



République Algérienne Démocratique et
Populaire



Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi-Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des sciences de la Nature et de la Vie

Département de : Biologie Appliquée

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques.

Option : Microbiologie appliquée

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Etude des approches génomiques dans
l'estimation du pouvoir métabolique des
actinomycètes**

Présenté par

Bouras Hana

Mahdi Roufaïda

Devant le Jury:

Dr. Menasria.T

M.C.B Université de Tébessa

Président

Dr. Benhadj .M

M.C.A Université de Tébessa

Promotrice

Dr. Toumi .N

M.C.B Université de Tébessa

Examinatrice

Date de soutenance : 09/06/2021

Anne universitaire : 2020/2021



Dédicace



Je remercie ALLAH le Généreux pour m'avoir guidé vers la lumière de la recherche du savoir et de la science.

Je Dédie ce mémoire

A mes chers parents ma mère et mon père Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur Encouragement.

A mes très chers sœurs Sabah, Fatma, Aya

A mes frères Abd El Kader, Salem, Abd El Rahmen, Ahmed, Nacer, Youcef, Amin, Achref

A La femme de mon frère Nawal

Ma chère neveux sadja, montacer billeh, Hibate el Rahmen, sahar, que dieu vous protège

A l'ami et frère de ma famille Maher, je le remercie beaucoup pour ce que tu fais avec ma famille...

A toutes mes chères amies

Afaf, Halouma, Kouka, Ahlem.S, Marwa, Sara, Nada, Ichrak, chadha, Djouhaiana, Roumaissa B, Mouna, Nesrine, Souraia, Nahla, Alhem D, Roumaissa R, Roufaida, Takwa, Bouchra, en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A mon cher binôme Roufaida, je lui souhaite succès

Mes chères amies de la promotion de master

Et toutes les personnes que j'aime.

Hana ..



Dédicace



Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de vos interminables conseils ; assistance et soutient moral, en témoignage de ma reconnaissance et mon affection, dans l'espoir que vous en serez fiers.

A la plus chère au monde, ma mère qui a toujours m'encouragé durant mes études. Je t'aime maman. Je demande à Dieu les protéger et leur réserver une longue vie.

A mon Très chère père, mon exemplaire dans cette vie, qui m'a toujours soutenu et m'encouragé, et qu'a été toujours présent pour moi.

A mes grand- parents maternels et paternels

"La paix a son âme"

A mes Très chères sœurs A mes Très chers frères

A mes oncles et tantes paternels et maternels et leurs enfants.

A tous ma famille Mahdi et Médaguine

A toutes mes très chères amies : Nada et Douha, Takwa ,Sara

Mon préfère ami Houdaifa

A mon cher binôme Hana je lui souhaite succès

*A toute la promotion master2020 /2021 Option Microbiologie
Appliquée du Département des SNV, Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers*

Université Chikh Laarbi Tebessi

A toute personne qui me connait de près ou de loin.

Roufaida

Remerciements

*Avant tous je remercie **ALLAH** le tout puissant de m'avoir aidé à surmonter toute les difficultés lors de mes études et ce ne sont pas ces quelques mots qui exprime mes sentiments les plus sincères.*

*Nous tenons à exprimer toute nos gratitudees à Madame **Mabrouka Benhadj** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, et pour sa disponibilité, sa patience, sa compétence, ses précieux conseils, la confiance qu'il nous a accordé.*

Merci madame pour les orientations et les encouragements qui nous ont permis de progresser, et d'élargir notre champ de vision du travail de recherche.

*Merci à tous les membres de jury ; monsieur **Menaseria T.** pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury ; Madame **Toumi .N** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire*

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

Merci à toutes les personnes qui de diverses façons et à différents moments nous apporté leur aide.

Résumé

Les actinomycètes sont des bactéries mycéliennes à Gram positif, généralement saprophytes, hétérotrophes, aérobies, mésophiles et ubiquitaires ; sont rencontrés sur une grande variété de substrats naturels: sols, débris végétaux, sédiments marins, lacs, mers et océans. Ils sont secrétées les molécules bioactives telles que, les enzymes, les vitamines, les immunosuppresseurs, les insecticides et les herbicides, et les *Streptomyces* sont les meilleurs candidats pour la production des métabolites secondaires biologiquement actifs.

Dans cette recherche, notre objectif est l'étude des différentes approches génomiques qui estiment les métabolites secondaires chez les actinomycètes

La plupart des métabolites secondaires des actinomycètes ont été découverts par des méthodes chimiques consistant à modifier les conditions de culture. De nombreux métabolites secondaires sont exprimés à de faibles niveaux au cours de la croissance en laboratoire. La découverte de nouveaux métabolites secondaires s'est avérée difficile. Cette limitation a été surmontée par une approche d'exploration du génome, dans laquelle les progrès récents de la technologie de séquençage de l'ADN et à l'aide des outils bio-informatiques (antiSMASH, BLAST, NP searcher.. etc) ont entraîné une augmentation rapide du nombre de métabolites secondaires de génomes des actinomycètes de haute qualité.

A l'issue de ce travail, nous pouvons conclure que les approches génomiques plus important dans l'estimation de pouvoir métabolique des actinomycètes par rapport à la méthode classique

Mots clés : Actinomycètes, métabolites secondaires, *streptomyces*, approches génomiques, Exploration de génome, bio-informatique.

Abstract

Actinomycetes are Gram-positive mycelial bacteria, generally saprophytic, heterotrophic, aerobic, mesophilic and ubiquitous; are encountered on a wide variety of natural substrates: soils, plant debris, marine sediments, lakes, seas and oceans. They are secreted bioactive molecules such as enzymes, vitamins, immunosuppressants, insecticides and herbicides, and Streptomyces are the best candidates for the production of biologically active secondary metabolites.

In this research, our objective is the study of different genomic approaches that estimate secondary metabolites in actinomycetes.

Most of the secondary metabolites of actinomycetes have been discovered by chemical methods consisting in modifying the culture conditions. Many secondary metabolites are expressed at low levels during growth in the laboratory. The discovery of new secondary metabolites has proven to be difficult. This limitation has been overcome by a genome mining approach, in which recent advances in DNA sequencing technology and bioinformatics tools (antiSMASH, BLAST, NP searcher...ect) have resulted in a rapid increase in the number of secondary metabolites from high quality actinomycetes genomes.

In the wake of this work, we power that genomic approach more important in the estimation of metabolic power of actinomycetes compared to the classical method

Keywords: Actinomycetes, secondary metabolites, streptomyces, genomic approaches, genome mining, bioinformatics.

ملخص

إن الأكتينوميستيس عبارة عن بكتيريا ميسيليلية إيجابية الجرام ، وسادسة الجسيمات عموماً ، ومتغايرة الجسيمات ، وهوائية ، ومتوسطة الجسيمات ، وفي كل مكان ؛ وتصادف في مجموعة متنوعة من المناطق الطبيعية: التربة ، والحطام النباتي ، والرواسب البحرية ، والبحيرات ، والبحار ، والمحيطات. وهي جزيئات حيوية مفرزة مثل الإنزيمات والفيتامينات والمضادات المناعية ومبيدات الحشرات ومبيدات الأعشاب ، كما أن الستربتوميدات هي أفضل المرشحات لإنتاج الأيضات الثانوية النشطة بيولوجياً.

في هذا البحث ، هدفنا هو دراسة نهج الجينوم المختلفة التي تقدر الأيضات الثانوية في الأكتينوميستيس. معظم الأيضات الثانوية من الأكتينوميستيس اكتشفت بالطرق الكيميائية لتعديل ظروف الثقافة. يتم التعبير عن العديد من الأيضات الثانوية في مستويات منخفضة خلال نمو المختبرات. تبين أن اكتشاف الأيض الثانوي الجديد صعب. وقد تم التغلب على هذا التقييد من خلال نهج استكشاف الجينوم ، الذي تم فيه إحراز تقدم مؤخرًا في تكنولوجيا تسلسل الحمض النووي واستخدام الأدوات الحيوية (ANTISMASH ، BLAST ، NP الباحث). س أدى إلى زيادة سريعة في عدد أيض الجينوم الثانوي وعلى أساس هذا العمل ، لا يمكننا إلا اتباع نهج الجينوم الأكثر أهمية في تقدير القوة الأيضية للأكتينوميستيس مقارنة بالأسلوب التقليدي

الكلمات الرئيسية: الأكتينوميستيس ، الأيض الثانوي ، ستربتوميساس ، نهج الجينوم ، استكشاف الجينوم ، المعلوماتية الحيوية.

Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre du tableau	Page
Tableau 01	Distribution des genres des actinomycètes dans la nature	16
Tableau 02	Importance médicale de certains antibiotiques produits par le genre Streptomyces	17
Tableau 03	les principales différences entre les métabolites primaires et secondaires	20
Tableau 04	Exemples d'antibiotiques produits par les actinobactéries	24
Tableau 05	quelques actinobactéries producteurs d'enzymes	25
Tableau 06	Exemples de molécules antioxydants produites par des quelques espèces d'actinobactéries	32
Tableau 07	Exemples d'agents antifongiques produits par les actinobactéries	33

Liste des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure 01	Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec Des hyphes vivants (bleu-vert) et morts (blanc) la figure montre le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaines de conidiospore	07
Figure 02	les classes morphologiques de <i>Streptomyces olindensis</i> cultivé en milieu liquide	07
Figure 03	Arbre phylogénétique basé sur le génome du phylum <i>Actinobacteria</i>	09
Figure 04	Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes sporulant	14
Figure 05	différents types de chaînes de spores chez les actinomycètes, (A) spores endogènes; (B) spores exogènes	15
Figure 06	(a) Phases de la croissance bactérienne et production de métabolites. Globalement, les métabolites majeurs peuvent être produits à la fin de la phase d'intervalle et au centre de la phase exponentielle, les métabolites mineurs pouvant être produits à la fin de la phase stationnaire et pendant la phase constante. (b) Différentes voies responsables de l'assemblage des métabolites secondaire	21
Figure 07	Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes	22
Figure 08	Hydrolyse de la cellulose par les trois types de cellulases	26
Figure 09	Mode d'action de l'alpha-amylase	27
Figure 10	Catabolisme des triglycérides	28
Figure 11	Pigments diffusible caséine agar	30
Figure 12	Vue d'ensemble de l'approche classique et de l'approche de l'exploration du génome pour le criblage des produits naturels	37
Figure 13	Carte génétique du chromosome de <i>Streptomyces ambofaciens</i> et localisation des différents clusters de gènes de biosynthèse de métabolites secondaires	38
Figure 14	Exemple de résultats obtenus par antiSMASH. A) Différents clusters identifiés dans la séquence analysée. B) Organisation des gènes du cluster sélectionné. C) Architecture de l'enzyme sélectionnée (dans le cas des PKS et NRPS). D) Structure du métabolite proposée. E) séquence protéique du domaine sélectionné	41

Liste des abréviations

% : Pourcentage

µm : Micromètre

ADN: Acide désoxyribonucléique

ADNr: Acide désoxyribonucléiqueribosomique

AntiSMASH: *antibiotics and Secondary Metabolite Analysis Shell*

ARN: Acide ribonucléique

ARNr 16 S: acide ribonucléique ribosomique 16 S

BGC: *biosynthetic genes clusters*

BLAST: *Basic Local Alignment Search Tool*

C° : degré Celsius

C : Cytosine

CHs : Chitine synthase

G: Guanine

GC°/° : Pourcentage de Guanine Cytosine

G+C: Coefficient de Chargaff.

H₂O: Eau

Kb : kilo de base

LL-DAP : Acide 2,6 –diaminopimilique

NaCl : clore de sodium

NGS: New Generation Sequencing

NRPS: Non ribosomal polypeptide synthase

Pb : paire de base

PCR : Réaction de Polymérase en Chaîne

PH : Potentielle d'hydrogène

PKS : *Polyketide Synthase*

RMN : *Résonance Magnétique Nucléaire*

SM-BGC: *Secondary Metabolites biosynthetic genes clusters*

TIRs : Terminales inversées répétées

Table de matière

Dédicace

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre01 Généralité sur les actinomycètes

1. Historique..... 3

2. Définition 3

3. Les principales caractéristiques 4

4. Morphologie..... 5

5. Taxonomie 7

5.1. Critères morphologiques..... 9

5.2. Critères chimiques (chimio taxonomique) 9

Acides aminés : 9

Glucides : 9

Acides gras : 9

Les acides nucléiques : 9

5.3. Critères physiologique 10

5.4. Critères moléculaire..... 10

5.4.1. Séquençage de l'ADN ribosomique 16S..... 10

5.4.2. Hybridation ADN-ADN 11

5.4.3. Pourcentage de guanine-cytosine (G + C) 11

6. Physiologie 12

6.1. Le pH 12

6.2. L'oxygène 12

6.3. La température 12

6.4. Tolérance en NaCl 12

7. Cycle de développement	13
8. Ecologie des actinomycètes	15
9. Importances des actinomycètes :	15
□ En agronomie.....	15
□ En biotechnologie	16

Chapitre 02 Pouvoir métabolique des actinomycètes

1. Métabolisme général des actinomycètes.....	18
1.1. Le métabolisme primaire	18
1.2. Le métabolisme secondaire	18
2. Les substances bioactives produite par les actinomycètes.....	20
2.1. Antibiotiques	21
2.2. Les enzymes	23
2.2.1. Les cellulases	25
2.2.2. Les amylases	25
2.2.3. Les xylanases	26
2.2.4. Les lipases	26
2.2.5. Les pectinases.....	27
2.2.6. Les protéases	27
2.2.7. Les chitinases	28
2.3. Les vitamines	28
2.4. Les pigments.....	28
2.5. Les bios herbicides	29
2.6. Les antifongiques et antiparasitaires.....	29
2.6.1. Les antifongiques les polyènes.....	30
2.6.2. La nystatine	30
2.6.3. Amphotéricine B	30
2.6.4. nikkomycine	30
2.7. Les insecticides.....	31
2.8. Les substances anti-oxydantes.....	32

Chapitre 03 L'estimation de pouvoir métabolique des actinomycètes dans les approches génomiques

1. Généralité.....	35
2. Les gènes responsables du métabolisme secondaire.....	36
3. Séquençage	38

4. Les outils bio-informatiques	39
5. Les Approches de découverte des nouveaux métabolites.....	40
5.1. Approche classique.....	40
5.2. Approche reposant sur l'étude des séquences génomiques (<i>genome mining</i>).....	41
5.2.1. Recherche de nouveaux composés par « <i>genome mining</i> »	41
5.2.2. Outils <i>in silico</i> pour l'exploration du génome des smBGCs.....	42
5.2.3. Recherche de nouveaux composés par « <i>genome mining</i> » dans les îlots génomiques	43
6. Les recherches de nouveaux métabolites secondaires (molécules bioactives).	44
□ Chez <i>Streptomyces ambofaciens</i>	45
□ Chez <i>Streptomyces albus</i> J1074	46
Conclusion.....	48
Références	49

Introduction

Introduction

Les actinobactéries sont des organismes procaryotes, sont classés parmi les bactéries. Elles sont incluses dans l'ordre des Actinomycetales. Les actinobactéries sont des bactéries aérobies à Gram-positif (**Kitouni, 2007**), avec un G+C élevé (70%). Le mode de vie des actinobactéries est en grande partie lié aux nombreuses activités biologiques de leurs métabolites secondaires. Ceux-ci peuvent avoir notamment une action antibiotique, anti-tumorale, antifongique, herbicide ou encore insecticide (**Kieser et al., 2000**).

Jusqu'à la fin des années 1940, les actinobactéries étaient considérés comme des organismes particuliers de peu d'importance pratique. Cependant, après la découverte de la streptomycine par Schatz et Waksman en 1943, il y a une explosion d'intérêt pour ces organismes et leurs importance pharmaceutique, médicale, vétérinaire, agricole et écologique est devenue appréciée (**Logan, 1994**).

Streptomyces est le genre dominant dans le groupe des actinobactéries, leurs espèces étant connues comme productrices d'antibiotiques naturels, d'enzymes et d'autres métabolites (**Ursan et al., 2018**).

Les actinomycètes sont considérés comme la source la plus puissante pour la production de métabolites secondaires, d'antibiotiques et d'autres composés bioactifs (**Janardhan et al., 2014**). Ces métabolismes peuvent posséder des propriétés biologiques intéressantes et de nombreuses molécules utilisées en médecine ont pour origine un métabolite produit par un *Streptomyces*. Avec la multiplication des données de séquençage, plusieurs outils de recherche de clusters du métabolisme secondaire ont été développés (**Medema et al., 2011**).

Ils existent de nombreux métabolites secondaires qui ne sont pas exprimés dans les cultures de laboratoire classiques (**Manteca et Yagüe, 2018**).

A ce jour, 71 génomes d'Actinobacteria ont été complétés et annotés. Ces analyses génomiques ont mis en lumière la compétence de ces microbes en matière de métabolisme secondaire sous-estimée pendant des années sur la base des programmes d'isolement conventionnels et ont permis d'améliorer la qualité de la vie et ont contribué à jeter les bases d'un nouveau paradigme de découverte de produits naturels basé sur l'exploration du génome (**Nett et al., 2009**).

Ils existent de nombreux métabolites secondaires qui ne sont pas exprimés dans les cultures de laboratoire classiques, par contre L'exploration computationnelle des génomes est devenue un élément important de la découverte de nouveaux produits naturels comme

médicaments naturels (**Amin et al., 2020**) pour cela, on travailler à découverte des nouvelles approches qui sont explorées pour relever les molécules bioactifs (**Manteca et Yagüe, 2018**).

Dans notre mémoire, réparti en trois chapitres, nous avons commencé par un aperçu général sur les actinobactéries (caractéristiques, taxonomie, importance, ...ect). Le deuxième chapitre est conçu pour des rappels sur les molécules bioactifs produites par les actinobactéries. En fin, dans le troisième chapitre, nous avons parlé autour des approches génomiques récentes et comment estimer les métabolites secondaires dans ces approches.

Dans ce cadre, notre objectif est l'étude des différentes approches génomiques qui estiment les métabolites secondaires chez actinomycètes.

Chapitre01

Généralité sur les actinomycètes

1. Historique

D'après **Waksman (1961)**, Ferdinand Cohn fut le premier à décrire un actinomycète en 1875 et en 1878, Harz, nomma *Actinomyces bovis*, un organisme parasite rencontré dans une infection de la mâchoire d'un bovin, (**Garrity et al., 2007**).

Waksman divise en quatre grandes catégories l'histoire des actinomycètes :

La première, est celle de la découverte de leur rôle dans la pathologie et va de 1874 aux années 1990.

La seconde période (1900-1919) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de Kraisky, de Cohn, de Waksman et de Curtis.

C'est ensuite la période (1919-1940) au cours de laquelle une meilleure connaissance des germes a été acquise grâce aux recherches de Waksman, de Lieske, de Krassilnikov.

La dernière époque historique est celle des antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle commence en 1940 et le nom de Selman Waksman lui est indissolublement lié (**Ouargli, 2018**).

2. Définition

Les actinobactéries sont encore appelées actinomycètes. Elles étaient auparavant considérées comme étant des bactéries à Gram positif capables de former des spores asexuées (conidiospores ou sporangiospores) et des hyphes ramifiés non fragmentés ou fragmentés.

Leur développement donnait lieu à des colonies circulaires constituées de filaments qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance. Ceci explique leur dénomination «actinomycètes» du Grec « aktino, mycetes » ou « champignons à rayons » ou encore « champignons rayonnants ». Les actinobactéries étaient classées dans l'ordre des Actinomycetales. Certains représentants de ces microorganismes, surtout les aérobies, ont longtemps été rejetés de l'ensemble des bactéries et confondus avec les champignons du fait de leur morphologie fongicoïdes (filaments ramifiés, organes de sporulation..... etc) et de l'allure mycosique des maladies qu'ils provoquent. Ce problème est résolu et ce groupe de microorganismes est définitivement classé parmi les bactéries et ont un pourcentage de guaninecytosine (G+C%) supérieur à 55% (**Saker, 2018**).

3. Les principales caractéristiques

Les actinomycètes sont un grand groupe de bactéries aérobies mais il existe des formes anaérobies regroupant généralement des espèces pathogènes (Andariambololona, 2010).

- les actinomycètes sont des chimoorganotrophes utilisant une grande variété de sources d'énergie y compris les polymères complexes (Aouar, 2012).
- les filaments des actinomycètes sont en réalité constitués de cellules procaryotes dont le diamètre est beaucoup plus petit que celui des cellules eucaryotes des moisissures (Bouaziz, 2018).
- 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 (Theilleux, 1993).
- La plupart des actinobactéries sont immobiles. Toutefois certaines produisent des spores flagellées permettant leur dispersion dans les habitats aquatiques (Bouaziz, 2018).
- Ils sont hétérotrophes, certaines espèces sont chimio-organotrophes, mésophiles et vivent dans la gamme de pH 5,0 à 9,0 avec un optimum vers la neutralité (Bouaziz, 2018).
- Les actinomycètes sont des hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont capables de croissance chimio-auto-trophes. Certains ont des exigences nutritionnelles telles que les vitamines et certains acides aminés.
- Les actinobactéries sont généralement saprophytes mais quelques-uns sont pathogènes pour les plantes telle que *Streptomyces scabies* (Bouaziz, 2018).
- Les cellules des actinomycètes sont minces avec un chromosome organisé en un nucléoïde procaryote et une paroi cellulaire avec peptidoglycane (Barkaet al., 2016).
- Le diamètre de leur mycélium est approximativement le un dixième de celui de la plupart des hyphes fongiques (généralement 0.7 à 0.8 μm).
- La composition de la paroi cellulaire des actinomycètes varie considérablement d'un groupe à l'autre et revêt une importance taxonomique considérable. Quatre principaux types de parois cellulaires se distinguent dans ces bactéries filamenteuses sur la base des trois caractéristiques de la composition et de la structure des peptidoglycanes. Ces caractéristiques sont (i) l'isomère d'acide diaminopimélique sur la position 3 de la chaîne latérale du tétrapeptide, (ii) la teneur en sucre du peptidoglycane et (iii) la présence de glycine dans les ponts interpeptidiques. Comme cela est évident dans, les profils de sucre

caractéristiques sont présents uniquement dans les types de parois cellulaires II-IV de ces actinomycètes avec de l'acide mésodiaminopimélique (**Mukesh, et al. ,2014**).

- Les actinomycètes n'ont pas de membrane nucléaire, elles possèdent des organites flagellaires ressemblant à ceux des bactéries. Elles sont pour la plupart sensibles aux lysozymes, et aux agents antibactériens (**Harir, 2010**).
- La sensibilité au chlorure de sodium ainsi qu'à certains agents chimiques ; L'utilisation de sources carbonées et azotées ainsi que la dégradation de certains polymères tels que l'amidon, la caséine et la gélatine et la production de mélanine (**Zerizer, 2014**).
- Caractérisés par une croissance lente et le temps de génération moyenne est environ 2 à 3 heures (**Messoudi ,2013**).

4. Morphologie

Ces bactéries ressemblent étroitement aux champignons dans leur morphologie globale. Et il est variée entre les différents genres des formes cocci comme *Micrococcus*, bâtonnets (*Mycobacterium*) et polymorphes (*Nocardia*) jusqu'aux filaments ramifiés qui se décomposent en cellules sphériques ou qui donnent un mycélium aérien avec de longues chaînes de spores (**Erikson, 1949**).

- ❖ Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :
 - des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
 - des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
 - des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

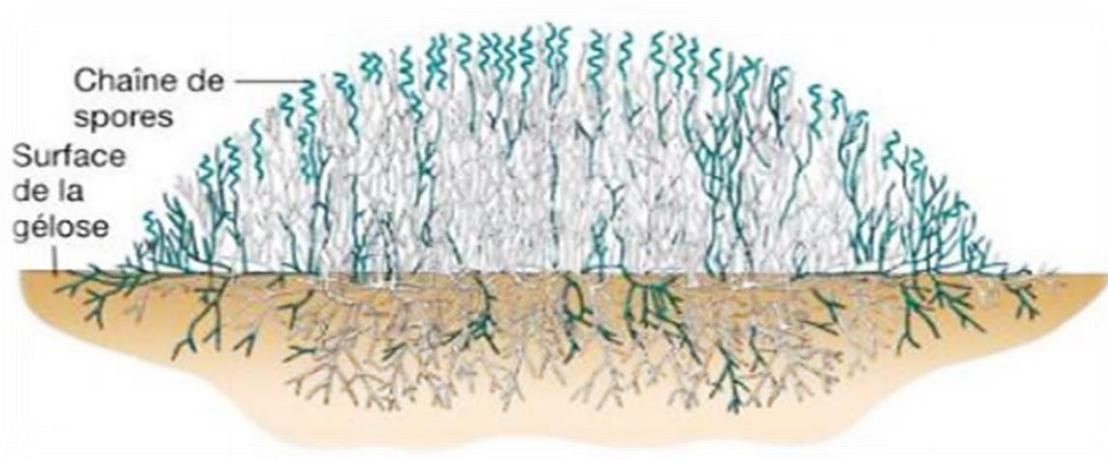


Figure 01 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec Des hyphes vivants (bleu-vert) et morts (blanc) la figure montre le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospore (**Prescott et al., 2018**)

- ❖ En culture liquide «sans agitation », les hyphes formés après la germination des spores montent en surface pour croître en contact de l'air. Cependant, en milieu liquide « avec agitation », il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. Les *Streptomyces* forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'agrègent pour former des pellets (**Aouar, 2012**).

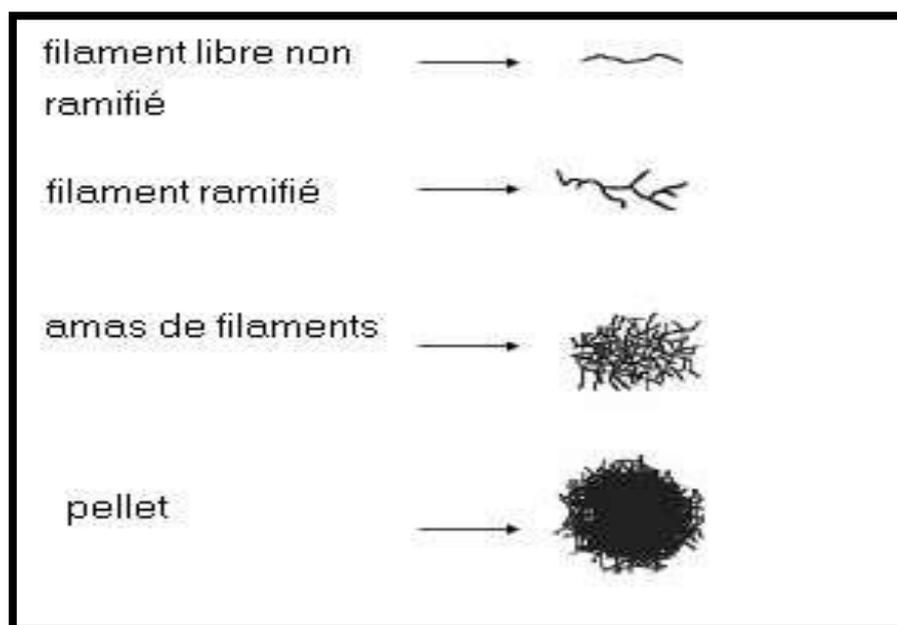


Figure 02: les classes morphologiques de *Streptomyces olindensis* cultivé en milieu liquide (**Khaled ,2016**).

La structure mycélienne des actinomycètes présente une grande diversité de morphologies. On distingue trois cas (**Djaballah, 2010**) :

- Soit seul le mycélium végétatif est formé (exemple : *Frankia*, *Dactylosporangium*). La croissance a lieu soit au sein, soit à la surface du milieu.
- Soit il y a formation de mycélium végétatif puis un mycélium aérien mûri en conidies (exemple : *Streptomyces*). Le mycélium aérien croît à la surface du mycélium végétatif et utilise ce dernier comme substrat.
- Soit, seul le mycélium aérien est formé, ce qui n'est rencontré que pour le genre *Sporichthya*, dont les hyphes du mycélium aérien sont attachés au substratum par des crampons.

Enfin, il existe d'autres structures morphologiques plus atypiques. Certains actinomycètes forment des structures particulières qui sont des sclérotés (*Chainia*), des synnèmes (*Actinosynnema*), des vésicules contenant des spores (*Frankia*) ou des vésicules qui en dépourvues (Intrasporangium) (**Barka et al., 2016**).

5. Taxonomie

Une taxonomie mise à jour des *Actinobacteria* qui est basée sur des arbres d'ARNr 16S a récemment été rapportée. Cette mise à jour a éliminé les rangs taxonomiques des sous-classes et sous-ordres, élevant les anciennes sous-classes et sous-ordres aux rangs des classes et des ordres, respectivement. Le phylum est ainsi divisé en six classes: *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria* et *Thermoleophilia* (**Gao et Gupta, 2012**).

La classe *Actinobacteria* contient 16 ordres. L'ordre Actinomycetales est désormais limité aux membres de la famille *Actinomycetaceae*, et les autres sous-ordres qui faisaient auparavant partie de cet ordre sont désormais désignés ordres distincts. Par conséquent, 43 des 53 familles du phylum *Actinobacteria* sont affectées à une seule classe, *Actinobacteria*, alors que les cinq autres classes ne contiennent ensemble que 10 familles (**Van Dissel et al., 2014**).

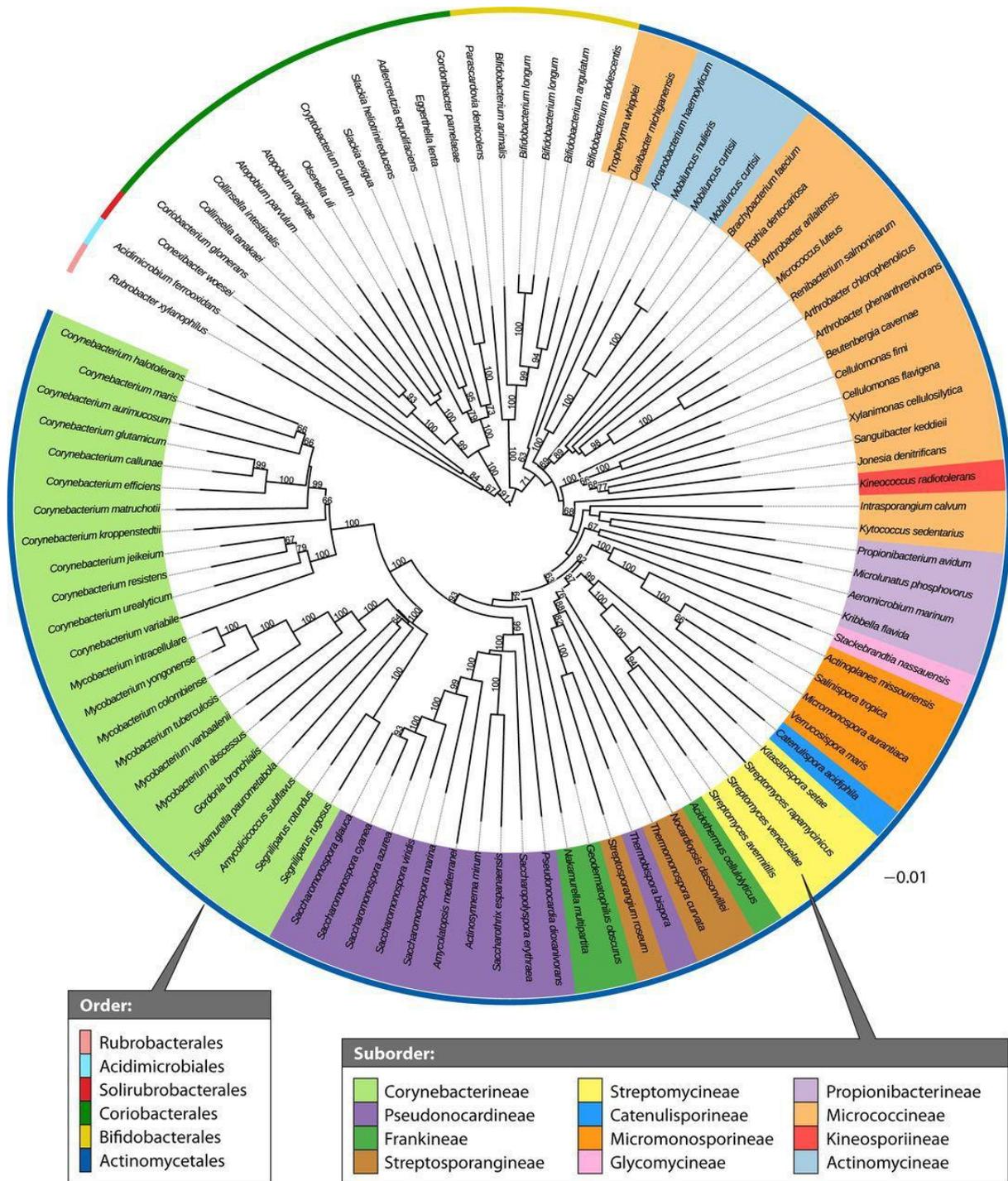


Figure 03: Arbre phylogénétique basé sur le génome du phylum *Actinobacteria* (Barka et al., 2016).

La taxonomie actuelle des actinomycètes est basée sur plusieurs critères : morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires. La plupart des genres peuvent être définis par des critères morphologiques et chimiques, tandis que la détermination des espèces repose sur les critères physiologiques et moléculaires.

5.1. Critères morphologiques

Les principaux critères morphologiques correspondent à la présence, à l'abondance et à la disposition des hyphes du mycélium du substrat ou du mycélium aérien. Ainsi que la présence des spores, leur nombre, leur mobilité, leur forme, leur position sur les hyphes, et la présence de sclérotés, de sporanges ou de synnémata (Fateh, 2017).

5.2. Critères chimiques (chimio taxonomique)

La composition de la paroi cellulaire en acides aminés, glucides et lipides constituent le principal caractère utilisé en chimio taxonomie. (Fateh, 2017).

Acides aminés : Les *Streptomyces* et genre apparentés contiennent la forme LL-DAP (acide 2,6- diaminopimélique) contrairement à l'ensemble des autres Actinomycetales.

Glucides : Les glucides de la paroi cellulaire permettent une séparation en quatre groupes majeurs. Le spectre de sucres A (arabinose + galactose) est caractéristique des genres *Nocardia* et *Saccharopolyspora*. Le spectre glucidique B (madurose) est présent chez les genres *Actinomadura* et *Streptosporangium*. Les *Streptomyces* et genres apparentés ne synthétisent aucun glucide en quantité caractéristique (spectre C). Il en est de même pour les genres *Thermomonospora* et les *Thermoactinomyces*. La présence de xylose et d'arabinose (spectre D) est caractéristique des *Actinoplanes* et du genre *Micromonospora*

Acides gras : Les acides gras les plus communs, chez les actinomycètes appartiennent soit au groupe de molécules comportant de 12 à 20 atomes de carbone, soit au groupe des acides mycoliques à 20-90 atomes de carbone. La présence d'acides mycoliques est caractéristique des genres tels que *Nocardia*, *Mycobacterium* et *Rhodococcus*).

Les acides nucléiques : Les déterminations portent sur GC%, sur le spectre obtenu par électrophorèse des fragments de l'ADN, sur le taux d'hybridation ADN – ADN et sur la séquence de l'ARNr 16S. Une différence de plus de 10 % indique que deux souches sont sans relation. Au-delà de 70 % de similitude, deux souches sont considérées comme appartenant à la même espèce.

5.3. Critères physiologique

L'étude des caractères physiologiques a été utilisée également par les taxonomistes pour la différenciation des espèces d'actinomycètes. Ces caractères sont des tests de dégradation organiques (glucidiques, protidiques, lipidiques, polymères..... etc) et des tests de résistance aux différents agents chimiques (antibiotiques, divers autres agents), ainsi que la tolérance au pH, à la température, à la salinité,..... etc. Lorsque le nombre des tests est très important, les résultats deviennent difficilement exploitables ce qui a amené les systématiciens à appliquer la taxonomie numérique aux actinomycètes. Cette taxonomie consiste à utiliser un nombre très important des caractères physiologiques et vise à classer les espèces individuelles dans des groupes homogènes en utilisant l'outil informatique (**Boudjelal-Bencheikh, 2012**).

5.4. Critères moléculaire

Dès l'avènement de la biologie moléculaire vers le début des années 1980, les méthodes traditionnelles de classification ont commencé à être remplacées par les techniques moléculaires qui reposent sur les analyses des séquences de l'ADN codant pour l'ARN ribosomique 16S (ADNr 16S), l'hybridation ADN-ADN et la détermination du pourcentage de guanine-cytosine (GC%) pour déterminer la position taxonomique des actinobactéries (**Bouaziz, 2018**).

5.4.1. Séquençage de l'ADN ribosomique 16S

Le premier à avoir utilisé cette technique pour la taxonomie des actinobactéries a été Stackebrandt et ses collaborateurs en 1981 et 1983. Le gène codant pour l'ARN ribosomique 16S est un gène chromosomique d'une taille de 1500 paires de bases, présent chez toutes les bactéries dont la séquence est spécifique de chaque espèce et dont les extrémités 5' et 3' (15 premières et 15 dernières bases) sont conservées dans toutes les espèces bactériennes.

L'étude de l'ADNr 16S utilise deux techniques de base la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) et le séquençage. Le gène ADNr est amplifié par PCR, puis les séquences du produit sont analysées. Les séquences ainsi obtenues des différents taxons sont comparées entre elles ou bien avec des espèces de références répertoriées dans des banques de données génomiques accessibles sur internet telles que « Ez Taxon ». Ainsi, le séquençage de l'ADNr 16S constitue un outil très rapide pour l'identification des taxa. Le positionnement taxonomique des souches étudiées par rapport aux genres et aux espèces voisines

(phylogénie) utilise des méthodes de calcul des distances d'évolution. Il est admis que deux genres ayant une homologie inférieure à 94% sont différents, il en est de même pour deux espèces présentant une homologie inférieure à 97%. Il faut cependant noter qu'un taux d'homologie compris entre 97% et 100% n'indique pas nécessairement que les espèces sont identiques, surtout si cette dernière fait partie d'un genre comptant un grand nombre d'espèces comme c'est le cas pour le genre *Streptomyces*. Le recours à l'hybridation ADN-ADN s'avère donc nécessaire pour statuer définitivement sur des cas pareils. Dans ce contexte, ont proposé 98,2% et 98,65%, respectivement comme une limite de séparation entre les espèces et ce sans avoir recours à l'hybridation ADN-ADN (Bouaziz, 2018).

5.4.2. Hybridation ADN-ADN

L'analyse de l'hybridation ADN-ADN est indispensable pour l'identification définitive d'une espèce lorsque les séquences de l'ADNr 16S présentent des similarités supérieures au pourcentage du seuil de la détermination d'espèce nouvelle. L'hybridation ADN-ADN consiste à estimer le taux de réassociation (hybridation) de l'ADN génomique d'un taxon avec celui des espèces les plus proches. Deux espèces sont considérées différentes si elles ont un taux de ressemblance de l'ADN génomique inférieur à 70% (Bouaziz, 2018).

5.4.3. Pourcentage de guanine-cytosine (G + C)

En 1949 Chargaff et *al.*, signalent que le contenu en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN pouvait varier d'un individu à l'autre mais était constant pour les individus d'une même espèce. Chez les bactéries le pourcentage G+C varie de 25 à 75%. Pour les actinobactéries, ce coefficient est supérieur à 55%, il est généralement compris entre 60 à 78%. Le Tableau IV, représente les valeurs de GC des actinobactéries. La détermination du coefficient de Chargaff (G+C%) est un critère important non seulement dans l'identification des genres mais aussi des familles d'actinobactéries. Ceci a permis de différencier la lignée des actinobactéries de celle des autres bactéries. De même, d'autres bactéries non mycéliennes telles que *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter* et même *Micrococcus*, sont considérées comme faisant partie de la lignée phylogénique des actinobactéries (Bouaziz, 2018).

6. Physiologie

Plusieurs facteurs peuvent influencer la croissance des actinomycètes. Parmi ces facteurs, on peut citer :

6.1.Le pH

Généralement, les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin. Toutefois, différents actinomycètes ont été isolés à partir d'écosystèmes présentant des conditions de pH hostiles (lacs extrêmement alcalins)(**Belyagoubi, 2014**).

6.2.L'oxygène

Selon leurs types respiratoires, on peut répartir les actinomycètes en deux groupes (**Messaoudi, 2013**) :

Les formes fermentatives anaérobies, représentées par le genre type *Actinomyces*, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs, Ils font partie de la flore de Veillons. Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces*, sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol.

6.3.La température

Généralement, les actinomycètes sont mésophiles mais certaines espèces sont thermophiles. Les actinomycètes thermophiles tolèrent des températures allant jusqu'à 60°C (**Belyagoubi, 2014**).

C'est principalement le genre *Thermoactinomyces* qui produise des spores résistantes à une température de 90°C. Le genre *Streptomyces* comporte aussi des espèces thermophiles comme *Streptomyces thermocophilus* et même psychrophiles (**Djaballah, 2010**).

6.4.Tolérance en NaCl

Le NaCl est nécessaire pour la croissance des actinomycètes comme tous les microorganismes, selon leurs exigences en NaCl, ils sont divisés en deux groupes (**Messaoudi, 2012**) :

- **Les halophiles** : Les faiblement halophiles, la concentration varie de 1-6 %, pour les bactéries extrêmes halophiles les taux peuvent atteindre jusqu'aux 15 à 30 %.

- **Les halotolérants** : On distingue, les légèrement tolérants de 6 à 8 % de NaCl; les modérément tolérants de 18 à 20 %; et les extrêmement tolérants se développe de 0 % jusqu'à saturation en NaCl. Cette tolérance n'est obligatoire pour leurs croissances.

7. Cycle de développement

Le mode de croissance des actinomycètes implique généralement un cycle biologique complexe. La plupart des actinomycètes produisent un réseau des hyphes septés et ramifiés à la fois à la surface et à l'intérieur du substrat pour former un tapis dense d'hyphes (mycélium végétatif ou de substrat). Chez de nombreux actinomycètes, les hyphes végétatif se développent vers le haut et forment un mycélium aérien qui donne un aspect floconneux aux colonies. Généralement, le mycélium aérien forme des chaînes de spores par septation. Une fois maturées, elles sont libérées dans l'environnement (des exospores). Si les spores sont localisées dans un sporange, on peut parler de sporangiospores. Ces spores peuvent avoir des formes très variables (**Prescott et al., 2018**).

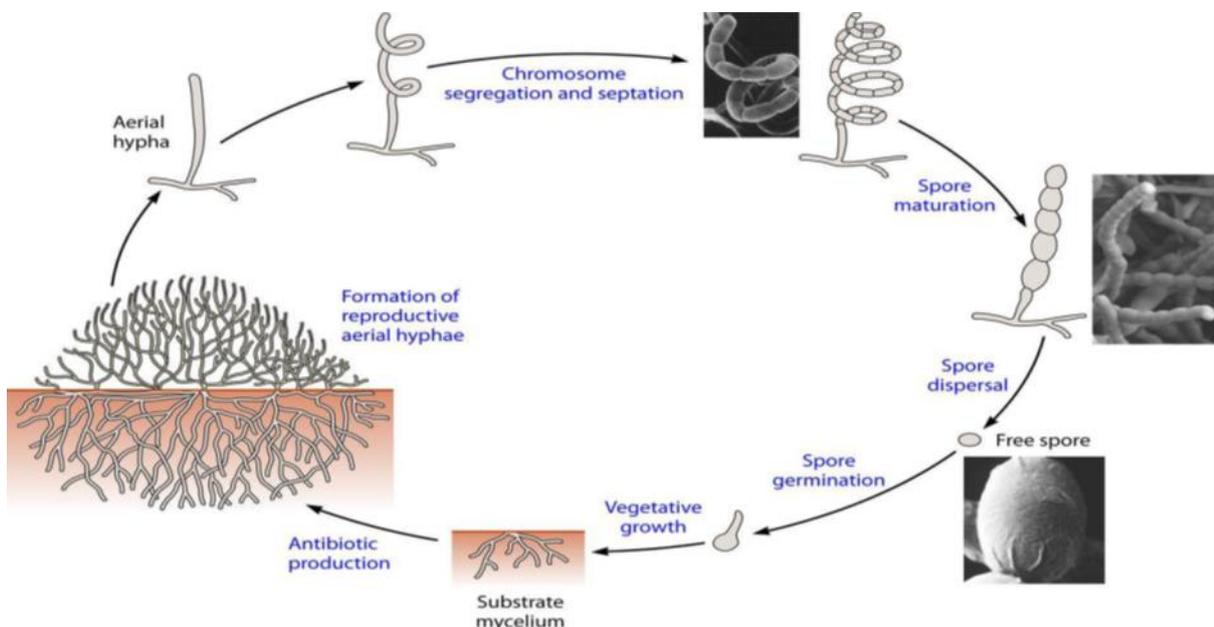


Figure 04 : Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes sporulant (**Barka et al., 2016**).

La plupart des actinomycètes sont immobiles. Cependant, certains produisent des spores flagellées, appelées zoospores, permettant leur dispersion dans les habitats aquatiques. Les spores d'actinomycètes présentent une grande variété d'arrangements (**Belyagoubi, 2014**) :

- Des spores isolées (*Micromonospora*),

- Deux à deux longitudinalement (*Microbispora*),
- En courtes chaînettes (*Actinomadura*),
- En longues chaînettes (*Streptomyces*) : les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales. Elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores.

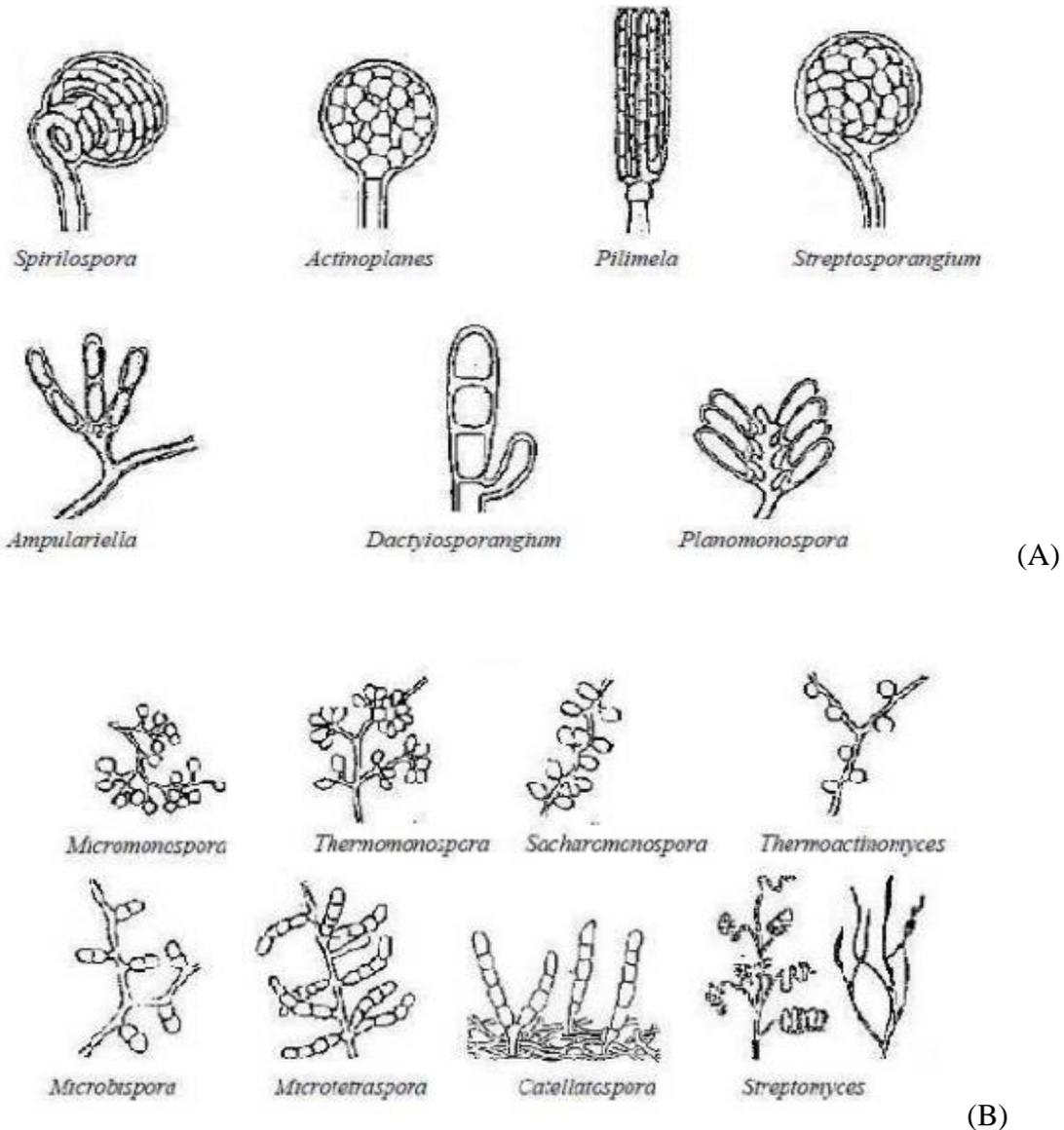


Figure 05: différents types de chaînes de spores chez les actinomycètes, (A) spores endogènes; (B) spores exogènes.

8. Ecologie des actinomycètes

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires que l'on rencontre dans la plupart des niches écologiques. La grande majorité est d'origine tellurique et c'est à partir du sol que ces bactéries peuvent coloniser de nombreux biotopes: air, composts, eaux, fourrages, fumiers, grains de céréales, systèmes d'air climatisé, poussière de maison, foin et pailles, résidus fibreux de canne à sucre, pollen des plantes et bien d'autres substrats (**Boudjelal, 2012**). Le nombre des actinomycètes dépendent de nombreux facteurs : l'abondance de la matière organique, la profondeur, le pH, l'aération et l'humidité (**Loucif, 2011**).

Tableau 01: Distribution des genres des actinomycètes dans la nature (**Kitouni et al., 2005**).

Actinomycètes	Habitats
<i>Actinoplanes</i>	Eau douce, la litière végétale, le sol.
<i>Frankia</i>	Nodules racinaires des non-légumineuses.
<i>Micromonospora</i>	Eau douce, les sédiments, les sols humides
<i>Nocardiaamarae</i>	Les boues activées.
<i>Rhodococcuscoprophilus</i>	Les 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>	Compost

9. Importances des actinomycètes :

La biodiversité des actinomycètes dans différents écosystèmes a donné naissance à une panoplie de composés bioactifs de haute valeur commerciale et utilisées dans différents domaines (industriels, biotechnologies, pharmaceutiques et alimentaires) (**Bouaziz, 2018**).

➤ En agronomie

Certains métabolites produits par les actinomycètes sont impliqués dans le processus de recyclage (en bioremédiation). Elles sont capables de dégrader des composés organiques

complexes tels que la chitine grâce à un potentiel enzymatique riche ainsi que des spores résistantes à la dessiccation (Djinni, 2009). Cette capacité de décomposition très active donne plus d'importance aux actinomycètes dans la microflore de la rhizosphère. Le genre *Frankia* par exemple joue un rôle dans la fixation d'azote atmosphérique en symbiose dans les nodules racinaires de certains arbres dicotylédones. De plus, certains antibiotiques sécrétés par les actinomycètes ont trouvé une application dans la lutte contre quelques maladies des plantes, comme c'est le cas de la kasugamycine. Ces antibiotiques sont utilisés depuis longtemps et à grande échelle dans l'agriculture japonaise, notamment contre certaines maladies du riz (Boudjelal-Bencheikh, 2012).

➤ **En biotechnologie**

Les actinomycètes produisent de nombreuses molécules bioactives et des antibiotiques qui occupent une place importante dans l'arsenal thérapeutique et commerciale dans les domaines pharmaceutiques, médical et vétérinaires (Bouaziz, 2018).

Tableau 02: Importance médicale de certains antibiotiques produits par le genre *Streptomyces* (Djinni, 2009).

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

Chapitre 02

Pouvoir métabolique des actinomycètes

1. Métabolisme général des actinomycètes

En général, les actinomycètes sont des bactéries chimioorganotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les bio-polymères complexes (chitine, cellulose, lignine). Mais, plusieurs espèces sont capables aussi d'une croissance chimio-autotrophe utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**). Leurs propriétés sont différentes en fonction de la phase au cours de laquelle ils sont synthétisés (**Delaunay et al., 2003**).

Le métabolisme des Actinomycètes peut être divisé en deux parties : le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire (**Strub, 2008**).

1.1. Le métabolisme 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) (**strub, 2008**).

Le métabolisme primaire des actinomycètes est semblable à celui des autres organismes. Les métabolites primaires ou généraux essentiels forment la structure cellulaire et permettent le fonctionnement du métabolisme général (**Theilleux, 1993**).

1.2. Le métabolisme secondaire

Le métabolisme secondaire est l'ensemble des voies permettant la synthèse de petites molécules, non essentielles mais pouvant procurer un avantage sélectif dans certaines conditions. Le métabolisme secondaire est généralement opposé au métabolisme primaire qui regroupe l'ensemble des voies cataboliques et anaboliques indispensables à la survie et à la reproduction de la cellule. Il existe une grande variété de métabolites secondaires pouvant avoir des structures chimiques diverses et complexes et de très nombreuses activités biologiques (**Drago, 2015**).

Les actinomycètes sont considérés comme la source la plus puissante pour la production de métabolites secondaires, d'antibiotiques et d'autres composés bioactifs (**Janardhan et al., 2014**).

Les espèces du genre *Streptomyces* sont connues pour la richesse de leur métabolisme secondaire. Ces métabolismes peuvent posséder des propriétés biologiques intéressantes et de

nombreuses molécules utilisées en médecine ont pour origine un métabolite produit par un *Streptomyces*. Avec la multiplication des données de séquençage, plusieurs outils de recherche de clusters du métabolisme secondaire ont été développés (Medema et al., 2011).

Les actinobactéries occupent la première place comme fournisseurs de substances bioactives dont 45% de ces molécules sont d'origine microbienne, soit environ 10 100 composés (Berdy, 2005 ; Solecka et al., 2012).

Tableau 03: les principales différences entre les métabolites primaires et secondaires (Saffory, 2006).

Métabolismes primaire	Métabolisme secondaire
Synthétisé pendant la trophophase.	Synthétisé pendant l'idiophase.
Présent tout au long du cycle cellulaire.	Apparition à un moment du cycle cellulaire.
Nécessaire à la croissance.	Inutile pour la croissance.
Rôle physiologique connu.	Rôle physiologique mal connu.
Produit dans des conditions de culture diverses.	Produit dans des conditions de culture bien définies.
Ubiquitaire.	Spécifique.
Enzymes à spécificité étroite.	Enzymes à spécificité large.
Voies de synthèse simple et courte.	Voies de synthèse longue et complexe.
Structure chimique généralement simple.	Structure chimique souvent complexe.
Concentration élevée.	Concentration faible.
Turn-over élevé.	Turn-over pratiquement nul

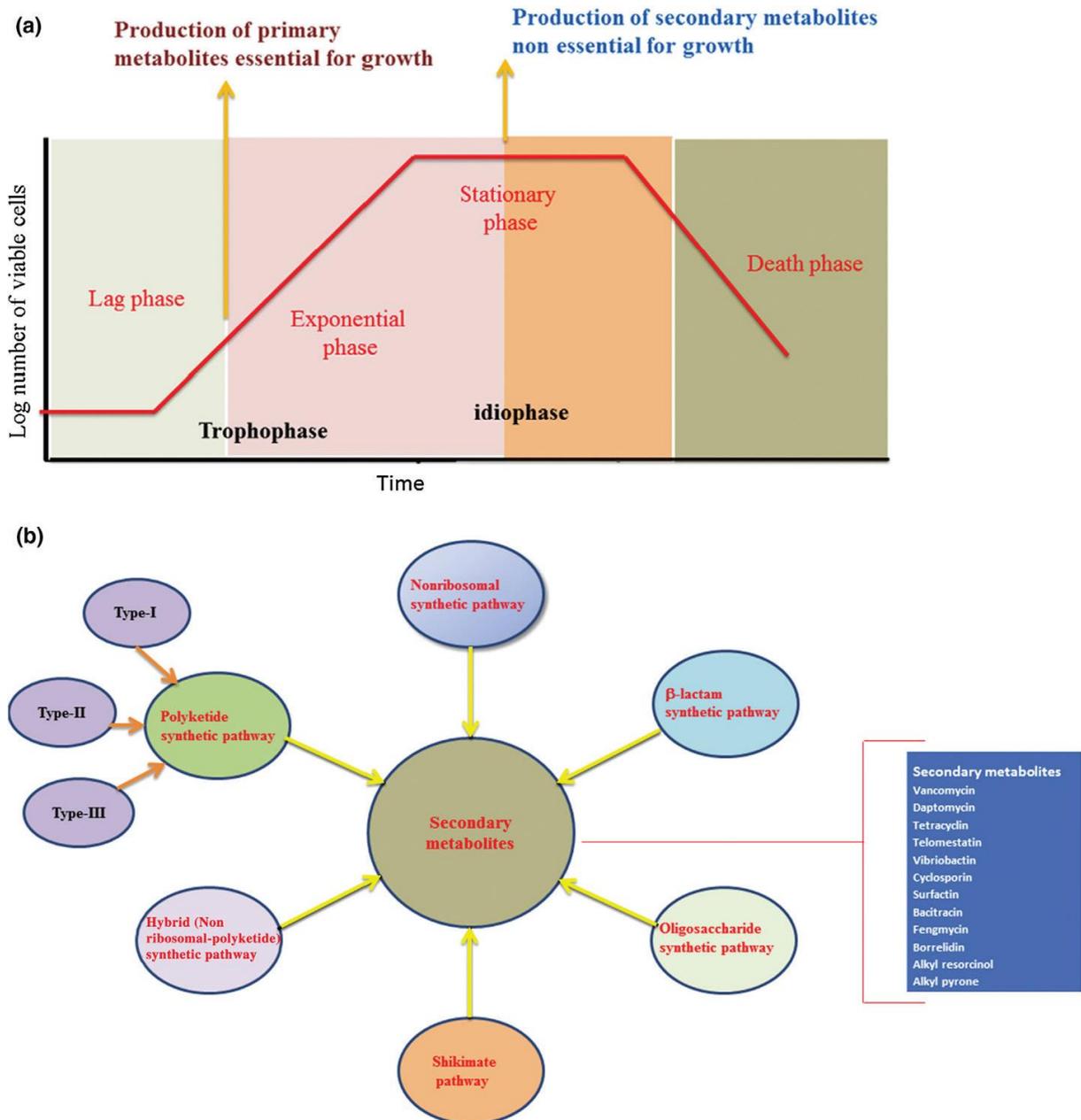


Figure06 :(a) Phases de la croissance bactérienne et production de métabolites. Globalement, les métabolites majeurs peuvent être produits à la fin de la phase d'intervalle et au centre de la phase exponentielle, les métabolites mineurs pouvant être produits à la fin de la phase stationnaire et pendant la phase constante. (b) Différentes voies responsables de l'assemblage des métabolites secondaires (Harir et al., 2018).

2. Les substances bioactives produite par les actinomycètes

Les métabolites bioactifs sont des produits du métabolisme primaire et métabolisme secondaire de différents organismes (plantes, animaux, champignons, bactéries) (Solecka et al., 2012).

Les actinomycètes sont connus par leur production de substances biologiquement actives telles que les antibiotiques, les vitamines, les enzymes et les pigments. Certaines espèces ont la capacité de solubiliser le phosphore, d'autres sont impliquées aussi, dans le control phytopathologique et dans la production des composés antifongiques (**Gebreselema, 2013**).

En effet, les actinomycètes produisent 47 % des molécules bioactives issues de microorganismes, découvertes entre 1940 et 2010 parmi lesquelles 24 % sont issues d'actinomycètes rares (**Berdy, 2012**).

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. En effet, la streptomycine a été le premier antibiotique ayant pour origine une souche de *Streptomyces* (**Ramanarivo, 2017**).

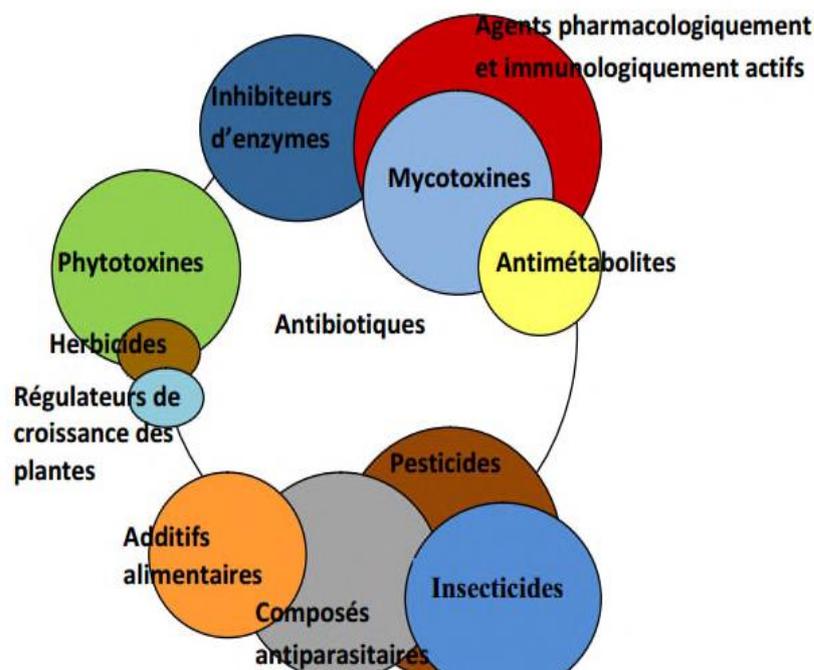


Figure 07: Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes (**Conn, 2005**).

2.1. Antibiotiques

Etymologiquement, le terme «antibiotique » est dérivé des mots grec « anti » qui veut dire contre et « bio » qui signifie la vie, c'est à dire, « contre la vie ». Un antibiotique est une substance qui peut être naturelle, synthétique ou semi-synthétique inhibant ou tuant les germes pathogène à faible concentration (**Demain, 1999 ; Barka et al., 2016 ; Mohammadipanah et Wink, 2016**).

Les antibiotiques sont des molécules issues du métabolisme secondaire qui ont été particulièrement étudiées du fait de leur importance en thérapie humaine et vétérinaire. (Ravi, 2015).

Ils constituent la part la plus importante des applications industrielles des actinomycètes, ces molécules d'origine naturelle manifestent à faibles concentrations des activités biologiques de nature principalement antibactérienne, antifongique, anticancéreuse, antivirale, ou antiparasitaire (Ravi, 2015).

Les premiers antibiotiques découverts étaient l'actinomycine de *Streptomyces antibioticus* en 1940, streptothricine de *Streptomyces lavendulae* en 1942 et la streptomycine de *Streptomyces griseus* en 1944, qui ont tous été découverts par Waksman et ses collègues (Ait Barka et al., 2016).

Selon Berdy (2005), les antibiotiques des actinomycètes peuvent être classés en groupes chimiques à savoir :

- Les aminoglycosides (streptomycine, néomycine, kanamycine, gentamicine);
- Les macrolides (érythromycine)
- Les ansamycines (rifamycine)
- Les bêta-lactames (thiénamycine)
- Les peptides (viomycine, thiostrepton, actinomycine, pristinamycine)
- Les tétracyclines (chlortétracycline, oxytétracycline)
- Les nucléosides (puromycine)
- Les polyènes (nystatine, candicidine, amphotéricine B);
- Les polyéthers (monensine).

La capacité de production individuelle des actinobactéries peut varier énormément. Certaines espèces de *Streptomyces* produisent un seul antibiotique, tandis que d'autres produisent une gamme de différents composés (Tableau 04) (Ait Barka et al., 2016).

Tableau 04: Exemples d'antibiotiques produits par les actinobactéries (AitBarka et al., 2016).

Espèces	Antibiotiques
<i>Verrucospora spp.</i>	Abyssomicine
<i>Micromonospora spp.</i>	Clostomicine
<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	Erythromycine
<i>Marinispora spp.</i>	Marinomycine
<i>Nocardia lurida</i>	Ristocétine
<i>Amycolatopsis orientalis</i>	Vancomycine
<i>Streptomyces griseus</i>	Cycloheximide
<i>Streptomyces spp.</i>	Pristinamycine
<i>Streptomyces mediterranei</i>	Rifamycine
<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Tétracycline
<i>Streptomyces niveus</i>	Novobiocine

2.2. Les enzymes

Les enzymes sont des biocatalyseurs de nature protéique qui exercent une activité catalytique spécifique d'un très grand nombre de réactions chimiques, et sont après les antibiotiques les plus importants produits des actinomycètes (Navarre et Françoise, 2010). Les principaux facteurs qui contrôlent la fonction des enzymes dans un milieu sont la température, le pH, la salinité et l'activité de l'eau ...etc (Pierre, 2000).

Les actinomycètes qui vivent dans le sol ne peuvent pas transporter des molécules complexes à l'intérieur de leurs cytoplasmes. Ils synthétisent des enzymes extracellulaires pour décomposer ces molécules en nutriments utiles et essentiels. Ces sources de substances bioactives possèdent une capacité hydrolytique extracellulaire importante, qui trouve des applications dans les industries, de textile, des bio-raffineries, d'agroalimentaires, papèteries et pharmaceutiques (Janaki., 2017).

Tableau 05: quelques actinobactéries producteurs d'enzymes (saci, 2012)

Genre ou espèce d'actinomycète	Enzyme
Streptomyces	Cellulases
<i>Streptomyces thermoviolaceus</i> <i>Streptomyces viridosporus</i> <i>Streptomyces fusca</i>	Laccases
<i>Micromonospora</i> - <i>Microbispora</i> - <i>Actinoplanes</i> - <i>Streptosporangium</i> - <i>Streptomyces</i>	Pectinases
- <i>Streptomyces</i> - <i>Promicromonospora</i> - <i>Microbispora</i> - <i>Micromonospora</i> - <i>thermomonospora</i>	Xylanases
- <i>Thermoactinomyces vulgaris</i> - <i>Thermomonospora curvata</i> - <i>Saccharomonospora viridis</i> - <i>Streptomyces</i>	Amylases
- <i>Thermoactinomyces vulgaris</i> - <i>Streptoverticillium</i> - <i>Micromonospora chalcea</i>	Lipases

Diverses enzymes d'importance industrielle ont été utilisées à partir de divers genres d'actinomycètes. Les actinobactéries produisent un certain nombre d'enzymes, dont la cellulase, l'amylase, la xylanase, la lipase, le pectinase, la protéase et la chitinase, qui ont une importance industrielle (Salwan et Sharma, 2018).

2.2.1. Les cellulases

La cellulase est un complexe enzymatique qui décompose la cellulose en β -glucose. Elle est largement répandue dans la biosphère notamment chez les organismes fongiques et microbiens (Ghribi, 2019). Les actinomycètes, en particulier les espèces thermophiles et les *Streptomyces*, excrètent des enzymes qui dégradent la cellulose ; d'autres produisent des enzymes qui dégradent l'hémicellulose (Saci, 2012)

Les cellulases microbiennes ont une large gamme d'applications en biotechnologie, dans l'environnement et dans les processus industriels. Lors des processus industriels difficiles, les bactéries thermophiles constituent une bonne source de cellulase industrielle. C'est le cas par exemple de désencrage du papier, le ramollissement de tissu, de la pâte et de papier, le biopollissage des tissus, du jus et des aliments pour animaux,... Etc (Sahoo et al., 2019).

D'après Tanveer et al.,(2014); Rajeeva et Soni, (2015); et Hitesh et al., (2016), les cellulases sont des enzymes qui convertissent la cellulose en glucose et d'autres produits chimiques de base. Il existe trois grands types d'enzymes de cellulase qui agissent en synergie: les Endoglucanases, les Exoglucanases, β -glucosidase (Zhang et Zhang, 2013).

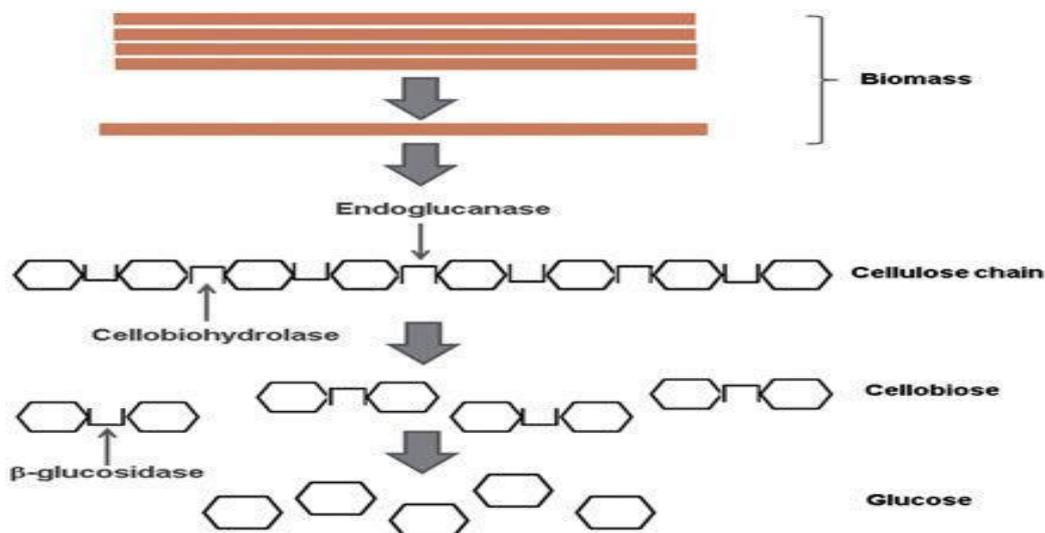


Figure 08 : Hydrolyse de la cellulose par les trois types de cellulases (Hitesh et al., 2016).

2.2.2. Les amylases

Les amylases sont des enzymes capable d'hydrolysées les molécules d'amidon en une variété de produits comprenant des dextrans et des polymères composés de plus petits d'unités de glucose qui donne des petites unités telle que le fructose, glucose et maltose (Meziani et Mahcene, 2017).

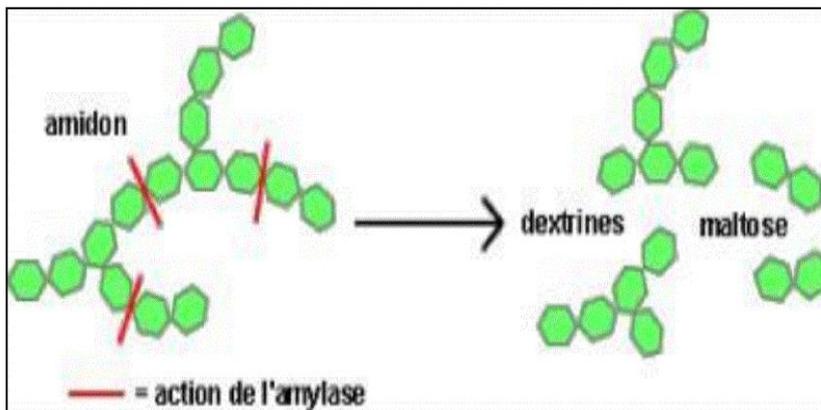


Figure 09 : Mode d'action de l'alpha-amylase (**inMeziani et Mahcene, 2017**)

Les amylases (produites par *Streptomyces erumpens* et *Thermobifida fusca*) sont utilisées dans l'industrie alimentaire comme conservateur dans la production des gâteaux, les jus des fruits et les sirops à base d'amidon et dans l'élimination des polluants environnementaux (la bio remédiation) (**Mobini-Dehkorde et Javan , 2012**).

2.2.3. Les xylanases

Les xylanases constituent un complexe multi-enzymatique, ce sont des glycosidases qui catalysent les liaisons 1,4-D-xylosidiques dans les régions non substituées des chaînes de xylanes afin de donner la xylose (**Larreta-Garde, 1997 ; Gerois, 2008**).

Les xylanases sont utilisées dans la biotransformation des textiles et la fabrication des aliments pour animaux (exemple des producteurs : *Streptomyces sp.* et *Actinomadura sp.*). (**El-Sersy, 2010 ; Mukhtar, 2017**).

Il existe de nombreux domaines dans lesquels est utilisée la xylanase, tels la gestion des déchets, l'industrie des pâtes et papiers, les textiles, la production de biocarburants et produits chimiques ainsi qu'en alimentation humaine et animale (**Dickner-Ouellet, 2018**).

2.2.4. Les lipases

Les lipases ou les triacylglycérol-hydrolases sont des enzymes exceptionnels vu leurs mécanismes d'action et leurs spécificités de substrats. Selon la réaction à catalyser, elles peuvent agir en tant qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique (**Mukhtar et al., 2017**). Les lipases sont produites à partir d'une variété d'actinomycètes (**Taibi et al., 2012**).

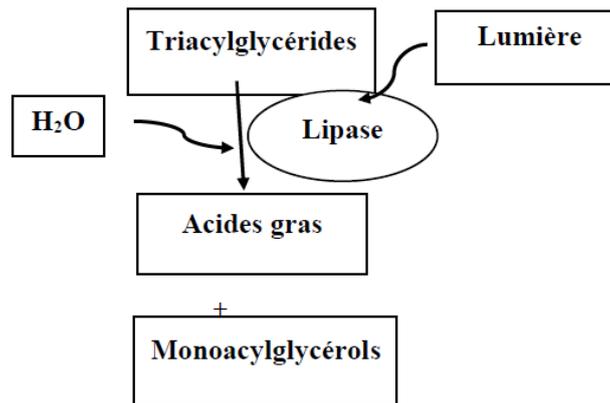


Figure 10 : Catabolisme des triglycérides (Mukhtaret *al.*, 2017).

Ils sont couramment utilisées en boulangerie, en biscuiterie, en chocolaterie et dans le traitement des sols contaminés par des hydrocarbures comme celles produites par *Streptomyces exfoliatus* et *Nocardiopsis alba* (El-Sersy, 2010 ; Mukhtar, 2017).

2.2.5. Les pectinases

Les pectinases sont un groupe d'enzymes qui contribuent à la dégradation de la pectine par divers mécanismes et peuvent être classées en tant qu'estérases, dé-polymérase lyases et dé-polymérase hydrolytiques (poly-galacturonases) (Nicemol *et al.*, 2008). Différents genres d'actinomycètes peuvent produire des enzymes pectolytiques, on peut citer : *Micromonospora*, *Microbispora*, *Actinoplanes*, *Streptosporangium* et les *Streptomyces* (Saci, 2011).

Les pectinases ont une importance cruciale aussi bien dans le secteur agroalimentaire que biotechnologique. Elles sont utilisées essentiellement dans l'industrie d'élaboration des jus de fruits (extraction de jus, clarification ou stabilisation du jus de fruits et la macération). En biotechnologie, elles sont utilisées dans la purification des virus des végétaux (Bennamoun, 2017).

2.2.6. Les protéases

Les enzymes protéolytiques ou protéases sont des catalyseurs des réactions d'hydrolyse des protéines. Ce groupe d'enzymes hydrolyse les liaisons peptidiques entre deux acides aminés des peptides et des protéines en libérant des acides aminés ou des petits peptides ((Navarre, 2010 ; Jean *et al.*, 2004).

Plusieurs genres d'actinomycètes produisent des kératinases (*Actinomadura*, *Micromonospora*, *Nocardiopsis*, *Planomonospora*, *Planobispora*). Le genre thermophile

Micropolyspora est capable de produire des protéases alcalines thermostables alors que le genre *Oerskovia* produit des protéases résistantes à la majorité des inhibiteurs de protéases (Saci, 2011).

Les connaissances actuelles concernant les protéases d'actinomycètes constituent le groupe le plus important de métabolites secondaires largement exploités (Limkhada et al., 2010). 46 souches d'actinomycètes ont été isolées d'échantillons de sol de l'Himalaya du Nord et ont été étudié pour leur production de protéase et leurs effets cytotoxiques sur la lignée de cellules cancéreuses (Dastager et al., 2008).

2.2.7. Les chitinases

Les chitinases sont un autre groupe d'enzymes d'importance industrielle qui ont la capacité d'hydrolyser la chitine. De nombreuses souches d'actinomycètes telles que *Streptomyces thermoviolaceus* et *Microbispora sp.*, sont connus comme producteurs de chitinases. La chitinase de ces souches a été utilisée pour récupérer le chitibiose, un antioxydant potentiel qui a généralement des applications en biomédical et en industrie alimentaire (Mukhtar, 2017).

Les chitinases utilisées dans la protection contre les champignons phyto-pathogènes et dans le traitement des déchets des crustacés. Elles sont généralement produites par *Streptomyces thermoviolaceus* et *Nocardiopsis prasina* (Tsuji et al., 2003).

2.3. Les vitamines

L'addition de sels de cobalt aux milieux semble être un précurseur pour toute les actinobactéries pour produire de la vitamine. Comme le cobalt est un agent bactéricide assez efficace, ce précurseur doit être ajouté avec précaution. Il a été également démontré que les actinobactéries produisaient d'autres vitamines hydrosolubles, telles que, la thiamine et le dérivé d'acide ptéroyl glutamique qui favorise la croissance de certaines souches de *Leuconostoc citrovorum* et de la coenzyme A (Anandan, 2016).

2.4. Les pigments

Les actinobactéries sont caractérisées par la production de divers pigments sur des milieux naturels ou synthétiques, ces pigments sont considérés comme une des caractéristiques culturelles importantes dans la description des organismes. Tous les changements phénotypiques induits par des influences environnementales aideront les actinobactéries car,

ils montrent des colonies morphologiquement distinctives et produisent une variété de pigment de filaments appelés hyphes aériens (Goodfellow et al., 2012).

Ces pigments apparaissent habituellement dans différentes nuances de bleu, violet, rouge, rose, jaune, vert, brun, et noire.



Figure 11 : Pigments diffusible caséine agar (Anandan, 2016).

2.5. Les bios herbicides

Une autre application intéressante des actinobactéries est l'utilisation de leurs métabolites secondaires comme herbicides. *Streptomyces saganonensis* produit des herbicidines et des herbimycines qui contrôlent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones. Anisomycine est produit par *Streptomyces sp.*, peut inhiber la capacité des plantes à synthétiser la chlorophylle. De même, le bialaphos, un métabolite de *Streptomyces viridochromogenes*, est largement utilisé pour lutter contre les herbes indésirables en inhibant la synthèse de la glutamine (Anandan et al., 2016).

2.6. Les antifongiques et antiparasitaires

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'antifongique est une des activités biologiques d'Actinomycètes la plus importante après l'antibiotique (Ramanarivo, 2017).

Le mot antifongique réfère à un composé capable de tuer ou d'inhiber la croissance d'un champignon. De nombreux antifongiques sont utilisés en médecine (Harir et al., 2018).

Les substances antifongiques ont deux origines : ce sont soit des produits du métabolisme secondaire de divers microorganismes, soit des produits chimiques de synthèse. Les antifongiques d'origine microbiologique utilisés actuellement en clinique sont essentiellement de structure polyénique, notamment l'amphotéricine B et la nystatin (**Ramanarivo, 2017**).

2.6.1. Les antifongiques les polyènes

Les polyènes (l'Amphotéricine B et la nystatine) sont des molécules antifongiques d'origine naturelle caractérisées par une structure complexe avec un nombre de doubles liaisons conjuguées HC=CH, ce nombre permet de définir la nature du polyène, l'exemple du diène pour deux double liaisons, ou encore triène pour trois doubles liaisons (**Watve et al., 2001**).

2.6.2. La nystatine

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

2.6.3. Amphotéricine B

Isolée de *Streptomyces nodosus* en 1955, est un macrolide polyénique amphotère (avec 7 doubles liaisons), il inhibe spécifiquement la croissance de nombreuses levures et moisissures et est sans action contre les bactéries. L'amphotéricine B est un puissant antifongique qui inhibe la plupart des espèces pathogènes. En médecine humaine, l'amphotéricine B est le seul polyène antifongique qui peut être administré par voie intra veineuse pour l'élimination des mycoses profondes (**Pourriat et Martin, 2005**).

2.6.4. 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, cependant *Candida albicans* trouve être intrinsèquement résistante à cette molécule (**Feng et al., 2014**).

Tableau 06: Exemples d'agents antifongiques produits par les actinobactéries (**Manivasagan et al., 2014 ; Ait Barka et al., 2016**).

Espèces	Agents antifongiques
<i>Nocardiada sonvillei</i>	N-(2-hydroxyphenyl)-2-phenazinamine(NHP)
<i>Actinomadura sp.</i>	Chandrananimycine
<i>Nocardia transvalensis</i>	Transvalencine
<i>Streptomyces nodosus</i>	Amphotericine B
<i>Streptomyces venezuelae</i>	Chloramphenicole
<i>Streptomyces griseus</i>	Candicidine

Le terme antiparasitaire désigne plus globalement un composé permettant de lutter contre différents types d'organismes eucaryotes (protistes, insectes, helminthes). Ces métabolites présentent des utilités en médecine humaine et vétérinaire, mais aussi en agriculture (**Harir et al., 2018**).

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.

2.7. Les insecticides

Les actinobactéries sont une source d'agents de lutte contre les insectes, l'ivermectine et le spinosad (mélange de spinosyne A et spinosyne D) (**Tao et al., 2019**). Le spinosad a un nouveau mode d'action sur le système nerveux des insectes qui est distinct de celui des autres insecticides. De plus il présente une faible toxicité pour les mammifères et un profil environnemental très favorable. Son utilisation en agriculture est approuvée par plusieurs pays (**Tao et al., 2019**). Les spinosynes sont issus de la fermentation de *Saccharopolyspora spinosa*, se sont des lactones macrocycliques dérivées de polycétides contenant un noyau tétracyclique. Les composants de Spinosyne diffèrent les uns des autres par les degrés de

méthylation sur le polycétide ou les désoxysucres, les plus actifs sont les spinosynes A et D (Tao et al., 2019).

2.8. Les substances anti-oxydantes

Les actinobactéries produisent un grand nombre de composés bioactifs uniques comme les molécules antioxydants naturelles (Hassan et al., 2017).

Les substances anti-oxydantes sont les substances capables de retarder ou inhiber le processus d'oxydation (Dekkers et al., 1996). Les actinomycètes d'origine marine sont des fournisseurs potentielle de nouveaux métabolites bioactives et sont actuellement considérées comme une source important d'énergie (Mohankumer et al., 2012).

Les actinomycètes isolées des sédiments marins peuvent être la source potentielle d'antioxydant avec propriétés anticancéreuses (Shin et al., 2008 ; Arumugam et al., 2010 Nagaseshu et al., 2016).

Tableau07 : Exemples de molécules antioxydants produites par des quelques espèces d'actinobactéries (Hassan et al., 2017).

Molécules	Espèces	Références
(Z)-I-(I-hydroxypenta-2-4-dien-1-yl) oxy) anthracene9, 10-dione	<i>Nocardiosis alba</i>	Avilala et al., 2014
PC 766 B	<i>Nocardia brasiliensis</i>	Kumagai et al., 1993
Dihydroherbimycin	<i>Streptomyces sp</i>	Cheng et al., 2016
Protocatechualdehyde	<i>Streptomyces lincolnensis</i>	Ja Kim et al., 2008
JBIR-94 et JBIR-125	<i>Streptomyces sp</i>	Kawahara et al., 2012
2-allyoxyphenol	<i>Streptomyces sp</i>	Arumugam et al., 2010
Dizepinomidine	<i>Micromonosporasp</i>	Abdelmohsen et al., 2012
Ageloline A	<i>Streptomyces sp</i>	Cheng et al., 2016
5-(2,4-dimethylbenzyl) pyrrolidin-2-one	<i>Streptomyces sp</i>	Sauvar et Kannabiran, 2011
Streptopyrrolidine	<i>Streptomyces sp</i>	Shin et al., 2008
5-(2,4-dimethylbenzyl)-2- one (DMBPO)	<i>Streptomyces sp</i>	Sauvar et Kannabiran et al., 2012

Chapitre 03

L'estimation de pouvoir métabolique des actinomycètes dans les approches génomiques

1. Généralité

La modélisation d'un réseau métabolique à l'échelle génomique amène une compréhension des mécanismes moléculaires à la base de la survie d'un organisme en établissant une relation « phénotype-génotype » des locus d'un génome séquencé et en étudiant les propriétés du système obtenu. L'un des buts de la modélisation métabolique *in silico* est de pouvoir prédire un phénotype métabolique sur la seule base du contenu en gènes. Plusieurs approches existent pour modéliser et étudier un réseau métabolique, par contre, seule l'approche basée sur les contraintes permet une étude à l'échelle génomique (Gagnon, 2012).

L'approche traditionnelle de la découverte de petites molécules à partir sources microbiennes telles que les actinomycètes a généralement impliqué la culture des microbes dans différentes conditions de croissance. Une fois qu'un extrait bioactif est identifié, une analyse plus détaillée est effectuée, impliquant normalement la séparation par chromatographie des différents constituants, afin d'identifier les molécules bioactives spécifiques. Cependant, très souvent, cet énorme effort conduit à la redécouverte de molécules connues, un fait qui a freiné l'enthousiasme pour la découverte de produits naturels à partir des actinomycètes au cours des dernières années (Weber et al., 2015).

Un problème se pose sur la culture des bactéries : certains composés ne sont synthétisés que dans certaines conditions (présence d'un composé particulier, carence en nutriment, présence d'une molécule signal...ect) (Rigali et al., 2008).

Bien que cette stratégie générale soit encore appliquée aujourd'hui, plusieurs développements récents ont renouvelé l'enthousiasme pour la découverte de produits naturels à partir d'actinomycètes. L'analyse des séquences génomiques de plusieurs actinomycètes indique que chaque bactérie peut produire approximativement 10 fois plus de plus de métabolites secondaires que ce qui a été détecté lors des efforts de criblage avant la disponibilité des données de séquence du génome. En outre, la disponibilité de nouvelles stratégies d'ingénierie métabolique fournit maintenant des approches alternatives pour rationaliser et accélérer la découverte et la production de produits naturels bioactifs à partir de sources microbiennes ou méta-génomiques (Weber et al., 2015).

Comme le montre la figure 12, les avantages de l'approche d'exploration du génome par rapport à l'approche classique sont les suivants classique, il est possible d'obtenir des

actinomycètes rares et non actinomycètes rares et une quantité massive de données génomiques (groupes de gènes cryptiques) (Choi, 2015).

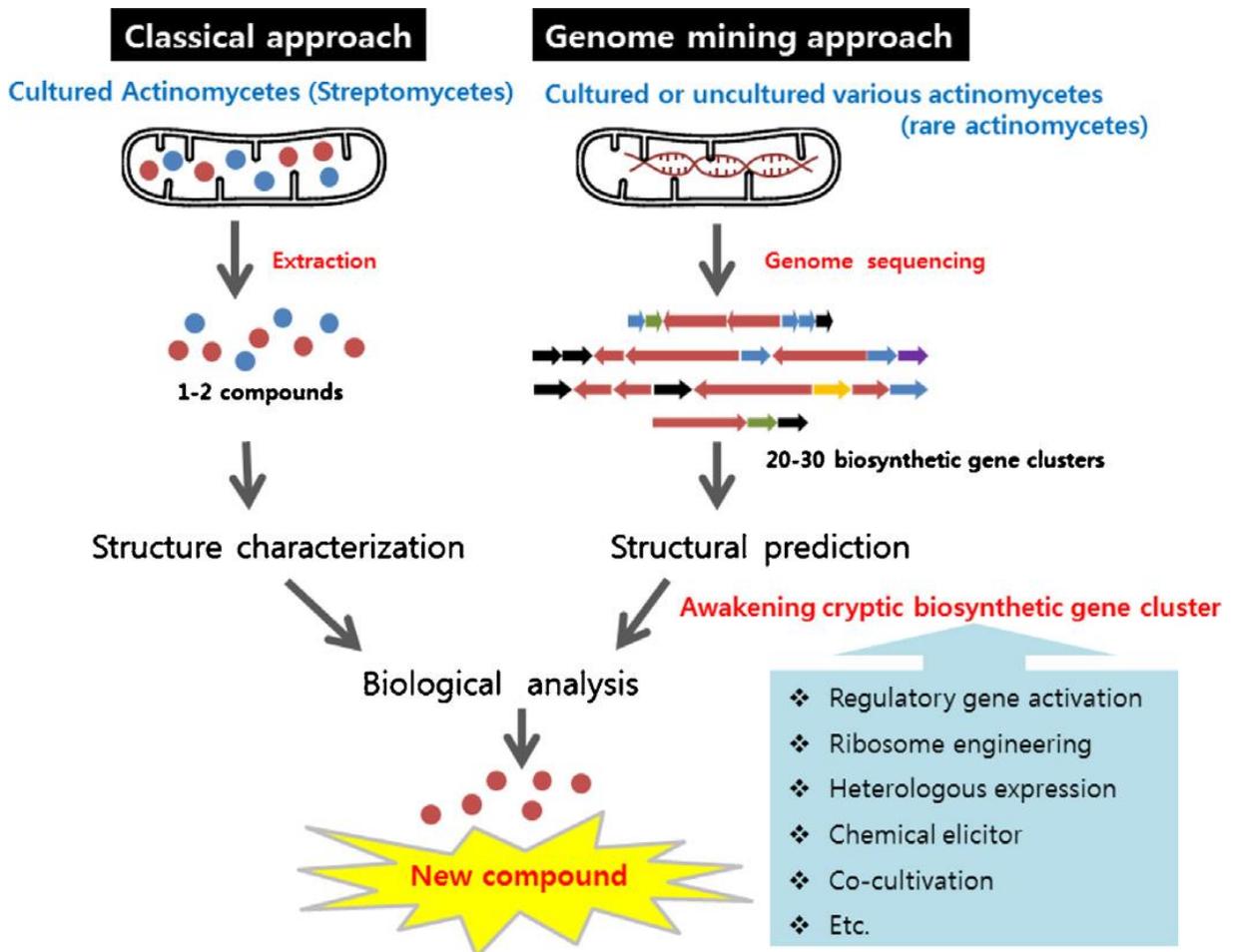


Figure 12: Vue d'ensemble de l'approche classique et de l'approche de l'exploration du génome pour le criblage des produits naturels (Choi, 2015).

2. Les gènes responsables du métabolisme secondaire

Les progrès récents de l'exploration du génome ont révélé que les génomes des *Streptomyces* possèdent un grand nombre de groupes de gènes silencieux et inexplorés pour la biosynthèse de métabolites secondaires de gènes biosynthétiques des métabolites secondaires (smBGCs) (*Secondary Metabolites biosynthetic genes clusters*) (Houin, 2016).

L'établissement d'un lien entre les smBGC et leurs produits codés a joué un rôle essentiel dans la découverte de nouveaux métabolites secondaires, ainsi que dans l'ingénierie basée sur les connaissances des smBGC pour produire des produits modifiés (Lee et al., 2020).

Par exemple, les *Streptomyces* ont le potentiel de produire plus de 30 métabolites secondaires ; cependant, l'expression de la plupart des groupes de gènes de biosynthèse de métabolites est cryptique et silencieuse (Onaka, 2017).

Les différents métabolites secondaires connus sont synthétisés par quatre voies principales de biosynthèse différentes : la voie peptidique, les PKS (*polyketide synthase*), les NRPS (*non ribosomal polypeptide synthase*) et la voie glucidique. La voie peptidique concerne une partie des métabolites secondaires protéiques : ils sont synthétisés par simple traduction des ARNm en peptides par les ribosomes. Les NRPS sont des enzymes capables de condenser des acides aminés de manière à former des peptides sans passer par la voie de synthèse ribosomique. Les PKS, sont des enzymes capables de synthétiser une famille particulière de métabolites secondaire : les polycétides (Houin, 2016).

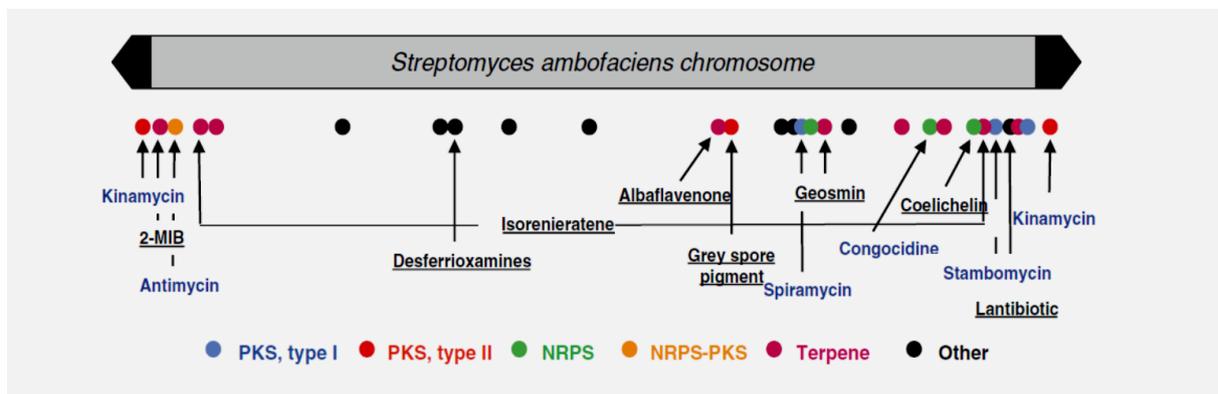


Figure 13 : Carte génétique du chromosome de *Streptomyces ambofaciens* et localisation des différents clusters de gènes de biosynthèse de métabolites secondaires. Les clusters de gènes de biosynthèse des métabolites secondaires sont indiqués par des points, leur couleur correspond au type de gènes contenu dans ces clusters. Les flèches noires aux extrémités indiquent les zones terminales inversées répétées (TIRs dont la taille est de 200 Kb) (Aigle et al., 2014).

Des groupes de gènes chromosomiques spécifiant la biosynthèse de l'antibiotique polykétide aromatique actinorhodine chez *Streptomyces coelicolor*, appelé RED, tout comme le groupe de gènes *whiE* codant pour la biosynthèse de l'antibiotique polykétide aromatique actinorhodine. La séquence du génome révèle 18 autres groupes qui coderaient pour des enzymes caractéristiques du métabolisme secondaire (Bentley et al., 2002).

3. Séquençage

Dans *Streptomyces* l'un des principaux facteurs d'un organisme de châssis est la capacité de comprendre et d'analyser son information génétique. Le séquençage représente la première étape dans la compréhension des caractéristiques génomiques d'une espèce de *Streptomyces* et de ses BGC (*biosynthetic genes clusters*), avant l'exploration du génome et la modification génétique. Les *Streptomyces* contiennent généralement un grand nombre de séquences répétitives ou hautement similaires dans leurs génomes. En raison de ces caractéristiques, le séquençage est plus difficile avec les *Streptomyces* qu'avec la plupart des autres bactéries. Au début des années 2000, la seule technique automatisée de séquençage de l'ADN était la méthode des didésoxynucléotides développée par Sanger et ses collaborateurs (**Sanger et al., 1977**).

Cependant, le séquençage de Sanger était trop coûteux et trop laborieux, et il était difficile d'assembler un groupe de gènes complet avec cette méthode. Malgré ces limites, la première carte complète d'un génome de *Streptomyces* a été réalisée par cette méthode en 2002 (**Bentley et al., 2002**).

En revanche, le haut débit est une caractéristique des technologies plus récentes de séquençage de nouvelle génération (NGS) (*New Generation Sequencing*), qui offrent la possibilité d'un assemblage rapide et relativement peu coûteux des génomes préliminaires. En combinant les données de librairie de fragments de différentes tailles, comme 300 pb, 2 kb, 5 kb et 10 kb, ou en intégrant les données de librairie BAC, la technologie NGS permet de générer des génomes de haute qualité. Cependant, il faut encore au moins plusieurs semaines pour obtenir une séquence génomique de qualité relativement élevée, alors que de nombreuses lacunes subsistent généralement dans la séquence, en particulier pour les régions répétitives ou à haut CG, comme celles qui sont caractéristiques de *Streptomyces*. Avec les progrès technologiques, des méthodes de séquençage de troisième génération ont été développées, telles que le séquençage **Nanopore** et le séquençage **Pacbio SMRT**, représentant commercial de cette technologie. Bien que la première soit encore trop récente pour être largement utilisée dans la recherche sur les *Streptomyces*, le séquençage SMRT de Pacbio a la capacité de résoudre de manière abordable des séquences répétitives très similaires grâce à une longueur de lecture moyenne de plus de 10 kb et à la fourniture de la couverture de 100 caractères requise pour un assemblage fiable et pour un appel de base précis de la séquence consensus (**Chin et al., 2013**).

4. Les outils bio-informatiques

Le terme bio-informatique fut initialement énoncé par Paulien Hogeweg et Ben Hesper en 1978 afin de décrire le champ d'étude de systèmes biologiques avec l'utilisation d'ordinateurs (Gagnon, 2012).

Les objectifs principaux d'étude des projets génomiques par des outils bio-informatiques sont l'assemblage de séquences génomiques, l'identification et l'annotation de l'ensemble des gènes codés par un génome, la fabrication de bases de données fonctionnelles et phénotypiques de gènes (Gagnon, 2012).

Plusieurs outils permettant de telles analyses se sont succédé ces dernières années. Un des premiers outils développés, *ClustScan*, permet à partir de séquences d'ADN, la recherche de gènes de PKS, NRPS et hybrides PKS/NRPS ainsi qu'une prédiction de structure des métabolites assemblés par ces enzymes (Starcevic et al., 2008), et SBSPKS permettant une analyse structurale des PKS (Anand et al., 2010), et NP searcher pour la prédiction de structure des produits sont également disponibles pour l'étude des clusters PKS, NRPS et hybrides (Li et al., 2009).

Plus récemment, des outils permettant l'identification de la plupart des gènes du métabolisme secondaire ont aussi été développés. C'est le cas d'antiSMASH (*antibiotics and Secondary Metabolite Analysis Shell*) qui, à partir d'un génome assemblé ou sous forme de contigs, permet la détection de clusters du métabolisme secondaire appartenant à la majorité des familles déjà identifiées (Haas, 2015).

On peut également citer l'outil Clusterfinder, développé très récemment (Cimermanic et al., 2014), qui propose, en plus de la détection de gènes typiques du métabolisme secondaire, la détection de familles de gènes moins bien étudiés (Haas, 2015).

Anti SMASH

En 2011, un outil appelé *antibiotics and Secondary Metabolite Analysis SHell* (antiSMASH) a été introduit comme un serveur Web pour l'identification et l'analyse génomique de BGC de tout type, facilitant ainsi l'annotation rapide du génome d'un large éventail de bactéries et fung de l'environnement (Blin et al., 2013). Bien qu'antiSMASH soit capable d'annoter des structures chimiques étendues de métabolites secondaires, (Weber et al., 2015). Une analyse bio-informatique utilisant antiSMASH 3.0 permet de prédire des groupes de gènes de métabolites secondaires dans des Actinobactéries rare (Amin et al., 2020).

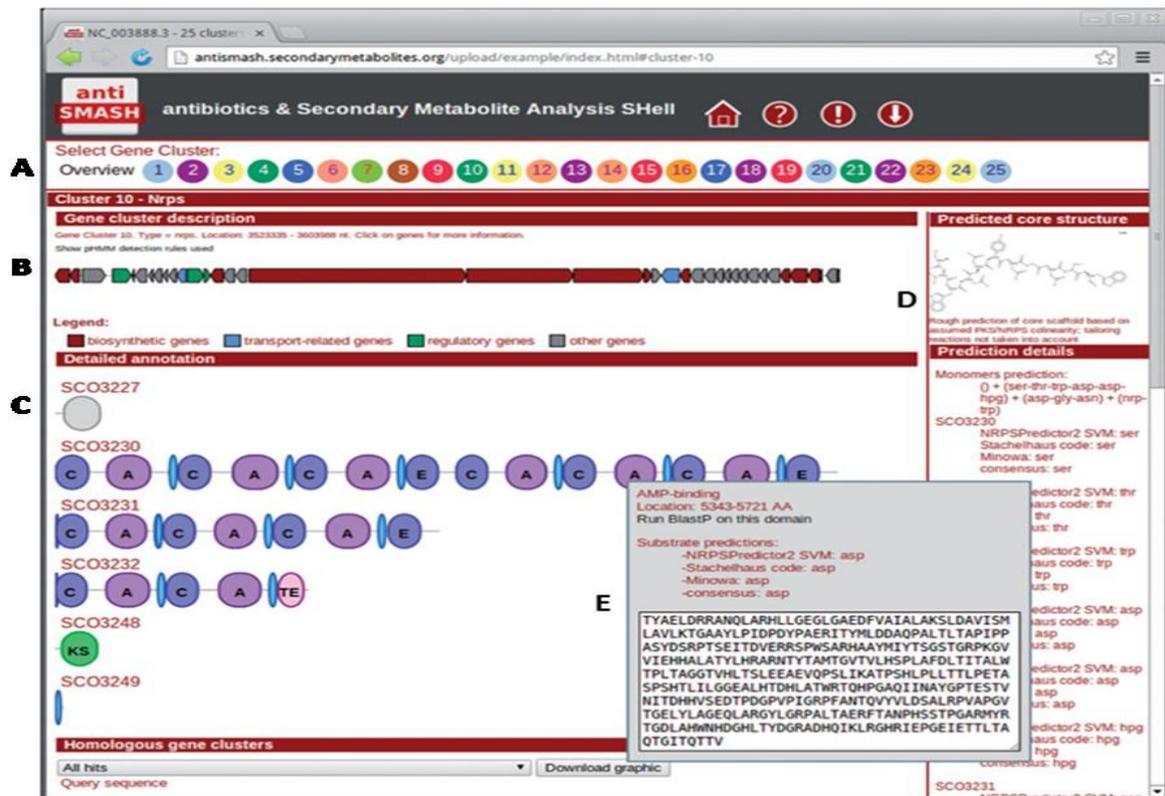


Figure 14 : Exemple de résultats obtenus par antiSMASH. A) Différents clusters identifiés dans la séquence analysée. B) Organisation des gènes du cluster sélectionné. C) Architecture de l'enzyme sélectionnée (dans le cas des PKS et NRPS). D) Structure du métabolite proposée. E) séquence protéique du domaine sélectionné (Madena *et al.*, 2013).

5. Les Approches de découverte des nouveaux métabolites

5.1. Approche classique

Une des approches que l'on peut utiliser pour découvrir de nouveaux métabolites secondaires est de rechercher de nouveaux organismes producteurs en se basant sur des criblages des tests d'activités contre des souches indicatrices (Schrey *et al.*, 2012).

Cette approche consiste à tester différentes conditions de croissance (composition du milieu, température, oxygénation, pH ...etc) sur une même souche. Elle peut permettre d'activer des clusters cryptiques car une des conditions testées peut permettre l'activation de

ce dernier. Par exemple un milieu peut contenir un nutriment utilisé comme régulateur comme la N-glucosamine qui permet d'activer un certain nombre de clusters de biosynthèse de métabolite secondaire (Swiatek et al., 2012).

Mais le problème majeur de ce type d'étude est le fait qu'à l'heure actuelle on ne sait cultiver qu'environ 1% des bactéries donc ce type d'approche ne permet pas l'étude des 99% restants qui pourraient être une grande source de nouveaux métabolites secondaires (Lewis, 2013). Ce problème de cultivable a entraîné le développement de méthodes culturales dont le but est d'accéder, au moins en partie, à cette richesse (Ling et al., 2015).

Une approche classique pour la découverte de métabolites secondaires ayant une utilité médicale a consisté à cribler les surnageant de culture pour la modulation de la croissance d'un organisme cible, d'extraire et de fractionner des surnageant avec des solvants organiques et ensuite caractériser les molécules purifiées à l'aide de la RMN (*Résonance Magnétique Nucléaire*). L'activité antimicrobienne contre le *Staphylococcus aureus* a été une activité biologique communément recherchée. En utilisant cette approche, les souches qui produisaient des composés antimicrobiens étaient généralement de générer, au maximum, une ou deux molécules d'intérêt (Bentley et al., 2002).

Cependant, la plupart des SM-BGC de *Streptomyces* sont inactives dans les conditions générales de culture en laboratoire. Par exemple, bien que les génomes de *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces griseus*, et *Streptomyces avermitilis* codent pour plus de 30 SM-BGCs, respectivement, seuls 3 à 5 métabolites secondaires ont été détectés dans les conditions de laboratoire (Lee et al., 2020).

En effet, que seuls cinq métabolites ont été identifiés en 50 ans par les approches classiques de criblage. L'analyse du génome a montré que *Streptomyces coelicolor* A3(2) avait la capacité de produire près de 20 produits naturels supplémentaires (Bentley et al., 2002).

5.2. Approche reposant sur l'étude des séquences génomiques (*genome mining*)

5.2.1. Recherche de nouveaux composés par « *genome mining* »

Le « *genome mining* » peut être décrit comme l'exploration et la fouille de séquences de génomes dans le but d'identifier des régions d'intérêt. Avec l'amélioration des méthodes de séquençage et la baisse de leur coût, la séquence de nombreux génomes d'Actinomycètes est désormais disponible et donc analysable. La localisation de clusters putatifs du métabolisme secondaire et l'annotation des gènes de ces clusters apportent de nombreuses informations.

Ces informations peuvent concerner la structure du produit, sa régulation et/ou son mode d'assemblage et sont appréciables pour savoir quelle stratégie il est nécessaire de mettre en œuvre pour étudier les métabolites secondaires et leur voie de biosynthèse (Haas, 2015).

L'exploration computationnelle des génomes est devenue un élément important de la découverte de nouveaux produits naturels comme médicaments naturels. Des milliers de séquences de génomes bactériens sont aujourd'hui accessibles au public, contenant un nombre et une diversité encore plus grands de groupes de gènes de métabolites secondaires qui attendent d'être liés à leurs produits naturels codés (Amin et al., 2020).

5.2.2. Outils *in silico* pour l'exploration du génome des smBGCs

L'analyse des séquences génomiques consiste en une étude *in silico* de ces séquences en les comparant avec d'autres séquences ce qui permet de détecter des gènes et des clusters de gènes de biosynthèse de métabolites secondaires par exemple. On compare la séquence du génome de notre bactérie étudiée avec les différentes séquences présentes dans les bases de données (Genbank, NCBI, ...) en utilisant l'outil informatique comme le logiciel BLAST (*Basic Local Alignment search Tool*) du NCBI par exemple. Cette approche permet de trouver des gènes homologues à des gènes de biosynthèse classique (NRPS, PKS,...) mais elle présente un défaut : un cluster qui reposerait sur une nouvelle voie de biosynthèse ne pourrait pas être mis en évidence en utilisant cet outil car les gènes qui le composent n'ont pas d'homologues dans les bases de données, ou alors les homologues codent des fonctions inconnues. Jusqu'à présent la détection de nouveaux gènes ou clusters de gènes de biosynthèse de métabolites secondaires par analyse *in silico* reposait uniquement sur l'homologie de séquences (Lee et al., 2020).

Le développement d'outils d'alignement *in silico* de séquences de nucléotides ou d'acides aminés nucléotides, comme BLAST, Diamond et Hmmer, a permis aux chercheurs de rechercher de nouveaux smBGC dans les bases de données et les séquences génomiques à l'aide d'une séquence conservée, sans passer par le processus fastidieux du transfert de Southern blot. La première base de données de loci de biosynthèse de produits naturels microbiens pour l'exploration *in silico* du génome de smBGCs a été déchiffrer (Lee et al., 2020).

Cependant, la plupart de ces outils sont limités à la découverte de classes spécifiques de métabolites secondaires, y compris les PKS et les NRPS, PRISM et antiSMASH sont des

outils *in silico* représentatifs pour prédire différents types de smBGC. Ces outils prédisent types de smBGC en utilisant un profil basé sur l'alignement des séquences (Lee et al., 2020). Les deux outils sont des applications web conviviales, qui permettent une annotation rapide des gènes lorsque les génomes bactériens, ce qui en fait des outils populaires dans les études d'exploration actuelles. Ce sont les outils d'exploration du génome les plus utilisés, mais ces outils basés sur des règles sont limités à la détection de smBGCs similaires à des voies connues (Lee et al., 2020).

Par conséquent, récemment, les outils d'extraction de smBGC qui utilisent des stratégies d'apprentissage automatique comme ClusterFinder et DeepBGC, ont été développés pour permettre l'identification de smBGCs inconnus (Lee et al., 2020).

Cependant, les outils actuels d'exploration du génome basés sur l'apprentissage automatique ont un taux de faux positifs beaucoup plus élevé que les outils basés sur des règles. De plus, ces outils sont entraînés avec l'ensemble des clusters ou un ensemble de clusters prédits par l'un des outils basés sur des règles (par exemple, antiSMASH). Il est donc toujours difficile de détecter des smBGC totalement nouveaux (Lee et al., 2020).

En outre, une récente étude d'exploration du génome des 1 110 génomes de *Streptomyces* accessibles au public a suggéré que les publiquement disponibles a montré l'importance de l'exploration génomique au niveau de la souche, car elle augmente la probabilité que les chercheurs découvrent des dérivés utiles de composés secondaires connus et élargit la diversité des métabolites secondaires reconnus utilisés dans les nouvelles approches d'exploration (Lee et al., 2020).

5.2.3. Recherche de nouveaux composés par « genome mining » dans les îlots génomiques

Cette approche part du fait que certains clusters de gènes de biosynthèse de métabolites secondaires sont portés par des îlots génomiques (Houin, 2016).

Un îlot génomique est une région du génome la séquence diffère entre deux souches phylo-génétiquement proches et qui peut être acquis par transfert horizontal de gènes (Juhás et al., 2009).

On parle d'îlots génomique car ce fragment d'ADN est intégré dans une zone où les séquences comparées sont identiques, leur présence se manifeste par une rupture de la

synténie dans les 2 génomes comparés (la synténie étant la conservation de l'ordre des gènes entre deux espèces apparentées) (Houin, 2016).

De plus des études bio-informatiques ont mis en avant le fait que certains clusters de gènes de biosynthèse de métabolites secondaires étaient portés par ces îlots.

Par exemple, lorsque l'on compare les séquences de *S. ambofaciens* et *S. coelicolor* qui sont deux *Streptomyces* très proches phylogénétiquement, le cluster de gènes de biosynthèse de la congocidine chez *S. ambofaciens* est porté par un îlot génomique (Houin, 2016).

Si on prend l'exemple de l'oligomycine produite par *S. avermitilis* ou celui de la streptomycine produite par *S. griseus*, on remarque que les clusters responsables de la synthèse de ces deux composés se retrouvent dans des îlots génomiques flanqués par des régions conservées dans les génomes de deux espèces. En effet le cluster de l'oligomycine se retrouve entre l'opéron F0-F1 ATPase et le gène tagO responsable de la synthèse de l'acide théicoïque (acide permettant la fixation du peptidoglycane sur la membrane des bactéries). Le cluster responsable de la biosynthèse de la streptomycine est placé entre l'ARNt synthétase de la phénylalanine et un gène responsable du catabolisme des acides gras (le gène fadC). Tous ces gènes et clusters flanquants sont essentiels et sont retrouvés dans le même ordre lorsque l'on compare les génomes de différentes espèces de *Streptomyces* (Nett et al., 2009).

Enfin certaines voies de biosynthèse n'auraient jamais pu être découvertes par une approche basée sur l'homologie de séquence car les produits des gènes impliqués ne présentent pas de similarité avec des protéines de biosynthèse de métabolites secondaires connues (Smith et al., 1995), son cluster de gènes de biosynthèse n'a été découvert qu'à la fin des années 2000 ce qui s'explique par le fait qu'aucune des enzymes responsables de sa biosynthèse n'avait d'homologue à cette époque (Liao et al., 2009).

Tous ces points indiquent que l'étude des îlots génomiques pourrait permettre de découvrir de nouveaux clusters de métabolites secondaires (Houin, 2016).

En effet, plusieurs études ont montré que ces îlots génomiques sont enrichis en gènes du métabolisme secondaire chez les Actinomycètes (Penn et al., 2009 ; Ziemert et al., 2014).

6. Les recherches de nouveaux métabolites secondaires (molécules bioactives).

➤ Chez *Streptomyces coelicolor* A3(2)

Le premier actinomycète *Streptomyces coelicolor* A3 dont le génome entier a été séquencé, connu pour produire quelques métabolites secondaires seulement (Manteca et Yagüe, 2018). *Streptomyces coelicolor* A3(2) est génétiquement le représentant le plus connu du genre et a servi de souche modèle pour l'étude de la chimie et de la biologie des actinomycètes. L'analyse génomique initiale du chromosome A3(2) de *S. coelicolor* a prédit 17 autres groupes de gènes de métabolisme secondaire. Actuellement, il y a 29 groupes de gènes chromosomiques prédits spécifiant des métabolites secondaires (Nett et al., 2009).

➤ **Chez *Streptomyces ambofaciens***

Streptomyces ambofaciens ATCC 23877 est une souche industrielle isolée au début des années 1950 et exploitée pour la production de spiramycine, un macrolide qui a été utilisé dans le cadre de la lutte contre le cancer, et utilisé en médecine humaine comme agent antibactérien et pour le traitement des infections à *Toxoplasma* (Aigle et al., 2014).

L'accès à la séquence complète du génome nous a permis de d'identifier le potentiel de *S. ambofaciens* ATCC 23877 à synthétiser des produits naturels tels que deux composés antibactériens ; le macrolide spiramycine et le pyrrolamide congocidine. Cependant, le cluster responsable de la production de la congocidine n'a jamais été identifié et celui impliqué dans la biosynthèse de la spiramycine n'était que partiellement caractérisé, avant le début du séquençage du génome de *S. Ambofaciens*. L'exploration du génome de cette souche a permis l'identification et la caractérisation complète de ces clusters. L'analyse de la séquence du génome de *S. ambofaciens* ATCC 23877 a mis en évidence la présence de 14 métabolites secondaires. Parmi ces groupes, 10 n'ont pu être associés à aucun produit ou à un produit prédit, L'étude de deux ces clusters a permis d'identifier de nouveaux composés produits par *S. ambofaciens*, notamment un nouveau macrolide avec des activités antiprolifératives prometteuses, Kinamycines (Aigle et al., 2014).

Les chercheurs Amin et al. en 2019 ont exploité la séquence génomique complète de *Micromonospora* sp Rc5 isolée du désert égyptien, en utilisant le serveur antiSMASH. Cette étude a démontré des lectures de 33 groupes de gènes potentiels de métabolites secondaires, y compris les PKS, NRPS, polykétide hybride synthases, terpènes, lantipeptides, saccharides, sidérophore, bactériocine, arylpolyène, et des clusters non identifiés (Amin et al., 2019).

Une autre étude rapportant l'annotation de l'ébauche de la séquence du génome de *Micromonospora* sp. DSW705 en utilisant l'analyse antiSMASH prédit 3 groupes de gènes

PKS 1 groupe de gènes NRPS, et 3 groupes de gènes hybrides PKS/ NRPS responsables de la synthèse de la rakicidine antitumorale. antitumorale (Komaki et al., 2016).

➤ **Chez *Streptomyces albus* J1074**

Streptomyces albus J 1074 est une souche de streptomycète largement utilisée comme hôte pour l'expression de groupes de gènes de métabolites secondaires. L'analyse bio-informatique du génome de cet organisme prédit la présence de 27 groupes de gènes de métabolites secondaires. On utilise trois stratégies différentes pour l'activation de certains de ces groupes de gènes silencieux/cryptiques chez *S. albus* J 1074 (Olano et al., 2014).

➤ **Chez *Streptomyces actuosus*, *Streptomyces sioyaensis*, et *Actinospica acidiphilais***

Le séquençage du génome entier et les analyses bio-informatiques de *Streptomyces sioyaensis*, *Streptomyces actuosus* et *Actinospica acidiphilais* ont révélé de nombreux groupes de gènes de biosynthèse de métabolites secondaires. Ces trois espèces d'Actinomycetes séquencées du génome entier, et ils sont connues pour produire des antibiotiques thiopeptidiques puissants : *Streptomyces actuosus* biosynthétise le nosiheptide, *Streptomyces sioyaensis* produit lasiomycine et *Actinospica acidiphilais* appartient à la sous-famille des Actinomycetes. Les analyses bioinformatiques ont démontré diverses métabolomes secondaires avec de multiples gènes cluster encodant des antibiotiques, la présence et l'analyse de groupes de gènes de biosynthèse de métabolites secondaires à l'aide d'antiSMASH (Majer et al., 2021).

➤ **Chez *Streptomyces* sp. SCSIO 03032**

Streptomyces sp. SCSIO 03032, isolé d'un échantillon de sédiment des profondeurs de l'océan Indien (3412 m), produit plusieurs classes de composés bioactifs, nous rapportons ici la séquence complète du génome de *Streptomyces* sp. SCSIO 03032, qui consiste en un chromosome linéaire de 6 287 975 pb. L'analyse du génome révèle la présence de 29 groupes de gènes biosynthétiques putatifs pour des métabolites secondaires, l'ADN génomique de *Streptomyces* sp. SCSIO 03032 a été séquencé en utilisant la plateforme PacBio RS II (Eid et al., 2009), et les BGC de métabolites secondaires potentiels ont été analysés par antiSMASH 5.0 (Blin et al., 2019). Un total de 29 BGCs de métabolites secondaires putatifs ont été détectés dans *Streptomyces* sp. SCSIO 03032, y compris la piericidine A1, les héronamides, les spiroindimicines/indimicines/lynamicines, la géosmine, l'ectoïne et d'autres 24 groupes de gènes non caractérisés (Maet et al., 2021).

A partir l'analyse de ces articles, on dit que les recherches de métabolite secondaire par la méthode classique (*in vitro*) n'est pas détectable de toute les métabolites des actinobactéries et il contrôlé et limité par les conditions de laboratoire.

La récente technologie basé sur les approches génomique et les outils bio-informatiques est plus facile à utiliser ; moins couteux, et détecter un grand nombre des gènes parmi-t-il des gènes cryptiques responsable de produire nouveaux métabolite secondaire.

Alors que seulement 5 métabolite identifié en 50 ans par des approches classiques de genre *Streptomyces coelicolor* mais à l'aide de l'exploitation de génome il découvrir 20 métabolites ou plus.

Cependant, la plupart des SM-BGC de *Streptomyces* sont inactives dans les conditions générales de culture en laboratoire. Par exemple, bien que les génomes de *S. coelicolor*, *S. griseus*, et *S. avermitilis* codent pour plus de 30 SM-BGCs, respectivement, seuls 3 à 5 métabolites secondaires ont été détectés dans les conditions de laboratoire.

Conclusion

Les actinobactéries sont des microorganismes procaryotes ayant un pourcentage de guanine-cytosine élevé (supérieur à 55%). Ils sont une source très riche en métabolite secondaire. Ils sont considérés comme la source la plus puissante pour la production de métabolites secondaires, telles que les antibiotiques, les vitamines, les enzymes et les pigments.

Bien que la plupart des produits naturels proviennent des actinomycètes sont détectable par la méthode classique mais cette méthode est insuffisante parce que non exprimés ou les produits sont formés à un niveau trop bas pour être détectés dans les conditions de croissance du laboratoire. Dans ce cas il nécessite des prédictions utilisant des progrès récents dans l'exploration du génome avec diverses stratégies d'éveil peuvent permettre l'identification de composés nouveaux ou faiblement produits dans les actinomycètes. L'émergence de rapports de plus en plus nombreux sur la découverte de groupes de gènes cryptiques à partir d'actinomycètes séquencés par des approches basées sur la génomique suggère que nous sommes à l'aube d'un nouvel âge d'or de la découverte de nouveaux produits naturels bioactifs.

On déduit que la détection des nouveaux métabolites secondaires des actinomycète à l'aide des outils bio-informatiques qui sont en cours de développement pour la recherche des *Biosynthétique Gene Cluster* inconnus, ils conduisent à la découverte des nouveaux produits et donc une révolution dans le domaine médicale et pharmaceutique.

L'estimation du pouvoir métabolique des actinomycètes ne fournit pas seulement un domaine intéressant pour la recherche, mais offre également la possibilité de commercialiser les métabolites générés dans le processus.

Références

A

- ❖ Abdelmohsen, U. R., Grkovic, T., Balasubramanian, S., Kamel, M. S., Quinn, R. J., & Hentschel, U. (2015). Elicitation of secondary metabolism in actinomycetes. *Biotechnology advances*, 33(6), 798-811.
- ❖ Addou-Amara N. (2009). Les Actinobactéries Thermo-halophiles : isolement, systématique et production de métabolites bioactifs. Thèse de Doctorat. Université des sciences et des technologies Houari Boumedién. P : 19-22.
- ❖ Aigle B, Lautru S, Spiteller D, Dickschat JS, Challis GL, Leblond P, Pernodet JL. (2013). Genome mining of *Streptomyces ambofaciens*. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 41(2):251-63.
- ❖ Ait Barka, E. Vatsa, P. Sanchez, L. Gaveau-Vaillant, N. Jacquard, C. Klenk, HP. Clément, C. Ouhdouch, Y. Van Wezel, GP. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*. (80).1-43.
- ❖ Amin, D. H., Abdallah, N. A., Abolmaaty, A., Tolba, S., & Wellington, E. M. (2020). Microbiological and molecular insights on rare Actinobacteria harboring bioactive prospective. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1), 1-12.
- ❖ Anand S, Prasad MV, Yadav G, Kumar N, Shehara J, Ansari MZ, Mohanty D. (2010). SBSPKS: structure based sequence analysis of polyketide synthases. *Nucleic Acids Res*. 38(Web Server issue):W487-96.
- ❖ Anandan R., Dharumadurai D., Manogaran G.P.(2016). Au Introduction to Actinobacteria. In : Dhanasekaran D., Jiang Y. (eds) *Actinobacteria : Basics and Biotechnological Applications*. Intech, Rijeka, pp.3-37.
- ❖ Andriambololona, T, (2010) - Etude bibliographiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas du forêt d'ANKAFOBE. Mémoire de recherche pour l'obtention du Diplôme d'études approfondies de biochimie. Université d'Antananarivo, Madagascar : 5p.
- ❖ Aouar, L, (2012). Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse doctorat. Université Mentouri-Constantine. P:9-11.

B

- ❖ Barka E.A. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 80 n°1. P 3-4.
- ❖ Barka E A., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Klenk H P., Clément C., Ouhdouch Y and van Wezel G P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology Molecular Biology Revue*, 80,1–43.
- ❖ Belyagoubi L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Thèse de Doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P : 14-17.
- ❖ Bennamoun L. (2017). Isolement, sélection de souches levuriennes de sols arides sahariens (El-M'gheir). Productrices de polygalacturonase : purification et caractérisation enzymatique. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri-Constantine 1. P : 37-40.
- ❖ Bentley, S. D., Chater, K. F., Cerdeño-Tárraga, A. M., Challis, G. L., Thomson, N. R., James, K. D., ... & Hopwood, D. A. (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3 (2). *Nature*, 417(6885), 141-147.
- ❖ Berdy J., (2005). Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotics*, 58: 1-26.
- ❖ Berdy J. (2012). Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *J. Antibiot.*, 65 : 385–395.
- ❖ Blin, K., Medema, M.H., Kazempour, D., Fischbach, M.A., Breitling, R., Takano, E., et al., 2013. antiSMASH 2.0—a versatile platform for genome mining of secondary metabolite producers. *Nucleic Acids Res.* 41, W204–W212.
- ❖ Bouaziz S. (2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 4-13.
- ❖ Boudjellal-bencheikh F, (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. Thèse de doctorat en sciences agronomiques, Ecole nationale supérieure agronomiques El-harrach, Alger. P:26.
- ❖ Boudjelal-Bencheikh F. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par

Actinoalloteichus sp. AH97. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. P : 5-35.

- ❖ Boughachiche F. 2012. Étude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre Streptomyces, isolées de Sebkha. Thèse doc : Université MentouriConstantine. 150 p

C

- ❖ Cimermancic P, Medema MH, Claesen J, Kurita K, Wieland Brown LC, Mavrommatis K, Pati A, Godfrey PA, Koehrsen M, Clardy J, Birren BW, Takano E, Sali A, Lington RG3, Fischbach MA. (2014). Insights into secondary metabolism from a global analysis of prokaryotic biosynthetic gene clusters. Cell. 158(2):412-21.
- ❖ Chin, C. S., Alexander, D. H., Marks, P., Klammer, A. A., Drake, J., Heiner, C., Clum, A., Copeland, A., Huddleston, J., Eichler, E. E., Turner, S. W., Korlach, J., 2013. Nonhybrid, finished microbial genome assemblies from long-read SMRT sequencing data. Nat Methods. 10, 563-569.
- ❖ Choi, S. S., Kim, H. J., Lee, H. S., Kim, P., & Kim, E. S. (2015). Genome mining of rare actinomycetes and cryptic pathway awakening. Process Biochemistry, 50(8), 1184-1193.
- ❖ Conn. V.M. (2005). Molecular Interactions of endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University. Adelaide, South Australia. pp 297.

D

- ❖ Dastager S. Dayanand A. Li WJ. Kim CJ. Lee JC. Park DJ, et al (2008). Proteolytic activity from an alkalithermotolerant *Streptomyces gulbargensis* sp. nov. Curr Microbiol; 57(6):638–642.
- ❖ Delaunay S., Rondags E. et Germain P. (2003). Production d'antibiotiques par biotechnologies. Techniques de l'ingénieur. Opérations unitaires, génie de la réaction chimique. J 6 008 1-12.
- ❖ Demain A.L.(1999). Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. Appl. Microbiol. Biotechnol. 52:455-463.
- ❖ Dharumadurai D, (2016). Actinobacteria. Basic and biotechnological applications. Intech open. Croatia .398 p.

- ❖ Dickner-Ouellet L. (2018). Optimisation de l'usage des coproduits dans l'alimentation des porcs en croissance : impact du type de fibre et de la xylanase sur la digestion des nutriments. Thèse de Doctorat. Université LAVAL Québec-Canada. P : 36-38.
- ❖ Djaballah C., (2010)-Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha de Ain M'Lila. Mémoire de l'obtention du Diplôme de Magister en Microbiologie. Université Mentouri Costantine : 102p.
- ❖ Djinni I. (2009). Étude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées production de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Bejaia. Thèse de Magister. Université. A. Mira-Bejaia. 154 p.
- ❖ Drago Haas. (2015). Métabolisme secondaire de *Streptomyces ambofaciens*: exploration génomique ET étude du groupe de gènes dirigeant la synthèse du sphydrofurane. Biochimie, Biologie moléculaire. Université Paris saud-Pris XI, 2015. Français. NNT: 2015 PA 112052.

E

- ❖ El-Sersy N., Abd-Elnaby H., Abou-Elela G. M., Ibrahim H. A. H. and El-Toukhy N. M. K. 2010. Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine *Streptomyces ruber*. *Afr Journal Biotechnol* 9 (38): 6355-6364.
- ❖ Erikson. D ; (1949); Morphology, cytology and taxonomy of the actinomycetes.

F

- ❖ FATEH, Merouane. Extraction, purification et caractérisation des lectines produites par la souche *Micromonospora aurantiaca* GF44c, et tests biologiques. 2017.
- ❖ Feng C., Ling H., Du D., Zhang J., Tan H. (2014). Novel nikkomycin analogues generated by mutasynthesis in *Streptomyces ansochromogenes*. *Microb. Cell. Fact.*, 13 : 1-10.

G

- ❖ Gagnon, S. (2012). *Pseudomonas aeruginosa* souche LESB58: Étude préliminaire pour la reconstruction métabolique in silico et analyse de la distribution de flux métaboliques à l'état stationnaire.

- ❖ Gao B and Gupta R S. (2012). Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Review*,76, 66–112.
- ❖ Garrity, G. M., Lilburn, T. G., Cole, J. R., Harrison, S. H., Euzéby, J., & Tindall, B. J. (2007). Taxonomic outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7 March 6, 2007; Part 1-The “Archea”, Phyla “Crenarchaeota” and “Euryarchaeota”. *Taxonomic Outline*, 551, 73.
- ❖ Genilloud O. (2018). Mining actinomycetes for novel antibiotics in the omics era : are we ready to exploit this new paradigm ? *Journal antibiotics*. Vol. 7 (4):85. 13p.
- ❖ Gerois J., Gianotta F., De Buyl E., Garnier B., Frère J.M.,(2008). Purification and properties of three endo b-1-4 xylanases produces by *Streptomyces* sp. Strain S38. *Enzyme Microb. Technol.* 26 : 178-186.
- ❖ Ghribi M. (2019). La biodiversité microbienne des déchets (boues, papetières et huiles usées) et son potentiel d'application enzymatique. Thèse de Doctorat. Université du Québec à TroisRivières. P : 20
- ❖ Goodfellow M., (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In: Goodfellow et al. (Editors). *Bergey Manuel of Systematic Bacteriology, The Actinobacteria*, second edition, vol. V, part A, New York, Dordrecht, Heidelberg, London

H

- ❖ Haas, D. (2015). Métabolisme secondaire de *Streptomyces ambofaciens*: exploration génomique et étude du groupe de gènes dirigeant la synthèse du sphydrofurane (Doctoral dissertation, Paris 11).
- ❖ Hassan U S S, Anjum K, Abbas S Q, Akhter N, Shagufta B I, Shah S A A, and Tasneem U. (2017). Emerging biopharma centicals from marine actinobacteria. *Journal: Environmental Toxicology and pharmacology*. Elsevier B.V.49:34-47. Vol 49.Pp:34- 47.
- ❖ Harir M. (2010).Effets antagonistes entre les souches d(actinomycetes et *Verticillium dahliae* kleb agent de la verticilliose de l’olivier. Mémoire de Magister En biotechnologie. Université d’Oran.
- ❖ Harir M. (2018). Caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d’actinobactéries isolée des sols semi arides d’Algérie. Thèse de Doctorat. Université d’Oran1, Ahmed Ben Bella. P : 4-12.

- ❖ Harir, M., Bendif, H., Bellahcene, M., Fortas, Z., & Pogni, R. (2018). Streptomyces secondary metabolites. *Basic Biology and Applications of actinobacteria*, 6, P : 101.
- ❖ Hitesh J., Nimita U., Darshan D., Manthan K., Shilpa S., and Jagdish P., (2016). Isolation, Optimization and Production of Cellulase by *Aspergillus niger* from Agricultural Waste. *Journal of pure and applied microbiology*. 10(2) : 1159-1166
- ❖ Hodgson D.A. (2000) Primary metabolism and its control in Streptomyces: a most unusual group of bacteria. *Adv. Microb. Phy.*
- ❖ Houin, A. (2016). Recherche de nouveaux métabolites secondaires chez Streptomyces ambofaciens par une approche novatrice de génomique comparée (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

I

- ❖ Igali, S., F. Titgemeyer, S. Barends, S. Mulder, A.W. Thomae, D.A. Hopwood, and G.P. van Wezel. “Feast or Famine : The Global Regulator DasR Links Nutrient Stress to Antibiotic Production by Streptomyces.” *EMBO Reports* 9, no. 7 (July 2008) : 670–75.

J

- ❖ Janaki T., (2017). Enzymes From Actinomycetes. *International Journal of ChemTechResearc*.10(2) : 176-182
- ❖ Janardhan, A., Kumar, A. P., Viswanath, B., Saigopal, D. V. R., & Narasimha, G. (2014). Production of bioactive compounds by actinomycetes and their antioxidant properties. *Biotechnology research international*, 2014.
- ❖ Jean C., C.J.C., Gérard C., Bernard F., (2004). Flore microbienne intestinale : physiologie et pathologie digestives, John Libbey. Euro. text, Paris. Pp 71.
- ❖ Juhas, M., J.R. van der Meer, M. Gaillard, R.M. Harding, D.W. Hood, and D.W. Crook. “Genomic Islands : Tools of Bacterial Horizontal Gene Transfer and Evolution.” *FEMS Microbiology Reviews* 33, no. 2 (March 2009) : 376–93

K

- ❖ Khaled B.(2016). Extraction, purification et caractérisation des lectines produites par des souches pures d’actinomycètes isolés à partir de la rhizosphère de *Lactuca sativa*, *Vicia fabae*, *Prunus domestica* et *Pinus halepensis*. Tests biologiques des lectines caractérisées. Thèse doctorat En Biotechnologies microbiennes, Génomes et Environnement. Université des Frères Mentouri de Constantine.

- ❖ Kieser T., Bibb M., Chater K. and Hopwood D. (2000). *Practical Streptomyces Genetics*. The John Innes Foundation. United Kingdom, Norwich.
- ❖ Komaki H, Ichikawa N, Hosoyama A, Hamada M, Harunari E, Ishikawa A et al (2016) Draft genome sequence of *Micromonospora* sp. DSW705 and distribution of biosynthetic gene clusters for depsipeptides bearing 4-amino-2, 4-pentadienoate in actinomycetes. *Stand Genomic Sci* 11(1):84

L

- ❖ Larreta., Garde V.,(1997). *Enzymes en Agroalimentaire*. Edition Lavoisier. Pp.179-361.
- ❖ Lee, N., Hwang, S., Kim, J., Cho, S., Palsson, B., & Cho, B. K. (2020). Mini review: genome mining approaches for the identification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters in *Streptomyces*. *Computational and Structural Biotechnology Journal*.
- ❖ Leroy C. (2006). *Lutte contre les salissures marines : approche par procédés enzymatiques*. Thèse de Doctorat. Institut national des sciences appliquées de Toulouse. P : 59.
- ❖ Lewis, K. “Platforms for Antibiotic Discovery.” *Nature Reviews Drug Discovery* 12, no. 5 (April 30, 2013) : 371–87.
- ❖ Li Y, Müller R. (2009). Non-modular polyketide synthases in myxobacteria. *Phytochemistry*. 70(15-16):1850-7.
- ❖ Liao, R., L. Duan, C. Lei, H. Pan, Y. Ding, Q. Zhang, D. Chen, B. Shen, Y. Yu, and W. Liu. “Thiopeptide Biosynthesis Featuring Ribosomally Synthesized Precursor Peptides and Conserved Posttranslational Modifications.” *Chemistry & Biology* 16, no. 2 (February 2009) : 141–47
- ❖ Limkhada, J.R. ;Mander, P. ; Cho, S.S. and Yoo, J.C. 2010. A novel fibrinolytic protease from *Streptomyces* sp. CS684.*ProcBiochem*. 45: 88-93.
- ❖ Ling, L.L., T. Schneider, A.J. Peoples, A.L. Spoering, I. Engels, B.P. Conlon, A. Mueller, et al. “A New Antibiotic Kills Pathogens without Detectable Resistance.” *Nature* 517, no. 7535 (January 7, 2015) : 455–59.
- ❖ Liu, R., Deng, Z., & Liu, T. (2018). *Streptomyces* species: ideal chassis for natural product discovery and overproduction. *Metabolic engineering*, 50, 74-84.
- ❖ Loucif. K. (2011). *Recherche de substances antibactériennes à partir d’une collection de souches d’actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives*. Thèse de

Magistère en Microbiologie appliquée et biotechnologie microbienne. Université de Mentouri, Constantine.

M

- ❖ Ma, L., Zhang, W., Liu, Z., Huang, Y., Zhang, Q., Tian, X., ... & Zhu, Y. (2021). Complete genome sequence of *Streptomyces* sp. SCSIO 03032 isolated from Indian Ocean sediment, producing diverse bioactive natural products. *Marine Genomics*, 55, 100803.
- ❖ Majer, H. M., Ehrlich, R. L., Ahmed, A., Earl, J. P., Ehrlich, G. D., & Beld, J. (2021). Whole genome sequencing of *Streptomyces actuosus* ISP-5337, *Streptomyces sioyaensis* B-5408, and *Actinospica acidiphila* B-2296 reveals secondary metabolomes with antibiotic potential. *Biotechnology Reports*, 29, e00596.
- ❖ Manivasagan, P. Venkatesan, J. Sivakumar, K. Kima, S.K. (2014). Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiological Research*. (169).262-278.
- ❖ Manteca, Á., & Yagüe, P. (2018). *Streptomyces* differentiation in liquid cultures as a trigger of secondary metabolism. *Antibiotics*, 7(2), 41.
- ❖ Mariat, F., Sebald, M. (1990). Les actinomycètes. Dans: *Bactériologie médicale*. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France
- ❖ Medema M H, Blin K, Cimermancic P, de Jager V, Zakrzewski P, Fischbach M A, Weber T, Takano E, Breitling R. (2011). Anti-SMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. *Nucleic Acids Res*. 39 (Web Server issue): W 339-46.
- ❖ Medema MH, Blin K, Cimermancic P, de Jager V, Zakrzewski P, Fischbach MA, Weber T, Takano E, Breitling R. (2011). antiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. *Nucleic Acids Res*. 39(Web Server issue):W339-46
- ❖ Messaoudi O., (2012). Contribution à la caractérisation de souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha de kenadsa (Bechar).
- ❖ Messaoudi. O (2013) ; Contribution à la caractérisation de souche d'actinomycètes de métabolites antibactériennes isolées de la Sebkha Kenadesa (Bechar). Mémoire de Magistère en Microbiologie appliquée, Université ABOU BAKR BELKAID de Tlemcen.

- ❖ Meziani.A., Mahcene.H., (2017). Activités hydrolases des souches fongiques : Production par fermentation de cellulase et d'α-amylase par *Penicillium*. sp sur substrat solide. Thèse de Master Biotechnologie des Mycètes. Université de Mentouri Constantine.
- ❖ Mobini-Dehkordi M and Fahime A.J. 2012. Application of alpha-amylase in biotechnology.
- ❖ Mohammadipanah F. and Wink J. (2016). Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity . *Front. Microbiol.* 6: 1541.
- ❖ Moudoub, M., Oumellil, M., & Boucherba, N. E. (2018). Isolement et sélection des souches d'actinomycètes productrices de peroxydases. Thèse de Doctorat. Université A. MIRA – Bejaia. P : 2
- ❖ Mouly S., Sellier P. (2004). Monitoring thérapeutique des anti-infectieux, des exigences réglementaires au bon usage du médicament. *Spring. Verlag.*, 12 : 92-98.
- ❖ Mukesh Sh, Pinki D and Meenakshi Ch.,(2014)- *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* (2014) 3(2): 801- 832.
- ❖ Mukhtar S., Ahmad Z., Dalaq A., Kauser A. M., and Samina M., (2017). Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. *Journal of Proteomics & Bioinformatics.*10 : 316-319.
- ❖ Mukhtar S., Zaheer A., Aiysha D., Abdulla Malik K and Mehnaz S.2017. Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes.*J Proteomics Bioinform* 10: 316-319.

N

- ❖ Navarre., Françoise l., (2010). *L'œnologie.* 7ème Edition.pp39 et 42.
- ❖ Nett, M., Haruo Ikeda, and Bradley S. Moore. “Genomic Basis for Natural Product Biosynthetic Diversity in the Actinomycetes.” *Natural Product Reports* 26, no. 11 (2009).
- ❖ Nicemol C., Asha P., Prem., (2008). Purification and partial characterization of polygalacturonase from *Streptomyces lydicus*. *Journal Bioresource Technology.*99:6697–6701.

O

- ❖ Olano, C., García, I., González, A., Rodríguez, M., Rozas, D., Rubio, J., ... & Salas, J. A. (2014). Activation and identification of five clusters for secondary metabolites in *S treptomyces albus* J 1074. *Microbial biotechnology*, 7(3), 242-256.

- ❖ Onaka, H. (2017). Novel antibiotic screening methods to awaken silent or cryptic secondary metabolic pathways in actinomycetes. *The Journal of antibiotics*, 70(8), 865-870.
- ❖ Ouargli Moufida, 2018. Les actinomycètes producteurs de molécules bioactives .Thèse Doctorat. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA. P: 21).

P

- ❖ Penn K, Jenkins C, Nett M, Udvary DW, Gontang EA, McGlinchey RP, Foster B, Lapidus A, Podell S, Allen EE, Moore BS, Jensen PR. (2009). Genomic islands link secondary metabolism to functional adaptation in marine Actinobacteria. *ISME J*. 3(10):1193- 203.
- ❖ Pierre F., (2000). Livre le grain de blé : Composition et utilisation. Edition Quae.123p.
- ❖ Pimentel-Elardo, S.M., Kozytska, S., Bugni, T.S., Ireland, C.M., Moll, H., Hentschel, U.(2010): Antiparasitic compounds from *Streptomyces* sp. strains isolated from Mediterranean sponges. *Marine Drugs*. 8:373-380.
- ❖ POURRIAT J. L., MARTIN C. (2005). Principe de réanimation chirurgicale. Arne.,
- ❖ 5 : 87-96.
- ❖ Prescott L.M., Willey J. M., Sherwood L. M. et Woolverton C. J. (2018). Microbiologie. De Boeck supérieur. France. 1120p.
- ❖ Procópio, R.E., Silva, I.R., Martins, M.K., Azevedo, J.L., Araújo, J.M. (2012). Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Braz J Infect Dis*, 16(5): 466–471

R

- ❖ Ramananarivo, R. (2017). Activites biologiques d'actinomycetes du sol sous baobabs dans les parties ouest et moyen ouest de madagascar (Doctoral dissertation, Université D'antananarivo).P : 40
- ❖ Rangseekaew P. et Pathom-aree W. (2019). Cave Actinobacteria as producers of bioactives metabolites. *Frontiers in Microbiology*. Vol 10. 11p.
- ❖ Ravi Ranjan K.,Vasantba J., Bhoomi M., Bonisha T., Bhumika C.2015.Antibacterial Potentials of Actinomycetes Isolated from Gujarat. *Int Journal Pharm Sci Rev Res* 30(15) :78-83.

- ❖ Rajeeva G., Soni.T., (2015). Isolation, production, purification and characterization of an organic-solvent-thermostable alkalophilic cellulase from *Bacillus vallismortis* RG-07. *Journal of BMC Biotechnology*.15 :19.
- ❖ RIPERT C. (2013). *Mycologie médical.. Tec. et Toc.*, 5 : 64-69.

S

- ❖ Saci A. (2011). Production d'alpha-amylase par *Streptomyces* sp. Optimisation d'un milieu de production à base de déchets d'orange. Thèse de Magister. Université Mentouri Constantine. P : 10-12.
- ❖ Saci .A (2012). Production d'alpha-amylase par *Streptomyces* sp. Optimisation d'un milieu de production à base de déchet d'orange .Thèse de Magister : écologie. constantine, Algérie : Univercité Mentouri. p21-10
- ❖ Saffory S., (2006). Etude du métabolisme carboné chez *Streptomyces pristinaespiralis*. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine
- ❖ Sahoo K., Sahoo R. K., Gaur M. et Subudhi E. (2019). Isolation of cellulase genes from thermophiles. A novel approach toward new gene discovery. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. P : 151-169.
- ❖ Saker, Rafika. (2018). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. P : 5
- ❖ Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 74, 5463-5467
- ❖ Schrey, S.D., E. Erkenbrack, E. Früh, S. Fengler, K. Hommel, N. Horlacher, D. Schulz, et al. "Production of Fungal and Bacterial Growth Modulating Secondary Metabolites Is Widespread among Mycorrhiza-Associated Streptomyces." *BMC Microbiology* 12, no. 1 (2012) : 164. doi :10.1186/1471-2180-12-164
- ❖ Smith, T.M., Y.F. Jiang, P. Shipley, and H.G. Floss. "The Thiostrepton-Resistance-Encoding Gene in *Streptomyces Laurentii* Is Located within a Cluster of Ribosomal Protein Operons." *Gene* 164, no. 1 (October 1995) : 137–42.
- ❖ Solecka J., Zajko J., Postek M. and Rajnisz A., (2012). Biologically active secondary metabolites from actinomycetes. *Central European Journal of Biology*, 7: 373-390.

- ❖ Starcevic A, Zucko J, Simunkovic J, Long PF, Cullum J, Hranueli D. (2008). ClustScan: an integrated program package for the semi-automatic annotation of modular biosynthetic gene clusters and in silico prediction of novel chemical structures. *Nucleic Acids Res.* 36(21):6882-92.
- ❖ Strub C 2008. Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse INP-ENSAT. France. P :174
- ❖ Swiatek, M. A., E. Tenconi, S. Rigali, and G. P. van Wezel. "Functional Analysis of the NAcetylglucosamine Metabolic Genes of *Streptomyces Coelicolor* and Role in Control of Development and Antibiotic Production." *Journal of Bacteriology* 194, no. 5 (March 1, 2012) : 1136–44.

T

- ❖ Taibi Z. Saoudi B. Boudelaa M. Trigui H. Belghith H. Gargouri A. et al. Purification and biochemical characterization of a highly thermostable xylanase from *Actinomadura* sp. strain Cpt20 isolated from poultry compost. *Appl Biochem Biotechnol* 2012; 166(3):663–679.
- ❖ Tanveer P., Shashank G., Joginder S., Ashish V., Manish K., Naseem G., MadhuBala., Reiaz R., Ajit V., Vivek K., and Manoj K., (2014). Characterization of Actinomycetes and *Trichoderma* spp. for cellulase production utilizing crude substrates by response surface methodology. *Journal of Spirnger*, 3:622
- ❖ Tao, H. Zhang, Y. Deng, Z. Liu, T. (2019). Strategies for Enhancing the Yield of the Potent Insecticide Spinosad in Actinomycetes. *Biotechnology journal.* (14). DOI: 10.1002.
- ❖ Theilleux. J. (1993). - les actinomycètes in *Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel*, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V 612p, pp 425.
- ❖ Tsujibo, H., Okami, Y., Tanno, H., Inamori, Y. 2003. Cloning, sequence and expression of a chitinase gene from a marine bacterium, *Alteromonas* sp. strain O-7. *Journal of Bacteriology*: 175-181.

V

- ❖ Van Dissel D., Claessen D and Van Wezel G P. (2014). Morphogenesis of *Streptomyces* in submerged cultures. *Advances in Applied Microbiology*, 89:1–45.

W

- ❖ Watve, M.G., Tickoo, R., Jog, M.M., Bhole, B.D., 2001- How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Arch Microbiol*, 176(5) : 386p.
- ❖ Weber T, Blin K, Duddela S, Krug D, Kim HU, Brucoleri R et al (2015) antiSMASH 3.0 a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters. *Nucleic Acids Res* 43(W1):W237 –WW43.
- ❖ Weber, T., Charusanti, P., Musiol-Kroll, E. M., Jiang, X., Tong, Y., Kim, H. U., & Lee, S. Y. (2015). Metabolic engineering of antibiotic factories: new tools for antibiotic production in actinomycetes. *Trends in Biotechnology*, 33(1), 15-26.

Z

- ❖ Zerizer H. (2014). Les genres d'actinomycètes (hors mycobactéries) impliqués dans les infections dans la région de Constantine. Thèse de Doctorat en Sciences en Biochimie et Microbiologie Appliquées. Université Constantine 1.p 11.
- ❖ Zhang X .Z., Zhang Y.H. P.,(2013). Cellulases: Characteristics, sources, production, and applications.*Biotechnol. Bioeng.* 94 : 888 – 898.
- ❖ Ziemert N, Lechner A, Wietz M, Millán-Aguñaga N, Chavarria KL, Jensen PR. (2014). Diversity and evolution of secondary metabolism in the marine actinomycete genus *Salinispora*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 111(12):E1130-9.