



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Echahid Cheikh Larbi Tebessi –Tebessa-  
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée



## Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **Master**  
En: Sciences biologiques  
Option: microbiologie appliquée

**Par:**

M<sup>elle</sup>.BOUHNİK bouthaina & M<sup>elle</sup>.BRAHMIA khadidja  
& M<sup>elle</sup>.SOUALMIA houda

**Intitulé:**

**Caractérisation phénotypiques des actinomycètes  
isolés de différents types de sols**

**Devant le jury:**

M. MECHAI Abd El Baset	P.r	Université de <b>TEBESSA</b>	Président
M. BENHADJ Mabrouka	M.C.A	Université de <b>TEBESSA</b>	Rapporteur
Mm. FENGHOUR Hind	M.C.A	Université de <b>TEBESSA</b>	Examinatrice

**Date de soutenance : 08/06/2023**



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## Résumé

Les communautés microbiennes et leurs distributions dans des environnements naturelles sont principalement déterminées par leurs conditions biotiques/abiotiques qui promettent une augmentation dans la perspective de découvrir de nouveaux composés avec des activités potentielles. En effet les actinomycètes, un exemple type des procaryotes, sont une source importante à explorer pour la découverte de nouvelles voies métaboliques à intérêt biotechnologique. L'objectif de ce travail consiste à isoler des souches d'actinomycètes à partir des sols provenant de régions différents Timimoun, Ghardaia et Oued souf. Cette étude consiste à mettre en évidence les caractéristiques phénotypiques des actinomycètes (macromorphologiques et micro-morphologiques et observation à l'état frais) et leurs aptitudes à la biodégradation et l'hydrolyse de différents substrats. Dans ce présent travail 56 souches d'actinomycètes ont été isolées dans différentes régions, 19 isolats d'actinomycètes ont été sélectionnés parmi la collection obtenu pour l'étude de leur diversité phénotypique et l'aspect culturelle sur la gamme des ISP (*International Streptomyces Project*) ainsi que leur propriétés physiologiques tel que différentes paramètres de (pH, Na Cl et Température). Ces isolats ont été soumis à un ensemble des tests pour déterminer les différents caractères. D'après les résultats obtenu on a pu constater que la majorité des nos isolats ont une large variété culturelle sur la gamme des milieux ISP (Mycélium aérien et de substrat, pigmentation à différentes couleurs) à croissance lente (10 à 15 jours). Les souches isolées montrent des propriétés phénotypiques identiques au actinomycètes qui sont des bactéries aérobies filamenteuses à Gram positif sporulées, sur l'ensemble des 19 souches testées, 17 souches sont catalase positive. A partir des études physiologiques on estime que la plupart des isolats sont mysophiles, halotolérants, neutrophiles. Les résultats des tests biochimiques indiquent que les isolats utilisent le galactose, manitol, arabinose et fructose comme une seule source de carbone, d'autre part l'aptitude de 19 souches sélectionnées à dégrader certaines substances complexes (dégradation de la gélatine, Tween 80, hydrolyse de l'amidon, la caséine et action sur le lait écrémé). A l'issue de ce travail on peut conclure que nos isolats d'actinomycètes présentent une biodiversité phénotypique et métabolique.

**Mots clés:** Actinomycètes, isolement, caractères phénotypique, propriétés métabolique, biodégradation, biodiversité.

## ملخص

يتم تحديد المجتمعات الميكروبية وتوزيعها في البيئات الطبيعية بشكل أساسي من خلال ظروفها الحيوية / اللاحوية التي تعد بزيادة احتمالية اكتشاف مركبات جديدة ذات أنشطة محتملة. في الواقع ، تعد الفطريات الشعاعية ، وهي مثال نموذجي على بدائيات النوى ، مصدرًا مهمًا لاستكشاف مسارات أيضية جديدة ذات أهمية في مجال التكنولوجيا الحيوية. الهدف من هذا العمل هو عزل سلالات الفطريات الشعاعية من التربة من مناطق مختلفة من تيميمون وغرداية وعود سوف. تهدف هذه الدراسة إلى تسليط الضوء على الخصائص المظهرية للفطريات الشعاعية (الشكل الكبير والمورفولوجي الدقيق والملاحظة في الحالة الجديدة) وقدرتها على التحلل البيولوجي والتحلل المائي لمختلف الركائز. في هذا العمل الحالي تم عزل 56 سلالة من الفطريات الشعاعية في مناطق مختلفة ، تم اختيار 19 عزلة من الفطريات الشعاعية من المجموعة التي تم الحصول عليها لدراسة تنوعها الظاهري والجانب الزراعي في نطاق ISP (مشروع Streptomyces الدولي) بالإضافة إلى خصائصها الفسيولوجية مثل المعلمات المختلفة (pH ، NaCl ، T °). خضعت هذه العزلات لمجموعة من الاختبارات لتحديد الصفات المختلفة. وفقًا للنتائج التي تم الحصول عليها ، وجد أن غالبية عزلاتنا لها تنوع ثقافي واسع في مجموعة وسائط ISP (MA ، MS ، تصبغ بألوان مختلفة) بنمو بطيء (10 إلى 15 يومًا). تُظهر السلالات المعزولة خصائص نمطية مماثلة للفطريات الشعاعية التي تشكل بوغًا البكتيريا الهوائية الخيطية إيجابية الجرام ، من بين جميع السلالات الـ 19 المختبرة ، 17 سلالة إيجابية الكاتالز. من الدراسات الفسيولوجية ، تشير التقديرات إلى أن معظم العزلات هي ميسوفيليك ، ومقاومة للهالوتروفيلي. تشير نتائج الاختبارات البيوكيميائية إلى أن العزلات تستخدم الجالاكتوز والمانيتول والأرابينوز والفركتوز كمصدر واحد للكربون ، ومن ناحية أخرى قدرة 19 سلالة مختارة على تحلل بعض المواد المعقدة (تحلل الجيلاتين ، توين 80 ، التحلل المائي للنشا) ، الكازين والعمل على الحليب منزوع الدسم) في نهاية هذا العمل يمكننا أن نستنتج أن عزلاتنا من الفطريات الشعاعية تمثل تنوعًا حيويًا ظاهريًا واستقلابيًا.

**الكلمات المفتاحية:** الفطريات الشعاعية، العزلة، الصفات المظهرية، الخصائص الأيضية، التحلل البيولوجي، التنوع البيولوجي.

## Abstract

Microbial communities and their distribution in natural environments are mainly determined by their biotic/abiotic conditions, which promise to increase in the prospect of discovering new compounds with potential activities. Indeed, actinomycetes, a typical example of prokaryotes, are an important source to explore for the discovery of new metabolic pathways of biotechnological interest. The aim of this study is to isolate Actinomycetes strains from soils originating from Timimoun , Ghardaia and Oued souf . The aim of this study is to highlight the phenotypic characteristics of actinomycetes (macromorphological and micro-morphological characteristics and fresh state observation) and their ability to biodegrade and hydrolyze different substrates. In the present work, 56 strains of actinomycetes were isolated from different regions, 19 isolates of actinomycetes were selected from the collection obtained to study their phenotypic diversity and cultural aspect on the range of ISP (International Streptomyces Project) as well as their physiological properties such as different parameters of (pH, Na Cl, T°). These isolates were subjected to a series of tests to determine the various characteristics. The results showed that the majority of our isolates had a wide range of cultivation characteristics on ISP media (MA, MS, pigmentation with different colors) with slow growth (10 to 15 days). The phenotypic properties of the isolated strains are identical to those of actinomycetes, which are Gram-positive aerobic filamentous spore-forming bacteria. Of the 19 strains tested, 17 were catalase-positive. Physiological studies suggest that most isolates are mysophilic, halotolerant and neutrophilic. The results of biochemical tests indicate that the isolates use galactose, manitol, arabinose and fructose as a single carbon source, as well as the ability of 19 selected strains to degrade certain complex substances (degradation of gelatin, Tween 80, hydrolysis of starch, casein and action on skimmed milk). At the end of this work, we can conclude that our Actinomycetes isolates present a phenotypic and metabolic biobidiversity.

**Key words:** Actinomycetes , isolation , phenotypic characteristics , metabolic properties , biodegradation , biodiversity .

## *Remerciements*

*Nos premiers remerciements s'adressent à Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et le courage afin d'élaborer ce mémoire.*

*Ce travail a été réalisé, au « Laboratoire de Microbiologie , Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Tebessa ».*

*Nous remercierons profondément, notre encadreur Mme BENHAJ MABROUKA . pour le privilège et la confiance qu'elle nous accordées durant le stage pratique, pour son aide, sa patience, ainsi que pour ses précieux conseils. « Sincèrement madame, nous ne pouvons que vous exprimer notre respect et notre gratitude, grace à vos conseils et à votre supervision on est entré dans un nouveau monde de sciences et de savoir où on a connu des gens formidables qu'on n'aurait jamais rencontré ailleurs »*

*Nous remercions Mme MATROUH ROUMAÏSSA . qui était toujours là pour répondre à nos questions en microbiologie et en vie, merci pour votre aide permanente et pour votre bon cœur.*

*A Mr .Machai .A, nous adressons nos remerciements les plus sincères pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury.*

*A Mme. Fenghour .H pour avoir bien voulu siéger dans ce jury afin d'examiner ce mémoire et nous éclairer par ces précieux conseils*

*Mes sincères remerciements Aux doctorantes Rayen et Maroua qui ont partagé avec nous tous les moments d'émotion lors de la réalisatuon de ce travail et qui nous aide par lers suggestions et leurs conseils . Je lui remercie vivement pour tout*

*A Mme. Khelif Imene la technicienne responsable de laboratoire de microbiologie qu'elle reçoit nos vifs remerciements.*

*Nos remerciements aussi vont à tous les enseignants et 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.*

*Nous associons mes remerciements à toutes nos amies pour leur solidarité, leur aide, et leur disponibilité .*



*Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*A ma chère Mama*

*pour ces longues années de soutien inconditionnel,  
pour sa confiance permanente et l'acceptation de mes choix parfois ambitieux.*

*Elle m'a offert la possibilité de réaliser mes rêves. Elle m'a toujours fait  
preuve*

*de la plus grande des patiences et de la plus grande des compréhensions et  
d'amour. Malgré*

*toutes les difficultés qu'ont pu représenter ces longues années d'études, elle  
m'a toujours*

*facilité ce parcours, au prix de nombreux efforts. Elle me sera impossible  
de rendre tout ce qui m'a été offert*

*A mon père tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager*

*A la meilleure belle soeur Hanene*

*« Pour votre soutien de tous les instants, quelque soit l'occasion, toujours avec  
moi. I love you so much »*

*A mon très chère Frère Mouhamed que j'aime beaucoup*

*A toutes la famille petits et grand*

*A toutes les personnes qui sont très chères a mon cœur surtout tante et mes  
amies intime Khadidja, Khaoula , Joumana ,Rayen, maroua Asssma, sondes*

*avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur Pour leurs  
encouragements et leurs soutient*

## ***Bouthaina***

### ***Dédicace***

***Je dédie ce travail***

***A ma chère mère , pour son amour , ses encouragements et ses sacrifices***

***A mon père , pour son soutien , son affection et la confiance qu'il m'a accordé***

***A tous les membres de ma famille et mon fiancé qui n'ont pas cessé de me conseiller ,  
encourager et soutenir tout au long de mes études , que dieu le protège et leurs offre la chance  
et le bonheur***

***A tous mes amis et tous ceux qui m'aiment Khaoula , Bouthaina , Abla , Rayen , maroua***

***Merci pour leurs amour et leurs encouragement***

# *khadidja*

## *Dédicace*

Je remercie Allah de m'avoir donné la force et le courage pour Pouvoir réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce travail à mes parents

Pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de mon parcours scolaire mais aussi personnel. Aucun mot ne serait exprimer tout mon amour et toute ma gratitude, merci pour vos sacrifices le long de ces années merci pour vos présence rassurante, et si j'en suis arrivée là s'est grâce à vous. J'espère que le bon Dieu les garde, les comble de santé et leur une longue vie.

A mon père Soualmia Abdelmadjid pour son patient avec moi et son encouragement.

A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère Benmhannia Saida .Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.

Mes frères que j'adore : Oussama sa que je remercie pour leur aide et dévouement, que Dieu nous garde toujours unis. Mes chères sœurs qui ont toujours été présentes pour moi et qui me complent d amour: Sarra ,Hayette,Amina

À toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand, sans exception.

À mon cher Encadreur Dr. Benhadj Mabroka merci pour votre patience, Vos efforts intenses, et votre disponibilité permanente.

À mes précieuses amies d'enfance qu'ont toujours avec moi et derrière mon dos

mes amis parcours.

À mes très chers amis: Khadidja, Bothaina

À toute personne que je connais de près ou de loin, a toute la promotion  
Master 02 Microbiologie Appliquée 2023 Pour tous les bons moments passés  
et à venir.

***Houda***

# ***Table des matières***

<b>Table des matières</b>	
المخلص	
<b>Abstract</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Remerciement</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Table des matières</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des planches</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Introduction</b>	
<b>Partie bibliographique</b>	
<b>Chapitre 1: généralité sur les Actinomycètes</b>	
1. Généralité sur les Actinomycètes	04
1.1.Historique des Actinomycètes	04
1.2.Définition des actinomycètes	05
1.3.Classification des actinomycètes	06
1.3.1.les critères morphologiques	06
1.3.2.Les critères chimiotaxonomiques	07
1.3.3.Les critères physiologiques	07
1.3.4.Les critères moléculaires	07
2. Taxonomie	07
3. morphologie des actinomycètes	09
3.1.Les caractères macromorphologiques	10
3.2. Les caractères micromorphologiques	10
4. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature	11
5. Cycle de vie des actinomycètes	12
6. Physiologie du développement	13
6.1.Temperature	13
6.2.PH	14

## Table des matières

6.3.Tolérance au Nacl	14
6.4.Activité de l'eau	14
6.5.Oxygène	14
7. Importance des actinomycètes dans différents domaines	14
7.1.Dans le domaine médicale , vétérinaire et industrielle	15
7.2. Dans le domaine industrielle ,agronomique et écologique	15
Autres intérêts	16
<b>Chapitre 2 : Généralités sur le sol</b>	
<b>1. Généralités sur le sol</b>	18
1.1.Définition de sol	18
1.2.Les différents types de sol	19
1.2.1.Les sols arides	19
1.2.2. Les sols semi –arides	19
2. Facteurs influençant l'activité des actinomycètes du sol	20
2.1.Les facteurs physiques	20
2.1.1.Texture du sol	20
2.1.2.Structure	20
2.2. Les facteurs climatiques	21
2.2.1.La température du sol	21
2.2.2.L' humidité	21
2.2.3.Les effets saisonniers	21
3. Mise à jour des actinomycètes	21
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>Matériels et méthodes</b>	
I. Objectif de travail	25
II. Cadre de l'étude	25
III. Matériels	25
III.1 .Grands matériels	25
III.2. Petits matériels	25
III.3. Les milieux de cultures	26
III.4 .Les solutions et colorants utilisés	26
IV. Méthode de Travail	26
IV.1. Origine du prélevement des échantillon de sols	26

## Table des matières

IV.2 .Isolement des actinomycètes	29
IV.2.1. Les milieux de cultures pour l'isolement des actinomycètes	29
IV.2.2 .Préparation de la suspension de dilution et ensemencement des boites	29
IV.2.3. Purification	31
IV.2.4. Conservation des souches	31
V. Études morphologiques des souches d'actinomycètes	32
V.1. Aspect macroscopique	32
V.2. Aspect microscopiques :(coloration de Gram)	32
VI. Sélection des souches testés	33
VI. 1. Caractères culturaux et macromorphologiques	33
VI.2. Morphologie des mycéliums aériens à l'état frais	34
VI.3. Etude physiologiques des souches sélectionnés	34
VI.3.1. Tolérance à différentes PH	34
VI.3.2. Croissance à différentes températures des souches représentatives	34
VI.3.3. Recherche de catalase	34
VI.3.4. Test de tolérance aux chlorure de sodium	35
VII .Etude de la biodiversité métabolique	35
VII.1. Action sur le lait écrémé	35
VII.2. L'hydrolyse des caséinases	35
VII.3. Hydrolyse de l'amidon	35
VII.4. Dégradation des sels de sodium	35
VII.5. Hydrolyse des acides gras	35
VII.6. Hydrolyse de nitrate réductase	36
VII.7.Dégradation de celluloses	36
VII.8. Activité hymolytique	36
VII.9. Hydrolyse de la gélatine: recherche de gélatinase	36
VII.10.Utilisation des composés glucidique comme une seule source de carbone	37
VIII. Etude statistique de la diversité phisiologique et métabolique des isolats testés	37
<b>Résultats et discussion</b>	38
<b>Conclusion</b>	76
<b>Références bibliographiques</b>	78
<b>Annexe</b>	103

### Listes des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre de tableau</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Habitats de certains actinomycètes	12
<b>2</b>	différentes milieux de cultures pour l'étude de caractérisation culturelles des actinomycètes	33
<b>3</b>	Résultats d'isolement des actinomycètes à partir d'échantillon Ain Timimoun sans plante	38
<b>4</b>	Résultats d'isolement des actinomycètes à partir d'échantillon Ain Timimoun avec plante	39
<b>5</b>	Résultats d'isolement des actinomycètes à partir d'échantillon Ghardaia	39
<b>6</b>	Résultats d'isolement des actinomycètes à partir d'échantillon Oued Souf	40
<b>7</b>	Résultats de test de croissance des 19 isolats à différentes pH	56
<b>8</b>	Les résultats de test des croissances des 19 isolats à différentes températures	59
<b>9</b>	Les résultats de test catalase des 19 isolats d'Actinomycètes	62
<b>10</b>	Résultats de test des croissances des 19 isolats à différentes concentrations de NaCl aux % 14 jours	63
<b>11a</b>	Résultats de tests de la biodiversité métabolique des 19 isolats	66
<b>11b</b>	Résultats de tests de la biodiversité métabolique des 19 isolats	69

### Listes des figures

N°	Titre de figure	Page
1	Taxonomie proposée pour les actinobactéries dans Bergey Manuel de bactériologie systématique	08
2	Ordres de la classe <i>Actinobacteria</i> basées sur l'analyse les gènes de l'ARNr 16S	09
3	Cycle de développement des actinobactéries	13
4	Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes	16
5	Triangle des textures minérales	20
6	Carte géographique des sites de prélèvements des échantillons région Hassi Tijran et Ghardaia	27
7	Carte géographique de site de prélèvement d'échantillon de El Oued Souf	28
8	Localisation en GPS de région Hassi Tijran avec les sites de prélèvement	28
9	les étapes suivies pour l'isolement des actinomycètes à partir d'échantillons de sol	30
10	La répartition des souches d'actinomycètes selon le site de prélèvement.	40
11	Pourcentage % des milieux ISP2 et Caséine – amidon selon les isolats.	42
12	la diversité des échantillon par rapport l'ensemencement	42
13	Pourcentage des pigments duffusibles et non diffusible des isolats d'Actinomycètes	47
14	Quelques isolats d'Actinomycètes qui présentent les exudats	48
15	Etude statistique de la diversité physiologique et métabolique des isolats testés	75

### Listes des planches

N°	Titre de planche	Page
1	Photos représentant les caractères cultureux de quelques isolats d'Actinomycètes sur le milieu ISP 2	44
2	Photos de conservation des différentes isolats d'Actinomycètes sur milieu SFM	45
3	Coloration de Gram de quelques isolats d'actinomycètes ( G ×100)	49
4	Photos des caractères cultureux de l'isolat ATSP sur les différentes milieux	51
5	Photos des caractères cultureux de l'isolat ATP sur les différentes milieux	52
6	Photos des caractères cultureux de l'isolat GH sur les différentes milieux	53
7	Photos des caractères cultureux de l'isolat OS sur les différentes milieux	54
8	Observation microscopiques de lamelle des différentes souches ( A mycélium aérien B : mycélium de substrat )( G×100)	55
9	Photos des résultats du test de tolérance à différentes Ph de quelques isolats	58
10	Photos de test de croissance à différentes températures	61
11	Photos de résultats du test de tolérance à différentes concentrations de NACL pour quelques isolats	65
12	photos des résultats de différentes tests métaboliques	72
13	photos des résultats de différentes tests d'amidon, caséinase et test estérase	73
14	Photos des résultats de différentes tests d'hymolyse et dégradation des sucres	74

## Liste des abréviations

Liste des abréviations	
<b>MS</b>	mycélium du substrat
<b>MA</b>	mycélium aérien
<b>%</b>	Pourcentage
<b>m</b>	mètre
<b>ISP</b>	The International Streptomyces Project.
<b>ARN</b>	acide ribo nucléotide
<b>ARN 16 S</b>	Acide ribonucléique ribosomique 16 Sous-unité
<b>SFM</b>	soja flour manitole
<b>C°</b>	degré Celsius
<b>G+C</b>	Coefficient de Chargaff
<b>µm</b>	micromètre
<b>G+</b>	Bactérie Gram positive
<b>G-</b>	Bactérie Gram négative
<b>NaCl</b>	chlorure de sodium
<b>P/V</b>	Poids sur volume
<b>HIV</b>	Human Immunodeficiency Virus
<b>g</b>	gramme
<b>mm</b>	millimètre
<b>PH</b>	potentiel hydrogène
<b>CPF</b>	l'installation central de traitement
<b>km</b>	kilomètre
<b>ATSP</b>	Hassi Tijran sans plante
<b>ATP</b>	Hassi Tijran avec plante
<b>GH</b>	Ghardaia
<b>OS</b>	Oued souf
<b>ml</b>	millilitre
<b>g/l</b>	gramme sur litre
<b>min</b>	minute
<b>ex</b>	exemple
<b>G</b>	Guanine
<b>ISP4</b>	Milieu Amidon-sels minéraux-agar.C:Cytosine
<b>CaCO3</b>	bicarbonate de calcium

## *Liste des abréviations*

<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	phosphate dipotassium
<b>KCl</b>	chlorure de potassium
<b>FeSO<sub>4</sub></b>	Sulfate de fer
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	Sulfate de magnésium
<b>NaCl</b>	chlorure de sodium
<b>KNO<sub>3</sub></b>	nitrate de potassium
<b>Gram-</b>	Bactérie Gram négative
<b>g</b>	gramme
<b>Ect</b>	ecsitira
<b>ADNr</b>	ADN ribosomique
<b>ARNr</b>	ARN ribosomique
<b>(g/l)</b>	gramme sue litre
<b>C.A</b>	Caséine Amidon
<b>N°</b>	Numéro
<b>rP</b>	rotation de produit
<b>(R1, R2)</b>	Reductase
<b>cm</b>	centimetre

# ***Introduction***

### **Introduction**

Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positives sporulées appartenant au phylum *Actinoacteria* se trouvent dans le sol, l'eau et l'air ainsi que dans des environnements extrêmes tels que les déserts, les sédiments des grands fonds marins et l'Antarctique (**Meliani et al., 2022**), les *Streptomyces* contiennent un taux G+C élevé (guanine + cytosine) de 57 à 75 % dans leur ADN (**Bhatti et al., 2017**). Les actinomycètes ont des propriétés fongiques car ils forment des hyphes et des spores fongiques, mais ils sont classés comme des bactéries en raison de leurs cellules procaryotes. (**Rajiv Gandhi et al., 2022**).

Le sol est un produit écologique et a été largement étudié comme une niche pour les micro-organismes qui produisent des produits naturels biologiquement actifs (**GaneshKumar et al., 2010**). Les actinomycètes sont l'un des plus grands groupes de communautés microbiennes du sol (**Goodfellow et Williams, 1983**) et représentent généralement 10 à 20 % du microbiote total du sol (**Dommergues et Mangenot, 1970**), de nombreuses études ont été publiées pour ces micro-organismes d'un point de vue taxonomique en montrant que le désert de Sahara et sol semi arides ont une grande diversité d'actinomycètes (**Zitouni, 2014**), elles sont caractérisées par une très grande diversité morphologique, et physiologique, il y a également des thermophiles, des psychrophiles, des alcalophiles, des acidophiles, des halophiles et des halotolérant. (**Goodfellow et al., 2012**). Cette grande diversité leur permet de vivre dans ces milieux hostiles (**Tiwari et Gupta, 2013**).

Cependant, les actinomycètes jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique, rendant le sol fertile et améliorant ainsi les cultures (**La Calvitie, 1962**), collectivement ils peuvent métaboliser un certain nombre de composés différents, notamment des polysaccharides, des alcools, des acides aminés et des composés aromatiques pour produire des enzymes extracellulaires (**Kitouni, 2003**), leur capacité à dégrader les pesticides, les herbicides et les hydrocarbures a également été rapportée, cette diversité métabolique est due à leurs larges sous-ensembles génomiques qui contrôlent l'expression des gènes qui contrôlent leurs besoins (**Boucheffa, 2011**).

Par ailleurs ces bactéries sont connues pour produire plusieurs métabolites secondaires qui sont importants pour la médecine, l'industrie alimentaire et

## ***Introduction***

---

l'agriculture, et sont utilisées comme antibiotiques, antifongiques, antiviraux, immunosuppresseurs, agents anticancéreux, et sont largement utilisées, étudiées pour produire des composés antioxydants, des enzymes telle que l'amylase, caséinase, gélatinases, estérases aussi cellulase.

D'autre part, les meilleures conditions de croissance pour la plupart des actinomycètes sont une température de 25-30 °C, un pH neutre (6-8) et une faible humidité (**Bhatti et al., 2017**). Cependant, les actinomycètes peuvent se développer dans des conditions défavorables (**Farda et al., 2022**).

L'objectif principal de notre étude consiste à l'isolement des souches bactériennes appartenant au groupe d'actinomycètes à partir d'échantillon de sols provenant de différents sites des régions arides et semi-aride, et la recherche des activités enzymatiques et de biodégradation de ces souches.

Notre étude a été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie, (Département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Tébessa).

L'étude a porté sur les étapes suivantes:

- Isolement des Actinomycètes à partir de différents types de sol.
- L'étude phénotypiques des isolats d'Actinomycètes ce qui implique la caractérisation micro-morphologique et macromorphologiques.
- L'étude des caractéristiques physiologique et biochimique.
- L'étude de la diversité métabolique par la mise en évidence de l'activité hydrolytique (enzymatique) et de biodégradation.

*Chapitre 1*  
*Généralité sur les*  
*actinomycètes*

### 1.1. Historique des Actinomycètes

La Découverte, la caractérisation, la nomenclature et l'utilisation des actinomycètes a été divisé en 5 périodes :

➤ De 1874 à 1900, correspond a la durée de la première période médicale, avec les organismes pathogènes en particulier, l'accent est mis sur leur rôle dans l'apparition de maladies. Tout a commencé avec la découverte du premier actinomycète *Streptothrix foeresteri* par **Cohn en 1875 (Anibou, 2008)**.

➤ La seconde période (1900-1940) liée à la mise en évidence et à la recherche des actinomycètes du sol, avec les travaux de **Kraisky**, de **Cohn**, de **Waksman** et de **Curtis**.

Aussi cette section elle couvre la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des actinomycètes et les premières tentatives pour distinguer deux groupes : les pathogènes et les saprophytes. (**Leminor, 1989 ; Baldacci, 1962**).

➤ L'époque suivante en 1943 est caractérisée par la découverte des antibiotiques produits par les actinomycètes, elle a débuté en 1940 et le nom de **Waksman** est sans doute lié à la découverte en 1944 de la streptomycine produite par *Streptomyces griseus* (**Minor et al., 1989; Sanglier et Trujill, 1997**).

Au cours de cette période, le nombre d'actinomycètes a augmenté espèces, brevets et réglementations sur les antibiotiques exclusifs, conseils nouvelle espèce (**Baldacci, 1962**).

➤ La quatrième période (1940-1970) commence avec les mêmes observations que le même antibiotiques sont produits par divers actinomycètes. Cette période est caractérisée par des travaux de révision, de nomenclature et est donc la période de développement d'un réactif biochimique de référence morphologique pour la taxonomie des actinomycètes (**Ibrahimi, 2020**).

Enfin, depuis les années 1960, les techniques génétiques initiées par **Hopwood**, la génomique, la taxonomie des espèces et les méthodes de détection des espèces secondaires. Révolutionner les métabolites, et explorer le potentiel biotechnologique de ces micro-organismes (**Hopwood, 1973 ; Chater, 1999 ; Donadio, 2002 ; Hopwood, 2003 ; Ventura, 2007 ; Belyagoubi, 2014**).

## 1.2. Définitions des actinomycètes

Les actinobactéries sont des bactéries Gram positif avec une forte proportion de G+C, elles sont classées dans le phylum *Actinobacteria* décrits dans le cinquième volume de *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Ahmad et al., 2017), Il est actuellement reconnu comme l'un des plus grands taxons du règne bactérien (Ventura et al., 2007).

Le nom actinobactérie est dérivé des mots grecs « *atkis* » (rayon) et « *mykes* » (champignon) (Das et Khosla, 2009), elles sont répandues dans l'environnement et la plupart des espèces sont chimioorganotrophes, aérobies, mésophiles et se développent de manière optimale à un pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale de la neutralité (Williams et Wellington, 1982; Goodfellow et Williams, 1983).

Morphologiquement sont des bactéries filamenteuses, adoptant la coloration de Gram, et leur aspect morphologique a initialement conduit à leur classification parmi les champignons. Ils ont un véritable mycélium septal ramifié, caractéristique des particules fongiques mais le diamètre du filament de la morphologie des hyphes est d'environ la moitié (0,5 à 1,2 µm) de celui des mycélium des champignons (Mincer et al., 2002). Cependant, leur organisation cellulaire est procaryote en effet, ces micro-organismes sont clairement reconnus comme de véritables bactéries grâce à la composition cellulaires en particulier les structures lipidiques et peptidoglycanes, leurs parois cellulaires sont rigides, maintenant la forme cellulaire et évitant la rupture à l'hyperosmolarité osmolarité. Il est composé de divers composés complexes tels que le peptidoglycane, l'acide teichoïque, et les polysaccharides (Neil et Brown, 1994 ; Colquhoun et al., 1998 ; Davenport et al., 2000).

Les actinomycètes sont très divers dans leurs physiologies se trouvent principalement dans l'eau, le sol, les océans les plus profonds, l'antarctique et les sols désertiques, ou sont les facteurs clés contrôlant leur quantité et leur activité dans le sol tels que la disponibilité des éléments nutritifs, le type et l'abondance de la matière organique, la salinité, l'humidité relative, la température, le pH du sol et la végétation (Pathom-Aree et al., 2006 ; Ma et al., 2009 ; Busarakam et al., 2016 ; Mazkour et al., 2017 ; Elbendary et al., 2018 ; Rego et al., 2019).

### 1.3. Classification des actinomycètes

Selon la classification du "*Taxonomic Outline of The Procaryotes, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*", seconde édition 2004 (Garrity et al., 2004) le phylum *Actinobacteria* (bactéries Gram positif et G +C % élevé) consiste en une seule classe aussi appelée "*Actinobacteria*", celle-ci a été décrit par Stackebrandt et al., (1997).

La classe des *Actinobacteri*es est divisée en 5 sous-classes :

*Acidimicrobidae, Rubrobacteridae, Coriobacteridae, Sphaerobacteridae et Actinobacteridae* (Aouar, 2006), chacune de ces sous classes est constituée d'un ou de plusieurs ordres eux-mêmes constitués d'une ou de plusieurs familles (Boutagouga et al., 2022). Au sein de la sous-classe des *Actinobacteridae*, l'ordre des *Actinomycetales* est subdivisé en 10 sous-ordres *Actinomycineae, Micrococcineae, Corynebacterineae, Micromonosporinea, Propionibacterinea Psuedonocardineae, Streptomycineae, Streptosporangineae, Frankinea et Glycomycineae* (Stackebrandt et al., 1997; Labeda et Kroppenstedt, 2000 ; Stackebrandt et Schumann, 2000 ) .

La définition des genres et des espèces est basée sur une gamme de critères morphologiques et chimio taxonomiques (Aouar, 2006).

De plus, du fait de leur diversité, des méthodes physiologiques, numériques et moléculaires sont devenues nécessaires pour distinguer les actinomycètes (Ibrahimi , 2020).

Par conséquent, il s'est avéré cohérent avec le regroupement phylogénétique basé sur l'ADNr/ARNr 16S (Stackbrandt et al., 1997).

#### 1.3.1. Critères morphologiques

Les principaux critères morphologiques pour identifier les actinomycètes il s'agit principalement de :

- La présence, l'abondance et la disposition des hyphes des hyphes du mycélium végétatif ou du mycélium aérien.
- Ainsi que la présence des spores : nombre, mobilité, forme, position sur les hyphes.
- Présence de sporanges, de sclérotés ou de synnématas.
- Résistance des spores à la chaleur.
- Résistance aux traitements acides. (Schofield et Schaal, 1981 ; Demain et Solomon 1985).

### 1.3.2. Critères chimiotauxonomiques

Les caractéristiques considérées dans les études chimiotauxonomique sont les principaux composants de la paroi cellulaire, tels que les acides aminés pariétaux et les lipides, l'enveloppe cellulaire au niveau de la paroi cellulaire (Lechevalier, 1980).

### 1.3.3. Critères physiologiques

Outre les caractéristiques morphologiques, la détermination des espèces repose également sur les caractères physiologiques consistant en des tests de dégradation de divers composés glucidiques, lipidiques et protidiques, polymères complexes...etc. (Athalye et al., 1985). D'autres tests peuvent être inclus parfois dans la détermination des espèces, comme la résistance à certains agents antimicrobiens, la tolérance à des conditions extrêmes (Kecha et Djinni, 2008) et la tolérance aux conditions extrêmes (température, salinité, pH, l'oxygène, et la résistance aux certains agents chimique.) (Goodfellow, 1971).

### 1.3.4. Critères moléculaires

Il est actuellement impossible de proposer une nouvelle espèce sans effectuer des analyses génétiques. Un test moléculaire majeur utilisé pour l'identification des espèces est l'hybridation ADN-ADN (Wayne et al., 1987).

## 2. Taxonomie

Les actinomycètes sont l'une des plus grandes unités taxonomiques des 18 genres majeures reconnus dans les phylums bactériens comprenant 5 sous-classes, 6 ordres et 14 sous-ordres (Ludwig et al., 2012) (Figure 01).

Les genres de ce phylum sont extrêmement diversifiés en termes de morphologie, de physiologie et de capacités métaboliques (Médmedj Maissa, 2021).

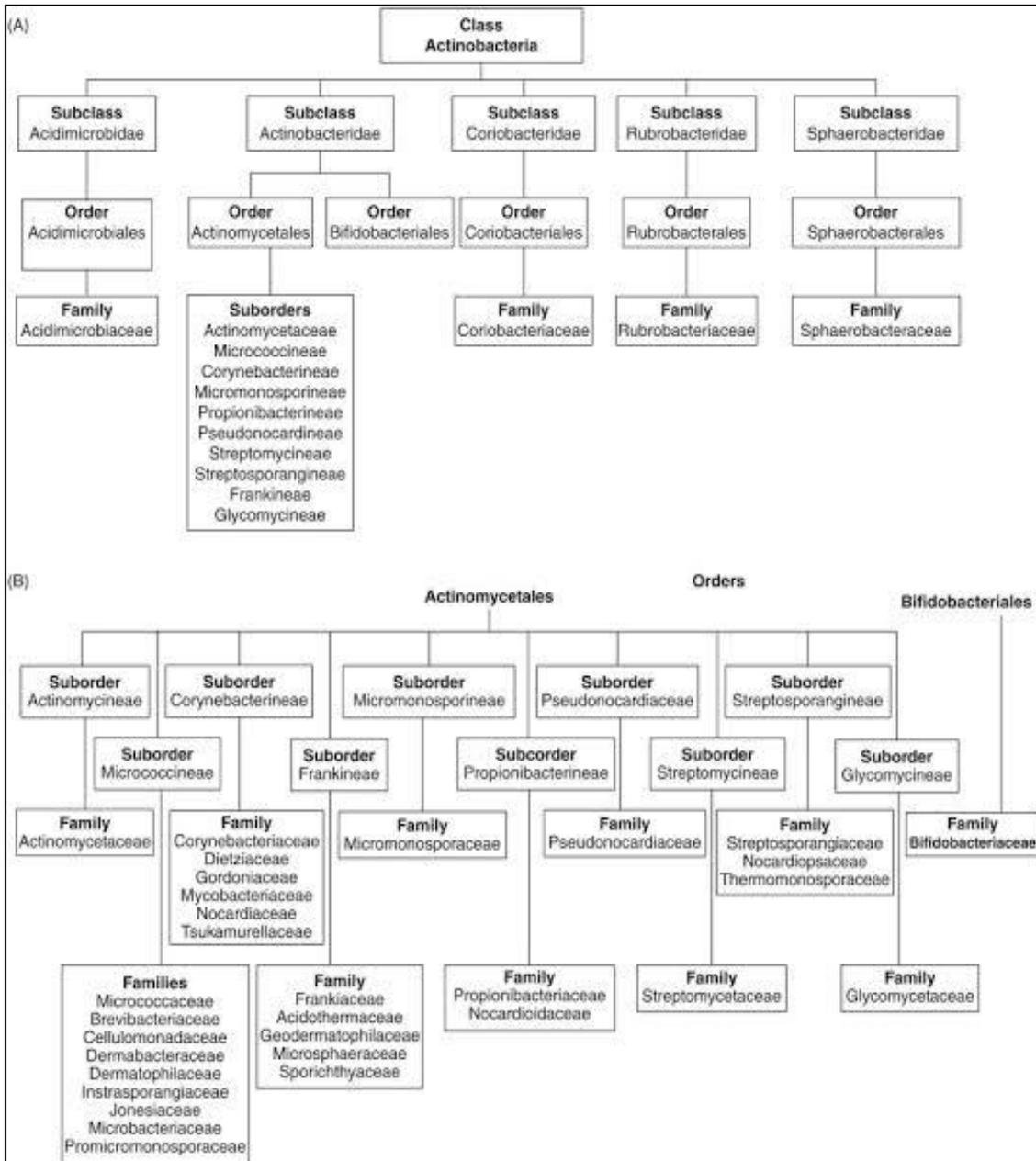
L'ordre *Actinomycetales*, fondé par Buchanan en 1917 et appartient à ce groupe d'organismes procaryotes (Buchanan, 1917).

Le phylum des actinobactéries est délimité en fonction de sa position de ramification dans les arbres génétiques de l'ARNr 16S, une taxonomie mise à jour du phylum *Actinobacteria* basée sur des arbres d'ARNr 16S a été rapportée (Ludwig et al., 2012) (Figure 02).

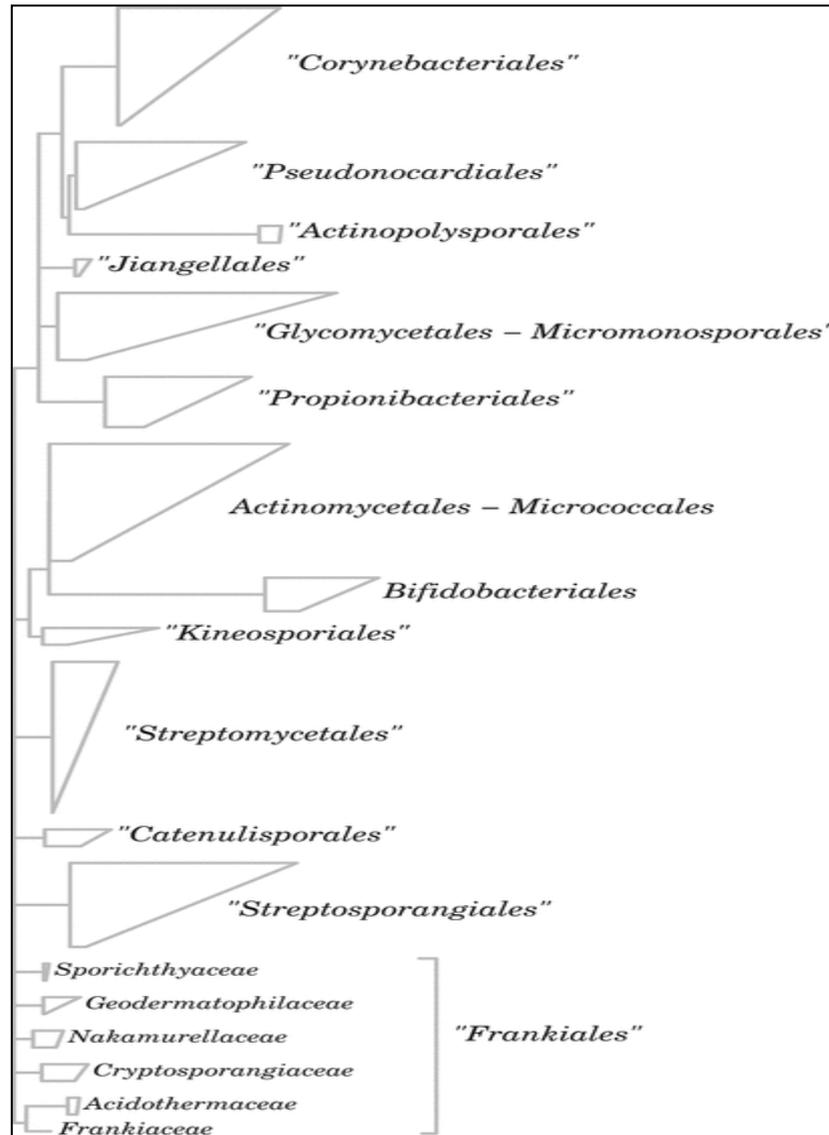
Le phylum est ainsi divisé en six classes : *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubroacteria* et *Thermoleophilia*.

La classe *Actinobacteria* contient 15 ordres dont les deux ordres précédemment suggéré, *Actinomycetales* et *Bifidobacteriales* (Zhi et al., 2009).

Ainsi, 43 des 53 familles du phylum *Actinobacteria* sont attribuées à une seule classe *Actinobacteria*, alors que les cinq autres ensembles contiennent seulement 10 familles (Medjmedj, 2021).



**Figure 01.** Taxonomie proposée pour les actinobactéries dans Bergey Manuel de bactériologie systématique (Ludwig et al., 2012 ; Gao et Gupta , 2012).



**Figure 02.** Ordres de la classe *Actinobacteria* basées sur l'analyse des gènes de l'ARNr 16S.  
(Goodfellow et al., 2012 in *Bergey's Manual*, 2012).

### 3. Morphologie des actinomycètes

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes :

Le premier, constitué d'organismes qui n'ont pas des caractéristiques morphologiques spécifiques et ne forment qu'une masse de filaments ramifiés (mycélium) (Aouar, 2006).

Le second, Les microorganismes du second groupe ont tendance à être complexes que le premier groupe (Le chevalier and Lechevalier, 1986) sous forme de spores, de conidies, de chaînes de spores, les sporanges et de sporangiospores (Medjmedj, 2021).

Les actinomycètes présentent une variation significative de la morphologie cellulaire, des coques aux microcoques, des bâtonnets aux mycobactéries, et des spores avec des hyphes

ramifiés, ces hyphes sont disséqués en cellules cocciennes et en cellules de *Nocardia* et en forme bâtonnet (Wink et al., 2017).

Le diamètre des cellules des actinomycètes varie de 0,5 à 2,0 µm, généralement moins de 1.0 µm, selon la différence et de fonction le mycélium peut être divisé en mycélium de substrat et mycélium aérien (Araujo-Melo et al., 2019 ; Medmedj, 2021).

Lorsque les actinomycètes sont cultivés sur des substrats solides tels que l'agar, ils forment de minces filaments ramifiés qui pousse à la fois sur et à l'intérieur de ce dernier formant un mycélium végétatif également appelé mycélium du substrat ou mycélium primaire (Prescott et al., 2003 ; Prescott, 2010)

Ainsi au fur et à mesure que le mycélium du substrat pousse vers la partie superficielle, des hyphes aériennes se développent et ses extrémités se différencient formant des spores asexuées à paroi minces appelées conidies qui se dispersent. Les hyphes aériens sont caractérisés par des gaines fibreuses, sauf dans les genres *psedonocardia* et *Amycolata* (Warwick et al., 1994 ; Smaoui, 2010). Divers genres d'actinomycètes peuvent sporuler en dégradant des hyphes spécifiques pour former des conidies, qui sont légèrement plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes. Alternativement, les endospores (*Thermoactinomyces*), ils se développent lentement par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyen est d'environ de 2 à 3 heures (Kalakoutskii et Agre, 1976 ; Beckers et al., 1982).

Les caractères morphologiques importants permettant de distinguer les genres d'actinomycètes sont les suivants :

### 3.1. Caractères macromorphologiques

Ces critères sont basés sur observation visuelle des cultures d'actinomycètes poussant sur des milieux de culture (Agoulmine, 2019).

- ✓ La production ou non du mycélium aérien (MA).
- ✓ La présence ou non du mycélium du substrat (MS).
- ✓ La couleur du MA et du MS. La couleur exacte peut être définie à l'aide d'une charte de couleur (Kelly et Judd, 1976).
- ✓ La production et la couleur des pigments diffusibles dans le milieu de culture.

### 3.2. Caractères micro morphologiques

L'identification des caractéristiques micro morphologiques est effectuée par l'observation directe des cultures se développant sur gélose au microscope optique ou électronique (Tresner et al., 1961 ; Holt et al., 1994).

- ✓ la présence ou non de sporophores.

- ✓ La présence ou non de sporanges et de synnemata sur le MA ou sur le MS.
- ✓ La présence de spores mobiles (ex : *Planomonospora*, *Planobispora*, *Spirillospora*, *Actinoplanes*) ou non mobiles (ex : *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, ainsi que de nombreux autres genres...)
- ✓ La fragmentation ou non du MS et de MA.
- ✓ L'ornementation de la surface des spores (lisses, rugueuses, épineuses ou chevelues).

#### 4. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature

Les actinomycètes sont un groupe universel de micro-organismes largement répandus dans les écosystèmes naturels du monde entier. Ce sont des microorganismes ubiquitaires qui occupent de nombreuses niches écologiques comme la montre dans **tableau 01**. Dans les sols polaires gelés en permanence tout comme dans des sols désertiques chauds et secs, les sols hautement contaminés par des métaux lourds, les sols pollués par les hydrocarbures et les grottes naturelles aussi dans les sols glacières de l'arctique, le sol reste l'habitat majeur pour les actinobactéries. Dans les sols du Sahara Algérien les *Streptomyces* représentent 15 à 60 % de la totalité des microorganismes et peuvent dépasser les 85 % dans les horizons profonds des sols et des forêts de palmeraies (**Moncheva et al., 2002 ; Oskay et al., 2004 ; Boudjelal, 2012 ; Chamikara, 2016**). A l'inverse, les espèces anaérobies appartenant aux genres *Actinomyces*, *Arachnia* et groupes apparentés font partie de la flore endogène de veillons et ne se trouvent généralement dans la nature que des lieux récemment contaminés par l'homme (**Mariat et Sebald, 1990 ; Sanglier et Trujill, 1997**). En outre les milieux extrêmes tels que les milieux fortement salins, ils peuvent être présents dans l'eau douce ou salée et dans l'air, dans les sédiments à des profondeurs supérieures à 4000 m. Elles peuvent coloniser la rhizosphère des plantes et jouer un rôle favorisant et contribuant à leur protection contre les polluants (**El-Tarabily et al., 2009 ; Qin et al., 2009 ; Khamna et al., 2010**).

Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou légèrement alcalin et sont généralement mésophiles tandis que d'autres comme les *Thermo-actinomyces* sont thermophiles, tolèrent des températures autour de 50°C éventuellement jusqu'à 60°C. Elles vivent dans des conditions de faible humidité avec une très faible activité de l'eau (**Lacey et Cross, 1989 ; Omura, 1992 ; Belyagoubi, 2014**).

Elles produisent certaines des substances telles que la géosmine et le 2-méthylisobornéol qui sont responsables de l'odeur d'humus caractéristique du sol. Le nombre des actinomycètes

dépend de nombreux facteurs tel que l'abondance de la matière organique, la profondeur, le pH, l'aération et l'humidité (Zaitlin et al., 2006 ; Loucif, 2017).

La principale fonction écologique des actinomycètes dans les écosystèmes est de dégrader la matière organique en forme polymérique (kératine, cellulose, lignine grâce à leurs capacités à générer une variété d'enzyme hydrolytique, telles que les protéases, les nucléases, les lipases ...ect (Kieser et al., 2000 ; Satyanara et al., 2012 ; Prescott, 2018)

**Tableau 01.** Habitats de certains actinomycètes (Grigorova et Norris, 1990).

<i>Actinomycètes</i>	Habitats
<i>Actinoplanes</i>	eau douce , litière végétale , sol.
<i>Frankia</i>	nodules racinaires des non-légumineuses.
<i>Micromonospora</i>	eau douce, sédiments, sols humides .
<i>Nocardiaamarae</i>	boues activées.
<i>Rhodococcuscoprophilus</i>	déjections animales , eau , sol.
<i>Saccharopolysporarectivirgula</i>	moisi du foin .
<i>Streptomyces</i>	sol, litière végétale.
<i>Thermoactinomyces</i>	compost.

## 5. Cycle de vie des actinomycètes

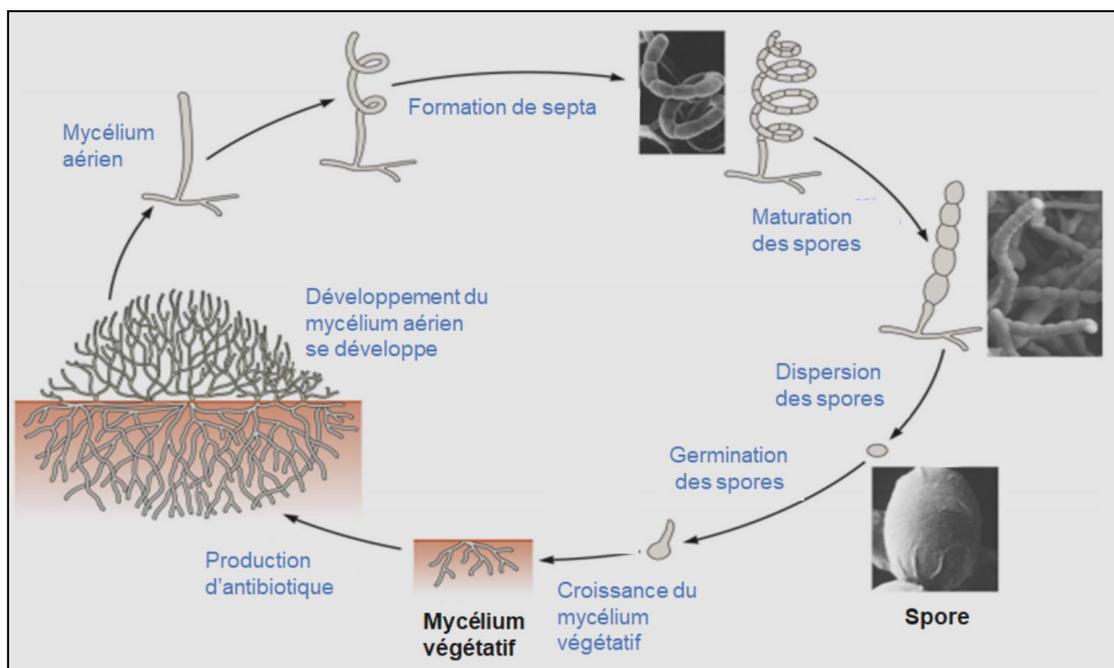
Les actinomycètes ont un cycle de vie complexe, et leur développement est très similaire à celui des champignons comme chez les eucaryotes multicellulaire, le résultat de trois processus physiologiques majeurs : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire puis la mort (Tighidet, 2010 ; Ait Barka et al., 2016 ; Beghou et al., 2020).

Le cycle de développement de nombreux actinomycètes commence par la germination des spores, un processus qui nécessite la présence d'ions calcium, Il produit de la naissance à un mycélium primaire ramifié également appelé aussi mycélium du substrat ou végétatif. Ils poussent vers l'intérieure du substrat et forment des tapis denses d'hyphes, ces hyphes s'allongent en raison de la croissance apicale et se ramifient plusieurs fois, Le développement sur la surface et à l'intérieur des milieux solides donne naissance à de jeunes colonies, formées de filaments attachés à une matrice complexe (Prescott et al., 2010 ; Flärdh, 2010 ; Messoudi, 2013 ; Zerizer, 2014 ; Mektiche et al., 2022) .

Quand la colonie est plus âgée et lorsque les conditions sont défavorables, tels que l'épuisement des nutriments, le mycélium secondaire est également appelé mycélium aérien, il

se forme, Il est plus épaisse et moins ramifié, il est protégé par une paroi hydrophobe et peut se pousser dans des milieux pauvres en nutriment. Le mycélium aérien se développe sur le mycélium végétatif, en utilisant ce dernier comme substrat. En effet le mycélium végétatif subit une autolyse et les produits de la lyse sont consommés par le mycélium aérien (Miguélez et al., 1999 ; Miguélez et al., 2000 ; Bibb, 2005; Van Wezel et McDowall, 2011 ; Medjemadj, 2021).

Finalement, les extrémités des hyphes aériens se séparent et se différencient pour former des chaînes de spores, ce dernier représente un arrangement diversifié (Belyagoubi, 2014) (Figure 03) .



**Figure 03.** Cycle de développement des actinobactéries (Ait Barka et al., 2016).

## 6. Physiologie du développement

La croissance des actinomycètes est influencée par plusieurs paramètres notamment la physiologie : oxygène, pH, température, etc. (Messaoudi, 2014).

### 6.1. Température

La physiologie des actinomycètes est très diversifiée. En fait, il s'agit de quelques espèces Thermophile, peut se développer à 37-65°C mais les plupart sont mésophiles sa température optimale de croissance est entre 25 à 30 °C et leur taux d'humidité sont faible à modérés (Prescott et al., 2007 ; Belyagoubi, 2014 ; Mazkour et al., 2017)

## 6.2.PH

Selon le pH de croissance, la majorité des actinomycètes sont des bactéries neutrophiles pousses dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8 avec une croissance optimale, puisque la plupart des sols sont acides, le pH est évidemment un facteur important affecter leur distribution et leur fonctionnement (**Alexandre, 1977**).

## 6.3. Tolérance au Na Cl

Selon leurs exigences en Na Cl les microorganismes sont divisés en deux groupes :

Les halophiles : ont besoin de sel (Na Cl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (Poid/Volume) pour les faiblement halophiles, jusque 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes (**Messaoudi, 2012**).

Les halotolérants : acceptent des concentrations modérées en sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolère de 6 à 8 % de Na Cl (P/V) ; les modérément tolérants (tolère de 18 à 20 % de Na Cl (P/V) ; et les extrêmement tolérants (se développe de 0 % jusqu'à saturation Na Cl) (**Djaballah, 2010**).

## 6.4. Activité de l'eau

La plupart des actinomycètes ont des spores qui peuvent germer, une valeur d'activité de l'eau supérieure ou égale à 0,67 est la meilleure activité de l'eau, la croissance et le développement des actinomycètes étaient égaux à 0,98 (**Zvyagintsev et al., 2005**).

## 6.5. Oxygène

Selon le type respiratoire, les actinomycètes sont divisés en 2 groupes différentes.

- Les formes fermentatives, anaérobie stricte ou anaérobie facultative comme *Actinomyces*, ce genre ayant des caractéristiques particulières qui sont : saprophytes, obligé des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs, ne jamais retrouvés dans le sol (**Aouar, 2012**).
- Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces* sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol (**Messaoudi, 2013**).

## 7. Importance des actinomycètes dans différents domaines

Elles sont systématiquement étudiées pour découvrir de nouveaux composés bioactifs utilisables dans diverses domaines industriels, biotechnologies, pharmaceutiques et alimentaires. Les actinomycètes sont connus pour produire des substances biologiquement actives telles que des antibiotiques, des vitamines, des enzymes et des additifs alimentaires (**Boer et al., 2005 ; Vijaykumar et al., 2007 ; Oestergaard et Sjoeholm, 2009**).

### 7.1. Dans le domaine médicale, vétérinaire et industrielle

Les actinomycètes sont utilisés pour produire de nouveaux composés bioactifs aux activités antibactériennes, antifongiques, antiparasitaires, antimorales et immuno suppressives. Une analyse de la quantité de substances pharmaceutique utilisées dans la chimiothérapie anticancéreuse a révélé que plus de 60% des médicaments approuvés étaient dérivés de composés naturels, dont la plupart étaient extraits de l'actinomycètes comme l'actinomycine et la mitomycine (Marcon *et al.*, 2017 ; Dholakiya *et al.*, 2017) (Figure 04).

En effet, 45% des antibiotiques connus, sont naturellement dérivés d'actinomycètes notamment du genre *Streptomyces* (Sibanda, 2010), il comprend diverses familles chimiques telles que les aminoglycosides, les anthracyclines, le chloramphénicol, les  $\beta$ - lactames, les macrolides et les tétracyclines (Kittivachra *et al.*, 2006).

Des espèces de *Streptomyces* produisent des amylases, des cellulases, des hémicellulases, et les xylinases sont utilisées pour traiter des sous-produits et d'autres espèces peuvent dégrader la lignine, elles jouent un autre rôle important dans l'industrie alimentaire de la fermentation, l'industrie du textile et du papier. Les actinomycètes synthétisent de la chitinase, de la glucanase de la peroxydase et de la glutaminase (Tokala *et al.*, 2002 ; Teja *et al.*, 2014 ; Sharma *et al.*, 2014). Ils peuvent synthétiser de nombreux produits naturels, notamment des alcaloïdes, des polycétides, des stérols....*ect.* Ces produits naturels ont le potentiel de combattre certaines maladies graves comme le HIV, les infections microbiennes et protozoaires et les inflammations sévères et autres (Hasssan *et al.*, 2017).

Les molécules bioactifs ont également appliquées à l'élevage d'animaux industriels, ils sont utilisés non seulement pour lutter contre les maladies animales et des végétales, mais aussi comme nourriture pour augmenter la productivité du bétail (Vijayakumar *et al.*, 2007 ; Khachatourians, 1998).

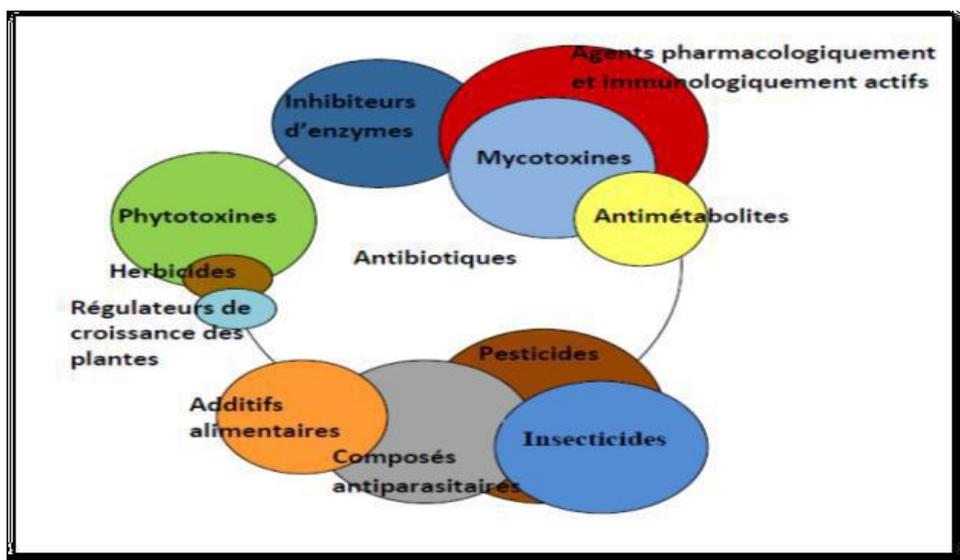
### 7.2. Dans le domaine industrielle, agronomique et écologique

- Ils sont essentiels au recyclage des nutriments et sont l'un des rares organismes utilisés en biorémédiation, à pouvoir de dégrader des composés organiques complexes tels que la chitine (Zaitlin *et Watson*, 2006 ; Pizzul, 2006).
- les actinomycètes jouent un rôle écologique important contre les phytopathogènes biotechnologie végétale. (Anandan *et al.*, 2016).

- Les *Frankia* sont également importantes pour un grand nombre de plantes, car elles forment des nodules racinaires qui permettent la fixation de l'azote par la plante hôte (Zaitlin et Watson, 2006).
- L'hydrophobicité de leurs parois cellulaires leur donne un avantage sur les autres micro-organismes qui adhèrent aux interfaces non miscibles à l'eau y peuvent dégrader à la fois les hydrocarbures chlorés et les composés organiques complexes (El-Shatoury et al., 2004).
- Les membranes de nombreux espèces d'actinobactéries peuvent être utilisées pour la bioconversion des déchets agricoles et urbains en tant que produits chimiques de grande valeur (Anandan et al., 2016).

**Autres intérêts :**

- Certains actinomycètes ont une capacité importante à produire de la phosphatase alcaline (Ghorbani-Nasrabadi et al., 2013).
- Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire produites par de nombreux champignons et bactéries en réponse à une carence en fer (Pérez-Mirinda et al., 2007) , elles peuvent être produits par les *Streptomyces* du sol (Muller et al., 1984).
- Les actinomycètes jouent un rôle important dans la biodégradation des produits en plastique (Pometto et al., 1992), il peut également décomposer ou recycler certaines toxines produites par les moisissures toxique réduisant ainsi la teneur des aliments ( Boucheffa, 2011).



**Figure 04.** Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes (Conn, 2005).

***Chapitre 2***  
***Généralité sur le sol***

## 1. Généralité sur le sol

Les micro-organismes sont répandus dans de nombreux habitats de notre environnement (sol, air et eau). Le sol est à la fois un milieu vivant qui remplit de nombreuses fonctions environnementales et un bioréacteur qui soutient le développement biologique, c'est un médium mutable de l'espace et sa composition et ses propriétés présentent une double variabilité spatiale et temporelle (**Calve , 2013 ; Melouah , 2015**).

Ils présentent également une grande diversité tant en termes de composition chimique que biologique. Un grand nombre de microbes du sol constituent la biodiversité des écosystèmes terrestres, Il est essentiellement composé de bactéries et de champignons. Un gramme de sol contient un grand nombre de cellules microbiennes actives contenant plus de 10<sup>8</sup>/g (**Moreaux, 1973 ; Hoorman et Islam, 2010 ; Raoul, 2013**), parmi ces micro-organismes les actinomycètes on les trouve couramment dans les sols et semble jouer un rôle majeur dans l'écologie de cet habitat, y compris les transformations complexes des biopolymères.

Bien qu'ils soient exposés à des climats arides à semi-humides, les sols algériens présentent une remarquable biodiversité d'actinomycètes présents dans tous les substrats naturels (**Larpent et Sanglier, 1989 ; Saravanamuthu, 2010**).

Ce sont d'importants décomposeurs de matière organique, fertilisant les sols et améliorant les rendements (**Kitouni et al., 2005**) et sont les plus largement utilisés en biotechnologie grâce à l'augmentation de leurs métabolites secondaires (antimicrobiens). Il est d'une grande importance thérapeutique (**Masand et Menghani, 2015**) et commerciale (**Oskay et al., 2004; George et al., 2012**) industrielle, agricole et vétérinaire. De plus leur abondance et leur activité dans le sol sont affectées par plusieurs facteurs, notamment la disponibilité des éléments nutritifs, le type et la quantité de matière organique, la salinité, l'humidité relative, la température, le pH et la végétation du sol (isolement et sélection de race) .

### 1.1. Définition de sol

Le sol est une matrice écologique vivante évolutive dans le temps et dans l'espace, cet écosystème abrite une communauté microbienne infini de micro -organismes, ces micro-organismes produisent plusieurs produits naturels biologiquement actifs.

Tels que les actinomycètes, les bactéries, les champignons (**Jurion et al., 1969 ; Kumar et al., 2010**).

L'épaisseur du sol varie de quelques centimètres à plusieurs dizaines de mètres, ou plus, il représente localement une partie de l'occupation des sols qui s'étend sur toute la surface de la terre. Il contient généralement plusieurs horizons correspondant à l'organisation de

constituants organiques et/ou minéraux (la terre) (Ugarte et al., 2015). C'est un écosystème spécifique, dans lequel se développent la microflore, la faune et les plantes. En effet, il s'agit d'un réservoir de biodiversité encore assez méconnu (Antoni, 2007).

## 1.2. différents types de sol

### 1.2.1. sol arides

La convention des Nations Unies sur la lutte contre la désertification, définit que les zones arides comme des « zones, à l'exclusion des zones arctiques et subarctiques, dans lesquelles le rapport entre les précipitations annuelles et l'évapotranspiration possible [l'indice d'aridité] se situe dans une fourchette allant de 0,05 à 0,65 ». Les zones arides couvrent près de 30% de la superficie des terres émergées (Gratzfeld, 2004), en tant que la sécheresse se manifeste par l'incapacité de l'environnement à soutenir une population sédentaire dans des conditions normale (Berkal, 2006).

Les régions arides abritent de nombreuses espèces animales, végétales, et microbiennes indigènes qui ne sont pas généralement riches en espèces mais qui ont développé des stratégies spécifiques pour s'adapter aux conditions environnementales extrêmes. La diversité est souvent faible mais le degré d'endémisme dans les régions arides peut être très élevé (Mederbal, 2002).

Des facteurs environnementaux tels que la disponibilité de l'eau, l'azote, la salinité, le pH et la température sont les facteurs les plus importants qui peuvent expliquer les caractéristiques et la répartition des communautés du désert (Makhalanyan et al., 2015).

Le sol saharien d'Algérie est un écosystème particulier, leurs recherches ont révélé la richesse et la biodiversité d'actinomycètes rares. (Hadjira et al., 2014).

### 1.2.2. Les sols semi –arides :

Les régions arides sont caractérisées par le pastoralisme et sont dépourvus d'agriculture, sauf là où il y a de l'irrigation, avec des précipitation entre 300-400 mm et 600 mm, cette zone couvre 12,2% de la superficie totale des terres émergées dans le monde, leur indice d'aridité varie de 0,20-0,50. Ils peuvent soutenir une agriculture pluviale à des niveaux de production plus ou moins réguliers. La végétation indigène dans cette zone est clairsemée, il existe un couvert herbacé annuel et durables ainsi que cette végétation est représentée par plusieurs espèces telles que : les graminées et plantes herbacées, non graminée et de petits arbustes et arbres (Tabet et benderradji, 2008 ; Khaldi, 2014 ; Fenni et al., 2018 ; Arbane et kelkouli, 2022). Les zones arides et semi-arides se distinguent par la présence de sels soluble de carbonate et de gypse.

## 2. Facteurs influençant l'activité des actinomycètes du sol

### 2.1. facteurs physiques

#### 2.1.1. Texture du sol

La texture est une propriété du sol qui reflète le spectre de taille des particules de base du sol qualitativement (sol solide, grossier et lourd, ou fin et moelleux) et quantitativement (différents pourcentages de taille du sol) particules, deux catégories sont identifiées dans chaque cas, parmi ces classes ; Sols à texture grossière ou lourde contenant des particules suffisamment grosses entre 2 et 50  $\mu\text{m}$  (Grass, 1988), les matériaux du sol peuvent être classés selon leur nature organique ou minérale et leur type d'altération ainsi chaque matériau est désigné par une classe de texture déterminée en fonction du rapport massique des trois parties sable, limon et argile (Hillel, 1984 ; Grass, 1988 ; Gobat *et al.*, 2003 ; Girard *et al.*, 2005) (Figure 05) .

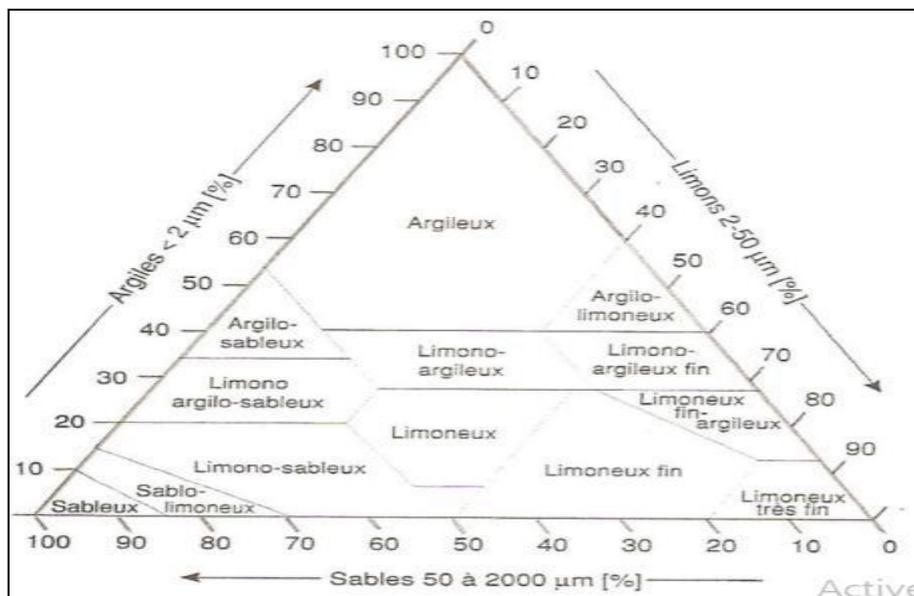


Figure 05 . Triangle des textures minérales (Gobat *et al.* , 2010).

#### 2.1.2. Structure

La structure est l'état du sol qui évolue dans le temps en fonction de sa texture, mais aussi de son taux d'humidité, des conditions colloïdales, de la présence de matière organique (Gobat *et al.*, 2010). La stabilité structurale dépend donc de la matière organique du sol, les complexes argilo-humiques jouant un rôle structural et leur importance dépendant de la teneur en eau du type de sol argileux échange avec l'atmosphère, Une bonne structure permet une excellente circulation de l'eau permettant une bonne germination, aération et pénétration profonde des racines, facilite l'exploration des ressources nutritives du sol (Soltner, 2004).

## 2.2. Facteurs climatiques

### 2.2.1. Température du sol

Est un facteur écologique très important influençant la croissance et l'activité microbienne dans une zone de sol (**Sasson, 1967**) avec l'augmentation de la température, l'activité bactérienne est maximisée puis diminuée (**Dommergues et Mangenot, 1970**), les micro-organismes sont classés en trois catégories selon leur tolérance à la température, il existe des mésophiles qui réorganisent la plupart des organismes qui tolèrent des températures de 20 à 40 °C, des psychrophiles qui peuvent se produire à des températures de 5 °C et des thermophiles qui ont une température optimale de 55 à 55 °C. 55 °C est 60 °C (**Maurel, 1994**).

### 2.2.2. Humidité

L'humidité est l'un des principaux facteurs affectant les communautés microbiennes du sol (**Gómez-Hernández et al., 2012**), l'activité microbienne augmente progressivement à mesure que l'humidité du sol augmente (**Morel et al., 2004**) et qu'ils meurent se déshydratent et entrent en hibernation (**Madigan et Martinko, 2007**) selon (**Boullard et Moreau, 1962**)

### 2.2.3. Effets saisonniers

Il est clair que les changements saisonniers ont un effet très important sur le microbiote du sol, c'est l'un des prédicteurs les plus puissants de la composition et de la diversité de la communauté microbienne (**Lauber et al., 2009**) et la température est deux facteurs importants qui se combinent pour déterminer l'intensité saisonnière de l'activité microbienne, l'interaction de la sécheresse et de l'humidité stimule l'activité microbienne (**Laimeche, 2019**).

## 3. Mise à jour des actinomycètes

Les actinobactéries sont l'une des plus grandes lignées du domaine des bactéries (**Mellakhi, 2022**). C'est un défi majeur pour toute la systématique bactérienne d'établir un système de hiérarchie pour une classification appropriée de ce groupe, en particulier les rangs supérieurs (**Oulmi, 2017**). Stackebrandt et ces collaborateurs ont d'abord fourni le regroupement phylogénétique hiérarchique des membres du phylum « *Actinobacteria* » avec l'introduction de la classe « *Actinobacteria* » (**Brehin, 2019**).

Malgré le succès du séquençage du gène de l'ARNr 16S à fournir l'épine dorsale phylogénétique pour la classification des procaryotes (**Garitty et al., 2005 ; Ludwig et Klenk, 2005**), des problèmes subsistent pour circonscrire les taxons actinobactériens, y compris au niveau de la famille et du genre, donc **Nouioui et al. 2018** est désormais divisé en 11 ordres monophylétiques : l'ordre modifié *Micrococcales* et dix nouveaux ordres proposés

*Aquipuribacterales*, *Beutenbergiales*, *Bogoriellales*, *Brevibacteriales*, *Cellulomonadales*, *Demequinales*, *Dermabacterales*, *Dermatophilales*, *Microbacterales* et *Ruaniale*. De plus, la classe « *Actinobacteria* » a été décrite sans aucun type de nomenclature, et donc le nom « *Actinobacteria* » est jugé illégitime (Lorenzi, 2020) et ensuite a été réorganisé en quatre sous-classes avec la suppression de la sous-classe *Sphaerobacteridae* et *Pseudonocardes* (Nouioui et al., 2018), conformément à la règle 8 du code international de nomenclature des procaryotes, Parker et al., 2019, nous avons proposé le nom *Actinomycetia* qui est formé en utilisant la racine du nom *Actinomycetales* (Tindall et al., 2019).

Deux nouveaux sous-ordres, *Actinopolysporineae* et *Kineosporiineae* (Zhi et al., 2009) ont été introduits dans l'ordre *Actinomycetales*, plus de nouveaux genres ont été proposés parmi les espèces précédemment publiées avec des noms valides, peu de genres récemment décrits incluent les genres *Mycobacteroides* et *Mycolicibacillus* (Gupta et al., 2018).

Dans une publication plus récente, plus de 100 espèces d'actinobactéries ont été reclassées ainsi que les propositions de 15 nouveaux genres (Labdaoui, 2021), huit nouvelles familles et deux nouveaux ordres utilisant une phylogénie basée sur le génome, outre la réduction ou l'élévation du rang de quelques souches membres (Djebaili et al., 2021).

Il existe clairement un besoin impérieux de développer un cadre amélioré pour la classification des actinobactéries, un objectif à part entière (Klenk et Göker, 2010) mais également motivé par des impératifs biotechnologiques, de bioprospection et écologiques (Bull et al., 2016 ; Katz et Baltz, 2016 ; Tseng et al., 2017) et par intérêts de recherche fondamentale (Chandra et Chater, 2014 ; Barka et al., 2016).

Des méthodes phylogénomiques ont déjà été appliquées pour élucider la classification de taxons actinobactériens complexes, tels que les genres *Amycolatopsis*, *Micromonospora*, *Rhodococcus* et *Salinispora* (Sangal et al., 2016 ; Tang et al., 2016 ; Jensen, 2017 ; Carro et al., 2018), et a conduit dans certains cas à un reclassement marqué (Montero-Calasanz et al., 2017).

Les valeurs G+C citées dans de nombreuses descriptions d'espèces sont souvent en décalage avec celles directement calculées à partir des séquences du génome, qui s'adaptent également nettement mieux à la phylogénie que les premières (Hahnke et al., 2016). Des corrections aux descriptions des espèces sont nécessaires lorsque les estimations des méthodes expérimentales diffèrent de plus de 1 % des valeurs dérivées in silico (Meier-Kolthoff et al., 2014), de même, la description des taxons de rang supérieur doit être modifiée s'il s'avère que la plage de valeurs G+C est en conflit avec les valeurs

correspondantes déterminées à partir des séquences du génome, dans le même ordre d'idées, les valeurs numériques d'hybridation ADN:ADN (DDH) fournissent un moyen plus précis d'établir des relations entre des espèces étroitement apparentées que les données correspondantes dérivées de méthodes expérimentales (**Auch et al., 2010; Meier-Kolthoff et al., 2013**).

Se référant à **Nouioui et al., (2018), Salam et al., (2020)** déclarent que dans une publication plus récente, plus de 100 espèces d'actinobactéries ont été reclassées ainsi que les propositions de 15 nouveaux genres, huit nouvelles familles et deux nouveaux ordres utilisant une phylogénie basée sur le génome, outre la réduction de rang ou l'élévation de quelques membres souches, étant donné que la reclassification a été limitée aux espèces avec des séquences génomiques, les espèces dont les génomes ne sont ni séquencés ni disponibles dans la base de données publique n'ont pas été incorporées dans l'évaluation taxonomique.

Cette affirmation dénature l'étude de **Nouioui et al., (2018)**, qui ont effectué des analyses complètes du gène de l'ARNr 16S en plus des analyses de taxons séquencés sur le génome et ont utilisé les résultats de ces analyses du gène de l'ARNr 16S dans leurs évaluations taxonomiques (**Gasmi et al., 2017**).

La phylogénie a été générée à l'aide de programme *Faster 2* (**Zhou et al., 2010**) et visualisée à l'aide du programme en ligne *interactive Tree of life version 4.2* (**Zhou et al., 2010 ; Letunic et Bork , 2015**).

# *Partie expérimentale*

### I. Objectif de travail

L'objectif principal de cette étude était d'isoler et de purifier les actinomycètes Provenant de différents échantillons du sol et présentant leurs caractéristiques phénotypiques et quelques activités enzymatiques.

### II. Cadre de l'étude

Ce travail a été réalisé au sein de laboratoire de microbiologie, département de biologie appliquée, faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'université Larbi Tébessi –Tébessa pendant une durée de 4 mois du 13 février 2023 jusqu'à 26 mai 2023.

### III. Matériels

#### III.1. Grands matériels

- ✚ Agitateur.
- ✚ Autoclave.
- ✚ Bain marie.
- ✚ Balance.
- ✚ Etuve.
- ✚ Hotte .
- ✚ Loupe binoculaire.
- ✚ Microscope optique.
- ✚ Plaque chauffante.
- ✚ Réfrigérateur.
- ✚ Centrifugeuse.

#### III.2. Petits matériels

- ✚ Anse de platine.
- ✚ Barreaux magnétiques.
- ✚ Bec bunsen.
- ✚ Boites pétri (boites grandes, des mini boites).
- ✚ Portoirs.
- ✚ Virerai : béchers gradués, éprouvette gradués, tubes à essai stérile, verre à pieds et les flacons .
- ✚ Entonnoir .
- ✚ Film photographique.
- ✚ Lames.
- ✚ Spatule.
- ✚ Micropipette.

- ✚ Papier buvard.
- ✚ Les épindorfs.
- ✚ Les embouts bleus et jaunes.
- ✚ Thermomètre.
- ✚ Pissette.
- ✚ Papier aluminium.

### **III.3. Les milieux de cultures**

La composition de chaque milieu est présentée dans la partie annexe.

- Milieu ISP2 modifié.
- Milieu caséine modifié .
- La gamme des ISP (1, 2, 3, 4, 5, 6,et 7)(**Shirling and Gottlieb, 1966**)
- Bouillon nitrate.
- Gélose nutritive.
- Gélose à base d'amidon 1 %.
- Gélose à base de Caséine 5 %.
- Laitécrémé 10 %.
- Milieu à base de Tween 80.
- La gélose nutritive.
- Milieu SFM.
- ISP2 à différente concentration de NaCl : 0%, 2.5%, 5%,7%, 10%.

### **III.4. Les solutions et colorants utilisés :**

- L'eau distillé stérile.
- L'eau physiologique stérile.
- Solution saline standard A et B.
- Violet de Gentiane.
- Lugol.
- Alcool.
- Fuchsine.
- Huile à immersion.

## **IV. Méthode de Travail**

### **IV.1. Origine du prélèvementdes échantillons de sols**

Cinq échantillons de sol ont été prélevés selon la technique de **Pochon et Tradieux, (1962)** après avoir enlevé les 15 premiers centimètres de profondeurs à l'aide d'une spatule stérile à partir de :

-Timimoun (Wilaya Adrar) la région de Hassi Tijran sans plante en face de CPF à une altitude de 288 m ( **Figure 08**)

-Timimoun (Wilaya Adrar) la région de Hassi Tijran avec plante en face de CPF loin de première région à 10 km et à une altitude de 288 m. (**Figure 08**)

-La région de Ghardaia à une altitude de 566 m. (**figure 06**)

-La région d'Oued souf à une altitude de 76 m. (**figure 07**)

Les sols prélevés sont placés dans des boîtes stériles et des bouteilles et transportées vers laboratoire , ainsi que les échantillons ont été utilisés immédiatement sans conservation.

Ces isolats sont représentés par les codes suivants :

-  ATSP
-  ATP
-  GH
-  OS



**Figure 06 :** Carte géographique des sites de prélèvements des échantillons région Hassi Tijran et Ghardaia.(Google maps ).

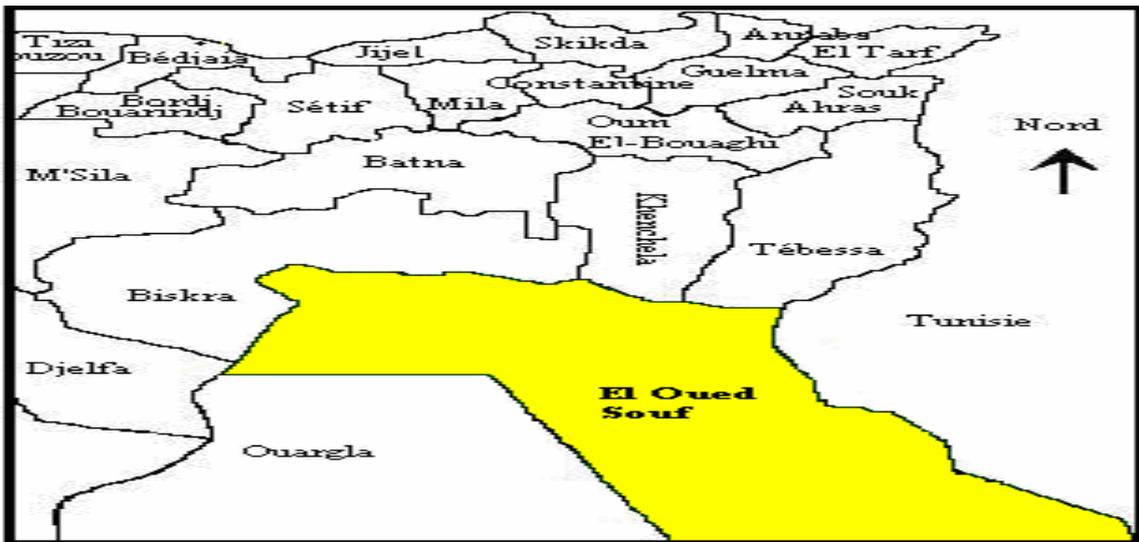


Figure 07 .Carte géographique de site de prélèvement d'échantillon de ElOued Souf (Google maps).

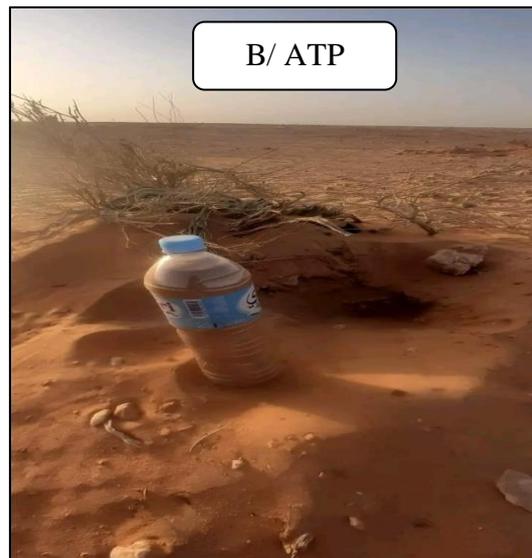
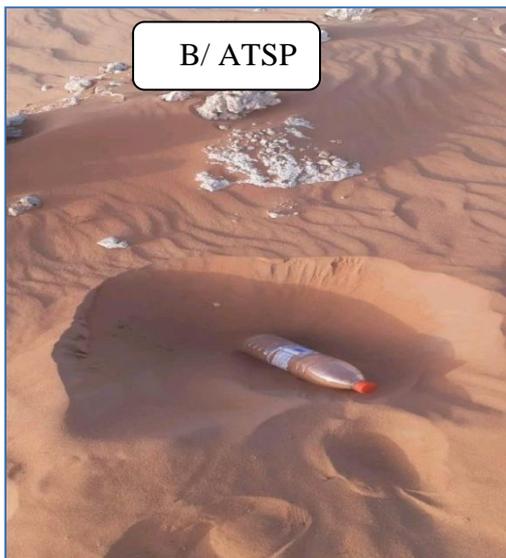
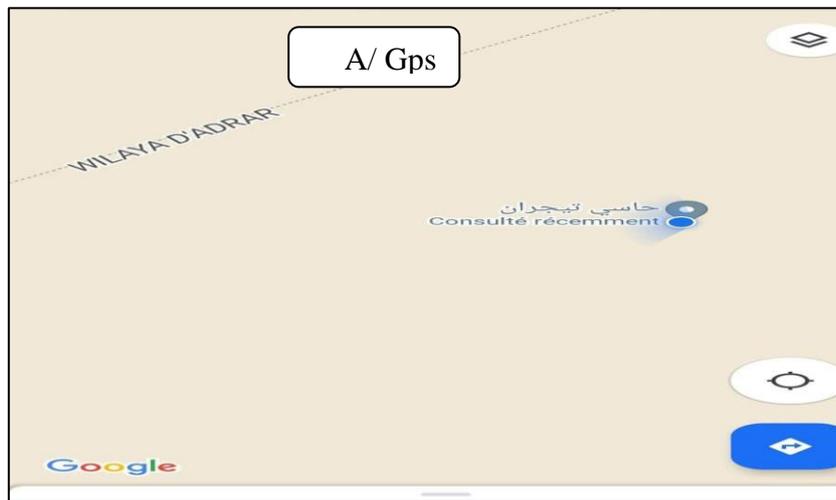


Figure 08 (A/B/C). Localisation en GPS de région Hassi Tijran avec les sites de prélèvement.(Google Maps)

## **IV.2. Isolement des actinomycètes**

### **IV.2.1. Les milieux de cultures pour l'isolement des actinomycètes**

L'isolement des actinomycètes est réalisé sur milieu ISP2 et amidon –caséine (g/l) modifiés (Annexe 1).

La réalisation de ces milieux est basée sur l'eau de la filtration des échantillons de sol à partir du papier buvard pour prendre tous les caractéristiques des actinomycètes du sol selon la procédure suivante :

- Mélange de 50g de sol avec 250ml eau distillé.
- Homogénéisation au agitateur pendant 15 min sans température.
- Laisser le sol et l'eau distillé stabilisées pendant une nuit.
- Filtration l'eau de sol à partir d'un entonnoir et papier buvard.

### **IV.2.2. Préparation de la suspension, dilution et ensemencement des boîtes**

La méthode de suspension-dilution est la plus utilisé dans l'isolement des différents souches à partir de divers région, un gramme de sol est suspendu dans 9ml d'eau physiologique stérile (Na Cl g/l) (Islem, 2014), puis agité au vortex deux fois pendant 5 min. Pour cette suspension une série de dilutions décimales de ( $10^{-1}$  à  $10^{-4}$ ) est effectuée (Badji et al., 2005 ; Boussaber et al., 2012) , par la suite 0,1ml de chaque dilution est étalé sur un milieu d'isolement approprié (Milieu ISP2 et caséine amidon modifiés). Les boîtes ensemencées sont incubées à 30°C et observées quotidiennement, pendant 7-21 jours (Okudoh et Wallis, 2007 ; Aouiche et al., 2012 ;Boubetra et al., 2013 ; Selama et al., 2014 ; Lahoum et al., 2016; Leulmi, 2018 ; Gacem et al., 2020) (Figure 09).

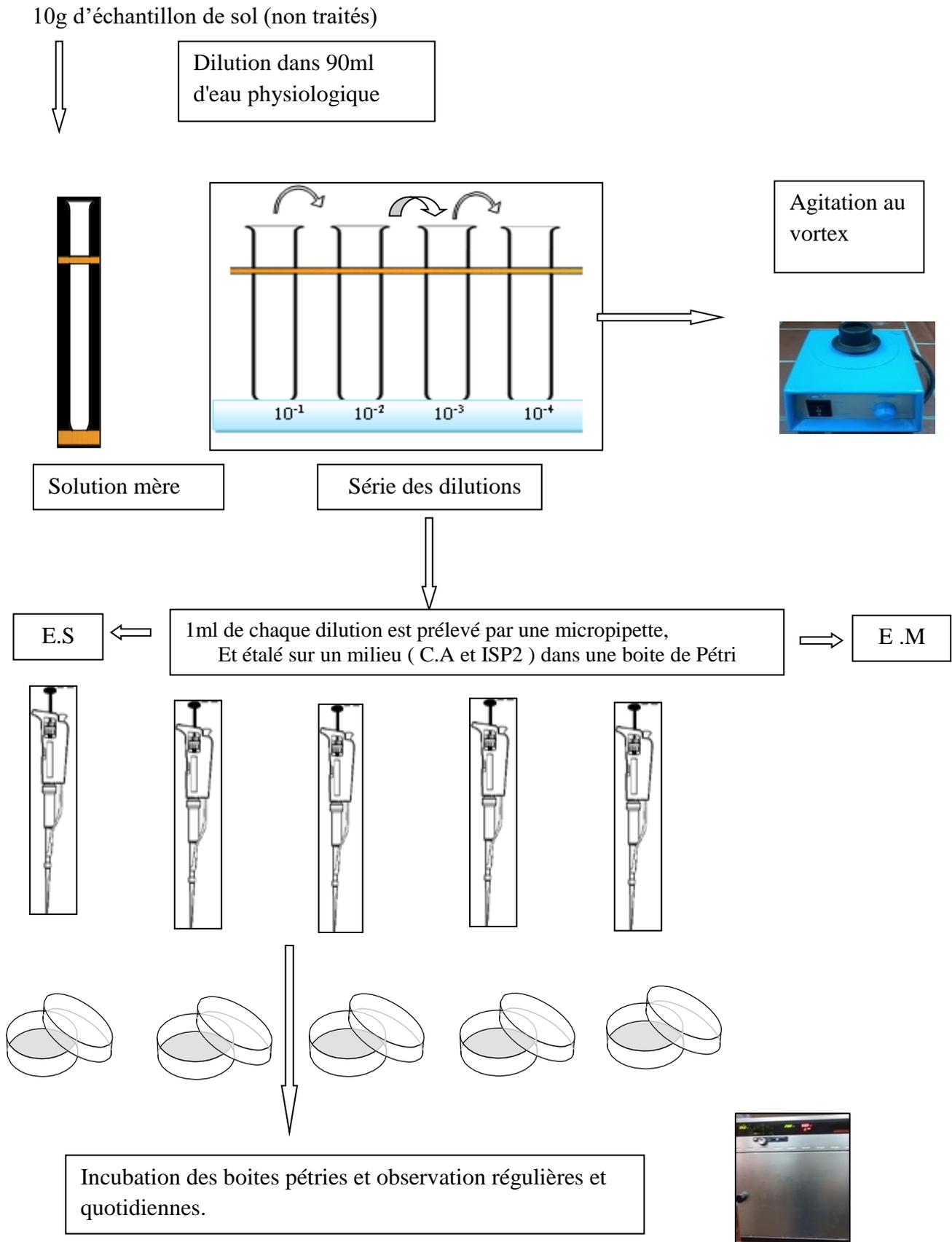


Figure 09 . Les étapes suivies pour l'isolement des actinomycètes à partir d'échantillons de sol.

Un ensemencement dans la masse sur milieu **ISP2** préparé au laboratoire puis additionné de l'antifongique (Bicromate de potassium) et autoclavé pendant 30 min (voir annexe).

Incubation à 30°C pendant 21 jours, avec observation des boîtes après 7 jours, 14 jours et 21 jours.

Un ensemencement dans la masse sur milieu **Caséine amidon** préparé au laboratoire puis additionné de l'antifongique (Bicromate de potassium) et autoclavé pendant 30 min (voir annexe).

Incubation à 30°C pendant 21 jours, avec observation des boîtes après 7 jours, 14 jours et 21 jours.

### IV.2.3. Purification

Les colonies d'actinomycètes isolées sont séparées selon leur morphotype (couleur, aspect et texture) à la maturité (incubation jusqu'à 21 jours), purifiées par un repiquage successif à l'aide d'une pipette pasteur stérile, l'ensemencement des souches a été effectué par la méthode de stries serrées en surface dans le même milieu d'isolement.

Cette opération est répétée jusqu'à l'obtention des cultures pures. La pureté des isolats a été contrôlée par des examens microscopiques directs, après chaque repiquage (**Boussaber et al., 2012**).

### IV.2.4. Conservation des souches

Les isolats obtenus sont conservés pour être utilisés dans des tests ultérieurs, la conservation est réalisée selon deux techniques :

- **La conservation de courte durée** : des isolats d'actinomycètes sont ensemencés sur les géloses inclinées (ISP2) puis incubés pendant 7 jours à 30 °C, les tubes sont ensuite conservés à 4°C.

- **La conservation de longue durée** : pour la préparation du stock de spores les boîtes de Pétri, contenant le milieu de conservation (voir annexe), sont ensemencées à partir des isolats d'actinobactéries prédatrices purifiées, après incubation pendant une à deux semaines à 30 °C jusqu'à sporulation maximale, 10mL d'eau physiologique stérile sont déposés sur chaque boîte de Pétri. Les surfaces des boîtes sont grattées avec la pointe d'une pipette, les suspensions sont placées ensuite dans des Falcon stériles et agitées puis filtrées pour éliminer les morceaux d'agar, les filtrats sont par la suite centrifugés 5 min à 5000rp après centrifugation les spores des bactéries sont mises en suspension dans des Eppendorf contenant du glycérol 80% stérile incubés à -20°C (**Kitouni et al., 2005**).

## **V. Études morphologiques des souches d'actinomycètes**

### **V.1. Aspect macroscopique**

L'aspect morphologique des souches ont été déterminés sur le milieu ISP2 après incubation pendant 7 jours à 30°C pour déterminer les éléments d'identification macroscopiques qui sont :

-Couleur de la colonie : orange, marron, blanche, grise, jaune, crevette, beige foncé, grisâtre, beige et virent vers le marron, jaune virent vers le blanc ...ect.

-La forme des colonies : rondes, irrégulières, circulaire, filamenteuse, rhizoïdes...etc

-La taille des colonies par la mesure du diamètre : punctiformes, petites, moyenne, grosse

-La surface: lisse, rugueuse, dentelée, poudreuses, lisse, marge plate, granuleuse, incrusté brillant, cartilagineuses, vagues concentriques, ridée, plissé, bombée, duvuteux , cotonneux , rugeuses à l'aspect de craie ...et

-Filaments : présence / absence.

-La consistance : sèche, crémeuse et grasse.

-Contour : réguliers, réguliers, ondulé, filamenteux, bouclée, lobés, légèrement ondulés ...ect.

-Sporulation : absence / présence

-La morphologie des MA et MS : couleur (maron, vert, mélanoïde,ect...) , leur absence ou présences aussi leur pigments diffusables ou non.

-Mode de croissance : importante, faible, moyenne.

### **V.2. Aspect microscopiques :(coloration de Gram)**

Les frottis préalablement préparés à partir de séchage de la lame à la chaleur de la flamme du bec Bunsen et ensuite laisser refroidir pour faire la coloration ainsi de suite la coloration de Gram a été effectuée selon la méthode classique décrite par un bactériologiste **Danois Hans Christian Gram en 1884 (Lachal et Bouchkima, 2020)**.

- Recouvrir la lame de violet de Gentiane et laisser 1 minute.
- Ajouter le lugol (2×45 secondes) suivi d'un rinçage à l'eau.
- Décoloration avec l'alcool 90% pendant 10 secondes puis rinçage à l'eau.
- Recoloration à la fuschine pendant 1 minute.
- Rinçage à l'eau.

- Sécher la lame avec du papier absorbant.

Observation à l'immersion au grossissement  $\times 100$  en pleine lumière en mettant une goutte de l'huile à immersion sur la lame.

L'observation des souches au microscope optique permet de reconnaître certains genres d'actinomycètes qui ont un aspect microscopique caractéristique.

## **VI. Sélection des souches testés**

Les souches d'actinomycètes sélectionnés (ATSP 1, ATSP 2, ATSP 3, ATSP 4, ATSP 5, ATSP 6, ATSP 7, ATSP 9, ATSP 10, ATSP 15, ATP 28, ATP 35, ATP 41, GH 60, GH 61, OS 65, OS 66, ATSP 77, ATSP 78) selon leur variation morphologique pour la suite des études sont ceux qui expriment les meilleurs résultats d'activités et des tests .

### **VI.1. Caractères cultureux et macromorphologiques**

L'international Streptomyces Project (ISP) contenant 9 milieux de cultures (ISP1, ISP2....ISP9) divisées en 2 phylums comme la montre dans **Tableau 02** , les milieux qui étudient la morphologie d'actinomycètes et les milieux qui étudie la biodégradation (**Gottlieb, 1967**).

Les milieux sont coulés dans des boîtes pétries etensemencés par touche et à raison de deux réplicants marquées qui sont notées (R1, R2) à partir d'une culture pure mature de chaque isolat, cette répétition est considérée comme un test de confirmation, à fin que lorsqu'elle est contaminée, la boîte puisse être récupérée et remplacée par une deuxième boîte, ces milieux sont incubés à 30°C pendant 7, 14 et 21 jours, et on vérifie leur croissance. Cette étude macromorphologique importante pour la croissance et le développement du mycélium aérien sur chaque milieu sont observés. La pigmentation du mycélium aérien et celui du substrat (le dos de la colonie) et la présence de pigments diffusibles sont notées (**Shirling et Gottlieb, 1966**)

**Tableau 02.** Différents milieux de cultures pour l'étude de caractérisation culturelles des actinomycètes .

<b>Le milieu</b>	<b>La fonction</b>
ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, ISP6	Pour identification
ISP7	Etudie la dégradation des glucides
ISP8	Etudie la morphologie des actinomycètes
ISP9	Etudie la biodégradation

## **VI.2. Morphologie des mycéliums aériens à l'état frais**

Cette technique consiste à ensemencer les souches d'actinomycètes testés sous forme d'un quadrillage autour de la boîte sur un milieu ISP2, après incubation de 3 jours au max à 30 C° on insère délicatement une lamelle stérile soigneusement dans le milieu gélosé ISP2 de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec la surface de celui -ci ensuite une goutte de l'huile à immersion a été déposée sur la lamelle propre, la préparation est observée par la suite au microscope optique (G×100) (**Djaballah, 2010**).

La forme des filaments de mycélium aérien peut être observé sous le microscope autour de la colonie.

## **VI.3. Etude physiologiques des souches sélectionnées**

### **VI.3.1. Tolérance à différentes PH**

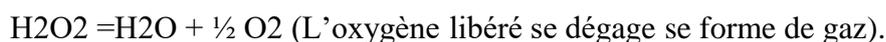
La croissance des isolats d'actinobactéries a été étudiée sur milieu solide ISP2 préparé à différents pH : 5, 7, 9 et 10, ces milieux avec les différents degrés de pH est ajusté par un pH mètre, les cultures des actinomycètes sont ensemencées par touche à partir des cultures pures des isolats, la croissance des actinobactéries est observée après un temps d'incubation de 14 à 21 jours à 30°C.

### **VI.3.2. Croissance à différentes températures des souches représentatives**

Les souches actinomycètes isolés de différents échantillons des sols sont ensemencées par touche sur le milieu de culture ISP2, la croissance des différentes souches a été étudié à varier degré des températures 25C°, 30C°, 37C° et 44C°, la lecture des résultats a été effectués après 21 jours d'incubation et par comparaison avec les boîtes témoins à température 30 C° (**Smaoui, 2010**).

### **VI.3.3. Recherche de catalase**

Cette enzyme permet la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par oxydation par l'oxygène selon cette équation :



La méthode de détection par la catalase consiste à étaler une colonie sur une lame de verre propre avec une goutte supplémentaire de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10 volumes, la présence de l'enzyme est indiquée par la libération de nombreuses bulles d'air sous forme de mousse, le test de catalase est positif si aucune bulle d'air le test de catalase est négatif (**Zinedine, 2004**).

#### **VI.3.4. Test de tolérance aux chlorures de sodium**

Les actinomycètes sont ensemencés sur milieu spécifique (voir annexe) additionné à de quantité de Na Cl pour obtenir les concentrations suivantes , (2,5%; 5% ; 7% ; 10%) par la même procédure précédente, et en utilisé un milieu à 0% Na Cl comme témoin. Les boîtes sont incubées à 30 C° et la croissance est suivie par observation des colonies pendant 14 à 21 jours pour toutes les souches.

### **VI. Etude de la biodiversité métabolique**

#### **VII.1. Action sur le lait écrémé**

Des tubes contenant une solution de lait écrémé en poudre à 10% dans l'eau distillée sont ensemencés et incubés à 30°C, des observations régulières pendant 14 jours permettent de noter la coagulation ou la peptonisation du lait provoquée par les souches (**kitouni, 2020**).

#### **VII.2. L'hydrolyse des caséinases**

Les isolats ont été cultivés sur milieu lait écrémé (voir annexe), et après 7 et 14 jours d'incubation, l'hydrolyse de la caséine a été observée par l'apparition de zones transparentes sous et/ou autour des colonies (**Zerizer, 2014**).

#### **VII.3. Hydrolyse de l'amidon**

Ce test est réalisé sur milieu nutritif gélosé contenant 1% d'amidon soluble selon la méthode de **Gordon et Smith (1953)** . Après 14 jours d'incubation à 30°C, la gélose a été recouverte d'une solution de lugol. Il n'y avait pas de coloration autour des colonies indiquant une hydrolyse de l'amidon alors que les zones contenant de l'amidon étaient brunes (**Geraldine, 1981**).

#### **VII.4. Dégradation des sels de sodium**

Ce test est réalisé par ensemencement du milieu citrate de Simmons en tubes de gélose inclinée qui est de couleur verte due à la présence de l'indicateur coloré : le bleu de bromothymol (**Zerizer, 2014**), dans lequel on ensemence la ponte, par une strie longitudinale au moyen d'une anse, après de 14 à 21 jours d'incubation, l'apparition d'une couleur bleue indique l'utilisation du citrate avec production de bases (**Wauters et al., 2005**).

#### **VII.5. Hydrolyse des acides gras**

L'hydrolyse du Tween 80 est mise en évidence après ensemencement des isolats sur le milieu À base de tween comme seule source de carbone après 14 à 21 jours d'incubation à 30 C° le

résultat apparaît sous la forme d'une apparition d'un halo autour les colonies ,qui note la dégradation des acides gras.

### VII.6. Hydrolyse de nitrate réductase

La production de nitrate réductase a été mise en évidence sur du bouillon de nitrate (**Marchal et al., 1987**) (composition en annexe) contenu dans des tubes stériles, à raison de 5 ml chacun pour chaque souche, l'ensemencement a effectué par anse de platine stérile. Les lectures ont été faites après 7 jours d'incubation à 30°C, par instillation successive de 5 gouttes de chaque réactif (nitrate I puis nitrate II), les résultats positifs sont indiqués par l'apparition d'une couleur rouge-rose dans le milieu de culture. Si la couleur ne change pas, une petite quantité de poudre de zinc est ajoutée.

### VII.7. Dégradation de celluloses

Dans ce test, des tubes contenant 5ml de milieu ISP9 liquide et des bandelettes de papier Wattman N°1 stériles ont été utilisées comme seule source de carbone, puis ensemencés avec des isolats d'actinomycètes, un tube sans colonies (non ensemencé) a été utilisé comme contrôle négatif, les tubes ont été incubés à 30C° pendant 14 jours maximum, la croissance des souches sur le papier wattman a été considérée comme un résultat positif (**Yugal, 2014**).

### VII.8. Activité hémolytique

Celle-ci est réalisée sur gélose Columbia (180mL) additionnée de 10 ml de sang, Lorsque les actinomycètes ont une activité hémolytique, ils produisent diverses zones hémolytiques sur la gélose au sang. (**Guerin et al., 1992**).

On distingue trois types d'hémolyses selon la zone indiqué :

-β hémolytique: leur colonies à large auréole claire, à bord net, traduit un Hémolyse complète.

-α hémolytique: les colonies à halo étroit, avec verdissement (formation de méthémoglobine), qui traduit un hémolyse incomplète.

-γ hémolytique: les colonies sans zone d'hémolyse.

### VII.9. Hydrolyse de la gélatine : recherche de gélatinase

La production de gélatinase par les bactéries est étudiée à l'aide des tubes à essai contenant de l'eau physiologique stérile ensemencés pour préparer des suspensions bactériennes et munis bandes de film photographique (1 cm de large) ont été ajoutées, tandis qu'un tube non ensemencé

contenant une bande qui servirait de contrôle négatif après une période d'incubation de 7 jours à 30°C, le film photographique s'est éclairci, montrant une attaque bactérienne sur la gélatine indiquant une réaction positive (**Morakchi , 2011**).

#### **VII.10. Utilisation des composés glucidique comme une seule source de carbone**

Ce test consiste à apprécier la croissance de l'actinomycète en présence de composées glucidiques comme une seule source de carbone : xylose, galactose, fructose, mannitol, arabinose en utilisant le milieu ISP9.

Les glucides testés ajoutées 1% de chaque composé dans le milieu ISP9, après ensemencement et incubation 14 jours à 30°C la croissance est estimée sur les boites contenant différentes sources de carbone. La lecture des résultats est comparé aux témoins .

Le milieu avec le glucose représente le témoin positif ; le milieu sans substrat carboné représente le témoin négatif ( **Boucheffa , 2011**).

#### **VIII. Etude statistique de la diversité physiologique et métabolique des isolats testés**

On a étudié les diversités et la similarité des nos 19 isolats testés selon leur caractéristique phisico- chimique et métabolique. Ces résultats permettent de nous tracer un dendrogramme qui comporte les différentes classes étudiées à partir de logiciel XL stat version 2018.

**Résultats et discussion**

**I. Isolement des souches des actinomycètes**

Dans le cadre de ce travail, après une incubation de 14 jours à 30 °C, nous avons isolé 56 souches à partir de 4 échantillons : (Ain Timimoune avec et sans plante, Ghardaïa, Oued souf.) et ses résultats représentés dans le graphe montré dans la **figure 10** . Les souches d'actinomycètes ont été obtenues à partir de deux milieu ISP2 modifié et CA modifiés à base des extraits de sol par deux méthodes d'ensemencement (EM et ES) les colonies d'actinomycètes sont détectées dans les boîtes d'isolement par leurs aspects macroscopiques , colonies sèches incrustées dans la gélose, qui possèdent ou non un mycélium aérien (**Anandan et al., 2016**).

Les résultats de l'isolement des actinomycètes à partir des différents échantillons de sols sont représentés dans les **Tableaux** ci-dessous (**3,4,5,6**)

**Tableau 03.** Résultats d'isolement des actinomycètes à partir d'échantillon Hassi Tijran sans plante.

	Milieu			
Echantillon	ISP2		Caséine- amidon	
N°01 : ATSP				
Ensemencement	<b>E.M</b>	<b>E. S</b>	<b>E.M</b>	<b>E. S</b>
Dilution				
S.M	+++	–	++	++
10-1	++	–	++	–
10-2	–	–	–	–
10-3	–	–	–	–
10-4	–	–	–	–

**(-): Pas de croissance, (+/-): Faible, (++) : Moyenne, (+++) : Importante.**

**Tableau 04.** Résultats d'isolement des actinomycètes à partir d'échantillon Hassi Tijran avec plante .

	Milieu			
Echantillon	ISP2		Caséine- amidon	
N°02 : ATP				
Ensemencement	E.M	E. S	E.M	E. S
Dilution				
S.M	–	–	+++	+++
10-1	–	–	+++	+++
10-2	+/-	–	+++	+
10-3	–	–	+/-	+
10-4	–	–	–	+

**(-): Pas de croissance, (+/-): Faible, (++) : Moyenne, (+++): Importante.**

**Tableau 05 .**Résultats d'isolement des actinomycètes à partir d'échantillon Ghardaïa.

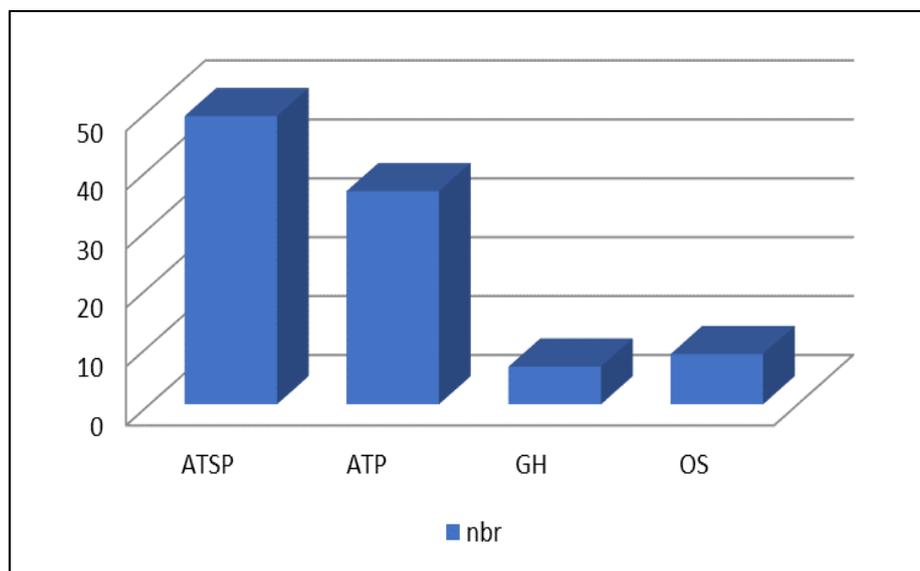
	Milieu			
Echantillon	ISP2		Caséine- amidon	
N°03 : Gh				
Ensemencement	E.M	E. S	E.M	E. S
Dilution				
S.M	–	–	–	–
10-1	+/-	–	–	–
10-2	++	+/-	–	–
10-3	+++	–	–	–
10-4	+/-	–	–	–

**(-): Pas de croissance, (+/-): Faible, (++) : Moyenne, (+++): Importante.**

**Tableau 06 . Résultats d'isolement des actinomycètes à partir d'échantillon Oued Souf.**

		Milieu			
Echantillon N°04 : Os		ISP2		Caséine- amidon	
Ensemencement Dilution		E.M	E. S	E.M	E. S
	S.M		++	+/-	-
10-s		++	-	-	+++
10-2		-	+/-	-	+++
10-3		+/-	-	-	-
10-4		-	-	-	+/-

**(-): Pas de croissance, (+/-): Faible, (++) : Moyenne, (+++) : Importante.**



**Figure 10.** La répartition des souches d'actinomycètes selon le site de prélèvement .

**Nbr** : indique le nombre des isolats.

Les résultats présentés dans ces tableaux et les résultats représentés dans le graphe montrent que le nombre d'actinomycètes obtenus varie en fonction de l'origine de l'échantillon, ainsi que les milieux d'isolement et le mode d'ensemencement utilisées.

Le résultats observés montre quel plus grand nombre d'actinomycètes est isolé à partir des échantillons des Hassi Tijran (ATP 55) et (ATP 45) par rapport les autres échantillons de

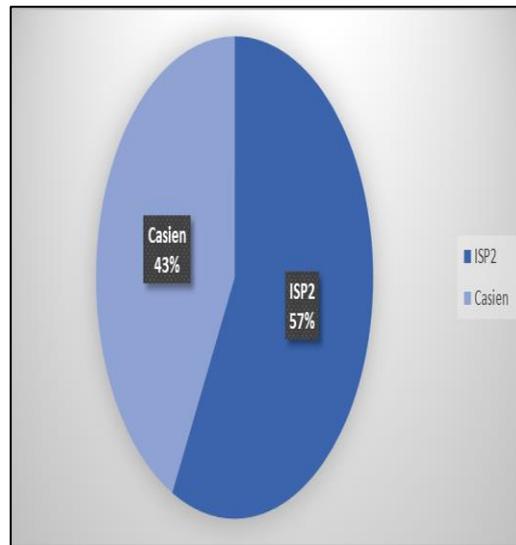
Ghardaïa (GH 12) et Oued Souf (OS 65). Alors cette variation en nombre de colonies d'actinomycètes obtenue à partir de chaque échantillon du sol est due à plusieurs facteurs physicochimiques, dont le pH, la matière organique, l'humidité et la salinité du sol, ainsi qu'à la présence ou non du couvert végétal, le taux de pluviométrie et la saison dont les échantillons ont été prélevés (Qin et al., 2016).

Dans notre travail on a utilisé les milieux ISP2 et CA modifié préparés à base de filtrat du sol de chaque échantillon pour obtenir les propriétés similaires à celles trouvées dans le sol par la méthode d'isolements nommé dilution décimale de 10<sup>-1</sup> Jusqu'a 10<sup>-4</sup> pour diminuer la charge microbienne de l'échantillon de sol à analyser, d'abord au 1/10 puit au 1/100 et ainsi de suite jusqu'à réduire la concentration microbienne de l'échantillon mère (sol). D'après les résultats de la comparaison entre milieu et entre mode d'ensemencement, on remarque que le nombre des isolats est meilleur dans le milieu ISP2 par rapport le milieu caséine amidon, on remarque également que l'ensemencement dans la masse a permis d'obtenir un nombre élevé des souches ce qui explique que la composition de milieu de culture et le mode d'ensemencement influencent sur la croissance d'actinomycètes.

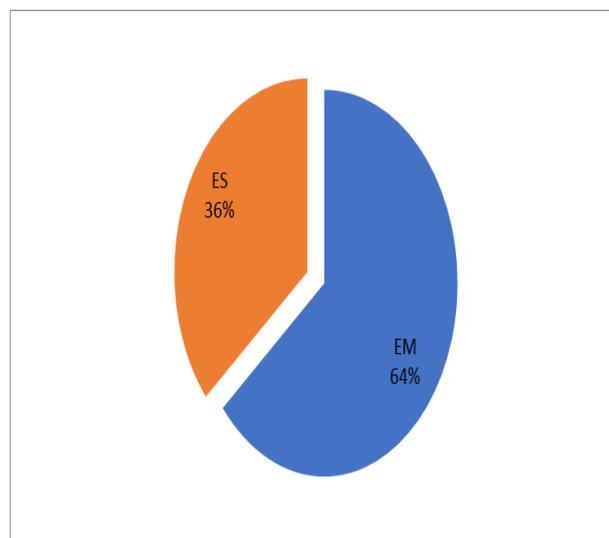
D'après le **Tableau 04** (échantillon hassi tijran avec plante), on note que le milieu caséine amidon présente une bonne croissance des souches d'actinomycètes et ceci pour les deux modes d'ensemencements par rapport aux milieux ISP2.

D'après le **Tableau 05** (échantillon Ghardaia) on remarque qu'une excellente croissance d'actinomycètes a été observée dans le milieu ISP2 à partir de l'ensemencement dans la masse au fur à mesure que le nombre des actinomycètes diminue revanche part à rapport au milieu caséine amidon, aucune croissance a été indiquée dans EM et ES.

D'après le **Tableau 06** (échantillon oued souf ) et la **Figure 11/12** on a constaté que la bonne croissance des actinomycètes étant observé dans le milieu ISP2 avec un pourcentage de 57% et dans le milieu caséine amidon est de 43 % .



**Figure 11 .** Pourcentage % des milieux ISP2 et Caséine – amidon selon les isolats



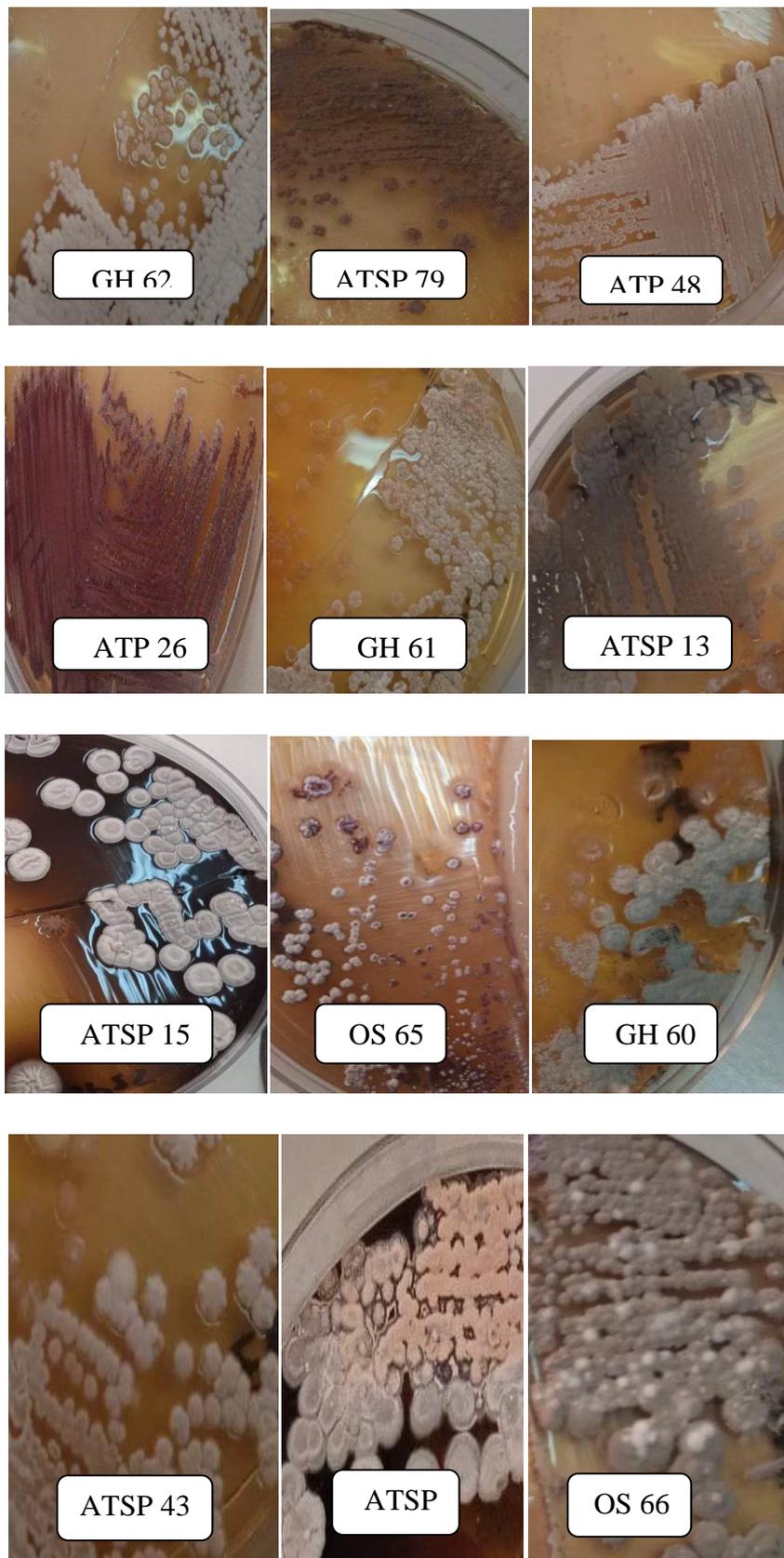
**Figure 12.** La diversité des échantillons par rapport l’ensemencement.

Alors à partir de l'ensemencement dans la masse et la surface sur milieu ISP2 et caséine amidon on a obtenu : une croissance très abondante dans milieu ISP2 qui est le plus favorable pour l'isolement des actinomycètes à partir de tous les écosystèmes arides et semi -arides testées, En tant que le milieu caséine amidon ont obtenu une croissance lente des actinomycètes parce que considère comme un milieu de choix permettant un bon développement du mycélium aérien et est considéré comme étant le milieu le plus approprié pour la croissance des actinomycètes,(Ramananviro , 2017) parce que la composition du milieu de culture est à considérer, elles influence considérablement le nombre des actinomycètes récupérées du sol (Cal et al., 2009).

### II.Purification

A fin d'obtenir des souches pures, les isolats ont été repiqués en milieu ISP2 par la méthode d'épuisement, tous les isolats d'actinomycètes des différents échantillons de sol ont possédé un mycélium de substrat et un mycélium aérien de couleurs variables entre le gris, le blanc, le jaune, jaune brunâtre, le beige et vert à différents degrés, mélanoides et marron. Les colonies de souches d'actinomycètes ont des aspects poudreux irréguliers et parfois réguliers aussi rugueux, marge plate et granuleuse bombée, Poudreux à aspect de craie.

La couleur du mycélium du substrat varie d'une souche à l'autre selon **Lazouni et al., (2022)**, la couleur du mycélium aérien et du mycélium du substrat est considérée comme un bon critère pour caractériser les actinomycètes. On indique aussi après 7 jours d'incubation, les colonies perdent leur pigmentation vert, olivâtre, mélanoides vert à noir, étalées dans le milieu, et la couleur des colonies devient blanche ou bien grisâtre. La pigmentation diffuse produite par ces isolats d'actinomycètes peut être bioactive, selon **(Braghta et al., 2014)** ; aussi ce résultat montre que les souches d'actinomycètes ont trois variantes de croissance : faible(-), moyenne(+) et forte croissance(++) (**Planche 01 et 02**).



**Planche 01** . Photos représentant les caractères cultureux de quelques isolats d'Actinomycètes sur le milieu ISP2.

**III. Résultats de Conservation**



**Planche 02.** Photos de conservation des différents isolats d'actinomycètes sur milieu SFM.

### IV. Etudes morphologiques des souches d'actinomycètes

#### Etude macroscopique

Une étude de **Viswanathan et Rebecca (2017)**, **El Karkouri et al. (2019)**, **Harir et al., (2017)**, **Baniya et al., (2018)** et **Sapkota et al., (2020)** ont mis en évidence plusieurs souches d'actinomycètes par l'utilisation de la couleur du mycélium aérien, de la couleur du substrat, de la production de pigment diffusible, de la croissance et de la présence de spores, de la coloration de Gram. Les caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) étaient pratiquement obsolètes avant l'avènement des outils moléculaires, mais leur utilisation reste pertinente pour caractériser les genres d'actinomycètes. Selon **Shirling et Gottlieb (1976)**, les caractéristiques morphologiques sont considérées comme des caractéristiques stables pour identifier les actinomycètes.

Selon les résultats d'incubation pendant 3 à 7 jour à 30C° l'aspect macromorphologique des souches ont été déterminés sur le milieu ISP2, ceci signifie que la croissance des souches été lente par rapport à la plupart des bactéries. La détermination des caractères morphologiques des mycéliums aériens et l'aspect des colonies par l'œil nu et l'observation de l'inverse de la boîte pour déterminer les mycéliums de substrat.

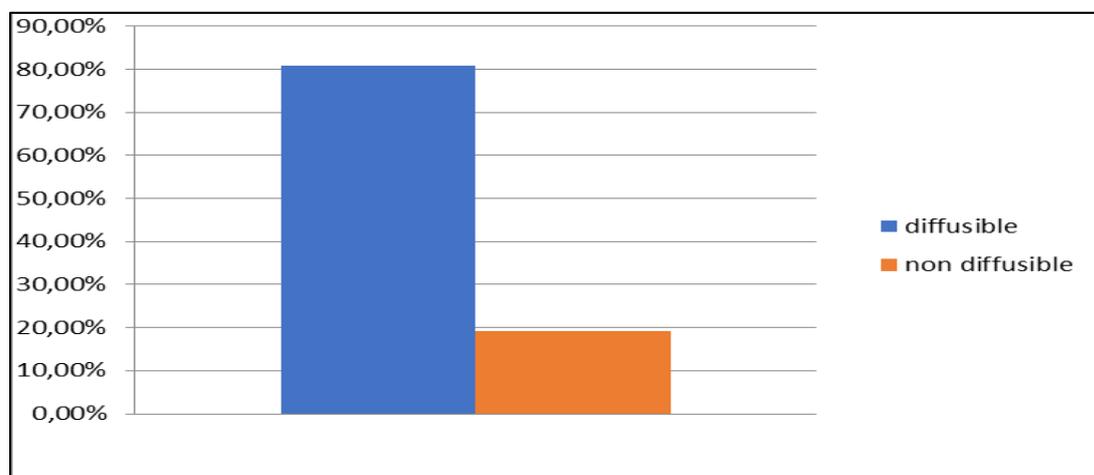
On remarque une morphologie macroscopiques diversifiées des colonies des actinomycètes dans les quatre échantillons de sol qui adhèrent à la surface de la gélose et présent un aspect généralement poudreuse comme (GH 57, ATSP 77, ATSP 78) alors que (GH 60, GH 61) ont un aspect régulier ou (OS 64) qui combine les deux aspect poudreuse et régulier à la fois ainsi de suite l'aspect granuleuse bombée pour (OS 65), marge plat (OS 66), rugueuse poudreuse (ATP 48), granuleuse lobés (ATP 36), poudreuse lisse (ATP 40) . Le mycélium aérien présente des différents couleurs : gris ( ATSP1, ATP 30, ATP 41, GH 60 , OS 65, OS 67) , gris blanchâtre (ATP 28), beige (ATSP 4), Gris clair (GH 57 , ATSP 77 ), gris souris (ATSP 25, OS 66), blanc (ATSP 5, GH 61, OS 64), beige (ATSP4 ), violet (ATP 26), rose (ATP 56).

Ceci a été constaté par d'autre chercheurs dans plusieurs travaux comme **Arasu et al., (2009)**; **Belyagoubi, (2014)** et **Belabed , (2014)** ; **Benhadj et al., (2018)** .

La couleur de mycélium de substrat déterminé par l'observation du revers de la colonie (dos de la boîte pétri) qui est : Vert foncé (ATSP 1), olive à noir (ATSP 4), jaune pale (ATSP 8) , marron chocolat (ATSP 15), jaune brunâtre (ATSP 18), noir (ATSP 24), violet foncé ( ATSP 35), vert olivâtre ( ATP 48),violet ( OS 66, Os 67), marron brunâtre (GH 57), marron à noir (

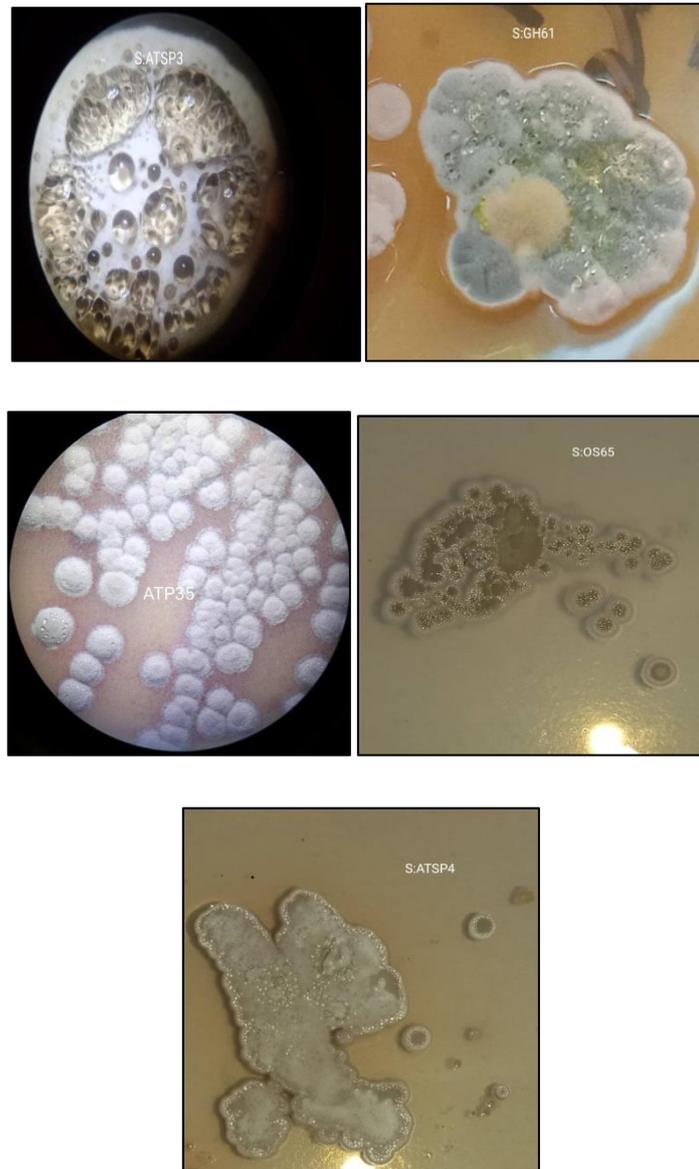
ATSP 78), noir (ATSP 77), jaune ( GH 60 , GH 61 , OS 64) . Les mêmes observations ont été constaté par plusieurs auteurs comme **Balasubramaniam et al., (2011)** et **Belabed, (2014)**

Les pigments mélanoides sont des produits de la transformation de la tyrosine en DOPA mélanine responsable de la couleur brune et antioxydantes et peuvent éventuellement protéger les microorganismes ultraviolets (**Boucheffa, 2011**) les pigments mélanoides a été observés aux certaine souche tels que ( ATSP 24 , ATSP 25) et il y'a d'autre couleur de pigment diffusible de 80% sur le milieu comme vert foncé (ATSP 1, ATSP 2, ATSP 6, ATSP 7, ATSP 8 ) et marron chocolat comme ATSP15 Jaune pale ( ATP 56, ATP 51 , ATP 28) , violet foncé (ATP 35) et des pigments non diffusible (soit 19%) comme ATSP 79, ATSP 78 , OS 65 , la **figure 13** représente ces résultats



**Figure 13.** Pourcentage des pigments diffusibles et non diffusible des isolats d'actinomycètes.

**NB :** Il y'a des souches d'actinomycètes tel que ATSP 3, ATSP 4, ATSP 9, ATSP15, ATP 28, ATP 35, GH 60, OS 65 qui montrent une morphologie particulière et spécifique notamment des petites cristaux brillantes appelés les exsudats comme si l'exsudation est définie comme la libération des composés solubles de faible poids moléculaires, les exsudats représentent des métabolites secondaires, c'est également là plus rapidement métabolisée par les actinomycètes. Ils sont généralement composés de sucres (**Figure 14**).

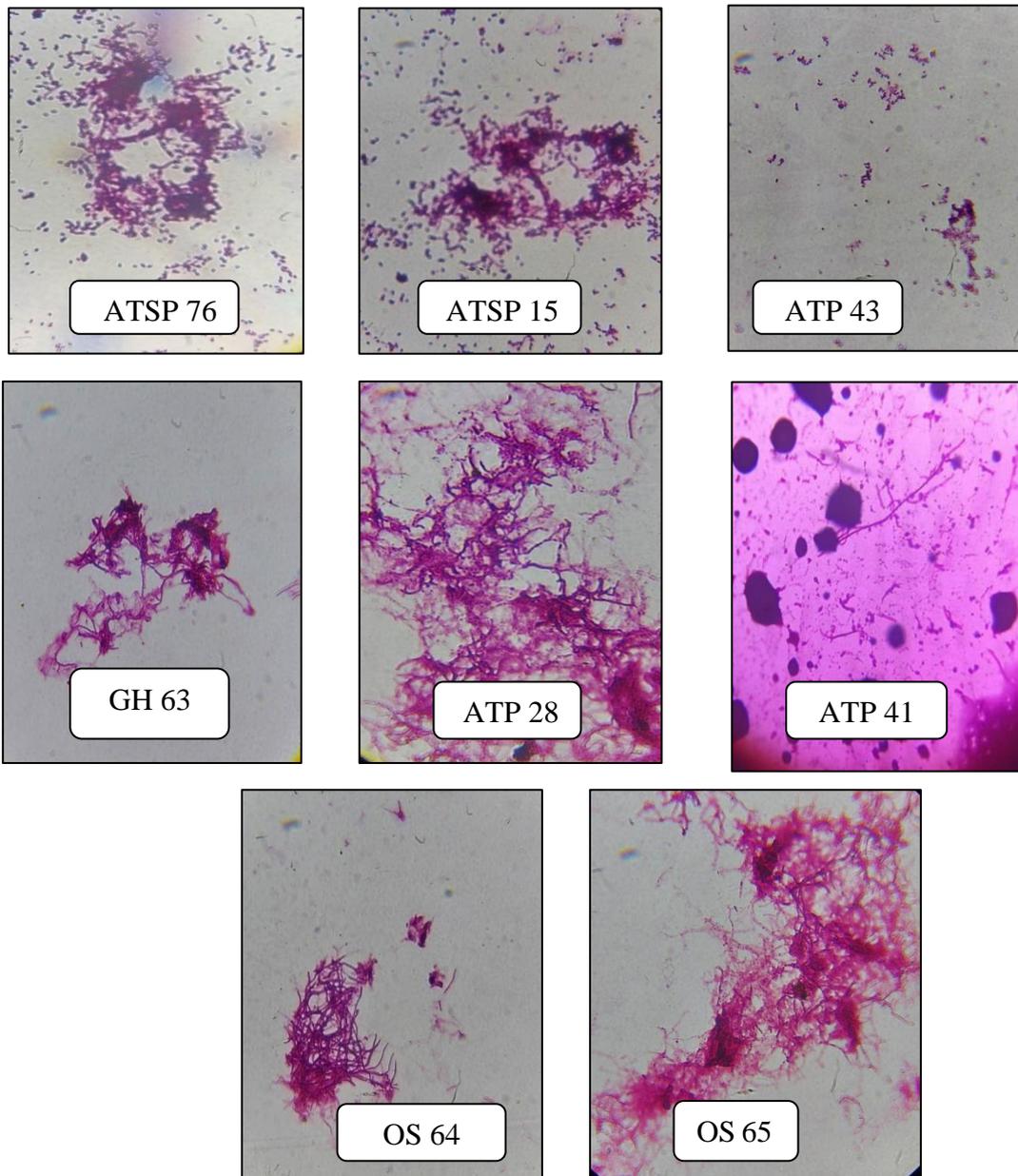


**Figure 14.** Quelques isolats d'Actinomycètes qui présentent les exsudats.

#### **IV.2. Etude microscopique**

L'observation microscopique et la coloration de Gram montrent la présence de mycélium et de spores, la microscopie optique du mycélium aérien de la souche révèle des chaînes d'hyphes et de spores isolés ou en amas qui sont parfois à court ou à longues chaînes situées aux extrémités des hyphes droites (**planche 03**), les spores sont cylindriques et rondes et ne montrent aucune mobilité ainsi que l'observation microscopique Gx100 à l'immersion de notre isolats confirme que l'ensembles des souches d'actinomycètes sont des bactéries à coloration de Gram+, les actinomycètes possèdent une forme filamenteuse fins ramifiées et enchevêtrés, d'après **Aouiche et al. (2012)**, **Taleb et al., (2020)**, ont confirmé que tous les actinomycètes appartiennent au phylum *d'actinobacteria* qui regroupe des bactéries Gram positive ce qui confirme l'appartenance de nos isolats au groupe des actinomycètes. Aussi d'après **Balasubramaniam et**

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



**Planche 03.** Coloration de Gram de quelques isolats d'actinomycètes ( G ×100) .

L'importance de la taxonomie microbienne et la description des traits culturels par les isolats d'actinomycètes cultivés dans la gamme ISP, c'est-à-dire la croissance, et la production de pigments ou sur la base d'étude de notre isolats sur la gamme ISP (ISP1, ISP2, ISP3 , ISP4 , ISP5, ISP6, ISP7), la plupart de ces isolats sont apparues après une période de culture dans tous les milieux utilisés ,avec une croissance moyenne à une croissance importante après 7 à 14 jours avec différentes degrés de croissance .Les résultats montrent que tous les isolats d'actinomycètes testées ont une croissance très forte sur différentes milieu des ISP de ISP1 jusqu'au ISP7 par

contre il y'a quelque isolats qui sont croit d'une faible degrés de croissance sur certains milieux des ISP comme ATSP 1, en revanche qu'il y'a des isolats ne croient pas sur ISP3 et ISP1 comme ATSP 3 ainsi que ATSP 2 sur milieu ISP6, et ISP4, ATSP 1, GH 60, GH 61, OS 65, OS 66, ATP 41, ATP 28, ATSP 15, ATSP 77 sur ISP7 (**planche 04**), donc on suppose qu'ils appartiennent au genres de *Streptomyces*.

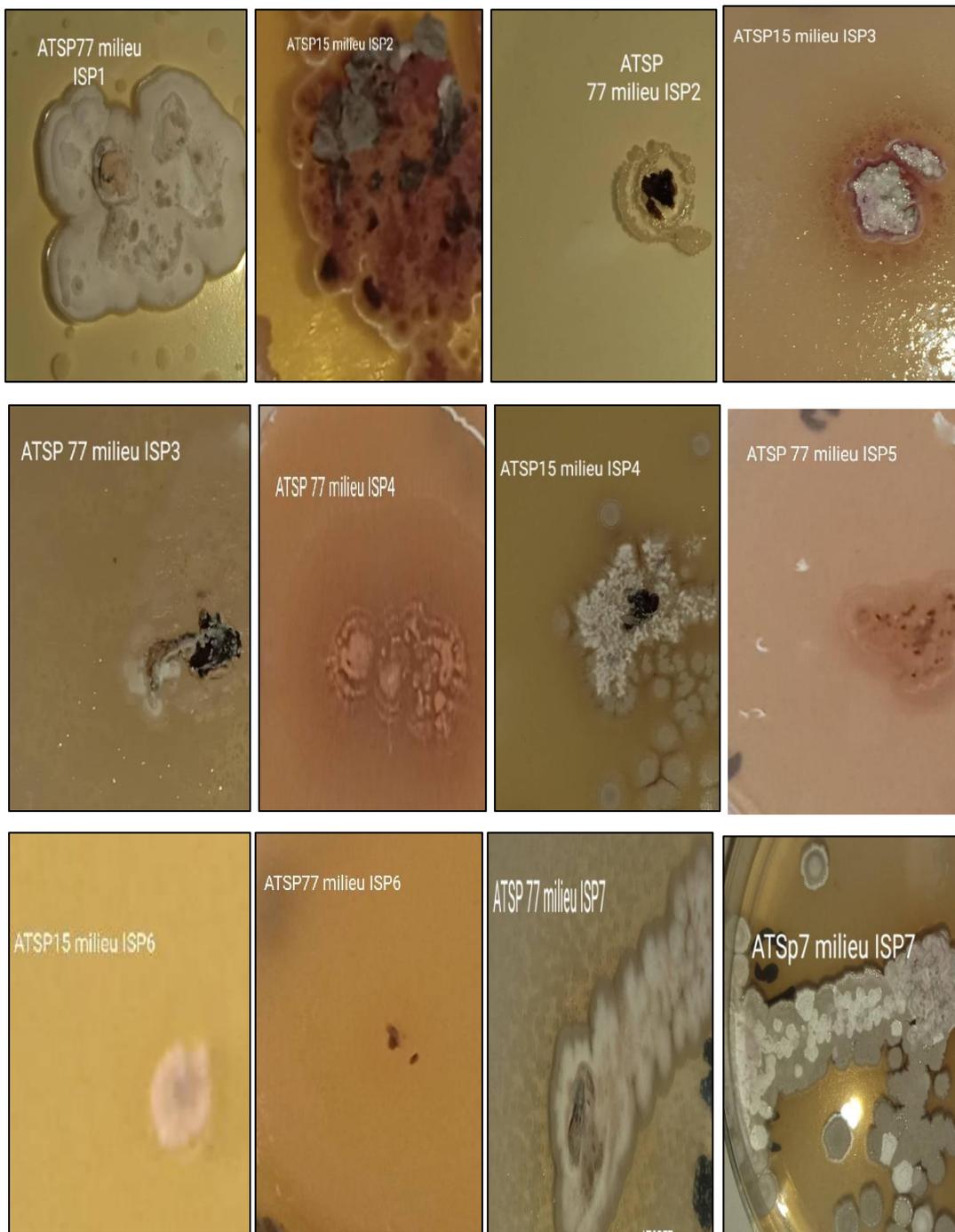
La croissance de tous les isolats commence par la formation d'un mycélium très ramifié dans le milieu et également la surface de la gélose, la couleur des hyphes aérien variant d'une souche à l'autre, peut être gris foncé, beige, gris clair, blanc, pour certains isolats cultivés sur la gamme ISP, la couleur de mycélium aérien varie d'un milieu à l'autre, par conséquent la composition de milieu peut être responsable de cette différence sur la base de ces études de **Boukhali et al., (2020)** et **Bakdi et al., (2016)** ont rapporté que la composition de milieu a des implications importantes pour le développement de la MA pour certains genres d'actinomycètes tels que *Streptomyces*.

Le MA prendre deux ou trois couleurs dans le mêmes isolements sur des supports différents des milieux par exemple : la souche ATSP 15 d'un couleur de MA gris sur tous les milieux ISP1, ISP2, ISP3, ISP4 sauf qu'un couleur rose clair sur milieu ISP5, ainsi qu'un couleur gris à noir sur milieu ISP7.

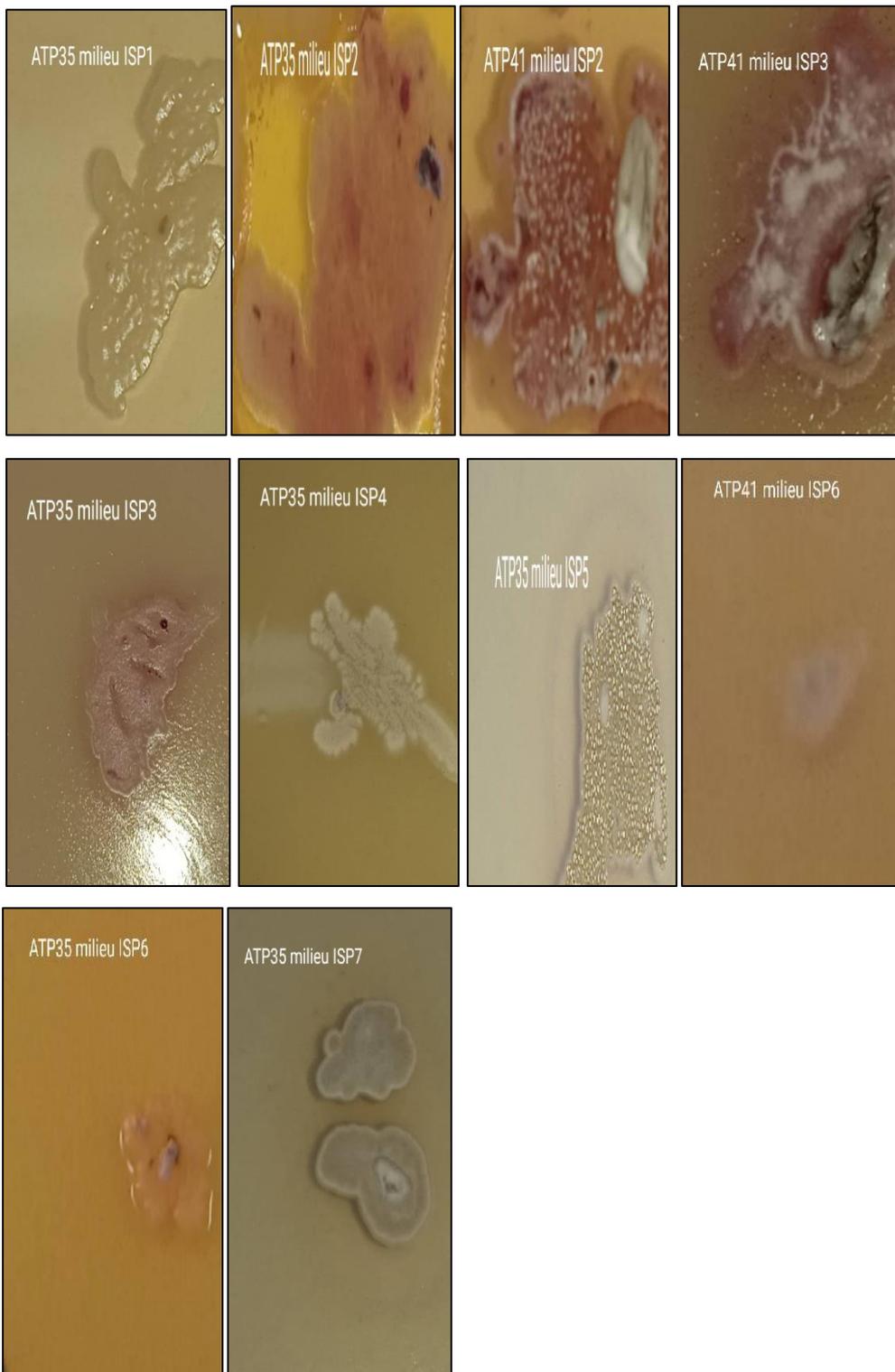
D'après les résultats obtenus ont montré que les isolats comme ATSP4, ATSP 6, ATP 28, GH 60, GH 61 produisait des pigments de différentes couleurs, la souche ATSP7 et ATSP 9 produisaient des pigments brunâtres sur ISP6 et ISP7, cette couleur est caractéristique des pigments mélanoides, ce dernier est lié au métabolisme secondaire chez les actinomycètes (**shirling et Gottlieb, 1966**), le milieu utilisé pour identifier les actinomycètes influence leurs propriétés physiologiques telle que la production de pigments mélanoides à l'exception la souche ATSP 77 ne produisait aucune pigmentation sur différents milieux des ISP (**Abbes et al., 2017**) (**voir les planches 04, 05, 06 et 07**)

Sur la base d'observation phénotypiques (croissance, apparence de colonie et coloration de gram), l'isolat ATP 28 montrent une bonne croissance dans toute la gamme ISP et présentant des traits typiques associés à *Streptomyces*.

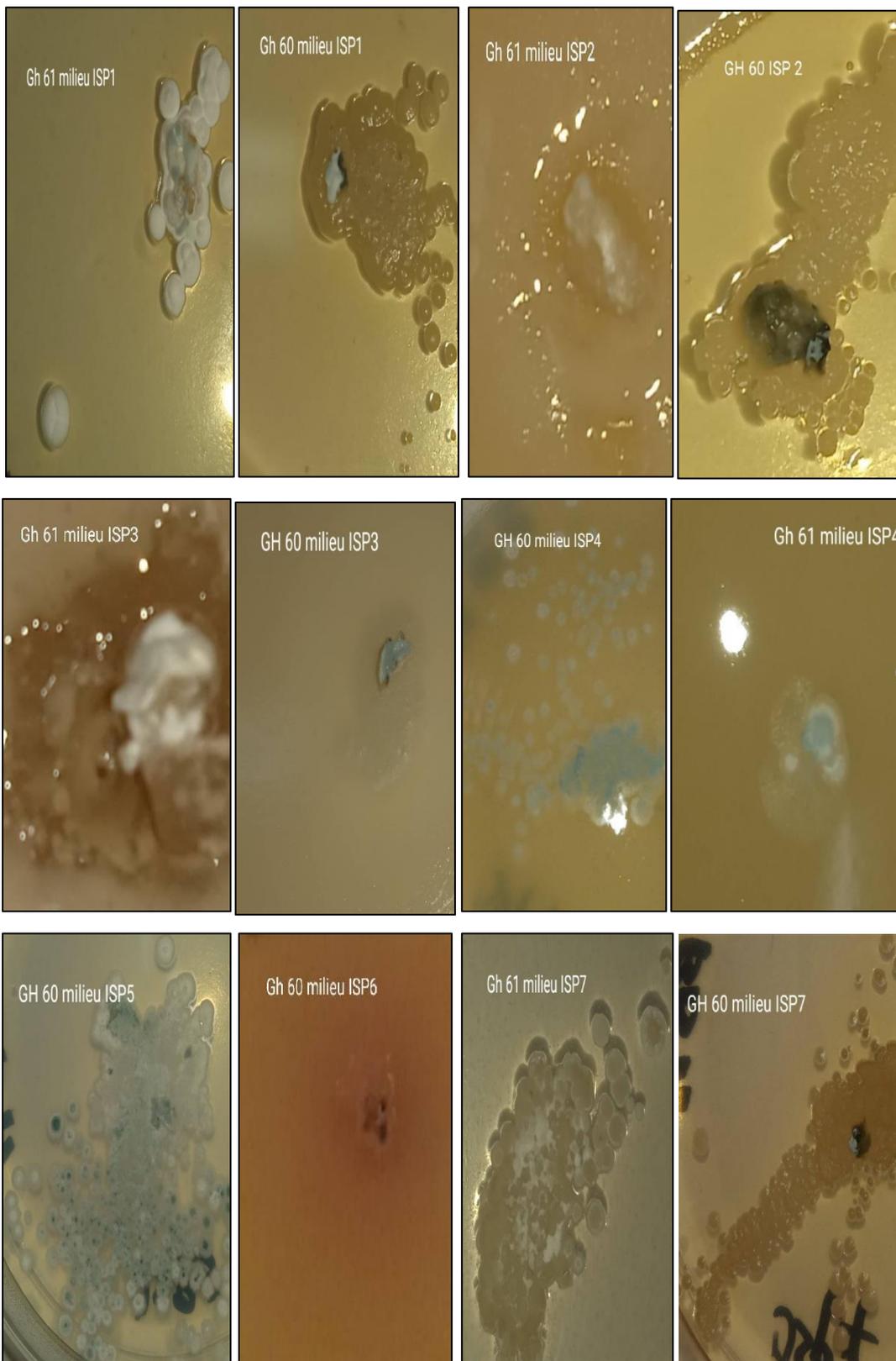
Selon **Locci et al., (1989)** et **Serrab et al., (2018)**, les souches cultivées sur une large gamme de milieux ISP présentent généralement une morphologie typique des *Streptomyces*.



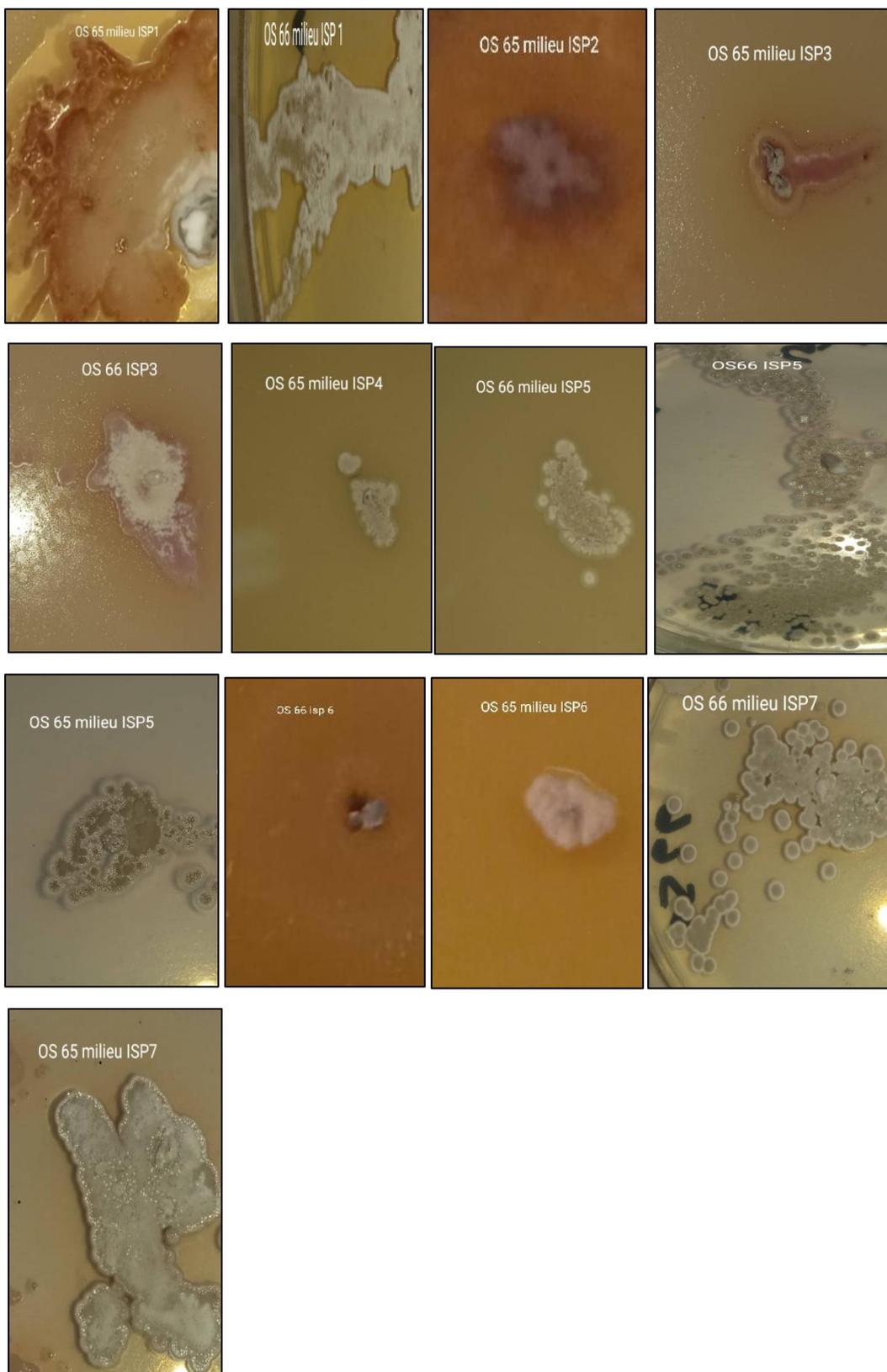
**Planche 04.** Photos des caractères cultureux de l'isolat ATSP sur les différents milieux.



**Planche 05.** Photos des caractères cultureux de l'isolat ATP sur les différents milieux.



**Planche 06.** Photos des caractères cultureux de l'isolat GH sur les différents milieux.

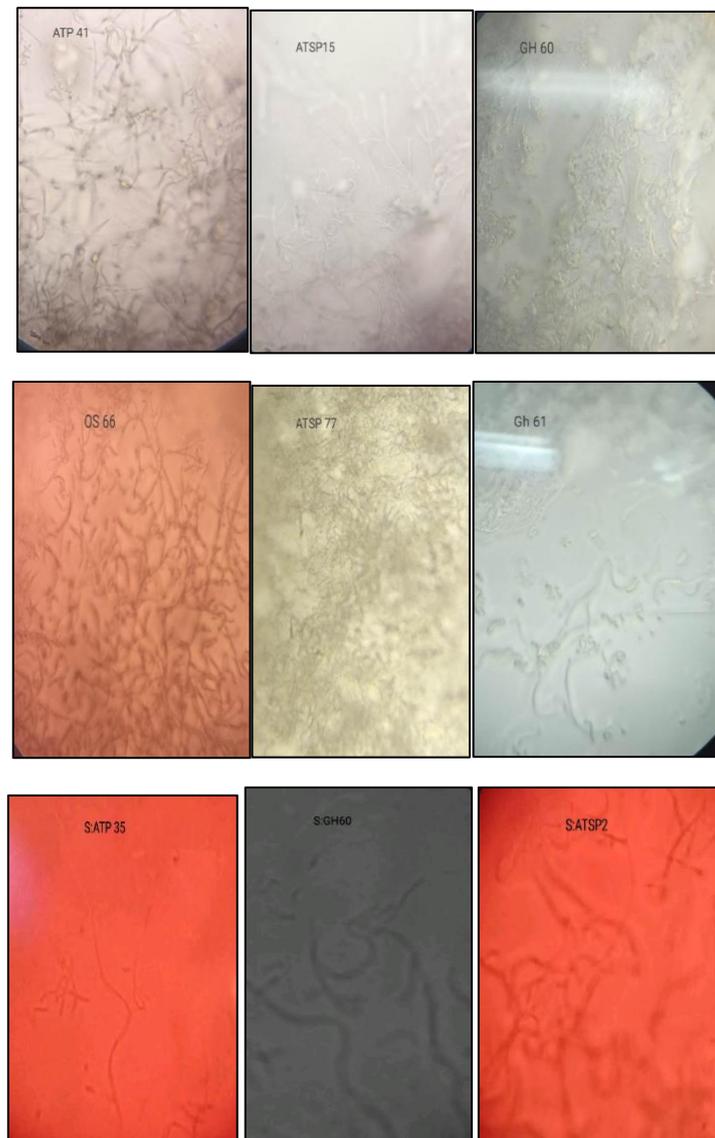


**Planche 07.** Photos des caractères cultureux de l'isolat OS sur les différents milieux.

**IV.4. Résultat de la morphologie des mycéliums aériens à l'état frais**

Les résultats de l'observation des lamelles sous microscope optique aux grossissement ( $G \times 100$ ) sont présentés dans la **planche 08**, d'après les photographies, il en ressort que portent des mycélium aérien bien développé portant des chaînes de spores en amas de formes ovales à cylindriques en tant que le mycélium de substrat sont ramifiées et non fragmentés, il s'agit de tous les souches d'actinomycètes testées (ATSP 1, ATSP 2, ATSP 3, ATSP 4, ATSP 5, ATSP 6, ATSP 7, ATSP 9, ATSP 10, ATSP 15, ATP 28, ATP 35, ATP 41, OS 66, OS 65, GH 60, GH 61, ATSP 77 et ATSP 78) .

Ces travaux exprimées par **Ramananrivo, (2017)** qui utilise la même méthode pour l'observation la différenciation des aspect développés de mycélium aérien avec les formes des spores par méthode de quadrillage.



**Planche 08.** Observation microscopiques de lamelle des différentes souches (  $G \times 100$  ) .

**V. Etude physiologiques des souches sélectionnées**

**V.1. Tolérance à différentes degrés de PH**

**Tableau 07.** Résultats de test de croissance des 19 isolats à différentes pH.

Les codes des Souches	PH				
	PH (3)	PH (5)	PH (7)	PH (9)	PH (10)
ATSP1	-	-	++	++	+
ATSP 2	-	-	+	++	+
ATSP 3	-	-	+	++	++
ATSP 4	-	-	+	++	+
ATSP 5	-	-	++	++	++
ATSP 6	-	-	+/-	++	++
ATSP 7	-	-	+	++	++
ATSP 9	-	-	++	++	+
ATSP 10	-	-	+	++	++
ATSP 15	-	-	++	++	++
ATP 28	-	-	++	++	++
ATP 35	-	-	++	++	++
ATP 41	++	++	++	++	++
GH 60	++	++	++	++	++
GH 61	-	-	+	++	+
OS 65	++	++	++	++	++
OS 66	++	++	++	++	++
ATSP 77	-	-	+	+/-	++
ATSP 78	++	++	++	++	+

(-) : pas de croissance ;(+/-) : faible ;(+) : moyenne ;(++) : importante

Les résultats présentés dans le **Tableau 07** et la **planche 09** montrent que toutes les souches à été croient au pH neutre et la plupart tolèrent des pH basique jusqu'à 10, aussi il faut noter que tous ces souches ne se développent pas à un pH acide à l'exception des 5 souche (ATP41, GH 60, OS 65, OS 66 et aussi ATSP 78) qui présente une tolérance majeure à pH(3)et pH(5)

Selon **Wang et al., (2006)**, ils citent que les actinomycètes se comportent comme des neutrophiles et se développent dans un intervalle de pH entre 7 à 8, avec une croissance optimale à un pH neutre ou légèrement alcalin, ceci est cohérent avec nos résultats la plupart de nos isolats des échantillons de sol de Hassi Tijrane que ce soit dans la région sans plante où bien de la région avec plante sont des neutrophiles et des basophiles à la fois tels que les souches (ATSP 1, ATSP2, ATSP3, ATSP4, ATSP 10 et ATP 28) à l'exception deux souche ( ATP 42 et ATSP 78) qui ont été acidophiles aussi pour notre échantillon de sol de Ghardaïa et oued sauf sont des souche acidophiles qui peuvent croitre à des valeurs de pH compris entre 3 et 5 sauf que la souche GH 61 à été neutrophile tolérant à un PH basique jusqu'à 10.



**Planche 09.** Photos des résultats du test de tolérance à différentes pH de quelques isolats.

**V.2. Croissance à différentes températures des souches représentatives**

Les résultats de croissances à différentes températures de 19 isolats d'actinomycètes étudiés sont résumés dans le **Tableau 08** et la **planche 10**.

**Tableau 08.** Les résultats de test des croissances des 19 isolats à différentes températures.

N° de souche	Température				
	4 C°	25 C°	30 C°	37 C°	44 C°
ATSP 1	-	-	+++	-	+
ATSP 2	-	+/-	+++	+/-	-
ATSP 3	-	+++	+++	+/-	-
ATSP 4	-	+++	+++	+/-	-
ATSP 5	-	+	+++	+/-	-
ATSP 6	-	-	+++	-	-
ATSP 7	-	+++	+++	+++	+/-
ATSP 9	-	-	+++	+++	-
ATSP 10	-	-	+++	-	-
ATSP 15	-	+++	+++	+	-/+
ATP 28	-	+++	+++	+	+/-
ATP 35	-	+++	+++	+	+/-
ATP 41	-	+++	+++	+	+
GH 60	-	+	+++	-	+/-
GH 61	-	+	+++	-	+/-
OS 65	-	+	+++	++	+
OS 66	-	+	+++	+	-
ATSP 77	-	+++	+++	+/-	-
ATSP 78	-	++	+++	+	-

**(-): Pas des Croissance, (+/-) : Faible, (+): Moyenne, (++): Importante, (+++): très Importante**

Selon les résultats montré dans le **Tableau 08** on a noté que la meilleure croissance à 30 C° qui se traduit par un développement plus important du MA, essentiellement tous les isolats d'actinomycètes, tandis qu'elle est moyenne à 37C° et pour les autres, elle est importante comme ATSP 7 et ATSP 9 avec la production des pigments solubles à cette dernière T ont constaté que

la croissance commence à diminuer à 44C° avec une absence du MA sauf que les 2 souches ATP 41 et OS 65 puis une absence totale du développement à partir de 4C°.

Cet isolat croit à différentes températures, notamment celle 2 à 37 C°, l'optimum de croissance est observé à 30C°, on a noté la capacité de la souche à croitre à 50 C° (thermotolérants), une croissance faible est notée pour les températures inférieures à 30 C°.

Ces résultats confortent l'idée que les actinomycètes poussent à des températures comprises entre 30C°et 40C° sont des actinomycètes mésophiles (**Kitouni, 2007**) et des actinomycètes thermophiles se développent à une température 55C° cités dans l'étude de **Smaoui (2010)** ; **Goudjal et al., (2013)** ; **Arora et al., (2015)** ; **Souagui et al., (2015)**. A partir de cette comparaison on peut dire que nos isolats sont des actinomycètes mésophiles (30 à 37 C°).

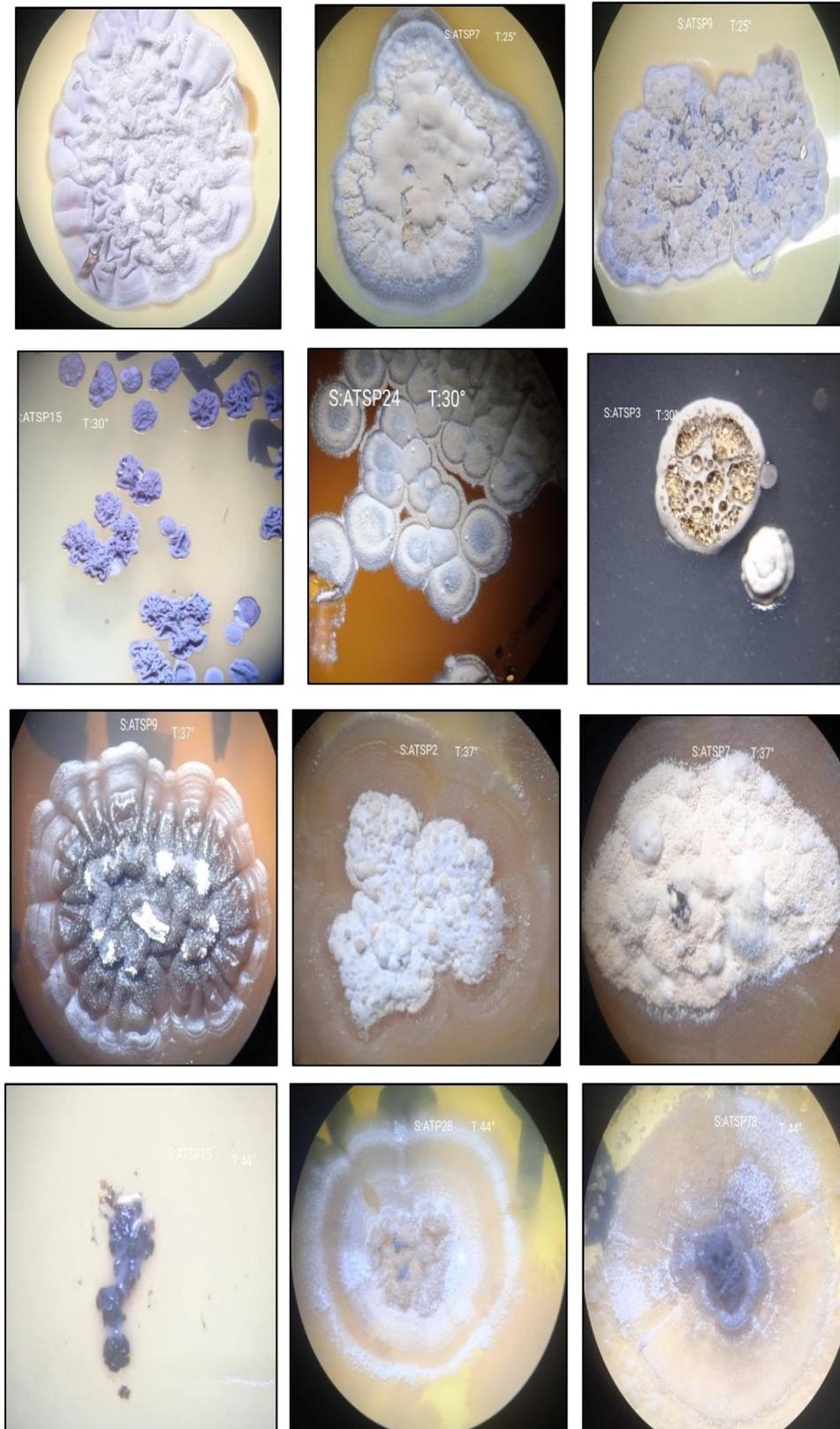


Planche 10. Photos de test de croissance à différentes températures.

**V.3. Résultat de test catalase**

Les résultats de croissances de test catalase de 19 isolats d'actinomycètes étudiés sont résumés dans le **Tableau 09**.

**Tableau 09.** Les résultats de test catalase des 19 isolats d'actinomycètes.

<b>La souche</b>	<b>Résultats de catalase</b>
<b>ATSP 1</b>	+
<b>ATSP 2</b>	+
<b>ATSP 3</b>	+
<b>ATSP 4</b>	+
<b>ATSP 5</b>	+
<b>ATSP 6</b>	-
<b>ATSP 7</b>	+
<b>ATSP 9</b>	+
<b>ATSP 10</b>	-
<b>ATSP 15</b>	+
<b>ATP 28</b>	+
<b>ATP 35</b>	-
<b>ATP 41</b>	-
<b>GH 60</b>	-
<b>GH 61</b>	-
<b>OS 65</b>	+
<b>OS 66</b>	+
<b>ATSP 77</b>	+
<b>ATSP 78</b>	+

Tous les isolats d'actinomycète testées à partir de la région de Hassi Tijran sans plante et Oued souf ont montré un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse qui indique la décomposition du peroxyde d'hydrogène et étaient donc une résultat positive, sauf que les souche ATSP 6 et ATSP 10 n'ont montré aucune réaction donc le catalase est négative. Alors que les souche testées à partir de région de Ghardaïa et Hassi Tijrane avec plante ne présente aucune réaction donc catalase négative sauf que la souche ATP 28 possède une activité catalase positive qui apparait par le dégagement des gaz sous forme de mousse.

Les résultats obtenus par **Qiong Ying et al . , (2012)** et **Bekacher (2018)** aussi **Zergoug et al., (2022)** montrent que les souches d'actinomycètes sont aérobies à catalase positive.

**V .4. La tolérance à différentes concentrations de NaCl**

Les résultats du test de tolérance à différentes concentration de NaCl sont représentés dans le **Tableau 10**.

**Tableau 10** : Résultats de test des croissances des 19 isolats à différentes concentrations de Na Cl aux % 14 jours .

NaCl Code de souche	0%	2.5%	5%	7%	10%
ATSP 1	-	-	-	-	-
ATSP 2	-	-	-	-	-
ATSP 3	+	+	-	-	-
ATSP 4	+/-	++	-	-	-
ATSP 5	+/-	+	-	-	-
ATSP 6	-	+/-	+/-	-	-
ATSP 7	-	+/-	-	-	-
ATSP 9	-	+	+/-	-	-
ATSP 10	+/-	-	+/-	+	++
ATSP 15	++	++	++	+	+
ATP 28	++	+	++	+	++
ATP 35	++	+	++	+	-
ATP 41	++	+	++	+	-
GH 60	+	+	-	-	-
GH 61	-	-	-	-	-
OS 65	++	-	+	+	++
OS 66	++	+	+	+	++
ATSP77	-	+	++	+/-	+
ATSP78	++	++	++	+	+

(-) : pas de croissance ;(+/-) : faible ; (+) : moyenne ; (++) : importante

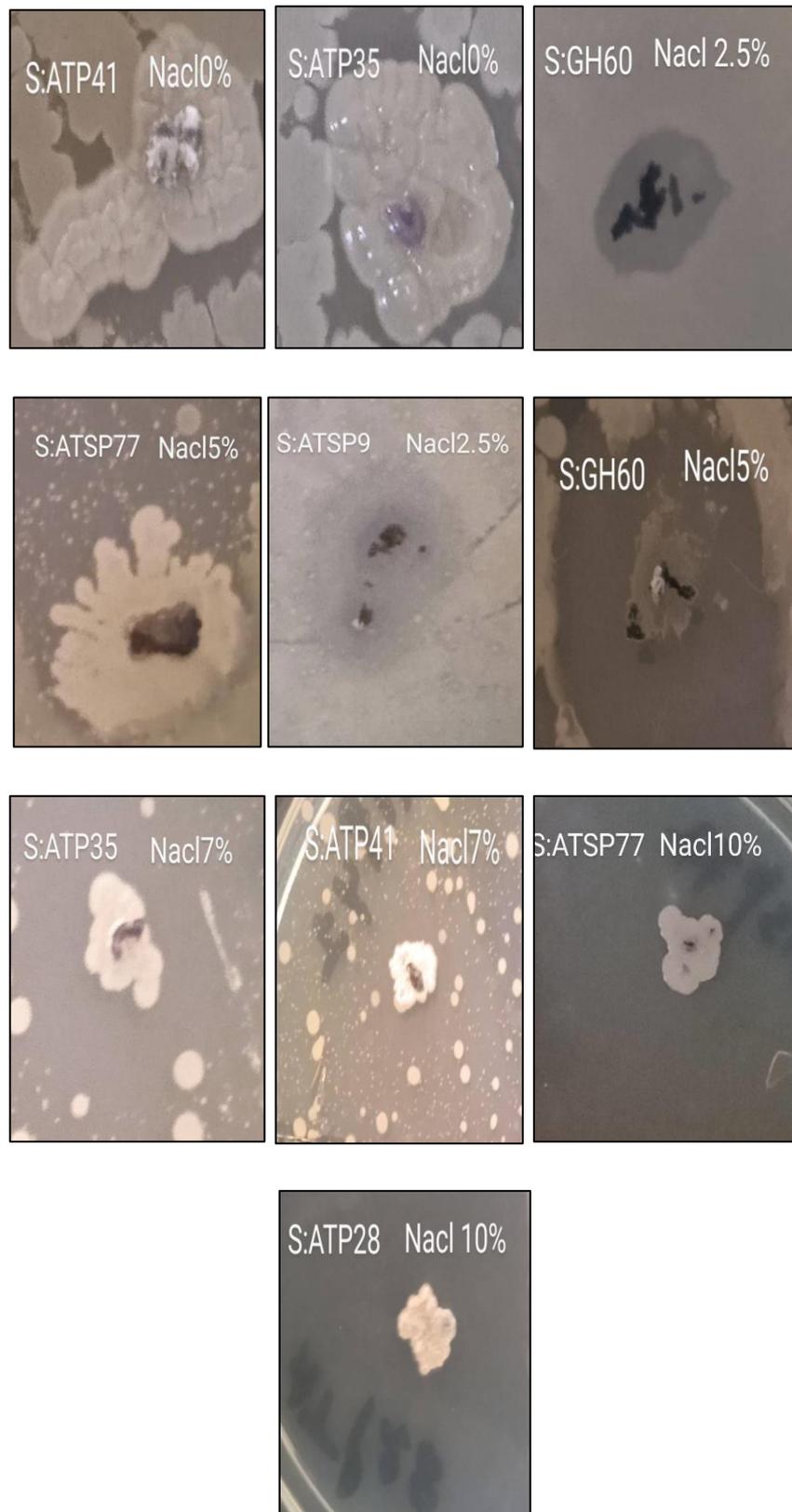
D'après les résultats du **Tableau 10** et **planche 11**, on remarque que tous les isolats se développent sur le milieu où la concentration de Na Cl est nulle (**0%**), ce qui explique que ce ne sont pas des isolats halophiles (**Messaoudi, 2011**), et la majorité de ces isolats tolère jusqu'à une concentration de 10 % de Na Cl. Par ailleurs les souches (ATSP 4, ATSP 15, ATSP 78 ) offrent une croissance très importante à 2,5 Na Cl néanmoins une croissance moyenne est observées dans les souches(ATSP 3, ATSP9, ATP 28, ATP35, ATP 41, GH 60, OS 66, ATSP 77 ) par contre l'isolat OS 65 est inhibé par une concentration de 2,5% ce qui exprime que ce isolat est faiblement halophiles et pas de croissance dans les souches (ATSP 1, ATSP10 ,GH 61) ce qui indique que ces isolats sont des actinomycètes non halophiles.

En revanche que les souches (ATSP 1, ATSP 2, ATSP 3, ATSP 4, ATSP 5, GH 61, GH 61) sont inhibées par une concentration de 5 % à 10 % ce qui correspond que ces souches d'actinomycètes ne tolèrent pas que plus de 2,5 % de Na Cl.

Tandis que les souches (ATSP 15, ATSP 77, ATSP 78, ATP 28,ATP35, ATP 41, OS 65, OS 66) offrent une croissance optimale plus que moyenne à 5%, 7% et 10% en Na Cl et sur la base de cette classification ces isolats pourrait appartenir aux actinomycètes modérément halophiles.

Autrement les bactéries halotolérantes acceptent des concentrations modérées mais non obligatoires de sels pour croissance (**DasSarma et Arora, 2001 et Lefebvre, 2005 ; Benhadj et al ., 2019**)

Les études de **Tang et al., (2003)**, montrent que les actinomycètes halophiles extrêmes exigent le Na Cl pour leur croissance et capables de pousser à une concentration de (14,63 –30,4%) Na Cl et les actinomycètes halotolérantes qui n'exigent pas le Na Cl pour leur croissance et tolèrent (1,77 à 14,63%) de Na Cl, donc lorsqu'on compare ces notions avec nos résultats on peut supposer que la majorité de ces isolats sont des actinomycètes halotolérantes qui n'exigent pas le Na Cl pour leur croissance comme (ATSP1, ATSP 2, ATSP3) et certaines tolèrent jusqu'à 10% de Na Cl, tels que les isolats (ATSP 10, ATP 28, OS 66 ).



**Planche 11.** Photos de résultats du test de tolérance à différentes concentrations de Na Cl pour quelques isolats.

**VI. Etude de la biodiversité métabolique**

Ce travail est réalisé pour démontrer la capacité métaboliques de ces isolats, y compris la production de différents types d'enzymes essentielles telles que l'amylase, la gélatinase, le lipase et le nitrate réductase ... *etc.*..ainsi on a testé la capacité d'assimiler différents types des sucres **(Boucheffa, 2011)** .

Ces tests sont basées sur la culture d'isolats d'actinomycètes dans des milieux appropriés à chaque test (voir matériels et méthodes), permettant de déterminer ultérieurement la présence ou l'absence d'activité enzymatique dans chaque isolat .Les résultats sont montrés dans le **Tableau 11 a, 11 b** et la **planche 12, 13** .

**Tableau 11 a.** Résultats de tests de la biodiversité métabolique des 19 isolats.

Test N° souche	ISP8	Citrate De Simmons	Cellulose	Lait Ecrémé	Gélatinase	Estérase	Témoin
ATSP 1	+	-	-	+	+++	+	-
ATSP 2	+	+++	+	+	+++	+	-
ATSP 3	+	+++	-	+	+++	+	-
ATSP 4	+	-	+	+	+++	+	-
ATSP 5	+	++	+	++	+++	+	-
ATSP 6	+	-	+	++	+++	+	-
ATSP 7	+	-	+	++	+++	+	-
ATSP 9	+	-	+	+++	+++	+	-
ATSP 10	+	+++	+	+	+++	+	-
ATSP 15	+	+++	+	+++	+++	+	-
ATP 28	+	-	+	+	+++	+	-
ATP 35	+	-	+	+++	+++	+	-
ATP 41	+	+++	+	++	+++	+	-
GH 60	+	-	-	+++	-	+	-
GH 61	+	+++	+	+	+++	+	-
OS 65	+	+++	+	+	+++	+	-
OS 66	+	+++	+	+	+	+	-
ATSP 77	+	-	+	++	+++	+	-
ATSP 78	+	++	-	+++	+++	+	-

**(-): Absence, (+) : Présence, (++) : Importante, (+++) : très Importante**

### VI .1. Résultats de test de production de nitrate réductase

Les résultats de la réduction du nitrate par les 19 souches d'actinomycètes testés dans les différents échantillons de sol (ATSP, ATP, GH, OS ) qui sont illustré dans le **tableau 11 a** et la **planche 12**, on constate que 100% des souches testés présentant une réduction de nitrate donc le nitrate réductase positif, cette activité est traduite par une réaction colorée en rouge après l'ajout de 3 gouttes des deux réactifs qui sont nitrate réductase 1 et 2 dans la suspension bactérienne à l'exception des souches (ATSP 10, ATSP 1, ATP 41, ATSP 2) qui n'ont montré aucun résultat donc milieu sans nitrite et cela peut s'expliquer soit par la conversion du nitrite en diazote soit par une souche microbienne sans nitrate réductase , on a ajouté le poudre de zinc dans les souches précédentes qui n'ont pas un virage de couleur vers le rouge et qui sont capable de réduire nitrate en nitrite de même une réaction évidente est marquée ce qui explique que le réactif ajouté ont in effet sur le nitrite donc le nitrate réductase est positif .

Donc les actinomycètes convertissent le nitrate en nitrite et provoquant par la suite une dénitrification.

A partir ces résultats, on peut conclure que la majorité de ces isolats possèdent une nitrate réductase d'après les études montré par **Benchaker, (2018)** et **Ktir, (2022)**.

### VI .2. Résultat de test de dégradation des sels de sodium

La décomposition des sels de sodium a été nettement observée après le passage de la couleur de l'indicateur du vert au bleu ou au bleu (le bleu de bromothymol utilisé comme indicateur de ph) sur milieu Simmons Citrate, après incubation, 53% de ces souches telles que (ATSP 2 ,ATSP3 ,ATSP 5 ,ATSP 10, ATSP15 ,ATP 41, GH 61 ,OS 65 , OS 66 et ATSP 78) puis 47% pour ces souches le milieu est resté de la même couleur (vert), indiquant que ces souches ne se sont pas développées sur ce milieu comme ( ATSP 1, ATSP 4, ATSP 6 ,ATSP 9 ,ATP 28, ATP 35, GH 60 et ATSP 77 (**Gordon et al., 1974**))

### VI .3. Résultat de dégradation de cellulose

Les résultats de l'utilisation de la cellulose par les 19 souches d'actinomycètes testées sont présentés dans le **Tableau 11a** et la **planche 12**, presque tous les souches présentent une activité cellulolytique sur milieu ISP9 contenant de la cellulose comme seule source de carbone et d'énergie. Les résultats indiquent que les souches testées possèdent de la cellulose l'enzyme (cellulase) responsable de l'hydrolyse de la cellulose sauf que 4 isolats ne possède aucune activité cellulolytique. Ces enzymes sont généralement produites par des actinomycètes (**Sanglier, 1993**) les résultats montrent que les souches d'Actinomycètes se développent sur

bandelette de papier wattman ce qui explique que ces isolats présentent une activité cellulolytique.

Différentes cellulases ont été mises en évidence dans différents genres appartenant aux actinomycètes, il s'agit principalement de *Streptomyces cellulomonas* (Jang and Chenks, 2003 ; Loliam et al., 2013), *Micromonospora* (Stutzenberger, 1988 ; Menezes et al., 2008 ; Saratale et al., 2010) Ces enzymes sont généralement majeurs produits par les actinomycètes par rapport aux autres. (Gunasinghe et al., 2020)

### VI .4. Résultats de test de l'action sur le lait écrémé

D'après les résultats exprimés dans le **Tableau 11 a** et la **planche 12**, on note que 100% des souches d'actinomycètes ont une forte croissance sur le milieu lait écrémé donc une action peut être induit sur les tubes de lait écrémé qui est la coagulation des protéines du lait écrémé .

On conclure que plusieurs travaux réalisées dans ce cadre rapporte que la majorité la des souches d'actinomycètes sont connues pour la production des coagulases (Aouar , 2006; Manseur , 2018 ; Melki , 2010) .

### VI .5. Résultat d'hydrolyse de la gélatine

Après 7 jours d'incubation, des bandes de film lumineuses sont apparues dans 99% des isolats, reflétant l'hydrolyse de la gélatine par une enzyme extracellulaire gélatinase (**Planche 12**), sauf dans le cas de la souche GH 60, la couleur de la bande n'a pas changé comme dans le témoin négatif pendant la période d'incubation (**Tableau 11 a** ). Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **Djaballah, (2010)**.

### VI .6. Résultat de dégradation des acides gras

Selon les résultats affichés dans le **tableau 11 a**, on peut dire que tous les isolats d'actinomycètes sont capables de dégrader le tween 80 donc la dégradation des acides gras est traduite par l'apparition d'un halo opaque autour de colonie ce qui est traduit la présence des estérases, elle a été détectée chez 100% de ces isolats (**planche 12** ).

Ces résultats rassemblent à ceux présentés par **Brault, (2014)** ont mis en évidence la production de lipases appartenant principalement à *streptomyces fradiae* et *streptomyces coelicolor* (**Alkama , 2014**), nos résultats montrent également qu'il existe une activité lipasique parmi les souches ayant donné des résultats positifs qui appartenant au genre *streptomyces*.

On conclure que l'utilisation de ces enzymes classées dans les bactéries filamenteuses à gram positif d'une cas exceptionnelle les actinomycètes (**Borkar, 2022**) qui sont connu pour la production de lait écrémé et la dégradation de gélatinase , Des acides gras, de sels de sodium, cellulose à partir des enzymes spécifiques tel que coagulase, nitrate réductase, gélatinase, estérases et lipases qui sont des enzymes robustes de l'actinomycètes ainsi que cellulase (**Suneeta , 2011 ; Benhadj et al., 2019** ) .

**Tableau 11 b** : Résultats de tests de la biodiversité métabolique des 19 isolats.

Test N° Souche	Amidon	Caséiné- Ase	Hymo- Lytique	Manni- Tol	Fruc- Tose	Galac- Tose	Arabi- Nose	Té- Moin
ATSP 1	-	-	Y	+	++	++	+	+
ATSP 2	-	-	Y	-	++	++	-	+
ATSP 3	+	-	Y	++	++	+	++	+
ATSP 4	+	-	Y	-	+	++	-	+
ATSP 5	-	-	Y	+	++	-	-	+
ATSP 6	+	-	Y	+	+	++	-	+
ATSP 7	-	-	Y	+	++	+	+	+
ATSP 9	-	-	Y	-	+	-	-	+
ATSP10	-	-	Y	++	-	+	+	+
ATP15	-	-	Y	++	++	++	++	+
ATP28	+	-	β	++	++	++	++	+
ATP35	+	-	β	++	++	++	++	+
ATP41	+	+	β	++	++	++	+	+
GH60	-	+	Y	+	++	+	+	+
GH61	-	-	Y	-	-	-	-	+
OS65	+	-	β	++	++	++	++	+
OS 66	+	+	β	++	++	++	+	+
ATSP77	+	-	Y	-	-	+	-	+
ATSP78	+	-	Y	++	++	++	+	+

(-): Absence, (+) : Présence, (β):Claire, (γ): Absence, (P) : pigmentation

### VI .7. Résultats d'hydrolyse de l'amidon : recherche d'amylase

A partir le **tableau 11 b** et la **planche 13** le test d'hydrolyse d'amidon est positif pour 10 isolats qui donné 53 % enzymes produit par les actinomycètes (**Gunasinghe et al., 2020**).

Donc ces souches présentent une activité amylolytique sur milieu GN à base amidon après l'addition du Lugol l'absence de coloration bleue autour des colonies bactériennes signifie que l'amidon est hydrolysé dans cette zone .Cette hydrolyse est due à la présence des amylases dans le milieu qui sont sécrétés par les actinomycètes (**Stamford et al., 2001 ; Santos et al., 2012**) comme les souches (ATSP 3, ATP 28, OS 65) alors que l'apparition d'un couleur brune des souches ( ATSP1, ATSP 15, GH 60 ) signifie que l'amidon n'a pas été hydrolysé .

Plusieurs travaux rapportent les mêmes résultats de test amylase par rapport aux souches d'actinomycètes qui sont comparables avec les études de **Allouani et al., (2019)** ainsi que **Saci et al., (2017)**, ces études confirment que les actinomycètes possèdent une activité amylytique.

### VI .8. Résultat d'hydrolyse de la caséine

Les résultats de ce test sont présentés dans le **tableau 11 b** après 14 jours de culture en milieu à base de caséine 5%, l'hydrolyse de la caséine est indiquée par l'apparition d'un halo autour des colonies et la production de caséinase par 3 souches d'actinomycètes ATP 41, GH 60, OS 66 par opposition le restes des souches ne montre aucune résultat positive de production de caséinase (**planche 13**) , la présence de ces zones claires signifie que la caséine présente dans le milieu de culture a été hydrolysée les enzymes des actinomycètes.

Plusieurs travaux réaliser sur les actinomycètes prouvent que la plupart de ses souches peuvent hydrolyser les caséines du lait (**Mihaela et al., 201; Ara et al., 2012 ; Palaniyandi et al., 2013**) et autres travaux réaliser sur les actinobactéries prouvent que la plupart des souches *Streptomycess* peuvent hydrolyser les caséines du lait (**Mihaela et al., 2011 ; Palaniyandi et al., 2013 ; Boughachiche et al., 2016**).

### VI .9. Résultat d'hémolyse : recherche d'hémolysine

D'après le **Tableau 11 b**, on peut voir que 26,32% de ces souches ont une activité B-hémolytique et 73,68% ( $\gamma$ ) n' ont pas des zones d'hémolyse ( voir matériel et méthode ).

Ces résultats concordent avec ceux présentés par **Le brun et al., (2015)** et **Guérin et al., (2008)** qui exprime que des genres *Arcanobactériu* , *Mobiluncus* et *Actinomyces* ont une activité hémolytique au gélose au sang sous forme des colonies d'activité hémolytique variable (**planche 13**).

**VI .10. Résultat de test d'utilisation des composés glucidiques**

D'après le **Tableau 11 b** et la **planche 14** on remarque que 14 isolats (soit 73, 68% ) croissent en milieu ISP9 contenant le mannitol comme une seule source de carbone alors que les restants des isolats ne sont pas poussée. Par ailleurs 16 des souches d'actinomycètes (soit 89,47% ) utilisent le fructose comme une seule source de carbone et les 3 autres n'utilisent pas le fructose, les résultats obtenues montrent la croissance des isolats ATSP 1, ATSP 3, ATSP 7, ATSP 10, ATSP 15, ATP 28, ATP 35, GH 60, OS 65, OS 66, ATSP 78 en présences de différentes souches de carbone comme galactose et arabinose avec pourcentage de 63,15%, donc ces souches ont la capacité d'utilisé le galactose et arabinose comme source de carbone pour la synthèse des métabolites essentielles à leur croissance à l'exception des souches ATSP 5, ATSP 9, GH 61 qui n'utilisent pas le galactose et arabinose comme une seule source de carbone. La souche ATSP 77 pousse seulement en présence de galactose comme un seule source de carbone (**planche 13**).

Les travaux de (**Boudjelal –Benchikh, (2012) ; Belhout , (2012) ; Hamza et al., (2018) ; Messaoudi, (2020 )** confirment ce résultats, d'un autre part, ces résultats sont similaires avec ceux par **Boudjalleb, (2009)** qui montré que les différentes souches d'actinomycètes ont la capacité d'utiliser différentes sources de carbones et produisent certains enzymes essentielles pour leur métabolisme, ces enzymes ont utilisées dans plusieurs domaines comme les industries alimentaires, l'industrie du textile, la bioconversion des déchets cellulosiques (**Melki et al., 2010 ; Merabti et al. , 2018**) .

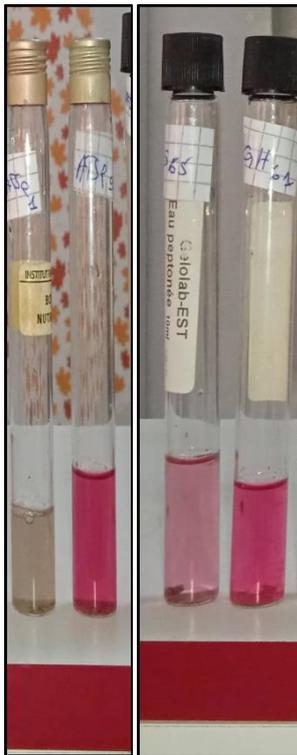
**Test de l'action sur lait écrémé**



**Test de citrate de simons**



**Test de bouillon nitrate**



**Test de gélatinase**



**Test cellulase**



**Témoin(-)**

**Planche 12.** Photos des résultats de différents tests métaboliques.

Test Amidon

Test caséinase

Test estérase

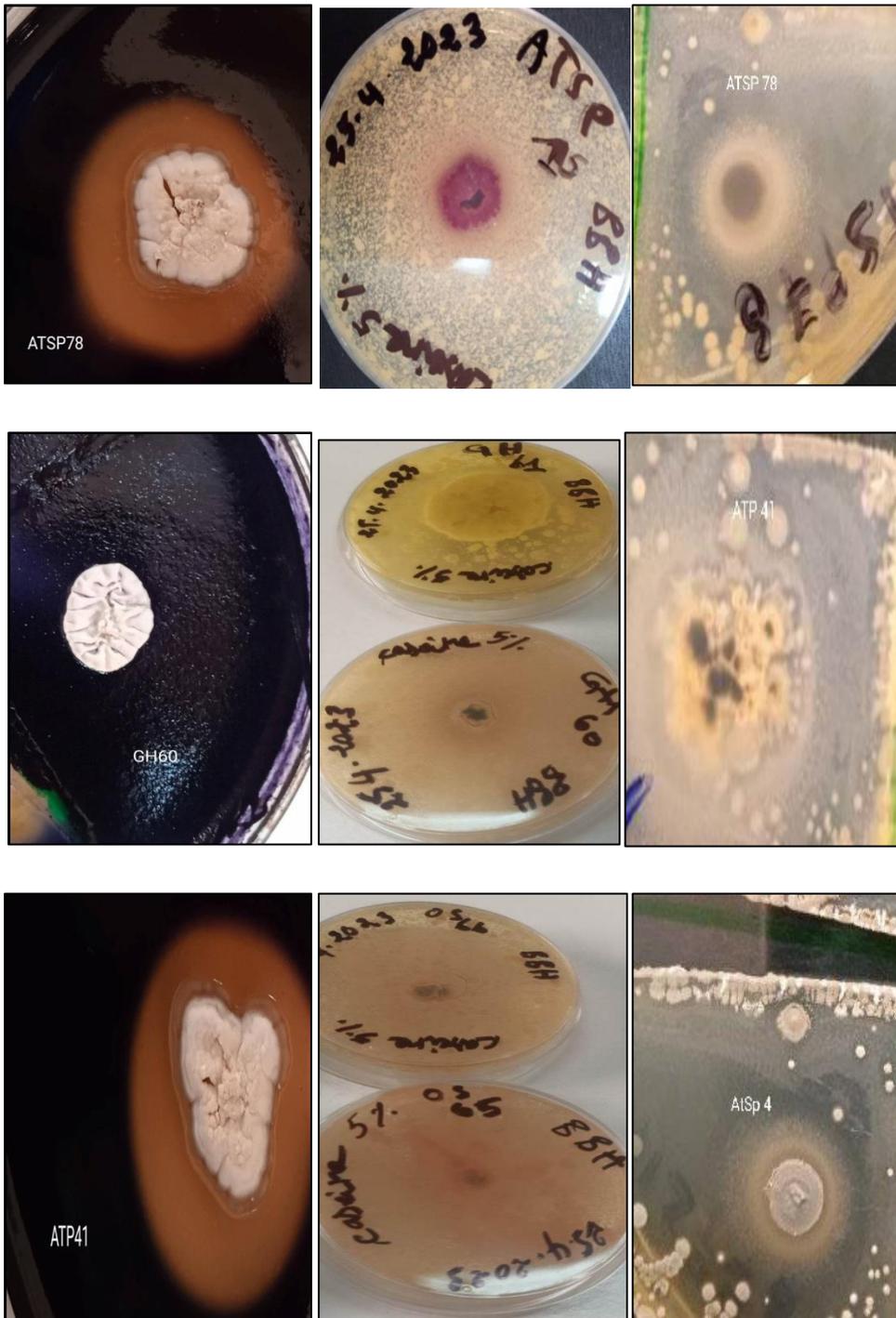
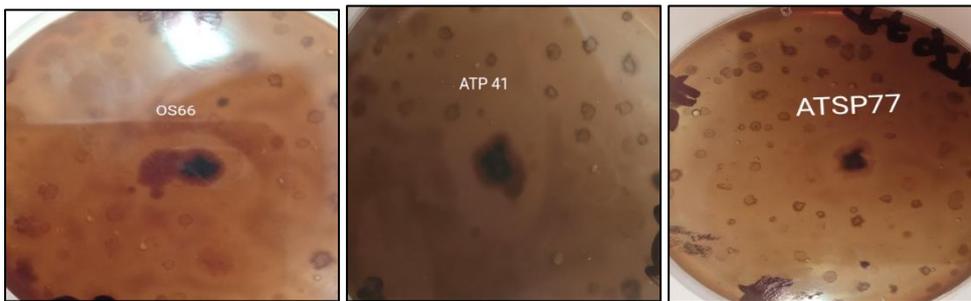


Planche 13. Photos des résultats de différents tests d'amidon, caséinase et test estérase .

Test d'hémolyse

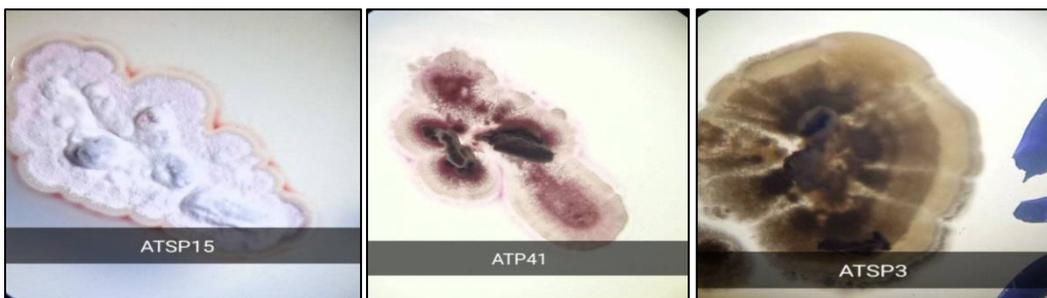


Test de dégradation des sucres

Galactose



Mannitol



Fructose Arabinose

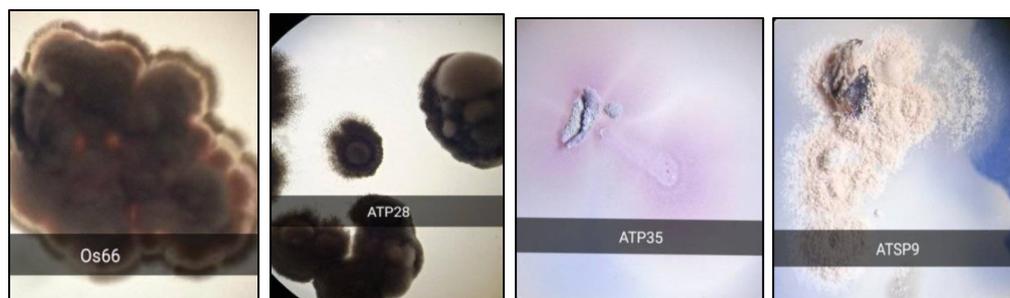
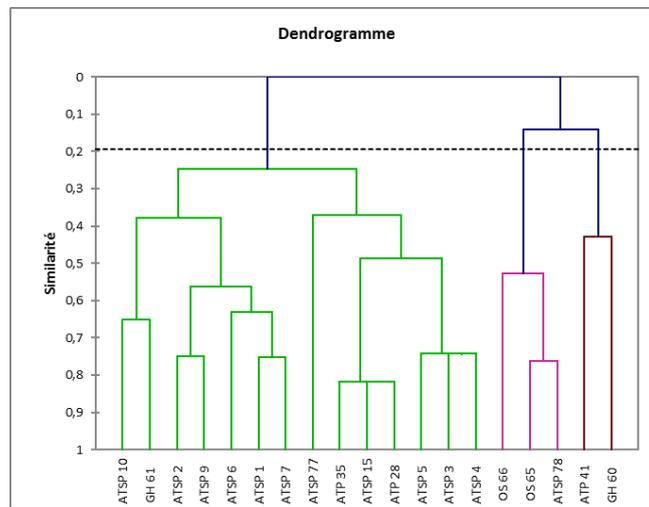


Planche 14. Photos des résultats de différents tests d'hémolyse et de dégradation des sucres.

**VII . Résultat de l'étude statistique des isolats testées**

L'étude statistique de l'ensemble des caractères phénotypiques est représenté sous forme d'un dendrogramme qui est représenté dans la **figure 15** .



**Figure 15.** Dendrogramme des tests physiologiques et chimiques des 19 isolats.

Selon les caractéristiques physiologiques et biochimiques étudiées on a été traité un dendrogramme regroupe tous ces caractères a été établi via le logiciel Excel stat version 2018.

D'après les résultats l'ensemble des 19 isolats et regroupés en 3 classes :

La première classe regroupe 14 isolats, cette classe est subdivisée en 2 sous classes la première contient des similarités entre l'isolat ATSP7, ATSP1, ATSP6, ATSP 9, ATSP 2 et ATSP 10 de l'échantillon Hassi Tijran et GH 61 de l'échantillon de sol Ghardaia. et sous classe deux contiennent l'isolat suivantes ATSP 77, ATP35, ATSP 15, ATP 28, ATSP 5, ATSP3 et ATSP 4 .

Probablement ces résultats montrent que ces isolats appartiennent aux mêmes genres mais des espèces différentes car leur caractère phénotypique est différent et les classifications selon ces derniers caractères est limitée (**Shirling et Gottlieb, (1976) ; Benhadj et al., 2018**).

La classe 2 comporte deux isolats de régions différentes (ATP 41 et GH 60) mais contient des similarités entre eux ce qui montre que ces isolats appartiennent aux mêmes mais et différentes espèces.

La classe 3 comporte une similarité entre 3 isolats de deux régions différentes oued souf et Hassi Tijran sans plante ce qui montre que ce sont des espèces différentes appartenant au même genre.

On conclure que la classe 1 comporte le nombre d'isolats les plus élevés et leur similarité importante, d'après les résultats on remarque une diversité importante des 19 isolats.

### Conclusion et perspectives

Les objectifs essentiels de ce travail étaient la caractérisation phénotypique des souches d'actinomycètes du sol des régions arides et semi-aride et la mise en évidence de leur biodiversité métabolique secondaire biologiquement active (production des enzymes et activité de biodégradation).

Dans ce travail nous avons isolée 56 souches d'actinomycètes à partir de quatre échantillons de sol prélevés à différentes régions de l'Algérie, l'échantillon de Hassi Tijran sans plante (ATSP) présentait le pourcentage le plus élevé d'isolats d'actinomycètes.

Alors que dans cette étude nous sommes basées à mettre en évidence la biodiversité métabolique biologique de 19 isolats d'actinomycètes issus de la collection total d'actinomycètes isolées.

D'autre part, nous nous intéressons aux phénotypes (macromorphologie et micromorphologie), aux aspects physiologiques. Par ailleurs la caractérisation phénotypique indique que tous les isolats sont des organismes Gram-positifs avec un aspect filamenteux caractéristique des actinomycètes (**Zergoug et al., 2020**). Ainsi on a observé une diversité culturelle sur la gamme des ISP, reconnue par les nombreuses couleurs du mycélium de substrat et du mycélium aérien aussi la présence ou l'absence de pigments solubles (**Prescott et al., 2003**), à partir des études physiologiques indiquent que la plupart des isolats sont mésophiles tolérants au sel et neutrophiles. Des études métaboliques ont révélé la capacité de l'isolat particulier qui sont capables à biodégrader diverses molécules à activité cellulolytique et amylolytique ainsi que la capacité à dégrader l'amidon, la caséine et la gélatine.

Nous pouvons conclure à l'issue de ce travail que les zones semi-aride de l'Algérie présentent une diversité taxonomique impressionnante des actinomycètes, ces derniers sont dotés d'une diversité métabolique contribuant à plusieurs activités de biodégradation.

En perspective :

-Isolement des souche des actinomycètes à partir de d'autres régions arides et semi-aride ainsi que d'élargir la gamme des milieux de cultures pour l'isolement.

-Identification moléculaire des isolats.

-Etude du pouvoir antagoniste des souches d'actinomycètes isolées vis-à-vis des bactéries, levures et champignons filamenteux.

# *Références*

## A

- *Actinomycetes. Shaal and Pulverer (Eds.). Zbl. Bakt. suppl.*, 11: 159-166.
- Ait Barka, E.A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., van Wezel, G.P., 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80, 1–43
- Alexander M. (1977). *Introduction to soil microbiology*. Krieger Publishing Company, Malabar. pp. 467–468
- ALLOUANI Mohamed, R. H. (2019). *Evaluation de l'activité enzymatique d'une souche d'actinobactéries* (Doctoral dissertation).
- Anandan, R., Dharumadurai, D., & Manogaran, G. P. (2016). An introduction to actinobacteria. In *Actinobacteria-basics and biotechnological applications*. IntechOpen.
- Anandan, R; Dharumadurai, D; Manogaran, G. P. An Introduction to Actinobacteria. In: Dhanasekaran D, Jiang Y (eds) *Actinobacteria: Basics and Biotechnological Applications*. Rijeka: Intech; 2016. p. 3-37.
- Anibou, M., 2008. Les bacteriesactinomycetales d'habitats marocains : screening de souchesproductrices de molecules a activite cytotoxique. Université Cadi Ayyad, Marrakech.
- Antoni, V. (2007). Applications IGCS au service de la biodiversité. *Lettre du Gis Sol*, (12), p-2.
- Aouar, L. (2006). Mise en évidence des actinomycètes aérobies pathogènes impliqués dans les infections traitées au service des maladies infectieuses du CHU de Constantine. *Etude des caractéristiques culturelles des souches isolées et purifiées. Mémoire de Magister.: Sc. de Biochimie et Microbiologie appliquées. Constantine: Université Mentouri Constantine*.
- Aouar, L. (2012). *Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes*, Thèse de doctorat : biochimie et microbiologieappliquées. Algérie(Constantine): Université Mentouri-Constantine, 240p.
- Aouiche A ., Sabaou N., Meklat A., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. (2012).
- *Activité antimicrobienne de Streptomyces sp PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes clinique et toxigènes résistants aux antibiotiques journal de Mycology*, vol. 22(n°1). Pp. 42-51.ISSN 1156-5233
- Aouiche A ., Sabaou N., Meklat A., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. (2012). *Activité antimicrobienne de Streptomyces sp PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes clinique et toxigènes résistants aux antibiotiques journal de Mycology*, vol. 22(n°1). Pp. 42-51.ISSN 1156-5233

- Araujo-Melo, R. D. O., de Oliveira, T. H. B., de Oliveira, C. V. J., de Araújo, J. M., de Sena, K. X., & Coelho, L. C. B. B. (2019). Actinobacteria: a renewable source of bioactive molecules with medical, industrial and pharmacological importance. *Advances and Trends in Biotechnology and Genetics, 1*, 63-79.
- Arbane, S., & KELKOULI, M. (2022). Impact de l'humidité du sol sur la production des céréales dans la région semi arides, cas de la plaine du Haut Cheliff .
- Arora, S., & Kazmi, AA (2015). L'effet de la température saisonnière sur l'efficacité d'élimination des agents pathogènes du vermifiltre pour le traitement des eaux usées. *Recherche sur l'eau* , 74 , 88-99.
- Athalye M., Goodfellow M., Lacey J. and White R. P. (1985). Numerical Classification of *Actinomadura* and *Nocardiosis*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 35 (1) : 86-98.
- Auch, A. F., von Jan, M., Klenk, H. P., & Göker, M. (2010). Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison. *Standards in genomic sciences*, 2, 117-134
- Ayari, A., Morakchi, H., & Djamila, K. G. (2012). Identification and antifungal activity of *Streptomyces* sp. S72 isolated from Lake Oubeira sediments in North-East of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 305-311

### **B**

- -Badji B, Riba A., Mathieu F., Lebrihi, et Sabaou N., (2005). Antifungal activity of saharan *Actinomadura* strain against various pathogenic and toxigenic fungi. *J. Mycol Med.* 15: 211 219
- -Baldacci, E., 1962. Tendances actuelles de la classification des actinomycetes. *Ann. Soc. Belge Med. Trop* 4, 633–646
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., & Klenk, H. P. C. C., Ouhdouch, Y., van Wezel, GP (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80, 1-43.
- Beckers, H. J., & Van der Hoeven, J. S. (1982). Growth rates of *Actinomyces viscosus* and *Streptococcus mutans* during early colonization of tooth surfaces in gnotobiotic rats. *Infection and Immunity*, 35(2), 583-587.
- Beghou, S., Bouti, N. E. H., & Benslama, O. (2020). Evaluation du pouvoir antioxydant et antibactérien de quelques souches d'actinomycetes .

- BELHOUT, N. (2012). ACTINOMYCETES SAHARIENS PRODUCTEURS D'ANTIFONGIQUES: TAXONOMIE ET ETUDE DES ANTIBIOTIQUES (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila)
- Bellefontaine, R., Gaston, A., & Petrucci, Y. (1997). *Aménagement des forêts naturelles des zones tropicales sèches* (Vol. 32). Food & Agriculture Org.
- Belyagoubi L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat. Université AboubakrBelkaïd-Tlemcen. , 14-17
- Belyagoubi, L. 2014. Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et Bactéries lactiques issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.9p.
- Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., & Bekkara, F. A. (2014). Phenolic contents and antioxidant activities in vitro of some selected Algerian plants. *J. Med. Plants Res*, 8(40), 1198-1207.
- Benkacher Sabiha, H. N. (2018). Isolement, Identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries des caries dentaires
- BERKAL, I. (2006). *Contribution à la connaissance des sols du Sahara d'Algérie* (Doctoral dissertation, INA).
- Bhatti AA, Haq S, Bhat RA (2017) Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *MicrobPathog* 111:458–467.
- Bibb, M.J. (2005). Regulation of secondary metabolism in streptomycetes. *Curr.Opin .Microbio*.8: 208–2
- Boer, W. D., Folman, L. B., Summerbell, R. C., & Boddy, L. (2005). Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS microbiology reviews*, 29(4), 795-811.
- Borkar, SS, Shetty, M., Pai, A., Chandrashekar, KS, Ram, AH, Kolathur, KK, ... & Khera, K. (2022). Trésor Enveloppé Dans Une Enigme : Chimie Et Pertinence Industrielle Des Enzymes D'Actinomycètes Rares. *Rasayan Journal of Chemistry* , 15 (4), 2493-2501
- Boubetra, D., Sabaou, N., Zitouni, A., Bijani, C., Lebrihi, A., & Mathieu, F. (2013).Taxonomy and chemical characterization of new antibiotic produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Sahara soil. *Microbiological research*, 168(4), 223-230
- BOUCHEFFA, K. (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques: Identification des souches prodde caractérisation des antifongiques produitsuctrices et Essai

- Boudemagh, A., Kitouni, M., Boughachiche, F., Hamdiken, H., Oulmi, L., Reghioua, S., ... & Boiron, P. (2005). Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra, EL-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *Journal de Mycologie Médicale*, 15(1), 39-44.
- 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 doctorant. Algéri
- Boughachiche F ,Boulahrouf A., Rachedi K., Duran R., Lauga B., Karama S., B Lynda., Boulezaz S., Boukrouma M., Boutaleb H.,(2016). Optimization of alkaline protease production by *Streptomyces* sp. strain isolated from saltpan environment. *african journal of biotechnology*.15(26) :1401-1412
- Boulali, A., & Azzouz, O. E. (2018). Etude de potentiel antioxydant des substances bioactives produit par les actinomycètes extrêmophiles (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- BOUNECHADA Imane, H. Z. (2022). Contribution à la caractérisation biologique du sol d'une zone humide Medjana wilaya de B ordj B ou A rréridj (Doctoral dissertation).
- Bourgeois, E. (2020). Évaluation de la robustesse technique et scientifique d'un bioindicateur de la qualité microbiologique du sol, la Biomasse Moléculaire Microbienne. Université de Bourgogne (UB), France.
- Bousnina, H. Synthèse bibliographique sur la recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes de la région de Ouargla (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA).
- Boussaber E., Kadmiri I. M., Hilali L., Hilali A., (2012). Comparaison de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes isolées de milieux variés. *ScienceLib Editions Mersenne*. 121203 (4).
- Boutagouga, A., & Malim, A. (2022). *Extraction des molécules a activité Antimicrobienne produites par les Streptomyces* (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa).
- Brandenburg, JE, Eby, SF, Song, P., Zhao, H., Brault, JS, Chen, S., & An, KN (2014). L'élastographie ultrasonore : la nouvelle frontière de la mesure directe de la raideur musculaire. *Archives de médecine physique et de réadaptation* , 95 (11), 2207-2219
- Brandenburg, JE, Eby, SF, Song, P., Zhao, H., Brault, JS, Chen, S., & An, KN (2014). L'élastographie ultrasonore : la nouvelle frontière de la mesure directe de la raideur musculaire. *Archives de médecine physique et de réadaptation* , 95 (11), 2207-2219.
- Brandenburg, JE, Eby, SF, Song, P., Zhao, H., Brault, JS, Chen, S., & An, KN (2014). L'élastographie ultrasonore : la nouvelle frontière de la mesure directe de la raideur

- Brault, G. (2014). Approche enzymatique pour la synthèse d'Esters Carboxyliques employés industriellement comme arômes et parfums (Thèse de doctorat, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique)
- Brehin, C. (2019). *Entéropathie du nouveau-né prématuré: approche clinique, metagénomique et métabolomique* (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).
- Buchanan, R. E. (1917). Studies in the nomenclature and classification of the bacteria II. The primary subdivisions of the schizomycetes. *Journal of Bacteriology*, 2(2), 155-164.
- Bull, A. T., Asenjo, J. A., Goodfellow, M., & Gomez-Silva, B. (2016). The Atacama Desert: technical resources and the growing importance of novel microbial diversity. *Annual review of microbiology*, 70, 215-234 .
- Busarakam K, Bull AT, Trujillo ME, Riesco R, Sangal V, van Wezel GP et al (2016) *Modestobactercaceresii* sp. nov., novel actinobacteria with an insight into their adaptive mechanisms for survival in extreme hyper-arid Atacama Desert soils. *SystApplMicrobiol* 39(4):243–251

## C

- Calvet, R. (2003). Le sol: propriétés et fonctions. Constitution, structure, phénomènes aux interfaces (Vol. 1). France Agricole Editions.
- Carro, L., Nouioui, I., Sangal, V., Meier-Kolthoff, J. P., Trujillo, M. E., Montero-Calasanz, M. D. C., ... & Goodfellow, M. (2018). Genome-based classification of micromonosporae with focus on their biotechnological and ecological potential. *Scientific reports*, 8(1), 525.
- Chamikara, P. (2016). Advanced Study on selected taxonomic groups of Bacteria and Archaea Actinomycetes. *Microbial diversity in hotspots*, 9, 1-9.
- Chandra, G., & Chater, K. F. (2014). Developmental biology of Streptomyces from the perspective of 100 actinobacterial genome sequences. *FEMS microbiology reviews*, 38(3), 345-379.
- Conn, V. M. (2005). *Molecular interactions of endophytic actinobacteria in wheat and arabidopsis*. Flinders University, Department of Medical Biotechnology..
- Das A, Khosla C (2009) Biosynthesis of aromatic polyketides in bacteria. *Acc Chem Res* 42(5):631–639

**D**

- Demain, A. L., & Solomon, N. A. (Eds.). (1985). *Biology of industrial microorganisms* (Vol. 6). Butterworth-Heinemann.
- Dholakiya, R. N., Kumar, R., Mishra, A., Mody, K. H., & Jha, B. (2017). Antibacterial and antioxidant activities of novel actinobacteria strain isolated from Gulf of Khambhat, Gujarat. *Frontiers in microbiology*, 8, 2420.
- Djaballah, C. (2010). Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha de Ain M'lila. Mémoire de Magister : Microbiologie. Algérie(Constantine) : Université Mentouri-Constantine, 85p
- Djebaili, R., Kitouni, M., & Del Gallo, M. (2021). *Criblage des souches d'actinobactéries pour leurs pouvoirs PGPR* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- Dommergues, Y., Mangenot, F. (1970). *Ecologie microbienne du sol*: (No. 631.461 DOM). Paris: Masson.

**E**

- Elbendary AA, Hessain AM, El-Hariri MD, Seida AA, Moussa IM, Mubarak AS et al(2018) Isolation of antimicrobial producing actinobacteria from soil samples.Saudi J Biol Sci 25(1):44–46
- El-Shatoury, S., Mitchell, J., Bahgat, M., & Dewedar, A. (2004). Biodiversity of actinomycetes in a constructed wetland for industrial effluent treatment. *Actinomycetologica*, 18(1), 1-7.
- El-Tarabily, K. A., Nassar, A. H., Hardy, G. S. J., & Sivasithamparam, K. (2009). Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *Journal of Applied Microbiology*, 106(1), 13-26.
- En ligne Flårdh, K. (2010). Polarité cellulaire et contrôle de la croissance apicale chez *Streptomyces*. *Opinion actuelle en microbiologie*, 13 (6), 758-765. Mighélez E.M., Hardisson C. and Manzanal M.B. 2000. *Streptomyces*: A new model to study cell death. *J. Cell. Biol.* 3: 153–158.

**F**

- Fenni, Z., Kouider, M., & Boutellis, T. E. (2018). *Vers une architecture des limites: Construire en milieu désertique* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

## G

- Gacem, M. A., Ould-El-Hadj-Khelil, A., Boudjemaa, B., & Wink, J. (2020). Antimicrobial and antioxidant effects of a forest actinobacterium v 002 as new producer of Spectinabilin, Undecylprodigiosin and Metacycloprodigiosin. *Current microbiology*, 77(10), 2575-2583
- Gao, B., & Gupta, R. S. (2012). Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 76(1), 66-112.
- Garrity, G. M., Bell, J. A., & Lilburn, T. (2005). Class I. Alphaproteobacteria class. nov. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology* (pp. 1-574). Springer, Boston, MA.
- Garrity, G.M., Bell, J.A. & Lilburn, T.G. 2004. Taxonomic Outline of the Prokaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition. Release 5.0. Springer-Verlag, New York., May 2004: 1-399. [DOI: 10.1007/bergeysoutline200405]
- Gasmı, M., & Kitouni, M. (2017). *Isolement, identification et criblage d'actinomycètes à activité chitinolytique à partir du sol de la région de Laghouat* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1)
- Geraldine, M. (1981). A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. *Journal of General Microbiology*, 127, 237-259.
- Ghorbani-Nasrabadi, R., Greiner, R., Alikhani, H. A., Hamedi, J., & Yakhchali, B. (2013). Distribution of actinomycetes in different soil ecosystems and effect of media composition on extracellular phosphatase activity. *Journal of soil science and plant nutrition*, 13(1), 223-236.
- Girard M.C., Walter C., Remy J.C, Businelli D.B et Morel J.L., (2005). Sols et environnements. Collection : Sciences sup. 80p
- Glaeser, S. P., & Kämpfer, P. (2015). Multilocus sequence analysis (MLSA) in prokaryotic taxonomy. *Systematic and applied microbiology*, 38(4), 237-245.
- Glycolipodepsipeptide antibiotic ramoplanin, as *Actinoplanes ramoplaninifer* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(10), 4181-4188.
- Gobat J.M., Aragno M. et Matthey W., (2003). Le sol vivant. Bases de pédologie. Biologie des sols. 2ème Edit. Presses polytechniques et universitaires romandes. 571P
- Gobat, J. M., Aragno, M., & Matthey, W. (2010). *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols* (Vol. 14). PPUR Presses polytechniques .
- Gómez-Hernández, A., Otero, Y. F., de las Heras, N. et al. (2012). Brown fat lipotrophy and increased visceral adiposity through a concerted adipocytokines overexpression induces vascular insulin resistance and dysfunction. *Endocrinology*, 153(3), 1242-1255.

- Goodfellow, M. (1971). Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria. *Microbiology*, 69(1), 33-80.
- Goodfellow, M. et S. T. Williams. 1983. Ecology of the actinomycetes. *Annu. Rev. Microbiol.* 37: 189-216.
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M.E., Suzuki, K., Ludwig, W., Whitman, W.B (ed). (2012). *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2nd Edn., vol 5. The Actinobacteria, part A and B. Springer, New York, NY; Dordrecht; Heidelberg; London: Springer.
- Gordon, R. e. (1974). *Nocardia coeliaca* *Nocardia autotrophica*, and the *Nocardin* strain. *International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,(1), 54-63.
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Yekkour, A., Sabaou, N., Mathieu, F., & Zitouni, A. (2014). Lutte biologique contre la fonte des semis de *Rhizoctonia solani* et promotion de la croissance des plants de tomate par des actinomycètes endophytes isolés de plantes indigènes du Sahara algérien. *Recherche microbiologique* , 169 (1), 59-65.
- Gras R., (1988). *Physique du sol pour l'Aménagement*. Masson, paris. 12p
- Gratzfeld, J. (Ed.). (2004). *Industries extractives dans les zones arides et semi-arides: planification et gestion de l'environnement* (Vol. 1). Iucn.
- Grigorova, R., & Norris, J. R. (1990). *Techniques in microbial ecology. (No Title)*.
- Gunasinghe Y., Edirisinghe E. 2020. Industrially Important Enzyme and Plant Growth Promoter Potential of Soil Actinomycetes. Department of Microbiology, University of Kelaniya, SRI LANKA , Volume-7,
- Gunasinghe Y., Edirisinghe E. 2020. Industrially Important Enzyme and Plant Growth Promoter Potential of Soil Actinomycetes. Department of Microbiology, University of Kelaniya, SRI LANKA , Volume-7.
- Gupta, D., Julka, A., Jain, S., Aggarwal, T., Khanna, A., Arunkumar, N., & de Albuquerque, V. H. C. (2018). Optimized cuttlefish algorithm for diagnosis of Parkinson's disease. *Cognitive systems research*, 52, 36-48 .

## H

- Hadjira, B. O. U. D. J. E. L. L. A., Karima, B. O. U. T. I., Lynda, L. A. M. A. R. I., & Nasseridine, S. A. B. A. O. U. (2014). Activité antilevurienne d'une souche d'actinobactérie appartenant au genre *Streptosporangium* et isolée d'un sol saharien

- Hahnke, R. L., Meier-Kolthoff, J. P., García-López, M., Mukherjee, S., Huntemann, M., Ivanova, N. N., ... & Göker, M. (2016). Genome-based taxonomic classification of Bacteroidetes. *Frontiers in microbiology*, 7, 2003
- Hamza, K., Bouali, H., Bouras, N., Bouallala, M., Badji, B., Klenk, H., & Sabaou, N. (2018). EFFET DES MONOSACCHARIDES SUR LA CROISSANCE ET LA PRODUCTION DE CHLORAMPHENICOL CHEZ DEUX SOUCHES DE SACCHAROTHRIX LONGISPORA (PAL 54 ET PAL 42) ISOLEES D'UN SOL DE LA PALMERAIE DE GHARDAÏA. *African Review of Science, Technology and Development*, 3(1)
- Hamza, K., Bouali, H., Bouras, N., Bouallala, M., Badji, B., Klenk, H., & Sabaou, N. (2018). EFFET DES MONOSACCHARIDES SUR LA CROISSANCE ET LA PRODUCTION DE CHLORAMPHENICOL CHEZ DEUX SOUCHES DE SACCHAROTHRIX LONGISPORA (PAL 54 ET PAL 42) ISOLEES D'UN SOL DE LA PALMERAIE DE GHARDAÏA. *African Review of Science, Technology and Development*, 3(1)
- Hillel, D., De Backer, L. W. (1984). L'eau et le sol: principes et processus physiques (pp. 75-85). Leuven,,Belgium: Vander.
- Holt, R. D., & Lawton, J. H. (1994). The ecological consequences of shared natural enemies. *Annual review of Ecology and Systematics*, 25(1), 495-520.
- Huguenin, Y., Viaud, M., Cenraud-Halçaren, C., Doireau, V., Peyrard, J., Choulot, J. J., & Guérin, B. (2008). SFP-P139–Néonatalogie–Décès néonatal avec hydrops fetalis par immunisation anti-Jra. *Archives de Pédiatrie*, 15(5), 984-985

## I

- Ibrahimi, M. (2020). *Extraction et caractérisation de nouveaux antibactériens produits par les actinobactéries prédatrices d'origine marine* (Doctoral dissertation, Université de Poitiers; Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc).
- Iléna, A. G. O. U. L. M. I. N. E. (2019). Identification phylogénétique de quelques actinobactéries des sols sahariens et potentiel antagoniste contre *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.
- Islam, M. A. U. (2014). ISOLATION, CHARACTERIZATION AND SCREENING OF ACTINOMYCETES FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM THE SOIL OF GAZIPUR, BANGLADESH
- Islam, M. A. U. (2014). ISOLATION, CHARACTERIZATION AND SCREENING

**J**

- Janaki T., (2017). Enzymes From Actinomycetes. International Journal of ChemTechResearc.10(2) : 176-18
- Janaki T., (2017). Enzymes From Actinomycetes. International Journal of ChemTechResearc.10(2) : 176-18
- Jensen, P. R. (2017). Review of microbial ecology .
- Jurion, F., & Henry, J. (1969). Can primitive farming be modernised?. *Can primitive farming be modernised*

**K**

- Kalakoutsii, L. V., & Agre, N. S. (1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriological reviews*, 40(2), 469-524
- Katz, L., & Baltz, R. H. (2016). Natural product discovery: past, present, and future. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 43(2-3), 155-176.
- Kecha, M. E., & Djinni, I. (2008). Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées productrices de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Béjaia.
- Kelly, K. L. (1976). *Color: universal language and dictionary of names* (Vol. 440). US Department of Commerce, National Bureau of Standards.
- Khachatourians, G. G. (1998). Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *Cmaj*, 159(9), 1129-1136.
- Khaldi, A. (2014). La gestion non-durable de la steppe algérienne. *VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement*.
- Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J. F., & Lumyong, S. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4..
- Khattabi, A., Hilali, L., Dari, K., Assobhei, O., & Gavini, F. (2002). Isolement de microorganismes d'origine marine (Maroc) antagonistes de *Yersinia ruckeri* et *Yersinia pseudotuberculosis*. *Rev Biol Biotech*, 2, 28-32.
- Kieser, T., Bibb, M. J., Buttner, M. J., Chater, K. F., & Hopwood, D. A. (2000). *Practical streptomyces genetics* (Vol. 291, p. 397). Norwich: John Innes Foundation.
- Kitouni M (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à Partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. P: 15-17. Smaoui. S 2010 Purification et Caractérisation

de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse doc : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). Pp : 207

- Kitouni née Zerdaoui, Z., & Semra, H. (2003). Le rôle pédagogique de la bibliothèque universitaire centrale de l'université Mentouri de Constantine (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1)
- Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Hamdiken, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., 2005. Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north-east of Algeria. *Journal de Mycologie Médicale* 15, 45–51
- Kittivachra, W., Tanasupawat, S., Amnuoypol, S., & Suwanborirux, K. (2006). Identification and antimicrobial activities of actinomycetes from soils in Samed Island, and geldanamycin from strain PC4-3. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30(3), 49-56.
- Klenk, H. P., & Göker, M. (2010). En route to a genome-based classification of Archaea and Bacteria?. *Systematic and applied microbiology*, 33(4), 175-182.
- Ktir, M., Lamine, T., & Nada, B. D. (2022). Etude de la diversité métabolique et extraction des biomolécules produites par des souches d'actinomycètes (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébéssi-Tébessa)
- Kumar, C. G., Mongolla, P., Joseph, J., Nageswar, Y. V. D., & Kamal, A. (2010). Antimicrobial activity from the extracts of fungal isolates of soil and dung samples from Kaziranga National Park, Assam, India. *Journal de Mycologie Médicale*, 20(4), 283-289.

## L

- Labdaoui Fatima, Z., & MEKECHTI, H. (2021). Etude taxonomique des souches de Streptomyces isolées des sols Sahariens.
- Labeda, D. P., & Kroppenstedt, R. M. (2000). Phylogenetic analysis of Saccharothrix and related taxa: proposal for Actinosynnemataceae fam. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 50(1), 331-336.
- Lacey, J., & Cross, T. (1989). Genus Thermoactinomyces Tsiklinsky 1899, 501AL. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 4, 2574-2585.
- Lachal, A., & Bouchkima, K. (2020). Bactériologie médicale, Parasitologie et Mycologie. Institut Nationale des Professions Infirmières et Techniques de Santé, 32.
- Lahoum A., Aouiche A., Bouras N., Verheecke C., Klenk H-P., Sabaou N., Mathieu F. (2015). Activité antifongique d'une souche saharienne d'Actinomyces sp. ACD1 contre des

champignons toxigènes et autres microorganismes pathogènes. *Journal de Mycologie Médicale*, Modèles MYCMED-605; No. of Pages 8

- LAIMECHE, O. (2019). Contribution à l'étude des variations spatio-temporelles de la densité microbienne des sols (région de sebaï) (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret).
- Larpent JP, Sanglier JJ. (1989). In: *Biotechnologie des antibiotiques*. Paris: Ed.Masson. p. 481.
- Lauber, C. L., Hamady, M., Knight, R. et al. (2009). Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75(15), 5111-5120.
- LAZOUNI, F., FERHAOUI, W. S., & ZERGOUG, A. (2022). Isolement et Sélection des Souches d'Actinomycètes d'Origine Marine Productrices d'Antibiotiques (Doctoral dissertation).
- Le Brun, C., Robert, S., Bruyere, F., & Lanotte, P. (2015). Mise au point : les uropathogènes émergents. *Progrès en urologie*, 25 (7), 363-369
- Le Minor, L., Sansonetti, P., Richard, C.L., Grimont, F., Mollaret, H.H., Bercovier, H., 1989. *Entérobactéries*. Bactériologie médicale. Paris: Flammarion 389–472.
- Lechevalier M.P., (1981). Ecological associations involving actinomycetes. *In* :
- Lechevalier, M. P. (1980). The chemotaxonomy of actinomycetes. *Actinomycete taxonomy*.
- Lechevalier, M. P., & Lechevalier, H. (1986). Biology of actinomycetes not belonging to the genus *Streptomyces*. *Biotechnology Series [BIOTECHNOL. SER.]*. 1986.
- LEMINOR L., VERON M., (1989). *Bactériologie médicale*. 2<sup>ème</sup> édition. pp 335- 349
- Lemriss S., Laurent F., Couble A., Casoli E., Lancelin J. M., Sainthippierre-Bonaccio D., Rifali S., Fassouane A., Boiron P., (2003). Screening of non polyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Canadian Journal Microbiology*, 2003 Nov., 49(11), 669-74
- Letunic, I., & Bork, P. (2015). phyloT: phylogenetic Tree Generator. *PhyloT*. biobyte. de. *Nucl. Acids Res*, 10, 725.
- Leulmi N., Sighel D., Defant A., Khenaka K., Boulahrouf A., Mancini I. (2019). Nigericin and grisorixin methyl ester from the Algerian soil-living *Streptomyces youssoufiensis* SF10 strain: A computational study on their epimeric structures and evaluation of glioblastoma stem cells growth inhibition. *Natural product research*. 33(2). 266–273
- Lewin, G. R., Carlos, C., Chevrette, M. G., Horn, H. A., McDonald, B. R., Stankey, R. J., ... & Currie, C. R. (2016). Evolution and ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications. *Annual review of microbiology*, 70, 235-254.

- Liliana, C., Inga, Z., Ludmila, R., Tatiana, C., Ana, P., Andrei, A., ... & Decebal, I. (2021). Biomass of *Arthrospira platensis* enriched with lithium by bioaccumulation and biosorption process. *Food Bioscience*, 41, 100950
- Liliana, C., Inga, Z., Ludmila, R., Tatiana, C., Ana, P., Andrei, A., ... & Decebal, I. (2021). Biomass of *Arthrospira platensis* enriched with lithium by bioaccumulation and biosorption process. *Food Bioscience*, 41, 100950
- Loqman, S. (2009). *La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne: Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine* (Doctoral dissertation, Reims).
- Lorenzi, J. N. (2020). *Dynamique des génomes du genre Streptomyces* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay) .
- Loucif, K., & Kitouni, M. (2017). Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes.
- Ludwig, W., & Klenk, H. P. (2005). Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for procaryotic systematics. *Bergey's manual® of systematic bacteriology*, 49-66 .
- Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Kämpfer, P., & Whitman, W. B. (2012). Road map of the phylum Actinobacteria. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology* (pp. 1-28). Springer, New York, NY

## M

- Mabrouka Benhadj, Djamila Gacemi-Kirane, Taha Menasria, Khaoula Guebla, Zina Ahmane (2019) Screening of rare actinomycetes isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities *Journal of King saud university Science* <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.03.008>
- Ma G, Xia Z, Wu S (2009) Inhibiting effect of seven marine actinomycete strains against vegetable pathogenic microorganisms. *Crops* 5:3-9
- Mabrouka Benhadj, Ammar Ayachi ,Hocine Hacène, Ana Gonzalez-Paredes, Margarita Aguilera Culturable halophilic bacteria inhabiting Algerian saline ecosystems:A source of promising features and potentialities *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (2019) 35:132 <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2705-y->
- Mabrouka Benhadj, Djamila Gacemi-Kirane Les Actinomycètes : source de biomolécules d'intérêt (2016) Éditions universitaires européennes (livre)

- Mabrouka Benhadj, Laurence Hôtel, Djamila Gacemi-Kirane, Olivier Lespinet, Pierre Leblond, Bertrand Aigle (2018) Comparative Genomics among Closely Related *Streptomyces* Strains Revealed Specialized Metabolite Biosynthetic Gene Cluster Diversity- Antibiotics (7) 86
- Madigan, M., Martinko, J. 2007. Brock Biologie des micro-organismes. France : Edition Pearson Education.
- Makhalanyane, T. P., Valverde, A., Velázquez, D., Gunnigle, E., Van Goethem, M. W., Quesada, A., & Cowan, D. A. (2015). Ecology and biogeochemistry of cyanobacteria in soils, permafrost, aquatic and cryptic polar habitats. *Biodiversity and Conservation*, 24, 819-840.
- Manseur, I., Yahiaoui, M., & Djaballa, C. (2018). Mise en évidence de l'aptitude des microorganismes halophiles et halotolérants du sol, actinomycètes, à la biodégradation des pesticides
- Marchal, N. & Bourdon, J. L. (1973). Milieux de culture et identification biochimique des bactéries. Doin (Eds), Paris, 179 p
- Marcone, G. L., Binda, E., Reguzzoni, M., Gastaldo, L., Dalmastri, C., & Marinelli, F. (2017). Classification of *Actinoplanes* sp. ATCC 33076, an actinomycete that produces the
- Mariat, F., & Sebald, M. (1990). Les actinomycètes. *Leminor L. Bactériologie*
- Masand M. et Menghani E. (2015). Antimicrobial activity of isolates of actinomycetes from soils of semi arid regions of Rajasthan. *Word journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. Volume 4, Issue 04,1549-1556.
- MAUREL, M. C. (2003). Origines de la vie, originalité du vivant. Nouveaux débats sur le vivant, coordonnés par M.-C. Maurel et P.-A. Miquel, Editions Kimé.
- Mazkour, S., Hosseinzadeh, S. et Shekarforoush, SS (2017). Preuve de micro-organismes résistants à la chaleur avec un accent particulier sur les actinomycètes filamenteux dans les sols hyperarides de la région de GandomBeryan, désert de Lut, Iran. *Journal iranien de microbiologie*, 9 (6), 331 .
- Mbuthia, L. W., Acosta-Martínez, V., DeBruyn, J., Schaeffer, S., Tyler, D., Odoi, E., ... & Eash, N. (2015). Long term tillage, cover crop, and fertilization effects on microbial community structure, activity: Implications for soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 89, 24-34
- McLaren, W., Gil, L., Hunt, S. E., Riat, H. S., Ritchie, G. R., Thormann, A., ... & Cunningham, F. (2016). The ensembl variant effect predictor. *Genome biology*, 17(1), 1-14
- McNeil M.M. and Brown J.M. 1994. The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology. *Clin. Microbiol. Rev.* 7 (3): 357–417.

- Mederbal, K. (2002). Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à l'évaluation et la réduction des risques menaçant la diversité biologique en Algérie: Cas du surpâturage, du défrichement et de la désertification. *Rapport d'Expertise, Actes de l'atelier du PNUD sur le thème " Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à l'évaluation et la réduction des risques menaçant la diversité biologique en Algérie"*, Alger 9-10 Décembre 2002, 40p.
- Medjemadj, M., & Boudemagh, A. (2021). *Etude de la biodiversité des actinobactéries dans quelques eaux thermales de la région Est de l'Algérie* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- Meier-Kolthoff, J. P., Auch, A. F., Klenk, H. P., & Göker, M. (2013). Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC bioinformatics*, 14, 1-14
- Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H. P., & Göker, M. (2014). Taxonomic use of DNA G+ C content and DNA–DNA hybridization in the genomic age. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(Pt\_2), 352-356
- Mekhtiche, N., Guidoum, R., Hadeq, L., & Azizi, A. (2022). Etude in vitro de l'activité biologique de quelques extraits organiques préparés à partir des micro-organismes (Doctoral dissertation)
- Meliani H, Makhlouf A, Cherif A, Mahjoubi M, Makhlouf K (2022) Biocontrol of toxinogenic *Aspergillus flavus* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* by two rare Saharan actinomycetes strains and LC-ESI/MS-MS profiling of their antimicrobial products. *Saudi J Biol Sci* 29(6)
- MELKI, H. S., & OUISSI, N. (2010). LES VOIES DE METABOLISME SECONDAIRE CHEZ LES ACTINOMYCETES SACCHAROTRIX ALGERIENSIS 233 COMME MODELE (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila)
- MELLAKHI, F., BOUBEKEUR, G., & GHOMARI, F. (2022). Caractérisation primaire de biomolécules produites par les actinobactéries.
- Melouah R. (2015) .Production et extraction de quelques principes actifs isolés à partir des Actinomycètes UKM Ouargla. Mémoire de master académique. Microbiologie appliquée. Université kasdi Mesbah Ouargla. Pp.12-13
- Merabti Mounya Merabti Nawal, N. R. (2016). Evaluation et taxonomie numérique de quelques souches d'actinomycètes filamenteux isolées d'un sol agricole de la région de Guelma

- Messaoudi O., (2013). Contribution à la caractérisation des souche d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha de kenadsa (Bechar). Mémoire Magister en microbiologie appliquée .pp 32,34, 35,36
- Messaoudi, O., Bendahou, M., Benamar, I., & Abdelwouhid, D. E. (2015). Identification and preliminary characterization of non-polyene antibiotic secreted by new strain of actinomycete isolated from sebkha of Kenadsa, Algeria. *Asian pacific journal of Tropical biomedicine*, 5(6), 438-445
- Messaoudi. O (2013) ; Contribution à la caractérisation de souche d'actinomycètes
- Miguélez, E.M., Hardisson, C., Manzanal, M.B. (1999). Hyphal death during colony development in *Streptomyces antibioticus*: morphological evidence for the existence of a process of cell deletion in a multicellular prokaryote. *J Cell Biol*, 145(3): 515–2
- Mihaela C., Teodor Gh., Negoita., Gabriela E., Bahrim., Peter Stougaard., (2011). Partial characterization of cold active amylases and proteases of *Streptomyces* sp. From antarctica. *Brazilian journal of microbiology*. 42: 868-87
- Mincer, T. L., P. R. Jensen, C. A. Kauffman et W. Fenical. 2002. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *App. Environ. Microbiol.* 68: 5005-5011.
- Moncheva, P., Tishkov, S., Dimitrova, N., Chipeva, V., Antonova-Nikolova, S., & Bogatzevska, N. (2002). Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica.
- Montero-Calasanz, M. D. C., Meier-Kolthoff, J. P., Zhang, D. F., Yaramis, A., Rohde, M., Woyke, T., ... & Göker, M. (2017). Genome-scale data call for a taxonomic rearrangement of Geodermatophilaceae. *Frontiers in microbiology*, 8, 2501.
- Müller, G., Matzanke, B. F., & Raymond, K. N. (1984). Iron transport in *Streptomyces pilosus* mediated by ferrichrome siderophores, rhodotorulic acid, and enantio-rhodotorulic acid. *Journal of bacteriology*, 160(1), 313-31.
- Musculaire. *Archives de médecine physique et de réadaptation* , 95 (11), 2207-2219.

## **N**

- Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J. P., Woyke, T., Kyrpides, N. C., ... & Göker, M. (2018). Genome-based taxonomic classification of the phylum Actinobacteria. *Frontiers in microbiology*, 9, 2007 .

## **O**

- Oestergarrd, P. R., Sjoeholm, C., & Kluentner, A. M. (2009). Use of acid stable proteases in animal feed. *US7608444* .
- Okudoh, V. I., & Wallis, F. M. (2007). Antimicrobial activity of rare actinomycetes isolated from natural habitats in KwaZulu-Natal, South Africa. *South African journal of science*, 103(5-6), 216-222.
- Omura, S. (1992). Trends in the search for bioactive microbial metabolites. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, 10(3-4), 135-156.
- Oskay, A. M., Üsame, T., & Cem, A. (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *African journal of Biotechnology*, 3(9), 441-446.
- Oulmi, L., & Boulahrouf, A. (2017). Étude des infections causées par les actinomycètes aérobie autres que les mycobactéries dans la région de Constantine.

### **P**

- Palaniyandi S.A., Yang S.H., and Suh J.-W., (2013). Extracellular proteases from *Streptomyces phaeopurpureus* ExPro13 inhibit spore adhesion, germination and appressorium formation in *Colletotrichum coccodes*. *Applied Microbiology*.pp1364-5072
- Pathom-Aree W, Stach JE, Ward AC, Horikoshi K, Bull AT, Goodfellow M (2006) Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10,898 m) from the Mariana Trench. *Extremophiles* 10(3):181–189
- Pérez-Miranda, S., Cabirol, N., George-Téllez, R., Zamudio-Rivera, L. S., & Fernández, F. J. (2007). O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *Journal of microbiological methods*, 70(1), 127-13.
- Pochon J., Tardieux P., 1962. Techniques d'analyses en microbiologie des sols, 105 p., Editions de la Tourelle, St-Mand
- Pometto 3rd, A. L., Lee, B. T., & Johnson, K. E. (1992). Production of an extracellular polyethylene-degrading enzyme (s) by *Streptomyces* species. *Applied and environmental microbiology*, 58(2), 731-733.
- Prescott, E. Y. (2010). Final Environmental Assessment Franklin D. Roosevelt Presidential Library and Museum Renovation Project Hyde Park, New York.
- Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A. (2010). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition.,1120
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., (2010). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 3eme.1133

- Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A., Bacq-Calberg, C., & Dusart, J. (2003). *Microbiologie*. 2e éd. De Boeck Université, Bruxelles, 1164.
- Prescott, L. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2018). *Microbiologie*. De Boeck Supérieur.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., (2007). *Microbiologie*. De Boek& Larcier, Bruxelles, pp. 805–825

### Q

- Qin, S., Zhao, G. Z., Klenk, H. P., Li, J., Zhu, W. Y., Xu, L. H., & Li, W. J. (2009). *Nonomurea antimicrobica* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from a leaf of *Maytenus austroyunnanensis*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(11),2742-275
- Qin, S; Li, W.J; Dastager, S.G; Hozzein, W.N. Actinobacteria in Special and Extreme Habitats: Diversity, Function Roles and Environmental Adaptations. *Frontiers Media*. 2016; 7: 1415.

### R

- Rajivgandhi G, Gnanamangai BM, Prabha TH, Poornima S, Maruthupandy M, Alharbi NS, Li WJ (2022) Biosynthesized zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using actinomycetes enhance the antibacterial efficacy against *K. Pneumoniae*. *J. King Saud Univ Sci* 34(1):101731.
- RAMANANARIVO, R. (2017). ACTIVITES BIOLOGIQUES D'ACTINOMYCETES DU SOL SOUS BAOBABS DANS LES PARTIES OUEST ET MOYEN OUEST DE MADAGASCAR (Doctoral dissertation, UNIVERSITE D'ANTANANARIVO)
- Rawashdeh, R., Saadoun, I., & Mahasneh, A. (2005). Effect of cultural conditions on xylanase production by *Streptomyces* sp.(strain Ib 24D) and its potential to utilize tomato pomace. *African Journal of Biotechnology*, 4(3), 251.
- Rego A, Raio F, Martins TP, Ribeiro H, Sousa AG, Séneca J et al (2019) Actinobacteria and Cyanobacteria diversity in terrestrial Antarctic microenvironments evaluated by culture-dependent and independent methods. *Front Microbiol* 10

### S

- Sabaou, N., Hacène, H., Bennadji, A., Bennadji, H., & Bounaga, N. (1992). Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne. *Canadian Journal of Microbiology*, 38(10), 1066-1073.
- Saci, A., & Kitouni, M. (2017). Production d'alpha-amylase par *Streptomyces* sp. Ahlem, M. B. Contribution à l'étude cinétique des extraits enzymatiques de quelques de *Streptomyces* isolées du sol de la région de Mostaganem
- Salam, N., Jiao, J. Y., Zhang, X. T., & Li, W. J. (2020). Update on the classification of higher ranks in the phylum Actinobacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(2), 1331-1355
- SALIMA, T. (2010). Caractérisation d'antifongiques non polyéniques produits par des souches d'actinomycètes et essai d'optimisation de leurs milieux de production (Doctoral dissertation, Université de Béjaia-Abderrahmane Mira)
- Sangal, V., Goodfellow, M., Jones, A. L., Schwalbe, E. C., Blom, J., Hoskisson, P. A., & Sutcliffe, I. C. (2016). Next-generation systematics: an innovative approach to resolve the structure of complex prokaryotic taxa. *Scientific reports*, 6(1), 1-12
- Sanglier, J. (1993). Novel bioactive compounds from actinomycetes :à short review (1988-1992). *Res Microbiol.*, 633-642. - Sanglier, J. M. (1993). Novel bioactive compound from Actinomycetes. *Res. Microbiol* (Vol. 144)
- Sanglier, J. J., & Trujill, M. (1997). Substances bioactives produites par les actinomycètes, stratégie de sélection de souches. *Bull. Soc. Fr. Microbiol*, 12, 269-276
- Santos, H., Da Costa, M.S. (2012) Compatible solutes of organisms that live in hot saline environments, *Environmental Microbiology*, 4(9): 501-50
- Sasson, A., 1967. Recherches écophysiological sur la flore bactérienne de sols de régions arides du Maroc: Travaux de l institut scientifique cherifien et de la faculte des sciences.
- Satyanarayana, T., Johri, B. N., & Prakash, A. (Eds.). (2012). *Microorganisms in environmental management: microbes and environment*. Springer Science & Business Media.
- Schofield, G. M., & Schaal, K. P. (1981). A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. *Microbiology*, 127(2), 237-259.
- Segaran, G., Sundar, R. D. V., Settu, S., Shankar, S., & Sathiavelu, M. (2017). A review on endophytic actinomycetes and their applications. *J Chem Pharm Res*, 9(10), 152-158
- Segaran, G., Sundar, R. D. V., Settu, S., Shankar, S., & Sathiavelu, M. (2017). A review on endophytic actinomycetes and their applications. *J Chem Pharm Res*, 9(10), 152-158.
- Segaran, G., Sundar, R. D. V., Settu, S., Shankar, S., & Sathiavelu, M. (2017). A review on endophytic actinomycetes and their applications. *J Chem Pharm Res*, 9(10), 152-158.

- Selama O., Gregory C. A. Amos, Djenane Z., Borsetto CH., Rabah F .L. Porter D.,Nateche F., Elizabeth M. H. Wellington, and Hocine H. (2014). Screening for Genes Coding for Putative Antitumor Compounds, Antimicrobial and EnzymaticActivities from Haloalkalitolérantes and Haloalkaliphilic Bacteria Strains of Algerian Sahara Soils. *BioMed Research International*, volume 2014, Article ID 317524, 11pages
- Sharma, M., Dangi, P., & Choudhary, M. (2014). Actinomycetes: source, identification, and their applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), 801-832.
- Shirling and Gottlieb, E. (1966). Methods for Characterisation of Streptomyces Species. *International journal of systemic and evolutionary microbiology*(3), 313-340.
- Shirling E.B. and Gottlieb D. 1969. Cooperative description of type cultures of Streptomyces. IV. Species descriptions from the second, third and fourth studies. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 19(4): 391–512
- Sibanda, T., Mabinya, L. V., Mazomba, N., Akinpelu, D. A., Bernard, K., Olaniran, A. O., & Okoh, A. I. (2010). Antibiotic producing potentials of three freshwater actinomycetes isolated from the Eastern Cape Province of South Africa. *International journal of molecular sciences*, 11(7), 2612-2623.
- Smaoui, S. (2010). *Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés* (Doctoral dissertation).
- Smati, M., & Kitouni, M. (2020). Etude de la biodiversité des bactéries actinomycétales dans les zones humides d'Ezzemoul, Djendli et Tinsilt par des approches culturelles et moléculaires (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1)
- SoltnerD.,( 2005).La base de la production végétale Tom I. Le sol et son amélioration 24eme Edi. collection science et technique agricole. p 472
- Souagui, Y., Tritsch, D., Grosdemange-Billiard, C., & Kecha, M. (2015). Optimisation de la production antifongique par un actinomycète alcaliphile et halotolérant, Streptomyces sp. SY-BS5, utilisant la méthodologie de surface de réponse. *Journal de mycologie médicale* , 25 (2), 108-115
- Stackebrandt, E., & Schumann, P. (2000). Description of Bogoriellaceae fam. nov., Dermacoccaceae fam. nov., Rarobacteraceae fam. nov. and Sanguibacteraceae fam. nov. and emendation of some families of the suborder Micrococccineae. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 50(3), 1279-1285.
- -Stackebrandt, E., Rainey, F. A., & Ward-Rainey, N. L. (1997). Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *International journal of systematic bacteriology*, 47(2), 479-491.

- Stamford T.L.M., Stamford N.P., Coelho L.C.B., and Araujo J.M.,( 2001). Production and characterization of a thermostable $\alpha$ -amylase from *Nocardiosis* sp. endophyte of yam bean. *Bioresource Technology*.76(2) : 137–141
- Sterckeman, T., Perriguet, J., Caël, M., Schwartz, C., Morel, J. L. (2004). Applying a mechanistic model to cadmium uptake by *Zea mays* and *Thlaspi caerulescens*: Consequences for the assessment of the soil quantity and capacity factors. *Plant and Soil*, 262, 289-302.
- Sullivan D.C. and Chapman S.W. 2010. Bacteria that masquerade as fungi: actinomycosis and nocardiosis. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 7: 216–221.
- Suneetha, V., & Khan, ZA (2011). Actinomycètes : sources d'enzymes du sol. *Enzymologie du sol* , 259-269

## T

- Tabet, S., & Benderradji, M. E. (2008). Le changement climatique en Algérie orientale et ses conséquences sur la végétation forestière .
- Tang, H., Shi, X., Wang, X., Hao, H., Zhang, X. M., & Zhang, L. P. (2016). Environmental controls over actinobacteria communities in ecological sensitive Yanshan mountains zone. *Frontiers in Microbiology*, 7, 343 .
- Teja, D. D., Devi, V. S., Harsha, N., Vishala, S. S., & Lakshmi, P. S. (2014). Production of L- glutaminase from marine ecosystems and optimal conditions for maximal production by actinomycetes. *International Journal of Advanced Research*, 2(1), 485-491.
- Tindall, B. J. (2019). Rule 24b of the International Code of Nomenclature of Prokaryotes and regulating the priority of names and epithets considered to be associated with heterotypic synonyms. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(12), 3980-3983 .
- Tokala, R. K., Strap, J. L., Jung, C. M., Crawford, D. L., Salove, M. H., Deobald, L. A., ... & Morra, M. J. (2002). Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Applied and environmental microbiology*, 68(5), 2161-2171.
- Tresner, H. D., Davies, M. C., & Backus, E. J. (1961). Electron microscopy of *Streptomyces* spore morphology and its role in species differentiation. *Journal of Bacteriology*, 81(1), 70-80.
- Tseng, P. T., Cheng, Y. S., Yen, C. F., Chen, Y. W., Stubbs, B., Whiteley, P., ... & Lin, P. Y. (2018). Peripheral iron levels in children with attention-deficit hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis. *Scientific reports*, 8(1), 1-1 .

**U**

- Ugarte Nano, C. C. (2015). Etude de la variabilité des propriétés physiques et hydrodynamiques d'un sol argileux sous l'effet de conduites en protection intégrée contre les adventices (Doctoral dissertation, Dijon).
- Ul Hassan, S. S., Anjum, K., Abbas, S. Q., Akhter, N., Shagufta, B. I., Shah, S. A. A., & Tasneem, U. (2017). Emerging biopharmaceuticals from marine actinobacteria. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 49, 34-47.

**V**

- Van Wezel, G.P., McDowall, K.J. (2011). The regulation of the secondary metabolism of *Streptomyces*: new links and experimental advances. *Nat. Prod. Rep.* 28:1311–1333
- Ventura M, Canchaya C, Tauch A, Chandra G, Fitzgerald GF, Chater KF et al (2007) Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol Mol Biol Rev* 71(3):495–548
- Vijayakumar, R., Muthukumar, C., Thajuddin, N., Panneerselvam, A., & Saravanamuthu, R. (2007). Studies on the diversity of actinomycetes in the Palk Strait region of Bay of Bengal, India. *Actinomycetologica*, 21(2), 59-65.

**W**

- Wang, L. (2006). *Streptacidiphilusoryzae* sp. Nov. an actinomycete isolated from rice field soil in Thailand. *J. Sys. Ev. Microbiol*, 1257 -1261.
- Warde, A., & Gayo-Cal, M. (2009). L'anatomie de l'omnivorité culturelle : le cas du Royaume-Uni. *Poétique*, 37 (2), 119-145
- Warwick, S., Bowen, T., McVeigh, H., & Embley, T. M. (1994). A phylogenetic analysis of the family Pseudonocardiaceae and the genera *Actinokineospora* and *Saccharothrix* with 16S rRNA sequences and a proposal to combine the genera *Amycolata* and *Pseudonocardia* in an emended genus *Pseudonocardia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 44(2), 293-299.
- Wauters G., Avesani V., Charlier J., Janssens M., Vaneechoutte M. et Delmée M. 2005. The Distribution of *Nocardia* species in clinical samples and their routine rapid identification in the laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 43(6): 2624–2628.

- Wayne, L. G., Brenner, D. J., Colwell, R. R., Grimont, P. A. D., Kandler, O., Krichevsky, M. I., ... & Truper, H. G. (1987). Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(4), 463-464.
- Williams, S. T. et E. Wellington. 1982. Actinomycetes. In *Methodes of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy monograph N°. 9 (Second Edition)*. Ed., A. L. Page, pp. 969-987, ASA-SSSA. Madison
- Williams, S. T., M. Goodfellow, G. Anderson, E. M. H. Wellington, P. H. A. Sneath, M. J. Sackin. 1983a. Numerical classification of Streptomyces and related genera. *J. Gen. Microbiol.* 129: 1743-1813.
- Wink, J., Mohammadipanah, F., & Kazemi Shariat Panahi, H. (2017). Practical aspects of working with actinobacteria. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, 329-376.

### Y

- Yugal K M (2014). Isolation of Cellulose-Degrading Actinomycètes and Evaluation of their Cellulolytic Potential. *Bioengineering and Bioscience*. (5): 1-5

### Z

- -Zaitlin, B., & Watson, S. B. (2006). Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: myths, tenets and truths. *Water research*, 40(9), 1741-1753.
- 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
- Zhi, X. Y., Li, W. J., & Stackebrandt, E. (2009). An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(3), 589-608.
- Zhou, X., Shen, X. X., Hittinger, C. T., & Rokas, A. (2018). Evaluating fast maximum likelihood-based phylogenetic programs using empirical phylogenomic data sets. *Molecular biology and evolution*, 35(2), 486-503
- Zinedine, A. (2004). Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnels. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc.

- Zvyagintsev, DG, Zenova, GM, Sudnizin, II, &Doroshenko, EA (2005, novembre). La capacité des actinomycètes du sol à se développer à une humidité extrêmement faible. Dans DokladyBiological Sciences (Vol. 405, pp. 461-463). Nauka/Interperiodica.

# ***Les Annexes***

**Annexes**

**I. Les milieux d'isolement**

**1. ISP2 modifié**

Extrait de levure.....4g

Extrait de malt.....10g

Glucose.....4g

Bicromate de potassium .....30mg

Agar.....20g

H2O distillé modifié .....1000ml

PH : 7.2

**2. Caséine amidon modifié**

Lait écrémé .....0,3g

Extrait de levure .....4g

Extrait de malt .....10g

Glucose.....4g

Bicromate de potassium .....30 mg

H2O distillé modifié .....1000 ml

PH : 7.2

**II. Composition des milieux utilisés pour la purification et la conservation**

**Le milieu ISP2 :(purification et conservation )1.**

Extrait de levure.....4g

Extrait de malt.....10g

Glucose.....4g

Agar.....20g

H2O distillé .....1000ml

**2. Le milieu SFM ( conservation )**

Mannitol.....20g

Farine de soja .....20g

Agar agar .....20g

H2O distillé .....1000ml

**III. Les compositions des milieux utilisés pour l'étude morphologique des actinomycètes**

**1. Les milieux ISP**

**ISP1**

Tryptone.....5g

Extrait de levure .....3g

Agar .....20g

H2O distillée .....1000ml

**PH :7.0 a 7.2**

**ISP 2**

Extrait de levure.....4g

Extrait de malt.....10g

Glucose.....4g

Agar.....20g

H2O distillée.....1000ml

**PH : 7.2**

**ISP 3**

Avoine .....20g

Solution saline standard.....1ml

Agar.....18g

Eau distillé .....1000ml

**PH :7.2**

**L'ISP 4**

Amidon .....10g

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> .....1g

MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O .....1g  
Na Cl.....1g  
(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> .....2g  
CaCO<sub>3</sub>.....2g  
Solution saline standard.....1ml  
H<sub>2</sub>O distillée.....1000ml

Agar. ....20g

**PH :7.0 a 7.4**

**L'ISP 5**

Glycérol.....10g  
L-Asparagine.....1g  
K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> .....1g  
Solution saline standard.....1ml  
H<sub>2</sub>O distillée .....1000ml

Agar. ....20g

**PH : 7.0 a 7.4**

**L'ISP 6**

Peptone.....20g  
Extrait de levure.....1g  
Citrate ferrique ammoniacal..... 0.5g  
K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> .....1g  
Thiosulfate de sodium .....0.08g  
Agar. ....15g  
H<sub>2</sub>O distillée.....1000ml

**PH : 7.2**

**L'ISP 7**

Glycérol .....15g  
L-Tyrosine.....0.5g  
L-Asparagine .....1g  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> .....0.5g  
MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O .....0.5g  
Na Cl.....0.5g  
FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O.....0.01g

Solution saline standard.....1ml  
Agar .....20g  
H<sub>2</sub>O distillée.....1000ml

**PH : 7.2**

## **2. Composition des milieux utilisés pour l'étude physiologique**

### **2.1 Test Tolérance au Na Cl**

Peptone de caséine.....10g/l  
Extrait de levure.....5.0g/l  
H<sub>2</sub>O distillée .....1000ml  
Agar.....20.0g/l

**PH : 7.0 a 7.4**

## **3. Composition des milieux utilisés pour l'étude de la biodégradation**

### **3.1 Milieu amidon 1%**

GN.....100ml  
Amidon ..... 1g

### **3.2 Milieu caséine 5%**

Eau distille.....100ml  
Agar .....2g  
Caséine soluble .....5g

**PH : 6 à 6.5**

### **3.3 Milieu de test action sur le lait écrémé 10%**

Eau distillé .....100ml  
Lait écrémé.....10g

### **3.4 Milieu de test d'estérase**

NaNO<sub>3</sub>.....1g  
Extrait de levure .....5g  
Solution saline .....50ml  
CaCl<sub>2</sub> 2 H<sub>2</sub>O.....0.1g  
Tween 80.....10ml  
Agar .....18g  
Eau distillé.....1000ml

### **3.5 Citrate de Simmons**

Citrate de Simmons.....28.29g

Eau distillée .....1000ml

**PH** : 6 à 6.2

**3.6bouillon nitrate « ISP 8 »**

Bouillon nitrate .....21g

Eau distillée.....1000ml

**PH** : 7.2 a 7.2

**3.7 ISP 9 liquide**

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>..... 2.64g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....2.38g

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.....5.65g

MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O.....1g

Solution saline 2.....1ml

Eau distillée.....1000ml

**PH** : 6.8 a 7

**3.8 Gélose Columbia au sang de patient à 10%**

Columbia agar base .....42.5g

Eau distillé .....1000g

**IV . Les solutions et Réactifs**

**1.Solution saline standard**

K<sub>2</sub>HpO<sub>4</sub>.....0.25g

MgSo<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O.....0.125g

Na Cl .....0.125g

FeSo<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O.....0.001g

Mn SO<sub>4</sub>.....0.001g

Eau distille .....50ml

**2.Solution saline1**

FeSo<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O.....0.1g

Mn Cl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O.....0.1g

ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O.....0.1g

Eau distille.....100ml

**3.Solution saline 2**

CuSo<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O.....0.64 g

FeSo<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O.....0.11g

Mn Cl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O.....0.79g

ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O.....0.15g

Eau distille .....100ml

**4.Eau physiologique**

Na Cl .....8.5 g

H<sub>2</sub>O distillée.....1000 ml

**5.H<sub>2</sub>O distillé modifié**

Echantillon de Sol.....50g

Eau distillé .....250ml

Ajitation .....30min