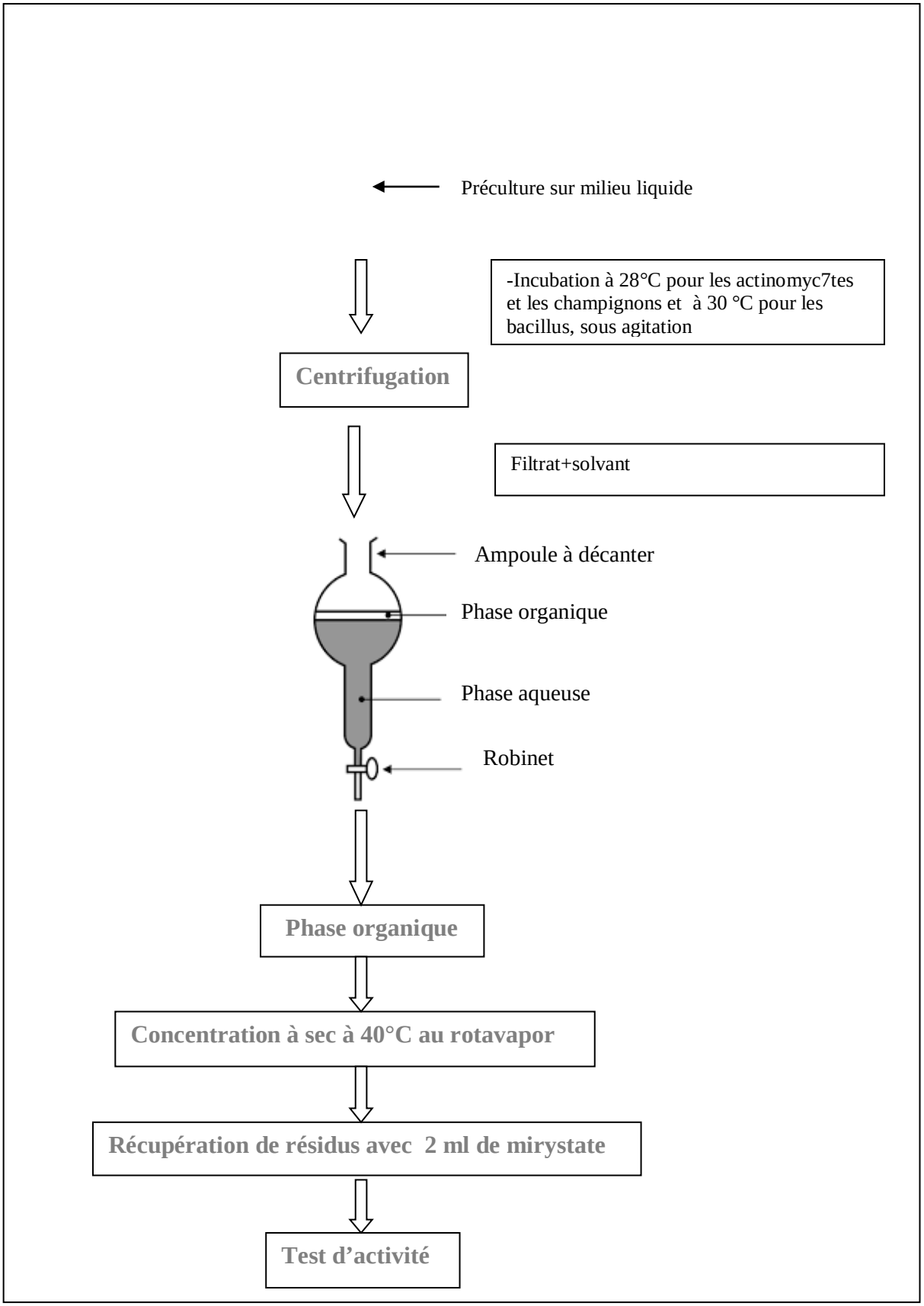


Fig.2.7. Protocole d'extraction à partir du filtrat de culture (Hbibeches, 2013)

2.7 IDENTIFICATION DES ACTINOMYCETES ET LES BACILLUS PRODUCTRICES D'ANTI-METABOLITE

2.7.1 Etude morphologique

2.7.1.1 Étude macroscopique

Cette étude est réalisée par observation directe à l'œil nu des colonies obtenues. Les critères pris en considération sont la forme de la colonie, sa taille, l'aspect en surface, l'opacité, la pigmentation, l'élévation et la consistance.

En effet, les colonies des souches appartenant au groupe *Bacillus* sur gélose nutritive ont un aspect généralement typique, elles se présentent comme des colonies blanchâtres à crème, à bord régulier ou dentelé. Par contre les colonies des souches halophiles ne sont pas aussi caractéristiques, elles peuvent varier en couleur, en texture, en forme et même en taille.

Ensuite, l'identification des genres d'actinomycètes repose principalement sur l'étude de plusieurs caractères morphologiques correspondant à la présence, l'abondance et la disposition des hyphes du mycélium du substrat ou du mycélium aérien.

2.7.1.2 Étude microscopique

Elle permet de décrire la taille, la forme, le mode d'arrangement des cellules, l'affinité pour différents colorants (le Gram), la mobilité ainsi que certains éléments importants comme la présence de la spore et des inclusions cellulaires. En effet, elle est d'un apport important pour la classification car la présence de la spore permet de sélectionner les souches du groupe *Bacillus.*

Nous rappelons que les souches de bacilles halophiles ont un aspect qui varie du bâtonnet à l'amorphe avec la difficulté d'observer la spore. Ces bactéries cultivées dans un milieu additionné de NaCl sporulent tardivement. La spore est très difficile à observer et même très rare, d'où l'intérêt de bien parcourir la lame au microscope.

La difficulté de distinguer aisément les bacilles sporogènes nous a mené à faire une étude qualitative uniquement, particulièrement des sols salins.

Elle permet aussi de mettre en évidence l'aspect filamenteux caractéristique des actinomycètes, toutes les colonies qui se rapprochent par leurs aspects macroscopiques à ces derniers, colonies dures et incrustées dans la gélose, sont observées au microscope optique **(**Paralux**),** en utilisant la coloration de Gram.

Observation a l'état frai

Il s'agit d'une observation des bactéries vivantes au microscope photonique au grossissement x40, après dépôt de la suspension bactérienne fraiche entre lame et lamelle. Elle permet d'examiner la mobilité des bactéries et d'en déceler la forme, le mode de regroupement ainsi que la présence de spore et de granulations cytoplasmiques. La mise en évidence de la spore est faite sur des colonies âgées de 24 à 48 heures au grossissement x100. Les souches halophiles nécessitent un temps d'incubation plus long, allant jusqu'à une semaine.

Observation à l'état fixée (coloration de Gram)

La méthode de coloration de Gram est une double coloration qui permet de connaitre la forme, l'arrangement, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des bactéries purifiées et la distinction entre deux groupe bactériens : les bactéries a Gram positif, colorées en violette et a Gram négatif colorées en rose (Marchal et bourdon, 1982). (Annexe3)

2.7.2 Études physiologiques

2.7.2.1 Recherche de catalase

Ce test standardisé pour l'identification bactériologique est réalisé sur colonies jeunes etbien isolées. Cette enzyme Ferro-protéique est capable de catalyser l'hydrolyse du peroxyde d'oxygène (H_2O_2) qui est un produit toxique du métabolisme aérobie et dont l'accumulation serait létale pour les cellules bactériennes.

La mise en évidence d'une bactérie catalase positive se manifeste par une effervescence visible à l'œil nu après émulsion d'une parcelle de colonie à étudier dans une goutte d'eau oxygénée.

2.7.2.2 Recherche d'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence l'enzyme phénylène diamine oxydase des bactéries grâce à l'utilisation des disques d'oxydase prête à l'emploi contenant de l'oxalate N-diméthyl-paraphénylène diamine qui se colore en présence de l'enzyme.

Les disques ont été placés sur une lame et une colonie y été déposé avec une pipette pasteur. Les bactéries oxydase positive dégradent le substrat sur le disque et donnent une coloration violette foncée après quelque secondes (Marchall et all., 1982).

2.7.2.3 Étude de type respiratoire

Ce test est effectué au moyen de tubes effilés contenant le milieu Viande-Foie (VF). Après

régénération des tubes contenant le milieu VF, un gradient d'oxygène est créé. L'ensemencement se fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube, puis on remonte en décrivant des tours de spires. Les tubes sont incubés à 30°C pendant 24 à 48 heures. Pourles souches halophiles le milieu VF a été additionné de 10% de NaCl et l'incubation a duré une semaine.

Selon que la croissance soit observée à la surface, non loin de la surface, tout le long du tube ou au fond du tube on déduit respectivement que la bactérie étudiée est aérobie stricte, micro-aérophile, aéro-anaérobie facultative ou anaérobie. (Amzian touazi ,2014)

2.7.2.4 Etude de la mobilité

Ce test est réalisé sur des tubes contenant le milieu Mannitol – Mobilité (Annexe). Pour l'étudedes souches halophiles on a additionné ce milieu de 10% de sel. Le milieu Mannitol – Mobilité, permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries. La gélose semi-molle est ensemencée par piqûre centrale. L'incubation se fait à 30° C (28° pour les actinomycètes) pendant 24- 48h et jusqu'à une semaine pour les halophiles. La fermentation du mannitol se traduit par un virage de couleur de l'indicateur de pH du rouge vers le jaune. La mobilité est appréciée par la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement en spirale. (Amzian touazi ,2014)

2.7.3 Etude de l'activité enzymatique

2.7.3.1 Amylase

L'amylase est l'enzyme qui a la capacité d'hydrolyser l'amidon .la recherche de la présence de l'enzyme amylse chez nos isolats a été détecté sur milieu solide TSA 1/10 additionnée d'amidon à 1% (Annexe).Après un ensemencement par spot, les boites par une solution iodée (Lugol) (Annexe). L'hydrolyse de l'amidon se traduit par un halo clair autour de la colonie, contrairement aux zones contenant de l'amidon qui se colorent en bleu (Delarras ,2014).

2.7.3.2 Protéase

Les protéases jouent un rôle significatif dans la minéralisation de l'azote dans le sol. C'est un processus important dans la disponibilité de l'azote et donc dans la croissance des plantes.

L'étude de la production des protéases est mise en évidence sur le milieu de culture gélose au lait (Annexe) les souches tests ont été ensemencées par spot et incubées à une température de 30 C° pendant 24 h pour les bacillus et 28C° pendant 48h pour les actinomycètes. Le resultat positif se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (Bouras ,2018).

2.7.3.3 Lipase

La production de lipase est influencée par la nature et la disponibilité de la source de carbone et d'azote.

La production des lipases est effectuée sur milieu de culture TSA additionné de Tween 80 (Annexe). Les souches tests ont été ensemencées par spot et incubées à une température de 30 C° pendant 5 jours. Le résultat positif se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (Bouras ,2018).

2.7.4 Etude biochimique

La galerie API

Le système API BioMérieux (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée, standardisée et automatisée des techniques biochimiques conventionnelle pour l'identification avec une série de tube-cupules prêtes à l'emploie et contenant des substrats lyophilisés nécessaires aux différents tests biochimiques.

Dans notre étude les galeries API 20E ont été utilisées dans le but d'une caractérisation biochimique et non pas une identification numérique, (les galeries API 50CHB non disponible).

Les galeris ont été inoculés suivant les recommandations du fabricant et incubées selon la température optimale et le temps nécessaire à la croissance des souches. (Amzian touazi ,2014)

2.8 IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS PRODUCTRICES D'ANTI-METABOLITE

L'identification d'une souche représentative est effectuée par deux techniques classiques : une observation macroscopique et une étude microscopique des souches, largement suffisantes pour déterminer le genre des moisissures isolées et cela en réalisant des ensemencements par touches sur des milieux d'études solides favorisant la croissance et la sporulation des moisissures. Les milieux les plus souvent utilisés à ces fins sont PDA et Sabouraud.

2.8.1 Etudes macroscopiques

Les caractères morphologiques et culturaux sont déterminés après ensemencement des souches pures sur les milieux de cultures spécifiques. L'identification se fait à l'œil nu, elle se base essentiellement sur les caractères suivants: la vitesse de croissance, l'aspect du mycélium aérien, couleur de l'envers de la colonie, l'odeur et la couleur des moisissures.

2.8.2 Etude microscopique

L'identification microscopique des champignons repose sur plusieurs méthodes, les deux les plus utilisées sont celles du ruban adhésif et la méthode de lactophénole bleu de coton .Ces deux méthodes sont décrites ci- dessous.

Ruban adhésif : un petit morceau du ruban adhésif est appliqué par la face collante sur la colonie puis déposé sur une lame porte-objet.

Lactophénol bleu de coton : un fragment de la colonie est prélevé à l'aide d'une anse de platine et déposé sur une lame porte-objet dans une goutte de colorant, ensuite recouvrir avec une lamelle couvre – objet qui écrase la préparation (Chabasse et *al* , 2002).

L'observation microscopique est effectuée en microscope optique aux différents grossissements (GX10, GX40) ainsi qu'à l'immersion (GX100).

CHAPITRE 3. RESULTATS & DISCUSSION

CHAPITRE 3. RESULTATS & DISCUSSION

ETUDE IN VITRO ET IN SILICO DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE QUELQUES EXTRAITS ORGANIQUES PREPAERES A PARTIR DES MICRO-ORGANISME

3.1 *IN VITRO*

Selon le but de notre étude qui consiste à l'isolement et purification des souches ayan des activités biologique ainsi on est s'intéressé aux genres bactériennes *Bacillus*, et *Actinomycète*.

Pour les champignons, on 'a pas spécifie le choix de genre de ce fait les champignons on un pouvoir biologique bien développé, on a maintenus toute colonie des champignons isolée pour le reste de travail l, les tableaux ci dessous résume les souches de bactérie et champignons isolée des sols collectes.

3.2 ISOLEMENT ET PURIFICATION

3.2.1 Actinomycètes

Après un traitement qui favorise la croissance des actinomycètes et inhibe la croissance de la flore fongique et la flore bactérienne qui était établés sur les 7 échenillons de sol étudiés, Les colonies d'actinomycète isolés apparaissent après7 jusqu'aux 21 jours d'incubation à 28°C sur un milieu d'isolement (Bennett). Cet isolement permet d'isoler 12 colonies déférentes.

Les colonies d'actinomycètes ont été reconnues par leur aspect morphologique caractéristique. Toutes les colonies ont été purifiées par repiquage sur trois milieux (SCA, Amidon de caséine, Casitone), et incubées à 28 °C pendant 7 jours.

D'après certains auteurs, la technique universelle d'isolement des actinobactéries n'existe pas. De ce fait, il est recommandé de varier les méthodes et les milieux d'isolement dans un objectif de réussir à un isolement important de la flore d'ordre d'actinomycètale (boudemagh, 2007). C'est la raison pour laquelle nous avons utilisé quatre milieux une pour l'isolement et trois pour la purification.

L'utilisation de certaines sources de carbone (amidon) et d'azote (caseine) ainsi que le traitement chimique de carbonate de calcium rend les milieux moins favorables à la croissance des bactéries autres que les actinomycètes donc minimisent les contaminants (Hbibeche ,2013) ce qui est présent dans les résultats sur milieu Bennet(Figure dans l'Annexe).

Le choix de milieu Bennet dans notre l'étude n'a pas été vain, mais basé sur les résultats de Kitouni(2007 , Bousseaber & al,(2012) et Hbibeche (2013) qui montre que les milieux GLM et Bennett permettent un bon isolement pour les actinomycètes par rapport autre milieux , cela peut être dû à la richesse de ces milieux en matière organique.

3.2.2 Bacillus

Sur les huit échantillons des sols 32 souches ont été isolées (souches halophiles ; halotolérantes et les spores) sur la gélose nutritive, milieu de culture non sélectif pour ces souches. Le traitement thermique constitue un moyen qui favorise la germination des spores ; et l'enrichissement et l'ajout du pourcentage de Na Cl favorisent la germination des halophiles et les halotolérants.

Les souches isolés ont été sélectionnées sur la base de l'observation de l'endospore au microscope photonique au grossissement Gx100.les colonies qui ne répondaient pas aux critères microscopiques de forme bâtonnet abritant une endospore ont été rejetées.

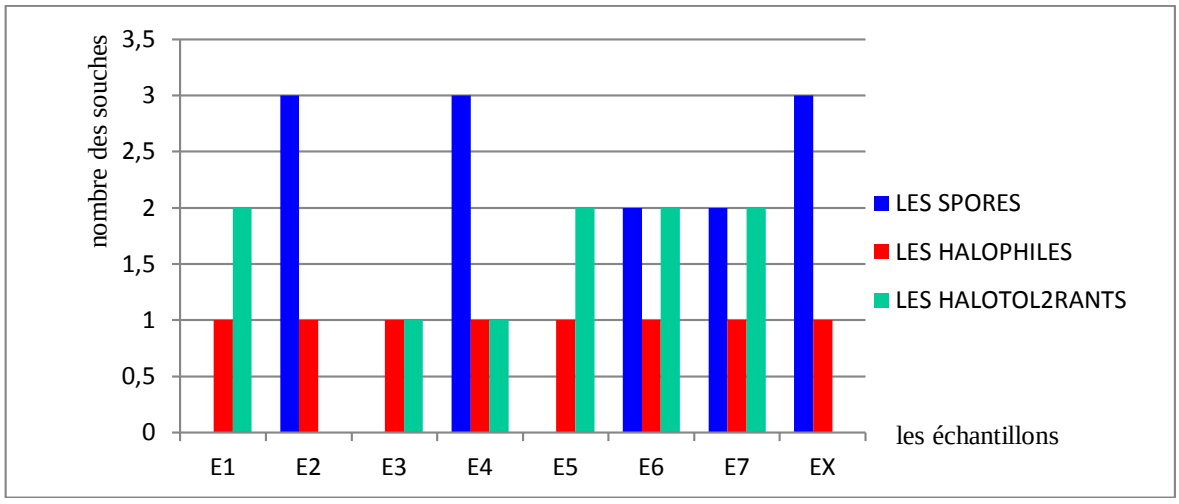


Fig.3.1 Le nombre des différentes souches bacillus isolés à partir les huit échantillons.

Les résultats de l'histogramme montrent clairement que les souches obtenues par l'ensemencement des spores sont dominantes par rapport au souches halophiles et halotolérants.

3.2.2 Champignons

Les cultures réalisées à partir des dilutions décimales de sept échantillons de sol ont abouti à des aspects, de texture et de couleurs différentes sur milieu PDA. Nous avons pu sélectionner 22 colonies que nous avons purifiées sur milieu **Sabouroud.**

L'évaluation de la biomasse des microorganismes a montré que dans la plupart des sols, les mycètes sont le composant principale (Bååth and Söderström, 1980 ; Schnürer*et al*., 1985).

Selon les résultats des analyses obtenues par diverses méthodes mycologiques, il semble que la méthode de dilution permet un isolement plus élevé de moisissures d'un point de vue qualitatif et quantitatif (Louadj, 2014)

Tableau 3.1 Le nombre des micro-organismes isolés à partir les huit échantillons.

E	pH	H°/°	N des actinomycètes	N des bacillus	N des champignons
1	8.14	2.46	1	3	2
2	7.9	0.4	2	4	4
3	7.75	6.16	3	2	4
4	8.06	0.8	2	5	2
5	8.46	2.88	2	3	4
6	8.74	1.63	0	5	3
7	8.15	1.42	2	6	3
X	6.26	__	__	4	__
			12	32	22

H% : pourcentage de l'humidité du sol ; **E** : échantillons
1: échantillon de la région Tintoy-Tabenkort-Bordj Omar Driss (sol saharien)
2: échantillon de la région El Hjira(sol saharien)
3: échantillon de la région Tintoy-Tabenkort (sol saharien)
4: échantillon de la région 20 km Avant El Hdjira (sol saharien)
5 : échantillon de la région Tintoy-Tabenkort-Bordj Omar Driss (sol saharien)
6 : échantillon de la région Oued Jdey-Wlad Djellal-Biskra (sol saharien)
7 : échantillon de la région Avant Mas'ad-Djelfa (sol saharien)
X: échantillon de la région Akafadou (eau thermal)

D'après les résultats du tableau en réalisant que le type dominant des micro-organismes est les bacillus où 32 souches ont été purifiées tandis que le nombre des actinomycètes est 12 et les champignons sont 22 colonies.

Donc les échantillons étudiés sont des milieux favorables aux bacillus mieux que les actinomycètes et les champignons.

En plus, les résultats présentent que tous les échantillons étudier sont légèrement basiques (pH entre 7.75 et 8.75) sauf que l'échantillon (X) qui présent l'eau thermal est légèrement acide (pH= 6.26).

à glorification de l'humidité des échantillons en constatant que c'est une faiblard humidité (h% là-dedans 0.4 et 6.26%) ; et c'est logique comme ils sont d'une zone saharienne.

Le sol est l'habitat naturel pour des myriades de microorganismes et d'autres formes vivantes, formant des populations de différents genres Le nombre et l'activité de ces populations changent d'une région à une autre, influencé par le contenu de matières organiques du sol, la texture du sol, le pH, l'humidité, la température, l'aération et d'autres facteurs (Peuk, 2000 ; Smith *et al*., 2000).

Par ailleurs, la présence de certaines espèces est fortement liée au dépôt des résidus animale ou végétale et à la structure du sol (Golubev *et al*., 1984 ; Phaff et Starmer, 1987) ; et cela ressort de la diversité microbienne obtenue au cours de cette étude, qui montre également la variation du nombre de micro-organismes d'une espèce à l'autre. (Tableau 3.1).

3.3 CRIBLAGE DE L'ACTIVITE ANTI-METABOLITE

Le bute de cette étape c'est l'étude des les capacités des souches qui était déjà isolés à ralentir et/ou inhiber la croissance des souches pathogènes, dans cette optique, nous avent réalisé les techniques suivent.

3.3.1 Screening primaire

A ce stade, 25 souches ont été sélectionnées sur la base de l'effet antagonisme pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne. Les souches isolées ont été testé vis-à vis deux germes test : *salmonella typhimurium*(*ATCC14028*), *Pseudomonas aeruginosa* (*ATCC9027*).

L'activité anti-métabolite des souches obtenus vis-à vis les germes cible a été évaluée par la méthode des cylindre d'agar pour les 66 souches obtenus ; la méthode apportée dans la partie

Matériels& Méthodes ; Le diamètre des zones d'inhibition a été mesuré pour déterminer l'importance de cette activité.(Tableau 3.2) (Fig.3.3)

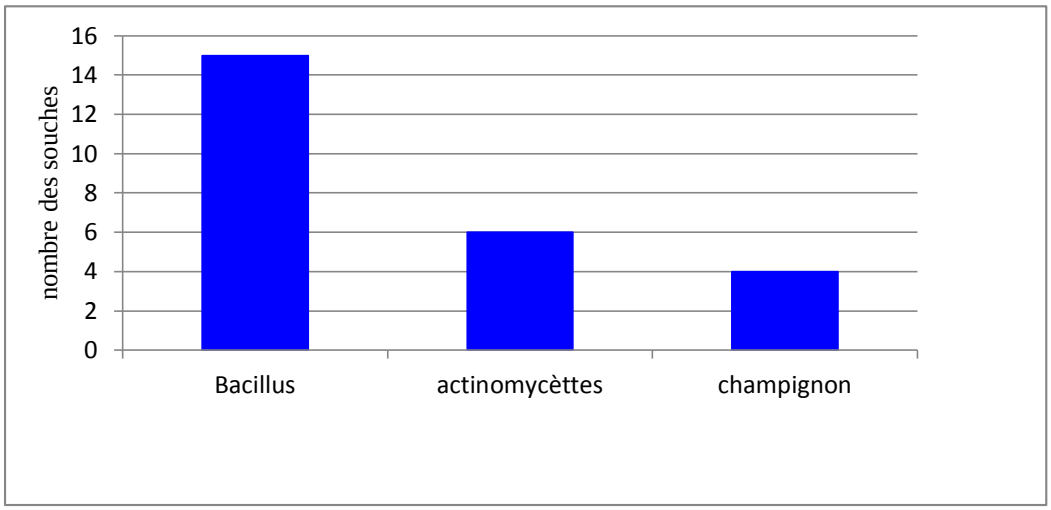


Fig.3.2 Nombre des souches productrices d'antibiotiques.

Il est nécessaire de noter que le pourcentage des souches isolées productrice d'antibiotique et comme suit :

- 46,9% parmi 32 souches de bacillus.
- 50 % parmi 12 souches d'actinomycètes.
- 18,2% parmi 22 souches de champignons.

L'antagonisme est un phénomène par lequel l'action des antagonistes supprime ou inhibe la croissance, le développement et l'activité normale des agents phytopathogènes qui se trouvent à proximité (Heydari et Pessarakli, 2010).

Beaucoup de mycètes et de bactéries peuvent produire des composés appelés métabolites Secondaires ; ce qui est présent dans notre résultats ; Les métabolites secondaires se caractérisent par le fait que, leur production n'est pas indispensable à la croissance du microorganisme lui-même et ils sont de structure et d'activité biologique très diverses. Habituellement, ils sont sécrétés sous forme de mélange qui ne représente une structure chimique unique (Louadj, 2014).

Les métabolites secondaires englobent tout produit à activités antibiotiques, pharmaceutiques, immunosuppressive et toxiques (mycotoxine et phytotoxine) (Louadj, 2014).

Chez les mycètes, la production de métabolites secondaires est un processus couplé au développement morphologique en particulier à la phase de sporulation

De ce fait, les métabolites secondaires peuvent :

1. Retarder la germination des spores jusqu'à ce que les conditions environnementales soient favorables ;
2. Protégeant les spores en dormance contre des amibes ;
3. Eliminer dans l'environnement immédiat des microorganismes concurrents pendant la Germination. (Louadj, 2014).

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

Les espèces du groupe bacillus sont bien connues pour produire des peptide avec des activités Anti-métabolite ou plus généralement avec des propriétés cytotoxiques (Amzianetouazi ; 2014) ; les résultats montrent clairement la grande capacité de ces espèces à produire des anti-métabolites.

Tableau 3.2 Résultats de test d'antagonisme entre les souches isolés et les souches testes

Les souches productrices d'une zone d'inhibition			***P.aerogenosa***	***S.typhymieium***
Les bacillus	Les spores (SP)	**2.** 1_{SP}	-	++
		2. 2_{SP}	-	+++
		4. 2_{SP}	-	+
		6. 1_{SP}	+	+++
		7. 1_{SP}	-	+++
		7. 2_{SP}	-	+
		7. 3_{SP}	-	+++
		X. 3_{SP}	-	
	Les halophiles (HLF)	1_{HLF}	-	++
		2_{HLF}	+++	
		4_{HLF}	+++	
		5_{HLF}	+++	
		7_{HLF}	-	+++
	Les halotolérants (HLT)	**5.** a $_{HLT}$	-	+
		7. a $_{HLT}$	-	++
Les actinomycètes (ACT)		**2.**1 $_{ACT}$	-	++
		3.3$_{ACT}$	-	+++
		4.1$_{ACT}$	-	+
		5.2$_{ACT}$	-	+
		7.1 $_{ACT}$	-	+
		7.2 $_{ACT}$	-	+
Les champignons (CH)		**3.** b $_{CH}$	-	+
		4. b $_{CH}$	-	++
		6. b $_{CH}$	-	+
		7. b $_{CH}$	-	-

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, X : le type et la région de l'échantillon ;

1,2,3,,a , b, c : les souches obtenue de chaque échantillon

La sensibilité aux différentes extraits a été classés par le diamètre des halos d'inhibition comme : non sensible (-) pour les diamètres inférieurs à 8 mm ; sensible (+) pour diamètres 9–14 mm ; très sensible (++) pour diamètres 15–19 mm et extrêmement sensibles (+++) pour les diamètres supérieurs à 20 mm. (A.G. Ponce & all. ; 2002).

Les résultats du tableau montre clairement que la souche test ***S.typhymieium*** est plus sensible aux nos souches isolés par rapport ***P.aerogenosa ;*** cette dernière est une bactérie caractérisée par une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques limitant le nombre de thérapeutiques efficaces. (A. Bousquet ; 2018), ce qui explique les résultats obtenues.

L'acquisition de résistances chez *Pseudomonas aeruginosa* résulte de mutations entraînant une surproduction de la céphalosporinase constitutive AmpC, une surexpression des systèmes d'efflux actif, une diminution de perméabilité membranaire et l'acquisition de gènes exogènes. (Audrey Mérens ; 2011).

Les résultats montre clairement que la plus part des souches obtenus sont très sensibles à extrêmement sensibles des bactériostatiques et. Les trois souches de bacillus halophile (2_{hlf}, 4_{hlf} et 5_{hlf}) sont considérées comme des bactéricides de la souche ***P.aerogenosa.***

Par ailleurs, les souches de bacillus ($2.b_{sp}$, $6.a_{sp,}$ $7.a_{sp}$ et $7.c_{sp}$) et la souche d'actinomycète ($3.c_{act}$) sont des bactéricides de la souche ***S.typhymieium.***

3.3.2 Screening secondaire

Dans cette étape les 25 souches obtenues lors de screening primaire, vont subir une extraction d'antibiotique, où on a réalisé cette étape selon deux méthodes distinctes :

3.3.2.1 La méthode de diffusion des puits par milieu liquide

Après inoculation des souches dans un milieu liquide ; chaque espèce a un milieu et un temps d'incubation différent à l'autre (voire chapitre 2) ; et après centrifugation, en récupérant le filtrat et le versant dans des puis sur gélose ensemencé par les souches test.

Le tableau montre le diamètre des zones d'inhibition lors de l'extraction (Tableau3.3)

Tableau3.3 Zone d'inhibition obtenue par La méthode de diffusion des puits par milieu liquide

Les souches productrices une zone d'inhibition			Aspergillus
Les bacillus	Les spores(SP)	2.1 $_{SP}$	-
		2.2 $_{SP}$	+++
		4.2 $_{SP}$	-
		6.1 $_{SP}$	+++
		7.1 $_{SP}$	-
		7.2 $_{SP}$	-
		7.3 $_{SP}$	+++
		X3 $_{SP}$	-
	Les halophiles(HLF)	1 $_{HLF}$	
		2 $_{HLF}$	-
		4$_{HLF}$	-
		5 $_{HLF}$	
		7 $_{HLF}$	-
	Les halotolérant(HLT)	5a $_{HLT}$	-
		7a $_{HLT}$	-
Les actinomycètes (ACT)		2.1$_{ACT}$	-
		3.3$_{ACT}$	
		4.1$_{ACT}$	-
		5.2$_{ACT}$	-
		7.1$_{ACT}$	-
		7.2$_{ACT}$	-
Les champignons (CH)		3.b $_{CH}$	-
		4b $_{CH}$	-
		6b $_{CH}$	-
		7b $_{CH}$	-

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, X : le type et la région de l'échantillon ;

1,2,3,,a , b, c : les souches obtenue de chaque échantillon

Les résultats de La méthode de diffusion des puits par milieu liquide ne donne aucune action sur les souches de teste sauf sur Aspergillus par les souches suivent (7.3$_{SP}$ et 5a$_{HLT}$ pour les bacillus avec 3.3 et 4.2 pour les actinomycètes).

3.3.2.2 Extraction à partir du filtrat de culture

Après avoir réalisé des cultures liquides, et après centrifugation et récupération du filtrat de culture ; de chaque souche ; une extraction par un solvant organique « l'acétate d'éthyle » non miscible à l'eau a été réalisé. (Fig3.3)

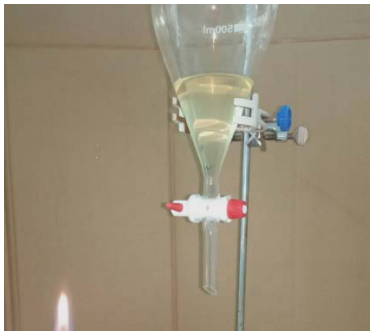


Fig.3.3 Extraction avec l'acétate d'ethyle

Les extraits sont concentrés à sec dans un rotavapor à 40 C°, puis récupérés dans 2 ml de myristate.les extraits méthanoliques sont été stérilisés par des filtres seringue (0.45µm) afin d'être testé par la méthode des disques.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure (Annexe)

Le tableau montre le diamètre des zones d'inhibition lors de l'extraction. (Tbleau.3.4)

Tbleau.3.4. Résultats de test d'antagonisme entre les souches isolés et les souches testes

Les souches productrices une zone d'inhibition			**S. aureues**	**P. aerogenosa**	**E.coli**	**C.albicans**
Les bacillus	Les spores (SP)	**2**.1 sp	-	-	-	-
		2.2 sp	-	-	-	+++
		4.2 sp	-	-	-	-
		6.1 sp	-	+++	+++	+++
		7.1 sp	-	-	+++	-
		7.2 sp	-	-	-	-
		7.3 sp	-	+++	+++	+++
		X3 sp	-	-	-	-
	Les halophiles (HLF)	1 HLF	+	+++	++	-
		2 HLF	-	+	-	-
		4 HLF	-	-	-	-
		5 HLF	+++	+++	+++	-
		7 HLF	-	++	++	-
	Les halotolérants (HLT)	**5**a HLT	-	+++	-	-
		7a HLT	-	+++	++	-
Les actinomycètes		**2**.1	-	+	-	-
		3.3	++	+++	-	-
		4.1	-	+	++	-
		5.2	-	++	-	-
		7.1	-	+	-	-
		7.2	++	-	-	-
Les champignons		**3**b	-	-	-	-
		4b	-	-	-	-
		6b	-	-	+++	-
		7b	-	-	+++	-

Les résultats de screening secondaire par la méthode d'Extraction à partir du filtrat de culture donnent des résultats fiables sur les souches bactériennes (Staph.aureues, E. coli, p.aerogenosa) avec aucune action sur la souche de Salmonella.
Les résultats de l'activité antifongique sont faible para port l'activité antibactérienne, où elles étaient négatives sur l'Aspergillus brasiliensis; par ailleurs l'espèce condida albicans donnant une sensiblité aux souches des bacillus suivantes (2.2 sp ,6.1 sp ,7.3 sp).

3.4 IDENTIFICATION DES SOUCHES PRODUCTRICES D'ANTI-METABOLITE

Dans cette étape, nous réduirons notre étude uniquement sur les souches qui donne un effet anti-métabolite sur les souches test.

3.4.1 Actinomycètes

3.4.1.1 Etude macroscopique

L'aspect macroscopique de nos souches a été observé à l'œil nu sur 3 milieu SCA, Amidon de caséine et Casitone après incubation de 7 jours à 28 C°.
Les colonies obtenues sont de taille différente (petite à moyenne) et de forme variable (bombée, aplatie….etc). Elles sont tous incrustées dans la gélose, possédant un mycélium végétatif surmonté d'un mycélium aérien de couleurs différentes (transparente, jaune, blanche, marron…etc).
L es caractères culturaux des souches les plus représentatives sont regroupées dans le tableau. **(**Tableau 3.5)

Tableau 3.5(A) Aspect macroscopiques des souches d'actinomycètes obtenu sur trois milieux

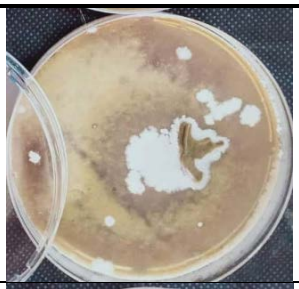
Souche	Milieu de culture	Discrétion	Aspect morphologique
2. 1_{act}	casitone	Marron, filamenteuse, adhérente à la gélose, poudreuse et rugueuse.	
	Amidon de caséine	Marron, filamenteuse, adhérente à la gélose, poudreuse et rugueuse.	
	SCA	Vert à marron, filamenteuse, adhérente à la gélose et rugueuse.	

Tableau 3.5(B) Aspect macroscopiques des souches d'actinomycètes obtenu sur trois milieux

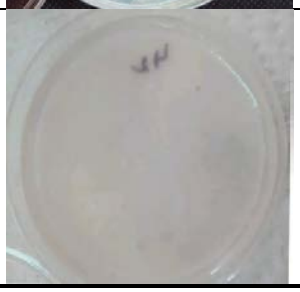
$3.3c_{act}$	casitone	Crémeuse, biege, irrégulière, non filamenteuse.	
	Amidon de caséine	Blanche à beige, brillanté, muqueuse , adhérente à la gélose, non filamenteuse.	
	SCA	Beige, muqueuse, adhérente à la géloseet brillanté.	
4.2_{act}	casitone	Des colonies moyennes, blanche, crémeuse, non filamenteuse.	
	Amidon de casétone	Des colonies blanches, muqueuse, brillanté, bombé, non filamenteuse et adhérente à la gélose.	
	SCA	Filamenteuse, blanche, représente un mycélium aérien.	

Tableau 3.5(C) Aspect macroscopiques des souches d'actinomycètes obtenu sur trois milieux

4.1_{act}	Casitone	Beige, crémeuse, non filamenteuse, irrégulière.	
	Amidon de caséine	Blache, brillanté, aplatie, muqueuse, adhérente à la gélose.	
	SCA	Blanche, rugueuse, adhérente à la gélose et filamenteuse.	
7.1_{act}	casitone	Des colonies grande, aplatie, blanche, forme irrégulière , filamenteuse mais crémeuse	
	amidon de caseine	Des colonies grandes, jaune, brillanté, irrégulier et muqueuse.	
	SCA	Filamenteuse, blanche , représente un mycélium aérien	

Tableau 3.5(D) Aspect macroscopiques des souches d'actinomycètes obtenu sur trois milieux

7.2_{act}	Casitone	Forme irrégulière, beige, crémeuse, non filamenteuse	
	Amidon de caséine	Filamenteuse, blanche, adhérente au gélose.	
	SCA	Petites colonies, beige, adhérente à la gélose, non filamenteuse, rugueuse.	

Les résultats dans le tableau au-dessus découvrent que L'aspect morphologique des souches d'actinomycètes se diffère d'un milieu à autre, quelque soit dans la couleur, la texture ou l'odeur; ca dû peut être à la composition du milieu.

Le milieu casitone est un milieu de production des antifongiques, le milieu Casitone est utilisé pour l'étude de l'activité des antifongiques par la méthode des disques (bio-rad; 2011); Dans cette étude ; il a été utilisé pour tester l'activité antifongique des souches d'actinomycètes contre *Aspergillus brisiliensis* et *Candida albicans.*

3.4.1.2Étude microscopique

L'observation microscopique comprend :

À l'état frais

L'observation au microscope optique des mycéliums aériens des souches met en évidence des hyphes non septes et des chaines de spores portées à l'extrémité des hyphes qui sont droites. Les spores sont cylindriques, arrondies et ne présentent aucune mobilité.

A l'état fixé (coloration de Gram)

Les six souches des actinomycètes après la coloration de Gram donnent un couleur violet donc ce sont des Gram Positifs, ce qui les rapproche aux actinomycètes.

- Les souches ont un aspect filamenteux, parfois fragmenté.
- La présence des spores dans tous les frottis observés.

L'observation microscopique indique que nous souches cibles sont à coloration positive en effet les travaux réaliser par (Boucherma, Rabiha ;2013). montrent que les actinomycètes sont des bactéries à coloration de Gram positive. Ce qui nous laisse supposé que nous souches observes sont des actinomycètes.

L'étude des caractéristiques morphologiques macroscopiques et microscopiques des souches actinomycétales est largement utilisée pour caractériser les genres des actinomycètes. Par exemple, la présence ou l'absence des spores sur le mycélium de substrat ou la formation de sporanges, permettent de différencier plusieurs genres. Ainsi, la morphologie, la coloration des colonies, la présence ou l'absence d'hyphes aériens fournissent une indication sur le genre (Saubolle et Sussland ,2003).

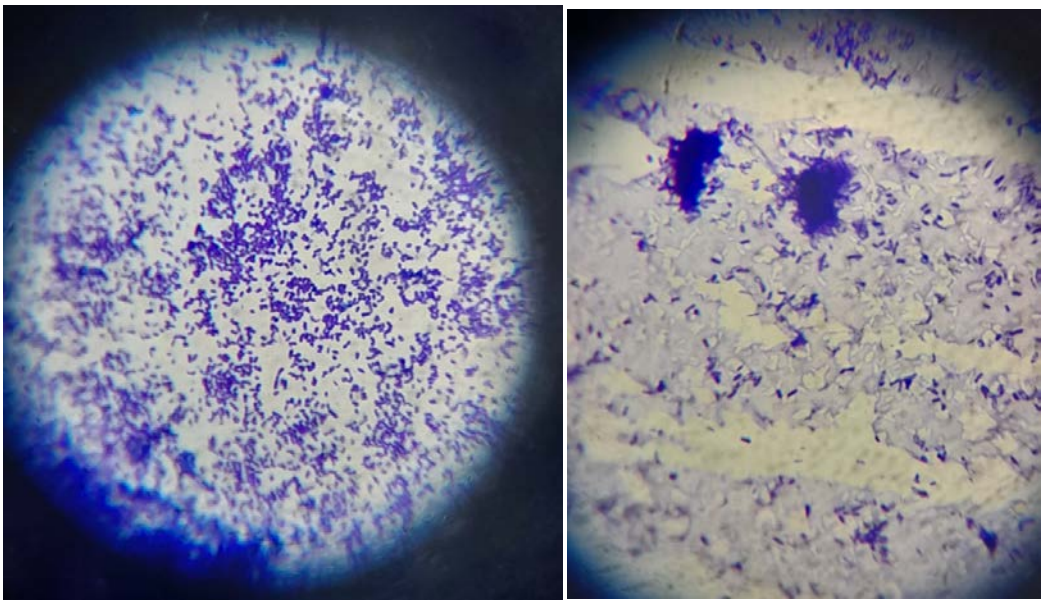


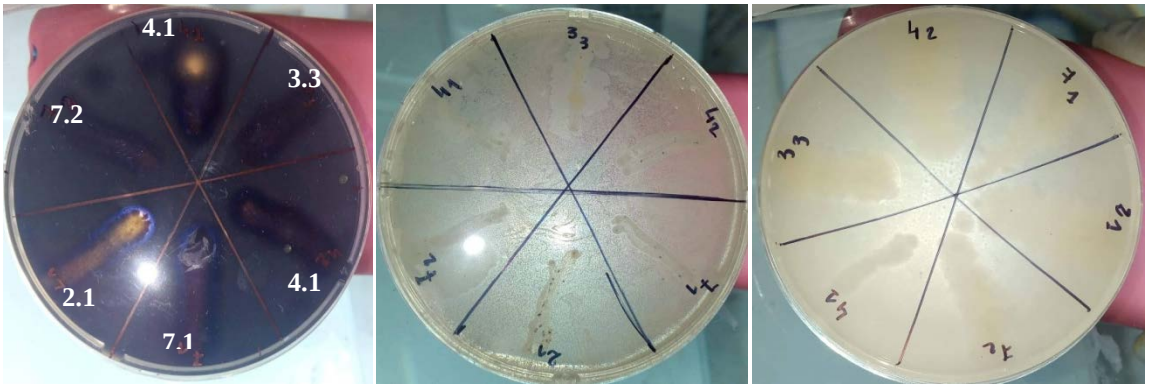
Fig.3.4 coloration de grame des souches d'actinomycètes testés

3.4.1.3 Étude physiologique et enzymatique

Tableau.3.6. Résultats des activités enzymatiques des 6 souches d'actinomycètes sélectionnées

Testes	Les souches d'actinomycètes					
	2.1	**3.3**	**4.1**	**4.2**	**7.1**	**7.2**
Catalase	++	+++	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+
amylase	+	+	+	+	+	+
Lipase	++	++	+	++	++	-
caséinase	+	+	-	+	+	+

+ : positivité faible**;** ++ : positivité moyenne **;** +++ : positif



Production d'amylase Production de lipase Production de caséinase

Fig.3.5 Résultat de l'activité enzymatique

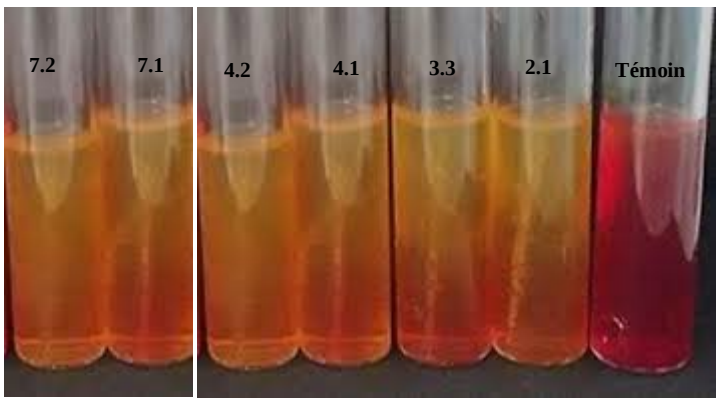


Fig.3.6 résultat de dégradation de mannitol

L'identification des genres d'actinomycètes repose principalement sur l'étude de plusieurs caractères morphologiques correspondant à la présence, l'abondance et la disposition des hyphes du mycélium du substrat ou du mycélium aérien, la présence de spores, leur nombre, leur mobilité, leur forme, leur position sur les hyphes, la présence de sporanges de sclérotes, ou de synnémata. En plus, d'autres examens au microscope électronique doivent également être effectués afin de déterminer l'ornementation des parois sporules.

L'identification des espèces appartenant aux genres d'actinomycètes, nécessite en plus des caractères morphologiques et chimiques, des caractères physiologiques (température, pH optimaux et utilisation des sources carbonées et azotées...) et biochimiques (dégradation de certains substrats comme la gélatine, l'amidon, la caséine, les nitrates, les lipases, etc.).

La majorité de nos souches sont productrice d'enzymes qui dégradent les lipides **(**Fig3.5**).** Différentes lipases sont ont été mises en évidence dans espèces appartenant aux actinomycètes il s'agit principalement de *Streptomyces fradiae* ,*Streptomyces coelicolor* (Harouna Maidoukia et Alkama ; 2014)

Le Tableau nous montre résultats positif sur 5 souches parmi les 6 souches testées elles ont une croissance modérée sur le milieu caséine à extrait de levure et au glucose ainsi l'apparition de toute zone claire autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la caséine (Fig3.5) Nos résultats sont en accord avec ceux présentés par El_Shefei *et al.*, (2010) ou ils ont montré que *Streptomyces albidoflavus* est productrice d'une enzyme protéolytique sur un milieu à base de lait écrémé, et ceux trouvés par Gulue et Deshmukh, (2011) ou ils ont signalé que les genres : *Streptomyces, Micromonospora, Nocardia et Saccharopolyspora* possèdent une activité protéolytique ; liée particulièrement à l'enzyme caseinase. (Cheriet & all. ;2016)

A partir du Tableau on remarque que tout les souches présentent une activité amylolytique sur le milieu à base d'amidon. Après addition du Lugo, l'apparition d'un halo clair autour de la colonie traduit la dégradation de l'amidon (Fig3.5), cela montre que les souches testées possèdent une amylase. Les données bibliographiques ont mentionné que « l'α-amylase » est le type d'enzyme amylolytique le plus produit par les actinomycètes.

Il est élaboré par différents genres tels que *Streptomyces ; Nocardiopsis* et *Streptosporangium* (Cheriet & all.; 2016).

3.4.2 Bacillus

3.4.2.1 Étude macroscopique

Les colonies des espèces de bacillus montrent une très large diversité morphologique, à la fois entre et dans la même espèce.la composition du milieu et les conditions d'incubation ont une forte influence sur les colonies.

En effet, les colonies observées ont généralement de forme variable. Elles sont rond régulière à irrégulière, tendant vers lobé ainsi que vers la forme rhizoïde. Leur couleur est nuancé de blanc à beige. Le diamètre approximatif des colonies varie de 1 à 10 mm.

La plus part des souches présente une consistance de crémeuse à muqueuse et un aspect opaque.des colonies brillantes et translucides ont été aussi observé.

En débit de cette diversité morphologique, les colonies des espèces bacillus sur gélose nutritive sont facilement reconnaissables ce que n'est pas le cas des halophiles et les halotolérant. Elles apparaissent en des formes régulières, d'un diamètre inférieur à 2mm, la couleur passe de beige à marron et leur consistance généralement rugueuse d'opacité translucide à opaque.

3.4.2.2 Étude microscopiques

L'étude microscopique nous a permis de retenir uniquement les souches des formes bâtonnets, sporulées à Gram positif observées se présentent sous forme bacillaire de différentes tailles arrangées soit en cellules isolées, en diplobacilles en Chaînette ou en long filament enchevêtré. la plupart des souches isoler sont mobile. pour le genre halloBacillus en plus du caractère en bâtonnets d'autres cellules étaient amorphe.

Toutes les souches isolées présente une endospore, en effet la capacité de former des endospores dans les conditions aérobic a été le caractère clé dans la définition du groupe Bacillus depuis les années 1920 bergey's manuel systematic. les souches halophiles ont présenté une difficulté de l'observation de L'endosporr. Cette dernière est rarement observée et sa forme et tardive

Plus de détails sont donnés sous sur la forme et la position de la sport dans le tableau présenter en annexe.

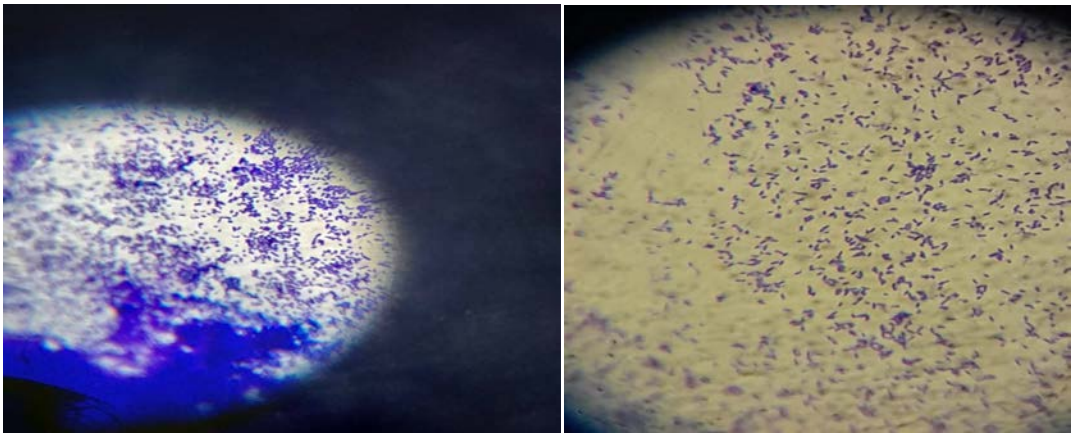


Fig.3.7 L'aspect microscopique des souches bacillus après la coloration de Gram.

3.4.2. 3 Étude physiologique

Recherche de la catalase

Toutes les 15 souches testées sont catalase positive

Recherche de l'oxydase

Toutes les souches testées sont oxydase négatif sauf une seule souche 7.3_{sp} qui est oxydase positif

Recherche de type respiratoire

L'étude de type respiratoire sur milieu VF a permis de révéler 2 types respiratoires soit aérobie strict ou aérobie facultatif

- 5 souches parmi 15 sont aérobies strict.
- 10 souches parmi 15 sont aérobies facultatif.

Plus de détails sont donnés sous sur la forme et la position de la sport dans le tableau présenter en annexe (Annexe8).

3.4. 2.4 Étude enzymatique

Pour tenter de vélariser les souches de bacillus isolées, on a évalué leurs capacités à synthétiser des enzymes extracellulaires à potentiel industriel. Pour cela on a procédé à un criblage qualitatif de l'activité enzymatique en question. En utilisant des milieux spécifiques pour chaque enzyme recherché, à savoir, la caséinase, la lipase et l'amylase.

Les résultats sont représentés dans et les tableaux présentés dans l'Annexe.

Recherche de la lipase

-13souches des bacillus parmi 15 souches dégradent la caséine, où 6 sont des spores germinés, 2 halotolérantes et 5 halophiles

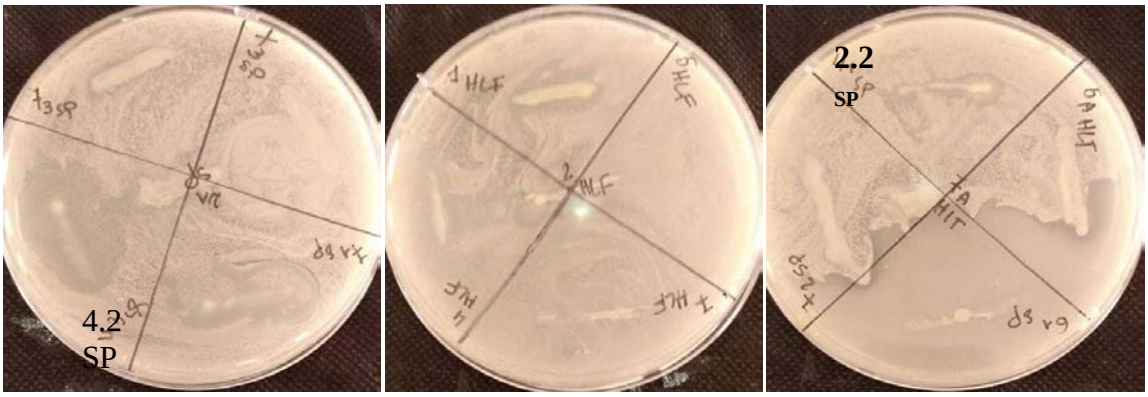


Fig.3.8 résultats de test de recherche de lipase chez les souches de bacillus

Recherche de la caseinase

Parmi les 15 souches 11 souches dégradant le caséine : 6 des spores germinés et 5 des halophiles**.** (Voire l'Annexe)

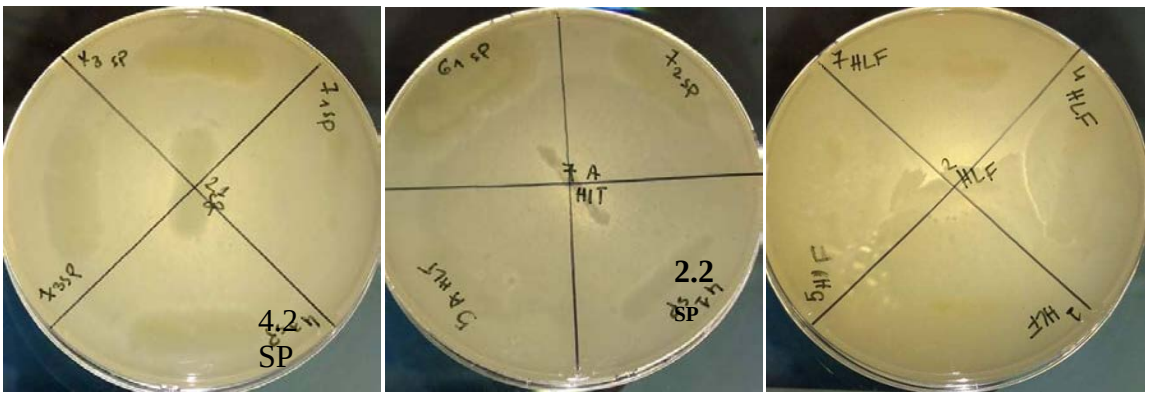


Fig.3.9 résultats de test de recherche de caséinase chez les souches des bacillus

Recherche de l'amylase

Toutes les souches des bacillus testés ne dégradant pas l'amidon

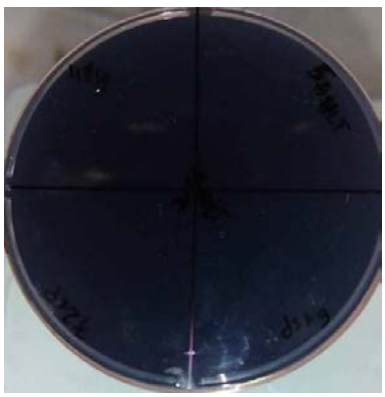


Fig.3.10 résultats de test de recherche d'amylase chez les souches des bacillus

Plus de détails sont donnés sous sur la forme et la position de la sport dans le tableau présenter en annexe **(**Annexe9).

Amziane touazi ;(2014) a mené une étude sur la production de lipase par des souches isolées des sédiments de sebkha et sols rizhopsphériques, situé dans le sud algérien. 46 souches halotolérantes sur un totale de 112 et 8 souches halophiles sur un totale de 29 montrent la présence de lipase.

Ces souches montrent aussi une grande capacité à produire une activité protéolytique (caséinase), pour les deux groupes de bacillus, 74.10% des souches halotolérantes et 55.17% des halophiles.

Pour la dégradation de l'amylase, Amziane touazi ;(2014) a montré que 63.39% des souches des halotolérantes et 51.72% des halophiles.

Ces résultats avec nos résultats confirment l'immense capacité des souches bacillus à synthétiser des enzymes extracelluaires. Ces enzymes sont des métabolites esentiels qui permettent aux bactéries de cataboliser les éléments nutritifs du milieu à fin d'assurer leurs vie. Par ailleurs, on utilise ces naturelles au profit de la biotechnologie.

3.4.2.5 Etude biochimique

Les Caractères biochimiques des souches bacillus ont été étudiés par les galeries API 20^{E}. Les résultats sont représentés dans des tableaux en (Annexe.6)

Les galeries API systèmes sont des testes miniaturisées utilisées principalement pour l'identification rapide des bactéries.

3.4.3 Les champignons

3.4.31 Étude macro-microscopique

Nous avons appliqué dans cette étude qualitative et quantitative la clé d'identification utilisée par GILMAN (1957) ; cette méthode est basée sur les caractéristiques morphologiques au binoculaire ainsi qu'à l'observation microscopique des micromycètes et cela pour déceler les aspects spécifiques pour tels genres ou telles espèces selon les critères suivants :

- la couleur et la structure de la colonie après incubation.

- la forme et la dimension de la colonie.

-la structure des hyphes aériens et végétatifs (cloisonnés ou non) ainsi que les pigmentations présentes.

- la longueur des conidiophores et sporangiophores ainsi que leurs couleurs.

- la forme et l'aspect des sporanges et des conidies ainsi que leurs tailles en microns (grossissement X400 ou X1000).

-l'aspect morphologique des phialides en séries de 3, 4 et 5 ainsi que leurs couleurs caractéristiques.

Tableau 3.7 Résultats de l'aspect macro-microscopique des souches des champignons.

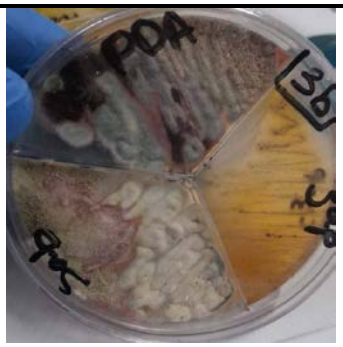
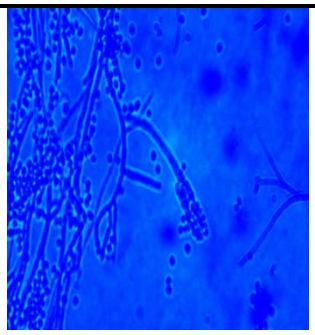
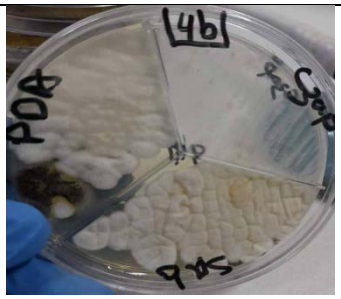
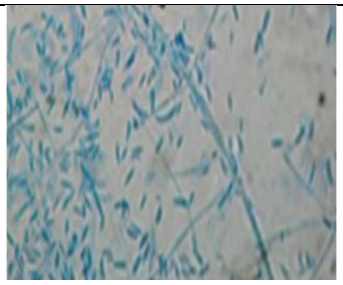
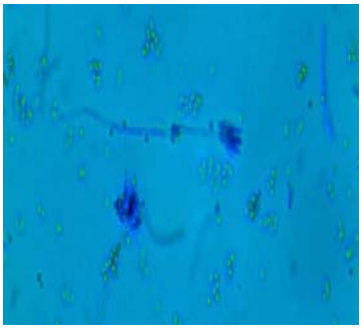
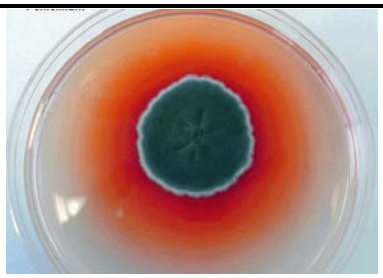
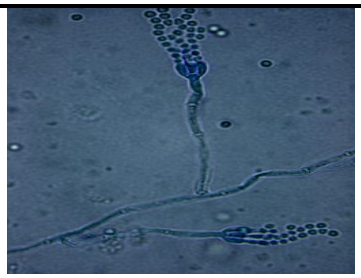
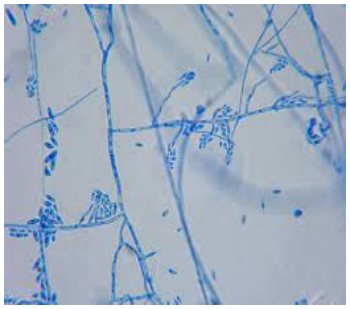
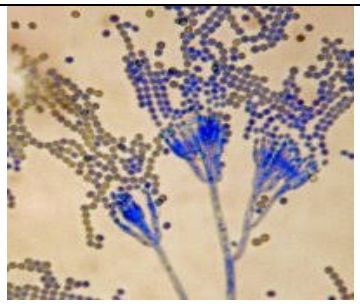
Souche	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Description
3b			Mycélium cloisonné - Conidiophores isolés, ramifiés, terminés par un pénicille ; -Pénicille constitué de phialides branchées directement à l'extrémité du conidiophore
4b			Les microconidies sont ovoïdes, unicellulaires et présentent une base tronquée. Elles sont produites en séries basipétales sur des polyphialides et accumulées en petites têtes ou en chaînes.
6b			Des conidies produites par des phialides insérées à l'extrémité dilatée d'un conidiophore large et non cloisonné (disposition en tête aspergillaire).

Tableau.3.8 Identification des souches de moisissures isolées

Souche		**référence**
3.b	Penicillium. SP	  LABIOD .F & CHAIBRAS Sara ; 2015
4.b	Fusarium.SP	  LABIOD .F & CHAIBRAS Sara ; 2015
6.b	Penicillium chrysogenum	  (Marcel LECOMTE ,1979).

Les moisissures, pour la plupart, sont des anamorphes d'Ascomycètes ; la reproduction s'effectue sous forme asexuée, par le biais de conidies : c'est une forme de clonage. Le téléomorphe représente la forme sexuée du même champignon. L'holomorphe désigne, pour une espèce donnée, l'ensemble de son anamorphe et de son téléomorphe. Nombre de moisissures sont inoffensives pour l'homme ; beaucoup sont même très utiles (fromages, antibiotiques, bioremédiation …). Mais certains Aspergillus, par exemple, sont responsables de graves pathologies chez l'être humain et chez les animaux lorsqu'ils se développent en grand nombre : on les appelle des aspergilloses. Les principaux responsables sont, dans

l'ordre : Aspergillus fumigatus, A. flavus et A. niger. Nous parlerons aussi de candidoses, avec Candida. (Marcel LECOMTE ,1979).

Fusarium

Le genre *Fusarium* décrit pour la première fois en 1809 regroupe des espèces cosmopolites et peuvent coloniser le sol, l'air et les substances organiques. Les espèces pathogènes aux plantes peuvent infecter aussi bien les parties aériennes que les parties souterraines. On trouve les Fusariums dans les zones tropicales, les régions tempérées, les zones désertiques, montagneuses et même arctiques

Sur le plan morphologique, *Fusarium* présente un polymorphisme remarquable du thalle. En se basant sur ce critère, Snyder et Hansen (1940) ont signalé que certains clones et sous clones de la même souche pourraient être classés dans des espèces et même des sections différentes. Ce polymorphisme a été confirmé dans de nombreux travaux

Les caractères microscopiques montrent que les spores (microconidies, macroconidies et chlamydospores) impliqués dans la reproduction asexuée (Fig.1.2), sont des caractères morphologiques stables et spécifiques de l'espèce *Fusarium* permettant l'identification de ses souches (Djerbi, 2003; Leslie et Summerell, 2006; Fuskey, *http:// res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html*):

Les microconidies sont nombreuses, hyalines, de formes et dimensions très variables(7-12 x 2-4µ), elles sont unicellulaires ou bicellulaires, globuleuses ou arrondies.

Ainsi se rassemblent en fausses têtes à partir de monophialides courtes, dressées et perpendiculaires aux filaments.

Les macroconidies sont rares, elles sont formées de 2 à 3 cloisons, rarement plus, leur taille est variable (20 - 35 x 3 - 5 µ), caractérisé par une cellule apical de forme effilée et a courbée, quelquefois avec un crochet léger.

Les chlamydospores, forme de résistance, de couleur hyaline, arrondies ou légèrement ovoïdes et de dimension variables (9- 17 x 8 - 12 µ) ; elles sont formées isolément ou par deux, rarement plus. (BANI Mustapha ; 2011)

Penicillium

Penicillium Les espèces du genre se reconnaissent par la partie fertile, portant les spores, qui se développe en forme de pinceau dense. Le conidiophore est simple ou ramifié, et est terminé par des groupes de phialides en forme de bouteille. Les spores (conidies) sont produites en chaînes sèches au bout des phialides, avec la spore la plus jeune à la base de la chaîne ; elles sont presque toujours vertes. La ramification est une caractéristique importante pour identifier

l'espèce de Penicillium. Certains sont non ramifiés et portent simplement un groupe de phialides au sommet du stipe. D'autres peuvent avoir un groupe de branches, chacune comportant un groupe de phialides. Un troisième type a des branches portant des branches secondaires, portant à leur tour un groupe de phialides. Ces trois types de systèmes de distribution des spores (penicilli) sont appelés respectivement monoverticillés, biverticillés et terverticillés. Penicillium est un genre important et difficile, qui se rencontre presque partout ; en principe, c'est le genre le plus abondant de moisissures dans les sols. La présence fréquente d'espèces de Penicillium dans l'alimentation constitue un problème particulier. Quelques espèces produisent des toxines et peuvent rendre les produits alimentaires non comestibles, voire même dangereux. Il est donc prudent d'écarter les produits alimentaires présentant le développement de n'importe quelle moisissure. Par contre, plusieurs espèces de Penicillium sont avantageuses pour l'homme. Les fromages comme le Roquefort, le Brie, le Camembert, le Stilton, … et d'autres … sont mûris avec une espèce précise de Penicillium et sont tout à fait comestibles. La pénicilline (médicament) est produite par Penicillium chrysogenum, une moisissure poussant dans la plupart des maisons. (Marcel LECOMTE ,1979).

CONCLUSION GENERALE

Comme annoncé dans l'introduction, Le but de cette étude c'est la rechercher par l'étude in vitro de nouveaux micro-organismes producteurs des substances actives ou des nouveaux substance actives produites par des micro-organismes connus par la production des molécules bioactives. Afin de les utiliser comme rempart contre les souches multi résistantes aux différents antibiotiques ou antifongiques.

Au cours de cette étude l'origine de huit échantillons de sols, 66 souches ont été isolées ont été identifiées comme des souches productrices de substances bioactives:

- Quinze souches des Bacillus (*B.tiquilensis , B.circulens, B.lichenformis).*
- Six souches des Actinomycètes.
- Quatre souches des champignons (*Penicillium. SP, Fusarium.SP, Penicillium chrysogenum*)

A la lumière des résultats obtenus, Les méthodes utilisées (la méthode de diffusion, méthode de diffusion des puits par milieu liquide et Extraction à partir du filtrat de culture par un solvant organique), nous permet de détecter les souches présentant une activité antibactérienne et antifongique. Les résultats obtenus sont différents l'un de l'autre, donne soit des zones d'inhibitions à courts diamètres ou les souches elle-même qui donnent la zones d'inhibition, cela attiré l'attention aux résultats donner par la méthode dediffusion (NCCLS) « National Committee for Clinical Laboratory Standards » qui peuvent être proposées comme une méthode initial et efficace pour sélectionne les souches qui présentent l'effet antagoniste, de fait que :

- Les résultats donnés sont plus claire.
- Les zones d'inhibition sont plus larges par rapport aux autres méthodes.
- Les nombres des souches qui donnent une activité sont plus nombreux.
- Le temps qu'il faut pour l'appliquer et obtenir des résultats sont courts.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Aatuk, janne o. (2002)**.Proteindocking.

2. **Abdelaziz, w.(2006).**Isolement des mycétes producteurs de substances antibactériennes à partir des sols sahariens, costantine: université des freresmentouri.

3. **Abagyanr. Totrovm.(1995).**Biased probability monte carlo conformational searches And electrostatic calculations for peptides and proteins. J mol biol, 235: 983-1002.

4. **Aboussaidh, el messoussi s, oufdou k. (2009)**. Activité insecticide d'une souche Marocaine de bacillus thuringiensis sur la mouche méditerranéenne:ceratitiscapitata (wied.) (diptera:tephritidae). Afrique science, 05(1): 160-172.

5. **Ait barka, e. Vatsa, p. Sanchez, l. Gaveau-vaillant, n. Jacquard, c. Klenk, hp. Clément, c. Ouhdouch, y. Van wezel, gp. (2016).**Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. Microbiology and molecular biology reviews. (80).1-43.

6. **Al-zarban. Sheikha s., azza a. Al-musallam, ibrahim abbas, erkostackebrandt and reiner m. Kroppenstedt.(2002).**Saccharomonosporahalophila sp. Nov., a novel halophilic actinomycete isolated from marsh soil in kuwait. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 52, 555–558. Doi: 10.1099/ijs.0.01894-0

7. **Ames, r. N., k. L. Miharaet g. V. Bethlenfalvy. (1987).** The establishment of microorganisms in vesicular-arbuscular mycorrhizal and control treatment. Biol. Fertil. Soils. 03: 217-223

8. **Anandan, r. Dharumadurai, d. Manogaran, g.p. (2016**). An introduction to actinobacteria. Actinobacteria - basics and biotechnological applications.4-37.

9. **Avril, j.l.(1992).**Bactériologie clinique. Paris : ellipses, p. 511.

10. **Banat mi, franzetti a, gandolfi i, bestetti g. (2010**).microbial biosurfactant Production, applications andfuturepotential. Appliedmicrobiology and biotechnology , 87(2):427-444.

11. **Barka,e.a ;vasta,p ;sanchez,l ;gaveau-vaillant,n. ;jacquard,c. ;meier-kolthoff,j,p. ;klenk,h.p. ;clément,c. ;ouhdouch,y. ;van wezel,g ;p.(2015).** Taxonomie,physiologie et produits naturels des Actinbactéries. Microbiol.mol.biol.rev 2015, 80,1-43. [crossref[]pubmed].

12. **B. Badji, a. Riba, f. Mathieu , a. Lebrihi, n. Sabaou. Reçu le 16 mai. (2005).** Accepté Le 4 juillet. Activité antifongique d'une souche d'actinomadura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxinogènes. Journal de mycologie médicale 15 (2005) 211–219

13. **Bensighir .h. (2018).**Micro-organismes eucaryotes ; 2018

14. **Berdy. (1985).**S.l.:s.n.

15. **Bertrand, j.-c.,caumette, p., lebaron, p., matheron, r., normand, p.(2011**). Ecologie microbienne: microbiologie des milieux naturels et anthropisés. Presses universitaires de pau et des pays de l'adour

16. **Boiron p. (1995).**Nocardiaet nocardiose: actualités épidémiologiques, diagnostiques et

thérapeutiques. La lettre de l'infectiologue. 10: 328-334.

17. **Bonaterra, a., badosa, e., cabrefiga, j., frances, j. And montesinos, e. (2012)**. Prospects and limitations of microbial pesticides for control of bacterialand fungal Pomefruittree diseases. Trees 26 (1):215–226.
18. **Borsodia. K., ma´ rialigeti k., szabo´ g., palatinszky m., polla´ k. B., ke´ ki, z., kova´ cs a.l., schumannp.and to´ th e. M., (2008).** Bacillus aurantiacus sp. Nov., an alkaliphilicand moderate halophilic bacterium isolated from hungarian soda lakes. International journal Of systematic and evolutionary microbiology; 58: 845–851.
19. **Bouaziz s. (2018).**Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de doctorat. Université kasdimerbah-ouargla. P : 4-13
20. **Boucherma, rabiha; boudjeujou, halima; azzouz, w.(encadreur). (2013).** Le métabolisme secondaire chez les actinomycétes .
21. **Boudjelal-bencheikh f. (2012).** Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par actinoalloteichussp. Ah97. Thèse de doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique. P : 5-35.
22. **Boudmagh. A. (2007).** Isolement à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycètes productrices des molécules antifongiques.
23. **Butkiewicz, m. Et al. (2013).** Benchmarking ligand-based virtual high-throughput screening with the pubchem database. Molecules 18, 735–756.
24. **Calvo a.m., wilsonr.a., bockj.w and kellern.p. (2002) .** Relationship between secondary metabolism and fungal development. Microbiol.mol.bio.rev. 66 : 447- 459.
25. **Carr, j. G. (1983).** Microbes 1 have known: a study of those associated with Fermented products.1. Appl.bacteriol. 55: 383 - 402.
26. **Carrasco i. J., ma´rquezm.c., xuey.,ma y.,cowand.a., jones b. E., grant w. D. And ventosa a.(2007).**Bacillus chagannorensis sp. Nov., a moderate halophilic from a soda lake in inner mongolia, china. International journal of systematic and evolutionary microbiology; 57:2084–2088.
27. **Celandroni f, vecchione a, cara a, mazzantini d, lupetti a, ghelardie.(2019).**Identification of bacillus species: implication on the quality of probiotic formulations plos one.
28. **Cerritos r., vinuesa p., eguiarte l. E., herrera-estrella l., alcaraz- peraza l. D., arvizu-go´ me j. L., olmedo g., ramirez e., siefert j. L. And souza v. (2008).** Bacillus Coahuilensis sp. Nov., a moderately halophilic species from a desiccation lagoon in the cuatrocie´negas valley in coahuila, mexico. International journal of systematic and evolutionary microbiology; 58: 919–923.
29. **Charlesworth, j. C., & burns, b. P. (2015).** Untapped resources : biotechnological potential of peptides and secondary metabolites in *archaea*. *Archaea (vancouver, b.c.), 2015*, 282035. Https://doi.org/10.1155/2015/282035 (lien)
30. **Chen y.g., zhangy.q., chenq.h., p klenk 1.h., he j.w., tang s.k., cui x.l. And li w.j. (2011).** Bacillus xiaoxiensis sp. Nov., a slightly halophilic bacterium isolated from non-saline forest soil. International journal of systematic and evolutionary microbiology; 61: 2095–2100.
31. **Chen y.g., zhangy.q., wang y.x., liuz.x., klenkh.p., xiao h.d., tang s.k., and li w.j. (2009).**

Bacillus neizhouensis sp. Nov., a halophilic marine bacterium isolated from a sea anemone. International journal of systematic and evolutionary microbiology; 59: 3035–3039.

32. **Cmit – collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales (2006).** Antiinfectieux – antibiotiques chapitre 5. In e. Pilly : vivactis plus ed : pp 44-104.
33. **Coates. A; and hu. Y. (2007).** Novel approaches to developing new antibiotics forbacterial infections. Brit. J. Pharmacol. 152 : 1147-1154.
34. **Collège technique des Midlands (2016).** Archivé de l'original le 9 août. Récupéré le 8 août 2016 ; la taille, la forme et l'arrangement des cellules bactériennes"
35. **Collins m.d., pirouz t., goodfellow m., minnikind.e. (1977).** Distribution of menaquinones in actinomycetes and corynebacteria. Gen. Microbiol. 100: 221-230.
36. **Commare,r.r.,nandakumar,r.,kandan,a.,suresh,s.,bharihi,m.,raguchanger,t.,samiyappan, r. (2002).** Pseudomonas fluorescens based formulation for the management of sheath blight disease and leaf folder insect to rice.cropprot., 21, pp671-677.
37. **Cox, p.w., paul, g.c., thomas, c.r. (1998).** Image analysis of the morphology of filamentous micro-organisms. Microbiology 144, 817–827.
38. **Crawford dl, lynch jm, whippsjm et al. (1993**). Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a root fungal pathogen. Appl environ microbiol 59: 3899-3905.
39. **Daniel, z. Etp. John. (2009).** The genus bacillus. Practical handbook of microbiology. G. Emanuel etg. Lorrence, crc press.
40. **Davail stéphane1 – gretry jean – lenzinimauro ;** les actinomycètes ; source de biomolécules d'intérêt industriel .hauteecole de la province de liege.Https://www.provincedeliege.be/sites/default/files/hepl/pdf/actinomycetes.pdf
41. **Demain a & fang a. (2000).** The natural functions of secondary metabolites .adv.
42. **De vos p, garrity gm, jones d, krieg nr, ludwig wea. (2009).** Bergey's manual of systematic bacteriology the firmicutes. Springer.
43. **Didier rognan. (2014).** Méthodes de criblage in silico de chimiothèques, 10 mars ;réf : pha1020 v1.
44. **Doan t, breton v, nguyen h, pham q, le m, editors. (2011).** Criblage virtuel sur grille de composés isolés au vietnam. Rencontres scientifiques france grilles.
45. **Drablos, f., nicholson, d., ronning, m. (1999).** Exafs study of zinc coordination in bacitracin a. Biochim. Biophys. Acta., 1431, pp.433–442.
46. **Duffy, b. C., zhu, l., decornez, h. & kitchen, d. B. (2012).** Early phase drug discovery cheminformatics and computational techniques in identifying lead series. Bioorganic med. Chem. 20, 5324–5342.
47. **Elshaghabeefmf, rokana n, gulhanerd, sharma c, panwar h. (2017).** Bacillus as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives frontiers in microbiology, 8(1490).
48. **Erginkayagkiaz. (2018).** Potential use of bacillus coagulans in the food industry foods, 7(92).
49. **Ewing t. J., makino s., skillman a. G., kuntzi. D. (2001).** Dock 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. J. Comput. Aided. Mol. Des. 15: 411-428.
50. **Felling.r.h ; buchanan,g.o. ;mincer,t.j. ;kauffman,c.a. ;jensen,p.r. ;fenical,p.r. (2003).** Salinosporamid a : un inhibiteur de protéasome hautement cytotoxique provenant Nouvelle source microbienne, une bactérie marine du nouveau genre salinospora :angew . Chem.int.ed.2003, 42, 355-357.[crossref[]pubmed].
51. **Fungi b. Badji, a. Riba, f. Mathieu, a. Lebrihi, n. Sabaou. (2005**). Activité antifongique d'une souche d'actinomadura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxinogènes. Journal de mycologie médicale 15 ;211–219

52. **Gaberiel p. (2005).** Etude structure /fonction d'hemicellulases thermostables : la xylanasegh-ii et l'arbinofuranosidase gh-51 de thermobacillusxylanilyticus .Thése de doctorat. Université de reims champagne- ardenenneinraumrfare614 .p.p.350
53. **Gangneux, j.p. El cheikh, j. Herbrecht, r. Yakoub-agha, i. Quiniou, j.b.Caillot, d. Michallet, m. (2018).** Systemic antifungal prophylaxis in patients hospitalized in hematology units in france: the afhem cross-sectional observational study. Infectious diseases and therapy. (7). 309-325
54. **Garrett. M. Morris1, ruth huey1, william lindstrom1, michel f. Sanner1, richard k. Belew2, david s. Goodsell1, and arthur j olso. (2009).** Autodock4 and autodocktools4: automated docking with selective receptor flexibility; published in final edited form as: j comput chem. December; 30(16): 2785–2791. Doi:10.1002/jcc.21256.
55. **Garrett m. Morris, david s. Goodsell, michael e. Pique, william "lindy" lindstrom, ruth hue stefanoforli, william e. Hart, scotthalliday, rikbelew and arthur j. Olson.(2014).** Autodock version 4.2, updated for version 4.2.6, automated docking of flexible ligands to flexible receptors modification ; 15:30 d7/p7 autodock, autogrid, autodocktools, copyright © 1991-2009
55. **Gallezot g. (2002).** "la recherche in silico", in : chartron g. (sous la dir.) "les chercheurs et la documentation numérique : nouveaux serviceset usages", edition du cercle de la librairie, collections, juillet.
56. **Gordon, r. E., hayens, w. C &pang, c. H. N. (1973).**The genus baeil/us. In baeil/us edited by colin r. Harwood. New - york&london: plenum press. P: 293 - 320.
57. **G. O. Timo, r. S. S. V. Dos reis, a. F. De melo, t. V. L. Costa, p. De o. (2019).** Magalhães, and m. Homem-de-mello, "predictive power of in silico approach to evaluate chemicals against m. Tuberculosis: a systematic review," pharmaceuticals, vol. 12, no. 3, p. 135,doi: 10.3390/ph12030135.
58. **Guide des odeurs de champignons** [archive], mycodb.fr
59. **Halperin, i.; ma, b.; wolfson, h.; nussinov, r.(2002).**Proteins., 47: 409-443.
60. **Hamedi j, mohammadipanah f, potter g, sproer c, schumann p, goker m, klenkhp.(2010).** *Nocardiopsisarvandica* sp. Nov., isolated from sandy soil. *Int j syst evolmicrobiol* ; **61**:1189-1194.
61. **Hanson, l.e. (2000).** Reduction of verticillium wilts symptoms in cotton following seed treatmen Withtrichoderma virens. J. Cotton. Sci., 4: 224-231.
62. **Hara, t. &veda, s. (1982).** Regulation of polyglutamate production in baeil/us subtilis (natto): transformation ofhighpga productivity. Agrie. Biol. Chem. 29: 45 - 72.
63. **Harwood, c. R. (1989).** Introduction to the biotechnology of bacillus. Bacillus, springer.
64. **Hapwoodd.a. (1988).**Toward's and understanding of gene switching in in asce manuals and reports on engineering practice. No.71. Am. Soc. Civil eng. New york.
65. **Harir m. (2018).** Caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d'actinobactéries isolée des sols semi arides d'algérie. Thèse de doctorat. Université d'oran 1, ahmed ben bella. P : 4-12.
66. **Hayakawa, m et nonomura. H. (1989).** A new method for the intensive isolation of actinomycetes from soil. Actinomycetol. 03: 95- 104.
67. **Hawksworth dl, mueller gm. (2005).** Fungal communities: their diversity and distribution. In: dighton j, oudemans p, white
J (eds) the fungal community: its organization and role in the ecosystem, 3rd edn. Marcel dekker, new york, pp 27–37

68. **Hawksworth d.l., rossmana.y. (1997).** Where are all the undescribed fungi? Phytopathology.

87: 888-891.

69. Hawksworth dl (2001) the magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. Mycol res 105:1422–1432

71. **Hawksworth dl. (1991).** The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. Mycol res 95:641–655

72. **Heart t. Shears p. (2006).** Atlas de poche de microbiologie. Médecine-sciences-flammarion.

73. **Heryradorakotomalalaandrianasolo. (2017).** Activites biologiques d'actinomycetes du sol sous baobabs dans les parties ouest et moyen ouest de madagascar ; these de doctorat en sciences environnementales et agronomiques ; pg 24-27

74. **Heydari, a., et pessarakli, m. (2010).**a review on biological control offungal plant pathogens using Microbial antagonists. J. Biol. Sci. 10 (4):273–290.

75. **Hill, m. (2014).** Biologie. 3 éd. Paris:bibliotheque nationale.

76. **Hinarejos, E., Castellano, M., Rodrigo, I., Belles, J. M., Conejero, V., Lopez-Gresa, M. P., and Lison, P. (2016).** Bacillus subtilis IAB/BS03 as a potential biological control agent. European Journal of Plant Pathology 146, 597-608.

77. **Hoorman et islam. (2010).**nombre des microorganismes du sol sur une profondeur de 0 à 15 cm

78. **Hubert a. Lechevalier** . Professor of microbiology rutgers, the state university of new jersey « actinomycètes »,

79. **Hussin, m. (2018).** Importance économique des champignon, s.l.:s.n.

80. **Iso 15799. (2019).** (fr) qualité du sol — lignes directrices relatives à la caractérisation écotoxicologique des sols et des matériaux du sol.

81. **Iswary, p. (2018).** General characteristics of fungi, s.l.: s.n.

82. **James, t.y., kauff, f., schoch, c.l., matheny, p.b., hofstetter, v., cox, c.j., celio, g., gueidan, c., fraker, e., miadlikowska, j., et al. (2006).** Reconstructing the early evolution of fungi using a six-gene phylogeny. Nature 443, 818–822.

83. **Jarak, m., r. Protic, s. Jankovic, et j. Colo. (2006).** Response of wheat to azotobacter-actinomycetes inoculation and nitrogen fertilizers. Romanian agric.res. 23:37-41.

84. **Jiménez-díaz, r. M., olivares-garcía, c., landa, b. B., del mar jiménez-gasco, m., and navas-cortés, j. (2011).**region-wide analysis of genetic diversity in verticillium dahliae populations infecting olive in southern spain and agricultural factors influencing the distribution and prevalence of vegetative compatibility groups and pathotypes. Phytopathology 101, 304–315.

85. **Jones g., willett p., glen r. C., leach a. R., taylorr.(1997).** Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. J. Mol. Biol., 267: 727-48.

86. **Jp. Flandrois. (2000).** Bactériologie médicale. Coll azay. Puf.

87. **K.d. Hyde, e.g. Jones, e. Leaño, s.b. Pointing, a.d.Poonyth et l.l.p.Vrijmoed, 1998**

88. **Kozakov, d. Et al. (2015).** The ftmap family of web servers for determining and characterizing ligand-binding hot spots of proteins. Nat.protoc. 10, 733–755.

89. **Landa,b.b.,hervas,a.,bethiol, w.,jimenez-diaz,r.m. (1997).**antagonistic activity of bacteria fron the
Chickpea rhizosphere againtfusaruimoxysporumf.sp.cicerisphytoparasitica, 25, pp.305-318.

90. **Larpant, j. P. &larpant, m. G. (1996).** Mémento technique de microbiologie. 2 éd. Lavoisier: technique et documentatio.

91. **Larpent ,j. P. & sanglier , j. J. (1989).** Biotechnologie des antibiotiques., paris:masson

92. **Lavecchia, a. &giovanni, c. D. (2013).** Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review. Curr. Med. Chem. 20, 2839–2860.

93. **Lechevalierm.p. And lechevalierh.a. (1980).**The chemotaxonomy of actinomycetes. Microbiology thayer, actinomycete taxonomy. Eds: a. Dietz, d.w. Society for industrial sim special publication number 6. Arlington, virginiausa: 225-291.

94. **Lechevalier, m.p., lechevalier, h. (1985).**Biology of actinomycetes not belonging to the genus streptomyces, biology of lndustrial microorganisms, demin, al and solomon, na, eds. Menlo park ca: benjamin/cummings.

95. **Lee j .c., lim j .m., park d. J., jeon c.o., li w. J. And kim c. J. (2006).** Bacillus Seohaeanensis sp. Nov., a halotolerant bacterium that contains l-lysine in its cell wall. Journal of systematic and evolutionary microbiology; 56: 1893–1898.

96. **Loqman. S. (2009).** La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : isolement ; caractérisation des souches actinomycètes antagonistes à partir des sols rhizophérique de vignes saines sauvages d'origine macrocaine. Thèse doc : Université De Reims Champagne-Ardenne Ecole Doctorale Sciences Exaetes et biologie,p.253.

97. **Lortholary o, tod m, dupont b. (2008).** Antifongiques. Encycl. Med chir (elseviren, paris) maladies infectieuses ; p : 21.

98. **Luc abbadie. (2018).** Professeur à sorbonne université2018 ; fertilité des sols : la qualité par la vie2018/3 n° 91 | pages 10 à 12

99. **Lutz, m.; asher, d. (1999).** Learning python; o'reilly& associates: sebastopol, ca.

100. **Manpages. (2022).** Of autogrid in debian bullseye; page last updated -04-22t 22:55:22z

101. **Martin l. (2006).** Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase fak. Thèse de doctorat d'université : bioinformatique. Montpellier : université montpellier 2. France. 149p.

102. **Mc genityt.j., gemmellr.t. And grant w.d. (2000).** Stan-lotter, helga. Origins of halophilic microorganisms in ancient salt deposits. Environmental microbiology; 3: 243-250.

103. **Mc neilm.m. And brown j.m. (1994).** The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology. Clin microbiol. Rev; 7: 357-417.

104. **Mercado-blanco j., rodriguez-jurado d., hervas a., jiménezdíazr.m. (2004)**. Suppression of verticillium wilt in olive planting stocks by root-associated fluorescent pseudomonas spp. Biol. Control.n°30,pp 474–486

105. **Michel, s. &nayla. F. (1997).** Bactéries. Dans: virus et champignons. S.l.:s.n., pp. 108-90.

106. **Mokrani e. (2012).** Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Mémoire de magist d'université : technologie des explorations biochimiques. Constantine : université mentouri de constantine. Algérie. 75 p.

107. **Milner, j. L., raffel, s.j., lethbridge, b.j., handelsman, j. (1995).** Culture conditions that influence accumulation of zwittermicin a by bacillus cereus uw85. Appl. Microbiol. Biotechnol. N°43, pp.685-691.

108. **Monge a. (2009).** Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « in silico » de nouveaux composés bioactifs. Thèse de doctorat d'université : chimie informatique et théorique. Orléans : université d'orléans. France. 154p.

109. **Morikawa, m., ito, m., imanaka, t.(1992).** Isolation of a new surfactin producer bacillus pumilu a-1, and cloning and nucleotide sequence of the regulator gene, psf-1.journal of fermentation and bioengineering, v: 74, n°5, pp. 255-261.

110. **Morris g. M., goodsell d. S., halliday r. S. Et al. (1998).** Automated docking using a lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. J. Comput. Chem, 19 : 1639-1662

111. **Morisset D (2003).** Étude des relations structure/fonction d'une bactériocine anti-Listeria, la mésentéricine Y105. PhD thesis, Université de Poitiers, Poitiers, 247p.

112. **Nancy claude, françoisegoldfain-blanc, andréguillouzo. (2009).** La place des méthodes in silico, in vitro, in omic dans l'évaluation de la sécurité des médicaments.

113. **Nonomura, h. And ohara, y. (1969).** The distribution of actinomycetes in soil. Vi. A selective plate-culture isolation method for microbispora and streptosporangium strains. Part i. J. Ferment. Technol. 47: 463-469.

114. **Nowlan b., dodia m. S., singhs.p. And patel b. K. C. (2006).** Bacillus okhensis sp. Nov., a halotolerant and alkalitolerant bacterium from an indian saltpan. Journal of systematic and evolutionary microbiology; 56: 1073–1077.

115. **O'gara. F. Dowling. D. N, boesten. B. (2008).** Molecular ecology of rhizosphere microorganisms: biotechnology and the release of gmos. John wiley& sons: weinheim. Pp: 192

116. **Ohba m, mizuki e, uemori a. (2009).** Parasporin, a new anticancer protein group from bacillus thuringiensis anticancer research, 29:427-434.

117. **Okami y. And hotta k. (1988).** "Search and discovery of new antibiotics" in «actinomycetes in biotechnology». Academic press, orlando (ed.), pp.33-67.

118. **Oleg trott, arthur j. Olson. (2009).** Software news and update autodock vina: improving Speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. Published online 4 june in wileyinterscience (www.interscience.wiley.com).

119. **Parte ac. (2018).**Lpsn – list of prokaryotic names with standing in nomenclature (bacterio.net), 2 years on. Int j syst evol microbiol, 68:1825-1829.

120. **Perez, c., suarez, c., castro, g.r. (1993).** Antimicrobial activity determined in strains of bacillus circulanscluster.folia microbiol, n°38, pp.25-28.

121. **Petit jean o, jacolot a. (2012).** Todd m pharmacologie des antifongiques azolés systémiques. Med. Mal infect; 25 : 14 – 26

122. **Philippe bordron. (2012).** Analyse des systèmes bactériens: une approche in silico pour intégrer les connaissances du vivant. Bio-informatique [q-bio.qm]. Université de nantes. Français. Fftel-00743412f

123. **Philippe dufresneguy st-germain. (2021).** Identification des champignons d'importance médicale stage de laboratoire ; mars.

124. **Prescott. L. M, harley. J. P, klein. D. A. (2010).** Microbiologie. De boeck : bruxelles. 2eme editionpp: 1088.

125. **Prescott, l.m, harley, j.p., klein, d.a., willey, j.m., sherwood, l.m., woolverton, c.j. (2003).** Microbiologie. 2e éd. Bruxelles: de boeck 1139.

126. **Rarey m., kramer b., lengauer t., klebe g. (1996).** A fast flexible docking method using an Incremental construction algorithm. J mol biol, 261 : 470-489.

127. **R. Dias, l. Timmers, and r. A. Caceres, "de azevedo jr., wf. (2008).** "curr. Drug targets, vol. 9 no. 12, pp. 1040–1047.

128. **Rousk j., baath e., brookes p. C., lauber c. L., lozupone c., caporaso j. G., et al. (2010).** « Soil bacterial andfungal communities across a ph gradient in an arable soil », *isme j.*, 4, 2010,

p. 1340–1351.

129. **Rubio, r. G. Rivera, j., trevijano, n. & c, h. (2020).** La paroi cellulaire fongique: espèces de candida, cryptococcus et aspergillus.

130. **Sanner, m. F. J. (1999).** Mol graphics mod, 17, 57.

131. **Sanner, m. (2005).** F. Structure, 13, 447.

132. **Savoir(s). (2017).** Le magazine d'information de l'unistra ; *criblage virtuel : accélérer la découverte de molécules bioactives.*

133. **Shi r., yin m., tangs.k., lee j. C., parkd.j, zhangy.j, kimc.j. And li w.j. (2011).**Bacillus luteolussp. Nov., a halotolerant bacterium isolated from a salt field. International journal of systematic and evolutionary microbiology; 61: 1344–1349.

134. **Smaoui. S. (2010).** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse doc : institut national polytechnique de toulouse (inptoulouse). Pp : 207.

135. **Steenkamp, e.t., wright, j., baldauf, s.l. (2006).** The protistan origins of animals and fungi. Mol. Biol. Evol. 23, 93–106.

136. **Stéphane, emmanuel, r. &pierrre, g. (2003).** Différents antibiotiques et microoganismes producteurs, production d'antibiotiques par biotechnologies. S.l. S.n.

137. **Solag. (2018).**bactéries du sol n°3 du 3/04/2018

138. **Sourav, b. (2020).** Economic importance of fungi in medicine, industry, agriculture, and food.. 20 October.

139. **Sousa tn, ceravoloip, fontescjf, couto a, carvalholh, britocfa. (2006**). The pattern of major polymorphisms in the duffy binding protein ligand domain among *plasmodium vivax* isolates from the brazilian amazon area. *Mol biochemparasitol 146*: 251-254.

140. **Swain,m.r.,ray,r.c. (2006).** Biocontrol and other beneficial activities of bacillus subtilis isolated from cowdungmicroflora.microbiological research,doi:10.1016/j.micres.2006.10.009.

141. **Sylvie carle, b.pharm, m.sc. (2009).** Est pharmacienne et adjointe aux soins pharmaceutiques au centre universitaire de santé mcgill ; pharmactuel vol. 42 suppléments 2 décembre.

142. **Tanrikulu, y., krüger, b. &proschak, e. (2013).** The holistic integration of virtual screening in drug discovery. Drug discov. Today 18, 358–364.

143. Tao, h. Zhang, y. Deng, z. Liu, t. (2019). Strategies for enhancing the yield of the potent insecticide spinosad in actinomycetes. Biotechnology journal. (14). Doi: 10.1002.

144. **Taylor r. D., jewsbury p. J., essex j. W. (2003).** Fds: flexible ligand and receptor docking with continuum model and soft-core energy function. J. Comput. Chem. 24(13), 1637-1656.

145. **T.basset et c. Laffont. (2011).** Les contaminations fongiques pest control on museumobjectsusingheat-treatment ,url : http://ocim.revues.org/994 doi : 10.4000/ocim.994

146. **Tiwari,k ;gupta,r.k. Rare actinomycètes. (2012).** A potential storehouse for Novel antibiotics.crit.rev.biotechnol.2012, 32, 108,132.[crossref[]pubmed].

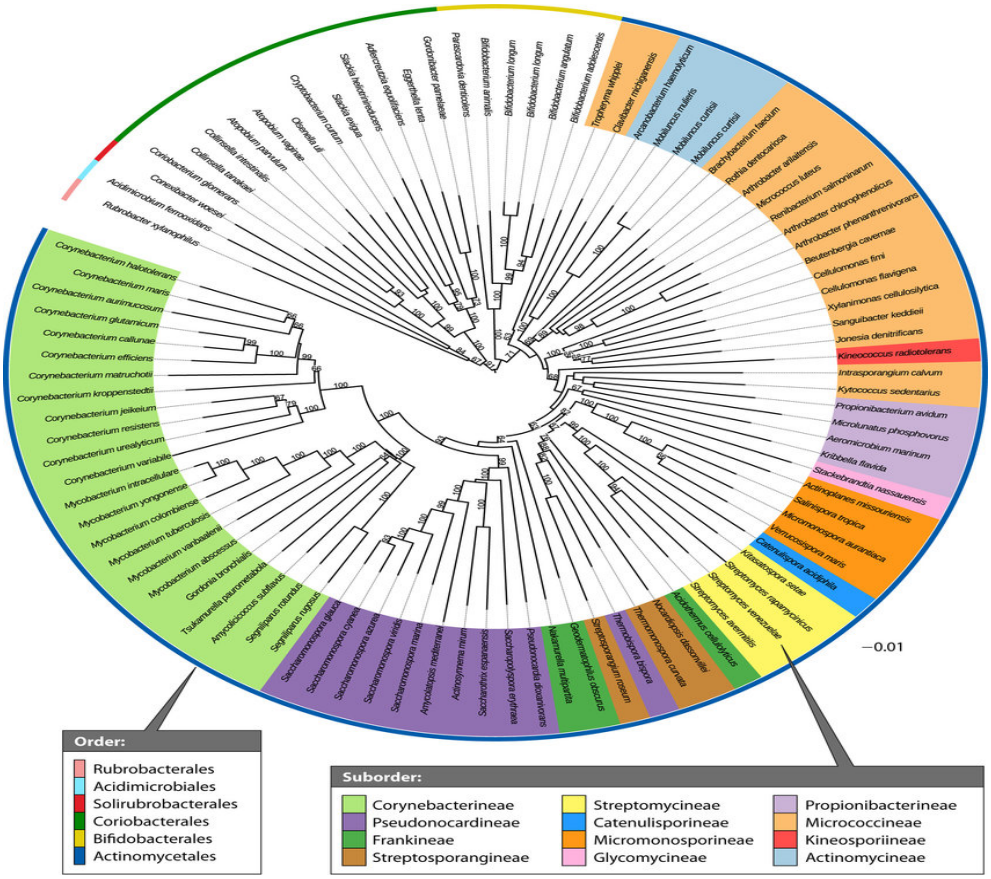
147. **Tortora, j., funk , b. F. & case , c. I. (2003).** Introduction à la microbiologie, canada:s.n.

148. **T.Stein. (2005).** Antibiotiques bacillus : structures, synthèses et fonction spécifiques.

150. **Tuccinardi, t. (2009).** Docking-based virtual screening: recent developments. Comb. Chem. High throughput screen. 12, 303–314 (2009).

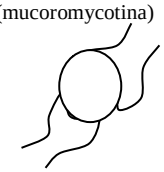
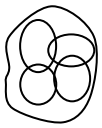
ANNEXES

ANNEXE 1.ARBRE PHYLOGENIQUE DES ACTINOMYCETES



(Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria November 2015).

ANNEXE 2. CLASSIFICATION DES CHAMPIGNONS : REGNE DE FUNGI

	DIVISION	CLASSE	GENRE
S E X U E E	ZYGOMYCOTA (mucoromycotina)  Zygospore ASCOMYCOTA  Asque BASIDIOMYCOTA  Baside	Ordre : MUCORALES SACCHAROMYCETES ASCOMYCETES TREMELLOMYCETES	Rhizopus.Mucor.Lichtheimie Saccharomyces.candida Arthroderma(=dermatophytes) Ajellomyces(=histoplasma Blastomyces). Filobasidiella neofomans (=Crytococcus neoformans) /
A S X U E E	FUNGI IMPERFECTI (DEUTEROMYCOTA) Attentionnel Classification Taxonomique Obsolète	BLASTOMYCETES HYPHOMYCETES : MONILIACEAE DEMTIACEAE COELOMYCETES	Candida.Cryptococcus Rhodotorule .Trichosporon Aspergillus,Blastomyces, Coccidiodes,Fusaruim, Histoplasma, Microsporum,Trichophyton Alternaria, Cladosporuim…. Phoma

Exemples de nom de champignons nommés d'après leurs formes asexuées et sexuées :

Microsporum canis= Arthroderma otae; Histoplasma capsulatum =Ajellomyces capsulate (Philippe Dufresne Guy St-Germain ; 2021).

ANNEXE 3.APPAREILLAGE ET VERRERIES

Appareillage	Verreries	Autre matériel
• Autoclave • Bain marie • Balance électrique • Etuve • Réfrigérateur • Congélateur • Microscope optique • pH-mètre • plaque chauffante • agitateur rotatif • centrifugeuse • rotavapor	• Becher • Boite de pétrie • Erlenmeyer • Fiole • Flacons • Tubes à essaie • Lame et lamelle • Verre de montre	• Anses de platine • Ecouvillons • Pipettes pasteur • Papier aluminium • Papier parafilm • Pince en platine • Pissettes • Tubes eppendorf • Spatule • Bec benzène • Gants jetables • Marqueurs • Micro pipette • Portoir pour tube

ANNEXE 4. PREPARATION ET COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE POUR 1 LITRE

Technique de préparation : pour chacun des milieux, les ingrédients sont pesés à l'aide d'une balance de précision et déposé dans une erlenmeyer puis ajouter le volume d'eau distillée à raison de 1000 ml. Le pH est mesuré par un pH-mètre puis ajuster soit par KOH ou du HCl ensuite répartir dans des flacons de 250 ml et autoclavier à 120 C° pendant 20 minutes ; une fois refroidies (45 C°).

TSA 1/10

TSB 3g

Agar 15g

TSA à gélatine

TSB 3g

Gélatine 12g

Agar 15g

TSA à amidon 1%

TSB 3g

Amidon 10g

Agar 15 g

TSA au tween

TSA 1/10 200ml

Tween 80 80 goutes

Gélose au lait

Poudre de lait 50g

Agar 4g

Mannitol-mobilité

Peptone 20g

Mannitol 2g

Rouge de phénole 0.04g

Nitrat de sodium 1g

Agar 1g

Bennett

Peptone 2g

Glucose 10

Extrait de viande 1g

Extrait de levure 1g

Agar 18g

ATS (Atlas)

$MgSO_4$ 20g

KCl 3g

$CaCl_2$ 0.2g

Extrait de levure 5g

Peptone 5g

GLM (Glucose extrait de malt et de levure)

Extrait de levure 3g

Extrait de malt 3g

Peptone 5g

Glucose 10g

Agar 18g

SCA

Amidon 10g

Caseine 0.3g

KNO_3

NaCl 2g

KH_2PO_4 0.05g

$MgSO_4$ 0.02g

$CaCO_3$

$FeSO_4$ 0.01g

Agar 18g

ANNEXE 5.COLORATION DE GRAM

La coloration se fait en 4 temps :

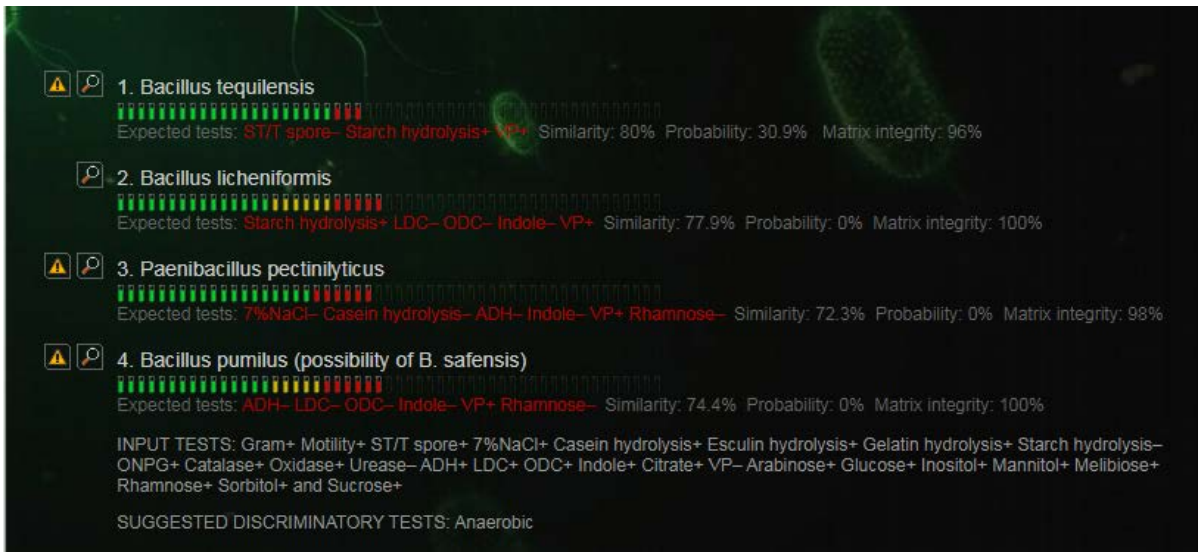
1. La coloration avec le violet de Gentiane pendant 1 minute,
2. Le mordançage par un ou deux bains de lugol pendant 45 secondes,
3. La décoloration avec l'alcool à 96% pendant 30 secondes, suivi d'un rinçage à l'eau courante douce
4. Enfin une contre coloration avec la fushine pendant 1 minute et rinçage.

Le frottis coloré est séché et observé au microscope photonique à Gx40 et Gx100. Les bacilles Gram positifs sont colorés en violet et les Gram négatifs en rose.

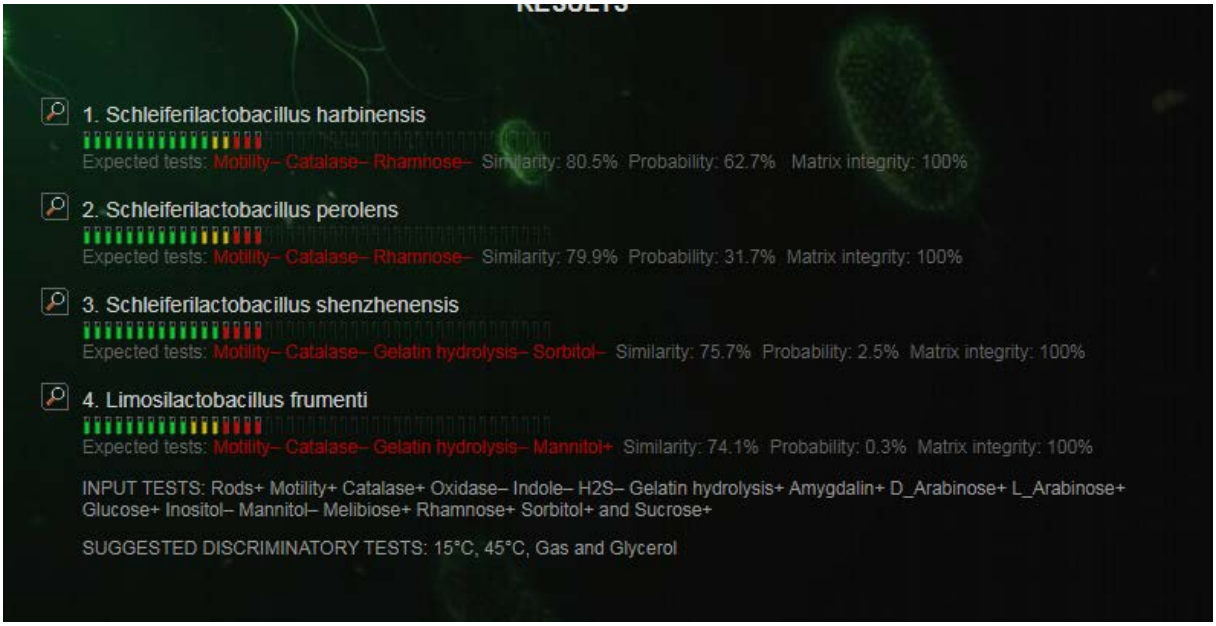
ANNEXE 6. LES TESTES BIOCHIMIQUES : GALERIE API 20^{E}

Résultat d'identification des souches de bacillus par les galeries API 20^{E} sur le sit https://www.tgw1916.net/bacteria_logare_desktop.html

La souche 7.3 SP



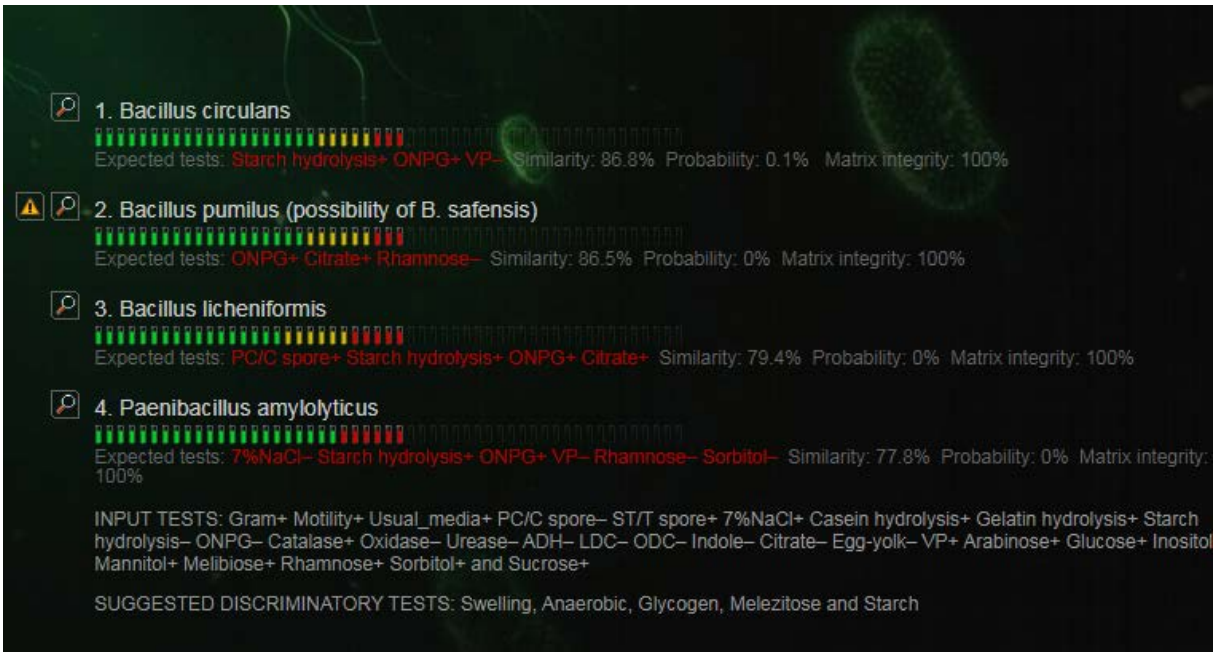
La souche 7.2 SP



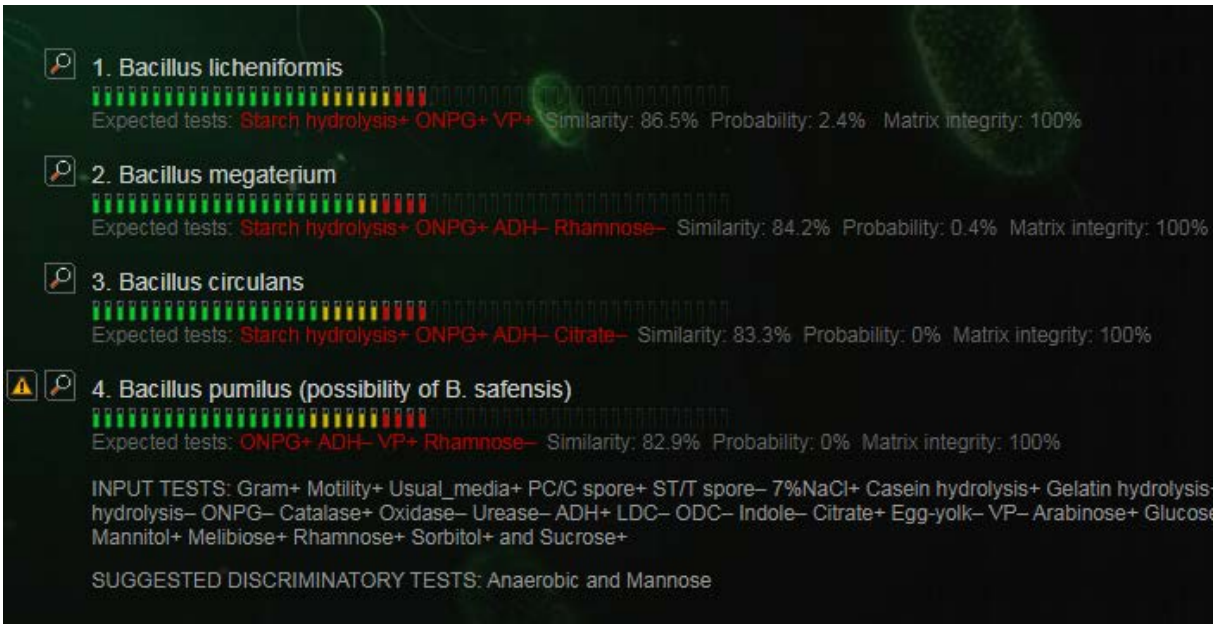
La souche 7.1 SP



La souche 6.1 SP



La souche 2.1SP



RQ : les autres souches non mentionnés besoin plus des testes biochimique pour être identifies

ANNEXE 8. ETUDE MORPHOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DES BACILLUS

Souches	Mobilité	spore	Gram	Type respiratoire	Catalase	Oxydase
2.1 SP	Mobile	C	+	AF	+	-
2.2 SP	Mobile	T	+	AF	+	-
4.2 SP	Mobile	Sub T àT	+	AS	+	-
6.1 SP	Mobile	T	+	AF	+	-
7.1 SP	Mobile	Sub T	+	AF	+	-
7.2 SP	Mobile	Sub T	+	AF	+	-
7.3 SP	Mobile	Sub T	+	AF	+	+
X3 SP	Mobile	Sub T	+	AS	+	-
1 HLF	Mobile	Sub T	+	AF	+	-
2 HLF	Mobile	Sub T	+	AS	+	-
4 HLF	Mobile	Sub T	+	AS	+	-
5 HLF	Mobile	Sub T	+	A	+	-
7 HLF	Mobile	Sub T	+	AS	+	-
5A HLT	Mobile	Sub T	+	AF	+	-
7A HLT	Mobile	Sub T	+	AF	+	-

ANNEXE 9. ETUDE ENZYMATIQUE DES BACILLUS

souches	Lipase	Amylase	Caseinase
2.1 SP	+	-	+
2.2 SP	+	-	+
4.2 SP	-	-	+
6.1 SP	-	-	-
7.1 SP	+	-	-
7.2 SP	+	-	+
7.3 SP	+	-	+
X 3 SP	-	-	+
1 HLF	+	-	+
2 HLF	+	-	+
4 HLF	+	-	+
5 HLF	+	-	+
7 HLF	+	-	+
5A HLT	+	-	-
7A HLT	+	-	-

ÉTUDE IN VITRO DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE QUELQUE EXTRAITS ORGANIQUES PREPARES A PARTIR DES MICRO-ORGANISME

RESUME. Les **molécules bioactives** d'**origine microbienne** constituent une source potentielle dans la recherche de nouvelles molécules capables de jouer le rôle des **antibiotiques** ou **antifongiques**. Le but d'étude est de rechercher in vitro des nouveaux micro-organismes productrices des substances actives.32 souches des bacillus, 12 souches des actinomycètes et 22 souches des champignons ont été isolées à partir de sept échantillons du sol Saharien de différentes régions du territoire national (Biskra, d-Djelfa, Laghouat). Et un échantillon d'origine d'une source d'eau thermale (région AKfadou). Les souches isolées ont été criblés sur la base de production d'anti métabolite. Les trois méthodes (la méthode de diffusion (NCCLS), La méthode de diffusion des puits par milieu liquide et l'extraction par solvant organique) utilisées laissaient nous de détecter 15 souches de bacillus, 6 souches d'actinomycètes et 4 souches de champignons à l'encontre de cinq souches, quatre souche bactériennes : *salmonella typhimurium* (ATCC14028), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027), *Escherichia coli* (ATCC8739) et *Staphylococcus aureus*(ATCC6538) et deux autres souches : un champignon qui est *Aspergillus brasiliensis* (ATCC16404) et une levure qui est *Candida albicans* (ATCC10231).

MOTS-CLES : Molécules Bioactives ; Origine Microbienne ; Antibiotique ; Antifongique.

IN VITRO STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME ORGANIC EXTRACTS PREPARED FROM MICRO-ORGANISMS

ABSTRACT: Bioactive molecules of microbial origin constitute a potential source in the search for new molecules capable of playing the role of antibiotics or antifungals. The aim of the study is to search in vitro for new microorganisms producing active substances.32 strains of bacillus, 12 strains of actinomycetes and 22 strains of fungi were isolated from seven samples of Saharan soil from different regions of the national territory (Biskra, Djelfa, Laghouat), and one sample from a thermal spring (AKfadou region). The isolated strains were screened on the basis of anti metabolite production. The three methods (diffusion method (NCCLS), liquid media well diffusion method and organic solvent extraction) used let us detect 15 bacillus strains, 6 actinomycetes strains and 4 fungi strains against five strains, four bacterial strains: Salmonella typhimurium (ATCC14028), Pseudomonas aeruginosa (ATCC9027), Escherichia coli (ATCC8739) and Staphylococcus aureus(ATCC6538) and two other strains: a fungus that is Aspergillus brasiliensis (ATCC16404) and a yeast that is Candida albicans (ATCC10231).

KEYWORDS: Bioactive molecules; Microbial origin; Antibiotic; Antifungal.