

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université de Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des
Département des Sciences



Sciences de la Nature et de la Vie
de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER en Microbiologie appliquée
Option : Microbiologie Appliquée

Taxonomie et potentiel antimicrobien des actinomycètes halophiles

M^{elle} **HAMIMED Rayen**

Par

M^{elle} **Bouabida Nour-El-Houda**

Soutenu le 27 octobre 2020 devant la commission d'examen :

Dr.Mechai.A	Maître de Conférence A	Université de Tébessa	Président
Dr.Menasria. T	Maître de Conférence B	Université de Tébessa	Promeuteur
Dr.Benhadj.M	Maître de Conférence A	Université de Tébessa	Co-promeutrice
Dr.Boukoucha.M	Maître de Conférence A	Université de Tébessa	Examineur

Promotion 2020

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université de Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des
Département des Sciences



Sciences de la Nature et de la Vie
de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER en Microbiologie appliquée
Option : Microbiologie Appliquée

Taxonomie et potentiel antimicrobien des actinomycètes halophiles

Par
M^{elle} HAMIMED Rayen **M^{elle} Bouabida Nour-El-Houda**

Soutenu le 27 octobre 2020 devant la commission d'examen :

Dr.Mechai.A	Maître de Conférence A	Université de Tébessa	Président
Dr.Menasria. T	Maître de Conférence B	Université de Tébessa	Promeuteur
Dr.Benhadj.M	Maître de Conférence A	Université de Tébessa	Co-promeutrice
Dr.Boukoucha.M	Maître de Conférence A	Université de Tébessa	Examineur

Promotion 2020

Remerciements

« Un travail même fait d'une seule main n'est jamais l'ouvrage d'un seul ».

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude et notre remerciements les plus sincères au Dr. **Menasria Taha**, enseignant chercheur à l'Université de Tébessa, de nous avoir accueilli au sein de son équipe de recherche et d'avoir dirigé ce modeste travail, à savoir de nombreuses discussions que nous avons entamé et en particulier la partie expérimentale malgré son temps chargé. Aussi nous n'oublions pas de mentionner sa sensibilité, son égard, son respect et sa sympathie dont nous fûmes témoin.

Nous remercions vivement notre co-promeutrice Madame : **Dr.Benhadj Mabrouka**, Maître de Conférence à l'Université de Tébessa, et ce pour nous avoir accepté gentiment dans leurs équipes pendant la réalisation de ce travail malgré sa temps chargé. Aussi que pour ces nombreux bénéfiques conseils qui ont contribué largement dans la réussite de ce mémoire et sa sympathie dont nous fûmes témoin.

Il m'est très agréable d'exprimer notre reconnaissance au Dr. **Mechai Abdelbasset**, Maître de Conférence à l'Université de Tébessa, pour m'avoir fait l'honneur de présider notre jury, ainsi que pour son intérêt à notre travail et de ses jugements qui sont toujours réalistes.

Nous remercions sincèrement le membre de jury Dr. **Boukoucha Mourad**, Maître de Conférence à l'Université de Tébessa, d'abord pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail ainsi que pour les observations constructives faites pendant la lecture du mémoire .

Nos sincères remerciements sont aussi adressés au **Dr.MIHI Ali** pour leurs soutiens honnêtes et leurs conseils constructifs pendant la réalisation de ce mémoire. Ainsi, notre cher ami **Salemi Mohcen** pour leur soutien malgré son temps chargé.

Ainsi nous remercions **Mlle.HAMIMED Selma .Docteur à l'université de Carthage, Tunisie** qui a toujours manifesté à encouragement à nos travaux de recherche. Ses conseils nous ont beaucoup servi largement dans la réussite de ce travail et qui a été toujours là pour nous et aussi sa sympathie dont nous fûmes témoin.

Nous adressons également nos remerciements à tous les membres du laboratoire de **Microbiologie appliquée** au Département de Biologie à l'Université de Tébessa. Nous mentionnons aussi la très bonne humeur et l'ambiance au sein de ce groupe qui nous ont permis

de mener nos travaux pratiques de façon très agréable.

Permettez-nous maintenant d'adresser notre vifs remerciements à tous notre collègues et amis pour leur soutien moral qui nous sommes été toujours soufflé.

Maintenant, nous demandons votre pardon de nos excuser d'avoir laissé en dernier lieu pour remercier notre plus chères personnes de notre petites familles et en particulier notre très chers parents, pour leur soutien absolument inconditionnel tout au long de ces longues années d'études.

Dédicace



*A notre famille et à nos amis
Pour la patience et le
dévouement dont ils ont fait preuve.*





Dédicace

Je remercie tout d'abord mon Dieu de m'avoir donné courage, patience et conscience afin de bien rédiger ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail à :

À mes très chers parents ; grâce à leurs encouragements, leur présence, leurs conseils, leur soutien et leur persévérance j'ai pu dépasser tous les obstacles.

À mes chers frères : TAREK et sa femme, SAIF-EL-DIN et AHMED.

À mes très chères sœurs : MADHA, IBTISSEM et IMENE.

À Les poussins : SOUHAIB, MOUAD et NOUR-SIN-JANA.

À toute ma famille, en particulier ma cousine BOUTHAINA.

À ma binôme RAYEN et toute sa famille.

À mes aimables amis pour leur motivation et leur encouragement en particulier : IBTIHEL, CHOUROUK, HADJER et MALIKA.

À toute la promotion de MICROBIOLOGIE sans exception.

À tous les étudiants, enseignants et personnels du département des Sciences Biologique.



NOUR-EL-HOUIDA

Dédicace

*Avant tout, je remercie 'Dieu'
de m'avoir donné le courage et la volonté pour réaliser
ce modeste travail ; que je dédie :*

❖ *À ceux que j'aime :*

Ma mère, qui a œuvrée pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Que Dieu m'aide à les honorer, les servir et les combler.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Que Dieu m'aide à les honorer, les servir et les combler.

❖ *ceux que j'aime et que j'adore :*

Ma sœur la seule et l'unique Selma d'où je m'inspire le courage et à

Mes frères Chouaib et Islem de m'avoir donné le courage et la volonté

❖ *À ma binôme Nour-El-Houda et toute sa famille*

❖ *À la mémoire de ma très chère Asma*

❖ *À tous mes amis, en particulier :*

Rîma, Mira, Zina, Lina, Asmahen, Amina, Chaima, Rayhana

❖ *À toute la promotion de Microbiologie Appliquée sans exception.*

❖ *À tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la
réalisation de ce mémoire.*

Enfin, à tous ceux qui m'aiment.

À vous...

Merci

Rayen

Résumé

Les communautés microbiennes et leurs distributions dans des environnements spécifiques sont principalement déterminées par leurs conditions biotiques et abiotiques. Divers microorganismes provenant d'environnements inhabituels qualifiés extrêmes assurent une augmentation dans la perspective de découvrir de nouveaux composés avec des activités potentielles. En effet, les actinomycètes halophiles, un exemple type des extrémophiles, sont une source d'actinomycète moins explorée pour la découverte des nouvelles voies métaboliques à savoir la dégradation des composés organiques aliphatiques et aromatiques, la détoxification des polluants, la production des nouvelles enzymes et d'autres métabolites tels que les antibiotiques, les solutés compatibles et les bio polymères. En particulier, des nouveaux métabolites secondaires bioactifs dérivés des actinomycètes halophiles étudiés, principalement des habitats arides et salins, ont révélé la capacité énorme de ce groupe physiologique à produire des nouvelles entités chimiques bioactives. Les capacités métaboliques élevées combinées des actinomycètes et les caractéristiques uniques liées à la nature extrémophile des actinomycètes halophiles, leur ont conférées un rôle potentiel pour des futures applications biotechnologiques.

Mots clés : Environnements extrêmes, actinomycètes halophiles, potentialités biotechnologiques.

Abstract

Microbial communities and their distributions in specific environments are mainly determined by their biotic and abiotic conditions. Various microorganisms from unusual environments qualified extreme promise an increase in the prospect of discovering new compounds with potential activities. Indeed, halophilic actinomycetes, a typical example of extremophiles, are a less explored source of actinomycetes for the discovery of new metabolic pathways, such as: the degradation of aliphatic and aromatic organic compounds, the detoxification of pollutants, the production of new enzymes and other metabolites such as antibiotics, compatible solutes and biopolymers. In particular, new bioactive secondary metabolites derived from the studied halophilic actinomycetes, recovered from arid and saline habitats, have revealed the enormous capacity of this physiological group to produce new bioactive chemical entities. The combined high metabolic capacities of actinomycetes and the unique characteristics linked to the extremophilic nature of halophilic actinomycetes have given them a potential role for future biotechnological applications.

Key words: Extreme environment, halophilic actinomycetes, biotechnological potentials.

ملخص

يتم تحديد المجموعات الميكروبية وتوزيعها في بيئات خاصة من خلال ظروفها الحيوية ولا الحيوية حيث تعد مختلف الكائنات الحية الدقيقة الآتية من البيئات الغير عادية المؤهلة بأنها قاسية التي تضمن زيادة في احتمال اكتشاف مركبات جديدة ذات أنشطة محتملة. وفي الواقع، فإن الاكتنومييسات الهالوفيلية، التي تعتبر نموذج، هي صنف أقل اكتشافاً للبحث حول المسارات الأيضية الجديدة، مثل القدرة على تحليل المركبات العضوية الأليفاتية والعطرية، وإزالة السموم، وإنتاج إنزيمات جديدة ومركبات أيضية أخرى مثل المضادات الحيوية، المحاليل المتجانسة والمركبات الكيميائية الحيوية. على وجه الخصوص، فقد كشفت المركبات الأيضية الثانوية الجديدة النشطة بيولوجياً والمستمدة من الاكتينومييسات الهالوفيلية المدروسة حالياً، بشكل رئيسي في المناطق الجافة والمالحة، حيث لديهم القدرة الفسيولوجية العالية لإنتاج مركبات جديدة كيميائية نشطة حيويًا. إن القدرات الأيضية العالية للاكتينومييسات والخصائص الفريدة المرتبطة بالطبيعة القاسية للاكتينومييسات الهالوجينية أعطتها دوراً محتملاً للتطبيقات المستقبلية في البيو تكنولوجيا.

الكلمات المفتاحية: البيئة القاسية، الاكتينومييسات الهالوجينية، الإمكانيات البيوتكنولوجية.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Partie théorique

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Actinomycète : physiologie et distribution

I.1. Définition.....	03
I.2. Distribution.....	04
I.2.1. Milieu terrestre.....	04
I.2.2. Milieu marin.....	06
I.3. Classification.....	06
I.4. Taxonomie.....	07
I.4.1. Caractères morphologiques.....	07
I.4.2. Critères chimiques (chimio taxonomique)	09
I.4.3. Critères physiologique.....	12
I.4.4. Critères moléculaires	12
I.5. Croissance des actinomycètes	14

Chapitre II : environnements extrêmes et actinomycètes extrêmes

II.1. Les environnements extrêmes.....	15
II.2. Les facteurs physico-chimiques de limitation.....	20
II.2.1. Potentiel hydrogène (pH)	21

II.2.1.1 Classification des actinomycètes selon la concentration des protons	21
II.2.2 La température.....	24
II.2.2.1. Classification des actinomycètes selon la température.....	24
II.2.3. Activité d'eau	26
II.2.5. Radiation.....	27
II.2.6. La pression osmotique	28

Chapitre III : halophilie et halophilisme

III.1. Composition ionique et concentration en sel des environnements salins.....	30
III.1.1. Types des milieux hypersalés.....	30
III.1.1.a. Environnements thalassohalins.....	30
III.1.1.a. Environnements athalassohalins.....	31
III.1.2. Les lacs salés en Algérie.....	31
III.2. Microorganismes halophiles.....	32
III.2.1. Actinomycète halophile.....	33
III.3. Halophilisme et mécanisme d'adaptation.....	36

Chapitre IV : activités biologiques des actinomycètes

IV.1. Métabolisme général.....	39
IV.1.1. Métabolite primaire	40
IV.1.2. Métabolites secondaires.....	40
IV.2. Activités biologiques des actinomycètes.....	41
IV.2.1. Activités antimicrobiennes des actinomycètes.....	41
IV.2.1.1. Activité antibactérienne.....	42

IV.2.1.2. Activité antifongique.....	43
IV.2.1.2.a. Les infections fongiques.....	44
IV.2.1.2.b. Les antifongiques produits par les actinomycètes.....	45
IV.2.1.2.b.1. Les antifongiques les polyènes.....	46
IV.2.1.2.b.2. Les antifongiques non-polyéniques (Azolé, Fluorocytosine)	47
IV.2.2. Activité enzymatique.....	47
IV.2.3. Activités antagoniste.....	48
IV.2.4. Activité anticancéreuse.....	49
IV.2.5. Activité antivirale.....	49
IV.2.6. Activité antiparasitaire.....	49
IV.2.7. Activité antioxydant.....	49

Partie expérimentale
Matériels et méthodes

I. Matériels utilisés.....	51
I.A. Grands matériels.....	51
I.B. Petits matériels.....	51
I.C. Les solutions et colorants utilisés.....	51
II. Méthode de travail.....	52
II.1. Les échantillons de sols.....	52
II.2. Milieux de cultures.....	53
II.3. Dilution et ensemencement.....	54
II.4. Sélection des actinomycètes.....	54

II.5. Caractérisation morphologique des souches.....	56
II.6. Purification et conservation des actinomycètes.....	57
II.7. Identification biochimiques.....	57
Résultat et discussion	
I. Résultat d'isolement des souches actinomycétales.....	59
II. Biodiversité morphologique.....	69
II.1. caractère macromorphologique.....	70
II.2. caractère micro morphologique.....	76
III. Biodiversité biochimique.....	78
III.1. les zones d'inhibitions.....	112
Conclusion	
Les références bibliographiques	
Les annexes	

Liste des tableaux

	page
Tableau 1. Habitats de certains actinomycètes.	04
Tableau 2. Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol.	05
Tableau 3. Chimiotypes de parois.	10
Tableau 4. Principaux critères utilisés pour la taxonomie des actinomycètes.	13
Tableau 5. Les caractéristiques des milieux extrêmes où croissent les micro-organismes.	16
Tableau 6. La diversité des actinobactériens dont on signale qu'ils contiennent des membres pouvant être définis comme étant de bonne foi extrêmophiles ou extrêmotrophes.	20
Tableau 7. Des espèces thermophiliques d'actinobactéries.	25
Tableau 8. Actinomycètes halophiles modérées isolées de différents environnements salins.	35
Tableau 9. Les différentes classes d'antifongiques.	45
Tableau 10. Situation géographique des stations d'échantillonnage pris par GPS.	52
Tableau 11.A. Résultat d'isolement des actinomycètes à partir d'éch Oued.	59
Tableau 11.B. Dénombrement d'isolement des actinomycètes à partir d'éch Oued.	60
Tableau 12.A. Résultat d'isolement des actinomycètes à partir d'éch KH.	61
Tableau 12.B. Dénombrement d'isolement des actinomycètes à partir d'éch KH.	62
Tableau 13.A. Résultat d'isolement des actinomycètes à partir d'éch Ba.	63
Tableau 13.B. Dénombrement d'isolement des actinomycètes à partir d'éch Ba.	64
Tableau 14.A. Résultat d'isolement des actinomycètes à partir d'éch Bi.	65
Tableau 14.B. Dénombrement d'isolement des actinomycètes à partir d'éch Bi.	66
Tableau 15.A. Résultat d'isolement des actinomycètes à partir d'éch OM.B.	67
Tableau 15.B. Dénombrement d'isolement des actinomycètes à partir d'éch OM.B.	68

Tableau 16. Résultat de purification et caractère macromorphologique.	70
Tableau 17. Résultat de coloration de Gram.	76
Tableau 18. test d'hydrolyse de différentes macromolécules.	78
Tableau 19. Les activités enzymatiques.	110
Tableau 20.A. Activité caséinolytique.	112
Tableau 20.B. Activité lipolytique (dégradation de tween 80).	112

Liste des figures

	page
Figure 1. Arbre phylogénétique des actinomycètes.	07
Figure 2. Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes vivant.	08
Figure 3. Les caractéristiques morphologiques des spores dans les différents genres d'actinobactéries.	09
Figure 4. Cycle de développement des actinomycètes.	14
Figure 5. Les micro-organismes se développent dans des environnements extrêmes.	16
Figure 6. La mer Morte.	18
Figure 7. La source chaude de Boulder Spring se situe dans le parc national de Yellowstone en Etats-Unis.	19
Figure 8. Échelle de pH.	24
Figure 9. Arbre phylogénétique universel basé sur le séquençage du gène d'ARNr (16S).	33
Figure 10. Origine des produits microbiens bioactifs.	39
Figure 11. Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinobactéries.	41
Figure 12. Antibiotiques d'actinobactéries.	43
Figure 13. Stations d'études.	53
Figure 14. Les étapes suivies pour l'isolement des actinomycètes à partir d'échantillons de sol non traité.	55
Figure 15. Charge microbienne (Dénombrement) en UFC/g du sol en fonction du milieu utilisé.	69
Figure 16. Fréquence d'isolement des actinomycètes (Site).	75
Figure 17. Fréquence des activités enzymatique des actinomycètes isolés.	111

Liste des abréviations

% : pourcent.

°c : degré centigrade.

µm : micromètre.

‰ : pour mille.

3' : trois prime.

3'' : trois deux primes.

ADN : acide désoxy nucléotide

ARN : acide ribo nucléotide

ARNr : acide ribo nucléotide ribosomique

atm : atmosphère.

a_w : water activity.

Ba : Batna.

Bi : Biskra.

cm : centimètre

cm : centimètre.

E : est.

Ech : échantillon.

éch : échantillon.

ex : exemple.

g : gramme.

G : grossissement.

g/l : gramme / litre.

h : heure.

Ind : indénombrable.

ISOL : isolat.

isol : isolat.

ISP₂ m : ISP₂ modifié à base d'extrait de sol.

ISP₂ n : ISP₂ normal.

KH : kenchela.

kh: kenchela.

L : largeur.

l : longueur.

m : mètre.

MA : mycélium aérien.

max : maximum.

min : minimum.

min : minute.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

MS : mycélium de substrat.

N : nord.

N1' : n un prime.

N1'' : n deux primes.

NB : note bien.

ND : non déterminé.

nm : nanomètre.

O.S: oued souf.

OM.B : Om El Bouaghi.

opt : optimum.

ph : potentielle d'hydrogéné.

UFC : Unité Formant Colonies.

UV : ultraviolet.



Introduction



Introduction

Les microorganismes sont omniprésents dans notre environnement (le sol, l'air et les eaux) et ne cessent d'occuper une place de plus en plus importante dans notre vie et sont actuellement à l'origine de l'essor du domaine de la biotechnologie (**Smaoui, 2010**).

Les écosystèmes extrêmes dans lesquels la diversité bactérienne est faible telle que les milieux salés et xérophile. Ces systèmes sont caractérisés par l'absence de plusieurs formes de vie (environnement hostile au développement des formes courantes) et hébergent une microflore autochtone particulière et adaptée à ces habitats (**Boudjelal et Bencheikh.2012**).

Les microorganismes trouvés dans ces environnements ont suscité beaucoup d'attention, en raison de la production de différents composés naturels et en raison de leurs mécanismes spécialisés pour l'adaptation aux environnements extrêmes (**Singh et al.2012**), Pour s'adapter aux conditions salines, les bactéries halophiles ont développées diverses stratégies pour maintenir leur structure et leurs fonctions cellulaires. (**Vargas et al.2008**), cette adaptation concerne aussi les bactéries xérophiles dans les conditions déshydratés.

La taxonomie bactérienne, qui se définit comme l'étude des relations qui existent entre les bactéries, englobe leur classification, leur nomenclature et leur identification (**Prescott et al.2002**) ; Elle est extrêmement complexe, la classification avec les méthodes traditionnelles, qui sont basée sur les caractères morphologiques et physiologique a conduit à beaucoup de groupes hétérogènes. Récemment trois principales approches sont suggérées pour l'identification des espèces d'actinomycètes : la chimio-taxonomie, la différenciation phénotypique et l'étude moléculaire, la combinaison entre ces trois techniques donne des résultats plus complets (**Silva et al. 2013**). Les actinomycètes constituent l'ordre des actinomycètes (**Boudemagh.2007**), sont classées dans le Domaine des Bacteria ou Eubacteria, le Phylum des Actinobacteria, la Classe des Actinobacteria et la Sous-Classe des Actinobacteridae (**Euzéby., 2015**), elles sont filamenteuses, ramifiées constituées d'hyphes (**Bouchra et Sara.2015**) ; ont un mode de vie mycélien et subissent une différenciation morphologique complexe (**Barka et al. 2015**). Ils ont également un métabolisme secondaire étendu et produisent des molécules antimicrobiennes, l'origine de ces dernières, peut être naturelles, semi- synthétiques ou synthétiques (**Watve et al.2001**), environ les deux tiers de tous les antibiotiques utilisés en clinique courante, aussi bien que beaucoup de composés anticancéreux, anthelminthiques, et antifongiques (**Barka et al. 2015**).

Ces actinobactéries sont des microorganismes procaryotes ayant un pourcentage de guanine-cytosine élevé (supérieur à 55%) qui les différencie des autres bactéries. En outre, elles forment phylogénétiquement une branche à part et sont caractérisées par une très grande diversité morphologique, pouvant aller de la forme cocci à la forme mycélienne parfaite (**Goodfellow, 2012**). Si la plupart des actinobactéries sont chimioorganotrophes, mésophiles, neutrophiles, non halophiles, cependant, il existe une diversité physiologique importante au sein de cette communauté microbienne puisque l'on retrouve également des thermophiles, des psychrophiles, des alcalophiles, des acidophiles, des halophiles et des fixateurs d'azote (**Goodfellow et al.2012**). Cette grande diversité métabolique fait que les actinobactéries soient retrouvées dans divers environnements y compris les plus extrêmes (**Tiwari et Gupta, 2013**).

L'intérêt remarquable des actinomycètes par rapport à la production de molécules à activité antimicrobienne nous a poussés à choisir ce taxon comme substrat de notre étude et menée nos expériences dans le cadre de cet axe, à savoir les métabolites secondaires à effet antibactérien d'origine actinomycétales.

Pour cela, l'objectif principal de notre travail est d'étudier la taxonomie et potentielle antimicrobienne des actinomycètes halophiles dans les sols des milieux extrêmes en Algérie. Pour atteindre cet objectif, notre travail devait passer par deux phases :

- ✓ La première phase consiste à présenter une synthèse bibliographique sur les environnements extrêmes et adaptation microbienne, les halophiles et l'halophilisme ; puis renferme une généralité sur les actinomycètes, leur taxonomie et classification et leur intérêt, ainsi qu'un aperçu sur leurs métabolites bioactifs, spécifiquement sur les actinomycètes halophiles ; finalement elle contient les métabolismes et les différentes activités des actinomycètes.
- ✓ la deuxième partie porte, d'une part, sur la description des techniques expérimentales utilisées le long de ce travail et d'autre part, traite les résultats obtenus avec leur interprétation. Enfin, une conclusion et des perspectives.



Partie théorique





Synthèse
bibliographique





Chapitre 1



I.1. Définition

D'après **Waksman (1961)**, Ferdinand Cohn fut le premier à décrire un actinomycète en 1875 et en 1878, Harz, nomma *Actinomycesbovis*, un organisme parasite rencontré dans une infection de la mâchoire d'un bovin. Depuis, les actinomycètes ont été isolés des sols, des matières organiques en décomposition, des eaux, et de presque tous les habitats où la vie est possible (**Theilleux, 1993 ; Bergey's manual, 2007**).

D'après la science vraie, le mot actinomycète a été dérivé des mots grecs 'Aktis' qui veut dire rayon et 'mykes' qui signifie champignon. Cela explique leur dénomination : le mot « Actinomycètes » provient de deux substantifs grecs et désigné « Champignons à rayons » ou « Champignons rayonnants », expression utilisée pour les nommées en anglais (*Ray fungi*) et aussi en allemand et en russe (**Hubert et Lechevalier, 2019**).

Ce sont des bactéries Gram positif chimio-organotrophes dont l'ADN contient un pourcentage en GC supérieur à 50 %, Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyen est environ 2 à 3 heures (**Beckers et al. 1982**). Ils développent des filaments ramifiés dans la gélose formant un mycélium végétatif et à la surface de la gélose formant un mycélium aérien (conidies ou conidiospores). La plupart des actinomycètes sont immobiles, à l'exception des actinoplanes (**Locci, 2005**).

Le diamètre de l'Actinomycète est beaucoup plus petit (1 à 2 μm) que celui des branches des champignons, qui varie de 5 à 10 μm . Ainsi, actinomycètes se réfèrent également à Actinobacteria filamenteux et servent de lien entre les bactéries et les champignons car elles présentent une ressemblance avec les deux mais la sensibilité à des actinophages et à des antibactériens, les confirment le bien-fondé de la classification des Actinomycètes parmi les bactéries (**Theilleux, 1993**).

Les actinomycètes n'ont pas de membrane nucléaire, elles possèdent des organites flagellaires ressemblant à ceux des bactéries. Elles sont sensibles aux lysozymes et aux agents antibactériens ; le diamètre de leurs hyphes est plus petit que celui des champignons (**Beckers et al. 1982**).

En général, les actinomycètes sont des hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimio-auto trophique .Certaines ont des exigences nutritionnelles

tels que les vitamines et certains acides aminés. Ils colonisent fréquemment les substrats insolubles tels que le charbon (**Theilleux, 1993**) et peuvent dégrader les protéines, la cellulose et d'autres matières organiques comme la paraffine (**Sanglier et Trijillo M, 1997**) et les résidus des plantes dans le sol (**Lacey, 1997**). Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin, ils sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérants des températures avoisinant 50 °C et peuvent aller jusqu'à 60 °C (**Omura, 1992**). Les actinomycètes sont généralement considérés comme des bactéries telluriques à cause de leur large distribution et abondance dans le sol (**You et Park, 1996**).

I.2. Distribution

Les actinomycètes sont un groupe de bactéries omniprésent qui se produisent dans la multiplicité d'environnement naturel et synthétique. Ils se trouvent dans différentes niches tels que le sol, l'air, l'eau douce, les océans et sur une variété du matériel comme l'engrais, les résidus de végétaux de compost et des produits alimentaires (**kumar et al. 2003**) (**Tableau 1**)

Tableau 1. Habitats de certains actinomycètes (**Grigorova et Norris, 1990**)

Actinomycètes	Habitats
<i>Actinoplanes</i>	L'eau douce, la litière végétale, le sol.
<i>Frankia</i>	Les nodules racinaires des non légumineux.
<i>Micromonospora</i>	L'eau douce, les sédiments, les sols humides.
<i>Nocardiaamarae</i>	Les boues activées.
<i>Rhodococcuscoprophilus</i>	déjections animales, l'eau, le sol.
<i>Saccharopolysporarectivirgula</i>	Moisi du foin.
<i>Streptomyces</i>	Le sol, la litière végétale, l'eau.
<i>Thermoactinomyces</i>	Le compost.

I.2.1. Milieu terrestre

Les actinomycètes représentent le groupe de microorganismes le plus largement distribué dans la nature (**Narayana et al. 2008**). Dans le sol, de nombreuses actinomycètes sont

saprophytes et participent à la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus, tout comme les champignons. Les actinomycètes du sol sont surtout présents en surface, entre 0 et 2 m de profondeur (**Pizzul, 2006**). Ils produisent des substances spécifiques telles que la géosmine et le 2-méthyl isobornéol qui sont responsable de l'odeur caractéristique des sols (**Watson, 2006**).

Leurs proportions par rapport aux autres microorganismes roulent entre 10 et 50 %. Les genres *Streptomyces*, *Nocardia* et *Micromonospora* sont les plus fréquents, le genre *Streptomyces* couvre seulement 95 % des 5000 souches d'actinomycètes isolées à partir de 16 types de sols (**Tableau 2**) (**Lechevalier et Lechevalier, 1967**).

Tableau 2. Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol (**Lechevalier et Lechevalier, 1967**).

Genre	Pourcentage (%)
<i>Streptomyces</i>	95,34 %
<i>Nocardia</i>	1,98 %
<i>Micromonospora</i>	1,4 %
<i>Thermomonospora</i>	0,22 %
<i>Actinoplanes</i>	0,20 %
<i>Microbispora</i>	0,18 %
<i>Mycobacterium</i>	0,14 %
<i>Streptosporangium</i>	0,10 %
<i>Actinomadura</i>	0,10 %
<i>Micropolyspora</i>	0,10 %
<i>Pseudonocardia</i>	0,06 %
<i>Microellobosporia</i>	0,04 %

I.2.2. Milieu marin

Les actinomycètes sont aussi retrouvés dans les milieux aquatiques : dans les lacs, l'eau de mer, eau douces, les rivières et les ruisseaux (**Goodfellow et Williams, 1983**). Ainsi, on les trouve dans les sables de plages, des caves souterraines, des champs de riz, et des glaciers de l'antarctique (**Jayasinghe et Parkinson, 2008**). Elles sont plus facile à isoler où ils ont identifié les souches de *Microspora*, d'*Actinoplanes* et de *Streptosporangium* dans les milieux aquatiques. C'est essentiellement dans les sédiments des fonds fluviaux ou lacustres que ceux-ci sont présents où elles jouent un rôle important dans la décomposition des débris végétaux et donnent à l'eau son odeur de terre et sa saveur (**Andriambololona, 2010**).

I.3. Classification

Les actinomycètes appartiennent au règne des Procaryotes, à la division des *Firmicutes* et à la classe des *Thalobacteria*, contenant l'ordre des *Actinomycetales* (**Larpen, 2000**).

Dans la version 2004 du manuel de la systématique bactériologique (**Bergey**), l'ordre des *Actinomycetales* comptait 9 sous ordres, 38 familles et 121 genres. Les actinomycètes sont rattachées au phylum des *Actinobacteria*, à la classe des *Actinobacteria*, à la sous classe des *Actinobacteridae* et à l'ordre des *Actinomycetales* créés par **Buchanan** en 1917 dans **Bergey's manual (2007)**. Tous les membres de cet ordre sont caractérisés par leur grande teneur en G+C% allant de 51% chez certaines Corynebactéries, jusqu'à plus de 70% chez les genres *Streptomyces* et *Frankia* (**Ventura et al. 2007**).

Plusieurs réévaluations systématiques récentes de l'ordre reflètent l'intégration des données moléculaires (la séquence du gène ARNr 16s). Actuellement, le phylum *Actinobacteria* tel qu'il figure dans le **Bergey's manual (2007)** renferme une seule classe : *Actinobacteria*, cette classe est subdivisée en 5 sous classe, 6 ordres, 13 sous ordre (dont 9 appartiennent à l'ordre des *Actinomycetales*), 41 familles, 193 genres et près de 1711 espèces.

Les actinomycètes sont classées dans le domaine *Bacteria* et phylum des *Actinobacteria* selon le **Bergey's manual (2012)**, ce dernier phylum est subdivisé en 6 classes dont celle de *Actinobacteria*. Celle-ci se divise en 15 ordres dont les plus important sont ceux des *Actinomycetales* et *Streptomycetales* (**Goodfellow et al. 2012**).

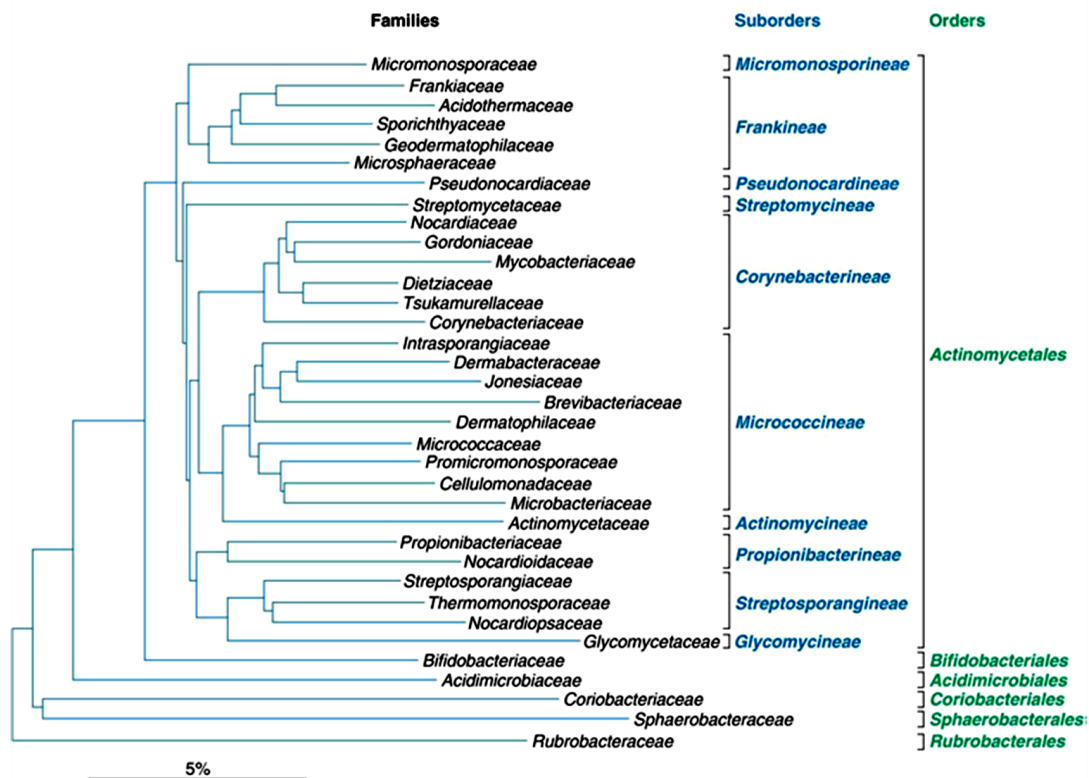


Figure 1. Arbre phylogénétique des actinomycètes (Prescott et al. 2003)

I.4. Taxonomie

La taxonomie des actinomycètes est basée sur plusieurs critères : morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires. L'identification des genres est devenue plus facile par les études morphologiques et chimiques tandis que les critères physiologiques et moléculaires séparent les espèces (Badji, 2006).

I.4.1. Caractères morphologiques

Les caractères morphologiques ont été définies par des caractéristiques culturales et micro-morphologiques. Les critères morphologiques sont énoncés dans les « Bergey's Manual » de 1989 et 1994 (Boudjella, 2007).

I.4.1.1. Caractères culturels ou macromorphologiques

D'après Sabaou (2006) et Boudjella (2007), les caractères culturels contribuent parfois dans la différenciation des genres d'actinomycètes entre eux. Parmi les caractères culturels importants :

- La production d'un mycélium aérien (MA) (cas de nombreux genres) ou non (ex *Actinoplanes*, *Micromonospora* et *Rhodococcus*).
- La présence ou non de mycélium du substrat (MS).
- La couleur du MA et du MS. La couleur exacte peut être définie à l'aide d'une charte de couleur.
- La production et la couleur des pigments diffusibles dans le milieu de culture.

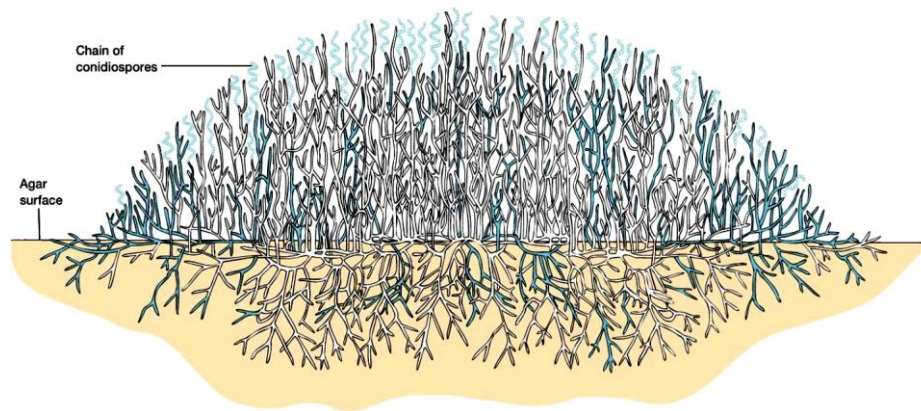


Figure 2. Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes vivant (bleu et vert) et morts (blancs) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores (**Prescott, 2010**).

I.4.1.2. Caractères micro morphologiques :

Les critères micro morphologiques importants (**Boudjella, 2007**).

- La fragmentation ou non du MS.
- La formation des spores exogènes sur le MA et/ou sur la MS, leur forme, leur taille, leur agencement (isolées, en chaînes), la présence ou non de sporophores et la surface des spores (lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue).
- La présence ou non des sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges, le nombre des spores par sporange et la longueur des sporangiophores.

- La présence des spores mobiles (ex : *Planomonospora*, *Planobispora*, *Spirillospora*, *Actinoplanes*) ou non mobiles (ex : *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, ainsi que de nombreux autres genres...).
- La formation des endospores (*Thermoactinomyces*) ou des structures spéciales telles que les synnemata (*Actinosynnema*), les sclérotes, etc...

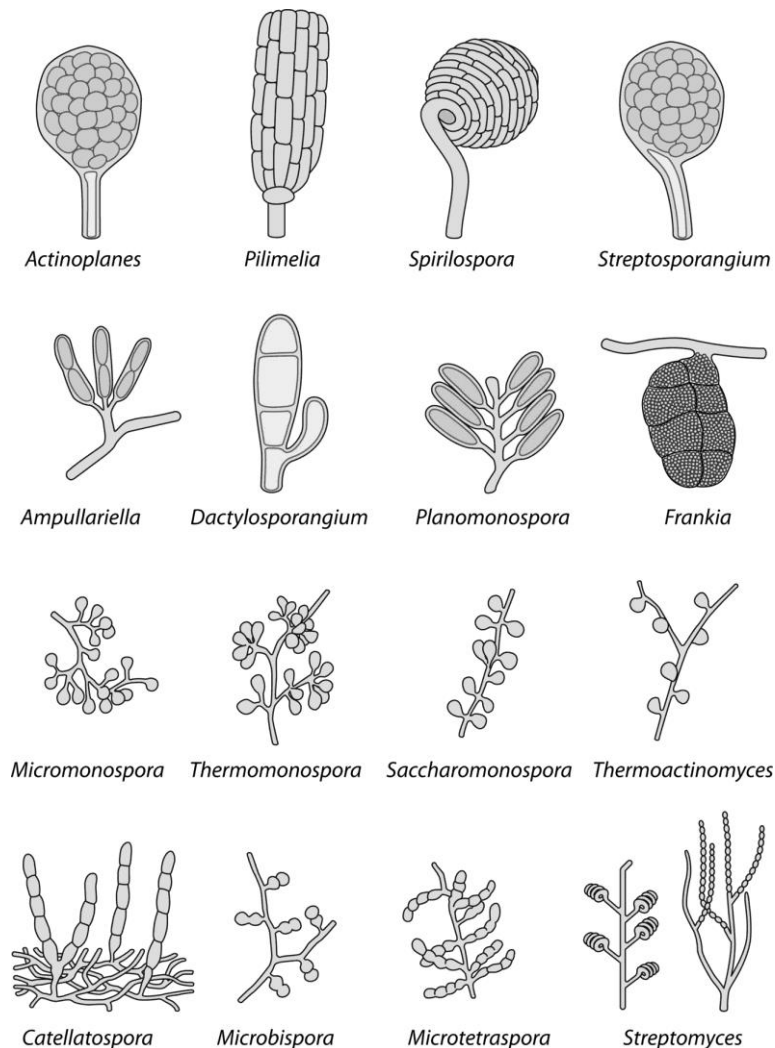


Figure 3. Les caractéristiques morphologiques des spores dans les différents genres d'actinobactéries (Barka et al. 2016).

I.4.2. Critères chimiques (chimio taxonomique)

Si les caractères morphologiques peuvent être insuffisants pour la détermination de certains genres, la nécessité d'une étude chimique ou chimio taxonomique des constituants de leur paroi cellulaire (Boudjella, 2007).

Becker et al. (1965) ont établi que les actinomycètes avaient une paroi cellulaire de composition très proche à celle des bactéries Gram positif et ont également indiqué que la composition chimique de la paroi cellulaire pourrait fournir des méthodes pratiques afin de différencier les genres d'actinomycètes.

I.4.2.1. Composition pariétale en acides aminés

La présence de l'isomère de l'acide diaminopimélique (DAP) est l'une des propriétés les plus importantes de la paroi cellulaire des bactéries Gram positif et des actinomycètes. Si le DAP est présent, les bactéries contiennent généralement l'un des isomères : la forme LL ou la forme *meso* (DL). Chez quelques actinomycètes, le DAP peut être remplacé par la lysine, l'ornithine ou l'acide diaminobutyrique (**Larpent, 2000**).

I.4.2.2. Composition cellulaire en sucres

Sur la base de la composition des cellules en acides aminés et en sucres, plusieurs Chimiotypes ont ainsi été définis.

Tableau 3. Chimiotypes de parois (**Larpent, 2000**).

Type	Genres
Type I : LL- DAP, Glycine	<i>Streptomyces, Streptovercillium, Nocardioides, Intrasporangium, Kineosporia, Sporichthya, Arachnia, Pimelobacter</i>
Type II : mesoDAP, Glycine, arabinos	<i>Micromonospora, Glycomyces, Actinoplanètes (ActinoplaneAmpullariella, Catellatospora, Dactylosporangium, Pilimelia)</i>

Type III : mesoDAP, Galactose	<i>Thermomonospora, Spirillospora, Thermoactinomyces, Nocardiosis, Streptosporangium, Geodermatophilus, Microtetraspora, Brevibacterium, Dermatophilus, Frankia, Maduromycètes (Actinomadura, Microbispora, Microtetraspora, Planobispora, Planomonospora, Streptosporangium) Saccharothrix, Streptoalloteichus, Nocardia, Corynebacterium, Mycobacterium, Actinobispora, Caseobacter, Rhodococcus</i>
Type IV : mesoDAP, Arabinose, Galactose	<i>Kibdelosporangium, Actinopolyspora, Amycolata, Amycolatopsis, Saccharopolyspora, Kibdelosporangium, Pseudonocardia, Saccharomonospora.</i>
Type V : Lysine, Ornithine	<i>Actinomycesisraelii</i>
Type VI : Lysine, Acide aspartique	<i>Actinomycesbovis, Microbacterium, Oerskovia, Promicromonospora, Arcanobacterium</i>
Type VII : DAB Glycine, Lysine (+/-)	<i>Agromyces, Clavibacter</i>
Type VIII : Ornithine	<i>Aureobacterium, Curtobacterium, Cellulomonas</i>

Toutes les parois contiennent les molécules suivantes : glucosamine, acide muramique, alanine, acide glutamique. **DAP** : acide diaminopimélique, **DAB** : aide diaminobutyrique.

I.4.2.3. Composition en lipides

Les lipides présentent la partie majoritaire de la composition chimique. Cinq profils phospholipidiques caractéristiques des Actinomycètes ont été définis (**Leveau et Bouix, 1993**). De même que quatre profils des acides gras présentent en des chaînes qui peuvent être droites ou ramifiées et saturées ou insaturées. Elles sont caractérisées aussi par la présence des acides mycoliques (des composés pariétaux) constitués de 20 à 90 carbones, présentés uniquement chez certains genres, tels que *Mycobacterium* (80 carbones), *Nocardia* (50 °C) et

Corynebacterium (30 °C) .Les ménaquinones présentent au niveau de la membrane plasmique et jouent un rôle dans le transport des électrons et dans la phosphorylation oxydative (**Leveau et Bouix, 1993**).

I.4.3. Critères physiologique

De plus aux caractères morphologiques, la détermination des espèces se base également sur les caractères physiologiques. Ceux-ci consistent sur des tests de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques, protidiques, et polymères complexes, etc. D'autres tests interviennent parfois dans la détermination des espèces comme la résistance à certains agents antimicrobiens et la tolérance à des conditions extrêmes (température, pH, salinité, etc.) (**Boudjella, 2007**).

I.4.4. Critères moléculaires

Depuis que la biologie moléculaire a fait son apparition, vers le début des années 1980, les tests de routine commencent lentement à être remplacés par les techniques moléculaires. Grâce à la biologie moléculaire, plusieurs alternatives sont maintenues possibles dans un délai de quelques jours seulement à comparer à quelques semaines avec les méthodes traditionnelles. Parmi les principales techniques moléculaires utilisées en taxonomie, nous citons l'analyse des séquences de l'ADN codant pour l'ARN ribosomique 16S (ARNr 16S), l'hybridation ADN-ADN, la détermination du pourcentage de guanine-cytosine (GC%), ainsi que l'analyse des séquences des protéines ribosomiques (**Belyagoubi, 2004**).

Tableau 4. Principaux critères utilisés pour la taxonomie des Actinomycètes (**Belyagoubi, 2004**)

Critères taxonomiques	
Critères morphologiques et fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> -Hyphes : présence, abondance et disposition des hyphes du mycélium végétatif ou d'un mycélium aérien. -Spores : nombre, mobilité, forme, position sur les hyphes. -Présence de sporanges. -Présence de sclérotés ou de synnématas. -Résistance des spores à la chaleur. -Résistance aux traitements acides.
Critères chimiotaxonomiques	<ul style="list-style-type: none"> -Composition du peptidoglycane. -Composition en sucre cellulaire. -Composition phospholipidique des membranes. -Production des antibiotiques. -Tests biochimiques : <ul style="list-style-type: none"> Réduction du nitrate. Hydrolyse de l'urée. Hydrolyse de l'acide hyppurique. -Synthèse de mélanine (<i>Streptomyces</i>)
Critères génomiques	<ul style="list-style-type: none"> -GC% de l'ADN. -Digestions de l'ADN et analyse par électrophorèse en champ pulsée (DGGE). -Séquençage de l'ARNr 16S.

I.5. Croissance des actinomycètes

Tout comme les eucaryotes multicellulaires, les actinomycètes possèdent un cycle de vie qui résume de trois processus physiologiques majeurs : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire puis la mort (**Danilenko et al. 2005**). La différenciation morphologique s'accompagne avec une différenciation métabolique. Le métabolisme secondaire se met en place donnant lieu à la biosynthèse des composés d'une extraordinaire diversifiée de structure et d'activité biologique (**Choulet, 2006**).

Les actinomycètes ont un cycle de développement complexe (**Figure 4**). Il débute par la germination d'une spore qui donne la naissance d'un mycélium primaire formé d'hyphes qui se ramifient. Le développement du mycélium de substrat vers la partie superficielle donne le mycélium "secondaire" ou aérien et les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores qui sont des agents de dissémination (**Kim et al. 2004**).

Sur un milieu solide, les sporoactinomycètes produisent un ou plusieurs mycéliums de substrats (MS), ramifié et non fragmenté, suite à la germination d'une spore et se développent par croissance apicale (**Horinouchi, 2002**). La longueur des filaments mycéliens varie de 0,5 à 2 μm . Leur ramification est très souvent monopodiale mais parfois dichotomique ou verticillée (**Theilleux, 1993**).

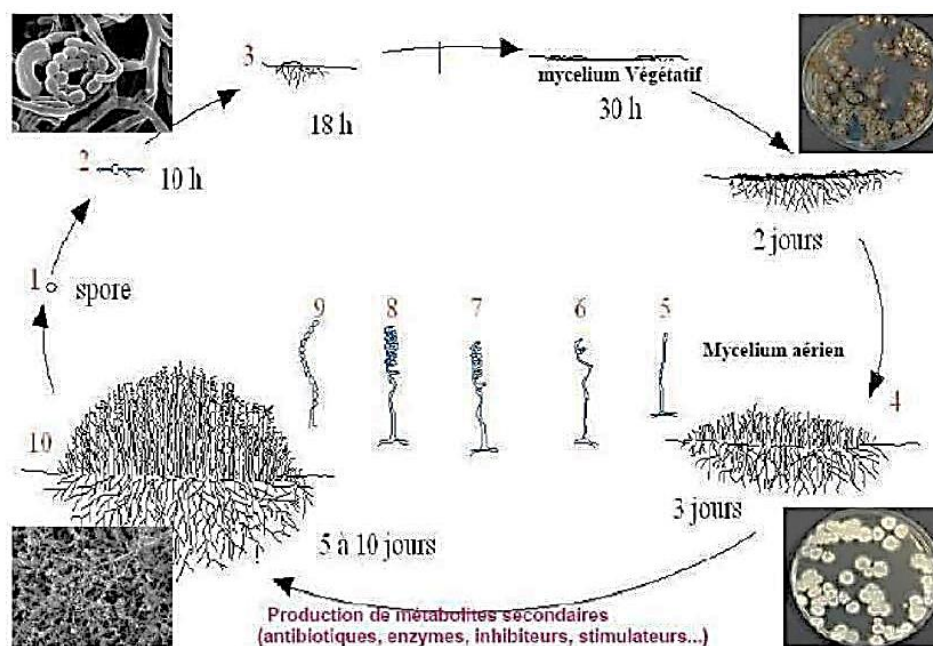


Figure 4. Cycle de développement des actinomycètes (**Choulet, 2006**)



Chapître 2



II.1. Les environnements extrêmes

Dans les habitats microbiens, une population de cellules vit rarement seule. Les composants et le nombre des cellules dans une communauté microbienne sont gouvernés par les ressources et les conditions existantes dans un habitat où elles vivent et interagissent avec d'autres populations au sein d'une communauté microbienne (**Madigan et Martinko, 2007**).

Les écosystèmes où vivent des micro-organismes présentent des conditions environnementales qui peuvent largement varier. De particulier, le stress est l'un des effets les plus importants sur les populations et les communautés microbiennes (**Figure 5**) et peuvent constituer un environnement extrême (**Prescott et al. 2002**).

La planète Terre présente un grand nombre et une grande diversité d'environnement que l'on peut qualifier extrême soit en termes géochimiques (pH, salinité, humidité), soit physiques (température, pression, rayonnement) et soit les deux déterminants (**Jensen et Lauro, 2008 ; Mesbah et Wiegel, 2012**).

Les microbes, particulièrement les bactéries et les archéobactéries, vivant dans des habitats extrêmement variés. On les trouve autant dans le désert de glace qu'est l'Antarctique que dans les sources thermales les plus chaudes. Des microbes ont été isolés de roches situées à plus de un kilomètre sous la croûte terrestre, de même que de l'atmosphère raréfiée qui existe à des milliers de mètres d'altitude. Des microbes se trouvent dans les eaux claires des ruisseaux de montagne alimentés par des glaciers et dans les eaux salines presque saturées, comme celles de la mer morte. Grâce à leur diversité métabolique caractérisée par leur capacité à utiliser une large gamme de sources de carbone et d'énergie et à croître dans des conditions très variées (**Tortora et al. 2003**).



Figure 5. Les micro-organismes se développent dans des environnements extrêmes (**Prescott et al. 2002**).

À droite, une source chaude colorée en vert et bleu suite à la croissance de cyanobactéries.
 À gauche, un point d'écoulement acide d'une mine dans un ruisseau.

Les microbiologistes utilisent le terme « extrêmophile » pour décrire les microorganismes qui vivent dans des conditions extrêmes dans lesquelles d'autres formes de vie ne peuvent pas résister, le terme « extrêmophile » pour décrire les microorganismes qui peuvent survivre, mais ne croissent pas dans ces environnements (**Tortora et al. 2003**).

Tableau 5. Les caractéristiques des milieux extrêmes où croissent les micro-organismes (**Prescott et al. 2002**).

Stress	Conditions environnementale	Microorganisme observée
Température élevée	110-113°C, fosses marines profondes	<i>Methanopyrus kandleri</i> <i>Pyrolobus fumarii</i>
	67-102°C, fonds marins	<i>Pyrococcusabyssi</i>
	85°C, sources chaudes	<i>Thermus, Sulfolobus</i>
	75°C, sources chaudes sulfureuses	<i>Thermothrix thiopara</i>
Basse température	-12°C, glace antarctique	<i>Psychromonas ingrahamii</i>
Stress osmotique	13-15% en NaCl 25% en NaCl33	<i>Chlamydomonas, Halobacterium</i> <i>Halococcus</i>

pH acide	pH 3.0 ou moins pH 0.5 pH 0.0	<i>Saccharomyces</i> <i>Thiobacillus</i> <i>Picrophilus oshimae</i> <i>Ferroplasma acidarmanus</i>
pH basique	pH 10.0 ou plus	<i>Bacillus</i>
Peu d'eau disponible	$a_w = 0.6 - 0.65$	<i>Torulopsis</i> , <i>Candida</i>
Température et pH bas	85°C. pH 1.0	<i>Cyanidium</i> <i>Sulfolobus acidocaldarius</i>
Pression	500-1.035 atm	<i>Colwelliahadaliensis</i>

II.1.1. Les lacs salés (salted lakes)

Les lacs qui présentent une teneur en sel qui excède 3 ‰ (pour mille), sont considérés comme des lacs salés ou salins. Généralement, ce type de lacs sont situés dans des cuvettes ou bassins endoréiques sous climat semi-aride ou aride. Si les apports d'eau reçus par les précipitations sont égaux à la profondeur moyenne du lac, il s'établit un équilibre avec une salinité constante. Cet équilibre constitue une règle générale pour les lacs endoréiques profonds (Dites Chott ou Sebka) (Menasria et al. 2018). Dans certains cas, la salinité peut présenter des valeurs considérables. Elle atteint 230 ‰ au lac d'Urmia et s'élève à 298 ‰ dans la mer Morte (Ramade, 2008). Certains lacs, comme le Grand lac salé ou la mer Morte ont un haut degré de salinité où ils n'ont de déversoir ni sur une rivière ni sur une mer ouverte. La salinité est due à l'évaporation de l'eau laissant le sel dont la concentration augmente au fil du temps. Après plusieurs centaines ou plusieurs milliers d'années, la concentration saline de ces lacs atteint celle des océans et parfois la dépasse. Les cristaux de sel sont extraits des lacs ou des milieux marins grâce à l'aménagement de marais salants. La forte salinité de ces habitats provoque la croissance des bactéries halophiles comme *Halobacterium* spp (Perry et al. 2004).



Figure 6. La mer Morte (Sapin, 2009)

II.1.2. Les banquises

La banquise est un écosystème microbien particulier se développe dans les mers des régions polaires de la terre : la communauté microbienne des glaces marines, la banquise (SIMCO : sea ice microbial community) où cet habitat se constitue dès le début du printemps, lorsque le soleil éclaire les régions polaires (**Perry et al. 2004**). La banquise qui peut atteindre au moins deux mètres d'épaisseur est colonisée par des algues, des bactéries et des protozoaires.

Ces organismes se développent dans les 10 ou 20 cm de glace situées au-dessus de la surface de l'eau où la température y est inférieure au point de solidification de l'eau de mer (-18°C). Les micro-organismes peuvent se développer dans ces conditions en occupant des poches d'eau salée piégées entre les cristaux de glace (**Prescott et al. 2002**). Cette communauté microbienne est importante sur terre de fait cette une étendue des banquises. Dans un an, près de 10 % de la surface des océans sont recouvert de glace. La SIMCO compte pour environ un tiers de la production primaire des environnements marins polaires (**Perry et al. 2004**).

II.1.3. Écorce terrestre

Elle est constituée par une association de minéraux dont la structure élémentaire est des roches (**Ramade, 2008**). Bien que, les roches ne soient pas perçues comme des milieux propices au développement d'organismes vivants mais elles représentent un habitat courant pour les micro-organismes. De même, une roche la plus inhospitalière située dans le désert le plus sec peut héberger des micro-organismes. La croissance des micro-organismes à la surface des roches, associée à des facteurs physiques et chimiques (comme le gel, l'action des vents, les

pluies acides), cause l'érosion des roches (Perry et al. 2004).

II.1.4. L'environnement souterrain

L'environnement souterrain qui s'étend de la partie aphotique des sols jusqu'à une profondeur de 1Km ou plus, est l'un des plus méconnu de la terre (Menasria, 2020). Il a été suggéré que, dans ce milieu, la production primaire proviendrait de sources d'énergie géochimique comme le sulfure et l'hydrogène émanant de sources chaudes souterraines. Ces sources d'énergie peuvent être respectivement utilisées par les réducteurs de sulfate et les méthanogènes, permettant la fixation du dioxyde de carbone pour former la biomasse cellulaire utilisée comme source d'énergie par les micro-organismes « fermentatifs » (Perry et al. 2004). Les activités de production primaire son mal connues en raison des difficultés à étudier ces environnements. Compte tenu de son étendue, il est probable que cet environnement est un des principaux et des plus anciens, ou dominant des producteurs primaires bactériens et archéobactériens (Madigan et Martinko, 2007).

II.1.5. Cheminées hydrothermales

Il existe deux grands types d'environnements hydrothermaux, les sources chaudes et les cheminées hydrothermales qui font partie des phénomènes les plus intéressants de notre planète. Les tapis microbiens ont été évoqués plus haut comme exemple de communautés microbiennes des sources chaudes (Madigan et Martinko, 2007).



Figure 7. La source chaude de Boulder Spring se situe dans le parc national de Yellowstone en Etats-Unis (Madigan et Martinko, 2007).

II.2. Les facteurs physico-chimiques de limitation

Les extrémophiles sont des micro-organismes qui sont adaptés pour se développer de façon optimale dans les plages extrêmes de température, de pH, de pression et/ou de salinité. En revanche, une collection beaucoup plus importante de micro-organismes est capable de tolérer des conditions extrêmes et, en outre, de se développer, mais pas nécessairement de manière optimale, dans des conditions de forte exposition aux rayonnements, de dessiccation élevée/de faible humidité (Mueller et al. 2005 ; Lefebvre et al. 2005).

Les actinobactéries sont connues pour sa croissance non seulement dans des environnements normaux, mais aussi dans des environnements extrêmes, caractérisés par un pH acide/alcalin, des températures basses ou élevées, une salinité, un rayonnement élevé, de faibles niveaux d'humidité disponible et des nutriments (Mueller et al. 2005). La physiologie diverse et la flexibilité métabolique des actinobactéries extrémophiles/extrémotolérantes les permettent de survivre dans des conditions hostiles et défavorables. La forte abondance des espèces actino bactériennes a été enregistrée dans tous les milieux extrêmes (Button, 2004).

Tableau 6. La diversité des actinobactériens dont on signale qu'ils contiennent des membres pouvant être définis comme étant de bonne foi extrémophiles ou extrémotrophes (Button, 2004).

Catégorie	Croissance		
	Minimum	Optimum	Maximum
Thermophilie			
Modéré Extrême	> 35°C	≤50°C	> 60°C
Hyper	> 60°C	> 65°C > 80°C	< 85°C ≤85°C
Psychrophilie	< 0°C	< 10°C	ca. 20°C
Psychrotrophie		7–15°C	
Acidophile			
Modérément	pH 4	pH 6	
Obligatoire	pH 0	pH ≤ 4	

Acidiphilie			
Modérément	pH < 7,5	pH > 8,5	pH ≤ 10
Obligatoire	pH ≤ 7,5	pH > 8,5	pH ≤ 10
Halophile	Na Cl 1 M	Na Cl ≤ 1,5 M	
Modéré Extrême	Na Cl ≤ 1,5 M	Na Cl ≤ 2,5 M	
Halotrophie		Na Cl ≤ 0,25-1,5 M	Na Cl < 2,5 M
Piézophilie		≤40 MPa	ca. 110 MPa
Piézotrophie		≤40 MPa	
Oligotrophie		<i>s</i> ≤ mg L ⁻¹	nM
Tolérance à l'irradiation			60 Gy h ⁻¹

II.2.1. Potentiel hydrogène (pH)

Le pH est une mesure de l'activité des ions hydrogène d'une solution, l'action du pH se situe à trois niveaux : le milieu, la perméabilité membranaire et l'activité métabolique. Il n'est pas surprenant que le pH affecte dramatiquement la croissance bactérienne, chaque espèce se développe dans une gamme définie de pH et à un pH optimal de croissance (**Prescott et al. 2002**).

II.2.1.1. Classification des actinomycètes selon la concentration des protons

II.2.1.1.a. Alcaliphile

On sait depuis longtemps que les actinobactéries prospèrent dans les lacs sodiques, les lacs salés alcalins et les sols alcalins. Leur présence a également été observée dans des environnements neutres. Les actinobactéries alcalo-tolérantes aux alcalis sont capables de se développer dans une gamme relativement plus large d'environnements et du pH neutre au pH

alcalin. Les actinobactéries alcaliphiques sont donc classées en trois grands groupes : les actinobactéries alcaliphiques (croissance optimale à pH 10-11), les actinobactéries modérément alcaliphiques (croissance dans un intervalle de pH de 7-10) mais dont la croissance est faible à pH 7,0 et les actinobactéries alcali tolérantes (croissance dans un intervalle de pH entre 6 et 11) (**Jiang et Xu, 1993**). **Baldacci (1944)** a présenté le premier rapport sur les actinobactéries alcaliphiles. Par la suite, **Taber (1960)** a isolé des actinobactéries alcaliphiles du sol.

La présence d'actinobactéries alcaliphiques et alcalitolérantes a été signalée dans divers habitats, y compris les sédiments d'eau profonde (**Yu et al. 2013**), les sols désertiques alcalins (**Li et al. 2006**) et les lacs sodés (**Groth et al. 1997**). Par la suite, les positions taxonomiques et les applications des actinobactéries alcaliphiles dans divers domaines ont été décrites par (**Groth et al. 1997**) et (**Duckworth et al. 1998**).

Certaines espèces actino bactériennes alcaliphiles appartenant au genre *Streptomyces* (**Mikami et al. 1982**), *Micromonospora* (**Jiang et Xu, 1993**), *Nocardioides* (**Yoon et al. 2005**), *Microcella* (**Tiago et al. 2005**), *Cellulomonas* (**Jones et al. 2005**), *Nesterenkonia* (**Luo et al. 2009**), *Streptosporangium* (**Gurielidze et al. 2010**), *Corynebacterium* (**Wu et al. 2011b**), *Georgenia* (**Srinivas et al. 2012**), *Nocardioopsis*, *Isoptericola*, *Nesterenkonia* (**Ara et al. 2013**), *Saccharomonospora* (**Raut et al. 2013**), *Saccharothrix* (**Jani et al. 2014**) et *Arthrobacter* (**Kiran et al. 2015**) ont été bien isolés et caractérisés. Parmi eux, le genre *Nocardioopsis* s'est révélé prédominant dans les milieux alcalins (**Ara et al. 2013**). Les alcaliphiles contiennent les polymères de paroi cellulaire chargés négativement qui stabilisent la membrane cellulaire en réduisant la densité de charge à la surface cellulaire (**Wiegel et Kevbrin, 2004**).

II.2.1.1.b. Acidophile

Les termes acidophile et Acid tolérant actinomycètes ont apparu dans la littérature au tour du siècle dernier dont les caractéristiques logiques éco-spécifiques d'acidophile actinomycètes et leur contribution à l'activité du sol complexe microbien restent spontanées (**Khan et Williams, 1975**).

Les actinomycètes acidophiles les plus souvent trouvées étaient des représentants du genre *Streptomyces* (**Kim et al. 2004**). Elles sont rattachées à leur prédominance significative dans presque tous les sols (**Zvyagintsev et Zenova, 2001**). La présentation du complexe actinomycète du sol acide sous une culture de thé, parmi l'acidotolérant actinomycètes,

streptomycètes sont plus fréquemment identifiées et trouvées parmi les acidophiles, non cardioformique actinomycètes et représentants de l'Actinoplanes et du genre Glycomyces (Nioh et al. 1995). L'utilisation de phylogénétique et de chimio taxonomique analyses a permis l'identification des acidophiles actinomycètes dans les sols du genre Strepto-acidophilus (Goodfellow et Kim, 1999). L'occurrence d'acidophile actinomycète dans les sols de forêt acides peut arriver 90 de la population totale a révélé (Jiang et Xu, 1993). Par conséquent, d'autres études ont montré que le nombre d'actinomycètes acidophiles isolés de différents sols pouvait être petit ou grand selon le sol et l'acidité. Dans les sols sous les forêts de pins, la présence d'actinomycètes acidophiles était de 80% parmi tous les actinomycètes isolés. Par contre, dans les sols sous de larges forêts de feuillus et de conifères et les sols labourés étaient de 63% et 33% d'actinomycètes acidophiles, respectivement (Kim et al. 2004).

II.2.1.2. Mécanismes d'action du pH

La tolérance effective d'un micro-organisme vis-à-vis du pH dépend dans une certaine mesure de la composition chimique du substrat qui est à sa disposition. Sur un milieu à base de cellulose, les Actinomycètes se développent difficilement en dehors de l'intervalle de pH 6,0 -7,0. Par contre, sur un substrat glucosé, la gamme de pH toléré est beaucoup plus large (Benhadj, 2018). Donc l'inhibition du développement des micro-organismes aux pH qui leur sont défavorables ne résulte pas directement de la teneur élevée du milieu en ions H⁺ ou OH⁻, mais de l'influence indirecte du pH sur la pénétration dans les cellules microbiennes de composés toxiques présents dans le milieu. Le pH agit aussi indirectement en modifiant l'assimilabilité des différents composés nutritifs minéraux ou organiques (Menasria et al. 2018).

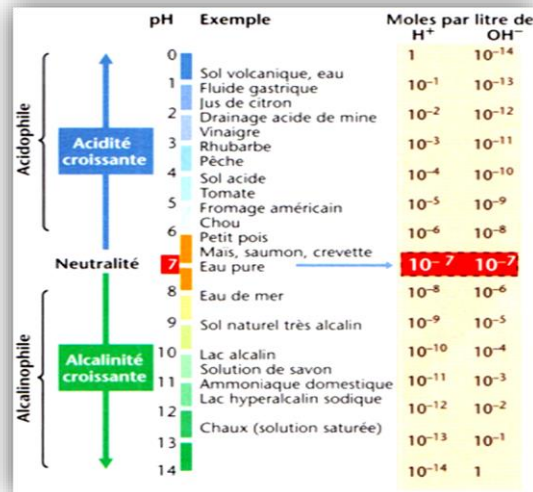


Figure 8. Échelle de pH. Bien que certains micro-organismes vivent à des pH très faibles ou très élevés, le pH interne des cellules est proche de la neutralité (**Madigan et Martinko, 2007**).

II.2.2 La température

Les micro-organismes comme tous les êtres vivants, sont profondément affectés par la température de leur environnement. En effet, ils sont particulièrement sensibles car ils sont habituellement unicellulaires et leur température varie avec celle du milieu extérieur (**Prescott et al. 2002**). Pour ces raisons, la température est l'un des paramètres environnementaux les plus importants vis-à-vis l'impact sur la croissance et la survie des micro-organismes où elle va favoriser, inhiber ou bien arrêter définitivement le développement cellulaire ou même tuer les micro-organismes (**Bourgeois et al. 1996**). Si elle est trop basse ou trop élevée, les micro-organismes ne se développeront pas. Néanmoins, selon les micro-organismes et leur habitat d'origine, ces températures minimales et maximales varient énormément (**Madigan et Martinko, 2007**).

II.2.2.1. Classification des actinomycètes selon la température

II.2.2.1.a. Psychrophile

Seuls les micro-organismes dont la croissance optimale est égale ou inférieure à 10°C sont définis comme des psychrophiles obligatoires. Alors que, de nombreuses actinobactéries se développent sur de larges intervalles de températures (0°C à > 28°C) mais de manière optimale uniquement au-dessus de 10°C. (**Helmke et Weyland, 2004**) ont proposé le terme psychrophile modéré pour les micro-organismes ayant un $T_{\min} \leq 0^{\circ}\text{C}$, $T_{\max} \leq 25^{\circ}\text{C}$, et un

$T_{opt} > 10^{\circ}\text{C}$. Cette base a permis de déterminer des actinomycètes cryotolérants tels que *Modestobacter multiseptatus* (Mevs et al. 2000).

Subtercola boreus, *S. frigoramans* et *S. xinjiangense* doivent être classés comme psychrophiles modérés. Ces espèces récupérées de la cryosphère sont eurythermiques, c'est-à-dire qu'elles sont adaptées pour croître sur une large gamme de températures. En revanche, les actinobactéries sténothermiques adaptées au froid se développent dans une gamme de températures plus étroite (Mannisto et al. 2000 ; Zhang et al. 2008).

II.2.2.1.b. Thermophile

Les méthodes indépendantes de la culture ont montré pour la première fois qu'une grande diversité d'actinobactéries peut être trouvée dans des environnements à des températures bien élevées que 81°C où on trouve des actinobactéries thermophiles qui ont été isolées dans ces sources chaudes (Chen et al. 2004 ; Song et al. 2009).

Tableau 7. Des espèces thermophiliques d'actinobactéries.

Actinobacteria	Condition de croissance		Location d'isolement	Références
	$^{\circ}\text{C}$	Ph		
<i>Georgeniasediminis</i> SCSIO15020T	24–60	6–10	Sédiments de mer, Autriche.	(You et al. 2013).
<i>Actinokineosporasoli</i> YIM75948T	25–55	7–9	Échantillon de sol, China.	Tang et al. 2012
<i>Acidithiomicrobium</i> sp	50	3	Environnements géothermiques.	(Norris et al. 2011).
<i>Aciditerrimonasferrireducens</i> IC-180T	35–58	2.0–4.5	Champ solfatarique, Japon.	(Itoh et al. 2011).

<i>Streptomyces Calidiresistens</i> YIM7808T	40–65	7.0	Sédiment de source chaude, sud-ouest de la Chine.	(Duan et al. 2014).
<i>Thermotunicaguangxiensis</i>	37–65	6–9	Compost de résidus de champignons, China.	(Wu et al. 2014b).
<i>Amycolatopsisruanii</i> NMG112T	20–50	4–10	Échantillon de sol.	(Zucchi et al.2012).

II.2.3. Activité d'eau

Tous les micro-organismes, bactéries ou archéobactéries nécessitent de l'eau pour survivre. La présence et la disponibilité de l'eau est un facteur déterminant pour la colonisation d'un environnement naturel (Perry et al. 2004). L'eau présente une source de vie et sa disponibilité est l'un des paramètres importants qui influent la croissance des micro-organismes dans l'environnement (Madigan et Martinko, 2007). L'eau influence de façon majeure sur la croissance des actinomycètes qui permet à celles d'occuper une niche écologique importante tels que les xérophiles (Madigan et Martinko, 2007).

II.2.3.a. Xérophile

Les mesures de l'activité de l'eau (AW : water activity) (rapport entre la pression de vapeur de l'échantillon et celle de l'eau pure) prises sur les sols du désert d'Atacama (Yungay) ont été jugées trop faibles pour favoriser la croissance microbienne et même le maximum diurne des concentrations de 0,52 était inférieur à l'AW le plus bas signalé pour la croissance microbienne (Connon et al. 2007). Ces auteurs suggèrent que les communautés microbiennes dans cet environnement extrême peuvent présenter une croissance périodique coïncidant avec de rares épisodes de précipitations. Des études similaires sur la diversité des communautés hypolithiques dans les déserts hyper arides de Chine ont été corrélées avec la disponibilité d'eau liquide mais pas seulement avec la température ou les précipitations (Pointing et al. 2007).

Costello et al. (2009) ont mené des études sur les sols non mutuels de la vallée sèche de l'Antarctique, du désert d'Atacama et du Socoma Volcan et concluent que les actinobactéries dominent les communautés bactériennes qui existent au-dessous de la limite sèche de la photo autotrophie.

II.2.4. Pression atmosphérique

Dans l'environnement marin, la majorité des micro-organismes piézophiles ou barophiles ont été isolés des profondeurs océaniques. Ils sont confrontés à trois paramètres inhabituels : basse température, haute pression et faibles nutriments (**Lauro et al 2007**).

II.2.4.a. Piézophile

De nombreuses actinobactéries d'eau profonde se développent à basse température, mais à ce jour, on ne connaît pas de membres strictement psycho-philiques. Une situation similaire existe en ce qui concerne la pression : des actinobactéries piézophiles obligatoires n'ont pas encore été signalées mais des membres d'une grande diversité taxonomique ont été isolés par notre groupe à partir de profondeurs abyssales et hadaliennes, y compris l'extrémité de la fosse Mariana (**Pathom-aree et al. 2006a**). Certaines de ces souches (isolées à la pression atmosphérique) croissent bien à des pressions aussi élevées que 40 MPa (**Heald et al. 2001**). Alors qu'on trouve des espèces comme *Dermacoccus abyssi* qui peuvent être croître à des pressions élevées plus supérieure à celle à la pression atmosphérique (**Pathom-aree et al. 2006b**). Les actinobactéries sont également présentes dans les sédiments des fonds marins, parfois sous forme de populations dominantes (**Bull et al. 2005**). **Lauro et al (2007)** ont été isolés et identifiés des premiers piézophiles à Gram positif (*Carnobacterium*).

II.2.5. Radiation

De nombreux micro-organismes de la catégorie des extrémophiles sont connus par leur capacité de survivre au rayonnement ultraviolet (UV) intense ou à une forte dose de rayonnement ionisant. Des études ont identifié un modèle radio-tolérant chez les actinomycètes (**Asgarani et al. 2012**).

II.2.5.a. Radio tolérance

Les actinobactéries sont également connues pour leur tolérance aux radiations extrêmement nocives telles que les rayons gamma et UV. Des isolats des divers sites radioactifs comme des espèces thermophiles de Rubrobacter telles que *R. radiotolerans*, *R. xylanophilus*, et *R. taiwanensis* ont été signalées comme des radiotolérantes (**Ferreira et al. 1999 ; Chen et al. 2004**). Le mécanisme de résistance n'a pas été bien compris mais l'analyse complète du génome entier de *R. radiotolerans* RSPS-4 a révélé la présence des gènes codants pour des protéines du système de réparation de l'ADN, dans la réponse au stress oxydatif et des voies de biosynthèse des sucres compatibles (tréhalose et mannosylglycerate) (**Egas et al. 2014**). Ces dernières années, plusieurs espèces actino bactériennes plus alcal tolérantes et radiotolérantes ont été identifiées comme *Microbacterium maritypicum* (**Williams et al. 2007**), *Microbacterium radiodurans* GIMN 1.002T (**Zhang et al. 2010**), *Cellulosimicrobium cellulans* UVP1 (**Gabani et al. 2012**), *Kocuria* sp ASB 107 (**Asgarani et al. 2012**) et *Kocuria rosea* souche MG2 (**Gholami et al. 2015**). Les souches de *Kocuria* alcal tolérantes aux alcalis ont été isolées de la source radioactive Ab-e-Siah en Iran où l'espèce *Kocuria* sp. ASB 107 a montré une tolérance aux rayonnements ionisants (jusqu'à 90% de doses létales) tels que les ultraviolets (256 nm).

II.2.6. La pression osmotique

La pression osmotique est nécessaire pour la croissance des micro-organismes, serve pour le transport des nutriments indispensable à la survie où l'eau joue un rôle dans le passage des nutriments et leurs disponibilités et interfère comme agent chimique des réactions d'hydrolyse (**Perry et al. 2004**).

L'eau influence de façon majeure le type de micro-organisme susceptible d'occuper une niche écologique. Des solides ou des surfaces de l'environnement peuvent absorber les molécules d'eau, ce qui les rend inaccessibles aux organismes vivants. Si la concentration d'un soluté est suffisamment élevée, il peut fixer l'eau et la rendre indisponible pour la cellule. C'est pourquoi, la plupart des micro-organismes ne se développent pas dans des solutions saturées en sel ou dans le miel pur (**Perry et al. 2004**). Autrement dit, La disponibilité de l'eau ne dépend pas nuement de sa présence dans l'environnement. L'eau associée à les substances dissoutes (soluble dans l'eau) lui rendre non accessible pour les micro-organismes (**Madigan et Martinko, 2007**).

- **Influence de la pression osmotique sur la croissance microbienne**

La plupart des bactéries sont pratiquement insensibles aux variations de pression osmotique. Elles sont protégées par leur paroi rigide. Cette paroi, lorsqu'elle est détruite par exemple par le lysozyme, libère les fragiles protoplastes. Pour cela, la pression intérieure de ces cellules est élevée et doit être équilibrée par une pression extérieure égale comme une solution de saccharose à 20%, sinon les protoplastes éclatent (**Madigan et Martinko, 2007**). L'indifférence relative de la plupart des micro-organismes vis-à-vis de la pression osmotique n'est pas protégée par de nombreuses bactéries marines adaptées au milieu contenant 35 g/L de NaCl (**Madigan et Martinko, 2007**) (Voir plus de détail- Chapitre 3).



Chapître 3



III.1. Composition ionique et concentration en sel des environnements salins

Les environnements où la concentration en sels est élevée sont considérés comme extrêmes. Les environnements salins ou hypersalins sont essentiellement caractérisés par leur concentration totale en sels mais leur composition ionique est un facteur clé pour déterminer le biotope de l'environnement (**Oren, 2006a**). Ces ions peuvent être minéraux (Cl^- , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Li^+ , etc) ou organiques (acétate, carbonate, citrate, nitrate), aussi monoatomiques (F^-) ou polyatomiques (SO_4^{2-}). Dans le cas des environnements hypersalés, le terme sel est utilisé pour définir une combinaison de différentes molécules ioniques 'anions et cations' inorganiques, parmi lesquels Cl^- et Na^+ sont les plus abondants. Un environnement est qualifié hypersalin quand la concentration en sels est supérieure à celle de l'eau de mer, qui est d'environ 35g/l (**DasSarma et DasSarma, 2015**). Cependant, la notion d'hypersalinité peut faire référence à des concentrations salines bien plus élevées et parfois même proches à des conditions de saturation (**Oren, 2002**).

III.1.1. Types des milieux hypersalés

Les environnements hypersalins sont nombreux et très répandus sur la planète dont le sol et l'eau sont les deux types majeurs d'environnements salés biologiquement importants, où le facteur sel agit sur les communautés microbiennes halophiles. Il existe deux types de milieux hypersalins qui diffèrent selon leur composition ionique, les environnements thalassohalins et athalassohalins (**Litchfield et Gillevet, 2002**).

III.1.1.a. Environnements thalassohalins

Les environnements thalassohalins (du grec : *thalasso*, la mer) ont une composition ionique reflétant celle de l'eau de mer avec des proportions de cations et d'anions similaires et une prédominance du NaCl (**Ventosa et Arahall, 2009**). Les environnements thalassohalins peuvent être d'origine anthropique comme les marais salants, ou bien d'origine naturelle comme les sebkhas ou les lagons.

- **Environnement thalassohalin d'origine anthropique** : l'évaporation des eaux des mers constitue la majorité des milieux hypersalés qui sont dites thalassohalines où le chlorure de sodium est le sel prédominant. La proportion des autres sels minéraux est en grande partie semblable à celle de l'eau de la mer. Comme l'évaporation progresse, les minéraux deviennent plus concentrés et éventuellement se précipitent dans l'ordre suivant : calcite (CaCO_3), le gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), l'halite, sylvinite (KCl) et enfin carnallite (KCl, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (**Grant, 2004**). Certains changements peuvent survenir dans la composition ionique des gypses ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ou des autres minéraux (**Oren, 2002**).

- **Environnement thalassohalin d'origine naturelle** : Ces écosystèmes sont les fréquents :
 1. Sous climat humide en bordure de mer (Lagons en climat tempéré et Mangroves en climat tropical humide et équatorial) (**Oren, 2007 ; Edbeib et al. 2016**). Les environnements thalassohalins sont en conditions naturelles soit dépourvus de végétation lorsque la salinité est très élevée, soit colonisés par une végétation spécialisée et de nombreuses plantes halophytes adaptées à des telles conditions.
 2. Sous climat sec (semi-désertique, steppique, tropical sec) où la forte évaporation limite le assèchement.
 3. Sous climat aride en bordure des dépressions salées subdésertiques 'Sebkhas et Chotts' en Afrique du Nord, (Playas) en Amérique du Sud, 'Takyr' en Asie centrale) et dans les grandes vallées irriguées (Nil, Euphrate, Colorado, vallées du Moyen-Orient).

III.1.1.b. Environnements athalassohalins

Les eaux hyper salées formées par la dissolution des dépôts salés fossiles dérivent de sources d'eau douce (torrents de montagne...), sont qualifiées d'eaux athalassohalines. Ces environnements ont une composition ionique différente de celle de l'eau de mer en fonction de la nature des dépôts et ils se caractérisent par une domination des ions potassium et magnésium (**Demergasso et al. 2004 ; Ventosa et al. 2008**). L'environnement hypersalin le plus étudié au monde est d'origine athalassohaline. Il s'agit de la Mer Morte qui représente un lac fermé partagé entre la Jordanie et la Palestine où la concentration saline est plus de 340 g/L avec un pH relativement faible de l'ordre de 5,8 à 6.

Il existe également des environnements athalassohalins alcalins (Lac Magadi et d'autres lac au Kenya et Tanganika), dans le désert Ouadi Natroun en Égypte, ainsi qu'aux États-Unis, Inde, Chine, etc. Ces lacs sont riches en ions carbonates et bicarbonates qui sont responsables de l'alcalinité du lac, et représentent une partie importante des anions totaux à côté du chlore et sulfate (**Oren, 2006a**). En générale, la nature des ions dominants dans les lacs hypersalés dépend de la topographie environnante, de la géologie et des conditions climatiques (**Oren, 2011**).

III.1.2. Les lacs salés en Algérie

L'Algérie recèle un grand nombre d'écosystème aquatique de type zone humides naturelles de la région méditerranéenne. Ces zones sont représentées sous forme de marais d'eaux douces ou

marines, les oueds, les barrages et les retenues dont plus de 50% de ces sites sont des lacs salés couvrant environ une superficie de deux millions d'hectares (**Samraoui et Samraoui, 2008; Menasria, 2020**). La majorité de ces plans d'eau sont composées des vastes lacs salés continentaux qui limitent généralement dans les zones arides à semi-arides. Ces lacs s'étalent de la côte nord Algérienne jusqu'au Sahara en traversant les Hauts Plateaux, formés de vastes bassins endoréiques continentales (des Chotts et Sebkhas) (**Menasria et al. 2018**). Le mot 'sebkha', est issu de l'arabe, désigne des bassins fermés en forme de cuvette, périodiquement à l'inondation temporaire, sans végétation dans lesquelles se produit une accumulation des sels. Quant au terme de Chott, il représente seulement l'auréole plus ou moins large qui entoure la sebkha (**Romanescu et al. 2013**). En effet, ces bassins salés représentent un système évaporatoire temporaire et leur formation est généralement contrôlée en grande partie par les précipitations (incluant les rivières et les apports de surface) et l'eau souterraine, (**Bryant et Rainey, 2002**).

L'Algérie compte un nombre important de Chotts et Sebkhas, et leurs répartitions géographiques est très étendue. Ils se situent entre les deux Atlas, 'Atlas Tellien au nord, l'Atlas Saharien au sud'. L'Erg Occidental et l'Erg Oriental d'Est en Ouest, on trouve le complexe des Chotts de Oum El Bouaghi dans l'Est des hauts plateaux, le Chott Hodna, le Zahres Chergui et Gherbi au centre et Chott Chergui, sebkha de Naâma à l'Ouest, sebkha d'Oran et les salines d'Arzew dans les plaines littorales. Au nord de Sahara, on compte le Grand Erg Oriental, au nord-est du Sahara le Chott Melghir et le Chott Merouane. Vers le Sud, dans la région d'Ouargla, sont les Chotts d'Ain Beida, Oum Raneb, Sidi Amrane et Safioune. D'autres sont situées dans la zone du Grand Erg Occidental, comme la Sebkha El Melah (Ghardaïa). Ces zones consistent en un éco-complexe dont son fonctionnement écologique est important du point de vue écologique et socio-économique.

III.2. Microorganismes halophiles

De nombreux microorganismes ont appris à faire face à la présence des fortes concentrations de sels dans leur environnement. En effet, les écosystèmes salés dont les concentrations de sel approchent de la saturation, peuvent être habités par des communautés denses et différentes des micro-organismes halophiles et halotolérants (**Oren, 2004**).

Par définition, un micro-organisme halophile est un micro-organisme qui tolère ou a besoin de sel pour sa croissance. Il convient de rappeler qu'il existe une continuation de concentrations de sel plus faibles, optimales et maximales pour la croissance que l'on trouve des classifications de micro-organismes en fonction de leurs exigences (**DasSarma, 2006**). La classification la plus largement

adoptée est celle proposée par Kushner en 1978 et qui a été légèrement modifiée par la suite (**de la Haba et al. 2011a**) où deux types d'halophilie sont à distinguer parmi l'ensemble des microorganismes halophiles (halophilie strict ou obligatoire et l'halophilie simple ou halotolérance) :

- **Non-halophile** : Prolifération optimale dans un milieu contenant moins de 1% de sel.
- **Halotolérant** : Non halophiles qui tolère des concentrations modérées de NaCl mais non obligatoire pour sa croissance (halotolérants extrêmes si la concentration en sel dépasse 15%)
- **Halophile faible** : Prolifération optimale dans un milieu contenant 1-3% de sel.
- **Halophile modéré** : Prolifération optimale dans un milieu contenant 3-15 % de sel.
- **Halophile extrême** : Prolifération optimale dans un milieu additionné à plus de 15% de sel.

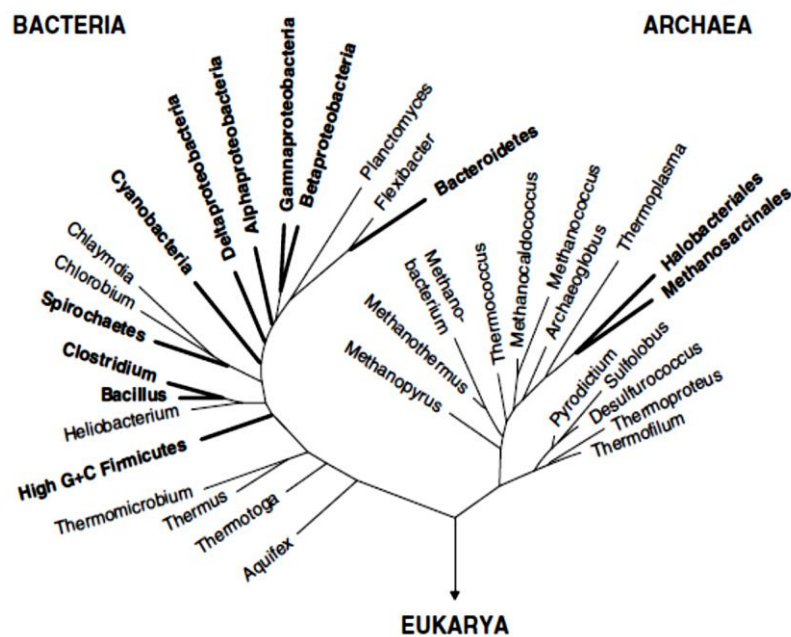


Figure 9. Arbre phylogénétique universel basé sur le séquençage du gène d'ARNr (16S). Adaptée de **Edbeib et al. (2016)**.

Les branches dans lesquelles des bactéries halophiles et halotolérantes ont été décrites (Les microorganismes qui se développent bien à des concentrations en sel supérieures à 100g/l sont indiqués en gras).

III.2.1. Actinomycète halophile

Les actinobactéries constituent l'un des principaux groupes du domaine Bacteria (**Subramani et Aalbersbeg, 2012**). Une diversité phylogénique spécifique très hétérogène des actinobactéries halophiles a été décrite et classée dans diverses familles et divers genres (**de la**

Haba et al. 2011) telle que : *Actinopolyspora*, *Nocardiopsis*, *Streptomonospora*, *Haloactinospora*, *Salinactinospora*, *Thermobifida*, *Saccharopolyspora*, *Saccharomonospora*, *Prauserella*, *Haloechothrix* et *Yuhushiella*. Ces bactéries sont largement distribuées dans différents habitats tels que les déserts, les marais salants, les mines salées, les sols salés, les lacs hypersalés et les étangs. En outre, de nombreuses espèces des actinobactéries halophiles et surtout halotolérantes ont été citées dans la littérature à titre d'exemple les espèces halophiles du genre *Amycolatopsis*, *Micromonospora*, *Haloactinopolyspora*, *Haloglycomyces*, ainsi que *Glycomyces* (**Tang et al. 2010 ; Guan et al. 2011 ; Mohamad et al. 2018**). L'existence des actinomycètes halophiles n'ont été révélées que vers l'année 1970. Les actinomycètes halophiles ont été regroupés suivant les exigences en sel par des microbiologistes (**Guan et al. 2011**).

En effet, **Gochnauer** fut le premier à découvrir une souche d'actinomycète halophile extrême à partir d'une boîte contaminée dans un milieu de culture contenant 25% NaCl et l'avait nommée *Actinopolyspora halophila* (**Zhi et al. 2007**). A l'origine, le genre été assigné à la famille *Nocardiaceae*. Depuis 1975, trois espèces ont été identifiées et validées : *Actinopolyspora halophila* (**Gochnauer et al. 1975**), *Actinopolyspora motivallis* (**Yoshida et al. 1991**) et *Actinopolyspora iraqiensis* (**Zhi et al. 2007**).

Les halophiles peuvent être classé approximativement en organismes faiblement halophiles, modérément ou extrêmement halophiles, tout dépend de leur exigence en NaCl, ces espèces nécessitent de fortes concentrations en NaCl pour leur croissance et peuvent se développer à des concentrations saturantes en sel. La concentration en Na Cl nécessaire à leur croissance dans un milieu liquide est de 12% et de 10% sur milieu solide (**Abbas, 2006**).

Streptomonospora salina et *Streptomonospora alba*, deux espèces décrites et validées dans le genre *Streptomonospora*, ont été proposées par (**Li et al. 2003**). Leur croissance optimale s'effectue dans des milieux additionnés de sel à des concentrations de 15% (**Zhi et al. 2007**).

Une nouvelle espèce halophile appartenant au genre *Saccharopolyspora* répondant au nom de *Saccharopolyspora saliphila* a également été décrite, validée et proposée par **Syed et al. (2008)** où sa croissance optimale en présence de 10% de NaCl. Certains actinomycètes marins halotrophes auraient besoin d'eau de mer pour la sporulation et la production d'olites métaboliques secondaires (**Sunga et al. 2008**).

Tableau 8. Actinomycètes halophiles modérées isolées de différents environnements salins (Ventosa et al. 2008).

Espèces	Sources d'isolement	Intervalle de [Na Cl] et optimum (%)
<i>Actinopolyspora iraqiensis</i>	Echantillon de sol (Iraq).	5-20 (10-15%)
<i>Actinopolyspora mortivallis</i>	Echantillon de sol, vallée de la mort (USA).	5-30 (10-15%)
<i>Nocardiopsis baichengensis</i>	Sédiments salins, Province de Xinjiang (China).	0-18 (5-8%)
<i>Nocardiopsis chromatogenes</i>	Sédiments salins, Province de Xinjiang (China).	0-18 (5-8%)
<i>Nocardiopsis gilva</i>	Sédiments salins, Province de Xinjiang (China).	0-18 (5-8%)
<i>Nocardiopsis halophila</i>	Sol salin (Iraq).	3-20 (5-15%)
<i>Nocardiopsis halotolerans</i>	Sol des marais salants de Koweit.	0-15 (10%)
<i>Nocardiopsis rhodophaea</i>	Sédiments salins, Province de Xinjiang (China)	0-18 (5-8%)
<i>Nocardiopsis rosea</i>	Sol salin, Province de Xinjiang (China)	0-18 (5-8%)
<i>Nocardiopsis salina</i>	Sol salin, Province de Xinjiang (Chine).	3-20 (10%)
<i>Nocardiopsis xinjiangensis</i>	Sol salin, Province de Xinjiang (Chine).	10

<i>Saccharomonospora halophila</i>	Sol des marais au Koweït.	10–30 (10%)
<i>Saccharomonospora paurometabolica</i>	Sol, Province de Xinjiang (Chine).	5–20 (10%)
<i>Streptomonospora alba</i>	Sol, Province de Xinjiang (Chine).	5–25 (10–15%)
<i>Streptomonospora salina</i>	Sol, Province de Xinjiang (Chine).	15

III.3. Halophilisme et mécanisme d'adaptation

La résilience et l'adaptabilité des actinobactéries extrémophiles / extrémotolérantes leur confèrent un avantage par rapport aux autres microbes. En plus, ils les aider à survivre dans des conditions extrêmes. Leur physiologie et leur souplesse métabolique les poussent à produire des composés de valeur industrielle. La production de biomolécules par des extrémophiles atténue les risques d'autres contaminations microbiennes, de plus elles les fournir des composés thermostables, alcalisables et halotolérants. Les enzymes produites par les actinobactéries extrémophiles / extrémotolérantes sont fonctionnelles dans des conditions extrêmes.

La différence d'osmolarité entre l'intérieur et l'extérieur d'une cellule génère une pression osmotique (choc hyperosmotique) sur la membrane plasmique conduisant à l'expulsion de l'eau et à la plasmolyse de la cellule. Afin de prévenir de tel phénomène et de faire face aux conditions de stress osmotique, les micro-organismes halophiles doivent garantir et maintenir un environnement intracellulaire au moins iso-osmotique avec le milieu extérieur (**Oren, 2006a**).

L'appellation osmoadaptation est la capacité des cellules à s'adapter aux variations extérieures de pression osmotique et osmorégulation ou halophilisme. Aussi bien, leur capacité à développer des mécanismes permettant de maintenir l'équilibre osmotique de la cellule et ajuster la pression osmotique par apport au milieu extracellulaire (**Galinski, 1995**).

Afin de compenser la perte d'eau induite par la pression osmotique, le transport actif de molécules d'eau vers l'intérieur de la cellule serait un processus énergétiquement irréalisable. A la place, l'osmorégulation des halophiles repose sur l'accumulation de petites molécules dans leur

cytoplasme (**Roberts, 2005**). Ces petites molécules, ou osmolytes, peuvent être de nature organique ou inorganique et selon leur nature, qu'on les implique dans deux stratégies distinctes développées chez les halophiles en milieux hypersalins :

- La première dite '*high salt-in*', basée sur l'accumulation de sel à l'intérieur du cytoplasme des ions K^+ et Cl^- pour maintenir l'équilibre de la balance osmotique. Ce mécanisme est utilisé par un nombre limité d'halophiles (**Oren, 2002**).
- Alors que, la deuxième '*low salt-in*' est basée sur une élimination intensive des sels du cytoplasme et une accumulation de solutés organique afin de fournir et de soutenir la balance osmotique (**Oren, 2002 ; Oren, 2008**).



Chapitre 4



Les actinomycètes sont présentes dans divers habitats écologiques et sont particulièrement abondantes dans le sol (**Kinkel et al. 2012**), ainsi qu'en eau douce et dans d'autres environnements marins (**Lam, 2006 ; Valli et al. 2012**). Les actinomycètes provenant d'habitats inexplorés sont considérés comme une source prometteuse de nouveaux composés bioactifs avec un large éventail d'activités biologiques (**Benhadj et al. 2019**). Elles produisent divers métabolites secondaires et autres biologiquement des composés utiles tels que des antibiotiques, des agents anti tumoraux, immuno supprimeurs, vitamines, matières nutritives, herbicides, pesticides, agents antiparasitaires et enzymes (**Bérdy, 2012; Mohseni et al. 2013; Abdelmohsen et al. 2015**).

Les actinomycètes sont été pendant des décennies des micro-organismes de stockage importants pour la découverte de produits naturels (**Choi et al. 2015**). Les Streptomyces, le genre d'actinomycètes le mieux caractérisé, sont considérés comme l'un des types des bactéries industrielles les plus importants en raison de sa capacité de production de précieux métabolites secondaires et composés bioactifs (**Pak et Elliot, 2010**). Ils sont capables de métaboliser divers composés de structures complexes telles que polysaccharides, alcools, acides aminés et composés aromatiques par la production d'enzymes extracellulaires telles que l'amylase, la chitinase, cellulase, glucanase et protéase (**Antonopoulos et al. 2001**).

Il existe 23000 métabolites secondaires produits par les microorganismes, plus de 10000 sont produits par les actinomycètes, ce qui représente 45% du total des métabolites microbiens ayant un usage pratique (**Bérdy, 2005**) (**Figure 9**).

L'Actinomycine, un antibiotique anti tumoral, est le premier antibiotique isolé à partir d'une souche d'actinomycète (**Waksman et Wood Ruff, 1940**). De nombreuses autres molécules sont également élaborées par ces microorganismes. Certaines ont une activité anti tumorale (Carcinostatine, Adriamycine, Anthramycine, Daunomycine, Anthracycline, etc.), herbicide, antiparasite comme l'antimalaria (Distamycine), anticoccidienne, insecticide (Avermictine, Polyoxines, Mylébémicine, etc.), antivirale (Mutactimycines) et acaricide (Altemicidines) (**Raty et al., 2002**).

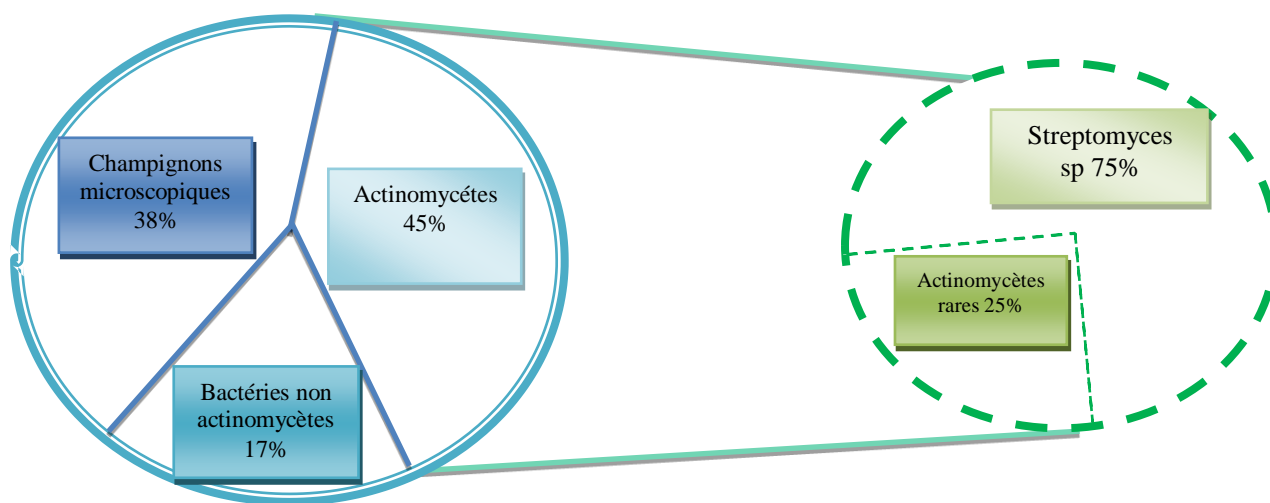


Figure 10. Origine des produits microbiens bioactifs (Bérdy, 2005).

IV.1. Métabolisme général

Deux des propriétés les plus significatives des actinomycètes sont leur capacité à se développer sur les substrats les plus divers et leur aptitude à synthétiser de très nombreux métabolites bioactifs (Zhang et Zeng, 2007). En effet, la streptomycine fut le premier antibiotique ayant pour origine une souche de *Streptomyces*. Dès lors, les streptomycètes sont prouvés qu'ils représentaient la plus importante source de molécules de faible poids moléculaire (taille : 250 Da) (Schrempf, 2006). D'après Tarkka et Hampp (2008), les métabolites secondaires des Streptomycètes peuvent être classés en quatre selon la fonction de leur activité biologique :

- 1- Agents antagonistes, comportant des antibiotiques, des antifongiques, des anti-protistes et même des antiviraux.
- 2- Agents pharmacologiques tels que des anti-tumoraux et des inhibiteurs d'enzymes.
- 3- Agents agrobiologiques tels que des pesticides et des herbicides.
- 4- Composés à activité régulatrice, tels que des facteurs de croissance.

Ces propriétés traduisent la remarquable richesse du métabolisme cellulaire de ce groupe microbien (Theilleux, 1993). La diversité métabolique de la famille des

Actinomycetaceae est due à leur génome de grande taille qui renferme des centaines de facteurs de transcription contrôlant l'expression des gènes, leur permettant de répondre à des besoins spécifiques (**Singh et al. 2006**). Les métabolismes des actinomycètes peut être divisé en deux parties : le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire (**Sarah et al. 2019**).

IV.1.1. Métabolite primaire

Le métabolisme primaire regroupe les réactions cataboliques et anaboliques qui permettent la formation de biomasse. Le pouvoir réducteur et l'énergie produits par ces réactions sont utilisés pour former et assembler les monomères (ex : acides aminés) en macromolécules (ex : protéine) (**Hodgson, 2000**).

IV.1.2. Métabolites secondaires

Les actinomycètes, bactéries mycéliennes à Gram positif, sont très reconnus par leur grande capacité à produire des métabolites secondaires avec des structures chimiques diversifiées (**Nafis et al. 2017**). Ces métabolites sont utilisés comme des antibiotiques, médicaments anticancéreux et dans nombreuses applications médicales (**Craney et al. 2012**).

Ces micro-organismes sont des producteurs prolifiques de métabolites secondaires ayant des activités biologiques, ils représentent le groupe microbien le plus riche en production de métabolites secondaires variables. Ces molécules principalement bioactives sont les produits finaux des voies de biosynthèse complexes (**Goodfellow et Fiedler, 2010**).

La production de métabolites secondaires est un processus influencé par plusieurs facteurs physico-chimiques, notamment l'apport de nutriments, l'oxygénation, la température et le pH (**Olano et al. 2008**).

Les actinomycètes jouent un rôle biogéochimique important dans les sols terrestres et sont très appréciées pour leur capacité inégalée à produire des métabolites secondaires biologiquement actifs. Au total, 22 500 métabolites secondaires bioactifs ont été signalés, parmi lesquels 16 500 composés présentent des activités antibiotiques. Sur les 22 500 métabolites secondaires bioactifs totaux, 10 100 (45%) seraient produits par des actinomycètes, dont 7630 à partir des streptomycètes et 2470 à partir d'actinomycètes rares (**Selvameenal et al. 2009**). Aussi bien, certains nombres des métabolites secondaires sont des médicaments anti tumoraux

cliniquement utiles, tels que les anthracyclines (aclarubicine, daunomycine et doxorubicine), les peptides (bléomycine et actinomycine D), les acides auréoliques (mithramycine), les énédynes (néocarzinostatine), les antimétabolites (pentostatine), la carzine mitomycines (Davies-Bolorunduro et al. 2019).

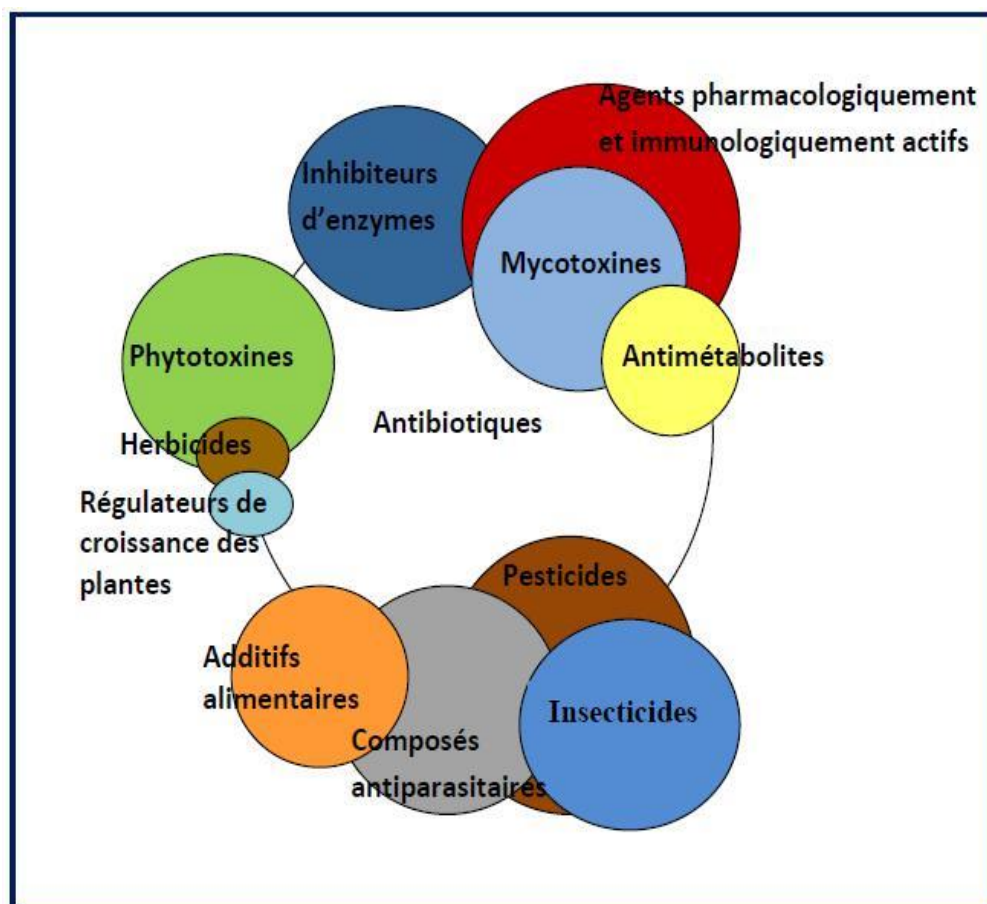


Figure 11. Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinobactéries (Conn, 2005)

IV.2. Activités biologiques des actinomycètes

Les actinomycètes occupent une importance en regard de leurs nombreuses activités (Jarak et al. 2006).

IV.2.1. Activités antimicrobiennes des Actinomycètes

Plusieurs études ont été faites sur les actinomycètes, leur classification, leur identification, leur production de métabolites à activités antibactérienne et/ou antifongique.

Les actinomycètes sont connues par leur capacité à synthétiser un grand nombre de métabolites secondaires ayant des structures chimiques et des activités biologiques très variées, efficaces sur des systèmes procaryotes (antibactérien) qu'eucaryote (antifongique, etc...) (**Demain et Sanchez, 2009**).

Les antibiotiques peuvent être produits par divers micro-organismes dont 17% sont synthétisés par les bactéries non mycéliennes, 38% par les champignons et environ 45% par les actinomycètes (**Demain et Sanchez, 2009**).

La production des antibiotiques ou antifongiques est importante pour la lutte contre les micro-organismes phyto pathogènes du sol (**El-Tarabilya et Sivasithamparam, 2006**).

IV.2.1.1. Activité antibactérienne

Les actinomycètes sont capables de produire des antibiotiques de différentes classes chimiques et une grande diversité d'activités biologiques. Parmi les actinomycètes, *Streptomyces sp* ont été les sources les plus abondantes de tous les types des antibiotiques. Environ 60% des antibiotiques découverts dans les années 1990 et la plupart des antibiotiques utilisés en agriculture sont isolés de *Streptomyces*. Récemment, des actinomycètes rares sont révélées d'être une source importante d'antibiotiques nouveaux et utiles (**Lee et Hwang, 2002**).

Les actinobactéries jouent un rôle important dans la production de médicaments variés qui sont extrêmement important pour notre santé et notre nutrition. Récemment, les maladies dues à des bactéries pathogènes multi résistants augmentent vigoureusement, et ainsi la recherche de nouveaux antibiotiques est efficace contre les agents pathogènes multi résistants. On a observé que les produits naturels ayant de nouvelles structures possèdent des activités biologiques utiles (**Dancer, 2004**). Sa nature reste toujours la source la plus riche et la plus polyvalente propice aux nouveaux antibiotiques, bien qu'il y ait des progrès considérables dans les domaines de la synthèse chimique et de la biosynthèse synthétique des composés antibactériens. La nature toxique de certains antibiotiques a conduit à leur utilisation limitée, bien que des milliers d'antibiotiques aient été découverts jusqu'aux nos jours. Pour résoudre ce problème, la recherche de nouveaux antibiotiques qui sont plus efficaces et qui ne comporte aucun effet secondaire toxique est en cours. Une approche pour résoudre ce problème est de rechercher de nouveaux antibiotiques avec des mécanismes d'action. La figure montre qu'une

majorité d'antibiotiques proviennent de microorganismes, en particulier des espèces Actinobacteria. Près de 80% des antibiotiques mondiaux connus pour être dérivés d'Actinobacteria, principalement des genres *Streptomyces* et *Micromonospora* (Hassan et al. 2011) (figure12).

L'une des caractéristiques les plus importantes des actinomycètes est la production d'antibiotiques capables d'inhiber ou limiter la croissance d'autres bactéries (Ameur, 2014 ; Belyagoubi, 2014).

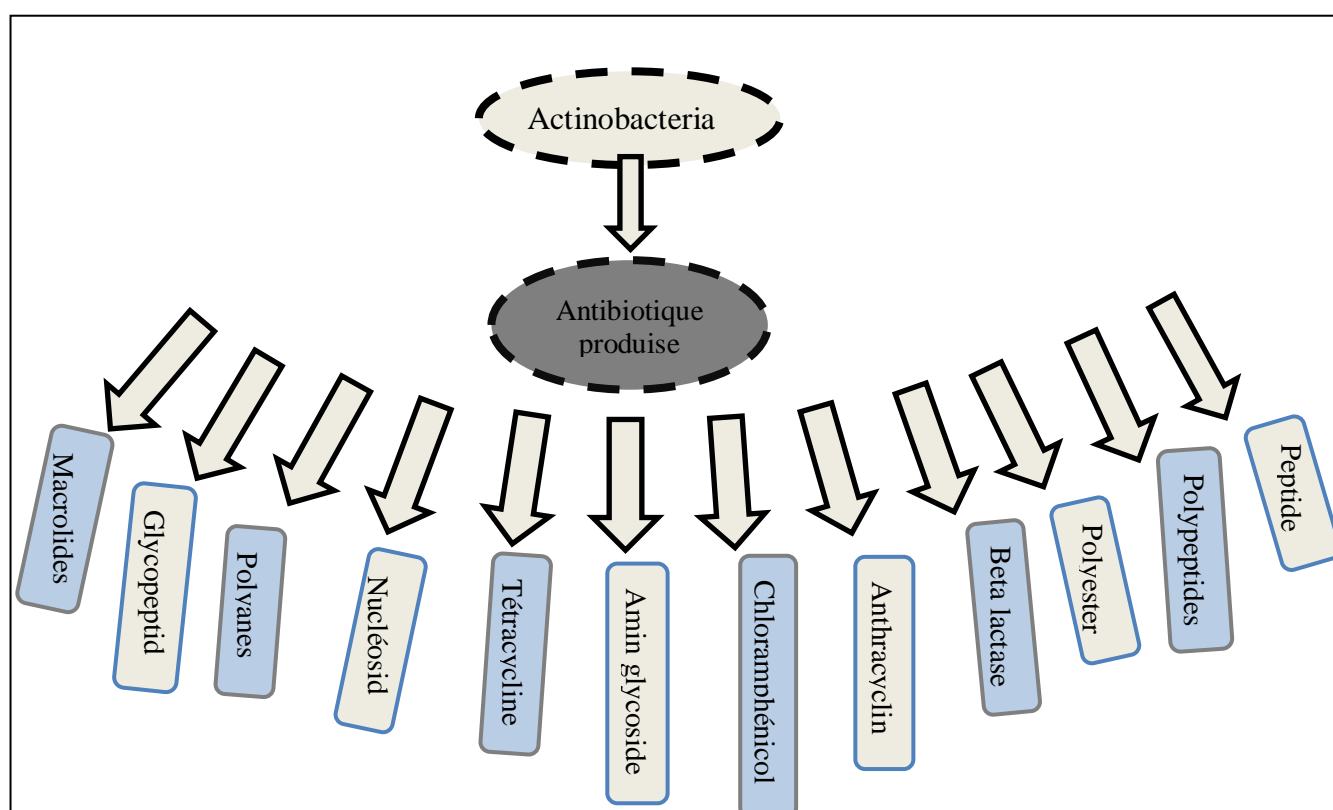


Figure 12. Antibiotiques d'actinobactéries. (Hassan et al. 2011)

IV.2.1.2. Activité antifongique

La grande majorité des antifongiques naturels est d'origine microbienne et près de la moitié est synthétisée par les actinomycètes, en particulier par les *Streptomyces* (Badji et al. 2005). Ces molécules peuvent être issues d'une voie naturelle, de synthèse chimique ou semi synthétique, ceux d'origine naturelle sont produits par les actinomycètes ou par des champignons, à titre d'exemple, l'Amphotéricine B qui est produite par *Streptomyces nodus* (Ripert, 2013).

L'activité antifongique des actinomycètes, elle ne se limite pas seulement aux champignons filamenteux mais s'étend aux levures et aux dermatophytes. A titre d'exemple, la souche *Streptomyces mutabilis* présente une activité antifongique envers *Candida albicans* (Sanasam et Ningthoujam, 2010), et la souche *Streptomyces rochei* présente une activité anti dermatophytique vis-à-vis de dermatophyte *Trichophyton rubrum* (Lakshmipathy et Krishnan, 2009).

IV.2.1.2.a. Les infections fongiques

Les mycoses sont des infections à champignons, organismes végétaux, dépourvus de chlorophylle, de structure filamenteuse ou unicellulaire. Les champignons font généralement partie de la flore commensale d'un individu, vivent en saprophytes dans le milieu extérieur. Ils deviennent le plus souvent pathogènes et invasifs soit d'une inoculation massive (*aspergillose pulmonaire* p. ex.) soit à la faveur d'un terrain particulier (hôte immunodéprimé, traitement antibiotique déséquilibrant la flore commensale) (VanBambeke et Pharm, 2007).

Près de 90 % des mycoses humaines sont provoquées par des espèces appartenant aux genres *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Epidermophyton*, *Microsporum* et *Trichophyton*. *Candida albicans* et certaines espèces d'*Aspergillus* telles que *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans* et *A. terreus* sont responsables de la majorité des mycoses invasives (Badji et al. 2005). La *Candida* et l'*Aspergillus* étant les deux principaux types de champignons pathogènes (Carle, 2003).

IV.2.1.2.a.1. Les candidoses

Les infections causées par les souches de *Candida* représentent la principale cause des infections fongiques nosocomiales (80 %). Les souches de *Candida* peuvent produire une grande variété d'infections, allant des infections légères mucocutanées aux infections invasives (septicémie). Il existe au-delà de 150 espèces de *Candida*. Cependant, la *Candida albicans* (*C. albicans*) est responsable de la majorité des infections, pour le traitement habituel des candidoses il est abimé l'antifongique nystatine qui est issue par *Streptomyces noursei* (Carle, 2003)

IV.2.1.2.a.2. Les aspergilloses

L'*Aspergillus* est le deuxième pathogène fongique après le *Candida*. Les espèces d'*Aspergillus* les plus fréquemment rencontrées en clinique sont l'*Aspergillus fumigatus* et

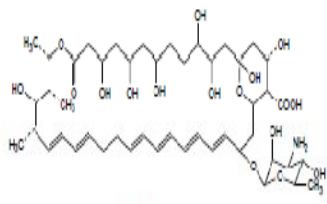
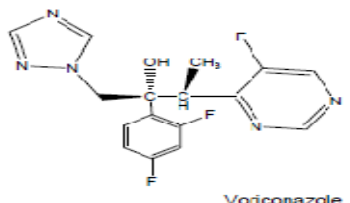
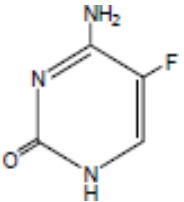
CHAPITRE IV : ACTIVITES BIOLOGIQUES DES ACTINOMYCETES

l'*Aspergillus flavus*. Les autres espèces communes sont l'*A. niger*, l'*A. nidulans* et l'*A. terreus*. *Aspergillus fumigatus* est de loin l'espèce qui semble avoir le plus grand pouvoir pathogène. Une aspergillose invasive chez l'humain représente une infection très sérieuse. Elle affecte principalement les poumons, mais parfois les sinus et le Système Nerveux Central de l'hôte. Cette infection est traitée habituellement par emploi l'antifongique Amphotéricine B qui est issue par *Streptomyces nodosus* et un autre antifongique voriconazole est issue par *acremonium sp* (Carle, 2003).

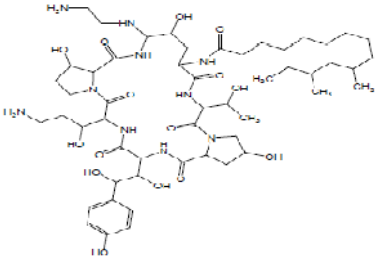
IV.2.1.2.b. Les antifongiques produits par les actinomycètes

Selon la structure chimique des molécules, on distingue les antifongiques de structure polyénique, actifs essentiellement contre les champignons et les antifongiques de structure non polyénique pouvant être souvent antibactériens (Watve et al. 2001).

Tableau 9. Les différentes classes d'antifongiques (Million, 2006 ; Tulkens, 2008)

Classes Des antifongiques	Cible	Mécanisme d'action	Structure chimique
Polyènes : -Nystatine (fongicide)	Membrane fongique	Augmentation de la perméabilité membranaire par formation de complexes avec l'ergostérol	 Nystatine
Azolés : -voriconazole (fongistatique)	Membrane fongique	Inhibition de la synthèse de l'ergostérol	 Voriconazole
Fluoro-pyrimidines -Flucytosine (Fongistatique)	Acides nucléiques	Perturbation de la synthèse protéique (substitution de la 5FU à l'uracyl dans l'ARN) Altération de la synthèse de l'ADN par inhibition de la thymidylate synthétase	

CHAPITRE IV : ACTIVITES BIOLOGIQUES DES ACTNOMYCETES

Candines -Caspofungine (Fongicides pour <i>Candida</i> Fongistatique pour <i>Aspergillus</i>)	Paroi fongique	Inhibition de la B (1-3) D glucane synthétase	
--	-------------------	--	---

IV.2.1.2.b.1. Les antifongiques les polyènes

Les composés polyéniques sont ainsi nommés en raison des doubles liaisons conjuguées alternées qui constituent une partie de leur structure cyclique macrolide. Ces composés possèdent un large spectre (Watve et al. 2001). Ils ont à la fois une activité fongicide et fongistatique (Joffin et Leyral, 2006). Ils agissent sur les stérols membranaires des cellules eucaryotes (champignons, animaux) (Watve et al. 2001). Les polyènes sont fongicides à haute concentration, mais fongistatiques aux doses thérapeutiques. Leur activité est inversement proportionnelle à la quantité de champignons présente et directement en fonction du temps de contact entre l'antifongique et le champignon et de l'acidité du milieu (l'adsorption au champignon étant favorisée en milieu acide) (Vanbambeke et Pharm, 2007).

Comme exemple la fixation de l'Amphotéricine B sur l'ergostérol endommage la membrane en entraînant la formation de pores dans celle-ci, provoquant ainsi des lésions irréversibles et la perte des constituants cellulaire (Sheikh et al. 2013).

IV.2.1.2.b.1.1. La nystatine

Le plus ancien des antifongiques naturels, il a été isolé de *Streptomyces noursei* en 1950, il n'est utilisé que par voie cutanée (injection) ou orale en raison de sa toxicité, est le plus souvent indiquée pour le traitement courant des candidoses digestives, vaginales et cutanées (Mouly et Sellier, 2004 ; Ripert, 2013).

IV.2.1.2.b.1.2. Amphotéricine B

Isolée de *Streptomyces nodosus* en 1955, est un macrolide polyénique amphotère (avec 7 doubles liaisons), l'amphotéricine B est un puissant antifongique qui inhibe la plupart des espèces pathogènes nombreuses (levures et moisissures). En médecine humaine, l'amphotéricine B est le seul polyène antifongique qui peut être administré par voie

intraveineuse pour l'élimination des mycoses profondes (**POURRIAT et MARTIN, 2005**).

IV.2.1.2.b.1.3. La nikkomycine

La nikkomycine est une nouvelle classe antifongique d'origine naturelle isolée de *Streptomyces tendae*. Cet antifongique induit différents mécanismes d'action selon la composition du milieu de culture. Il inhibe la chitine synthase (Chs) responsable de la formation de chitine de la paroi fongique qui se trouve à la *Candida albicans* (**Feng et al. 2014**).

IV.2.1.2.b.1.4. Mode d'action des polyènes

Le spectre d'action des antifongiques polyénique est très large du fait de son mécanisme d'action sur la membrane fongique, ces antifongiques sont utilisés pour le traitement de l'ensemble des mycoses profondes (**Yilma et al. 2007**).

Malgré leur efficacité, les antifongiques polyéniques trouvent des limitations d'applications en thérapeutique vue leur toxicité vis-à-vis des cellules hôtes. Ces effets indésirables des polyènes sur les cellules eucaryotes des mammifères peuvent s'expliquer par l'interaction de ces agents avec le cholestérol (**Yilma et al. 2007**).

IV.2.1.2.b.2. Les antifongiques non-polyéniques (Azolé, Fluorocytosine)

Dans une étude menée par **Badji et al. (2006)** visant à isoler des actinomycètes rares producteurs d'antifongiques non-polyéniques à partir d'un sol saharien, plusieurs actinomycètes ont été sélectionnés. Une actinomycète nommée AC104 rattaché au genre *Actinomadura* a été isolé à partir du milieu « chitine – vitamines B » additionné de rifampicine. Sur la base de ses caractéristiques morphologiques et chimiques.

Les agents antifongiques azolés ont des cycles organiques à cinq chaînons qui contiennent deux ou trois molécules d'azote (les imidazoles et les triazoles respectivement). Les imidazoles cliniquement utiles sont le clotrimazole, le miconazole et le kétoconazole. L'itraconazole et le fluconazole sont deux triazoles importants (**Badji et al. 2006**).

IV.2.2. Activité enzymatique

Les actinobactéries représentent une source biologique importante dans la production d'enzymes qui sont appliquées dans les industries (**Bensmaine et Belloumi, 2019**). On trouve

la cellulase et xylanase qui ont la capacité de libérer l'enzyme hydrolytique telles que l'utilisation d'amylases dans la biodégradation de l'amidon (**Satria, 2020 ; Bensmaine et Belloumi, 2019**).

Une grande variété d'enzymes biologiquement actives sont produites à la fois par des actinobactéries marines et terrestres qu'elles sécrètent des amylases à l'extérieur des cellules, ce qui les aide à effectuer une digestion extracellulaire. Cette enzyme est très importante dans les applications biotechnologiques telles que l'industrie alimentaire, la fermentation et les industries du textile et du papier en raison de leur capacité à dégrader l'amidon (**Pandey et al. 2000**). Les actinobactéries, en particulier les *streptomycètes*, sont connues par sécréter des protéases multiples dans le milieu de culture (**Sharmin et al. 2005**).

Les actinobactéries ont été révélées être une excellente ressource pour la l'asparaginase, qui est produite par une gamme d'actinobactérie, principalement celles isolées des sols, telles que *S. griseus*, *Streptomyces karnatakensis*, *Streptomyces albidoflavus* et *Nocardia sp* (**Narayana et al. 2008**).

Des enzymes telles que la catalase, la chitinase et l'uréase sont également produites à partir d'actinobactéries. Plus intéressant, la kératinase, une enzyme qui dégrade la plume de poulet de volaille, a été produite avec succès à partir de *Nocradiopsis sp. SD5* isolé des déchets des plumes dans Tamil Nadu, Inde (**Saha et al. 2013**).

IV.2.3. Activités antagoniste

Les actinomycètes représentent une grande proportion de la biomasse microbienne du sol et ont la capacité de produire une large variété d'antibiotiques et d'enzymes extracellulaires. Plusieurs souches d'actinomycètes s'avèrent capables de protéger les plantes contre des maladies (**Errakhi et al. 2009**). Cette revue se penche sur le potentiel des actinomycètes comme :

- source de composés agronomiques.
- agents stimulant la croissance des plantes.
- agents de lutte biologique.

L'efficacité des actinomycètes antagonistes dans la lutte biologique a été démontrée contre de nombreux champignons phytopathogènes tels que *Verticilliumdahliae*,

Fusariumoxysporum, *Pythiummultimum* et *Phytophthora* sp. Les actinomycètes antagonistes peuvent contrôler les champignons phytopathogènes par de nombreux mécanismes, tels que l'hyper parasitisme, antibiose, enzymes dégradant la paroi cellulaire et induction de la résistance des plantes (Errakhi et al. 2009).

IV.2.4. Activité anticancéreuse

Les actinomycètes ont acquis une importance au cours des dernières années en raison de leurs diverses activités biologiques et leur capacité de produire de nouveaux composés utiles pharmaceutiques y compris les antimicrobiens, des agents anti tumoraux et immunosuppresseurs chimio thérapeutiques (Davies-Bolorunduro et al. 2019).

IV.2.5. Activité antivirale

Actuellement, il semble qu'il n'y a eu que peu de composés ayant une activité antivirale qui sont dérivé des actinomycètes marins. Le Ben-zastatin C, un alcaloïde 3-chlorotetrahydroquinolone obtenu de *Streptomyces nitrosporeus*, a montré une activité antivirale contre le virus herpès simplex (HSV-1) et contre le virus de la stomatite vésiculaire (VSV), respectivement (Lee et al. 2007).

IV.2.6. Activité antiparasitaire

Pimentel-Elardo et al. (2010) ont isolé *Streptomyces* sp à partir d'éponges méditerranéennes. Trois composés cycliques : valinomycine des peptidique, staurosporine alcaloïde indolocarbazole et buténolide ont été extraits et purifiés à partir de cette souche. Ces derniers présentent des activités antiparasitaires.

IV.2.7. Activité antioxydant

Nocardiosis, l'un des actinomycètes qui peuvent produire différents types de composés pharmacologiques aux propriétés antioxydants, anti tumorales, anti-inflammatoires, antibactériennes et antioxydants. La recherche d'actinomycètes uniques métabolisant un composant essentiel d'un médicament à base de produits naturels devient de plus en plus intéressante et significative. Les antioxydants jouent un rôle important dans l'inhibition et l'élimination des radicaux libres, offrant ainsi une protection aux humains contre diverses infections et maladies dégénératives (Sharma et Gupta, 2008).

CHAPITRE IV : ACTIVITES BIOLOGIQUES DES ACTNOMYCETES

Les actinomycètes sont également la source des substances anti tumorales (actinomycine, adriamycine, rebeccamycine, mitomycine), insecticides (mikkomycine), pesticides (antimycine A), herbicides (phinotricine) et de substances ayant des activités immunosuppressive et immunostimulantes (la rapamycine et le FK500) (**Petrosyan et al. 2003**).



Partie
expérimental





Matériels
et
Méthodes



MATERIELS ET METHODES**I. Matériels utilisés****I.A. Grands matériels**

- Agitateur.
- Balance.
- Microscope.
- Etuves réglables.
- Plaque chauffante.
- Autoclave.
- Bain marie.
- Réfrigérateur.
- Vortex.
- Loupe binoculaire.

I.B. Petits matériels

- Bec bunsen.
- Anse de platine.
- Boîtes de Pétri (boîtes compartiment, des mini boîtes).
- Verres : béchers gradués, tubes à essai stériles, et les flacons.
- Portoirs.
- Les lames.
- Pipettes Pasteur.
- Spatule.
- Picette.
- Barreaux magnétique.
- Papier wattman.

I.C. Les solutions et colorants utilisés

- ✓ L'eau distillée stérile.
- ✓ L'eau physiologique stérile.
- ✓ Violet de Gentiane.
- ✓ Lugol.
- ✓ Alcool.
- ✓ Fuchsine.

II. Méthode de travail

II.1. Les échantillons de sols

L'isolement des actinomycètes est réalisé à partir de Cinq échantillons de sols d'Algérie. Les prélèvements ont été effectués entre la période de 7 Janvier 2019 et 25 Janvier 2019.

Le **Tableau 10** illustre les caractéristiques des échantillons de sol ; les Cinq échantillons de sols sont prélevés aseptiquement à une profondeur de 5 à 20 cm puis placés dans des flacons (ou carafes) stériles pour chaque échantillon. Ces derniers sont ensuite conservés à une température ambiante.

Tableau 10. Situation géographique des stations d'échantillonnage pris par GPS.

Code de l'échantillon	Région	Latitude (N)	Longitude (E)
Ech 1	Oued souf	33°20'18.44''N	6°51'20.79''E
Ech2	Khenchela (Garaat Etarf)	35°38'17''N	7°0'50''E
Ech 3	Batna (Sebkha Medghassen)	35°43'50''N	6°21'56''E
Ech 4	Biskra (Sebkha Oumache)	/	/
Ech 5	Om El Bouaghi (Chott Tinsilt)	35°53'N	6°30'E



Figure 13. Stations d'études

De gauche à droite :

- En haut : Sebkha Medghassen ; Sebkha Oumache
- En bas : Chott Tinsilt ; Garaat Etarf
- En bas : Oued souf

II.2. Milieux de cultures

Les milieux de cultures utilisés pour l'isolement des actinomycètes sont des milieux sélectifs qui favorisent la croissance des microorganismes particuliers en excluant celle des autres, par addition d'un agent sélectif (**Delarras, 2014**).

Trois milieux de cultures recommandées pour l'isolement des actinomycètes, ont été utilisés pour les Cinq échantillons qui sont :

- Milieu ISP₂ normal (**Cheriti et al. 2012**).
- Milieu ISP₂ modifié à base d'extrait de sol.
- Milieu PCA.

La composition de chaque milieu de culture est donnée dans l'annexe. Le pH de chaque milieu de culture est ajusté à raison de 7.2 avant la stérilisation.

II.3. Dilution et ensemencement

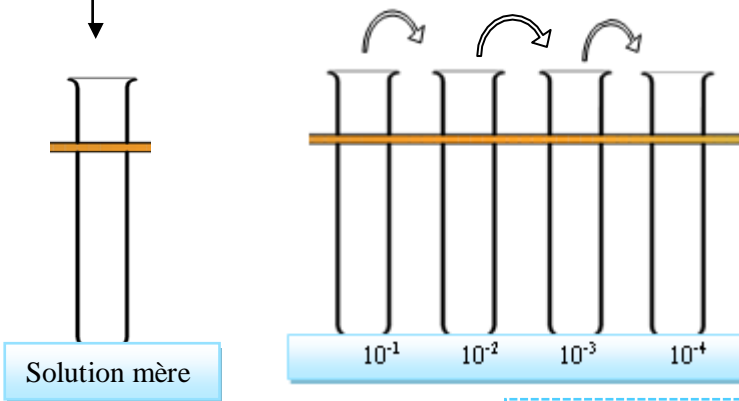
L'isolement des actinomycètes est réalisé selon la méthode de suspension-dilution (dilution plates) (**Davet, 1996**). La préparation des dilutions consiste, tout d'abord, à préparer la solution mère du sol en ajoutant 10g du sol (non traité) à 90ml d'eau physiologique stérile ; ce qui représente la dilution 10⁻¹. Après homogénéisation au vortex, on réalise des dilutions décimales dans l'eau physiologique stérile jusqu'à 10⁻⁴ (**Bastide et al. 1986**). Puis on dépose tout d'abord 1ml de chaque dilution dans une boîte de pétri, puis coulé les milieux de culture : PCA ; ISP₂ normale et ISP₂ modifié à base d'extrait de sol. Les boîtes sont agitées par un mouvement en huit lent, afin d'homogénéiser le contenu des boîtes. Ces dernières sont incubées à 30°C pendant 7 jours pour les milieux ISP₂ normal et ISP₂ modifié et à 37°C pendant 48h pour le milieu PCA. Les résultats sont photographiés à l'aide d'un appareil photographique numérique, les étapes sont présentées dans la **Figure 14**.

II.4. Sélection des actinomycètes

Après incubation des boîtes pétri pendant 7 jours à une température de 30°C et en conditions d'aérobiose ; les actinomycètes ont été isolés selon leurs critères morphologiques, et microscopique par observation direct sous microscope optique (grossissement x10).

10g d'échantillon de sol (non traités)

Dilution dans 90ml d'eau physiologique

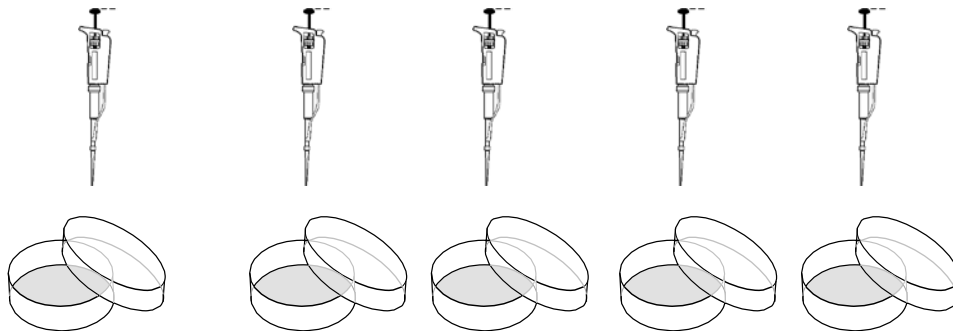


Agitation au vortex



Série de dilutions

1ml de chaque dilution est prélevé par une micropipette, et étalé sur boîte de Pétri



Incubation des boîtes de pétries et observation régulière et quotidienne

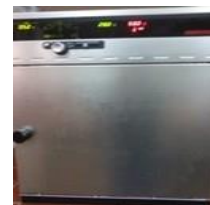


Figure 14. Les étapes suivies pour l'isolement des actinomycètes à partir d'échantillons de sol non traité.

II.5. Caractérisation morphologique des souches

❖ Morphologie macroscopiques

L'étude macromorphologique permet de déterminer les différents caractères de mycélium de substrat (MS) et le mycélium aérien (MA).Après l'incubation, les colonies d'actinomycètes qui apparaissent à la surface du milieu d'isolement ont été examinées à l'œil nu et à l'aide d'une loupe optique binoculaire (ZEISS 475022 G x10). Ce test permet d'évaluer l'importance de la croissance (très importante, importante, moyenne, faible ou absente), ces caractères sont notés par des significations (+/-).La couleur de mycélium de substrat et du mycélium aérien : qui varie d'une souche à une autre ainsi que la production des pigments solubles, caractère qui se détermine par le virage de la couleur du milieu par rapport à sa couleur initiale. Dans le cas des Actinomycètes, plusieurs couleurs des pigments solubles ont été décrites selon **Shirling et Gottlieb, (1966) et Kitouni, (2007)**.

❖ Morphologie microscopiques « Coloration de Gram »

Les isolats d'actinomycètes sont observés au microscope optique en utilisant la coloration de Gram qui est un procédé qui permet de diviser les bactéries en deux groupes distincts : les bactéries à coloration de Gram positive et les bactéries à coloration de Gram négative. Elle permet aussi de préciser la morphologie et le mode de groupement des cellules.

Tout d'abord les lames sont immergées dans l'alcool pendant 20 min. Ensuite les frottis sont colorés en premier lieu par une solution de violet de Gentiane qui est un colorant basique, pendant une minute. Ensuite les lames sont rincés par une solution iodoiodurée (Lugol) qui agit comme mordant en augmentant les interactions entre le colorant et les cellules afin que celle-ci soient contrastées. Sans rincer, les lames sont inclinées à 45°c, les frottis sont décolorés par lavage d'alcool. Par la suite, les lames sont rincées à l'eau distillée afin d'arrêter la décoloration. Enfin, les frottis sont recolorés par un colorant basique de couleur rose : la Fuschine, pendant une minute puis rincés abondamment à l'eau de robinet. Une fois séchées, les lames sont examinées au microscope optique à immersion (Gx100). Les résultats sont photographiés à l'aide d'un appareil téléphoniques (**Delarras, 2007 ; Duraipandiyam et al. 2010**).

→Celles qui présentent une coloration à Gram positif sont toutes repiquées sur ISP₂ .

II.6. Purification et conservation des actinomycètes

✓ Purification

À l'aide d'une pipette pasteur stérile, des colonies ont été prélevées de milieu d'isolement, qui sera ensuite ensemencé par repiquage successif. Cette opération est répétée jusqu'à l'obtention des cultures pures. La pureté des isolats a été contrôlée par des examens microscopiques directs, après chaque repiquage (**Boussaber et al, 2012**).

✓ Conservation

Les isolats purifiés sont ensemencés sur le même milieu coulé en tubes inclinés. Ces derniers sont incubés à 30°C pendant 14 à 28 jours, puis conservés à 4°C. Le milieu ISP₂ est choisi car il permet une croissance et une sporulation relativement bonnes de nos souches (**Boudjella, 2007**).

II.7. Identification biochimiques

✓ Dégradation de Cellulose

L'actinomycète a été ensemencé dans des tubes contenant 5 ml d'eau physiologique stérile, additionné des bandelettes de papier Wattman, utilisé comme seule source de carbone. Après ensemencement, les tubes ont été incubés à 30°C pendant 14 jours au plus. Un développement de croissance sur le papier est considéré comme résultat positif.

✓ Action sur lait écrémé

Ce test consiste à préparer des tubes contenant de 5ml lait écrémé, ces derniers sont ensemencés des actinomycètes et incubés à 30°C, des observations régulières pendant 14 jours permettent de noter la coagulation du lait provoquée par les souches (**Kitouni, 2007 ; Djaballah, 2010**).

✓ Hydrolyse de la caséine

Les souches d'actinomycètes sont ensemencées par touche sur milieu ISP₂ double concentration stérile contenant 100 ml de lait écrémé (autoclavage à 80 C° pendant 10 min) ; l'apparition des zones claires autour des colonies après 7 à 14 jours d'incubation à 30°C témoigne de l'hydrolyse de la caséine.

✓ **Test de dégradation des acides gras « recherche d'estérase »**

Est une teste effectué à partir de l'utilisation de milieu ISP2 stérile à base de 1% -2 % de tween 80 ; après l'ensemencement par touche et incubation pendant 7 à 14 jours à 30°C, la lecture est basée sur l'apparition d'une croissance sur le milieu de culture et par la présence d'un halo autour des colonies indique la dégradation des acides gras.

✓ **Hydrolyse de la gélatine**

Les souches sont ensemencées par touches sur milieu ISP2 contenant 3% de gélatine puis incubées 14 jours à 30°C. Les zones ou la gélatine n'est pas dégradée s'opacifient lorsqu'une solution de sulfate d'ammonium est versée sur la gélose. Les zones claires correspondent aux zones d'hydrolyse de la gélatine.

✓ **Hydrolyse de l'amidon : recherche d'amylase**

Ce test est réalisé sur milieu ISP2 stérile contenant 1% d'amidon soluble, le milieu est réparti dans des boîtes de Pétri stériles, puis ensemencés par touche, les boîtes sont incubés à 30 C°, après 14 jours, le milieu est recouvert d'une solution de lugol, l'hydrolyse est ainsi mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies, à l'inverse, les zones contenant de l'amidon se colorent en brun.