REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de **Master**

En Biologie

Spécialité : Microbiologie appliqué

Par :

BENTERKIA Fatiha

BOUSSAHOUA Amel

Thème :

Evaluation et mise en évidence des activistes biologique d'actinomycètes des sols

Soutenue publiquement le : 02 / 07 /2025, Devant le jury composé de :

BOUBAKRI Kamel	**MAB**	U. Médéa	Président
KAABOUB Elaid	**MCB**	U. Médéa	Examinateur
ZERGOUG Amina	**MCA**	U. Médéa	Encadrante

Année universitaire 2024/2025

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de **Master**

En Biologie

Spécialité : Microbiologie appliqué

Par :

BENTERKIA Fatiha

BOUSSAHOUA Amel

Thème :

Evaluation et mise en évidence des activistes biologique d'actinomycètes des sols

Soutenue publiquement le : 02 / 07 /2025, Devant le jury composé de :

BOUBAKRI Kamel	**MAB**	U. Médéa	Président
KAABOUB Elaid	**MCB**	U. Médéa	Examinateur
ZERGOUG Amina	**MCA**	U. Médéa	Encadreur

Année universitaire 2024/2025

Remerciement

Avant tous nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir accordé le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail et l'accomplir.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à Mme ZERGOUG Amina pour avoir dirigé ce travail avec une grande rigueur et pour sa disponibilité ainsi pour ses précieux conseils qui nous ont permis de progresser et d'élargir notre champ de vision du travail de recherche.

Merci à tous les membres de jury ; monsieur BOUBAKRI Kamel. Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury ; monsieur KAABOUB Elaid Pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nos remerciements aussi vont à tous les enseignants et les enseignantes qui nous ont fait former durant ces 5 années, en nous préparant pour cette dernière année de master.

Merci également à tous ceux qui, nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce modeste mémoire.

Dédicace

Je dédie ce travail :

À ma très chère et inoubliable mère, ce travail est le fruit de tes sacrifices, de ton éducation et de ton immense tendresse. Tu as semé en moi la patience, la persévérance et la foi. Puisse Allah t'accorder Sa miséricorde et t'ouvrir les portes de Son vaste paradis.

Je dédie également ce mémoire à mon très cher père, pour sa sagesse et ses sacrifices.

À mes frères, pour leur présence rassurante et leurs encouragements.

À mes belles-sœurs, pour leur bienveillance et leur soutien discret.

À toute personne qui m'a soutenue et encouragée, de près ou de loin.

À mon cher binôme Amel.

Fatiha

Je dédie ce projet empreint de persévérance qui est le fruit de vos interminables conseils ; assistance et soutient moral, en témoignage de ma reconnaissance et mon affection et réussite, dans l'espoir que vous en serez fiers :

À la plus douce au monde, ma mère qui a toujours m'encouragé durant mon parcours. Je t'aime ma source d'espoir.

À mon pilier, mon père, qui m'a toujours soutenu
Et m'encouragé, et qu'a été toujours à côté de moi.

À mes Très chères sœurs Nana, Wissam et Kamilia.

À mes Très chers frères Mohamed, Billal et Karim.

À nos petits trésors, source de joie et d'innocence, que vos sourires illuminent toujours nos vies Rayen, Iyad, Alaa, Jawad, Qamar et Lilia.

À mes beaux-frères Mohamed, Abdenour et Amin.

À tous ma famille BOUSSAHOUA et ZIRARI.

À mon cher binôme Fatiha.

Amel

Résumé

Les actinomycètes sont connus pour produire une grande variété de composés bioactifs. Leurs activités biologiques comprennent des activités antimicrobiennes, antioxydantes et enzymatiques qui sont bénéfiques à la fois pour la biotechnologie et la santé.

Notre travail s'est intéressé en premier lieu, à la mise en évidence des activités biologiques de dix isolats d'actinomycètes marins suite à une revivication et purification. Après l'application de différents tests sur les isolats marins, les résultats obtenus se sont révélés globalement satisfaisants. La majorité des souches ont montré des réponses positives aux tests réalisés, ce qui reflète leur potentiel physiologique et métabolique élevé. Le milieu M s'est montré le plus favorable au développement d'actinomycètes.

La deuxième étape a été consacrée à l'isolement d'actinomycètes à partir de deux sols agricoles différents (un sol situé à la région de Benchikaou et l'autre à Oulad Ibrahim de Médéa). Les échantillons prélevés ont subi un traitement chimique à la chaux ($CaCO_3$) avant être ensemencer sur milieu M. Les résultats montrent sept isolats au total qui présentent les caractéristiques morphologiques typiques des actinomycètes. Des expériences de caractérisation initiales ont été menées sur les actinomycètes provenant de sols agricoles tels que des essais biochimiques.

Mots clés : actinomycètes, sols, marins, activités biologiques, agricole.

Abstract

Actinomycetes are known to produce a wide variety of bioactive compounds. Their biological activities include antimicrobial, antioxidant and enzymatic activities that are beneficial to both biotechnology and health.

Our work focused firstly on highlighting the biological activities of ten marine actinomycètes isolates following revivification and purification. After applying various tests to the marine isolates, the results obtained were generally satisfactory. The majority of strains showed positive responses to the tests carried out, reflecting their high physiological and metabolic potential. The M medium proved to be the most favorable for the development of actinomycetes.

The second stage involved the isolation of Actinomycetes from two different agricultural soils (one located in the Benchikaou region and the other in Oulad Ibrahim, Medea). Samples were chemically treated with lime (CaCO3) before inoculation on M medium. The results showed a total of seven isolates with morphological characteristics typical of actinomycetes. Initial characterization experiments were carried out on actinomycetes from agricultural soils, such as biochemical assays.

Key words: actinomycetes, soils, marine, biological activities, agricultural.

ملخص

من المعروف أن الأكتينوميسات تنتج مجموعة واسعة من المركبات النشطة بيولوجيا. وتشمل أنشطتها البيولوجية أنشطة مضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة والإنزيمات المفيدة لكل من التكنولوجيا الحيوية والصحة.

كان عملنا مهتمًا في البداية بتحديد الأنشطة البيولوجية لعشر عزلات الأكتينوميسات البحرية بعد إحيائها وتنقيتها. وبعد تطبيق الاختبارات المختلفة على العزلات البحرية، تبين أن النتائج التي تم الحصول عليها كانت مرضية بشكل عام.

وأظهرت غالبية السلالات استجابات إيجابية للاختبارات التي أ جريت مما يعكس إمكاناتها الفسيولوجية والأيضية العالية كان الوسط M الأكثر ملاءمة لتطور الأكتينوميسات.

أما المرحلة الثانية فقد خصصت لعزل الأكتينوميسات من تربتين زراعيتين مختلفتين (تربة واحدة تقع في منطقة بن شيكاو أظهرت والأخرى في أولاد إبراهيم) خضعت العينات التي تم جمعها للمعالجة الكيميائية قبل زراعتها على الوسط M.

النتائج سبع عزلات في المجموع تظهر الخصائص المورفولوجية النموذجية للأكتينوميسات. أجريت تجارب التوصيف الأولية على الفطريات الشعاعية من التربة الزراعية مثل المقايسات البيوكيميائية.

الكلمات المفتاحية: أكتينوميسات، التربة، البحر، الأنشطة البيولوجية، الزراعة

Table des matières :

Remerciement
Dédicace
Résume
Table des matières
Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations
Introduction générale…….....01

Revue bibliographique

1. Les actinomycètes 03
1.1. Historique.....03
1.2. Définition et Caractères généraux.....03
1.3. Caractère morphologique 04
1.4. Caractères chimiotaxonomiques 06
1.4.1. Type de la paroi 07
1.4.2. Acides aminés des parois cellulaires.....07
1.4.3. Les lipides 08
1.4.4. Glucide des parois cellulaires 09
1.5. Caractères physiologiques 10
1.6. Caractères moléculaires.....10
1.6.1. Le séquençage de l'ADN ribosomique 16S.....10
1.6.2. L'hybridation ADN-ADN 10
1.6.3. La détermination du pourcentage de G+C 11
1.7. Cycle de développement 11
1.7.1. Mycélium du substrat.....11
1.7.2. Mycélium aérien 12
1.7.3. Arrangements des spores.....12
1.8. Taxonomie et critères de classification 13
1.8.1. Critères de classification 13
1.8.2. Taxonomie des actinomycètes.....15
1.9. Ecologie des actinomycètes.....16
1.9.1. Distribution.....16
1.9.2. Facteurs influençant la croissance.....17

1.10. Importance des actinomycètes 18
1.10.1. Dans le domaine écologique et agronomique 18
1.10.2. Dans le domaine biotechnologique 19
2. Activités biologiques 19
2.1. Production d'antibiotiques 19
2.2. Activité antifongique 21
2.2.1. Les antifongiques les polyènes 21
2.2.2. La nystatine 21
2.2.3. Nikkomycine 22
2.2.4. Amphotéricine B 22
2.3. Activité antioxydante 22
2.4. Les antiparasitaires 23
2.5. Production d'enzymes 23
2.5.1. Cellulases 24
2.5.2. Amylases 24
2.5.3. Xylanases 25
2.5.4. Lipases 26
2.5.5. Protéases 26
2.5.6. Chitinases 27
2.6. Production de bio-herbicides 27
2.7. Production de vitamines 27
2.8. Production de Pigments 28
2.9. Utilisation des actinobactéries en lutte biologique 29
2.10. Bioremédiation 29
2.11. Activité antibiofilm 30
2.12. Activité anti-inflammatoire 30

Matériels et méthodes

1. Matériels …… 32
1.1. Matériels biologiques…… 32
2. Méthodes …….. 32
i. Etude des isolats marins…… 32
2.1. Revivication des actinomycètes ……. 32
2.2. Conservation des isolats obtenus…… 32
2.2.1. Conservation des souches à court terme …… 32

2.2.2. Conservation à longue terme…….. 32
2.3. Revivication des souches pathogène de référence ……... 33
2.4. Teste d'activité antimicrobienne…… 33
2.4.1. Préparation des inoculas microbiens…… 33
2.4.2. Technique des cylindre d'agar…… 33
2.5. Mise en évidence des activités biologiques……... 33
2.5.1. Mise en évidence des activités enzymatiques…… 33
2.5.2. Mise en évidence des activités anti bio-film…….. 35
2.5.3. Extraction des molécules bioactives……... 36
2.5.4. Evaluation de la l'activité anti-oxydante…… 36
2.5.5. Evaluation de la l'activité anti-inflamatoire……... 37
a. Préparation de suspension des globules rouges ……. 37
b. Test de l'activité anti-inflammatoire ……. 37
ii. Etude des isolats agricoles…… 37
2.6. Échantillonage des sols agricoles …… 37
2.6.1. Prétraitement des échantillons ……. 38
2.6.2. Isolement des actinomycètes …… 38
2.6.3. Ensemencement et incubation …… 39
2.6.4. Purification des souches …… 39
2.6.5. Conservation des souches…….. 39

Résultats et discussion

I. Résultats des activités biologiques…… 41
1. Ensemencement et purification des actinomycetes…… 41
2. Ensemencement et purification des pathogènes…….. 42
3. Coloration de Gram.…… 44
3.1. Coloration de Gram de quelque souche d'actinomycetes…… 44
3.2. Coloration de Gram des souches de référence……. 45
4. Activité antimicrobienne……... 46
5. La mise en évidence des activités enzymatique…….. 48
5.1. Catalase …….. 48
5.2. Oxydase ……. 49
5.3. Recherche de protéines……... 51
5.3.1. Caséinase …….. 51
5.3.2. Gélatinase…… 52
5.4. Cellulase …….. 53

5.5. Amylase…… 54
5.6. Pouvoir hémolytique ……... 55
5.7. Pectinase……... 56
5.8. Recherche des lipases…… 58
5.8.1. Estérases ……. 58
5.8.2. Lécithinase et lipoprotéinase…….. 59
5.9. Chitinase …….. 60
6. Activité anti-biofilm…….. 62
7. Extraction des molécules bioactives ……. 63
8. Activité antimicrobienne avec le surnagent ……. 64
9. Activité antioxydante ……... 65
10. Activité anti-inflammatories ……. 67
II. Échantillonnage d'actinomycètes à partir de 2 sols agricoles …… 68
1. Isolement des actinomycètes ……..... 68
2. Coloration de Gram……. 71
3. Activité catalasique …… 72
4. Activité oxydasique…….. 72

Conclusion et perspective ……74
Références bibliographique ……..76
Annexes…….....87

Liste de figures:

Figure 1: Cycle de développement du genre Streptomyces sur milieu solide 12
Figure 2: Différents types de chaînes de spores chez les actinomycètes, (A) spores endogènes; (B) spores exogènes. 13
Figure 3: Origines des antibiotiques**.** 200
Figure 4: Hydrolyse de la cellulose par les trois types de cellulase 244
Figure 5: Mode d'action de l'alpha-amylase 255
Figure 6: Catabolisme des triglycérides 266
Figure 7: Pigments diffusible caséine agar 28
Figure 8: Echantillonnage des sols agricoles. 39
Figure 9: : Actinomycètes ensemencé sur milieu M solide 43
Figure 10: Bactéries pathogène ensemencé sur GN 44
Figure 11: Aspect microscopique de quelques souches d'actinomycètes après coloration de Gram (Gx100) 45
Figure 12: Aspect microscopique des souches de référence après coloration de Gram (Gx100 ... 456
Figure 13: Image représentative des zones d'inhibition 48
Figure 14: image illustrative des résultats de l'activité catalasique. 49
Figure 15: photographie illustrative de résultat du test oxydase ..... **Error! Bookmark not defined.** 1
Figure 16: photographie des résultats du test caséinase 533
Figure 17: photographie représentant les résultats du test gélatinase 544
Figure 18: photographie représentant les résultats du test cellulase 555
Figure 19: photographie représentant le résultat d'hydrolyser l'amidon 566
Figure 20: Pouvoir hémolytique des actinomycètes étudiés 577
Figure 21: photographie illustrant le résultat d'hydrolyse des pectines 58
Figure 22: photographie présentant un résultat positif et négatif du test estérase 60
Figure 23: Photographie démontrant le résultat d'hydrolyse de la lécithine et les lipoprotéines .. 611
Figure 24: Imagerie illustratif de résultat de l'activité chitinasique . **Error! Bookmark not defined.** 2
Figure 25: Image illustrative d'une perte de couleur violette du DPPH 656
Figure 26: Activité antioxydante d'extraits d'actinomycètes : Absorbance vs % d'inhibition. 678
Figure 27: Activité anti-inflammatoire d'extraits d'actinomycètes : Absorbance vs % d'inhibition 69
Figure 28: imagerie illustrative de quatre isolats agricoles (sol 01) 690
Figure 29: imagerie démontrant trois isolats agricole (sol 02) 701
Figure 30: Aspect microscopique des isolats du sol après coloration de Gram (Gx100) 712
Figure 31: imagerie démonstrative des résultats du test oxydase 723

Liste des Tableaux:

Tableau 1: Aspects microscopiques et macroscopiques des actinobactéries 6
Tableau 2: Types pariétaux en fonction des constituants majeurs des parois cellulaires des actinomycètes 7
Tableau 3: Types de phospholipides caractéristiques présents chez les actinobactéries……...8
Tableau 4: Glucides caractéristiques présents chez les actinomycètes 9
Tableau 5: Principaux critères utilisés pour la taxonomie des actinomycètes. 14
Tableau 6: Classification des actinomycètes.....155
Tableau 7: Répartitions des actinomycètes dans la nature.....177
Tableau 8: Importance médicale de certains antibiotiques produits par le genre Streptomyces 19
Tableau 9: Quelques exemples d'antibiotiques produits par les actinomycètes.....211
Tableau 10: Exemples d'antifongiques produits par les actinomycètes 222
Tableau 11: Exemples de molécules antioxydants produites par des quelques espèces d'actinobactéries**.**.....233
Tableau 12: Site et date d'échantillonnage des sols agricoles.....39
Tableau 13: Résultats d'activité antimicrobienne.....**Error! Bookmark not defined.**8
Tableau 14: Résultats de l'activité catalasique.....**Error! Bookmark not defined.**0
Tableau 15: Résultats d'oxydase chez les souches de référence. .....**Error! Bookmark not defined.**1
Tableau 16: Interprétation des résultats du test caséinase.....**Error! Bookmark not defined.**2
Tableau 17: Interprétation des résultats du test gélatinase.....**Error! Bookmark not defined.**3
Tableau 18: Interprétation des résultats de l'activité cellulasique. ...**Error! Bookmark not defined.**5
Tableau 19: Résultats de l'activité amylasique des souches .....**Error! Bookmark not defined.**5
Tableau 20: Résultats d'hémolyse.....**Error! Bookmark not defined.**
Tableau 21: Evaluation de l'activité pectinolytique. .....**Error! Bookmark not defined.**8
Tableau 22: Résultats du test des estérases.....59
Tableau 23: Résultats d'hydrolyse de la lécithine et les lipoprotéines.**Error! Bookmark not defined.**1
Tableau 24: Résultats d'activité chitinasique**.**.....**Error! Bookmark not defined.**
Tableau 25: Résultats d'activité anti-biofilm. 63
Tableau 26: Présentation des profils d'inhibition antimicrobienne par les surnageants. 64
Tableau 27: Évaluation de l'activité antioxydante des extraits.....667
Tableau 28: Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits.....68
Tableau 29: Résultats du test catalase.....72

Liste des abréviations:

- : moins
% : Pourcentage.
-: Aucune activité
-+: plus au moins
+:Faible activité
++: Activité modérée
+++ : Forte activité
°C : degré Celsius.
µl : microlitre
µm : micromètre
Abs : assurance
Ac: absorbance du contrôle négatif
ADN : Acide DésoxyriboNucléique.
ARN: Acide ribonucléique
ARN16s : Acide RiboNucléique codant pour la sous unité ribosomique 16S.
At: absorbance de l'extrait testé
BN : bouillon nutritif
Caco3:carbonate de calcium.
Chs: la chitine synthase
Cm : centimètre
CMC: Carboxyméthylcellulose
CMCase: Cellulase active sur CMC
DAP : Acide diaminopimélique
DO: Densité optique
DPPH:2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
ect: et cetera
g : gramme
G+C: Coefficient de Chargaff.
GBA : Glucose-Asparagine Agar
GC% : Pourcentage de guanine-cytosine
GN:Gélose nutritive
H2O : eau (H : hydrogène.O : oxygène)
ISCC-NBS : Color Name Chart Illustrated with Centroid Color
ISP: The International Streptomyces Project
M : mol
m/v: millimètre par volume
MA: Mycélium aérien
Min : minute
ml : millitétre
mm: millimètre
MS: Mycélium de substrat
Nacl : chlorure de sodium
nm : nanomètres

PCR : Polymérase chaine réaction
PH : Potentiel Hydrogéne
rpm: revolutions par minute.
SCA : Starch Casein Agar.
t : temps
TSB: Tryptic Soy Broth (Bouillon de soja trypticase)
V/V: volume sur volume
x : fois
λ: longueur d'onde

Introduction Générale

Les micro-organismes marins et terrestres constituent une source précieuse de biomolécules bioactives, telles que les actinomycètes, qui sont essentielles à la biotechnologie et à la pharmacologie. Selon **Barka et al. (2016) et Manivasagan et al. (2014)**, ces bactéries Gram positives, filamenteuses et sporulées appartiennent au phylum des actinobactéries et sont connues pour leurs capacités exceptionnelles à produire des métabolites secondaires dotés de diverses propriétés thérapeutiques, telles que des effets antimicrobiens, antitumoraux, antioxydants et anti-inflammatoires.

Les organismes marins font l'objet d'une attention accrue en raison de leur capacité à s'adapter à des environnements difficiles tels que la salinité, la pression osmotique ou de faibles niveaux nutritionnels. Selon **Subramani et Aalbersberg (2012)**, ces contraintes environnementales amènent ces micro-organismes à produire une biosynthèse unique de composés bioactifs natifs qui font souvent défaut à leurs homologues terrestres.

Dans ce contexte la stratégie adoptée dans cette étude est:

La mise en évidence des activités biologiques des actinomycètes marins isolés et caractérisés à travers plusieurs approches, dans la première partie expérimentale. Dans la deuxième partie du travail, deux sols agricoles provenant de zones géographiques différentes ont été utilisés pour isoler des actinomycètes.

Revue

Bibliographique

1. Les actinomycètes

1.1. Historique

Le terme actinomycète a été utilisé pour la première fois par Bollinger en 1877. L'histoire des Actinomycètes peut être divisée en 5 grandes périodes. La première période qui va de 1877 à 1890 environ, a été nommée " ***période médicale*** **"** grâce à l'intérêt pour ces microorganismes qui est presque dû Complètement aux propriétés pathogènes qu'on leur attribuait **(Baldacci, 1962)**. La deuxième période est comprise entre les années 1900-1940, **(Mariat et Sebald, 1990)** et concerne la mise en évidence et l'étude des actinomycètes du sol, développés par Rossi-Doria (1890-1891), Gasparini (1891-1894), Krainsky (1914), Waksman (1919), Lieske (1921), Orskov (1925), Jensen (1931-33) et Krassinikov (1938). Elle couvre la compréhension des habitats des actinomycètes et les premières tentatives pour distinguer deux groupes : les pathogènes et les saprophytes **(Wacksman et Woodruff, 1940)**. La période suivante est celle de "***la découverte des antibiotiques"*** produits par les Actinomycètes grâce à Waksman en 1940. Cette période a résulté en un accroissement brusque du nombre d'espèces décrites **(Baldacci, 1962)**. En 1958 un système de classification pour les Streptomyces a était proposé par Pridham qui est essentiellement basé sur la morphologie de la chaîne de spores et la couleur du mycélium aérien **(Ettling et al, 1958)**. A partir des années 1960, Hopwood a commencé le développement des méthodes génétiques et génomiques **(Hopwood, 2003)**, puis la mise en place de la classification des espèces **(Ventura, 2007)**, les méthodes de découverte de métabolites secondaires **(Donadio, 2002)** et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes.

1.2. Définition et Caractères généraux

Les actinomycètes sont généralement des bactéries à Gram positives, la séquence de l'ARNr 16s et la forte teneur en G + C de son ADN (70%) sont des caractéristiques principales de ce taxon **(Goodfellow et O'Donnell, 1989)**.

Bien que les actinomycètes soient des microorganismes procaryotes formant des filaments ramifiés et des spores asexuées. Leur morphologie ressemble fortement à celle des microorganismes eucaryotes comme les champignons filamenteux **(Osada, 1998)**, partir de ce point on souligne les principales

différences entre les champignons et les actinomycètes:

- La paroi des actinomycètes ne renferment ni cellulose ni chitine, ils sont présent chez les plantes et les champignons **(Shukla, 2010)**.
- Ils ont un diamètre de mycéliums généralement de (0.7-0.8µm) est approximativement un dixième de celui de la plupart des hyphes fongiques.
- Les actinomycètes sont sensibles aux attaques des bactériophages et lysozymes **(Hawker et Linton, 1971)**.
- Leurs sensibilités aux antibiotiques antibactériens **(Rangaswami et al, 2004)**.

La composition de la paroi cellulaire des actinobactéries varie essentiellement d'un groupe à l'autre et possède une importance taxonomique considérable. Les extrait cellulaires totaux des actinobactéries sont dotés d'une paroi de type II, III et VI. Ils contiennent également des sucres caractéristiques, utiles pour l'identification **(Prescott et al, 2010)**.

Généralement, les actinomycètes sont des hétérotrophes, mais de plusieurs espèces sont ainsi capables d'une croissance chimio-autotrophique **(Ensign et al, 1993),** Ce sont généralement des microorganismes mésophiles, mais il existe aussi des espèces thermophiles comme les Thermoactinomyces, dont la température optimale est comprise entre 50 et 60 °C. Concernant le pH, la majorité des actinomycètes sont des bactéries neutrophiles leur croissance est incluse dans la gamme du pH 5 à 9. Vis-à-vis le type respiratoire les actinomycètes sont séparés en deux groupes :

- Groupe 1: Les actinomycètes oxydatifs aérobies (généralement présente dans le sol).
- Groupe 2: Les actinomycètes fermentatifs anaérobies stricts ou facultatifs (se trouve dans les cavités naturelles de l'homme et des animaux) **(Silini, 2012).**

La majorité des actinomycètes sont terrestres, certaines espèces sont marines **(Mincer et al, 2002).** Ces micro-organismes sont un réservoir inépuisable des principaux métabolites secondaires biologiquement actifs **(Ensign et al, 1993 ; Ait Barka et al, 2016)**.

1.3. Caractère morphologique

Les critères morphologiques sont complémentaires aux caractères culturaux

sur différentes milieux de culture et aux caractéristiques **(Shirling et Gotlieb, 1966)**. Leur morphologie ressemble fortement à celle des mycètes. Ils ont une taille des hyphes, habituellement de 0,5 µm **(Eunice, 1983)**, elle est deux à dix fois plus petite que celle des champignons environ 2 à 5 µm **(Gottliels, 1973)** et ils sont plus large, dont la longueur varie de 1,5 à 50µm. Les actinobactéries excitent aussi sous forme de filaments, de bacilles ou de coccobacilles.

Morphologiquement, les actinomycètes sont classés en deux groupes selon la coloration du bleu de méthylène :

- Groupe 1 : Mycélium (les organismes qui forment une masse de filaments ramifiés).
- Groupe2 : Les organismes qui se présentent sous des formes morphologiquement plus complexes par rapport au premier groupe **(Lechevalier, 1985)**.

Les caractéristiques des aspects microscopiques et macroscopiques sont résumées dans le tableau (1) suivant :

Tableau 1: Aspects microscopiques et macroscopiques des actinobactéries **(Boudjalal,2012; Harir, 2018)**.

Caractéristiques micromophologiques	Caractéristiques macromorphologiques
-Fragmentation ou non du MS. - Présence de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges ainsi que la longueur des sporangiophores. - Formation de spores sur le MA et /ou sur le MS, leur forme, leur taille et leur agencement: isolées, par deux, par quatre ou en chaînes. - Mode de sporulation: spores porté par des sporophores ou mycélium aérien se fragmentant de maniéré anarchique en spores. - Présence de spores mobiles ou non mobiles. - Ornementation de la surface des spores (lisse, rugueuses, épineuses ou chevelues) - Formation de structures particulières: faux sporanges, etc.	- Production ou non d'un mycélium aérien (MA). - Présence d'un mycélium du substrat (MS). - Détermination de la couleur du MA et du MS ainsi que des pigments diffusibles dans le milieu de culture.

1.4. Caractères chimiotaxonomiques

La chimiotaxonomie est un système d'identification et de classification basé sur des caractères chimiques, le type et la composition de la paroi cellulaire en acides aminées, en lipides et en glucides, constitue la principale caractéristique utilisée en chimiotaxonomie **(Lechevalier et al, 1977; Lechevalier et Lechevalier 1985; Larpent et Sanglier, 1989).**

1.4.1. Type de la paroi

Tableau 2: Types pariétaux en fonction des constituants majeurs des parois cellulaires des actinomycètes **(Lechevalier et Lechevalier, 1970).**

Type de parois	Constituants majeurs	Exemple de genre
I	LL- DAP[a]	*Streptomyces*
Ii	Méso ou hydroxy-DAP[a] Glycine, xylose, arabinose	*Micromonospora*
III	Méso-DA P [a], madurose ou aucun sucre	*Actinomadura*
IV	Méso-DAP[a]. Arabinose Galactose	*Nocardia*
V	Lysine, ornithine	*Actinomyces istaelii*
VI	Lysine	*Oerskovia*
VII	DAB, glycine	*Agromyces*
VIII	Ornithine	*Cellulomonas*

1.4.2. Acides aminés des parois cellulaires

La forme isomérique de l'acide diaminopimélique (DAP) la forme L et D dans la séquence tétrapeptidique du peptidoglycane et la présence ou non de glycine renforce la dureté de la paroi. Les parois sont classées en huit groupes chimiques en fonction de leur composition en DAP mais aussi en d'autres acides aminés :

GI: Présent chez *Arachnia, Pimelobacter, Nocardioides* et *Streptomycetes.*

GII: Présent chez *Actinoplanes* et *Actinomyces.*

GIII: Présent chez *Dermatophilus*, *Maduromycetes* et *Frankia*….ect.

GIV: Présent chez *Micropolyspora* et *Nocardioformes*.

GV: Présent chez *Actinomyces.*

GVI : Présent chez *Microbacterium*, *Oerskovia*, *Promicromonospora*, *Actinomyces* et *Arcanobacterium*.

GVII: Présente chez *Agromyces, Calvibacter*.

GVIII: Présente chez *Aureobacterium*, *Curtobacterium*, *Cellulomonas.*

1.4.3. Les lipides

Les lipides taxonomique important sont :

a. Phospholipides (regroupés en cinq 05 types):

Tableau 3: Types de phospholipides caractéristiques présents chez les actinobactéries **(Lechevalier et al, 1977).**

Types de phospholipides	Genres
-Phosphatidylglycérol.	*Actinomadura.*
-Phosphatidyléthanolamine	*Streptomyces, Pseudonocardia.*
-Phosphatidylcholine	*Nocardiopsis, Amycolatopsis.*
-Phospholipides	*Nocardia, Nonomuraea.*
Avec glucosamine	
+phosphatidyléthanolamine	
-phosphatidylglycérol+	*Oerskovia*
Phospholipides glucosamine	

b. Acides gras :

Les acides gras sont présents chez les genres tels que Nocardia¸ Mycobacterium et Rhodococcus **(Harir, 2018).**

c. Acides mycoliques :

On trouve les acides mycoliques chez plusieurs genres comme Nocardia et Rhodococcus.

d. Ménaquinones :

Les ménaquinones sont présentes chez les genres comme *Thermopolyspora*, *Microbispora* et *Nocardiopsis* **(Saker, 2015, Boudjella, 2007, Loqman, 2009).**

1.4.4. Glucide des parois cellulaires

Les glucides jouent un rôle important en taxonomie, ils sont classés en quatre groupes dans le tableau suivant :

Tableau 4: Glucides caractéristiques présents chez les actinomycètes **(Lechevalier et Lechevlier, 1970).**

Type de glucide	**Genre**
Arabinose + galactose	*Nocardia, Actinopolyspora, Prauserella*
Madurose	*Actinomadura* *Streptosporangium*
Pas de sucre caractéristique	*Nocardiopsis*
Arabinose +xylose	*Micromonospora, Actinoplanes*

1.5. Caractères physiologiques

En plus de ces caractères, La détermination des espèces se base aussi sur les caractères physiologiques. Ces critères concernent des tests de dégradation de différents composés glucidiques, protidiques, lipidiques, polymères complexes, stéroïdes et d'autres tests comme la résistance aux différents agents chimiques tels que les antibiotiques, la température, la salinité et le pH. Ainsi que le type de sol, la profondeur dans le sol, la nature et l'abondance de la matière organique et la végétation du sol **(Skinner, 1973; Bacilia, 2003).**

1.6. Caractères moléculaires

Pour la classification et l'identification des espèces d'actinomycètes, plusieurs techniques moléculaires sont utilisées :

1.6.1. Le séquençage de l'ADN ribosomique 16S

Le gène codant de L'ARN ribosomique 16s est un outil majeur pour l'identification moléculaire des actinomycètes présent chez toutes les bactéries. Il s'agit d'un gène chromosomique d'une taille d'environ 1500 paires de bases, il présente ainsi à la fois des régions hautement conservées tout en contenant de courtes séquences signature spécifiques de genre et quelquefois d'espèces. Grâce à une ADN polymérase (polymérase Taq) isolée de la bactérie *Thermus aquaticus* ce gène est amplifié par la technique PCR. Les séquences obtenues à partir de différents taxons font l'objet d'études comparatives entre eux ou avec les espèces incluses dans la base de données génomique des espèces de référence.

De cela le séquençage de l'ADNr 16S est une technique fiable et rapide pour l'identification et classification phylogénique des actinobactréie **(Weisburg et al, 1991 ; Cook et Meyers, 2003).**

1.6.2. L'hybridation ADN-ADN

La mise en œuvre de cette technique n'a été possible qu'après découverte des phénomènes de renaturation de l'ADN **(Marmur Doty, 1962).** Elle est définitivement utilisée pour identifier le domaine espèces par rapport à celles déjà décrites. Si deux espèces ont un indice de similarité moins de 70% (l'indice de reconnexion de leurs threads ADN), elles sont considérées comme différents **(Wayne et al, 1987).**

1.6.3. La détermination du pourcentage de G+C

Qui n'est obligatoirement demandé que lors d'une proposition de création de nouveaux genres.

La teneur principale en ADN est manifestée par le pourcentage de guanine-cytosine (% GC). Chez les bactéries, cette valeur est très dispersive et se modifie de 25 à 75%, on suppose que les bactéries dont la teneur en G+C varie de plus de 5% peuvent appartenir à la même espèce, si cette différence dépasse 10%, c'est à dire que les bactéries font partie aux différents genres. Néanmoins, les valeurs peuvent être conforme sans que les bactéries sont étroitement liées et proches **(Rosselló-Mora et Amann, 2001)**.

Grâce à ces critères la phylogénie des actinomycètes est obtenue **(Stackebrandt et Woese, 1981; Stackebrandt et al, 1997; Kämpfer, 2010)**.

1.7. Cycle de développement

Les actinomycètes présentent des cycles de développement complexes caractérisés par la différenciation morphologique et la production de métabolites secondaires, la formation d'un mycélium primaire appelé « mycélium de substrat», qui produit des cellules initiales et se transforment en un mycélium secondaire aérien **(Klieneberger-nobel, 1947)**. Donc le cycle de vie des actinomycètes comprend deux phases de croissance différentes :

1.7.1. Mycélium du substrat

Le mycélium de substrat ou végétatif, se développe à partir du tube de germination des spores. Les actinobactréie développent un réseau ramifié d'hyphes, lorsque les hyphes croissent sur un substrat solide comme le sol ou la gélose. Ce dernier, poussent vers la face intérieure du substrat pour former un tapis dense d'hyphes, qui est le mycélium végétatifs. Chez beaucoup d'actinobactréie les hyphes végétatifs se différencient en hyphes qui poussent vers le haut et forment un mycélium aérien qui s'élève au-dessus du substrat **(Prescott et al, 2010)**. La germination des spores se passe en quatre étapes : L'activation, l'initiation, l'émergence du tub germinatif et la croissance du tube germinatif. Le mycélium du substrat de ces actinobactréie possède différentes tailles, formes et épaisseurs. Elles ont une variation de couleur du blanc ou pratiquement incolore à jaune, marron, rouge, rose, orange, noir ou vert.

1.7.2. Mycélium aérien

Le mycélium aérien est dans la majorité de temps plus épais que le mycélium primaire, il établit une différenciation suffisante dont plusieurs isolats sont capables d'être séparés en quelque nombre de groupes ayant des caractéristiques morphologiques similaires dans des conditions précise. De ce fait, la classification du genre Streptomyces en espèce est basée sur ceci. Il est caractérisé par la formation de zones concentriques et de pigmentation ou formation d'anneaux. Des structures cotonnières, veloutées ou poudreuses sont également remarquées.

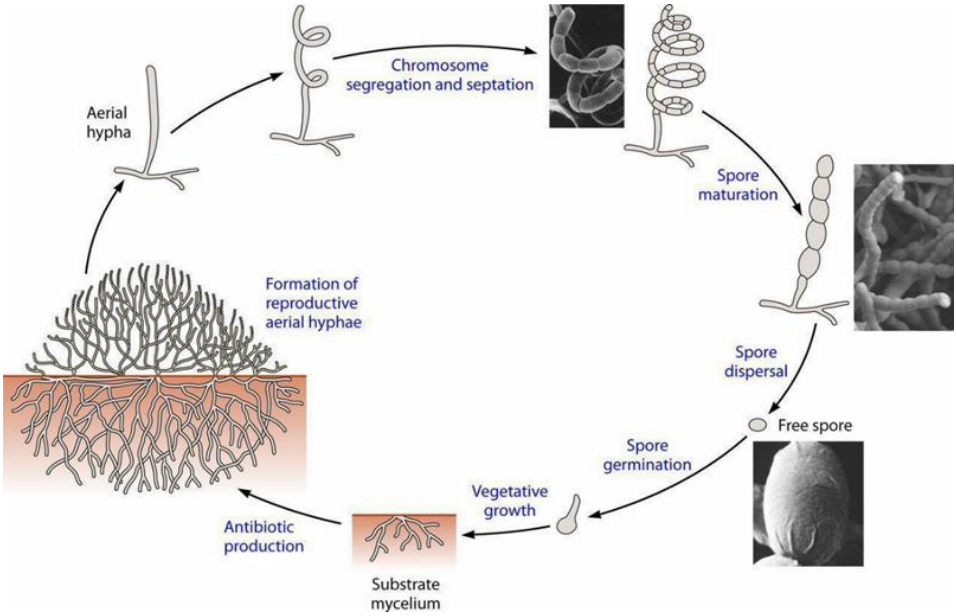


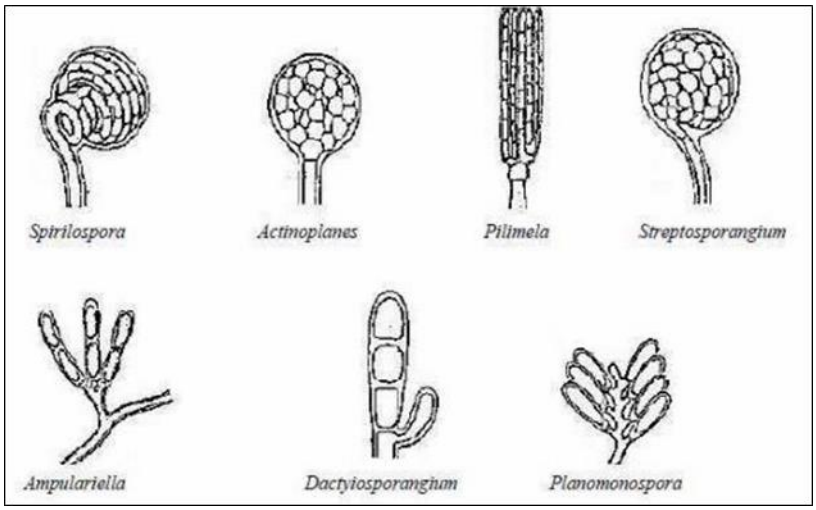
Figure 1: Cycle de développement du genre *Streptomyces* sur milieu solide **(Barka et al, 2016).**

1.7.3. Arrangements des spores

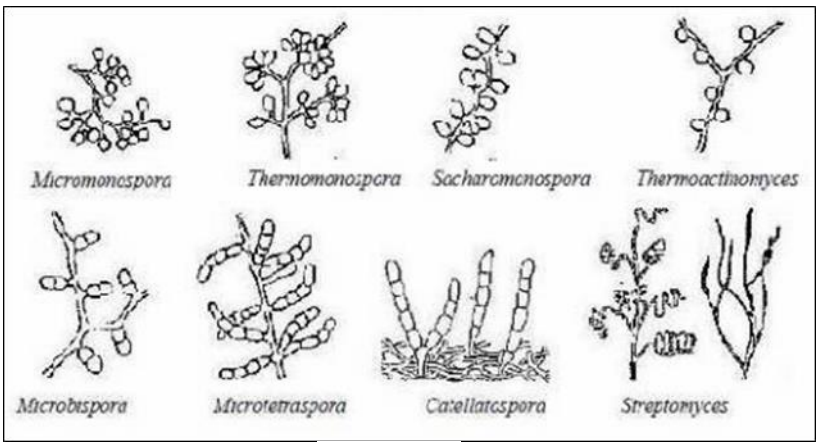
IL existe une grande variété d'arrangements des spores d'actinomycètes **(Belyagoubi, 2014)** :

- Des spores isolées (Micromonospora),
- Deux à deux longitudinalement (Microbispora),
- En courtes chaînettes (Actinomadura),

• En longues chaînettes (Streptomyces) : les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales. Elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores.



(A)



(B)

Figure 2: Différents types de chaînes de spores chez les actinomycètes, (A) spores endogènes; (B) spores exogènes.

1.8. Taxonomie et critères de classification

1.8.1. Critères de classification

L'identification des genres et des espèces repose sur un ensemble de caractères Morphologiques, fonctionnels, génomiques et chimiotaxonomiques, rassemblés dans le (Tableau 05).

Tableau 5: Principaux critères utilisés pour la taxonomie des actinomycètes.

Critères taxonomique	
Critères morphologique	-Mycélium fragmenté ou non. -Présence ou non de mycélium aérien. -Couleur des mycélia. -Production des spores. -La production ou non de structures spéciales comme les sporanges, les sclérotes et les zoospores. **(Bergey's ; 1989)**
Critères chimio taxonomiques	Composition cellulaire en acides aminées, en sucres et en lipides.
Critères physiologique	-Tolérance au chlorure de sodium. -Résistance à certains antimicrobiens et tolérance à des différentes valeurs de température, de pH et de salinité. -Recherche des enzymes et différents métabolites intermédiaires et Terminaux. **(Lamari, 2006)**
Critères moléculaires	-Coefficient de Chargaff ou G+C% **(Stanckebrand et al, 1997).** -Séquençage des gènes de l'ARNr **16S (Smaoui, 2010).** -Taux d'hybridation ADN/ADN **(Wayne et al, 1987).**

1.8.2. Taxonomie des actinomycètes

Les actinomycètes sont classés dans le domaine Bacteria et le phylum Actinobacteria qui est subdivisé à en 06 classes **(Selon le Bergey's, 2012).** La classe des Actinobacteria qui se divise en 15 ordres, les plus importants sont ceux des Actinomycetales et Streptomycetales (Ttableau06). **(Goodfellow et al, 2012).**

Tableau 6: Classification des actinomycètes selon le Bergey's, **(2012).**

Domaine	Bacteria					
Phylum	Actinobacteria					
Classes	*Nitriliruptoria*	*Acidimicrobia*	*Actinomicrobia*	*Rubrobacteria*	*Coriobacteria*	*Thermoleophilia*
Ordres	*-Actinomycetales* *-Streptomycetales* *-Actinopolysporales* *-Bifidobacteriales* *-Catenulisporales* *-Corynebacteriales* *-Frankiales* *-Glycomycétales* *-Jiangellales* *-Kineosporiales* *-Micrococcales* *-Micromonosporales* *-Propionibacteriales* *-Pseudonocardiales* *-Streptosporangiales*					
Familles	*Actinomycetaceae*			*Streptomycetaceae*		
Genres	*Actinomyces Mobiluncus* *Actinobaculum Trueperella* *Arcanobacterium Varibaculum*			*Streptomyces* *Kitasatospora* *Streptoverticillium*		

1.9. Ecologie des actinomycètes

1.9.1. Distribution

Les actinobactréie sont des microorganismes ubiquitaires et sont rencontrer sur tous les substrats naturels courants **(Waksman, 1959 ; Porter, 1971 ; Lacey, 1973 ; Williams et al., 1984)**.

- **Le sol**

Les actinobactéries du sol se trouvent le plus souvent en surface, entre 0 et 2 m de profondeur. Ils produisent des substances spécifiques comme le 2-méthylisobornéol et la géosmine qui sont responsables de l'odeur caractéristique des sols (Omura, 1992; Zaitlin et al, 2003; Zaitlin et Watson, 2006). De plusieurs actinomycètes sont saprophytes et jouent un rôle dans la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus, ils peuvent ainsi dégrader certaines toxines produites par des champignons toxinogénes et donc de réduire leur teneur dans les produits agro-alimentaires finaux (Holzapfel et al, 2002 ; Belyagoubi, 2014). Le genre Fankia joue un rôle majeur pour de nombreux types de plantes car il est capable de noduler les racines de ces plantes et de fixer l'azote atmosphérique. Cette association est appelée : association actinorhizienne **(Prescotte et al, 2007).**

- **L'eau**

Les actinomycètes ont été également isolées dans de nombreux milieux aquatiques, tels que les eaux douces et dans les marécages salés, les eaux de mer et sédiments marins **(Jensen et al, 1991 ; Ghanem et al, 2000 ; Al-Zarban et al, 2002 ; Boughachiche et al, 2005 ; Kitouni et al, 2007).**

- **L'air**

L'air est considéré comme un moyen de transport pour ces bactéries et pas comme un habitat **(Gazenko et al, 1998)**.

- **Les composts et les végétaux**

On peut également rencontrer ces micro-organismes sur les débris des végétaux qu'on trouve au bord des rivières et des lacs, les champs de riz et les cavernes naturelles beaucoup ont la capacité de sporuler, de ce fait ils peuvent survivre en conditions défavorables telle que la salinité, cette propriété est importante dans leur distribution. Quelques genres d'actinomycètes préfèrent certains habitats par rapport à d'autres tels que Thermoactinomyces qui se trouve

souvent dans les composts. **(Wang et al, 2006 ; Lee, 2006)**

Tableau 7: Répartitions des actinomycètes dans la nature **(Goodfellow, 1983).**

Genre	Habitats
-*Actinomodura*	Sol
-*Actinoplanes*	Sol, eau et litière
-*Frankia*	Nodule de racine
-*Microbispora*	Sol
-*Micromonospora*	Sol et eau
-*Nocardia*	Sol et eau
-*Rhodococcus*	Sol, eau, fumier et litière
-*Sacharomonospora*	Matière en décomposition
-*Streptomyces*	Sol, eau et litière
-*Streptosporangium*	Sol
-*Thermomonospora*	Matière en décomposition et fermentation

1.9.2. Facteurs influençant la croissance

Il existe de nombreux paramétrés particulièrement physiologiques, qui influencent la croissance des actinomycètes :

a. L'oxygène

Les actinomycètes sont classés en deux groupes selon leurs types respiratoires :

- Les anaérobies strictes ou facultatives (forme fermentatives), représentées par les Actinomyces, **(Le Minor, 1989)** ;
- Les aérobies (formes oxydatives), telles que les Streptomyces **(Avril et al, 1992)**.

b. pH

La majorité des actinomycètes agissent comme des bactéries neutrophiles, et se développent d'une façon optimale dans un intervalle de pH compris entre 7-8, mais on peut observer une croissance à des valeurs de pH inférieurs à 4 **(McKinney, 2004)**.

c. Température

La température optimale de croissance est comprise entre 25 à 30°C, sauf

les espèces thermophiles peuvent se développer à des températures de 55 à 65°C **(Rangaswami et al, 2004)**.

d. Activité de l'eau

L'activité d'eau la plus favorable pour la croissance des actinobactéries est égale à 0,98, la germination des spores de la plupart de ces micro-organismes peut-être remarquée à des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0.67, **(Zvyagintsev et al, 2005).**

e. Matière organique

Selon Henis en 1986 le nombre d'actinomycètes est lié positivement avec le taux de matière organique, il a montré ainsi que de large population d'actinomycètes coïncidaient avec des taux relativement élevés de matière organique, peu importe le taux de la salinité du sol **(lee et Hwang, 2002).**

1.10. Importance des actinomycètes

La biodiversité des actinobactéries dans différents écosystèmes a donné naissance à une large gamme de composés bioactifs de valeur commerciale considérable et utilisées dans différents domaines (agronomique, écologique, biotechnologique etc.) (**Bouaziz, 2018).**

1.10.1. Dans le domaine écologique et agronomique

Ces micro-organismes jouent un rôle majeur dans les phénomènes de la biodégradation et de transformation de la matière organique. Ils sont capables de dégrader les substances organiques non biodégradables par les bactéries et les champignons, comme les polymères complexes, les polysaccharides, la chitine et les lignocelluloses des plantes **(Lechevalier, 1981 ; Goodfellow et Williams, 1983 ; Goodfellow et al, 1984)**. Grâce à un potentiel enzymatique riche, les actinomycètes peuvent dégrader la biomasse et décomposer des déchets agricoles ou urbains, de ce fait ils jouent un rôle essentiel dans la fertilité des sols **(Goodfellow et al, 1984).** Les actinomycètes sont également utilisés dans la lutte biologique des maladies des plantes comme en agriculture japonaise, notamment contre certaines maladies du riz grâce à leurs propriétés antagonistes **(Sutthinan, 2009).** Le genre Frankia est très bénéfique en foresterie pour son rôle dans la fixation d'azote atmosphérique en symbiose dans les nodules racinaires de certains arbres dicotylédones **(Lechevalier, 1981).**

1.10.2. Dans le domaine biotechnologique

De nombreuses molécules bioactives et des antibiotiques produites par les actinomycètes occupent une place importante dans l'arsenal thérapeutique et commerciale dans les domaines pharmaceutiques, médical et vétérinaires **(Bouaziz, 2018).**

Tableau 8: Importance médicale de certains antibiotiques produits par le genre *Streptomyces* **(Djinni, 2009).**

Organisme ou maladie ciblée	Antibiotiques	Organisme producteur
Typhoïde	Chloramphénicol	*Streptomyces venezuelae*
Tuberculose et Lèpre	Rifampicine	Amycolatopsis (*Streptomyces mediteranei*)
Staphylococcus aureus méthicilline résistant (SARM)	Vancomycine	Amycolatopsis (*Streptomyces orientalis*)
Cancer	Daunomycine	*Streptomyces coeruleorubidus*
Pathogènes résistants à la pénicilline	Acide clavulanique	*Streptomyces clavuligerus*

2. Activités biologiques

2.1. Production d'antibiotiques

Les actinomycètes ont la capacité de produire une large gamme de molécules bioactives, y compris les antibiotiques. En effet, 45 % des antibiotiques connus sont naturellement dérivés des actinomycètes, en particulier ceux de l'espèce *Streptomyces* (Figure 5) **(Sibanda et al., 2010)**. La première personne à avoir démontré l'abondance des actinomycètes dans ce domaine est A. Waksman, qui a isolé quatre des premiers antibiotiques efficaces : la candicidine (1953), la streptomycine (1944), l'actinomycine (1940) et la néomycine (1949). Voici quelques exemples de la manière dont les antibiotiques des actinomycètes peuvent être classés en groupes chimiques :

-Les aminoglycosides (streptomycine, néomycine, kanamycine, gentamicine);

-Les macrolides (érythromycine)

-Les ansamycines (rifamycine)

-Les bêta-lactames (thiénamycine)

-Les peptides (viomycine, thiostrepton, actinomycine, pristinamycine)

-Les tétracyclines (chlortétracycline, oxytétracycline)

-Les nucléosides (puromycine)

-Les polyènes (nystatine, candicidine, amphotéricine B);

-Les polyéthers (monensine) **(Berdy, 2005)**.

Certaines maladies des plantes sont également traitées à l'aide d'actinomycètes antibiotiques. Par exemple, la blasticidine est efficace contre l'agent pathogène du riz Piriculariaoryzae. L'utilisation d'antibiotiques en agriculture permet également de lutter contre les maladies animales et végétales, de favoriser la croissance des animaux domestiques et d'augmenter les rendements zootechnologiques.

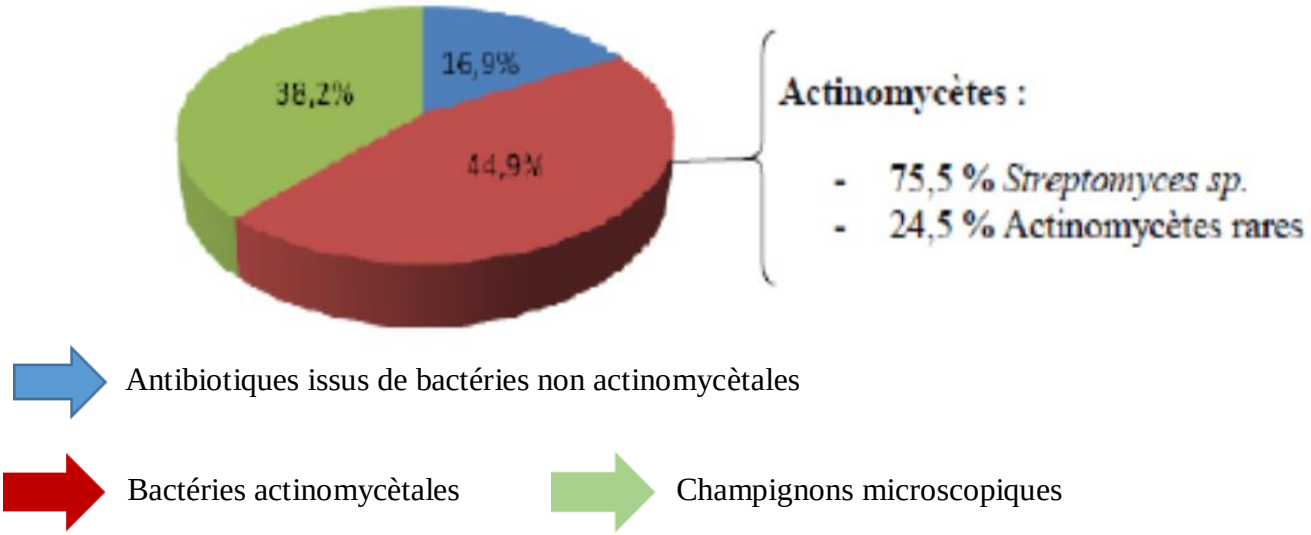


Figure 3: Origines des antibiotiques **(Berdy, 2005).**

Tableau 9: Quelques exemples d'antibiotiques produits par les actinomycètes **(Loucif, 2011).**

Actinomycètes producteurs	Antibiotiques	Références
Micromonospora sp	Clostomycine	*Takahashi et al., 2003*
Streptomyces griseus	Candicidine	*Jinenez et al., 2009*
Streptomyces lydicus	Streptolydigine	*Liuet al., 2007*
Streptomyce lindensis	Rétamycine	*Inoue et al., 2007*
Marinispora sp	Marinomycine	*Sturdikovà et Sturdik, 2009*
Verrucosispora sp	Abyssomycine	*Sturdikovà et Sturdik, 2009*

2.2. Activité antifongique

Après l'antibiothérapie, l'antifongique est l'activité biologique la plus importante des Actinomycètes **(Ramananarivo, 2017)**, un composé qui peut tuer ou inhiber la croissance d'un champignon. L'activité antagoniste des Streptomyces contre les champignons pathogènes est typiquement associée à la synthèse de composés antifongiques extracellulaires et d'enzymes d'hydrolyse **(Sanglier et Trujillo, 1997)**. D'autres types d'actinomycètes, en plus des *Streptomyces*, produisent également des molécules ayant des propriétés antifongiques. Les ramicidines sont des exemples de médicaments antifongiques fabriqués à partir d'une souche d'*Actinomadura bibisca* **(Tomita et al, 1990)**.

Les produits chimiques antifongiques proviennent de deux sources : soit des produits chimiques synthétisés, soit des sous-produits du métabolisme secondaire de certains micro-organismes. Actuellement utilisés en clinique, les antifongiques microbiologiques ont principalement des structures polyethniques, comme l'amphotéricine B et la nystatine **(Ramananarivo, 2017)**.

2.2.1. Les antifongiques les polyènes

Les molécules antifongiques naturelles connues sous le nom de polyènes (Amphotéricine B et nystatine) sont caractérisées par une structure complexe avec un nombre de doubles liaisons conjuguées HC=CH. Ce nombre permet de définir le polyène, tel que diéne pour deux doubles liaisons ou triéne pour trois doubles liaisons **(Watve et al., 2001)**.

2.2.2. La nystatine

Il s'agit du plus ancien antifongique naturel, isolé à partir de *Streptomyces noursei* en 1950. En raison de sa toxicité lorsqu'il est administré par voie parentérale (par injection), il n'est

utilisé que par voie orale ou par voie cutanée. Il est le plus souvent recommandé pour le traitement des candidoses digestives, vaginales et cutanées courantes **(Mouly et Sellier, 2004 ; Ripert, 2013)**.

2.2.3. Nikkomycine

Streptomyces tendae est la source naturelle d'une nouvelle classe d'antifongiques connue sous le nom de nikkomycine. *Candida albicans* est intrinsèquement résistant à cette molécule, mais cet antifongique inhibe la chitine synthase (Chs), qui est responsable de la production de chitine à partir de la paroi fongique. Il produit également différents mécanismes d'action en fonction de la composition du milieu de culture **(Feng et al., 2014)**.

2.2.4. Amphotéricine B

Ce macrolide polyénique amphotère (avec sept doubles liaisons) a été isolé à partir de *Streptomyces nodosus* en 1955. Il n'a aucun effet sur les bactéries et inhibe spécifiquement la croissance de nombreuses levures et moisissures. L'amphotéricine B est un antifongique puissant qui inhibe la majorité des espèces pathogènes. Le seul polyène antifongique pouvant être administré par voie intraveineuse en médecine humaine pour éradiquer les mycoses profondes est l'amphotéricine B **(Pourriat et Martin, 2005)**.

Tableau 10: Exemples d'antifongiques produits par les actinomycètes **(Loucif, 2011).**

Actinomycètes producteurs	Antifongiques	Références
Streptomyces griseochromogenes	Blasticidine	*Fukunaga et al., 2008*
Streptomyces humidus	Phenylacétate	*Hwang et al., 2001*
Nocardia transvalensis	Transvalencine	*Mukai et al., 2006*
Streptomyces nodosus	Amphotéricine B	*Carle et al., 2003*

2.3. Activité antioxydante

De nombreux composés bioactifs distincts, tels que des molécules antioxydantes naturelles, sont produits par les actinobactéries **(Hassan et al., 2017)**.

Les antioxydants sont des substances chimiques qui peuvent ralentir ou empêcher le processus d'oxydation **(Dekkers et al., 1996)**. Actuellement considérés comme une source importante d'énergie, les actinomycètes d'origine marine sont des sources potentielles de nouveaux métabolites bioactifs **(Mohankumer et al., 2012)**.

Selon **Shin et al. (2008)**, **Arumugam et al. (2010)** et **Nagaseshu et al. (2016)**, les phytomycètes isolés des sédiments marins peuvent être une source d'antioxydants potentiels ayant des propriétés anticancéreuses.

Tableau 11: Exemples de molécules antioxydants produites par des quelques espèces d'actinobactéries **(Hassan et al., 2017).**

Espèces	Molécules	Références
Micromonospora sp	Dizeepinomidine	*Abdelmohsen et al., 2012*
Streptomyces sp	Dihydroherbimycin	*Cheng et al., 2016*
Streptomyces lincolnensis	Protocatechualdehyde	*Ja Kim et al., 2008*
Streptomyces sp	Streptopyyrolidine	*Shin et al., 2008*
Streptomyces sp	2-allyoxyphenol	*Arumugam et al., 2010*
Nocardia brasiliensis	PC 766 B	*Kumagai et al., 1993*
Streptomyces sp	Ageloline A	*Cheng et al., 2016*

2.4. Les antiparasitaires

Plus généralement, l'expression « antiparasitaire » désigne une substance susceptible de lutter contre de nombreux organismes eucaryotes (protistes, insectes et helminthes). Selon **Harir et al. (2018)**, ces métabolites sont utilisés en médecine humaine et vétérinaire ainsi qu'en agriculture.

Pimentel-Elardo et al. (2010) ont isolé *Streptomyces sp* à partir d'éponges méditerranéennes. Cette solution a été utilisée pour extraire et purifier trois composés cycliques : buténolide, staurosporine alcaloïde indolocarbazole, et valinomycine des peptidique. Ces derniers ont des propriétés antiparasitaires.

2.5. Production d'enzymes

En synthétisant ou en modifiant des molécules organiques vitales présentes dans les cellules vivantes, les enzymes fonctionnent comme des biocatalyseurs, assurant l'achèvement de toute réaction métabolique dans les organismes vivants. La majorité des enzymes sont des protéines, le reste étant des acides ribonucléiques **(TAO et al., 2020)**.

Le transport cytoplasmique de molécules complexes n'est pas possible pour les actinomycètes qui vivent dans le sol. Pour décomposer ces molécules en nutriments essentiels et utiles, ils synthétisent des enzymes extracellulaires. Ces sources de composés bioactifs ont

des capacités d'hydrolyse extracellulaire importantes et sont utilisées dans les secteurs du textile, de l'agroalimentaire, des bio-raffineries et de la pharmacie **(Janaki, 2017)**.

2.5.1. Cellulases

Les cellulases sont des enzymes qui décomposent la cellulose en glucose et autres produits chimiques de base **(Tanveer et al., 2014 ; Rajeeva et Soni, 2015 ; Hitesh et al., 2016)**. Les β-glucosidases, les endoglucanases et les exoglucanases sont les trois principaux types d'enzymes cellulases qui fonctionnent ensemble **(Zhang et Zhang, 2013)**.

Les cellulases microbiologiques ont plusieurs utilisations en biotechnologie, dans l'environnement et dans les processus industriels. Dans les processus industriels difficiles, les bactéries thermophiles sont une bonne source de cellulase industrielle. Les exemples incluent la décomposition du papier, la ramification des tissus, la pâte et le papier, le biopollisage des tissus, le jus animal et les aliments, etc **(Sahoo et al., 2019)**. Parmi les espèces actinobactériennes productrices de ces enzymes : *Streptomyces*, *Thermobifida* et *Micromonospora* **(Praksh et al., 2013)**.

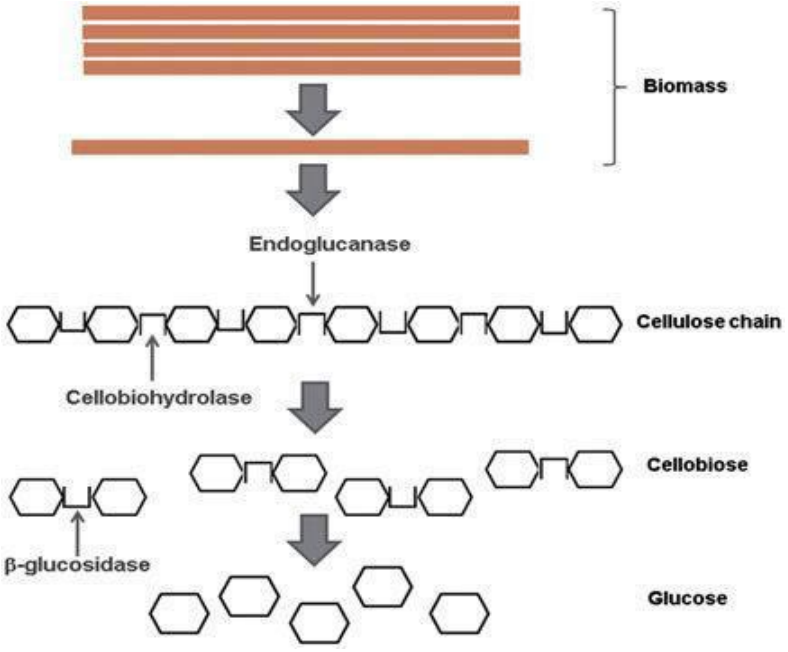


Figure 4: Hydrolyse de la cellulose par les trois types de cellulases **(Hitesh et al., 2016).**

2.5.2. Amylases

Les amylases sont des enzymes thermostables qui se répartissent en deux classes : les endoamylases et les exoamylases. Les molécules d'amidon sont hydrolysées par ces enzymes en polymères composés d'unités de glucose. La conversion des amidons en oligosaccharides dépend de la génération de l'α-amylase. L'amidon est un aliment de base dans de nombreux

pays économiquement importants, notamment le riz, le maïs, le tapioca, le blé et la pomme de terre. Il s'agit également d'un élément important de la nutrition humaine **(De Souza et Magalhães, 2010)**.

Streptomyces erumpens et *Thermobifida fusca* produisent des amylases, qui sont utilisées dans l'industrie alimentaire comme conservateurs dans la fabrication de gâteaux, de jus de fruits et de sirops à base d'amydon, ainsi que dans l'élimination des polluants environnementaux (bioremédiation) **(Mobini-Dehkorde et Javan, 2012)**.

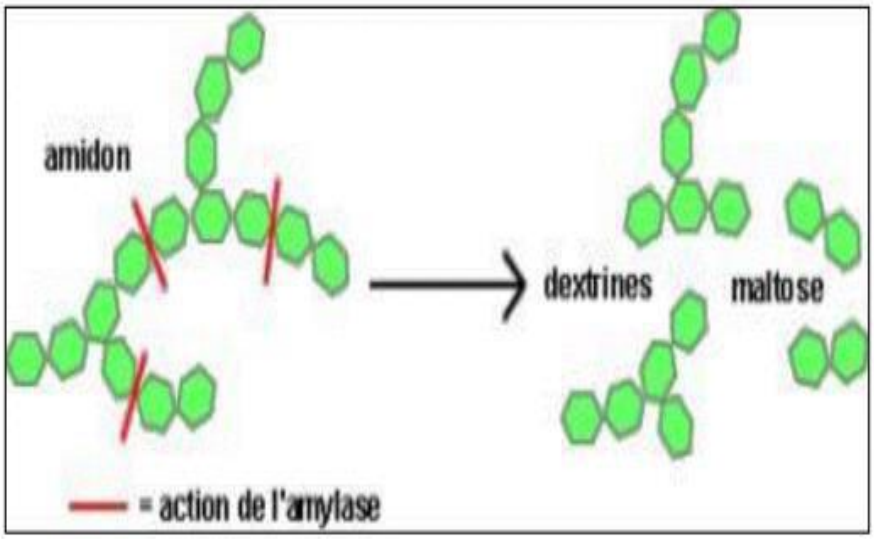


Figure 5: Mode d'action de l'alpha-amylase **(Meziani et Mahcene, 2017).**

2.5.3. Xylanases

Les glycosidases qui composent le complexe des xylanases sont responsables de la catalyse des 1,4-D-xylosidiques dans les régions non substituées des chaînes de xylane pour produire du xylose **(Larreta-Garde, 1997 ; Gerois, 2008)**. *Actinomadura sp* et *Streptomyces sp* sont deux exemples de producteurs qui utilisent les xylanases dans la biotransformation des textiles et la production d'aliments pour animaux **(El-Sersy, 2010 ; Mukhtar, 2017)**. Les actinobactéries provenant des sols arides sont une source importante de ces enzymes. **Do Nascimenenti et al. (2003)** ont rapporté que 162 isolats d'actinomycètes provenant de sols brésiliens ont été identifiés sur base de leur activité xylanase. Pendant dix jours à 30°C, ces souches ont été testées dans l'environnement (extrait de malt, extrait de levure et agar). Les résultats indiquent qu'un nombre significatif de ces isolats possède cette activité enzymatique. Selon **Dickner-Ouellet (2018)**, la xylanase est utilisée dans de nombreux domaines, notamment la gestion des déchets, la fabrication de papier et de pâte à papier, les textiles, les biocarburants, les produits chimiques et la nutrition humaine et animale.

2.5.4. Lipases

Les triacylglycérol-hydrolases, également connues sous le nom de lipases, sont des enzymes uniques en raison de leurs mécanismes d'action et de leurs spécificités de substrat. Selon la façon dont le catalyseur réagit, elles peuvent agir comme hydrolases dans un environnement aqueux ou comme catalyseurs dans une synthèse organique (**Mukhtar et al., 2017)**. Les lipases sont fabriquées à partir d'une variété d'actinomycètes **(Taibi et al., 2012)**. Ils sont fréquemment utilisés dans les industries du chocolat, de la biscuiterie et de la boulangerie ainsi que dans le traitement des sols contaminés par des hydrocarbures comme ceux fabriqués par *Streptomyces exfoliates* et *Nocardiopsis alba* **(El-Sersy, 2010 ; Mukhtar, 2017)**.

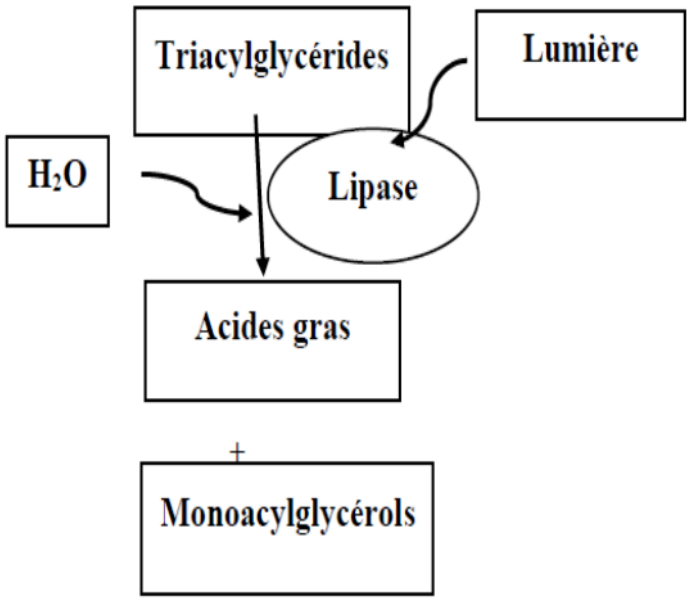


Figure 6: Catabolisme des triglycérides **(Mukhtaret al., 2017).**

2.5.5. Protéases

Les réactions d'hydrolyse des protéines sont catalysées par des enzymes protéolytiques, parfois appelées protéases. En hydrolysant les liaisons peptidiques entre deux acides aminés, protéines et peptides, cet ensemble d'enzymes libère des acides aminés ou de petits peptides **(Navarre, 2010 ; Jean et al., 2004)**. Les protéases sont produites par diverses espèces d'actinomycètes. Il s'agit généralement de *Streptomyces, Nocardia* et *Nocardiapsis* **(Mukhtar et al., 2017)**. Un certain nombre de facteurs peuvent influencer la capacité de la bactérie à séquestrer la protéase. Les principaux facteurs en jeu sont la température, le pH et la teneur en chlorure de sodium **(Vonthini et al., 2008)**.

Selon **Preaksh et al. (2013)**, les protéases des espèces de *Nocardiopsis* sont utilisées dans l'industrie du cuir pour épiler le cuir et les parties en cuir. Selon **Mukhtar et al. (2017)**, les protéases des espèces de *Streptomyces* sont utilisées dans les déchets agricoles et industriels, tels que les panaches et les huîtres, ainsi que dans les déchets végétaux.

Selon les connaissances actuelles, le groupe le plus important de métabolites secondaires largement exploités est constitué par les protéases des actinomycètes **(Limkhada et al., 2010)**. 46 souches d'actinomycètes ont été isolées à partir d'échantillons de sol du nord de l'Himalaya et examinées pour leur synthèse de protéases et leurs effets cytotoxiques sur la lignée des cellules cancéreuses **(Dastager et al., 2008)**.

2.5.6. Chitinases

Les chitinases constituent une autre classe importante d'enzymes industrielles susceptibles d'hydrolyser la chitine. On connaît l'existence de nombreuses bactéries productrices de chitinases, notamment *Streptomyces thermoviolaceus* et *Microbispora sp*. La chitinase de ces sols a été utilisée pour récupérer le chitibiose, un antioxydant potentiel ayant plusieurs utilisations en biomédecine et dans l'industrie alimentaire **(Mukhtar, 2017)**. Les chitinases sont utilisées pour traiter les déchets de crustacés et pour se prémunir contre les champignons phytopathogènes. *Streptomyces thermoviolaceus* et *Nocardiopsisprasina* sont typiquement responsables de leur production **(Tsujibo et al., 2003)**.

2.6. Production de bio-herbicides

L'utilisation des métabolites secondaires des actinobactéries en tant qu'herbicides est une autre utilisation intrigante. *Streptomyces saganonensis* produit des herbimycines et des herbicides qui suppriment les parasites monocotylédones et dicotylédones. L'anisomycine, produite par *Streptomyces sp* peut empêcher les plantes de synthétiser la chlorophylle. De plus, le bialaphos, un métabolite de *Streptomyces viridochromogenes*, est souvent utilisé pour lutter contre les herbes indésirables en empêchant la synthèse de glutamine *(Anandan et al., 2016)*.

2.7. Production de vitamines

Toutes les actinobactéries semblent produire la vitamine à la suite de l'ajout de sels de cobalt dans l'environnement. Le cobalt étant un agent bactéricide assez efficace, ce précurseur doit être ajouté avec précaution. La production d'autres vitamines hydrosolubles par les actinobactéries, telles que la thiamine et le dérivé de l'acide ptéroyl glutamique, s'est également avérée favorable à la croissance de certaines souches de Leuconostoc citrovorum et de la

coenzyme A **(Anandan 2015)**. Selon **ALLEN P. SAUNDER, (1952)** la première indication que *Streptomyces chromogenus*, *S. grizeus* et *S. antibioticus* souches produisent de la vitamine B12 a été faite par Rickes et ses collaborateurs en 1948. Depuis lors, d'autres études ont été menées dans lesquelles les actinomycètes en particulier ceux appartenant à l'espèce *Streptomyces* ont été identifiés comme de bons producteurs de la vitamine.

2.8. Production de Pigments

Les actinobactéries se distinguent par leur capacité à produire une variété de teintes dans des environnements naturels ou synthétiques ; ces pigments sont considérés comme l'un des traits culturels cruciaux pour caractériser les organismes. Les actinobactéries sont aidées par tous les changements phénotypiques causés par des facteurs environnementaux ; elles présentent des colonies morphologiquement diverses et produisent une variété de pigments filamenteux connus sous le nom d'hyphes aériens **(Goodfellow et al., 2012)**.

Typiquement, ces pigments apparaissent dans différentes nuances de bleu, violet, rouge, rose, jaune, vert, brun et noir.



Figure 7: Pigments diffusible caséine agar **(Anandan, 2016).**

Selon **M. I. Sheefaa et Pitchiah Sivaperumal, (2022),** les actinobactéries marines sont utilisées pour fabriquer de la mélanine et leurs caractéristiques biologiques sont étudiées. Les environnements ISP-1 et ISP-7 ont été utilisés pour isoler et identifier les actinobactéries marines. En outre, le projet international Streptomyces a examiné la morphologie des chaînes de spores et leurs caractéristiques chimiotaxonomiques. Les espèces de Streptomyces se caractérisent par leurs propriétés antioxydantes potentielles et leur capacité à produire des pigments de mélanine.

2.9. Utilisation des actinobactéries en lutte biologique

La majorité des actinomycètes sont des chimio-hétérotrophes dotés d'un équipement enzymatique très diversifié qui leur permet de s'adapter et de coloniser une variété de substrats rhizosphériques. En effet, ils participent efficacement à la minéralisation de la matière organique et à la fixation de l'azote atmosphérique (espèce *Frankia*), ce qui améliore la fertilité des sols et permet d'obtenir de meilleures récoltes. De nombreux facteurs, dont le pH, la matière organique, les saisons et les traitements agricoles, influencent leurs variétés, leurs besoins réduits et leur importance quantitative **(Leclerc et al., 1977 ; Baker, 1988 ; Lee et Hwang, 2002 ; Perscott et al., 2007 ; Kitouni, 2007)**.

Selon **Hsu et Lockwood (1975)**, de nombreuses espèces sont agarolytiques et protéolytiques. Les pectinolytiques, les cellulolytiques **(Leclerc et al., 1977)** et les chitinolytiques (De Boer et al., 1998) en sont quelques exemples. Le xylane **(Petrosyan et al., 2003)** et l'amidon **(Kuo et Hartman, 1996)** peuvent être décomposés par les actinobactéries. La paroi des cellules fongiques est fréquemment dégradée par des bactériolytes **(Mahadevan et Crawford, 1997 ; Leclerc et al., 1977)**.

Plusieurs études ont mis en évidence le parasitisme des mycéliums des champignons par les Actinomycètes **(El-Tarabily et Sivasithampar, 2006 ; Errakhi et al., 2007 ; Jain et Jain, 2007)**. Ils sont donc les meilleurs candidats pour la lutte biologique contre les champignons pathogènes du blé en raison de leur pouvoir antagoniste qui se manifeste de différentes manières : antibiose, compétition nutritionnelle ou spatiale, parasitisme **(Errakhi, 2008)**.

2.10. Bioremédiation

Dans les sols, la classe des actinobactéries constitue une part importante de la communauté microbienne. Leurs caractéristiques de croissance particulières et leur diversité métabolique en font des agents bien adaptés à la biorestauration. La contamination de l'environnement est un problème mondial croissant, les technologies doivent s'adapter rapidement à cette situation. L'utilisation d'organismes vivants ou de leurs sous-produits dans la remédiation biologique est un substitut approprié. La capacité des actinobactéries à mener cette action sur diverses matrices, dans diverses conditions de croissance, sous forme de cultures pures ou de consortium, ou en tant que producteurs d'enzymes et d'émulsifiants, a été démontrée **(Marta A. Polti et al., 2014)**.

2.11. Activité antibiofilm

L'activité antibiofilm des actinomycètes est un domaine de recherche en plein essor, particulièrement en raison de la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques classiques et de la persistance des biofilms dans les infections chroniques **(Sharma et al. 2016)**.

Les actinomycètes, en particulier du genre *Streptomyces*, sont des bactéries filamenteuses du sol connues pour produire plus des deux tiers des antibiotiques naturels utilisés en médecine (ex : streptomycine, érythromycine, rifampicine). En plus de leur activité antibactérienne classique, ils produisent des métabolites secondaires avec un potentiel antibiofilm *(Singh et al. 2017)*.

Les composés produits peuvent agir selon plusieurs modes :

- Inhibition de l'adhésion bactérienne initiale à la surface.
- Perturbation de la formation de la matrice EPS.
- Désorganisation de la structure du biofilm mature.
- Inhibition de la communication quorum sensing (QS).
- Effet bactéricide direct sur les cellules sessiles.

2.12.Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des actinomycètes est un domaine de recherche émergent qui suscite beaucoup d'intérêt en raison de leur capacité à produire des métabolites secondaires bioactifs. Ces métabolites ont montré des effets intéressants dans la modulation des réponses inflammatoires in vitro et in vivo, ouvrant la voie à de nouvelles approches thérapeutiques contre les maladies inflammatoires chroniques **(Raju, 2016)**.

Les actinobactéries, particulièrement les genres Streptomyces, Micromonospora, Nocardia, Actinoplanes, produisent de nombreux métabolites secondaires qui agissent sur divers processus cellulaires. Certains de ces composés ont démontré: **(Subramani et al. 2019)**

- Une inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6, IL-1β).
- Un effet sur la voie NF-κB.
- Une inhibition des enzymes pro-inflammatoires (COX-2, iNOS).
- Un effet antioxydant, qui limite le stress oxydatif pro-inflammatoire.

Matériels et méthodes

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire de l'université de YAHIA FARES, Médéa. Ce laboratoire est dédié à la recherche et à l'enseignement dans le domaine des sciences biologiques. Il est équipé du matériel de base nécessaire pour les manipulations microbiologiques, biochimiques et moléculaires. Ce cadre a permis de mener les différentes étapes expérimentales dans de bonnes conditions.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique de cette étude qui comporte 10 isolats d'actinobactéries ont été isolée de diffèrent sols de sédiments marins (isolement effectuer en 2022 et 2023 à Mostaganem).

- **Objectifs :**

Le présent travail consiste en la mise en évidence de quelques activités biologiques de 10 isolats d'actinomycètes issues de diffèrent sols de sédiments marins (isolement effectuer en 2022 et 2023 à Mostaganem) et l'échantillonnage de 2 sols agricoles dans la région de Médéa (BENCHIKAOU, OULAD IBRAHIM) dans la période du: 20/04/2025 pour le premier échantillon et le 06/05/2025 pour le deuxième sol.

2. Méthodes

i. Etude des isolats marins

2.1. Revivication des actinomycètes

Nous avons préparer des inoculums sur milieu M **(Annexe)** liquide puis procéder à une purification sur milieu solide.

L'aspect phénotypique des colonies et les caractères culturaux sont déterminés sur le milieu M **(Annexe)**. Les inoculums sont ensemencés par la méthode des quadrants en stries sur le milieu cité précédemment par une anse stérile et les boîtes de Pétri ont été ensuite incubées à 28 ± 2 °C. Après 48h à 72h jours d'incubation, les caractères suivants sont notés : la couleur, taille, élévation, transparence, surface, la production de pigment diffusible.

2.2. Conservation des isolats obtenus

2.2.1. Conservation des souches à court terme

La méthode de conservation des souches consiste à repiquer les souches en tube sur milieu M inclinée **(Botton, et al., 1990)**. Les tubes sont incubés pendant 48h à 30°C puis conservés à 4°C. La souche pure doit être conservée à 4°C pour une réalisation ultérieure des tests biochimiques, physiologiques et activités biologiques.

2.2.2. Conservation à long terme

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

2.3. Revivification des souches pathogènes de référence

La revivification des souches pathogènes de référence constitue une étape préliminaire indispensable dans tout protocole expérimental, nous avons donc préparer des inoculums sur BN puis procéder à une purification sur les milieux spécifiques de chaque souche. Les souches de référence utilisées sont comme suit : *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC10231, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

2.4. Test d'activité antibactérienne

2.4.1. Préparations des inocula microbiens

Pour chaque bactérie-test, un inoculum est préparé à partir d'une culture de 24 h sur gélose nutritive en déposant quelques colonies dans de l'eau physiologique stérile de manière à obtenir une densité optique qui ne dépasse pas 0,5.

2.4.2. Technique des cylindres d'agar (Totora et al., 1979)

Les souches actinomycètales sont ensemencées en stries serrées à la surface de milieu M **(annexe)** puis incubées à 30°C pendant 48h à 72h. Pour chaque souche étudiée, il faut prélever des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre. Les cylindres sont ensuite déposés sur le milieu Muller-Hinton préalablement ensemencé par écouvillonnage par les bactéries-tests. Après une pré-diffusion de deux heures à 4°C, les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures **(Petrosyan et al., 2003 ;Abouwarda et Abu El-Wafa,2011)**. Les surnageant des isolats sélectionnés ont également été testée mais avec la technique des disques.

2.5. Mise en évidence des activités Biologiques

2.5.1. Mise en évidence des activités enzymatiques

a. Recherche de l'amylase

Ce test est réalisé sur le milieu nutritif gélosé contenant 1% de l'amidon soluble selon la méthode de **Gordon et Smith (1953)**. Après 14 jours d'incubation à 28°C, la gélose est recouverte d'une solution de lugol. L'hydrolyse est mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies à l'inverse les zones contenants de l'amidon qui se colorent en brun.

b. Pouvoir hémolytique

Ce test consiste à ajouter dans un flacon contenant 200 ml de gélose nutritive stérile en état de surfusion (45°C), une quantité de sang humain avoisinant un pourcentage de 5%. Le flacon est ensuite homogénéisé délicatement pour ne pas éclater les cellules sanguines. Après

homogénéisation, le contenu du flacon est coulé dans des boites de Pétri. Après refroidissement du milieu, les actinobactéries sont ensemencées sous forme d'un trait au centre de chaque boite de Pétri. Les zones claires au tour de la colonie représentent la zone d'hémolyse.

c. Recherche des protéinases

- **La caséinase**

L'hydrolyse de la caséine est étudiée selon la méthode de **Wiliams et Cross (1971)**. Sur un milieu gélosé contenant 5 % de lait écrémé, les colonies sont ensemencées par stries. L'apparition de toute zone claire autour des colonies après 7 jours d'incubation à 28° C, témoigne de l'hydrolyse de la caséine.

- **La gélatinase**

Les souches sont ensemencées dans des tubes contenant la gélatine nutritive puis incubées à 28°C pendant 21 jours. Les tubes sont ensuite placés une heure au réfrigérateur. Si la gélatine devient solide cela implique qu'elle n'a pas été attaquée par les bactéries, si elle reste liquide, cela implique qu'une enzyme extracellulaire la gélatinase l'a hydrolysé **(Larpent et Larpent- Ghourgoud, 1985)**.

d. Recherche de la catalase

Prendre une lame propre, déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes. A l'aide d'une pipette Pasteur, émulsionner par un peu de la colonie d'actinomycètes. Le dégagement des bulles de gaz indique la présence d'une catalase **(Camille, 2007)**.

e. Recherche de la cellulase

Les cylindres d'agar de 6 mm de diamètre sont découpés stérilement à l'aide d'un embout à partir de milieu M puis déposer à la surface du milieu de culture contenant du Carboxyle Méthyl Cellulose (CMC) comme seule source de carbone. Après l'incubation des boites, la révélation de l'activité CMCase est effectué avec une solution de rouge Congo à 0,1% (m/v) pendant 20 min suivi de lavage avec une solution de NaCl à 1M pendant 15 min après 3,5 et 7 jours d'incubation **(Ninranjane et al., 2007)**. L'hydrolyse de la CMC est traduite par l'observation des halos orange clairs autour des cylindres sur un fond rouge.

f. Recherche des lipases

- **Recherche des estérases**

La recherche de l'estérase est réalisée sur le milieu sierra ajouté de tween 80 (Annexe). Après 14 jours d'incubation à 28° C, l'apparition d'un halo opaque autour des colonies traduit la présence d'une estérase **(Camille, 2007)**.

- **Hydrolyse de la lécithine et les lipoprotéines**

La lécithine est recherchée sur une gélose au jaune d'œuf coulée en boites de pétri, ensemencées avec les souches à tester par des touches ou par des stries, puis incubées pendant 1 à 5 jours à 28°C. Le jaune d'œuf est un substrat composé de lécithine, triglycérides et d'une lipoprotéine, il permet donc de rechercher trois enzymes : La lécithine : l'apparition d'un halo opaque, blanc jaunâtre, à bord net sous la colonie ou à la limite, indique la présence d'une lécithinase. Si la lécithinase est absente, toute l'opacité floue à la surface de la colonie indique la présence d'une lipase. La lipoprotéinase est révélée par l'apparition d'un halo claire autour de la colonie **(Nitsch et Kutzner, 1969)**.

g. Recherche de la pectinase

Ce test est réalisé sur le milieu pectine agar **(Annexe)**. Ensemencer les boites en stries après incubation de 5 jours à 28° C **(Camille, 2007)**. Les boites sont recouvertes par la solution de sulfate de cuivre et laisser à température ambiante pendant quelques minutes. L'apparition d'un halo claire indique la présence d'une activité pectinolytique.

h. Activité chitinasique

L'ensemencement par touches est réalisée à partir de milieu M sur milieu contenant la chitine **(Annexe)** comme seule source de carbone puis les boites sont incubées à 28°C pendant 3,5 et 7 jours. La présence de chitinase se traduit par l'observation des halos clairs autour des colonies **(Snaikiet al., 2006)**.

2.5.2. Mise en évidence de l'activité antibiofilm

La formation de biofilms est testée sur des microplaques en polystyrène **(Annexe)** suivant le protocole de **(O'Toole et al., 1999)**, avec quelques modifications.

Les cinq premier puits verticales de la microplaque sont remplis avec 100 µl de suspension bactérienne pathogène (BHIB+ quelques colonies), dix puits horizontales de la microplaque sont remplis avec 200 µl de suspension d'actinomycètes (incubée à 30°C pendant 24h). Cinq puits contenant 200 µl de suspension bactérienne pathogène (BHIB+ souches de références) sont utilisés comme témoins de la formation du biofilm.

Coloration au cristal violet (0,1%) Après incubation, les suspensions bactériennes, dans les puits, sont aspirées puis rincés deux fois avec 200 µl de l'eau physiologie. Les cellules adhérées microplaque sont fixées avec 200 µl d'éthanol à 96% pendant 15 minutes, puis l'éthanol est aspiré et les puits sont laissés sécher stérilement. Les cellules fixées sont colorées avec 200 µl d'une solution de cristal violet à 0,1% (w/v) pendant 20 min, puis lavées avec 200 µl de l'eau physiologie jusqu'à obtention d'une couleur claire du liquide de lavage. Le colorant fixé aux cellules est solubilisé en ajoutant 200 µl d'éthanol.

2.5.3. Extraction des molécules bioactives

Après avoir réalisé des cultures liquides des souches étudiées (pour chaque souche 100mL de milieu, incubés à 28°C sous agitation (120 rpm) (O, IC, G et 4×3A) et obtenu les surnageants par centrifugation. Une extraction liquide liquide avec le butanol **(Annexe)** (solvant) (v/v) a été ensuite effectuée. Le principe de l'extraction par solvants organiques se résume en une partage des molécules solubilisées dans le surnageant du milieu de culture entre deux phases ; une phase organique et une phase aqueuse et de faire passer les molécules bioactives vers la phase organique. Le filtrat est mélangé dans une ampoule à décanter **(Annexe)** avec un volume égal de solvant, les deux phases organiques et aqueuses sont récupérées séparément concentrées à sec puis reprises dans 5 ml de méthanol. Ces extraits ont ensuite été soumis à des analyses de caractérisation préliminaires et testés pour évaluer leur activité antibactérienne résiduelle, dans le but de déterminer la présence et l'efficacité des composés antimicrobiens extraits **(Khamna, Yokota, Peberdy, & Lumyong, 2009)**.

2.5.4. Évaluation de l'activité antioxydant des extraits obtenus par le diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl-1-picrylhydrazyle violet en un composé de couleur jaune, le diphényl-1-picrylhydrazine, dont l'intensité de couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu réactionnel **(Sanchez-Moreno, 2002)**.

La capacité de surnagent à éliminer le radical DPPH a été déterminée selon le procédé de **Brand-Williams et al., (1995)** avec quelques modifications : Dans un tube à essai, 100µl d'extrait sont mélangés avec 2900 µl d'une solution méthanoïque de DPPH **(Annexe)** fraîchement préparée (à 0,004%). Après agitation vigoureuse et au bout de 30 min d'incubation à l'obscurité (durée nécessaire pour le transfert de tous les atomes d'hydrogène labiles), l'absorbance à 517 nm est mesurée (contre le méthanol) au moyen d'un spectrométrie UV visible **(Annex 6)**. Le standard utilise étant l'acide ascorbique (témoin). L'activité anti radicalaire est exprimée en termes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH qui est calculé en appliquant l'équation ci-dessous :

% Inhibition DPPH = [(Abs Témoin- Abs Échantillon) / Abs Témoin] × 100

Abs Témoin désigne l'absorbance du témoin négatif (sans extrait) à t = 0,

Abs Échantillon désigne l'absorbance de la solution d'extrait de surnagent ou du standard après 30 min.

2.5.5. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits obtenus

L'activité anti-inflammatoire de nos extraits a été évaluée in vitro via la méthode basée sur la déstabilisation des membranes des globules rouges induite par la chaleur.

a. Préparation de suspension des globules rouges

Pour réaliser ce test, le sang de volontaires jugés sains est collecté sur des tubes héparinés puis centrifugé à 3000 rpm et lavé 03 fois avec un volume égal d'eau physiologique (0.9 % de NaCl). Le volume du culot après lavage est mesuré et reconstitué en suspension à 10 % dans de l'eau physiologique.

b. Test de l'activité anti inflammatoire

Un volume de 1ml de chaque extrait est ajouté à 1ml de suspension des globules rouges. Le contrôle négatif est préparé en parallèle en remplaçant l'extrait par l'eau physiologique et le témoin positif est réalisé en présence d'un anti inflammatoire, le diclofénac **(Annex 7)**. Après incubation pendant 30 min à 56°C dont le but la déstabilisation des membranes des hématies **(Oyedapoo et al., 2010)**, les tubes sont centrifugés 5 min à 2500 rpm. L'absorbance des surnagents est effectuée à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés par la formule :

I % = ((Ac-At)/Ac) X 100

Ac: absorbance du contrôle négatif

At: absorbance de l'extrait testé.

ii. Etude des isolats agricoles

2.6. Echantillonnage des sols agricoles

Les échantillons de sol agricole ont été collectés à partir des sites situés dans la wilaya de Médéa (BENCHIKAOU, OULAD IBRAHIM).

En mois d'Avril nous avons prélevé le premier échantillon (BENCHIKAOU), en mois de Mai on a prélevé le deuxième échantillon (OULAD IBRAHIM).

A l'aide d'une spatule stérile, les trente premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés. Cent a cent-cinquante (100 – 150) grammes de sol de la couche sous-jacente (30 cm de profondeur), puis chaque échantillon sont déposés dans des boites stériles et transportés le plus rapidement possible au laboratoire **(Pochon & Tradieux, 1962)**. Les échantillons sont immédiatement conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'utilisation.

Tableau 12: Site et date d'échantillonnage des sols agricoles.

	Site d'échantillonnage	Date d'échantillonnage
Sol 1	BENCHIKAOU	20/04/2025
Sol 2	OULAD IBRAHIM	06/05/202



Sol 1



Sol 2

Figure 8: Echantillonnage des sols agricoles **(prise personnel)**

2.6.1. Prétraitements des échantillons

Le traitement des échantillons à un rôle de réduire la croissance de la flore fongique et bactérienne, afin, d'augmenté le nombre des actinobactéries contenue dans les sols **(Cavala & Eberlint, 1994)**. Chaque échantillon subi un prétraitement chimique qui consiste à traiter 1 g de sol de chaque échantillon avec 0.1 g de CaCO3. Le mélange est mis dans une enceinte stérile saturée d'humidité pendant sept jours à 28°C **(El-Nakeeb & Lechvalier, 1963)**.

Le milieu de cultures M est utilisé pour l'isolement des actinobactéries **(Ara et al ; 2012)**.

2.6.2. Isolement des actinomycètes

Pour chaque échantillon, 1g de sol sont dilués dans 9ml d'eau physiologique stérile, puis agités au vortex **(Annex 8)** deux fois pendant 5 minutes, cette suspension constitue la dilution 10 -1 . Une série de dilutions décimales (jusqu'à 10-5) est effectuée pour chaque échantillon.

400µl par dilution par boîte de Pétri sont étalés en surface du milieu de cultures M. Les boites de Pétri sont alors incubées à 28°C. Elles sont observées après à partir du 3ème jour.

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

2.6.3. Ensemencement et incubation

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

2.6.4. Purification des souches

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

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

2.6.5. Conservation des souches

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

Les isolats obtenus des échantillons de sols agricole ont fait objet d'une étude macroscopique et microscopique en plus des tests catalase et oxydases (protocoles cités plus haut).

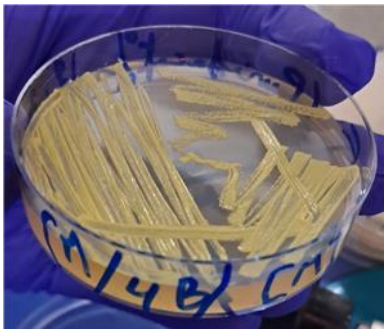
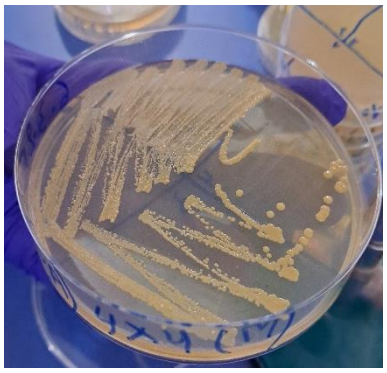
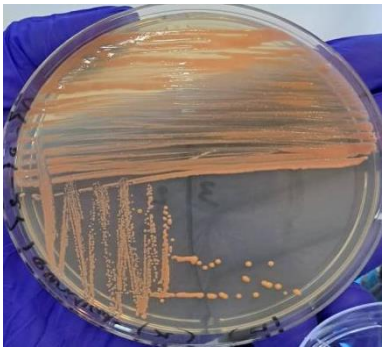
Résultats et discussion

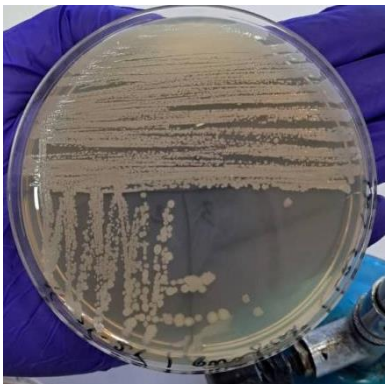
Dans ce qui suit, seront abordés les résultats et les discussions des deux parties de ce travail, la première partie qui est relatif à la revivication et purification des souches d'actinomycètes marines et la mise en évidence de leurs activités biologiques. La deuxième partie correspond à l'isolement des actinobactéries à partir de deux sols agricoles différents.

I. Résultats des activités biologiques des souches marines

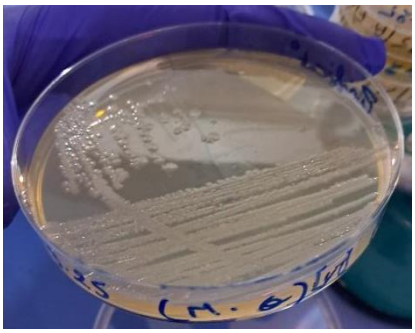
1. Ensemencement et purification des actinomycètes

Après ensemencement et purification sur milieu M solide, les isolats d'actinobactéries marines pré identifiées sont apparus au bout de 48 heures d'incubation à 30 °C. Les cultures présentent des colonies sèches, feutrées, crayeuses et une couleur uniforme dans chaque boite, pâle à crème, sans pigments diffusibles, suggère une pureté de culture, sans contamination visible. Ainsi qu'une apparence granuleuse et compacte, combinée à l'absence d'aspect visqueux **(figure 9)**.

<table>
<tr>
<td>
(4B)</td>
<td>
(4*4)</td>
</tr>
<tr>
<td>
(Z)</td>
<td>
(X)</td>
</tr>
</table>



(Lr)

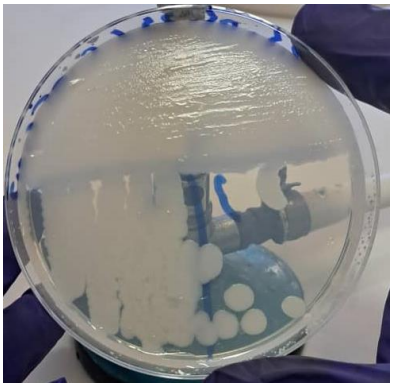


(O)

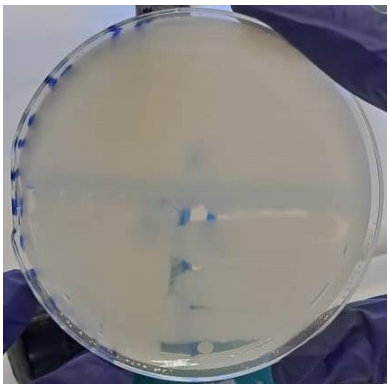
Figure 9: Actinomycètes ensemencé sur milieu M solide **(prise personnel, 2025).**

2. Ensemencement et purification des pathogènes

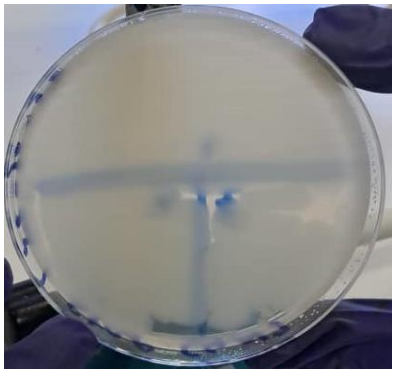
Après revivication des souches de référence dans le bouillon nutritif, nous avons réalisé un ensemencement et purification sur gélose nutritif. À l'issue de 18h à 24h d'incubation à 37 °C, les cultures sont apparues **(figure 10)**.



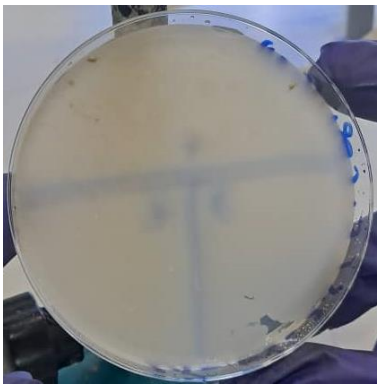
Candida albicans (ATCC1023)



Bacillus cereus (ATCC 10876)



Streptococcus pneumoniae (ATCC 49619)



Escherichia coli (ATCC 25922)



Staphylococcus aureus (ATCC 33862)

Figure 10: Bactéries pathogène ensemencé sur GN **(Prise personnel).**

3. Coloration de Gram

La coloration de Gram **(Annexe)** est utilisée dans cette étude pour déterminer le type de paroi actinobactérienne et des souches pathogènes. L'analyse microscopique de nos échantillons nous permet d'évaluer la forme et les caractéristiques des colonies ainsi que d'identifier le type de bactéries présentes, qu'elles soient Gram positives ou Gram négatives.

3.1. Coloration de Gram de quelques souches d'actinomycètes

Sont montrés dans la Figure ci-dessous :

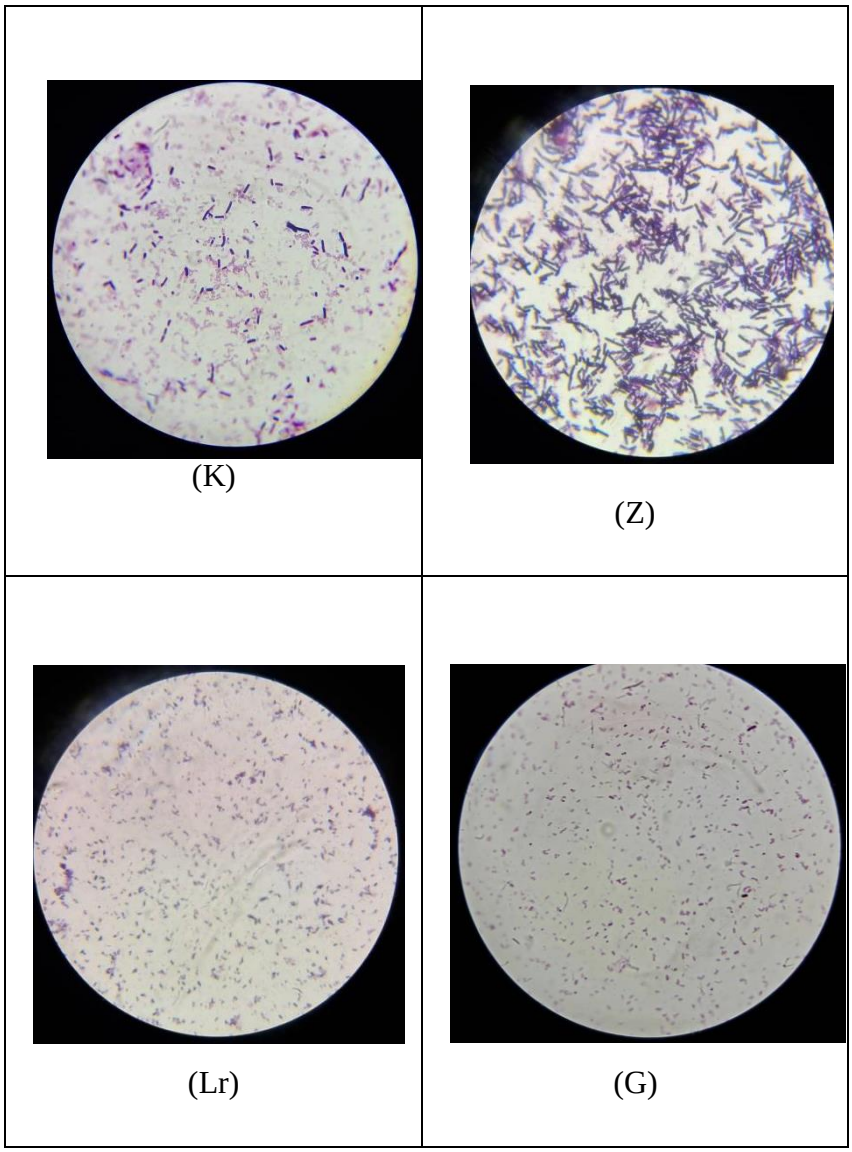
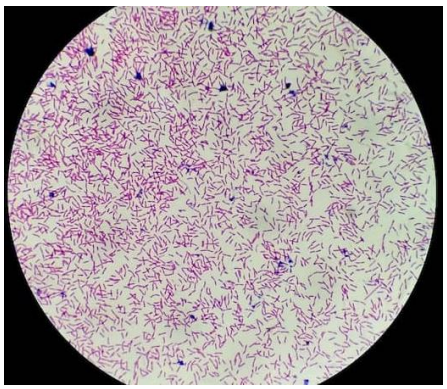


Figure 11: Aspect microscopique de quelques souches d'actinomycètes après coloration de Gram (Gx100) **(prise personnel).**

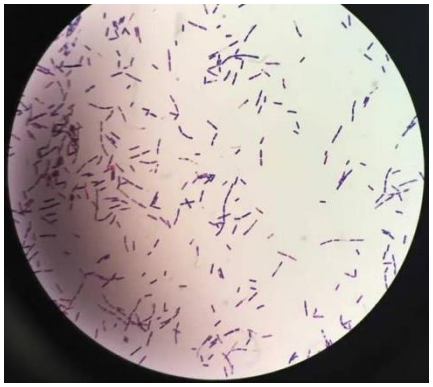
L'observation microscopique, de nos isolats après coloration de Gram **(Annexe)**, a révélé que ces isolats sont des bactéries Gram+, traduisant la présence d'une paroi cellulaire épaisse composée principalement de peptidoglycane et possédant une forme filamenteuse fines ramifiées et enchevêtrées. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par **Zerizer et al. (2006)** et **Djaballah (2010)**. **Boudjella (2007)** montre que l'observation microscopique des actinomycètes, et en particulier des Streptomycètes, révèle un aspect filamenteux avec la présence de spores isolées ou amas qui sont parfois des chaînes courtes ou longues ou des enchevêtrés non fragmentés, appartenant au groupe des bactéries à coloration Gram positive **(Kitouni, 2007)**.

3.2. Coloration de Gram des souches de référence

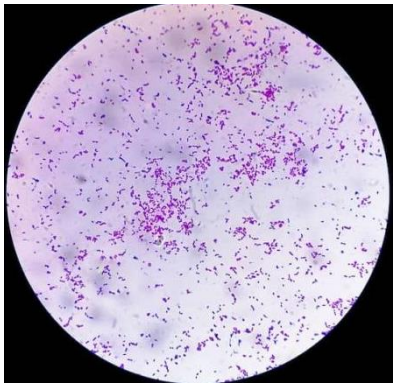
Sont montrés dans la Figure ci-dessous :



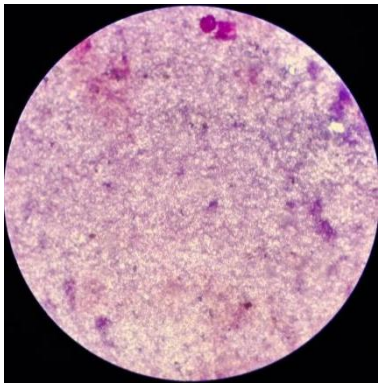
Escherichia coli



Bacillus cereus



Staphylococcus aureus



Streptococcus pneumoniae

Figure 12: Aspect microscopique des souches de référence après coloration de Gram (Gx100) **(prise personnel).**

L'examen microscopique suite à une coloration de Gram **(Annexe)** a facilité la différenciation des quatre souches analysées sur la base de leur morphologie et de leur type de paroi.

Streptococcus pneumoniae apparaît comme des coques Gram positives. *Staphylococcus aureus*, aussi un microorganisme Gram positif, se présente sous la forme de coques disposées en amas. On observe généralement le *Bacillus cereus* sous la forme de bacilles allongés et droits, qui sont Gram positifs et se présentent souvent isolés ou en courtes chaînes. Pour finir, *Escherichia coli* est une bactérie à Gram négative, des bacilles fins qui se teintent de rose. Ces résultats sont en accord avec ceux que l'on a obtenus par **(Parker et al., 2016)**, qui ont mentionné également la forme (bacilles ou coques), leur regroupement (paires, chaînes ou amas), la couleur obtenue au Gram (violette pour Gram-positif, rose pour Gram-négatif), et cité spécifiquement *B. cereus* et *E. coli*.

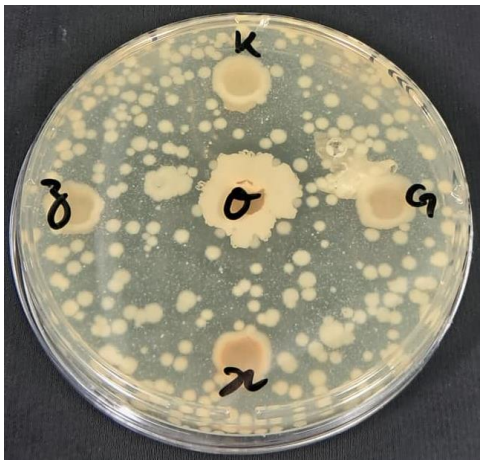
4. Activité antimicrobienne

L'étude menée visait à évaluer l'activité antimicrobienne de différentes souches d'actinomycètes marins isolées contre un panel de pathogènes cliniques, comprenant des bactéries à Gram positif (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*), à Gram négatif (*Escherichia coli*), ainsi qu'un champignon pathogène (*Candida albicans*). Les résultats obtenus ont révélé une variabilité importante de l'activité antimicrobienne selon les souches d'actinomycètes testées, très bonne activité antimicrobienne globale. Parmi celles-ci, la souche désignée "O" s'est distinguée par une activité significative et à large spectre, les souches K, X, G, Z, LR, IC montrent une activité modérée à faible, selon le pathogène. À l'inverse, certaines souches comme 4×4 ou 4B ont affiché une activité antimicrobienne très limitée voire absente contre plusieurs pathogènes, ce qui pourrait être attribué à une production réduite ou absente de composés bioactifs diffusibles **(voir tableau 13 et figure 13)**.

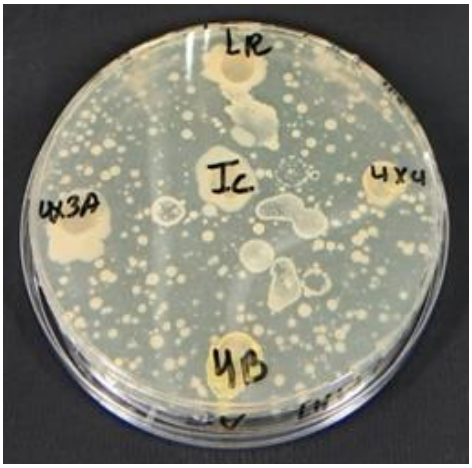
L'efficacité observée contre des souches pathogènes connues pour leur résistance aux antibiotiques conventionnels, comme *Staphylococcus aureus* ou *Candida albicans*, souligne l'intérêt des actinomycètes marins comme source prometteuse de nouvelles molécules antimicrobiennes. Ces résultats corroborent les données de la littérature de **(Imhof, Labes, & Wiese, 2011)** qui mettent en évidence le potentiel des écosystèmes marins comme réservoirs inexploités de microorganismes producteurs de métabolites secondaires originaux.

Tableau 13: Résultats d'activité antimicrobienne

	Actinomycètes									
	Diamètre d'inhibition (mm)									
Souches tests	**O**	**K**	**X**	**G**	**Z**	**LR**	**IC**	**4*4**	**4*3A**	**4B**
Escherichia coli	33	12	11	13	12	15	15	10	16	12
Bacillus cereus	32	23	12	16	14	11	17	0	14	12
Candida albicans	35	12	11	14	19	14	15	0	14	0
Streotococcus spp	15	13	0	11	14	10	12	15	14	11
Staphylococcus aureus	20	13	12	19	12	11	14	0	12	11



Staphylococcus aureus



E.coli

Figure 13: Image représentative des zones d'inhibition **(prise personnel).**

5. La mise en évidence des activités enzymatiques

5.1. Catalase

5.1.1. Chez les actinomycètes

Le test de la catalase a montré une activité variée chez les actinomycètes isolés, allant de forte à faible, alors qu'une souche (4B) n'a montré aucune activité catalasique. Cela reflète la diversité métabolique de ces micro-organismes **(voir la figure 13)**.

La capacité des actinomycètes à se défendre contre le stress induit par l'oxygène en dégradant le peroxyde d'hydrogène ($H2O_2$) est liée à leur activité catalytique. L'intensité de cette enzyme varie en fonction de l'espèce, du milieu d'origine et des conditions de culture, et elle est typiquement retrouvée chez les actinomycètes aérobies. Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Balachandran et al. (2012)** qui ont observé une forte activité catalasique chez certaines souches marines de Streptomyces, alors que d'autres présentaient une activité modérée ou absente. **Solanki et al. (2008)** ont également mentionné que l'absence d'activité catalasique chez certaines souches pourrait indiquer une adaptation à des niches pauvres en oxygène ou une stratégie métabolique différente.

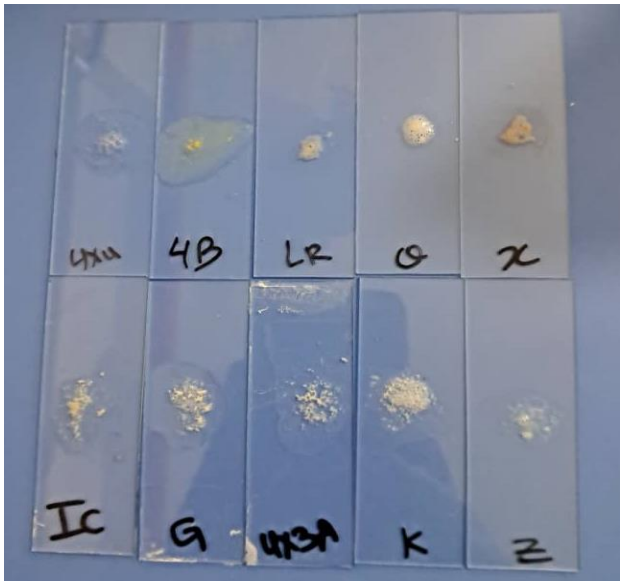


Figure14: image illustrative des résultats de l'activité catalasique **(prise personnel).**

5.1.2. Chez les souches de références

Les résultats du test catalase sur les agents pathogènes s'illustrent dans le tableau suivant :

Tableau 14:Résultats de l'activité catalasique

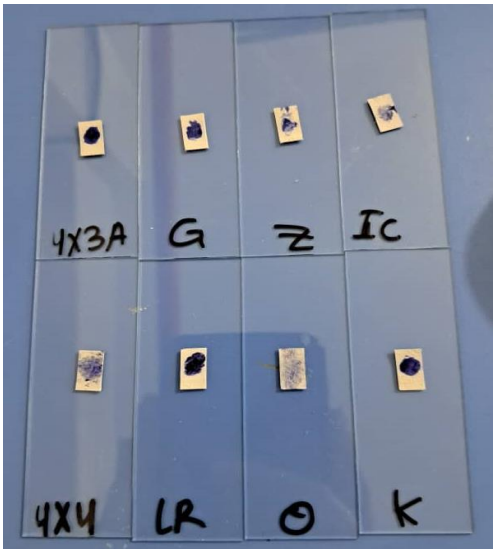
Bactéries pathogènes	***E.coli***	***B.cereus***	***S.aureus***	***S.pneumoniae***	***C.albicans***
Catalase	+	+	+	-	+

Bacillus cereus, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans* ont tous produit l'enzyme catalase, qui décompose le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau, selon les résultats du test de catalase effectué sur les souches de référence. Cette enzyme, que l'on trouve généralement chez les micro-organismes aérobiologiques facultatifs ou anaérobies, leur permet de se défendre contre le stress induit par l'oxygène. Cependant, les espèces de *Streptococcus*, qui ne possèdent pas l'enzyme catalase, un critère d'identification traditionnel, ont produit un résultat négatif. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature **(Madigan et al., 2018 ; Ryan & Ray, 2004 ; Wysong et al., 1998 ; Imlay, 2013)**.

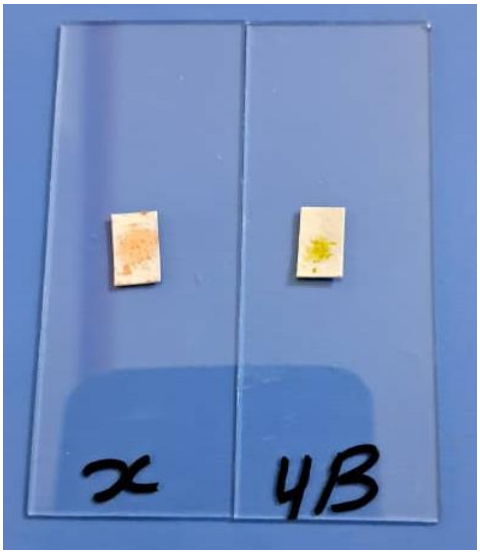
5.2. Oxydase

5.2.1. Chez les actinomycètes

La **figure 15** a mis en évidence que la présence de l'enzyme cytochrome c oxydase a été démontrée par l'activité positive (forte à faible) du test chez la majorité des actinomycètes testés, ce qui reflète leur métabolisme aérobie actif et leur capacité à utiliser l'oxygène comme accepteur final d'électrons. L'absence de réaction chez les souches 4B et X peut indiquer une variation métabolique inter-souches, ou un métabolisme respiratoire alternatif. D'après ces résultats et selon **Barka et al., 2016** on peut confirmer que les actinomycètes, notamment marins, possèdent souvent une activité oxydasique variable selon l'espèce ou l'environnement d'origine.



Oxydase+



Oxydase-

Figure 15: photographie illustrative de résultat du test oxydase **(Prise personnel).**

5.2.2. Chez les souches de références

Selon le tableau, *Bacillus cereus* est la seule souche de référence à avoir montré une activité oxydasique positive. En revanche, le test de l'oxydase a donné des résultats négatifs pour *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Streptococcus pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.

Tableau 15: Résultats d'oxydase chez les souches de référence.

Bactéries pathogènes	***E.coli***	***B.cereus***	***S.aureus***	***S.spp***	***C.albicans***
Oxydase	-	+	-	-	-

L'activité oxydasique positive de *Bacillus cereus* est cohérente avec son métabolisme aérobie ou anaérobie facultatif, où cette enzyme peut être exprimée **(Madigan et al., 2018)**. À l'inverse, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et les espèces de *Streptococcus pneumoniae* sont généralement considérés comme négatifs à l'oxydase parce qu'ils utilisent des chaînes respiratoires appauvries en cytochrome c oxydase **(Tortora et al., 2019)**. Le test de l'oxydase n'est pas approprié pour *Candida albicans* car c'est un eucaryote dont le système respiratoire est mitochondrial et non membranaire comme chez les bactéries, et il donne généralement des résultats négatifs ou incompréhensibles **(Calderone & Clancy, 2012)**.

En fonction de leur métabolisme respiratoire, ces résultats valident l'efficacité du test de l'oxydase comme outil d'identification rapide des bactéries.

5.3. Recherche de protéines

5.3.1. Caséinase

L'activité caséinase, qui reflète la capacité des microorganismes à synthétiser des protéases extracellulaires. La formation d'un halo clair autour des colonies indique la dégradation de la caséine par les protéases produites. **Le tableau 16** et **figure 16** illustrent que sur les 10 souches testées, neuf ont montré une activité casiénase forte, modérée à faible. Une seule souche 4*4 n'a présenté aucune activité décelable dans les mêmes conditions expérimentales.

La production de caséinase par les actinomycètes marins indique leur potentiel biotechnologique, notamment pour les industries alimentaires, les détergents, ou encore les formulations pharmaceutiques **(Vijayabharathi et al., 2012 ; Bhosale et al., 2015)**.

La variabilité de l'activité enzymatique entre les isolats pourrait être liée à des différences dans la régulation génétique de la production enzymatique, ou à des variations dans la physiologie cellulaire induites par les conditions de culture **(Singh et al., 2016)**. Cette diversité justifie la nécessité d'une sélection ciblée des souches les plus performantes pour des applications spécifiques.

Tableau 16: Interprétation des résultats du test caséinase.

Actinomycètes	**K**	**O**	**X**	**G**	**Z**	**Ic**	**Lr**	**4B**	**4*4**	**4*3A**
Caséinase	+++	+	+	+++	+++	++	+++	++	-	+++

(Z)



Caséinase +++

Figure 16: photographie des résultats du test caséinase **(prise personnel)**.

5.3.2. Gélatinase

La gélatinase est une enzyme extracellulaire, capable d'hydrolyser la gélatine (une protéine dérivée du collagène). Les résultats du **tableau 17** et **figure 17** indiquent que 9 des 10 souches d'actinobactéries marins testées possèdent une activité gélatinase extracellulaire manifeste, traduite par la liquéfaction du milieu après une heure de réfrigération. Cela suggère une forte capacité protéolytique des isolats marins testés. Ce qui pourrait être lié à leur adaptation à des environnements riches en matière organique protéique d'origine animale, tel que les débris de faune marine. Ces enzymes, souvent présentent un intérêt industriel considérable dans divers secteurs **(Subramani & Aalbersberg, 2012 ; Ventosa et al., 2015)**. Par contre la souche 4b ne présente aucune activité le milieu étant resté solide **(figure)**, elle pourrait être soit dépourvue du gène codant la gélatinase, soit incapable de l'exprimer dans les conditions données.

Ces observations rejoignent les travaux de **Singh et al. (2016)** qui soulignent le potentiel des actinomycètes dans la production d'enzymes extracellulaires variées, dont les protéases. De même, **Bhosale et al. (2015)** ont rapporté que les enzymes produites par ces microorganismes présentent souvent une meilleure stabilité que celles d'origine bactérienne classique.

Tableau 17: Interprétation des résultats du test gélatinase.

Actinomycètes	K	O	X	Z	G	Ic	Lr	4B	4*4	4*3A
Gélatinase	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+



Gélatinase+

Figure 17: photographie représentant les résultats du test gélatinase **(prise personnel).**

5.4. Cellulase

Ce test permet d'évaluer la capacité des souches actinomycètes marins à produire la CMCase, enzyme capable d'hydrolyser la carboxyméthylcellulose (CMC).

Le **tableau 18** et **figure 18** montrent que 6 souches sur 10 montre une activité cellulolytique positive, traduite par la formation de halos clairs orangé sur un fond rouge. Ces isolats sont donc capables de produire une CMCase extracellulaire, selon **(Ventosa et al., 2015)** les actinobactéries marins, du fait de leur adaptation à des milieux pauvres en nutriments, développent souvent des systèmes enzymatiques puissants et stables dans des conditions extrêmes. Ce qui va dans le même sens que les résultats des travaux de **(Sadhu & Maiti, 2013)** expliquant que la capacité de certaines souches d'actinomycètes marins à hydrolyser la cellulose les rend prometteuses bon pour des applications biotechnologiques, notamment dans la valorisation de la biomasse lignocellulosique, la production de bioéthanol, ou encore dans l'industrie textile et du papier. En revanche, les souches O, X, K et Z n'ont présenté aucun halo, ce qui suggère une absence ou une faible expression de l'enzyme dans les conditions testées.

Tableau 18: Interprétation des résultats de l'activité cellulasique.

Actinomycètes	**K**	**O**	**X**	**G**	**Z**	**Ic**	**Lr**	**4*4**	**4*3A**	**4B**
Cellulase	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+

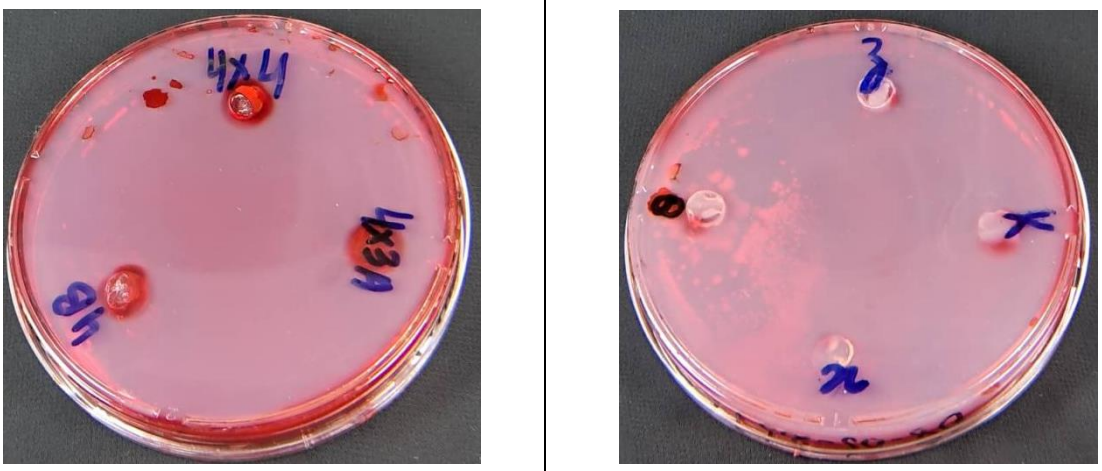


Figure 18: photographie représentant les résultats du test cellulase **(prise personnel).**

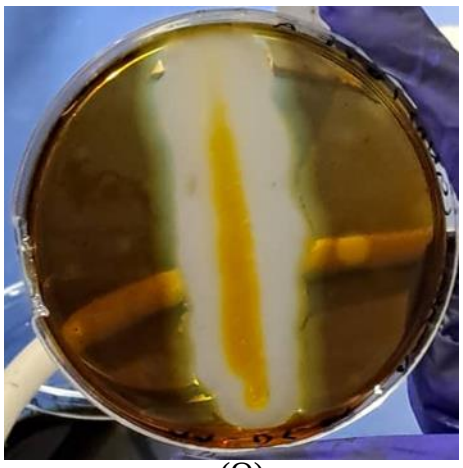
5.5. Amylase

Cette activité a été réalisée afin d'évaluer la capacité des souches à produire de l'amylase extracellulaire, une enzyme capable d'hydrolyser l'amidon, traduite par la formation de zones claires autour des colonies après application de la solution de lugol.

Les résultats qualitatifs sont présentés dans le tableau et figure ci-dessous :

Tableau 19: Résultats de l'activité amylasique des souches.

Actinomycètes	**O**	**X**	**G**	**K**	**Z**	**Ic**	**Lr**	**4B**	**4*4**	**4*3A**
Amylase	+++	++	++	++	++	+	++	++	+++	+++



(O)

Amylase +++

Figure19: photographie représentant le résultat d'hydrolyser l'amidon **(prise personnel).**

La plupart des souches testées ont présenté une activité amylasique modérée à forte, qui indique une production importante d'amylase extracellulaire. Par contre, la souche Ic a présenté une activité faible, ce qui pourrait refléter une capacité enzymatique limitée ou une expression réduite de l'enzyme dans les conditions expérimentales utilisées.

L'activité amylasique importante observée chez la plupart des souches d'actinobactéries marins testées met en évidence leur potentiel en tant que productrices d'enzymes hydrolytiques d'intérêt industriel, et des applications biotechnologiques, notamment dans la transformation des polysaccharides, la fabrication de sirops sucrés à base d'amidon ou encore la production de biocarburants **(Souza et al., 2010)**. Du fait de leur aptitude à s'adapter à des milieux hostiles les actinomycètes marins sont souvent capables de produire des enzymes stables et actives dans des environnements non conventionnels **(Ventosa et al., 2015)**.

5.6. Pouvoir hémolytique

L'évaluation du pouvoir hémolytique vise à détecter la capacité des souches étudiées à produire des substances cytotoxiques peuvent lyser les globules rouges. L'activité hémolytique est mise en évidence par la formation de zones claires (hémolyse complète, β), verdâtres (hémolyse partielle, α), ou l'absence de halo (γ) autour des colonies.

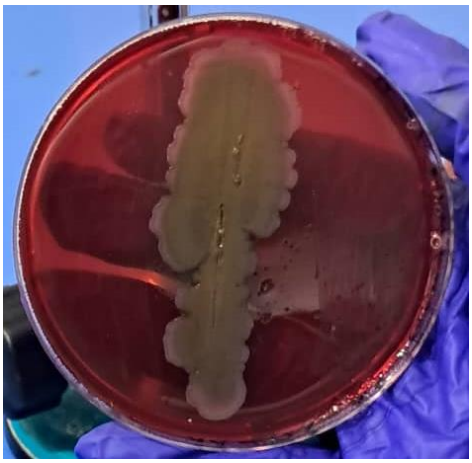
Selon le **tableau 20** et **figure 20** on observe que parmi les 10 souches on a 05 qui présentent une activité hémolytique positive, ce qui indique leur capacité à produire des composés susceptibles de lyser les hématies. Ces souches sont donc capables de sécréter des

métabolites cytotoxiques dans les conditions expérimentales appliquées, ce qui indique leur potentiel dans la production de molécules bioactives. À l'inverse, les souches K, Z, X, 4b et Ic ne montrent aucune activité hémolytique visible, suggérant l'absence de la production de molécules lytique dans ces conditions.

Ces composés sont d'un intérêt très important dans les domaines pharmaceutique et biomédical, en particulier pour le développement de nouvelles thérapies antimicrobiennes ou antitumorales **(Subramani & Aalbersberg, 2012)**. La diversité observée entre les isolats confirme également l'intérêt de mener des évaluations individuelles, afin d'identifier les souches les plus prometteuses pour une valorisation ciblée, comme proposé par **Ramesh & Mathivanan (2009)**.

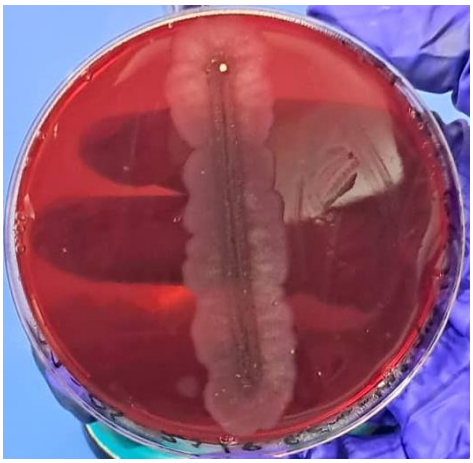
Tableau 20: Résultats d'hémolyse.

Actinomycètes	**O**	**X**	**Z**	**G**	**K**	**Ic**	**Lr**	**4*4**	**4*3A**	**4B**
Hémolyse	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-



4*4

(hémolyse partielle, α)



O

(hémolyse complète, β)

Figure20: Pouvoir hémolytique des actinomycètes étudiés **(prise personnel).**

5.7. pectinase

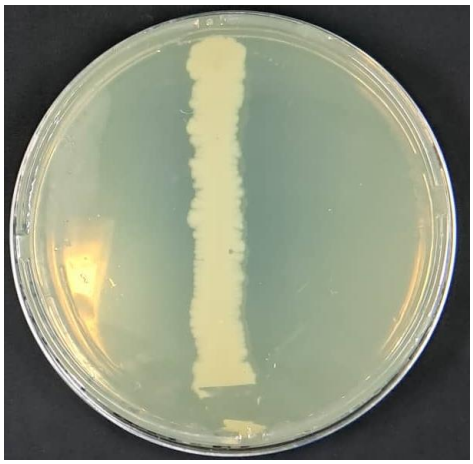
La pectinase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse des pectines, des polysaccharides contenus dans les parois cellulaires des végétaux. L'apparition d'un halo clair autour des colonies après révélation avec l'acétate de cuivre indique une activité pectinolytique **(Camille, 2007)**.

Cinq souches parmi les dix actinomycètes étudiées ont montré une activité pectinolytique positive, la présence de zones claires autour des colonies. Cela indique qu'elles sécrètent une pectinase capable de dégrader la pectine du milieu. Par contre, les souches X, K, Z, 4b et Ic n'ont pas formé de halo, ce qui montre l'absence ou une très faible expression de cette enzyme **(tableau 21 et figure 21)**.

Les pectinases, sont très recherchées dans des secteurs comme l'industrie agroalimentaire (clarification des jus, extraction d'arômes), le traitement des déchets végétaux, ou encore la fabrication du textile et du papier **(Kashyap et al., 2001)**. Les actinobactéries marines sont réputées pour leur capacité à produire des enzymes résistantes à des conditions extrêmes telles que la salinité, le pH ou la température, ce qui représente un avantage considérable comparé aux microorganismes d'origine terrestre **(Ventosa et al., 2015)**.

Tableau 21: Evaluation de l'activité pectinolytique.

Actinomycètes	**K**	**O**	**X**	**G**	**Z**	**4*4**	**4*3A**	**4B**	**Ic**	**Lr**
Pectinase	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+



4*3A
Pectinase+

Figure 21: photographie illustrant le résultat d'hydrolyse des pectines **(prise personnel).**

5.8. Recherche des lipases

5.8.1. Les estérases (hydrolyser le Tween 80)

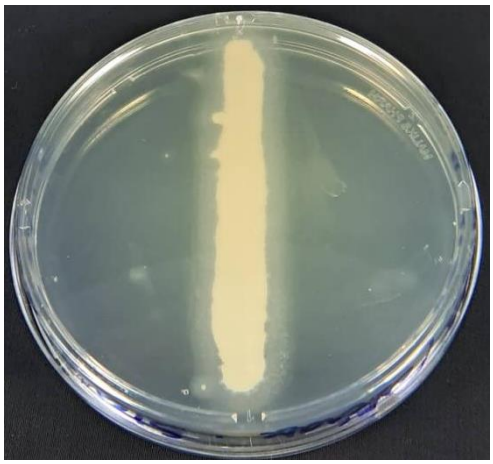
Les estérases sont des enzymes hydrolitiques qui catalysent la rupture des liaisons ester. L'apparition d'un halo opaque autour des colonies révèle la présence d'une estérase **(Camille, 2007)**.

Parmi les 10 souches testées, la souche 4*4 montre une activité estérasique très importante, traduisant une forte production d'enzymes estérases. Les souches K, Z, et G présentent également une activité marquée. D'un autre côté la souche 4b ne montre aucune activité (-), indiquant une absence d'hydrolyse des esters. Les autres souches présentent une activité plus modérée, révélant une production faible à intermédiaire d'estérases **(tableau 22 et figure 22)**.

Les estérases produites par les actinomycètes marins jouent un rôle important dans l'hydrolyse des esters en acides gras et alcools, processus central dans la dégradation de diverses substances organiques **(Kiran et al., 2010)**. Ce qui explique que les souches qui ont présenté une forte activité estérasique sont particulièrement intéressantes pour des applications industrielles, notamment dans les domaines pharmaceutique, biodétérgents ou encore dans la biorémédiation **(Bornscheuer, 2002 ; Joseph et al., 2008)**. Selon **(Ramesh & Mathivanan, 2009)** nous interprétons que la différence observée entre les souches pourrait être due à des différences d'expression génique, à l'environnement d'origine ou encore à l'état physiologique des bactéries au moment de l'essai.

Tableau 22: Résultats du test des estérases.

Actinomycètes	**K**	**X**	**O**	**Z**	**G**	**4B**	**4*4**	**4*3A**	**Ic**	**Lr**
Estérases	++	+	+	++	++	-	+++	+	+	+



(k)
Estérase++

Figure22: photographie présentant un résultat positif et négatif du test estérase **(prise personnel).**

5.8.2. Hydrolyse de la lécithine et les lipoprotéines

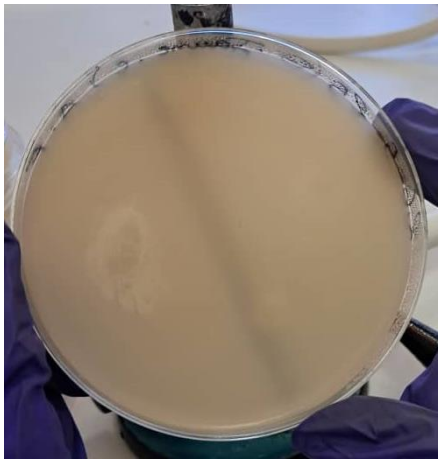
Certaines bactéries marines, en particulier les actinomycètes, produisent des enzymes extracellulaires comme la lécithinase, la lipase et la lipoprotéinase, susceptible d'hydrolyser des composants complexes des membranes.

D'après le tableau et figure, il est constaté que parmi les souches testées, cinq souches ont montré une activité enzymatique sur le milieu au jaune d'œuf, ce qui exprime la production potentielle de lécithinase, de lipase et/ou de lipoprotéinase. Cependant, les autres souches n'ont révélé aucune activité visible **(tableau 23)**.

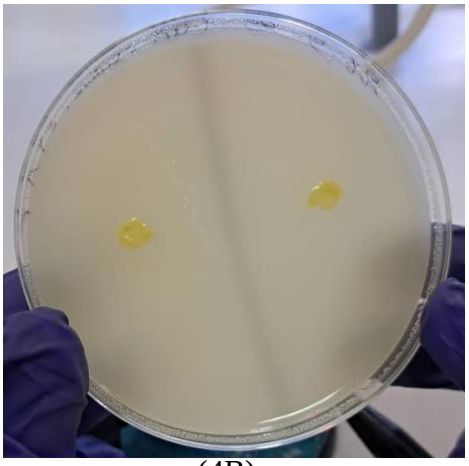
La sécrétion d'enzymes lipolytiques comme la lécithinase ou la lipoprotéinase par des actinomycètes marins indique leur capacité à dégrader des composants complexes des membranes, tels que les phospholipides ou les lipoprotéines. Ce type d'activité est particulièrement important en pathogénicité et aussi en biotechnologie, surtout dans la formulation de détergents, la biodégradation des graisses ou la libération ciblée de principes actifs **(Gupta et al., 2004 ; Jaeger & Eggert, 2002)**. Ainsi, le profil enzymatique observé dans cette étude pourrait constituer un critère pertinent pour la sélection de souches en vue d'applications industrielles ou thérapeutiques nécessitant une forte activité lipolytique ou phospholipidique.

Tableau 23: Résultats d'hydrolyse de la lécithine et les lipoprotéines.

Actinomycètes	**O**	**X**	**K**	**G**	**Z**	**4*4**	**4*3A**	**4B**	**Ic**	**Lr**
Lécithinase et lipoprotéinase	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+



(O)
Lécithinase +



(4B)
Lécithinase -

Figure23: Photographie démontrant le résultat d'hydrolyse de la lécithine et les lipoprotéines **(prise personnel).**

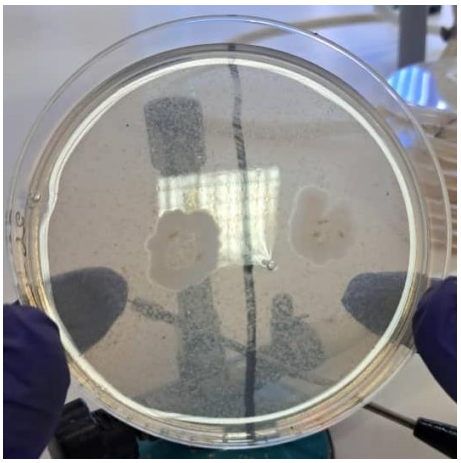
5.9. Activité chitinasique

Le test chitinasique est évalué pour détecter la capacité des isolats d'actinomycètes marins à produire de la chitinase, un polymère abondant dans les parois des champignons et les exosquelettes des arthropodes. La présence de chitinase se traduit par l'observation des halos clairs autour des colonies.

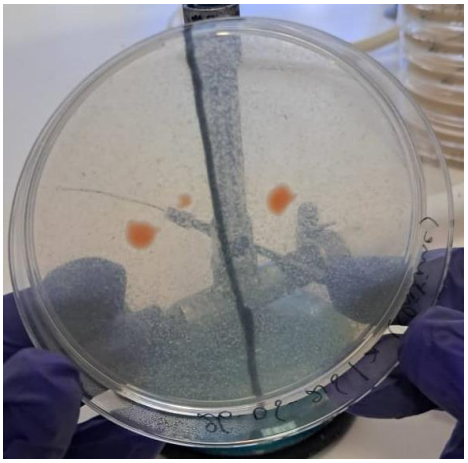
Le tableau 24 et **figure 24** montrent les résultats de cette activité :

Tableau 24: Résultats d'activité chitinasique.

Actinomycètes	**K**	**X**	**Z**	**O**	**G**	**Lr**	**Ic**	**4B**	**4*4**	**4*3A**
Chitinase	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+



(O) Chitinase+



(X) Chitinase-

Figure24: Imagerie illustratif de résultat de l'activité chitinasique **(prise personnel).**

L'activité chitinasique détectée chez certaines souches d'actinobactéries marins peut être interprétée comme une adaptation fonctionnelle à un environnement riche en chitine, un biopolymère majeur dans les écosystèmes marins. Cette capacité enzymatique ne reflète donc pas seulement un potentiel industriel, mais aussi un rôle écologique majeur dans le recyclage de la matière organique dans les sédiments marins **(Gooday, 1990)**. La non-expression de l'activité chez certaines souches pourrait indiquer d'une régulation génique sensible à des signaux environnementaux absents en laboratoire. Cela suggère que l'expression des chitinases pourrait être conditionnelle, activée uniquement en présence d'autres micro-organismes, étayant l'études avancée par **(C. Kullnig et al., 1999)** sur des champignons comme *Trichoderma harzianum* montrent que la production de certaines chitinases est déclenchée avant ou après le contact physique avec d'autres champignons pathogènes, via des signaux libérés lors de l'interaction. Ou de chitine native difficilement dégradable selon l'étude de **(Brevoy et al., 2023)** sur un bon nombre de bactéries chitinolytiques, comme *Serratia marcescens*, *Vibrio spp* et *Streptomyces*, qui n'expriment les chitinases que lorsqu'elles détectent le substrat chitine ou ses fragments.

6. L'activité anti-biofilm

D'après **le tableau 25** et l'analyse comparative de la Do moyenne des actinomycètes avec le contrôle positif (BHIB+ souche de référence) indiquent une forte activité anti-biofilm pour O, X et G qui ont présenté la plus faible Do moyenne par rapport à celle du contrôle positif qui est égal à 0.590. Ces bactéries ont probablement inhibé la formation du biofilm en bloquant l'adhésion initiale des souches pathogènes ou en perturbant la matrice extracellulaire. Ce type d'activité est fréquemment lié à la présence de composés comme les phénazines, l'actinomycine, ou d'autres métabolites secondaires ou leurs effets connus pour cibler les biofilms bactériens **(Singh et al., 2017 ; Berdy, 2005)**.

Les actinomycètes K, Z, Lr et Ic ont montré une activité intermédiaire. Même si leur effet soit moins prononcé, ils révélant une certaine efficacité anti-biofilm partielle, qui pourrait être optimisée. Ces résultats indiquant soit une concentration plus faible des métabolites actifs, soit une action ciblant partiellement certaines étapes du cycle du biofilm **(Donlan, 2002)**.

Enfin, les souches 4*4 et 4B ont montré les activités les plus faibles, avec des densités optiques proches à celle de contrôle positif, indiquant peu ou pas d'inhibition. Cela peut-être justifier par une production limitée de molécules bioactives, ou par la présence de métabolites inefficaces contre les souches pathogènes testées.

Selon **Subramani & Aalbersberg, 2012 et Barka et al., 2016** la variabilité observée entre les souches démontre l'idée que l'activité anti-biofilm dépend fortement du profil métabolique de chaque souche actinomycète. Certaines bactéries peuvent inclure des molécules spécifiques aux biofilms, tandis que d'autres produisent essentiellement des antibiotiques classiques peu actifs sur ces structures.

Tableau 25: Résultats d'activité anti-biofilm.

	Actinomycètes										
	Densité optique										
Bactérie pathogène	**O**	**X**	**K**	**G**	**Z**	**Lr**	**Ic**	**4B**	**4*4**	**4*3A**	**Bhib**
Staphylo-coccus aureus	0,223	0,185	0,168	0,167	0,176	0,414	0,207	0,216	0,225	0,136	0,216
Candida albicans	0,162	0,182	0,196	0,128	0,189	0,241	0,300	0,255	0,235	0,131	0,197
Strepto-coccus spp	0,148	0,227	0,212	0,138	0,177	0,281	0,190	0,413	0,734	0,145	0,219
Escheri-chia coli	0,224	0,263	0,607	0,212	0,307	0,261	0,568	0,677	0,795	0,191	1,393
Bacillus cereus	0,177	0,171	0,222	0,174	0,192	0,199	0,266	0,209	0,199	0,216	0,927
DO moyenne	0.186	0,165	0,281	0,163	0,208	0,279	0,306	0,354	0,437	0,163	0,590

7. Résultat d'extraction des molécules bioactives issus des souches étudiées

Sur les 10 souches d'actinomycètes marins qui ont été testées, quatre ont montré une activité antimicrobienne très élevée (O, G, IC, 4*3A) qui s'est manifestée par de larges zones d'inhibition contre plusieurs agents pathogènes de référence. Les métabolites bioactifs produits par ces quatre souches ont été choisis pour être extraits. Ces composés peuvent avoir d'autres activités biologiques intéressantes en plus de leur effet antimicrobien. Par conséquent, les matériaux extraits ont été soumis à des essais anti-inflammatoires et antioxydants afin de

déterminer leurs propriétés pharmacologiques potentielles **(Subramani & Aalbersberg, 2012 ; Rateb & Ebel, 2011)**.

8. Activité antimicrobienne avec le surnageant des souches : O, G, IC, 4*3A

Cette activité est révélée dans le but de mesurer la capacité de production de composés extracellulaires des souches étudiées, les surnageants de culture ont été testés contre les bactéries de référence. Les résultats de cette activité sont démontrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 26: Présentation des profils d'inhibition antimicrobienne par les surnageants.

	Actinomycètes			
	Diamètre d'inhibition (mm)			
Souches tests	**O**	**G**	**Ic**	**4*3A**
E.coli	33	12	11	13
B.cereus	32	23	12	16
Candida albicans	35	12	11	14
Streptococcus spp	15	13	0	11
Staphylococcus aureus	20	13	12	19

Les surnageants des souches d'actinomycètes marins montrent une activité antimicrobienne variable selon les souches pathogènes ciblés. Les souches 4×3A et O présentent les zones d'inhibition les plus larges, surtout contre *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* et *Candida albicans,* ce qui indique une production efficace de métabolites extracellulaires actifs. À l'inverse, les souches G et IC montre une activité plus restreinte, révélant soit une production plus faible de composés antimicrobiens, ou une activité plus spécifique. L'absence de zones d'inhibition dans certains cas due à une concentration insuffisante ou à la non-sensibilité des pathogènes concernés.

L'activité antimicrobienne observée avec les cellules entières d'actinobactéries marins s'est révélée nettement plus élevée par rapport celle obtenue avec leurs surnageants. Cette différence s'explique par un ensemble de facteurs biologiques et biochimiques :
Premièrement, l'effet synergique des cellules entières permet des interactions directes avec les souches pathogènes, stimulant la production in situ de métabolites bioactifs **(Traxler et al., 2013)**. De plus, quelques substances antimicrobiennes sont intracellulaires ou liées à des structures cellulaires, ce qui réduit leur présence dans le surnageant (**Subramani & Aalbersberg, 2012 ; Barka et al., 2016)**. La stabilité des composés bioactifs constitue également un facteur clé : quelques métabolites peuvent être sensibles à la dégradation durant la préparation du surnageant, réduisant donc leur efficacité **(Bérdy, 2005)**. Enfin, la concentration des composés dans le surnageant peut être faible pour atteindre le seuil d'inhibition, tandis que la production continue dans les cellules intactes **(Solecka et al., 2012)**.

9. Evaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits d'actinomycètes a été réalisée à l'aide du test DPPH, en comparant leurs pourcentages d'inhibition à celui de l'acide ascorbique, utilisé comme référence standard. Les composés antioxydants réduisent le radicale DPPH en un composé de couleur jaune **(figure 25).**

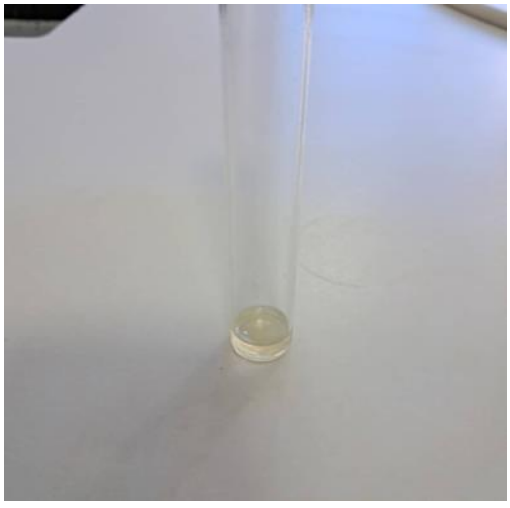


Figure 13: Image illustrative d'une perte de couleur violette du DPPH **(prise personnel).**

Les résultats du **tableau 27** et **figure 26** montrent que les extraits G et O présentent une activité antioxydante très élevée, avec des pourcentages d'inhibition respectifs, très proches de celle de l'acide ascorbique (87,84 %). Ces deux extraits se distinguent ainsi comme les plus

efficaces parmi les échantillons testés, suggérant un fort potentiel en tant qu'antioxydants naturels. L'extrait Ic affiche une activité modérée à élever, indiquant également une capacité notable à neutraliser les radicaux libres, bien que moins marquée que G et O. En revanche, l'extrait 4*3A présente la plus faible activité antioxydante de l'ensemble, ce qui reste néanmoins significatif.

Les actinomycètes marins sont bien connus pour leur forte activité antioxydante, due à leur capacité à produire des métabolites secondaires puissants en réponse à leur environnement marin extrême, surtout en profondeur (salinité, pression, UV, etc). Ce qui est en accord avec les travaux de **Loganathan K et al., 2013** dont il est bien établi que les actinobactéries marines synthétisent des métabolites secondaires capables de piéger les radicaux libres, confirmant ainsi leur forte activité antioxydante.

Tableau 27: Évaluation de l'activité antioxydante des extraits.

Actinomycètes	**Absorbance à 517nm**	**% D'inhibition**
O	0,123	86,99
G	0,116	87,73
IC	0,175	81,50
4*3A	0,193	79,59
Acide ascorbique	0,115	87,84
Solution DPPH	0,946	/

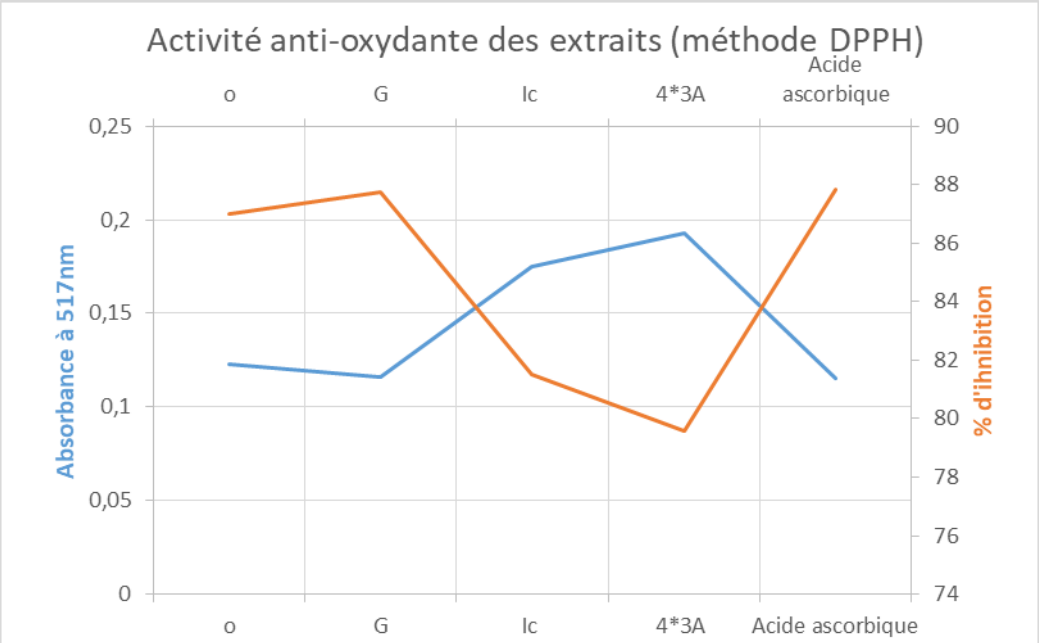


Figure 14: Activité antioxydante d'extraits d'actinomycètes : Absorbance vs % d'inhibition.

10. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Cette activité est mise en évidence pour vérifier si les extraits protégeant les globules rouges contre la chaleur. L'absorbance du surnageant est mesurée à 560nm (longueur d'onde où l'hémoglobine absorbe la lumière), plus l'absorbance est élevée plus il y'a eu d'éclatement moins il y'a eu de protection des globules rouges donc une faible activité anti-inflammatoire.

D'après les résultats observés dans le **tableau 28** et **figure 27** il apparait clairement que le diclofénac (Témoin+) affiche la meilleure inhibition, comme attendu. Les extraits IC, O, et 4*3A présentent des activités anti-inflammatoires très intéressantes, avec une inhibition proche de celle du diclofénac. G est moins actif, avec une efficacité réduite. Tous les extraits surpassent nettement le témoin négatif (réaction maximale), indiquant une vraie action anti-inflammatoire. Ceci peut s'expliqué par le fait que, les actinomycètes des sédiments marins proviennent d'un environnement extrême et compétitif, qui stimule la production de métabolites secondaires bioactifs ce qui corrobore avec les travaux de **(Grace Choi et al., 2020)** affirmant que les actinomycètes marins, en particulier ceux isolés des sédiments, sont largement reconnus comme une source précieuse de composés bioactifs, présentant fréquemment une forte activité anti-inflammatoire.

Tableau 28: Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits.

Actinomycètes	Absorbance à 560nm	% D'ihnibition
O	0,627	76,06
G	0,893	65,91
IC	0,59	77,48
4*3A	0,64	75,57
Témoin+	0,35	86,64
Contrôle-	2,62	/

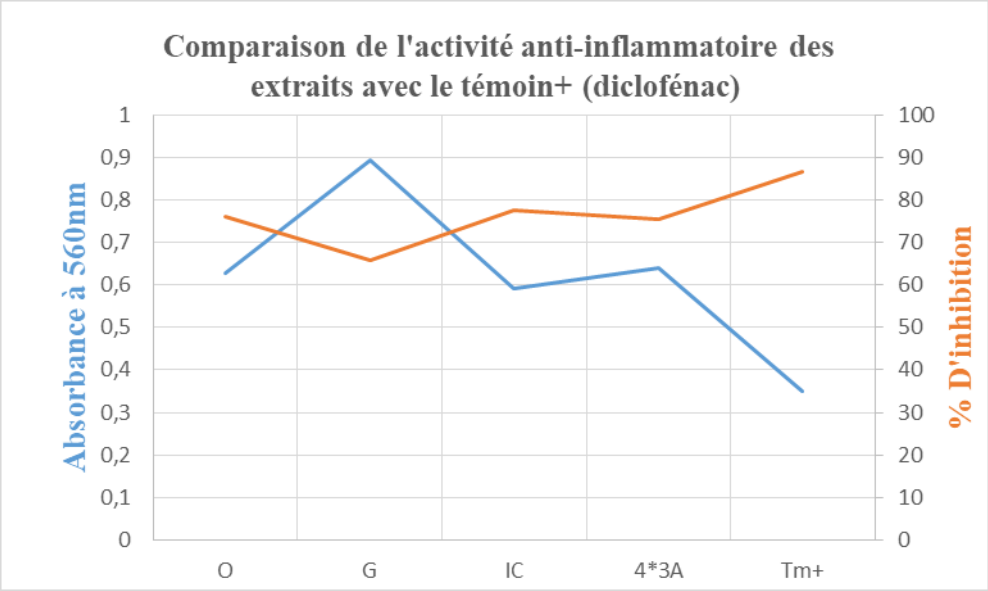


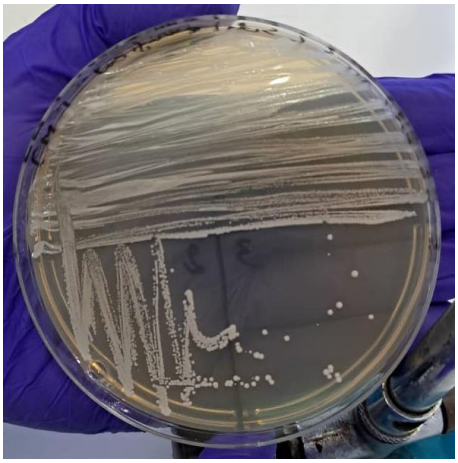
Figure 15: Activité anti-inflammatoire d'extraits d'actinomycètes : Absorbance vs % d'inhibition.

II. Echantillonnage d'actinomycètes des sols agricoles

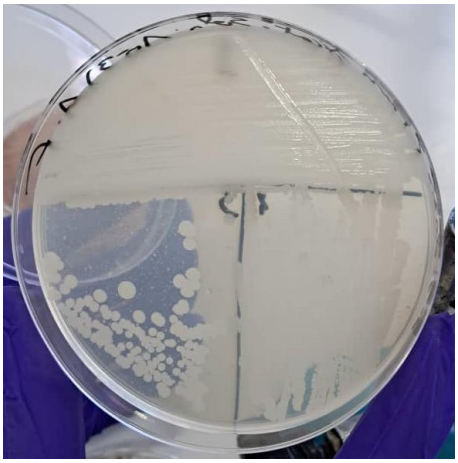
1. Isolement des actinomycètes à partir de deux sols agricoles

Deux échantillons de sol agricole provenant de deux zones différentes ont été examinés afin d'identifier des actinomycètes. A partir de ces échantillons, un total de sept isolats présentant les caractères morphologiques typiques des actinomycètes a été obtenu après 48h à

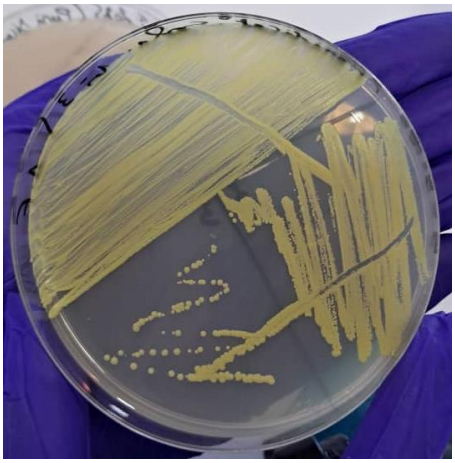
72h d'incubation. Selon les critères traditionnels d'identification des actinomycètes, ces isolats ont été choisis en fonction de leurs caractéristiques coloniales (pulvérulence, variation de couleur et croissance lente) dans le milieu M **(voir figure 28 et 29)**.



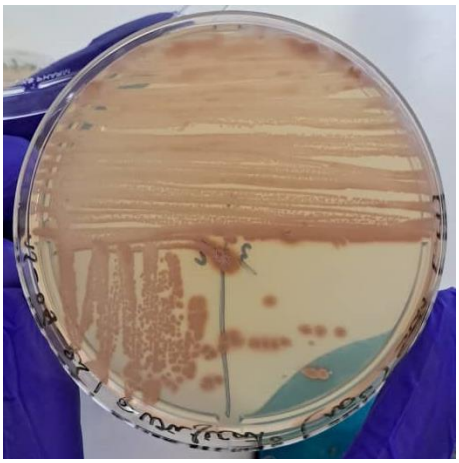
(1)



(2)

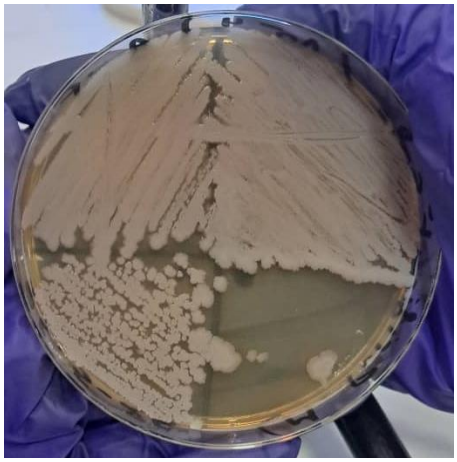


(3)

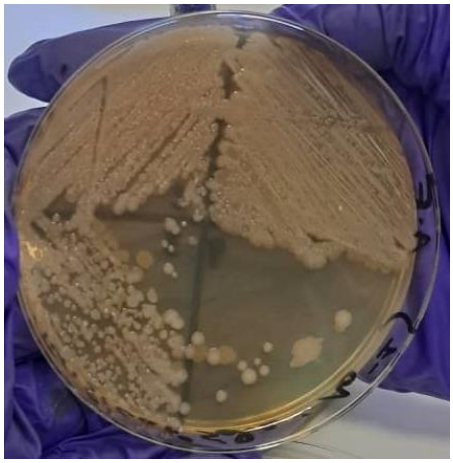


(4)

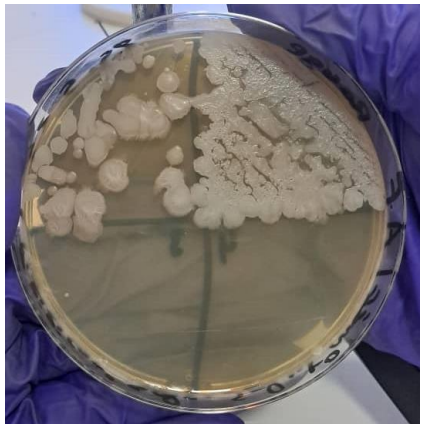
Figure 16: imagerie illustrative de quatre isolats agricoles (sol 01) **(prise personnel).**



(5)



(6)



(7)

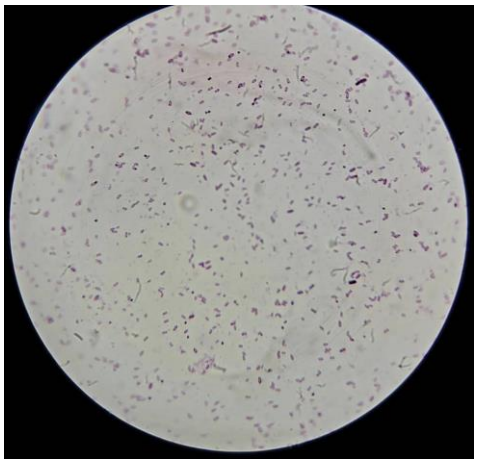
Figure 17: imagerie démontrant trois isolats agricole (sol 02) **(prise personnel).**

L'isolement de sept souches d'actinomycètes à partir de deux échantillons de sol affirme la richesse microbiologique de ces environnements agricoles. Les multiples isolats montrent comment ces microorganismes se sont adaptés aux conditions uniques de chaque sol, qui sont influencées par des facteurs tels que le pH, la teneur en matière organique et les pratiques culturales. La diversité et l'abondance des actinomycètes dans les sols agricoles sont significativement influencées par les paramètres physico-chimiques du sol, ce qui expliquerait la variation entre les deux sites documentés, selon **Qin et al. (2011)**.

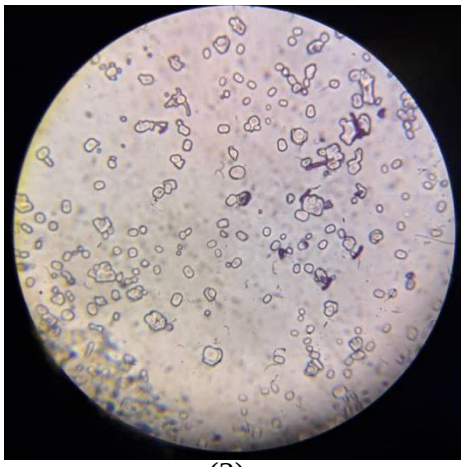
Des expériences de caractérisation initiales ont été réalisées sur les isolats provenant de sols agricoles. Des essais biochimiques, tels que les tests de catalase et d'oxydase, ainsi qu'une coloration de Gram. Les isolats ont été stockés sous forme de suspension bactérienne dans une solution de glycérol à 50 % afin de garantir leur conservation à long terme à basse température.

2. Coloration de Gram

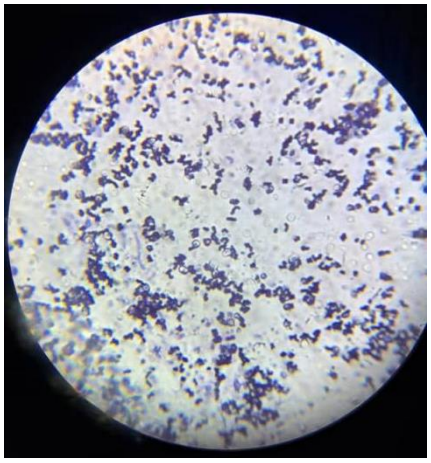
Après la coloration de Gram **(Annexe)**, tous les isolats agricoles ont présenté une couleur violette, ce qui indique qu'ils sont à Gram positif **(figure 30)**, caractérisés par une paroi cellulaire épaisse riche en peptidoglycane. Selon **Williams et al. (1989)**, la majorité des actinomycètes isolés des sols sont Gram positifs et appartiennent principalement à l'ordre des Actinomycetales, notamment le genre *Streptomyces*.



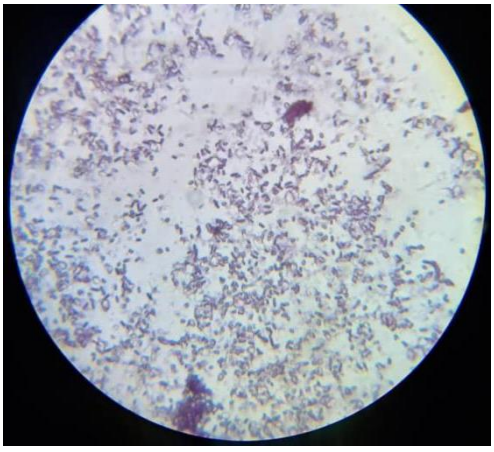
(1)



(2)



(3)



(4)

Figure 18 : Aspect microscopique des isolats du sol après coloration de Gram (Gx100) **(prise personnel).**

3. Activité catalasique

Parmi les isolats agricoles, 5 souches ont montré une activité catalase positive, tandis que 2 étaient négatives. Cela indique que la majorité produisent l'enzyme catalase **(Voir tableau 29)**.

L'activité catalase positive signifie que ces souches peuvent dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène, ce qui reflète une capacité à se protéger contre le stress oxydatif. Selon Kämpfer (2006), la catalase est une enzyme couramment détectée chez les actinobactéries isolées de sols.

Tableau 29: Résultats du test catalase.

Actinomycètes	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
catalase	+	+	-	+	-	+	+

4. Activité oxydasique

Les 7 isolats agricoles ont présenté un résultat positif au test oxydase, ce qui indique qu'ils possèdent l'enzyme cytochrome c oxydase **(Voir figure 31)**, cela confirme leur métabolisme aérobie, typique des actinomycètes filamenteux, notamment ceux du genre *Streptomyces* **(Ventura et al., 2007)**. Selon **Goodfellow et Williams (1983)**, la majorité des actinomycètes aérobies isolés du sol présentent une activité oxydase positive, ce qui les différencie d'autres bactéries du sol.

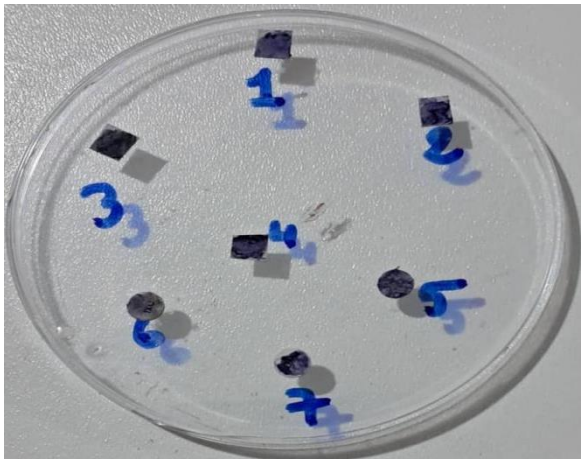


Figure 19: imagerie démonstrative des résultats du test oxydase **(prise personnel).**

Conclusion et perspective

Ce travail s'est inscrit dans le cadre de l'exploration de la diversité et du potentiel biologique des actinomycètes marins et telluriques, à travers une double approche expérimentale.

En premier, l'étude des souches marines a permis de mettre en évidence des activités biologiques remarquables, notamment des effets antimicrobiens, anti-inflammatoires, antioxydants et anti-biofilms, accompagnés de la détection d'enzymes extracellulaires à intérêt biotechnologique. Ces résultats confirment l'hypothèse selon laquelle les conditions extrêmes du milieu marin stimulent la biosynthèse de métabolites secondaires originaux aux propriétés pharmacologiques prometteuses **(Subramani & Aalbersberg, 2012 ; Barka et al., 2016).**

Concernant le second objectif de ce travail, l'isolement de sept souches d'actinomycètes à partir de deux sols agricoles a permis de mettre en évidence une diversité morphologique et biochimique. Les tests catalase, oxydase et la coloration de Gram ont confirmé que la majorité des isolats sont des bactéries Gram positives, aérobies, possédant un métabolisme actif. Globalement, ce mémoire met en lumière l'importance de la valorisation des microorganismes environnementaux, aussi bien marins que terrestres, en tant que ressources innovantes pour le développement de nouvelles approches antimicrobiennes et anti-inflammatoires. L'intégration de tests enzymatiques et d'extractions ciblées a également permis de mieux cerner le profil métabolique de ces souches.

En fin, ce travail ouvre la voie à de nombreuses perspectives, ce qui justifie pleinement la nécessité de le poursuivre, notamment à travers :

- Caractérisation moléculaire :

Par séquençage de l'ADNr 16S, permettra de confirmer leur appartenance taxonomique et d'identifier de potentielles espèces rares ou nouvelles, surtout parmi les souches marines.

- Analyse des métabolites par HPLC/LC-MS :

Des extraits bioactifs pourrait permettre d'identifier précisément les composés responsables des activités biologiques observées, ouvrant la voie à des applications pharmaceutiques concrètes.

- Études in vivo et mécanismes d'action :

Des tests in vivo ou des études cellulaires sur les propriétés anti-inflammatoires et anti-biofilms permettraient de mieux comprendre les mécanismes d'action des extraits.

- Exploitation agrobiologique des souches telluriques :

Les isolats issus des sols agricoles pourraient être testés comme agents de biocontrôle ou biofertilisants dans un contexte de lutte biologique en agriculture durable.

Références bibliographiques

- Abouwarda, M. E., & Abu El-Wafa, A. (2011). Isolation and identification of marine actinomycetes producing antimicrobial agents. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27(4), 1217-1224.
- Agath, M., & Bath, K. (1963). The identification and antibiotic production of marine actinomycetes. Marine Biological Association Journal, 42(2), 210-220.
- Ait Barka Essaid, Parul Vatsa, Lisa Sanchez, Nathalie Gaveau-Vaillant, Cedric Jacquard, Hans-Peter Klenk, Christophe Clément, Yder Ouhdouch, Gilles P. van Wezel. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. Microbial Mol Biol R.1:80.
- Al-Zarban, S., Al-Musallam, A., Abbas, I., Stackebrandt, E., Kioppenstedt, R (2002). Saccharomonospora halophila sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated.
- Anandan, S. (2015). Microbial production of water-soluble vitamins by actinobacteria and their role in promoting growth of Leuconostoc citrovorum. Journal of Applied Microbiology, 118(3), 581-591.
- Ara, A., et al. (2012). Isolation and characterization of actinomycetes from marine environments with special reference to their antibacterial activity. Marine Biotechnology, 14(6), 698-705.
- Arifuzzaman, M., Khatun, M., & Rahman, M. M. (2010). Screening of marine actinomycetes for their antimicrobial activity and biotechnological potential. Research Journal of Microbiology, 5(6), 555-563.
- Arumugam, M., Mitra, A., Jaisankar, P., Dasgupta, S., Sen, T., Gachhui, R., & Mukhopadhyay, U. K. (2010). *Isolation of an unusual metabolite 2-allyloxyphenol from a marine actinobacterium, its biological activities and applications.* Applied Microbiology and Biotechnology, 86(1), 109-117.
- Bacilia, M., et al. (2003). Antimicrobial activity of soil actinomycetes against phytopathogenic fungi. Brazilian Journal of Microbiology, 34(4), 316-320.
- Baker, K. F. (1988). Ecological factors affecting soil microorganisms in agricultural systems. Annual Review of Phytopathology, 26, 125-146.
- Balachandran C. et al. (2012). Antioxidant enzyme activities and radical scavenging properties of Streptomyces sp. isolated from marine sediments. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2(2), 968–974.
- Baldacci, E. 1962. Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. Ann Soc Belge Méd Trop, 4 : 633-646.
- Barka E., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Klent HP., Clément C., Ouhdouche Y and Wezel GP van .2016.Taxonomy, physiology and naturalproducts of Actinobacteria. Microbial Mol Biolrev 80: 1 – 43.
- Belyagoubi, L (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thése de doctorat : Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse. Tlemcen : Université Aboubakr BelkaïdTlemcen, 170.
- Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. The Journal of Antibiotics, 58(1), 1–26.
- Bergey's manual (1989) of systematic bacteriology (Vol. 1-4).
- Bhosale, H. J., et al. (2015). Extracellular proteases from actinomycetes: production, properties and applications. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4(5), 631–652.
- Bornscheuer, U. T. (2002). Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis. FEMS Microbiology Reviews, 26(1), 73–81.

- Bornscheuer, U. T. (2002). Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis. FEMS Microbiology Reviews, 26(1), 73–81.
- Botton, B., Lafforgue, G., & Durrieu, G. (1990). Étude des actinomycètes isolés de sols. Revue de Microbiologie, 41(2), 125-132.
- 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 Kasdi Merbah-Ouargla. P : 4-13.
- Boudjelal 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, El-Harrach, Alger.14p.
- Boudjella. H. 2007. Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des Streptosporangium des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par trois souches. Thèse de Doctorat, Institut National El-Harrach – Alger.
- Boughachiche, F., Reghioua, S., Oulmi, L., Zerizer, H., Kitouni, M., Boudemagh, A.,Boulahrouf, A (2005). Isolement d'actinomycetales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la Sebkha de Ain Mlila. Sciences et Technologie C, 23 : 510.
- Brevoy, Taokaew S, Kriangkrai W (2023). Chitinase-Assisted Bioconversion of Chitinous Waste for Development of Value-Added Chito-Oligosaccharides Products", Biology, 12(1):87.
- C. Kullnig, R. L. Mach, M. Lorito, C. P. Kubicek (1999). Applied and Environmental Microbiology: Chitinase gene expression during mycoparasitic interaction of Trichoderma harzianum with its host, 10: 131_140.
- Calderone, R.A., & Clancy, C.J. (2012). Candida and Candidiasis (2nd edition). ASM Press (American Society for Microbiology).
- Camille, V. (2007). Etude comparative des propriétés biologiques des actinomycètes marins. Annales de Microbiologie, 56(3), 254-262.
- Cavala, F., & Eberlint, C. (1994). Marine actinomycetes as a source of new antibiotics. Journal of Antibiotics, 47(5), 458-463.
- Choi, E.-J., Lee, H. S., Lee, D.-S., & Lee, H. J. (2020). Antioxidant, Anti-inflammatory, and Antibacterial Activities of Actinobacteria Isolated from Marine Sediment. Marine Drugs, 18(11), 602.
- Choi, J. W., Kim, G. J., Kim, H. J., Nam, J.-W., Kim, J., Chin, J., Park, J.-H., Choi, H., & Park, K. D. (2020). Identification and evaluation of a napyradiomycin as a potent Nrf2 activator: Anti-oxidative and anti-inflammatory activities. Bioorganic Chemistry, 105, 104434.
- Cohen-Kupiec, R., & Chet, I. (1998). The molecular biology of chitin digestion. Current Opinion in Biotechnology, 9(3), 270–277.
  Constantine. Algérie. 139 pp.
- Cook, A.E., and Meyers, P.R. (2003). Rapid identification of filamentous actinomycètes to the Genus level using genus-specific 16S rRNA gene restriction fragment patterns. Int. J. Syst. Classification system Actinobacteria clasis nov. Int. J. syst. Bacteriol, 47, 479-491.
- Dastager S. Dayanand A. Li WJ. Kim CJ. Lee JC. Park DJ, et al (2008). Proteolytic activity from an alkalithermotolerantStreptomycesgulbargensissp. nov.CurrMicrobiol; 57(6):638–642.
- De Boer, W., Klein Gunnewiek, P. J. A., Lafeber, P., Janse, J. D., Spit, B. E., & Woldendorp, J. W. (1998). Anti-fungal properties of chitinolytic soil bacteria. Soil Biology & Biochemistry, 30(14), 1939-1946.
- De Souza, P. M., & de Oliveira e Magalhães, P. (2010). Application of microbial α-amylase in industry – A review. Brazilian Journal of Microbiology, 41(4), 850–861.

- Dekkers, J. C., van Doornen, L. J., & Kemper, H. C. (1996). The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. Sports Medicine, 21(3), 213-238.
- Dickner-Ouellet L. (2018). Optimisation de l'usage des coproduits dans l'alimentation des porcs en croissance : impact du type de fibre et de la xylanase sur la digestion des nutriments. Thèse de Doctorat. Université LAVAL Québec-Canada. P : 36-38.
- Djinni I. 2009. Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées
- Do Nascimento, R. P., Marques, S., Alves, L., Gírio, F. M., Amaral-Collaço, M. T., Sacramento, D. R., Bon, E. P. S., & Coelho, R. R. R. (2003). A novel strain of Streptomyces malaysiensis isolated from Brazilian soil produces high endo-β-1,4-xylanase titres. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 19(12), 879–881.
- Donadio, S., Sosio, M., Lancini, G. 2002. Impact of the first Streptomyces genome sequence on the discovery and production of bioactive substances. Appl Microbiol Biotechnol, 60(4): 377–80. 95–548.
- Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. Emerging Infectious Diseases, 8(9), 881–890.
- E. Klieneberger-nobel Journal of General Microbiology·1947·74 citations.
- El-Nakeeb, M. A., & Lechvalier, H. A. (1963). Studies on the actinomycetes of marine origin. Journal of Bacteriology, 86(4), 734-743.
- El-Sersy N., Abd-Elnaby H., Abou-Elela G. M., Ibrahim H. A. H. and El-Toukhy N. M. K. 2010.Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine Streptomycesruber. Afr Journal Biotechnol 9 (38): 6355-6364.
- El-Tarabily, K. A., & Sivasithamparam, K. (2006). Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. Mycoscience, 47(1), 25-35.
- Ensign, J.C., Normand, P., Burden, J. P., and Yallop, C.A. (1993). Physiology of some genera. Res. Morakchi Microbiol. 144: 657-660.
- Errakhi, R. (2008). Actinomycètes antagonistes de champignons pathogènes du blé : mécanismes d'action et potentialités en biocontrôle [Thèse de doctorat, Université Mohammed V-Agdal].
- Errakhi, R., Lebrihi, A., & Barakate, M. (2007). In vitro and in vivo antagonism of actinomycetes isolated from Moroccan rhizosphere soils against Sclerotium rolfsii: A causal agent of root rot on sugar beet. BioControl, 52(3), 395-407.
- Ettling, B. V., Peterson, W. H., & Riker, A. J. (1958). The role of actinomycetes in the decomposition of organic matter in soil. Soil Science, 86(2), 91-98.
- Eunice, J.A. and Prosser, J.I. (1983). Mycelial grouth and branching of Streptomyces coelicolor.A3 (2) on solid medium.J.gen.Microbiol.29:2029-2036.
- Feng, C., Ling, H., Du, D., Zhang, J., Niu, G. & Tan, H. (2014). Novel nikkomycin analogues generated by mutasynthesis in Streptomyces ansochromogenes. Microbial Cell Factories, 13, 59.
- Gazenko, S., Reponen, T., Grinshpan, S., Willeke, I (1998). Analysis of airborne actinomyeete spores with flurogenic substrates. Applied and Environmental Microbiology. 64:4410-4415.
- Gerois J., Gianotta F., De Buyl E., Garnier B., Frére J.M.,(2008). Purification and properties of three endo b-1-4 xylanases produces by Streptomyces sp. Strain S38. Enzyme Microb. Technol. 26 : 178-186.
- Ghanem, N., Sabry, S., El-Sherif, Z., Abu El-Elal, G (2000). Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. J Gen Appl Microbiol, 46(3): 105–111.

- Gooday, G. W. (1990). The ecology of chitin degradation. Advances in Microbial Ecology, 11, 387–430.
- Goodfellow M and Cross T. 1984. Classification. In: The Biology of the actinomycetes.
- Goodfellow M and O'Donnell A.G .1989. Search and discovery of industrially- significant actinomycetes. Proceeding of the 44th Symposium on Society for General Microbiology, (SCGM'89). Cambridge University Press Cambridge: 343-383.
- Goodfellow M., Williams S. T. 1983. Ecology of actinomycetes. Ann Rev Microbial 37:189-216.
- Goodfellow, M (2012) Actinobacteria phyl. Nov. In: Whitman W.B, Goodfellow .M, Kämpfer. P, Busse H-J, Trujillo M.E, Ludwig. W, Suzuki. K.l, Parte A (eds). Bergey's Manual of systematic Bacteriology. Vol 5: 2nd edn .The actinobacteria part B. Springer, New York: 33-34.
- Gordon, R. E., & Smith, W. A. (1953). The distribution of Streptomyces in nature. Bacteriological Reviews, 17(3), 107-122.
- Gottliels, D. (1973). General consideration and implication of the Actinomycetales.In: Actinomycetals characteristics and Practical importance. Edited by G.Sykes. And F.A.Skinner.Academic Press, London. New York . Efficiency InChorao Island, Goa, India. Curr.Microbiol. 66(5): 421-427.
- Gupta, R., Gupta, N., & Rathi, P. (2004). Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. Applied Microbiology and Biotechnology, 64, 763–781.
- Harir, M., Bendif, H., Bellahcene, M., Fortas, Z., & Pogni, R. (2018). Streptomyces secondary metabolites. Basic Biology and Applications of actinobacteria, 6, P : 101.
- Hassan U S S, Anjum K, Abbas S Q, Akhter N, Shagufta B I, Shah S A A, and Tasneem U. (2017). Emerging biopharma centicals from marine actinobactria. Journal: Environmental Toxicology and pharmacology. Elsevier B.V.49:34-47. Vol 49.Pp:34- 47.
- Hawker, L.E., et Linton, A.H.. (1971). Micro-organismes. 325-333.
- Hitesh J., Nimita U., Darshan D., Manthan K., Shilpa S., and Jagdish P., (2016). Isolation, Optimization and Production of Cellulase by Aspergillus niger from Agricultural Waste. Journal of pure and applied microbiology. 10(2) : 1159-1166
- Holzapfel, W., Brost, I., Faerber, P., Geisen, R., Bresch, H., Jany, K., Mengu, M., Jakobsen, M., Steyn, P., Teniola, D., Addo, P (2002). Bacterial degradation of aflatoxin B1, ochratoxin A and/or zearalenone. PCT Int. Appl, 19.
- Hopwood, D. A. (2003). Streptomyces genes: From Waksman to Sanger. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 30(8), 468-471.
- Hsu, S. C., & Lockwood, J. L. (1975). Powdery mildews: Abundance of obligate parasites in natural habitats. Mycologia, 67(1), 75-84.
- Imhoff, J. F., Labes, A., & Wiese, J. (2011). Bio-mining the microbial treasures of the ocean: New natural products. Biotechnology Advances, 29(5), 468–482.
- Imlay, J.A. (2013). The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium. Nature Reviews Microbiology, 11, 443–454. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.
- Jaeger, K. E., & Eggert, T. (2002). Lipases for biotechnology. Current Opinion in Biotechnology, 13, 390–397.
- Jain, P. K., & Jain, P. C. (2007). Isolation, characterization and antifungal activity of Streptomyces sampsonii GS 1322. Indian Journal of Experimental Biology, 45(2), 203-206.
- Janaki T., (2017). Enzymes From Actinomycetes. International Journal of ChemTechResearc.10(2) : 176-182
- Jean C., CJ.C., Gérard C., Bernard F., (2004). Flore microbienne intestinale : physiologie et pathologie digestives, John Libbey. Euro. text, Paris. Pp 71.

- Jensen, P., Dwight, R., Fenical, W (1991). Distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. Appl Environ Microbiol, 57(4):1102–1108.
- Joseph, B., Ramteke, P. W., & Thomas, G. (2008). Cold active microbial lipases: some hot issues and recent developments. Biotechnology Advances, 26(5), 457–470.
- Kämpfer, P. (2010). Actinobacteria. Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology Part 19, 1819-1838.
- Kashyap, D. R., Vohra, P. K., Chopra, S., & Tewari, R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review. Bioresource Technology, 77(3), 215–227.
- Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J. F., & Lumyong, S. (2009). Diversity of actinomycetes in the soils of Thailand. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25(10), 2043-2051.
- Kiran, G. S., Sabarathnam, B., Selvin, J., et al. (2010). Production of lipase and esterase by marine actinomycetes isolated from the Indian coastal waters. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 26, 2125–2131.
- Kitouni, M. (2007). Diversité des actinomycètes telluriques en zones arides : écologie et potentialités biotechnologiques [Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine].
- Kuo, M. J., & Hartman, P. A. (1996). Starch-degrading actinomycetes: Characterization and enzymatic activities. Canadian Journal of Microbiology, 42(8), 875-881.
- Lacey, J (1973). Actinomycètes in soils, composts and fodders. In: Actinomycetales: characteristics and practical importance. Eds.: G. Sykes, F.A. Skinner. Academic press, London, New York: 231–251.
- Larpent, J. P., & Larpent-Ghourgoud, N. (1985). Recherches sur la diversification des actinomycètes et leur rôle dans l'écologie microbienne. Microbiologie et Biotechnologie, 29(4), 35-46.
- Larpent, J. P., & Sanglier, J. J. (1989). Biotechnologie des antibiotiques. Paris .Masson 80: 566-770.
- Larreta., Garde V.,(1997). Enzymes en Agroalimentaire. Edition Lavoisier. Pp.179-361.
- Le Bergey's Manual of Systématique Bactériology, (2012).
- Le chevalier M.P., De Bievre C., Lechevalier H.A. 1977. Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. BiochemSystEcol 5: 249-260.
- Le Minor, L et Veron, M (1989). Bacteriologie medicale. 2ème édition. Medecine. Sciences Flammarion.
- Lechevalier M.P and Lechevalier H., (1985). Biology of actinomycetes not belonging to genus Streptomyces″ in: Biologie of industrial microorganisms. The Benjamen Cummings Publishing Company, 80:.315-360.
- Lechevalier M.P and Lechevalier H.A 1970. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. Int. J. Syst. Bacteriol. 20, 435-443.
- Lechevalier M.P.1981.Ecological association involving actinomycetes. In: Actinomycetes.Shaal and Pulverer (Eds.).Zbl Bakt Suppl 11: 159-166.
- Leclerc, H., Devigne, J., & Savage, C. (1977). Influence des facteurs édaphiques sur les populations microbiennes du sol. Soil Biology & Biochemistry, 9(5), 323-327.
- Lee, J et Hwang, B (2002). Diversity of antifungal actinomycètes in various vegetative soils of korea.can.J .Microbiol. 48. 407-417.
- Lemriss, A., et al. (2003). Activity of actinomycetes isolated from Saharan soil and their potential in the production of bioactive compounds. Journal of Applied Microbiology, 96(3), 354-362.
- Limkhada, J.R. ;Mander, P. ; Cho, S.S. and Yoo, J.C. 2010. A novel fibrinolytic protease from Streptomyces sp. CS684.ProcBiochem. 45: 88-93.

- Loganathan Karthik, Gaurav Kumar, Kokati Venkata Bhaskara Rao. "Antioxidant activity of newly discovered lineage of marine actinobacteria." Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, vol. 6, no. 4, April 13, 2013, pp. 325-332.
- Loqman S. 2009. La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : Isolement,
- Loucif K. 2011. Recherche des substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Thèse de magistère. Microbiologie appliquée et biotechnologie microbienne. Université Mentouri-Constantine. Algérie. 139 pp.
- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M., & Stahl, D.A. (2018). Brock Biology of Microorganisms (15th ed.). Pearson Education.
- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M., & Stahl, D.A. (2018). Brock Biology of Microorganisms (15th edition).
- Mahadevan, B., & Crawford, D. L. (1997). Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent Streptomyces lydicus WYEC108. Enzyme and Microbial Technology, 20(7), 489-493.
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K., & Kim, S. K. (2014). Marine actinobacterial metabolites: Current status and future perspectives. Microbiological Research, 169(4), 262–278.
- Mariat, F., Sebald M.1990. Les actinomycètes. Dans : Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion France.
- Marmur J. and Doty P. (1962). Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from thermal denaturation temperature. J. Mol. Biol., 5:109-118.
- McKinney, R. E. (2004). Environmental Pollution Control Microbiology: A Fifty-Year Perspective. CRC Press (Marcel Dekker), New York.
- Meziani.A., Mahcene.H., (2017). Activités hydrolases des souches fongiques : Production par fermentation de cellulase et d'α-amylase par Penicillium. sp sur substrat solide. Thèse de Master Biotechnologie des Mycètes. Université de Mentouri Constantine.
- Mincer T. L., Jensen P.R., Kauffman C.A and Fenical W. 2002. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. App Environ Microbial 68: 5005-5011.
- Mobini-Dehkordi M and Fahime A.J. 2012. Application of alpha-amylase in biotechnology.
- Mohankumar, B., Shanmugasundaram, T., Gopalan, N., Ramasamy, D., & Balagurunathan, R. (2012). Marine actinomycetes as potential source for novel bioactive compounds – A review. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4(Suppl 4), 76-86.
- Mouly S., Sellier P. (2004). Monitoring thérapeutique des anti-infectieux, desexigences réglementaires au bon usage du médicament. Spring.Verlag., 12 : 92-98.
- Mukhtar S., Ahmad Z., Dalaq A., Kauser A. M., and Samina M., (2017). Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. Journal of Proteomics & Bioinformatics.10 : 316-319.
- Navarre., Françoise l., (2010). L'oenologie. 7ème Edition.pp39 et 42.
- Ninranjane, R., Srinivas, M., & Sridevi, A. (2007). International Journal of Biological & Chemical Sciences, 1(2), 161–167.
- Nitsch, S., & Kutzner, H. J. (1969). Taxonomy of marine actinomycetes. International Journal of Systematic Bacteriology, 19(1), 74-80.
- Omura, S (1992). The search for bioactive compounds from microorganisms. Springer,
- Osada H. 1998. Bioprobes for investigating mammalian cell cycle control. J Anti Biot 51:973-981.
- O'Toole, G. A., et al. (1999). Molecular basis of biofilm formation by Pseudomonas aeruginosa. Trends in Microbiology, 7(5), 195-199.

- Oyedapo, O. O., et al. (2010). Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of actinomycetes isolated from soil samples. Journal of Applied Microbiology, 109(5), 1591-1597.
- Petrosyan, P., García-Varela, M., & Luz-Madrigal, A. (2003). Xylanase production by actinobacteria: Screening, purification and characterization. Applied Microbiology and Biotechnology, 62(2-3), 263-267.
- Petrosyan, V., Sargsyan, A., & Hakobyan, L. (2003). Isolation and characterization of bioactive actinomycetes from soil samples in Armenia. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 17(4), 101-105.
- Pimentel-Elardo, S.M., Kozytska, S., Bugni, T.S., Ireland, C.M., Moll, H., Hentschel, U.(2010): Antiparasitic compounds from Streptomyces sp. strains isolated from Mediterranean sponges. Marine Drugs. 8:373-380.
- Pochon, C., & Tradieux, L. (1962). Etude de la croissance et de la production de certains antibiotiques par des actinomycètes. Revue de Microbiologie, 15(4), 151-15
- Polti, M. A., Aparicio, J. D., Benimeli, C. S., & Amoroso, M. J. (2014). Bioremediation of heavy metals and hydrocarbons by actinobacteria from native contaminated environments. In E. Alvarez (Ed.), Microbial Biodegradation and Bioremediation (pp. 179-201). Elsevier.
- Porter, N (1971). Prevalance and distribution of antibiotic producing actinomycètes. Adv Appl Microbiol, 14: 73–92.
- Pourriat J. L., Martin C. (2005). Principe de réanimation chirurgicale. Arne.,
- Prakash, D., Nawani, N., Prakash, M., Bodas, M., Mandal, A., Khetmalas, M., & Kapadnis, B. (2013). Actinomycetes: A repertory of green catalysts with a potential revenue resource. Biomed Research International, 2013, Article 264020.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., (2010). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 3eme.1133.
- Prescott, L., Harley, J et Klein, D (2007). Microbiologie de Boek et Larcier, Bruxelle: 805–825.
- Qin, S., Xing, K., Jiang, J. H., Xu, L. H., & Li, W. J. (2011). Biodiversity, bioactive natural products and biotechnological potential of plant-associated endophytic actinobacteria. Applied Microbiology and Biotechnology, 89(3), 457–473.
- Rajeeva G., Soni.T., (2015).Isolation, production, purification and characterization of an organic-solvent-thermostable alkalophilic cellulase from Bacillus vallismortis RG-07.Journal of BMC Biotechnology.15 :19.
- Raju, R. (2016). Anti-inflammatory activity of actinomycètes isolated from marine sediments. Journal of Applied Microbiology.
- Ramananarivo, R. (2017). Activites biologiques d'actinomycetes du sol sous baobabs dans les parties ouest et moyen ouest de madagascar (Doctoral dissertation, Universite D'antananarivo).P : 40
- Ramesh, S., & Mathivanan, N. (2009). Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25, 2103–2111.
- Rangaswami, G., Bagyaraj, D et Bagyaraj, G (2004). Agricultural Microbiology PHI : New Delhi : 440.
- Ripert C. (2013). Mycologie médical.. Tec. et Toc., 5 : 64-69.
- Rosselló-Mora R. and Amann R. (2001). The species concept for prokaryotes. FEMS Microbiol. Rev., 25, 39-67.
- Ryan, K.J., & Ray, C.G. (2004). Sherris Medical Microbiology (4th ed.). McGraw-Hill.
- Sadhu, S., & Maiti, T. K. (2013). British Microbiology Research Journal, 3(3), 235–258.

- Sahoo K., Sahoo R. K., Gaur M. et Subudhi E. (2019). Isolation of cellulase genes from thermophiles. A novel approach toward new gene discovery. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. P : 151-169.
- Saker R.2015. Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens.
- Sanchez-Moreno, C. (2002). Antioxidant and antimicrobial properties of the phenolic compounds from plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(23), 6829-6837.
- Sanglier, J. J. & Trujillo, M. (1997). Substances bioactives produites par les actinomycètes : stratégie de sélection de souches. Bulletin de la Société Française de Microbiologie, 12, 269–276.
- Saunders, A. P. (1952). Vitamin B12 synthesis by Streptomyces species: A review of early discoveries and subsequent research. Journal of Bacteriology, 64(6), 725–738.
- Sharma, D. et al. (2016). Actinomycetes: Source, identification, and their applications.
- Sheefaa, M. I., & Sivaperumal, P. (2022). Marine actinobacteria as a potential source for melanin production and its biological applications. Journal of Applied Microbiology, 132(3), 1647-1665.
- Shin-ya, Ueda, J., Nagai, A., Izumikawa, M., Chijiwa, S., Takagi, M., K. (2008). A Novel Antimycin-like Compound, JBIR-06, from Streptomyces sp. ML55. The Journal of Antibiotics, 61, 241–244.
- Shirling E.B.et Gottlieb, D. (1966).Retrospective evaluation of international Streptomyces project taxonomic criteria-the Boundary Microorganisms Toppan Printing Co Ltd, 161:941.
- Sibanda T., Leonard V., Mabinya L.V., MazombaN., Akinpelu D., Bernard K et al.,2010. Antibiotic Producing Potentials of Three Freshwater Actinomycetes Isolated from the Eastern Cape Province of South Africa. Int J Mol Sci. 2612–2623.
- Silini S., (2012). Contribution à l'étude de la biodégradation de la méthyléthylcétone en réacteur batch par les actinomycètes isolés à partir des boues activées de la station d'épuration d'El-Atmania. Thèse de Magister en écologie option : Gestion des déchets : évaluation et solution environnementales. Université des frères Mentouri Constantine.101p
- Singh, A. K., & Gupta, M. N. (2015). Applications of chitinolytic enzymes in industry. In R. N. Mukhopadhyay (Ed.), Biotechnology of Microbial Enzymes (pp. 427-445). Academic Press.
- Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P. K. (2016). Microbial proteases in commercial applications. Journal of Food and Drug Analysis, 24(1), 195–205.
- Singh, S., Singh, S. K., & Chowdhury, I. (2017). Understanding the mechanism of bacterial biofilms resistance to antimicrobial agents. Open Microbiology Journal, 11, 53–62.
- Skinner, F. A. (1973). Actinomycetes in soil: Their distribution and activity. In G. Sykes & F. A. Skinner (Eds.), Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance (pp. 71-86). Academic Press.
- Snaiki, S., et al. (2006). New antimicrobial compounds from marine actinomycetes. Marine Biotechnology, 8(2), 232-239.
- Solanki R. et al. (2008). Marine actinobacteria: a new source of bioactive metabolites. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24, 2125–2135.
- Solecka, J., et al. (2012). Actinomycetes in biotechnology. In: Biotechnology of Antibiotics and Other Bioactive Microbial Metabolites.
  souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Thèse de
- Souza, P. M., & Magalhães, P. O. (2010). Application of microbial α-amylase in industry - A review. Brazilian Journal of Microbiology, 41(4), 850–861.
- Stackebrandt E. and Woese C.R. (1981). The evolution of prokaryotes. Symp. Soci. Gen. Microbiol, 32, 1-31.

- Stackebrandt E., Rainey F.A. and Ward-Rainey N.L. (1997). A proposal for a new hierarchic Sableux par ajout de bentonite. Cahiers Agricultures.vol 15 : 347-53.
- Subramani, R. & Sipkema, D. (2019). Marine rare actinomycetes: a promising source of structurally diverse and unique novel natural products. Marine Drugs.
- Subramani, R., & Aalbersberg, W. (2012). Marine actinomycetes: An ongoing source of novel bioactive metabolites. Microbiological Research, 167(10), 571–580.
- Sutthinan K.,Akira Y., Aaisamorn l.2009.Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizospheresoils:diversity and screening of antifungal compounds,indole-3-acetic acid and siderophore production.World Journal Microbiol Biotechnol 25:649–655.
- Taibi Z. Saoudi B. Boudelaa M. Trigui H. Belghith H. Gargouri A. et al. Purification and biochemical characterization of a highly thermostablexylanase from Actinomadura sp. strain Cpt20 isolated from poultry compost. ApplBiochemBiotechnol 2012; 166(3):663–679.
- Tanveer P., Shashank G., Joginder S., Ashish V., Manish K., Naseem G., MadhuBala., Reiaz R., Ajit V., Vivek K., and Manoj K., (2014). Characterization of Actinomycetes and Trichoderma spp. for cellulase production utilizing crude substrates by response surface methodology. Journal of Spirnger, 3:622
- Tao, Z.,(2020). Classification of Enzymes by Deep Learning. Volume 8, 2020.
- Tomita, K., M. Nishito, K. Sitoh, H. Yamamoto, Y. Hashino, H. Okhuma, M. Konishi,T. Miyaki et T. Oki. 1990. Pramicidins A, B and C: new antifungul antibiotics. I. Taxonomy, production and physico-chemical properties. J. Antibiot. 43: 755-762.
- Tortora, G.J., Funke, B.R., & Case, C.L. (2019). Microbiology: An Introduction (13th edition).
- Traxler, M. F., et al. (2013). mBio, 4(4), e00459-13.
- Tsujibo, H., Okami, Y., Tanno, H., Inamori, Y. 2003. Cloning, sequence and expression of a chitinase gene from a marine bacterium, Alteromonas sp. strain O-7. Journal of Bacteriology: 175-181.
- Ventosa, A., et al. (2015). Marine actinobacteria as a source of novel bioactive compounds. Frontiers in Microbiology, 6, 686.
- Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., & van Sinderen, D. (2007). Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 71(3), 495–548.
- Vijayabharathi, R., Devi, P. B., & Sathya, R. (2012). Protease production by marine actinomycetes from sediments of the Indian coastal region. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 4(6), 3336–3340.
- Vonthini-Sénécheau, C., Kaiser, M., Devambez, L., Vastel, A., & Musset, L. (2008). Activité antiparasitaire de produits de la mer : peptides et polysaccharides. Marine Drugs, 6(4), 637-666.
- Wacksman S.A., Woodruff H.B. (1940) The soil as a source of microorganism antagonistics toDisease producing bacteria. In “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology”. Williams& Wilkins Eds. 4: 2333-2648.
- Waksman, S (1959). The actinomycètes: nature, occurrence and activities. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1: 29–46.
- Wang, L., Huang, Y., Liu, Z., Goodfellow, M et Rodri guez, C (2006). Streptacidiphilus pryzae sp. Nov., an actinomycetes isolated from rice-field soil inThailand. Int. J. Sys. Ev.Microbiol, 56: 1257-1261.
- Watve, M. G., Tickoo, R., Jog, M. M. & Bhole, B. D. (2001). How many antibiotics are produced by the genus Streptomyces? Archives of Microbiology, 176, 386–390.

- Wayne L.G., Brenner D.J., Colwell R.R., Grimont P.A.D., Kandler O., Krichevsky M.I., Moore.U. (2017). Review Emerging biopharmaceuticals from marine actinobacteria. Environmental Toxicology and Pharmacology; 49: 34–47.
- Wayne, L. G., Brenner, D. J., Colwell, R. R., Grimont, P. A. D., Kandler, O., Krichevsky, M. I., Moore, L. H., Moore, W. E. C., Murray, R. G. E., Stackebrandt, E., Starr, M. P., & Trüper, H. G. (1987). Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 37(4), 463-464.
- Weisburg W.G., Barns S.M., Pelletier D.A. and Lane D.J. (1991). 16S ribosomal DNA amplifi-Cation for phylogenetic study. J. Bacteriol., 173:697-703.
- Williams, S. T., & Cross, T. (1971). Actinomycetes and their role in antibiotic production. Journal of Applied Bacteriology, 34(1), 88-98.
- Williams, S., Lanning, S et Wellington, E (1984). Ecology of actinomycètes. In: The Biology of the actinomycètes. Eds : Goodfellow, M. et Mordarski , M. et Williams, S Academic press, London, New York, Sydney, Tokyo, Sao Paulo: 481–528.
- Wysong, D.R., Christin, L., Sugar, A.M., & Cox, G.M. (1998). Contributions of catalase and superoxide dismutase to virulence of Candida albicans. Infection and Immunity, 66(2), 603–610.
- Zaitlin, B., Watson, S., Ridal, J., Satchwill, T ET Parkinson, D (2003). Actinomycètes in Lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. Res J Can, 95 (2): 113-118.
- Zaitlin, B., Watson, S.B. (2006). Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: Myths, tenets and truths. Water Res, 40(9): 1741–1753.
- Zhang X .Z., Zhang Y.H. P.,(2013). Cellulases: Characteristics, sources, production, and applications.Biotechnol. Bioeng. 94 : 888 – 898.
- Zvyagintsev, D. G., et al. (2005). Thermophilic and psychrophilic actinomycetes in extreme ecosystems. Microbiology (Mikrobiologiya), 74(5), 501-509.

Annexes

1. Composition de milieu de culture M

- Peptone (10g)
- Extrait de levure (5g)
- Nacl (35g)
- CaCl2 (0,5g)
- K2HPO4 (0,5g)
- FeSo4 (0,01g)

2. Milieu pectine

- Pectine (5g)
- Extrait de levure (5g)
- Agar (20g)
- Eau distillée (1L)

3. Milieu chitine

- Peptone (5g)
- Extrait de viande (3g)
- NaCl (5g)
- Chitine (5g)
- Agar (18g)
- Eau distillée (1L)

4. Coloration de Gram

- **Préparation du frottis :**

✓ Étaler une fine couche de culture bactérienne sur une lame propre.
✓ Sécher au bec benzène puis fixer en passant la lame rapidement dans la flamme.

- **Coloration au violet de gentiane (ou cristal violet) :**

✓ Couvrir le frottis de violet de gentiane pendant 1 minute.
✓ Rincer doucement à l'eau.

- **Mordançage avec le lugol (iode) :**

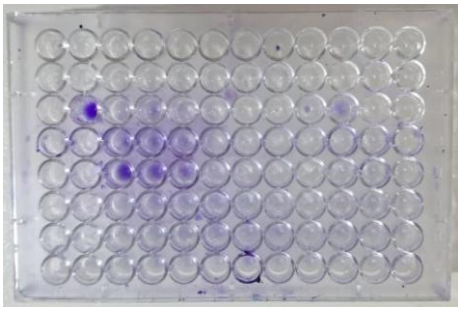
✓ Appliquer la solution de lugol pendant 1 minute.
✓ Rincer à l'eau.

- **Décoloration à l'alcool ou alcool-acétone (95 %) :**

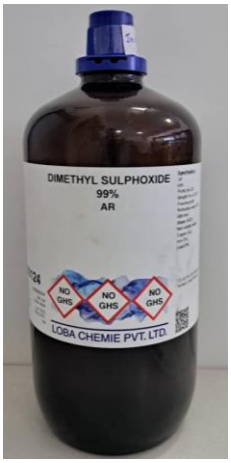
✓ Appliquer pendant 15 à 30 secondes (jusqu'à ce que l'excès de violet disparaisse).
✓ Rincer immédiatement à l'eau.

- **Coloration a la fuchsine :**
  - ✓ Appliquer pendant 1 minute.
  - ✓ Rincer à l'eau.
- **Observation au microscope à immersion.**

5. Microplaque en polystyrène



6. Solvant butanol



7. Ampoule à décanté



8. Solution du DPPH

- 100ml d'éthanol + 0,004g



9. Spectrophotomètre UV visible



10. Diclofénac



11. Vortex

