



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tébessi - TEBESSA



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

Département : des Sciences de la Nature et de la Vie

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Science Biologie

Option: Microbiologie Appliquée à la Santé et l'Environnement

Thème:

# Contribution à l'étude de l'activité de biodégradation des différents isolats d'actinomycètes

**Présenté Par:**

**Melle :**

**Raouane Benaniba**

**Melle :**

**Malaoui Rahma**

**Melle :**

**Fetni khaoula**

**Devant le jury**

Mme .Taleb S

MAA Université de Tébessa

Présidente

Mme. Benhadj M

MCB Université de Tébessa

Promotrice

Melle .Smaali S

MAA Université de Tébessa

Examinatrice

Mr . Menacria .T

MCB Université de Tébessa

Co-promoteur

**Date de soutenance: 27 Juin 2020**

## *Sommaire*

**Résumé**

**المخلص**

**Abstract**

**Dédicace**

**Remerciement**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des planches**

**Liste des symboles**

**Introduction**

### **Partie bibliographique**

#### **Chapitre I : généralité sur les actinomycètes**

I- Généralités sur les actinomycètes.....	01
I-1-Définition.....	01
I-2- Taxonomie et classification .....	01
I-3- Morphologie et caractéristique culturaux .....	02
I-4-Ecologie et distribution dans la nature .....	04
I-4-1-Sols.....	04
I-4-2- Eaux douces et marines .....	05
I-4-3- L'air .....	05
I-5- Isolement et identification d' actinomycètes .....	05
I-5-1-Isolement .....	05
I-5-2-Identification.....	05

I-5-2-1-Critères morphologiques .....	05
I-5-2-1-1- Caractères cultureux ou macromorphologiques .....	05
I-5-2-1-2-Caractères micromorphologiques .....	06
I-5-2-3-Critères chimiotaxonomiques .....	07
I-5-2-4-Critères physiologiques .....	08
I-5-2-5-Critères moléculaires .....	09
II- Caractères physiologiques .....	09
II-1-Physiologie .....	09
II-1-1- Le taux d'humidité.....	09
II-1-2-Oxygène .....	09
II-1-3-La température.....	10
II-1-4-Le pH .....	10
II-1-5-Matière organique .....	10
II-1-6- Tolérance en NaCl .....	10
II-1-7- Activité de l'eau (Aw) .....	11
II-2- Caractéristiques physiologiques des actinomycètes halophiles.....	11

## **Chapitre II : Diversités métaboliques des actinomycètes**

II- Diversités métaboliques des actinomycètes.....	12
II-1- Le métabolisme des actinomycètes.....	12
II-1-1- Le métabolisme primaire.....	12
II-1-2- Le métabolisme secondaire .....	13
II-1-2-1- Substances bioactives produites par les actinomycètes .....	13
II-1-2-1-1-Les antibiotiques .....	14
II-1-2-1-2-Les enzymes et les activités de biodégradation .....	14

II-1-2-1-3- L'activité antioxydante .....	15
II-1-2-1-4- Les vitamines .....	16
II-1-2-1-5- La production des siderophores .....	16

## **Partie expérimentale**

I- Matériels utilisés .....	17
I-1- Matériels non biologiques.....	17
I-1-1-Grands matériels .....	17
I-1-2-Petits matériels.....	17
I-2-Matériels biologiques .....	18
I-3- Les milieux de cultures.....	18
I-4- Les solutions et les colorants utilisés.....	18
II- Méthode de travail.....	19
II-1- Origines des souches .....	19
II-2- Repiquage et purification des isolats d'actinomycètes .....	19
II-3- Etude des caractères morphologiques .....	19
II-3-1- Etude des caractéristiques macroscopiques.....	19
II-3-2- Etude des caractéristiques microscopiques .....	20
II-4- Etude de la biodiversité physiologique .....	20
II-4-1- Croissance à différentes températures.....	20
II-4-2-Tolérances à différents degrés de pH.....	21
II-4-3-Tolérance à différentes concentration de NaCl .....	21
II-5- Etude de la biodiversité métabolique .....	21
II-5-1- Hydrolyse de l'amidon :recherched'amylase .....	21
II-5-2- Hydrolyse de la gélatine : recherchede gélatinase .....	21

II-5-3- Action sur le lait écrémé : recherche de coagulase.....	21
II-5-4- Recherche de catalase .....	21
II-5-5-Dégradation de cellulose: recherche de cellulase .....	22
II-5-6- Dégradation des sels de sodium .....	22
II-5-7- La recherche de nitrate réductase .....	22
II-5-8- Hydrolyse de tween 80 :Recherche d'estérase .....	22
II-5-9- Hydrolyse de caséine de lait.....	22
II-5-10- La recherche de l'activité hémolytique.....	23
III- Résultats et discussion .....	24

## **Conclusion**

## **Référence bibliographique**

## **Annexe**

## Résumé

Dans ce travail un total de 12 souche d'actinomycètes ont été choisi a partir d'une collection d'actinomycètes isolés a partir d'un écosystème naturelle et ont été testé pour étudier leur capacité morphologique, physiologique, et essentiellement métabolique.

La mise en évidence des caractères morphologiques après observation macroscopique qui consiste à ensemercer par touche les différents milieux d'identification (la gamme des ISP, Bennett et GYEA). Montrer que la majorité des isolats ont une diversité culturelle.

D'après les résultats obtenus on a pu constater que la plupart des colonies sont petites, régulière ou non, aplaties ou bombées, pigmentées ou sporulées et poudreuses avec une odeur terreuse.

A partir de l'étude physiologique de la culture à différentes températures, on estime que la majorité de nos isolats sont des mésophiles.

Les critères métaboliques a révélé la présence d'une forte activité enzymatique tell que la gélatinase, coagulase, et amylase par la dégradation de différents molécules

Après différents tests réalisés nous avons pu distinguer une biodiversité morphologique, physiologique, et métabolique remarquable.

### Mots clés :

Actinomycètes – biodiversité métabolique – biodiversité morphologique –



## **Abstract**

In this work a total of 12 actinoycte strains were selected from a collection of actinomycetes their morphological, physiological, and essentially isolated from a natural ecosystem and tested for metabolic capacity.

The morphological character of the isolates after macroscopic obsevation, which consists in sowing by touch the different identification media (the range of ISP, Bennett and GYEA), showed that the majority of the isolates have a cultural diversity.

From the results obtained, it has been observed that most colonies are small, regular or not, .flattened or bulging, pigmented or sporulated and powdery with an earthy smell

Based on the physiological study of culture at different temperatures, it is estimated that the majority of our isolates are mesophiles.

Metabolic criteria revealed the presence of strong enzyme activity tell that gelatinase, coagulase, and amylase by the degradation of different molecules

After various tests we were able to distinguish a biodiversity remarkable morphological, physiological, and metabolic.

Keywords: Actinomycetes - metabolic biodiversity - morphological biodiversity-

## الملخص

تم اختيار 12 سلالة من الاكتينوميستات من قبل مشرفتنا السيدة بن حاج وتم اختبارها لقدرتها المورفولوجية والفسولوجية وبالتحديد الأيضية.

أظهرت دراسة الصفات المورفولوجية بعد الملاحظة الماكروسكوبية أن اغلبية العزلات لديها تنوع زراعي على مستوى واوساط الزرع وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها ، لوحظ أن معظم العينات لها اشكال و اصبغة مختلفة و روائح ترابية مميزة ومن خلال اختبار الزرع في درجات حرارة مختلفة تبين ان اغلبية عيناتنا معتدلة الحرارة

كشفت الخصائص الايضية وجود نشاط إنزيمي قوي مثل جيلاتيناز ، كواجولاز ، وأمياز من خلال تفكيك الجزيئات المختلفة بعد إجراء عدة اختبارات تبين لنا أن هذه السلالات المعزولة تتمتع في مجملها بتنوع مورفولوجي فيزيولوجي و ايضي ملحوظ.

: الكلمات الدالة

الأكتينوميستات - التنوع البيولوجي الأيضي - التنوع البيولوجي المورفولوجي

### Liste des tableaux

N°	Titre de Tableau	Page
1	Classification des actinomycètes selon le ‘Bergey’s Manuel de Systématique Bactériologique, (2012).	2
2	Fréquence des divers genres d’actinomycètes dans le sol	4
3	Chimiotypes rencontrés chez les actinomycètes	8
4	Types de microorganismes halophiles	11
5	Les enzymes commercialement pertinents produits par les actinomycètes	15
6	les codes des souches d’actinomycètes	18
7	les différents types d’hémolyse	23
8	les résultats de repiquage et des vérifications de la pureté des 12 isolats	24
9	les caractères morphologiques des 12 isolats sur différentes milieux	26
10	les résultats de test de croissance des 12 isolats à différentes température .	32
11	Resultats de tests de la biodiversite metabolique des 12 isolats	35

### Listes des figures

N°	Titre de Figure	Page
1	Les caractéristiques morphologiques des spores	2
2	différents types de la production de spores dans les sporanges chez les Actinomycètes (spores endogènes)	3
3	Photographies au microscope électronique d’isolats d’actinomycètes non mobiles monosporulés	6
4	Photographies au microscope électronique d’isolats d’actinomycètes non mobiles dotés d’oligospores	7
5	Photographies au microscope électronique d’un isolat d’actinomycète non mobile à Sporangies	7
6	Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes	13

### Listes des planches

<b>N°</b>	<b>Titre de Planche</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Photo représentant les caractères culturels des quelques isolats sur le milieu ISP2	25
<b>2</b>	photos représentent les caractères morphologique de 12 isolat d'actinomycètes à différents milieux	30
<b>3</b>	Photos de résultats du test de croissance des 12isolat à différents températures	33
<b>4</b>	Photo de résultat du test de l'hydrolyse de l'amidon	35
<b>5</b>	Quelque photos de résultats du test de l'action sur le lait écrémé	37
<b>6</b>	Photo de résultat du teste de gélatinase	38
<b>7</b>	Photo de résultat du teste de catalase	38
<b>8</b>	Photo représentent l'apparition d'halo claire autour les colonies sur milieux ISP4	38

## Liste des abréviations

**GC:** guanine cytosine

**MA :** Mycélium aérien

**MS :** Mycélium du substrat

**RF :** Rectus Flexibilis, (Chaines de spores droites à flexueuses)

**RA :** *RetinaculumApertum* (chaîne en Crochets ou en boucles)

**S :** *Spira* (chaîne spiralées)

**S :** sporophores

**C.SP :** Chaîne de Spores

**SP. I :** Spores isolés

**SP.m :** Spores mobiles

**SG :** Sporange

**DAP :** Acide diainopielique

**DAB :** Acide dialinobutirique

**ORM:** Ornithine

**LYS:** Lysine

**GLY:** Glycine

**GAL:** Galactose

**XYL:** Xylose

**MAD:** Madurose

**RHA :** Ramnose

**ARA :** Arabinose

**PCR :** Polyérase chaîne réaction

**BAT :** Hydroxytoluène

**BHA :** Hydroxyanisole butylé

**ISP :** International Streptomyces Project (milieu de culture)

**GYEA :** Glucose-Yeast-Extract-Agar (milieu de culture)

**ACT :** Actinomycète

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :** Peroxyde d'hydrogène

**NO<sub>3</sub>- :** Nitrate

**NO<sub>2</sub> :** Le dioxyde d'azote



## *Remerciement*

*Avant toute chose, je tiens à remercier « Allah » qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier très chaleureusement notre promotrice Mme **Benhadj Mabrouka**, Maître conférence à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Tébessa, qui a bien voulu accepter de nous prendre en charge pour réaliser ce modeste travail dont le mérite lui revient grâce à son aide à la fois matérielle et morale, ses encouragements, ses orientations, pour ses aides, sa patience, ses conseils scientifiques judicieux, sa compétence et sa gentillesse, et sans laquelle ce travail n'aurait pas vu le jour.*

*Nous tenons à remercier Mme **Taleb Salima** pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury, Qu'elle trouve ici notre sincère impression de gratitude et de respect. Notre plus vifs remerciements vont à Melle **Smaali. S**, responsable de notre spécialité microbiologie appliquée pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nous sommes honoré par sa participation au jury de cette mémoire.*

*A notre Co-encadreur Monsieur **Menaseria. T**, nous adressons notre remerciement les plus sincères pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour notre sujet de recherche. Nous le remercions de nous avoir fait confiance et d'avoir été présent aussi souvent que possible malgré ses tâches pédagogiques. Son soutien permanent et son dynamisme m'ont permis d'avancer plus loin dans mes recherches.*

*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.*

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





## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond d'amour A deux personnes les plus chers au monde mes très chers parents source de ma vie pour l'effort qu'il a suscité en moi, que dieu leur procure bonne santé et long vie.*

*A mes chers frères : Hamed et Monder ma sœur Ikram source de joie et de bonheurs et bien sûr A tous les personnes de ma grand famille source d'espoir et de motivation, je demande à dieu de les protéger.*

## **A ma copine défunte choumaïssa**

*A tous mes amies tous particulière Fatma, Ibtissam, Imen, Safa, Rim, Nousayba, khanssa, tous les jours ne sont pas oubliables avec vous, chères amies avant d'être binômes Rawen et khawla qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'étude.*

*Sans oublier mes amies de la promotion Master 2020/Option de microbiologie appliqué département de SNV, Université du Tébessa*

*A tous les personnes qui me connaît de près ou loin*

*Je vous dis merci*

*Rahma*

## *Dédicace*

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

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ;  
maman que j'adore.*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui  
qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon  
père.*

*Ace que j'aime :*

*Tous membres de ma famille*

*Mes sœur Amira, Ferdaous, Rania, Ichraf, Sameh Et Laila*

*Mes frères Lokmen, Wissem et Karim*

*Mes tantes et mes oncles*

*A mes copines décidés Choumaissa et Assia Rabi Yarhamhoms*

*A mes chères binômes Rahma et khawla et tous sa famille*

*A tous mes amie, mes collègues Rim, Nousaiba, et ma belle Feryel*

*A toute la promotion de Microbiologie Appliqué sans exception.*

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

*Enfin a tous tous ceux qui m'aiment*

*A vous ....*

*Merci*

*Rawen*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

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

*A la plus chère au monde, ma mère qui a toujours m'encouragé durant mes études. Je t'aime  
maman.*

*Je demande à Dieu les protéger et leur réserver une longue vie.*

*A mes sœurs Ahlem, Chahrazed, et Rahma, et mes très chère frères Younes et Maamar, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*A toute ma famille Fetni, et Guerfi.*

*Je dédie ce travail à mon fiancé Bassem, qui m'a toujours encouragée,*

*A toutes mes amies et surtout mon amie Saliha, en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite le succès dans la vie.*

*A mes très chère binômes Rahma et Rawen.*

*A toute la promotion master 2019/2020 option de microbiologie appliquée du Département des  
SNV, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.*

*A toute personne qui me connaît de près ou de loin.*

*Khawla*



# INTRODUCTION



## Introduction

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à coloration de Gram positif, avec une teneur élevée en G + C (69 à 78%) dans l'ADN présentant un cycle de développement très différencié qui subissent des différenciations morphologiques durant leur cycle de vie (**Prescott & Harley, 2003**). En réponse à des conditions défavorables, telle que le déficit en nutriments et en eau, Leur nombre dans la microflore tellurique dépend de la nature de la matière organique, la profondeur, le pH, l'humidité et l'aération (**Larpen et Sanglier, 1989**).

Les actinomycètes sporulent, c'est que lorsque les conditions redeviennent favorables les spores peuvent germer et former des nouveaux mycéliums végétatif. Cette propriété joue un rôle important dans leur large distribution dans la nature (**Djaballah, 2010**).

Ils sont adaptés à divers milieux écologiques, ainsi, ils peuvent être dans les sols, les eaux douces ou salines et dans l'air. Toutefois, ils se trouvent abondamment dans le sol comme le réservoir principal que les autres milieux, spécialement dans les sols alcalins et les sols riches en matière organique où ils constituent une part importante de la population microbienne. Ainsi ils jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique, ce qui rend le sol fertile et par conséquent l'amélioration des récoltes. (**Baldacci,1962**).

Les actinomycètes, une famille de bactéries s'est particulièrement illustrée par la richesse de son métabolisme et la diversité des métabolites produits (**Overbye et Barret, 2005**). Généralement, ils sont capables de métaboliser plusieurs et différents composés y compris les polysaccharides, les alcools, les acides aminés et les composés aromatiques par la production des enzymes extracellulaire (**Kitouni, 2003**). Leur aptitude de dégrader les pesticides et les herbicides et les hydrocarbures avait également été signalée, cette diversité métabolique est due à leur génome excrément large qui a une centaine de facteur de transcription qui contrôle l'expression des gènes qui leur permettent de répondre à leur besoin (**Boucheffa,2011**).

L'objectif principal de notre travail consiste à étudier les critères physiologiques et métaboliques de 12 isolats d'actinomycètes.

Pour répondre à cette problématique nous avons réalisé un travail de recherche portant sur cette thématique.

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

Afin d'atteindre notre objectif, la démarche expérimentale consiste à :

- Étudier les caractères phénotypiques des isolats d'actinomycètes en particulier les caractères macromorphologiques

- Étudier les caractères physiologiques qui consistent à tester notre isolat à différentes températures, différents degrés de PH, et différents concentration en chlorure desodium.
- Étudier les caractères métaboliques par la mise en évidence de la production de différents enzymes.



PARTIE

BIBLIOGRAPHIE





CHAPITRE I :  
GÉNÉRALITÉ SUR LES  
ACTINOMYCÈTES



---

## I. Généralité sur les actinomycètes

### 1. Définition

Les actinomycètes sont des procaryotes à Gram positif (**Williams et al. 1993 ; Sanglier et Trujillo, 1997**) à GC% supérieur à 55 % (**Goodfellow, 1983**). La plupart sont saprophytes et aérobies. Les actinomycètes sont généralement chimioorganotrophes, utilisant une grande variété de source d'énergie y compris les polymères complexes, d'autres espèces sont chimioautotrophes (**Mariat et Sebald, 1990 ; Ensign et al. 1993**). Leur paroi cellulaire, ne reforment ni chitine ni cellulose mais une glycoprotéine contenant de la lysine (formes fermentatives) ou de l'acide diaminopemilique (forme oxydatives) et leur cytologie est celle des bactéries (**Lechevalier et Lechevalier, 1985 ; Mariat et Sebald, 1990**).

Ils forment généralement des hyphes ramifiés et des spores asexuées pouvant survivre pendant de longues périodes sous des conditions hostiles (**Panchanathan et al. 2013**). Leur temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures (**Larpen et Sanglier, 1989**). Ils sont généralement mésophiles, préfèrent un pH neutre ou peu alcalin. Certaines espèces sont thermophiles tolérant des températures avoisinant 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C (**Omura, 1992**).

Les actinomycètes sont les microorganismes les plus largement distribués dans la nature (**Narayana et al., 2008**). C'est un groupe microbien qui manifeste une diversité considérable à mode de sporulation complexe, mais également grâce à leur capacité de produire un large éventail de métabolites secondaires (**Bouix, 1993**).

### 2. Taxonomie et classification

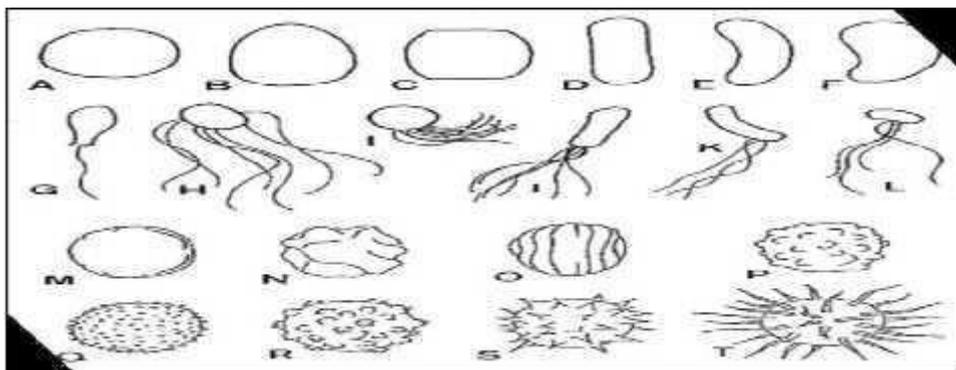
Les actinomycètes sont rattachés au phylum des *Actinobacteria*, à la classe des *Actinobacteria*, à la sous classe des *Actinobacteridae* et à l'ordre des *Actinomycetales* créé par Buchanan en 1917 (**Bergey's manual., 2007**). Le phylum *Actinobacteria* tel qu'il figure dans le **Bergey's manual** (2007) renferme une seule classe : *Actinobacteria*, cette classe est subdivisée en 5 sous classe, 6 ordres, 13 sous ordre (dont 9 appartiennent à l'ordre des actinomycétales), 41 familles, 193 genres et près de 1711 espèces. Tous les membres de cet ordre sont caractérisés par leur grande teneur en G+C%, allant de 51% chez certaines corynebactéries, à plus de 70% chez les genres *Streptomyces* et *Frankia*, (**Ventura et al. 2007**) et présentent une grande différenciation quand au développement de leur cycle de vie.

**Tableau 01:** Classification des actinomycètes selon le “Bergey’s Manuel de Systématique Bactériologique, (2012).

Domaine	Bactéria					
Phylum	Actinobacteria					
Classe	Nitriliruptoria	Acidimicrobiia	Actinobacteria	Rubrobacteria	Coriobacteria	Thermoleop hilia
Ordre			- Actinomycetales - Streptomycetales plus les 13 Ordres			
Famille	Actinomycetaceae			Streptomycetaceae		
Genre	-Actinomyces plus les 6 autres genres			Streptomyces plus les 2 autres genres.		

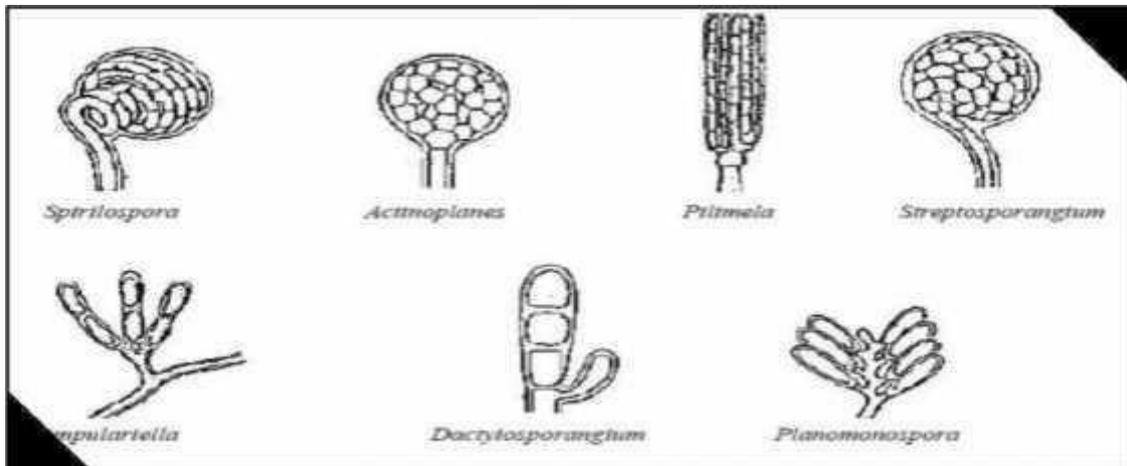
### 3. Morphologie et caractéristique culturaux

Les actinomycètes possèdent une structure filamenteuse avec un diamètre des filaments allant de 0.5 à 2µm, ces filaments sont ramifiés en mycélium et présentent des septums (**Lamari., 2006**). En plus des filaments ramifiés, des bacilles et aussi des coccobacilles comme *Rhodococcus* et *Mycobactérium* (**Messoudi., 2013**). Le mycélium permanent peut être organisé en mycélium végétatif (appelé aussi mycélium de substrat ou mycélium de base) et/ou en mycélium aérien. Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forme seulement une masse de filaments ramifié. Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (**Lechevalier et lechevalier 1985**). Les différents genres d'actinomycètes peuvent sporuler soit en morcelant certains hyphe pour former des conidies qui libèrent des spores de formes variées, soit en produisant des endospores (*Thermoactinomyces*). D'autres genres d'actinomycètes sporulent en produisant des sporanges qui peuvent contenir des spores mobiles à l'aide de flagelles (*Actinoplanes*) ou des spores immobiles (*Streptosporangium*) (**kalakoutskaa et Agre ,1976**). (Figure n°2 et3).



**Figure 1 :** Les caractéristiques morphologiques des spores (**Miyadoh et al., 1997**).

Forme générale des spores: (A) globuleux, (B) ovoïde, (C) doliform, (D) en forme de bâtonnet, (E)allantoïde, (F) réniforme. Type d'autoflagellation: (G) monotrichousmonopolaire, (H) péritriches, (I) polytri-chous, (J) monoploarpolytrichous (= lophotrichous), (K) polytrichous subpolaire,(L)polytrichouslatérale.Ornementationdesurface:(M)lisse,(N)rugoseirrégulière, (O) rugose parallèle (P) warty, (Q) verruqueuse, (S) aiguillat, (T), poilue.



**Figure 2:** différents types de la production de spores dans les sporanges chez les Actinomycètes (spores endogènes) (**Errakhi 2008**).

La croissance des colonies des Actinomycètes est variable en fonction de la composition des milieux de culture. La forme, la taille et la texture de la colonie sont des critères qui aident à différencier les genres. Sur un substrat solide comme la gélose le réseau ramifié d'hyphe formé par les actinomycètes se développe à la fois à la surface du substrat et à l'intérieur de ce dernier pour former un mycélium végétatif (**Prescott et al. 2003**) ou mycélium primaire mycélium de substrat ou mycélium intra-matriciel, c'est un ensemble de filaments multi-nucléaires formés à partir du tube germinal (hyphe) issue d'une spore.

Son développement, sur la surface et à l'intérieur du milieu solide, donne naissance à des jeunes colonies, formées par des filaments attachés en matrice complexe. Cet hyphe s'allonge par croissance apicale et se ramifie à maintes reprises (**Mighélez et al., 2000**). Sur un mycélium primaire se développe un mycélium secondaire aérien, ces hyphes aériens sont plus épais et beaucoup moins ramifiés que les hyphes du substrat.

Elles sont généralement pigmentées et enfermées dans une enveloppe externe hydrophobe (**Djaballah,2010**).

La croissance sur un milieu liquide nécessite une aération du milieu par agitation et ou/par l'injection d'air ou oxygéné. Le *streptomyces* exposés à ces conditions, peuvent croître par élongation des filaments et présenter par la suite trois types de morphologie soit : se forme de pelote, ou bien sous forme de mycélium libre ou encore par enchevêtrement du mycélium (**Djaballah,2010**).

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

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires, que l'on rencontre sur presque tous les substrats naturels. Leur nombre dépend de nombreux facteurs : l'abondance de la matière organique, la profondeur, le pH, l'aération et l'humidité (Loucif, 2011). La grande capacité d'adaptation des actinomycètes aux différentes conditions environnementales ainsi que leur grande variabilité métabolique leur permet d'être répandus dans presque tous les écosystèmes avec, toutefois, une certaine préférence pour le sol qui demeure le réservoir le plus riche (Lechavalier, 1981 ; Goodfellow et Williams, 1983). Dans les sols sahariens, les actinomycètes constituent 15 à 60 % et parfois même jusqu'à 85 % de la microflore totale. Ce pourcentage augmente jusqu'à 91% dans les horizons situés entre 1 à 2 m de profondeur avec une prédominance des *Streptomyces* et parfois même des *Actinomadura*, des *Micromonospora* et des *Nocardioides* (Sabaou et al., 1998).

##### 4.1 Sols

Les actinomycètes sont largement répandus dans tous les sols à l'exception des sites exposés à des conditions trop extrêmes. La fréquence des divers genres d'actinomycètes les communs dans le sol sont présentés dans le tableau 1 ci-dessous. Ils sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol et jusqu'à 2m de profondeur c'est-à-dire dans la rhizosphère. La couche superficielle contient au moins 80% de bactéries actinomycétales par rapport au nombre total de microorganismes (Waksman 1963).

**Tableau 02 :** Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol

Genres	Pourcentage (%)
<i>Streptomyces</i>	95,34
<i>Nocardia</i>	1,98
<i>Micromonospora</i>	1,40
<i>Thermomonospora</i>	0,22
<i>Actinoplanes</i>	0,20
<i>Microbispora</i>	0,18
<i>Mycobacterium</i>	0,14
<i>Streptosporagium</i>	0,10
<i>Actinomadura</i>	0,10

La couche située à une profondeur de 80 cm n'en contient plus que 16 à 40 % cela est confirmée par Iwai et Takashi 1992. Ils produisent des substances spécifiques telles que la géosmine et

le 2-méthyle Les actinomycètes sont largement répandus dans tous les sols à l'exception des sites exposés à isobornéol qui sont responsable de l'odeur d'humus caractéristique des sols (**Omura 1992, Zaitlin et al 2003, bololona2010**).

#### 4.2 Eaux douces et marines

Les Actinomycètes sont bien représentés dans ces milieux d'où l'on peut facilement isoler des souches de *Micromonospora sp*, d'*Actinoplanes sp* et de *Streptosporangium sp*. C'est essentiellement dans les sédiments. Ils sont absents dans les eaux minières très acides (pH<1) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique (**Xu et al., 1996, Hwang et al.,2001**).

#### 4.3 L'Air

L'air constitue pour les actinomycètes, non pas un habitat, mais un moyen de transport (**Ouhdouch.,1989**). La dissémination des actinomycètes dans l'air est principalement liée à la quantité de poussière dans laquelle les spores et les fragments du mycélium s'accrochent (**Arvind et al., 2003**).

### 5. Isolement et Identification d'actinomycètes

#### 5.1 Isolement

Les méthodes sélectives d'isolement de ces microorganismes sont très importantes afin d'étudier leur écologie et la sélection des souches d'importance industrielle. Elles impliquent l'utilisation de milieux de culture sélectifs, surtout ceux additionnés d'antibiotiques. Les prétraitements sont indispensables en vue de favoriser l'isolement de certaines souches actinomycétales et d'empêcher la croissance des microorganismes indésirables (**Hayakawa., 2008**).

#### 5.2 Identification

L'identification des genres est facilitée par les études morphologiques et chimiques tandis que les critères physiologiques et moléculaires séparent les espèces (**Badji., 2006**).

##### 5.2.1 Critères morphologiques

Les caractères morphologiques ont trait aux caractéristiques culturales et micromorphologiques. Les critères morphologiques sont énoncés dans les « Bergey's Manual » de 1989 et 1994 (**Boudjella., 2007**).

##### 5.2.1.1 Caractères culturaux ou macromorphologiques

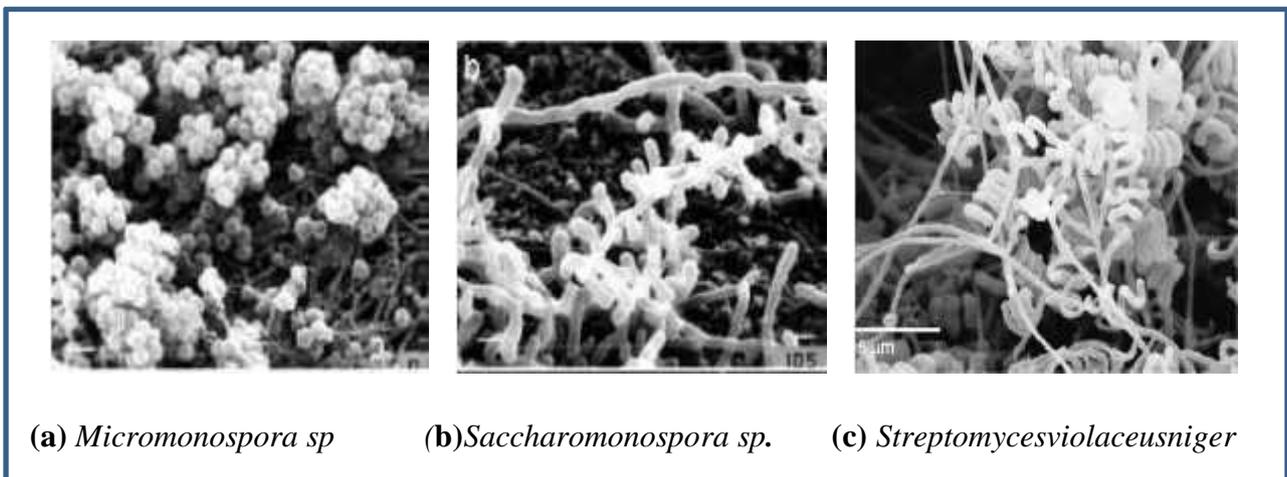
D'après (**Nouredine, 2006 et Boudjella, 2007**), les caractères culturaux contribuent parfois dans la différenciation des genres d'actinomycètes entre eux.

Parmi les caractères culturaux importants :

- ✚ La production d'un mycélium aérien (MA) (cas de nombreux genres) ou non  
(Ex : *Actinoplanes*, *Micromonospora* et *Rhodococcus*).

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

### 5.2.1.2 Caractères micromorphologiques



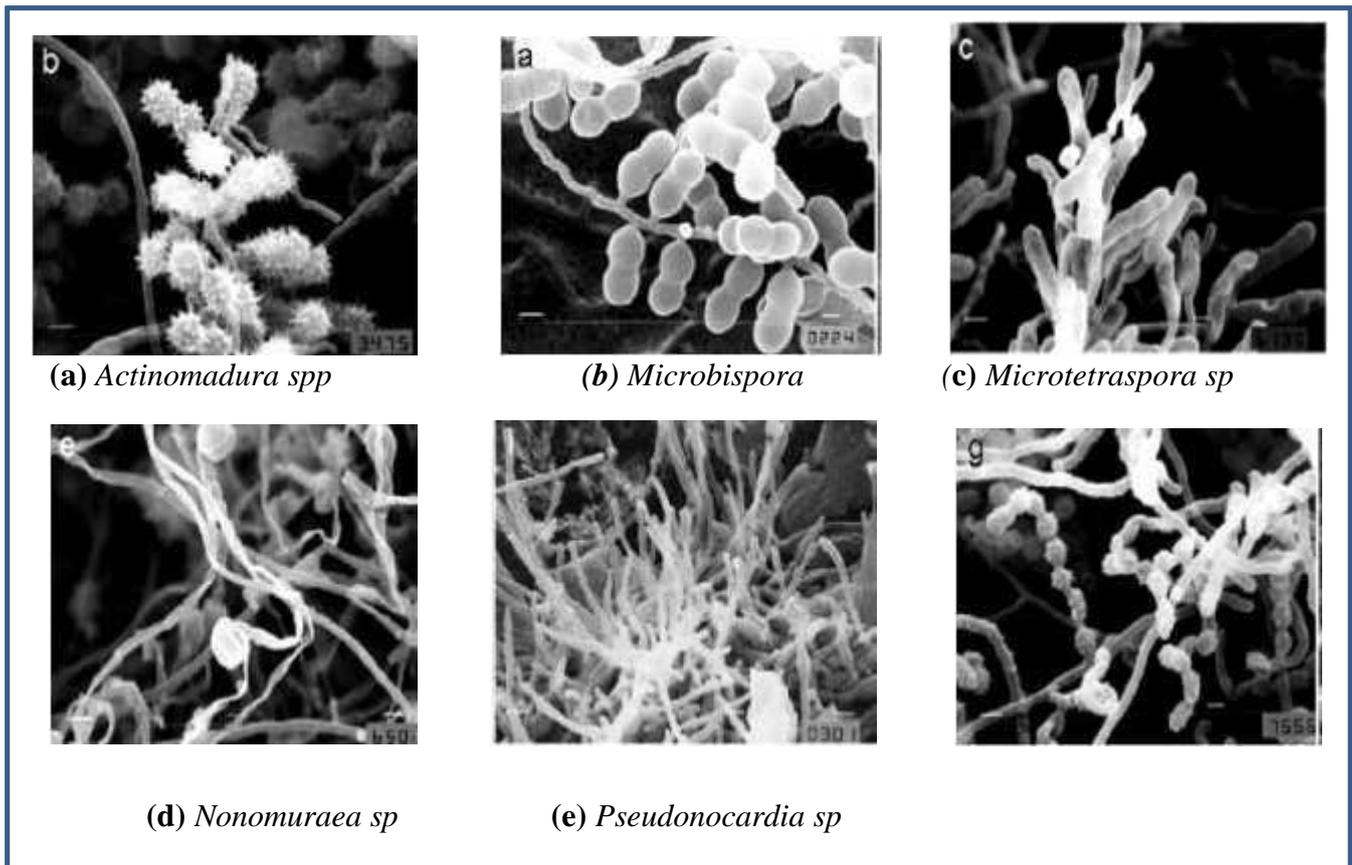
**Figure 3** : Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinomycètes non mobiles monosporulés (Hayakawa *et al.*, 2004 et Hayakawa, 2008).

Les critères micromorphologiques importants selon (Nouredine ,2006 et Boudjella, 2007).

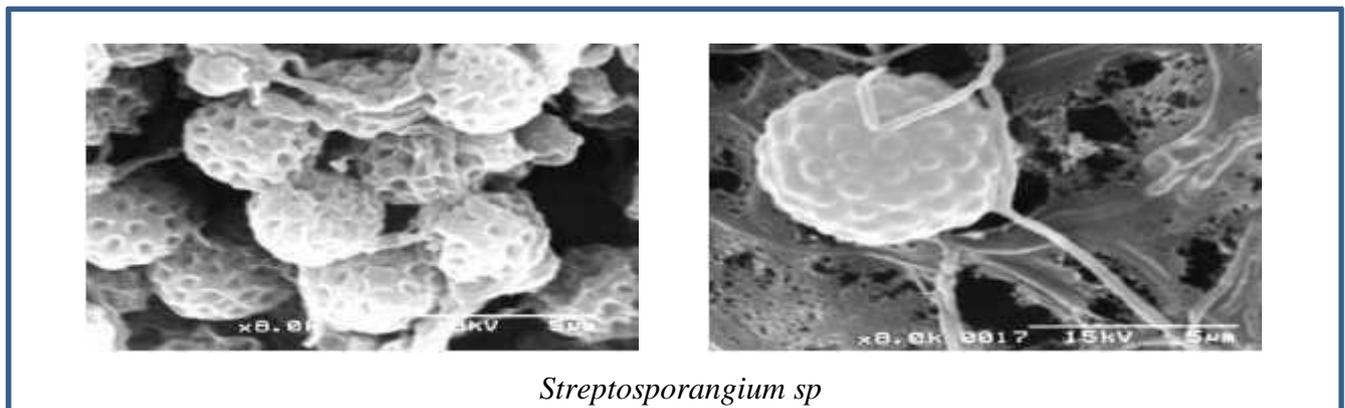
- ✚ La fragmentation on non du MS.
- ✚ La formation de spores exogènes sur le MA et/ou sur la MS, leur forme, leur taille et leur agencement (isolées, enchaines).
- ✚ La présence ou non de sporophores, la surface des spores (lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue).
- ✚ La présence ou non de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges,

Le nombre de spores par sporange ainsi que la longueur des sporangiophores ;

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



**Figure 4 :** Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinomycètes non mobiles dotés d'oligospores (Hayakawa, 2008).



**Figure 5 :** Photographies au microscope électronique d'un isolat d'actinomycète non mobile à Sporangies (Ara et Kudo, 2007).

### 5.3 Critères chimiotaxonomiques

La composition de la paroi cellulaire en acides aminés, glucides et lipides constituent le principal caractère utilisé en chimiotaxonomie. Les deux acides aminés pariétaux taxonomiquement importants sont l'acide diaminopimelique (DAP), et la glycine qui peut être présente ou absente (Lechevalier et Lechevalier, 1970). Le DAP peut être parfois remplacé Par la lysine, l'ornithine et

l'acide diaminobutyrique (DAB) (Becker et *al.*, 1965). Les sucres ayant une importance taxonomique sont principalement les couples « arabinose-galactose », « xylose-arabinose » « rhamnose-galactose », ou encore le madurose. (Lechevalier et Gerber, 1970).

Les lipides cellulaires tels que les acides mycoliques pariétaux qui peuvent être présents ou absents, les phospholipides ainsi que les ménaquinones membranaires sont aussi importants pour l'identification des actinomycètes (Lechevalier et *al.*, 1977). La détermination des genres d'actinomycètes est ainsi basée sur les critères morphologiques et chimiques. En effet (Becker et *al.*, 1965) et Lechevalier et Lechevalier (1970) divisèrent les actinomycètes en huit chimiotypes sur la base de l'analyse des acides aminés pariétaux et des sucres cellulaires.

**Tableau 03** : Chimiotypes rencontrés chez les actinomycètes (Becker et *al.* 1965).

Chimiotype	DAP		Gly	Lys	Orn	DAB	Sucres			
	LL	DL					Ara +Gal	Xyl +Ara	Rha +Gal	Mad
I C	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
II D	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
III B	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
IIIC	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
IIIE	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
IV A	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
V	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
VI	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
VII	-	-	-	V	-	+	-	-	-	-

**Note** : I, II, III, ..., VIII : définis par (Becker et *al.*, 1965) et (Lechevalier et Lechevalier ;1970) en se basant sur la forme LL ou DL de l'acide diaminopimélique (DAP), la présence ou non de glycine (Gly.), de lysine (Lys.), de l'ornithine (Orn.) ou de l'acide diaminobutyrique (DAB). A, B, C, D et E : définis par (Lechevalier et Lechevalier ;1970) en se basant sur les sucres taxonomiquement importants : l'arabinose (Ara.), le galactose (Gal.), le xylose (Xyl.), le madurose (Mad.) et le rhamnose (Rha.). + : présent. - : absent. V : variable suivant les espèces d'un même genre.

### Critère physiologie

En plus des caractères morphologiques, la détermination des espèces se base également sur les caractères physiologiques. Ceux-ci consistent en des tests de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques et protidiques, polymères complexes, etc. D'autres tests interviennent parfois

dans la détermination des espèces, comme la résistance à certains agents antimicrobiens et la tolérance à des conditions extrêmes (température, pH, salinité, etc).

#### 5.4 Critères moléculaires

Un outil de choix pour l'identification des actinomycètes est l'analyse moléculaire (des acides nucléiques). Le %GC donne une indication sur la famille, tandis que le séquençage de l'ADNr 16S permet de différencier nettement les genres (**Pridham et Gottlieb., 1948**). Les séquences de l'ADNr 16S ont servi à tracer toute la phylogénie des actinomycètes (**Stackebrandt, 1997; Ventura, 2007; Zhi., 2009**). Ainsi que l'hybridation ADN-ADN, (**Wayne et al., 1987**) Ces analyses moléculaires reposent sur une réaction de polymérase en chaîne (PCR), utilisant soit des amorces universelles bactériennes, soit des amorces spécifiques des actinobactéries (**Farris et Olson, 2007 ; Schäfer et al., 2010**).

## II. Caractère physiologique

### 1. Physiologie

Au niveau du sol, les actinomycètes représentent l'une des principales communautés microbiennes. Leur présence est significativement influencée par les conditions environnementales : l'humidité, la température, le pH, la salinité, le type de sol, la profondeur dans le sol, les faibles taux d'humidité, la nature et l'abondance de matières organiques et la végétation de sol (**Sykes et Skinner, 1973 ; Basilio, 2003**).

#### -Le taux d'humidité

En générale, les actinomycètes ont été isolés dans des sols contenant des taux faibles jusqu'à modérés d'humidité, ce qui suggère qu'ils ne sont pas beaucoup influencés par les conditions semi arides (**Oskay et al, 2004 ; Prescott et al., 2017**).

#### -Oxygène

On peut classer les actinomycètes selon leurs types respiratoires en deux groupes :

✚ Les formes fermentatives anaérobies strictes ou facultatives, représentées par le genre type actinomyces, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs (**Le Minor, 1989**). Ils font partie de la flore de veillons (**Avril et al., 1992**).

✚ Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces*, sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol (**Avril et al. 1992**).

#### -La température

Les actinomycètes sont des microorganismes mésophiles. La température optimale de croissance est entre 25 à 30 °C. Cependant, il existe des espèces thermophiles, principalement dans le genre *Thermoactinomyces* dont la température optimale est entre 50 et 60°C. (**Rangaswami et al., 2004**).

Ces organismes avaient été distingués de leurs homologues thermophiles appartenant au genre *Thermomonospora* grâce à leurs spores qui résistent à une température de 90°C pendant 30 minutes et par la résistance à la novobiocine (25 µg/ml). Le genre *Streptomyces* comporte aussi des espèces thermophiles comme *Streptomyces thermocophilus* (Kim et al., 2000) et même psychrophiles (Holt et al., 1994).

#### -Le pH

La plupart des actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8, mais on peut observer une croissance à des valeurs de pH inférieur à 4 (Mckinney, 2004), telle est le cas pour les souches acidophiles tel que : la *Streptacidiphilus jiangxiensis* (Huang et al., 2004) et *Streptacidiphilus oryzae* (Wang et al., 2006).

#### -Matière organique

En 1986, Hinise a montré que le nombre des actinomycètes est corrélé positivement avec le taux de matière organique et que de large population d'actinomycètes coïncidaient avec des taux relativement élevés de matière organique quelque soit la salinité de sol (Lee et Hwang., 2002).

#### -Tolérance en NaCl

Selon leurs exigences en NaCl, 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 % (Poids/Volume) pour les faiblement halophiles, jusque 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes.

##### ▪ Les halotolérants

Acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolère de 6 à 8 % de NaCl (Poids/Volume) ; les modérément tolérants (tolère de 18 à 20 % de NaCl (P/V) ; et les extrêmement tolérants (se développe de 0 % jusqu'à saturation en NaCl) (Messaoudi., 2012).

Le tableau ci-dessous résume les différents groupes d'organismes halophiles selon la classification adoptée par Kushner, (1987).

## 2. Caractéristiques physiologiques des actinomycètes halophiles

Les actinomycètes sont traditionnellement considérés comme des organismes qui ne sont pas très résistants à l'influence des facteurs environnementaux. Toutefois, d'après l'étude menée par (Zvyagintsev et al., 2007), il a été déterminé que les caractéristiques spécifiques des complexes actinomycétales des sols salins sont la prédominance des *Streptomyces* halophiles, acidophiles

ethaloalcalophiles, se développant bien à des valeurs de pH de 8-9 et à des concentrations de NaCl de 5% (Zvyagintsev *et al.*, 2007).

Les actinomycètes se développant à des concentrations modérées en NaCl et isolés à partir de sols salins comptent parmi les bactéries hétérotrophes qui synthétisent des substances compatibles osmorégulatrices (Zvyagintsev *et al.*, 2007). En effet, L'espèce *Actinopolyspora halophila* synthétise des concentrations importantes de betaine, dont la concentration la plus remarquable a été obtenue en présence de 24% de NaCl, qui représentait 33% du poids sec de la cellule (Nyysola et Leisola, 2001).

Parmi les actinomycètes halophiles décrites : *Nocardiopsis halophila*, *Nocardiopsis Halotolerans*, *N. kunsanensis*, *N. tropica*, *N. trehalosi*, *N. dassonvillei ssp albirubida* *Streptomonospora salina*, *Prauserella halophila*, *P. alba* et *Actinopolyspora halophila*, elles sont capables de se développer sur un milieu contenant 10-20 et même plus 15-25% de NaCl (Zvyagintsev *et al.*, 2007). Dans les sols salés à très salés, la densité des actinomycètes halophiles et halotolérants est de l'ordre de 103 à 105 UFC/gss (Badji, 2006).

**Tableau 04** : Types de microorganismes halophiles (par Kushner, 1987) (Tang *et al.* 2003).

Microorganismes	Concentration optimale en NaCl
<b>Non halophiles</b>	< 0,2 mol/L
<b>Faiblement halophiles</b>	0,2 - 0,5 mol/L
<b>Halophiles modérés</b>	0,5 – 2,5 mol/L
<b>Halophiles extrêmes</b>	2,5 – 5,2 mol/L
<b>Halotolérants</b>	Echelle de tolérance 0,2 - 2,5 mol/L

#### ▪ Activité de l'eau (Aw)

La germination des spores de la plupart des actinomycètes, peut-être observée à des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0.67, l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est égal à 0,98 (Zvyagintsev *et al.*, 2005). En général, les actinomycètes ont été isolés dans des sols contenant des taux faibles jusqu'à modérés d'humidité, ce qui suggère qu'ils ne sont pas beaucoup influencés par les conditions semi-arides (Oskay *et al.*, 2004 ; Prescott *et al.*, 2007).



CHAPITRE II : DIVERSITÉS  
MÉTABOLIQUES DES  
ACTINOMYCÈTES



La majorité des nutriments présents dans l'environnement sont sous forme de polymère, l'hydrolyse de ces polymères est une étape importante l'approvisionnement des métabolismes microbiens.

C'est grâce à leur diversité métabolique, c'est à dire à leur capacité à utiliser une large gamme de source de carbone et d'énergie, et à croître dans des conditions très variées que les actinomycètes

peuvent vivre dans des habitats très différents d'ailleurs, grâce à cette diversité métabolique, les actinomycètes jouent un rôle extrêmement important dans la minéralisation de la matière organiques par production d'enzyme extracellulaire, ce qui améliore les récoltes par la fertilisation des sols.

Ainsi, il a été prouvé que les actinomycètes dégradent de manière intensive la chitine (**Deux, Boer et al. 1998**). Qui rentre dans la constitution de la paroi des moisissures et la carapace des arthropodes.

En outre, certains dégradent activement les pesticides tel que certaines souches du genre *Streptomyces* qui sont capables de croître sur milieu contenant 5-50 µg/l d'Aldrin, de chlore d'une ou de lindane (organochlorine) (**Benimeli et al., 2003**).

### 1- Le métabolisme des actinomycètes

En général, les actinomycètes sont des bactéries chimioorganotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les biopolymères complexes (Chitine, cellulose, lignine). Mais, plusieurs espèces sont capables aussi d'une croissance chimio-autotrophe utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**).

Les métabolismes des actinomycètes peuvent être divisés en deux parties : le métabolisme Primaire et le métabolisme secondaire (**Strub, 2008**). Leurs propriétés sont différentes en fonction de la phase au cours de laquelle ils sont synthétisés (**Delaunay et al., 2003**).

#### 1.1 Le métabolisme primaire

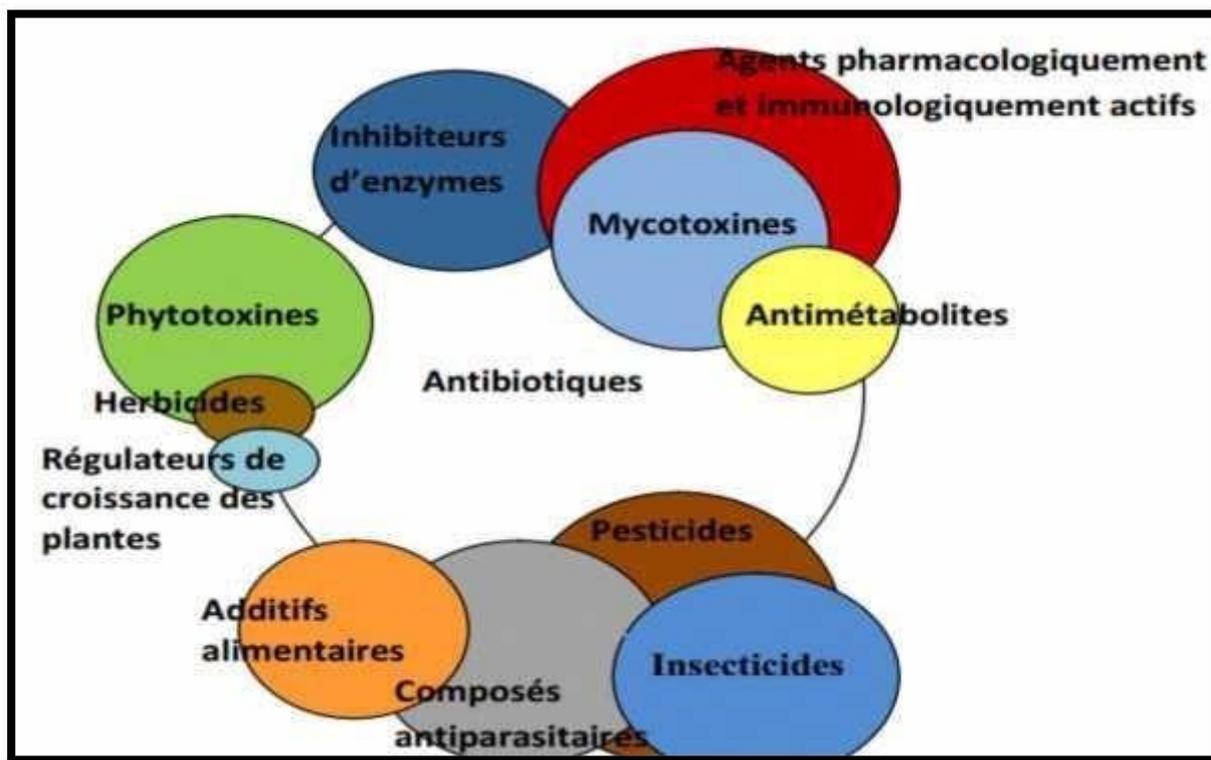
Le métabolisme primaire des actinomycètes est semblable à celui des autres organismes. Les métabolites primaires ou généraux essentiels forment la structure cellulaire et permettent le fonctionnement du métabolisme général (**Theilleux, 1993**).

## 1.2 Le métabolisme secondaire

Le métabolisme secondaire se différencie du métabolisme primaire par le fait qu'il concerne des métabolites non directement impliqués dans la croissance et la vie de l'organisme (**Theilleux, 1993**).

De manière générale, le métabolisme secondaire est considéré comme l'ensemble des voies de synthèse de composés qui n'ont ensuite pas des fonctions apparentes dans le métabolisme cellulaire (**Colombié, 2005**).

Le métabolisme secondaire des actinomycètes est affecté par la nature et les taux des sources de carbone et d'azote ainsi que par la disponibilité du phosphore (**Ou et al. 2008 ; Tarkka et Hampp, 2008**) et de molécules diffusibles telles que le  $\gamma$ -butyrolactone (**Nedal, 2007**). La biosynthèse des métabolites secondaires est régulée par divers mécanismes dont la répression par les sources nutritionnelles, l'induction, et l'inhibition d'enzymes des voies de biosynthèse par le métabolite final (**Theilleux, 1993**). Outre la production d'antibiotiques, les actinomycètes produisent un large éventail de molécules à activités variées (**Figure 2**).



**Figure 6:** Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes (Conn, 2005).

### 1.2.1 Substances bioactives produites par les actinomycètes

Les actinomycètes représentent une grande proportion de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété de molécules bioactives de haute valeur commerciale entre autres des antibiotiques et des enzymes extracellulaires et sont recherchées de façons routinières dans le but de découvrir de nouvelles substances bioactives (**Vijayakumar et al., 2007**).

### 1.2.1. 1. Les antibiotiques

Les Actinomycètes ont la capacité de synthétiser de très nombreux métabolites bioactifs parmi lesquels on compte les antibiotiques (Oskay et al., 2004), ces propriétés traduisent la richesse du métabolisme cellulaire de ce groupe microbien. Les Antibiotiques qui sont produits par les Actinomycètes manifestent des activités biologiques de nature principalement antibactérienne, antifongique, anticancéreuse, antivirale ou antiparasitaire (Gebreselema, 2013 ; Leveau et Bouix, 1993 ; Oskay et al., 2004).

Les antibiotiques présentent un intérêt significatif dans le domaine de la santé humaine, Animale, de l'élevage et de l'agriculture (Leveau et Bouix, 1993)

### 1.2.1.2 Les enzymes et les activités de biodégradation

Les actinomycètes peuvent jouer un rôle important dans le processus de biodégradation durant le traitement biologique. Ils sont aussi capables de dégrader ou de recycler certaines toxines produites par des champignons toxigènes et réduire aussi leur teneur dans les produits finaux en agro-alimentaire (Holzapfel et al., 2002). Ils ont l'avantage sur les autres microorganismes d'adhérer aux interfaces non miscibles à l'eau en raison de l'hydrophobicité de leur paroi cellulaire et sont capables de dégrader des hydrocarbures chlorés ainsi que des composés organiques complexes (El-Shatoury et al., 2004). Essentiellement, ils synthétisent de nombreux enzymes telles que les chitinases, les glucanases (Tokala et al., 2002), les peroxydases et les glutaminases, ainsi que d'autres espèces qui ont la capacité de produire; des amylases, des cellulases et des hémicellulases et de dégrader la lignine. (Divya et al., 2014), certain genre comme les *Streptosporangium sp* est isolé à partir des feuilles de maïs produit des glucoamylases exploitées en industrie afin de dégrader l'amidon (Hasegawa et al., 2006).

Les lipases sont aussi produites par certaines souches actinomycetales, ces enzymes hydrolysent des triglycérides en diglycérides, en monoglycérides, en glycérol et en acides gras (Sommer et al., 1997).

D'autres espèces telles que *Streptomyces albovinaceus*, *Streptomyces. Caviscabies*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces setonii* et *Streptomyces virginiae* produisent des enzymes chinolytiques (chitinases et cellulases), ces derniers sont considérés comme l'action antagoniste la plus efficace dans le contrôle de certaines maladies fongiques en raison de leur action directe sur les chitinases. (Macagnan et al., 2008).

**Tableau 05 :** Les enzymes commercialement pertinent produit par les actinomycètes (Divya prakash et al. ;2013).

enzyme	Utilisation	Industrie du l'application
Protéase	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Détergents</li> <li>-Fabrication de fromage</li> <li>-Clarification-bière à faible teneur en calories</li> <li>-Découper</li> <li>-Traitement du caillot de sang</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Détergents</li> <li>Aliments</li> <li>Brasage</li> <li>Cuir</li> <li>Médecin</li> </ul>
Cellulase	<ul style="list-style-type: none"> <li>-L'élimination destaches</li> <li>-Adoucissement ducoton</li> <li>-Boisson , modification des fibres</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Détergents</li> <li>Textile</li> <li>Papier et pate a papier</li> </ul>
Lipases	<ul style="list-style-type: none"> <li>-L'élimination des taches stabilité de la pâte et de conditionnement Arome de fromage, Diminue, Nettoyer</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Détergent</li> <li>Cuisson</li> <li>Laitier</li> <li>Textiles</li> </ul>
Pectinase	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Clarification</li> <li>-Récurage</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Boisson</li> <li>Textile</li> </ul>
Amylase	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Production de sureau de glucose et fructose</li> <li>-Enlèvement des taches</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Industrie de l'amidon</li> <li>Détergent</li> </ul>

Les protéases sont parmi les enzymes les plus importantes, elles constituent plus de 65% des applications industrielles totales comme agents blanchisseurs dans les détergents ou dans la synthèse des peptides. (Thumar et Singh,2007).

### 1.2.1.3Activité antioxydante

Un antioxydant est toute substance capable d'inhiber ou retarder l'oxydation d'un substrat tout en étant présente à une faible concentration par rapport à la concentration du substrat oxydable (Rauha et al, .2001 ; Sarma et al.,2010).

Il existe deux catégories d'antioxydants :

Les séquestrants de métaux et les phagocytes de radical libre. Les séquestrants de métaux précipitent un métal ou suppriment sa réactivité en occupant tous les sites de coordination; les

phagocytes de radical libre comprennent l'hydroxytoluène butylé (BHT), L'hydroxyanisole butylé (BHA), les tocophérols (vitamine E) et l'acide ascorbique (**Amadou.,2005**).

#### 1.2.1.4 Les vitamines

Les actinomycètes sont pratiquement absents de ce domaine mais on peut mentionner a titre historique la production de vitamine **B 12** par *S. olivaceus* remplacé depuis longtemps par des autres bactéries bien plus productrices. (**Leveau et Bouix, 1993**).

La vitamine B12 telle qu'elle existe dans la nature peut être produite par des bactéries ou des actinobactéries. L'isolement de la vitamine B12 à partir des fermentations d'actinobactéries a suscité un intérêt considérable pour la production possible de vitamines par des fermentation microbiennes (**Rickes et al., 1948 ; Lichtman et al.,1949**).

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

#### 1.2.1.5 La production de siderophore

Le fer est considéré comme le micro-élément le plus important utilisé par les bactéries, il joue également le rôle de cofacteur de nombreuses enzymes et protéines (**Djibaoui et Bensoltane., 2005**).

Dans des conditions aérobies à pH neutre ou alcalin, cet élément est retrouvé dans la nature sous des formes insolubles dont elles ne peuvent pas être assimilées par les plantes et les bactéries. Ces dernières ont développé de nombreux systèmes de chélation de fer à partir de l'environnement qui utilisent le plus souvent les siderophores ayant l'affinité la plus élevée pour le fer. Les siderophores sont des molécules de faible poids moléculaire secrétées par de nombreux champignons et bactéries en réponse à la carence en fer (**Pérez-Mirinda et al., 2007**). Ils solubilisent et transportent le fer vers la cellule microbienne à travers des récepteurs spécifiques (**Cabrera et al., 2001; Sridevi et al., 2008**). Les streptomycètes du sol sont capables de produire les siderophores (**Muller et al., 1984**). *Streptomyces fulvissimus* ATCC 27431 en accumule à un taux avoisinant à 94% (**Bendale et al.,2009**).



# PARTIE EXPÉRIMENTALE



## **I-Matériels utilisée**

### **I-1 Matériels non-biologique**

#### **I-1-1-Grands matériels**

- Microscope
- Loupe Binoculaire
- Etuve
- Plaque chauffantes.
- Autoclave
- Balance
- Bain marie
- Agitateur
- pH mètre
- Réfrigérateur

#### **I-1-2-Petits matériels**

- Anse de platine
- Barreaux magnétique
- Bec bunsen
- Boites de Pétri (grands et minies boites).
- Portoirs
- Entonnoir
- Film photographique
- Lames
- Micropipette
- Papier wattman
- Pissette
- Pipettes Pasteur
- Cure dents
- Spatule
- Verreries: béchers gradués, éprouvettes graduées, tubes à essai stériles, les flacons, et les earlens

## I-2-Matériels biologiques

### ➤ Les actinomycètes

Les 12 isolats d'actinomycètes étudiés ont été fournis par notre encadreur Mme Benhadj M. chacune avait un code selon le tableau suivant :

**Tableau 6** : les codes des souches d'actinomycètes

N° de la Souche	Code
Souche 1	Act370
Souche 2	Act97
Souche 3	Act158
Souche 4	Act257
Souche 5	Act359
Souche 6	Act316
Souche 7	Act130
Souche 8	Act170
Souche9	Act292
Souche10	Act406
Souche 11	ACT299
Souche 12	ACT368

## I-3-Les milieux de cultures

- La gamme des ISP (1, 2, 3, 4, 5, 6 et7)
- Bouillon nitrate ISP8
- ISP9liquide
- Gélose nutritif
- Milieu à base de twin80
- Gélose Columbia
- Bennet
- GYEA
- Citrate de Simmons

NB (la composition de chaque milieu est présentée dans l'annexe).

## I-4-Les solutions et colorants utilisés

- L'eau distillée stérile
- L'eau physiologique stérile
- L'eau Oxygénée

- Violet de Gentiane
- Lugol
- Alcool
- Fuchsine
- Huile à immersion
- Solution salines standard
- Solution saline2
- Huile de paraffine

## II- Méthode de travail

### II-1-Origines des souches

Les 12 isolats d'actinomycètes étudiés ont été fournis par notre encadreur Mme Benhadj Mes souches proviennent d'une collection d'actinomycètes (**Benhadj et al., 2018**).

### II-2-Repiquage et Purification des Isolats d'actinomycètes

La première étape dans notre travail est la purification des souches d'actinomycètes étudiées. Cette étape est très essentielle car permet d'obtenir une culture pure et cela par le repiquage successif des souches sur des milieux neufs, dans notre cas le milieu utilisé est l'*ISP2*, coulé en boîte de pétri dont lequel on adopte la méthode d'ensemencement par stries d'épuisement. À l'aide de l'anse de platine, on prélève un fragment de mycélium ou de quelque spores à partir de la colonie que l'on veut purifier, puis l'ensemencer sur le milieu de culture, ce dernier est incubé à la température de 30°C pendant 7 jours. Car les actinomycètes sont caractérisés par une croissance relativement lente par rapport aux autres bactéries en plus leur croissance est réprimée par la présence de champignons) (**Erikson, 1949 ; Williams et Cross, 1971**).

#### II-2-1-Etude des caractères morphologiques :

L'étude des caractères morphologiques est basée sur les caractères culturels des colonies (croissance, couleur du mycélium aérien et de substrat) et la micromorphologie qui consiste en l'étude de la forme et de la taille des spores.

Cette étude consiste à noter, au 3<sup>ème</sup>, 7<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jour d'incubation à 30°C, la croissance des souches d'actinomycètes, l'aspect et la couleur des mycéliums, la production et la couleur des pigments diffusibles sur différents milieux de culture (*ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6, ISP7* et Bennett, *GYEA*) (**Shirling et Gottlieb, 1966 ; Smaoui, 2010**).

#### II-2-1-1- Etude des caractéristiques Macroscopique :

L'étude macromorphologique consiste à déterminer la couleur des mycéliums aérien et du substrat ; la croissance (faible, moyenne, bonne) ainsi que le pigment soluble produits sur différents milieux de culture préconisés par l'« International *Streptomyces* Project » ou *ISP* (**Shirling et Gottlieb, 1966**)

(ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6 et SP7) et sur les milieux GYEA et Bennett. Les milieux sont coulés dans des boîtes pétris puisensemencés par touche à partir d'une culture pure mature de chaque isolat. Ces boîtes sont incubées pendant 3,7,14 et 21 jours à 30°C, il est important de signaler l'importance de l'utilisation de plusieurs milieux de culture dans l'étude de la morphologie puisque l'observation des chaînes de spores ne s'effectue que sur les milieux donnant une bonne croissance (maturation complète) (**Shirling et Gottlieb,1966 ; Athalye et al.,1981**).

La composition de ces milieux est donnée en annexe n°1.

### **II-2-1-2Etude des caractéristiques Microscopiques**

Les bactéries peuvent être groupées en deux catégories selon la méthode de coloration de Gram, qui a été mise au point en 1884 par un bactériologiste Danois Hans Christian Gram. Cet examen est réalisé sur des frottis minces préparés à partir de colonies de chaque isolat obtenu sur le milieu ISP2, ces frottis sont colorés, après observation à l'aide d'un microscope optique à grossissements (Gx100), ce dernier permet de déceler les formes morphologiques des différentes bactéries et de préciser le Gram + et le Gram-.

Le mode opératoire est comme suit :

- ✓ Sur un frotti fixé à la chaleur, recouvrir la lame de violet de gentiane 1 minute puis laver à l'eau distillée.
- ✓ Ensuite, recouvrir du lugol 1 minute,
- ✓ Décolorer bien à l'alcool pendant une période, puis rincer à l'eau,
- ✓ Recouvrir la lame de fuchsine diluée, laisser 30 secondes puis laver à l'eau,
- ✓ Sécher entre deux feuilles de papier buvard,
- ✓ Puis observer sous un objectif à immersion (Gx100) d'un microscope optique

(**Prescott et al., 2010**).

À partir de cet examen, nous pouvons déterminer quelques caractères morphologiques des actinomycètes, concernant le type de Gram et les indications sur leurs formes (principalement la forme des filaments) et la présence ou l'absence de spores isolées (**William et al., 2010**).

### **II-3-Etude de la biodiversité physiologique**

#### **II-3-1-Croissance à différentes températures**

Ce test est effectué pour déterminer la croissance des isolats à cinq températures Différentes, (**4, 25, 30, 37, 44, °C**) sur le milieu ISP2, la croissance est estimée pendant 21 jours d'incubation et la température qui permet une bonne croissance est notée (**Smaoui., 2010**).

### **II-3-2-Tolérance à différents degrés du pH :**

Les souches d'actinomycètes sont ensemencées sur milieu de culture ISP2 à différent pH 3, 4, 5, 6, 9,10 à raison de 12 boîtes de pétries par souche pour chaque pH. La croissance est estimée pendant 21 jour d'incubation à 30°C.

### **II-3-3-Tolérance à différentes concentrations de NaCl:**

Ce test ne permet pas seulement la détection des espèces d'actinomycètes halophiles ou d'origines marines, mais aussi la mise en évidence de la biodiversité des espèces. Une colonie d'actinomycète est ensemencée sur milieu ISP2 à différentes concentrations en NaCl. Les concentrations étudiées sont : 2,5%, 5%, 7% et 10%. Les cultures sont incubées à 30°C pendant 21jour. Le nombre de colonies et les caractéristiques macromorphologiques et la croissance (faible, moyenne, bonne et très bonne) pour chacune des concentrations sont notés (**Boucheffa.,2010**).

## **II-4-Etude de la biodiversité métabolique**

### **II-4-1-Hydrolyse de l'amidon : recherche d'amylase**

Ce test est réalisé sur la gélose nutritive contenant 1% d'amidon soluble, le milieu est réparti dans des boîtes de Pétri stériles, puis ensemencés par touche, les boîtes sont incubées à 30C°, après 14 jours, le milieu est recouvert d'une solution de lugol, l'hydrolyse est ainsi mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies, à l'inverse, les zones contenant de l'amidon se colorent en brun (**Gordon et Smith., 1953**).

### **II-4-2-Hydrolyse de la gélatine : recherche de gélatinase**

Une suspension de la bactérie test est réalisé en eau physiologique a laquelle une bandelette de film photographique est ajoutée. Un tube non ensemence contenant une bandelette servira de témoin négatif, puis les incubes pendant 7 jours à 30C°. Un éclaircissement du film photographique, signe de l'attaque de la gélatine par la bactérie, indique une réaction positive.

(**Williames et Cross., 1971**).

### **II-4-3-Action sur le lait écrémé :recherche de coagulase**

Des tubes contenant du lait écrémé liquide (Candia Silhouette) sont ensemencés et incubés a 30°C, des observations régulières pendant 14 jours permettant de noter la coagulation du lait provoquée par les souches (**Williames et Cross., 1971**).

### **II-4-4-Recherche de Catalase**

Cette enzyme permet la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui résulte de l'oxydation par l'oxygène de l'air :H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Catalase H<sub>2</sub>O+ ½O<sub>2</sub>. Cette réaction est mise en évidence simplement par contact de la culture avec une solution fraîche de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>à 10 volumes :

Une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame en présence d'un échantillon de culture. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulle traduit la décomposition de dioxygène: le test catalase est positif et s'il n'y a pas de bulles: le test catalase est négatif (**Delarras, 2007**).

#### **II-4-5-Dégradation de Cellulose (recherche de cellulase)**

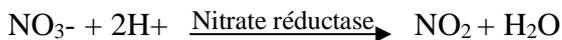
Dans des tubes contenant 05 ml de l'eau physiologie on trompe des bandelettes de papier Wattman N° 1 stérile, comme une seule source de carbone, puisensemencer avec l'isolat considéré, un tube nonensemencé sert de témoin, les tubes sont incubés à 30° C pendant 14 jours au plus. Un développement de croissance sur le papier considère comme résultat positive (**Boulahrouf et al., 1986**).

#### **II-4-6-Dégradation des sels de sodium**

Ce test est réalisé dans le milieu de citrate de Simmons, dans lequel onensemence la Surface du milieu, par touche à l'aide des cure dent stériles, l'incubation s'effectue à 30 °C, pendant 14 à 21 jours, le virage de couleur du milieu vers le bleu indique la positivité de test (**Gordon et Smith, 1953**).

#### **II-4-7. La recherche de Nitrate réductase**

Des tubes contenant 10 ml du milieu bouillon nutritif (ISP8) sontensemencés, puis incubés à 30°C pendant 7 jours. Une coloration rose a rouge clair suite a l'addition des réactifs (Nit I et Nit II) signe la réduction du nitrate en nitrites (**Guiraud et Duriod., 2003**).



En l'absence de cette coloration, quelques milligrammes de poudre de zinc sont alors ajoutés :

- L'apparition de la coloration rouge indique un test négatif (les nitrates du milieu ne sont pas réduits par la souche).
- En l'absence de la coloration, le test est considéré comme positif (les nitrates sont réduits au-delà du stade des nitrites) (**Marchal et al., 1991**).

#### **II-4-8-Hydrolyse de tween 80 (recherche d'estérase)**

Le tween est utilisé comme substrat pour détecter l'activité lypolitique, cette dernière se traduit par la présence sur boîte d'un halo opaque autour de la colonie, un milieu basal est préparé (voir annexe).

Le milieu basal est stérilisé et gardé en surfusion (50°C), le tween 80 est autoclavé séparément et ajouté aux flacons du milieu basal à raison de 1%, le milieu est coulé sur boîtes et la souche d'actinomycètes estensemencée par touche, incubée à 30°C pendant 7 jour.

Le résultat positif de l'activité lypolitique se traduit par la présence d'un halo opaque autour de la colonie.

#### **II-4-9-Hydrolyse de caséine de lait**

L'hydrolyse de la caséine est étudiée sur un milieu gélosé (ISP2 double concentration) contenant 100 ml de lait liquide Candia silhouette. Les boîtesensemencées sont observées après 14 jours d'incubation à

30°C. La clarification de la gélose autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la caséine (**Geraldine et al., 1981 ; Chaphalkar et Dey., 1996**).

#### II-4-10-La recherche de l'activité hémolytique

Pour tester l'activité hémolytique chez les actinomycètes on réalise une culture sur la gélose de Columbia à base de sang frais 5% (COS), si les actinomycètes possèdent une activité hémolytique, ils produisent différentes zones d'hémolyse sur la gélose au sang. (**Tableau 08**).

**Tableau 07:** les différents types d'hémolyse (**Dellars, 2007**).

Zone d'hémolyse	Type d'hémolyse
Colonies à large auréole claire, à bord net, hémolyse complète	$\beta$ hémolytique
Colonies à halo étroit, avec verdissement (Formation de méthémoglobine), hémolyse incomplète.	$\alpha$ hémolytique
Colonies sans zone d'hémolyse	$\gamma$ hémolytique

### III- Résultats et Discussion

Dans le cadre de ce travail on a étudié la biodiversité de 12 isolats D'actinomycètes de point de vue morphologique physiologique et plus particulièrement, on s'est intéressé à l'étude de propriété métabolique de ces isolats afin de démontré s'il existe une diversité métabolique ; par la mise en évidence des activités de biodégradation et la recherche de la production des molécules bioactives.

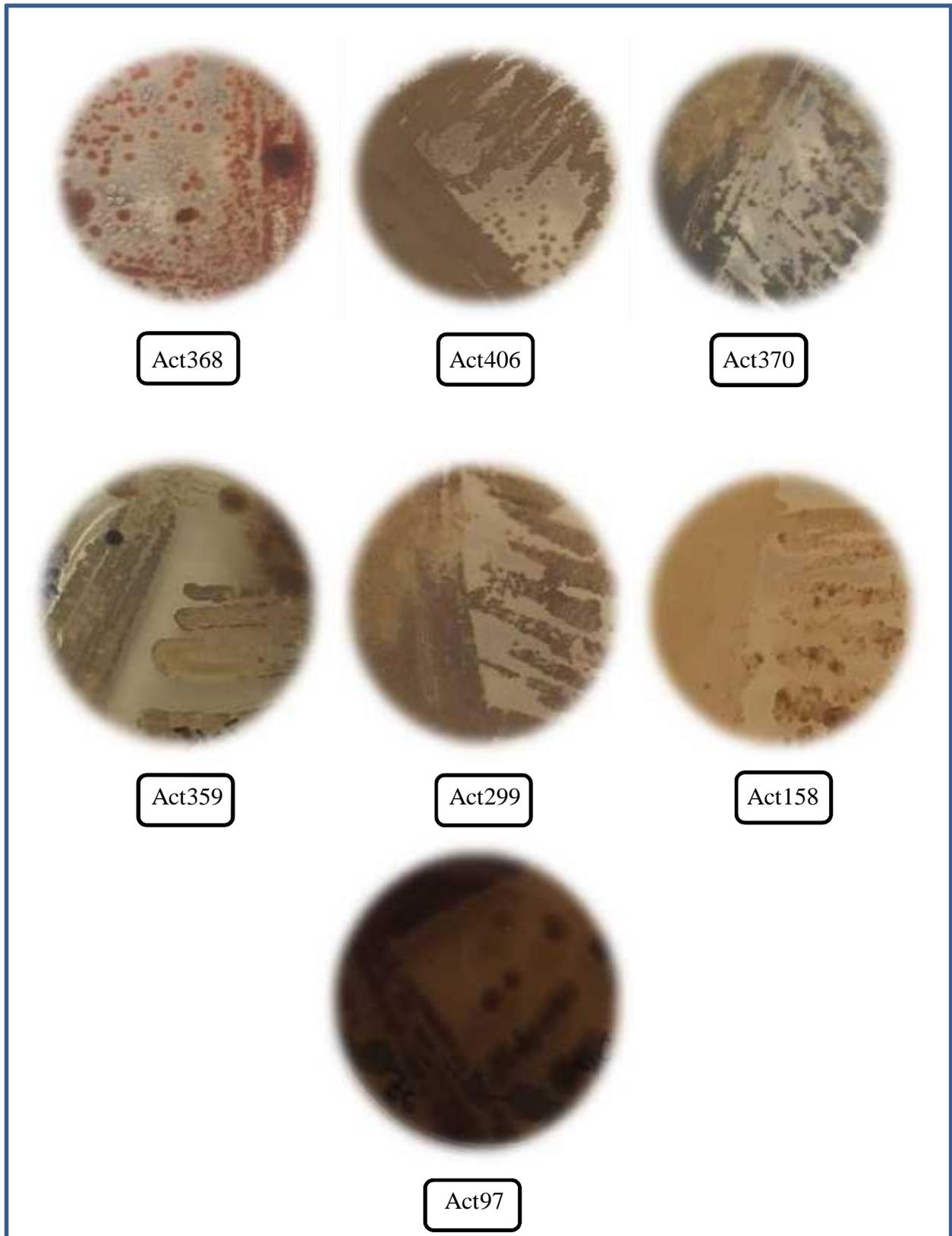
#### III-1 Repiquage et vérification de la pureté des isolats d'actinomycète

Le repiquage successif des différents isolats d'actinomycètes sur le milieu ISP2 par la méthode d'épuisement montrent des colonies pures qui présentent un mode de croissance différent (**Tableau8**). La croissance des souches Act130, Act97, Act299, Act359, Act316, Act292 est faible dans le 3ème jour. Tandis que une croissance moyenne et importants du 7ème jour jusqu'à 10 jour.

Les 12 isolats ont des Mycéliums aériens et mycéliums de substrats de couleur différentes comprise entre le beige, le marron, le blanc et le gris (illustré dans le la **planche1**).

**Tableau 08.** Les résultats de repiquage et des vérifications de la pureté des 12 isolats.

N° de souche	Croissance	Mycélium de substrat	Mycélium arien	Pigmentation
Act97	Important	Marron	Beige	Présence
Act359	Important	Marron	Beige	présence
Act292	Important	Gris	gris	Absence
Act 130	Moyenne	Blanc	Blanc	Absence
Act257	Moyenne	Blanc	Blanc	Absence
Act368	Importante	Marron	Beige	Absence
Act299	Importante	Marron	Beige	Absence
Act316	Très Importante	Marron	Marron	Absence
Act170	Très Importante	Marron	Beige	Absence
Act370	Moyenne	Beige	Blanc	Absence
Act158	Très importante	Marron	Blanc	Absence
Act406	Moyenne	Beige	Blanc	Absence



**Planche 01** : photo représente les caractères cultureux de quelques isolats sur milieu isp2.

### III .2 Etude des caractères morphologiques des actinomycètes

Les critères morphologiques sont les premiers utilisés et continuent jusqu'à maintenant à être considérés comme un critère important pour orienter l'identification et permet de rattacher une souche à un genre précis, ces caractères ne constituent plus un critère important pour la distinction entre deux espèces, l'étude des critères morphologiques repose à la fois sur l'étude des caractéristiques culturelles ou macromorphologiques et les caractéristiques micromorphologiques. (Leveau et Bouix, 1993; Hans., 1995).

#### III.2.1 Etude macromorphologique

Les données obtenues des examens macroscopiques des isolats (croissance, pigmentation mycélium aérien, mycélium de substrat, l'aspect des colonies) après culture sur les milieux ISP1.2.3.4.5.6.7 (*International Streptomyces Project*), Bennet et GYEA sont représentés dans le **Tableau 09**. Les travaux menés par Muiru et ses collaborateurs en 2008 stipulent que les milieux de culture ISP utilisés pour les identifications des actinobactéries n'ont pas d'impacts sur les caractères morphologiques, mais plutôt sur les caractéristiques physiologiques comme la production du pigment mélanoïde et cela très clairement sur le milieu ISP7 (tyrosine agar) qui est destiné à la production de l'enzyme tyrosinase responsable de la production des pigments mélanoïdes. Sachant que la croissance et la sporulation des actinomycètes sont deux paramètres fortement liés et dépendent directement de la composition des milieux utilisés.

**Tableau 09** : les caractères morphologiques des 12 isolats sur différents milieux.

N° de souche	Milieu	Croissance	MS	MA	P
Act158	Isp1	Très important	Beige	Beige avec contour gris	+++
	Isp2	Très important	Marron	Gris avec contour blanc	+++
	Isp3	Absence	Absence	Absence	-
	Isp4	Important	Marron	Blanc	---
	Isp5	Absence	Beige	Blanc	++
	Isp6	Importante	Marron	Blanc avec contour gris	+++
	Isp7	Bonne	Marron	Ver avec tache blanc	++
	Bennet	Importante	Marron	Ris avec bordure blanc	+++
Act406	GYEA	Bonne	Marron	Blanc avec bordure beige	+++
	Isp1	Important	Noir	Gris avec contour blanc	+
	Isp2	Bonne	Beige	Beige	-
	Isp3	Faible	Noir	Gris avec bordure blanc	-
	Isp4	Important	Noir	Blanc avec contour gris	+
	Isp5	Important	Noir	Jaune	++
	isp6	Important	Beige	Beige	+
	Isp7	/	/	/	/
Bennet	Faible	Blanc	Blanc	-	
GYEA	faible	Beige	Beige	-	

## Suite du tableau 9

N°de souche	Milieu	Croissance	MS	MA	P
Act292	Isp1	Important	Jaune	Blanc	-
	Isp2	Moyenne	Noir	Gris	-
	Isp3	Faible	Absence	Absence	-
	Isp4	Important	Beige	Gris	-
	Isp5	Moyenne	Ver	Blanc	-
	Isp6	Moyenne	Beige	Beige	+
	Isp7	Absence	Absence	Absence	-
	Bennet GYEA	Faible Absence	Blanc Absence	Blanc Absence	- -
Act316	Isp1	Important	Rouge	Blanc	-
	Isp2	Faible	Absence	Absence	-
	Isp3	Moyenne	Beige	Gris	-
	Isp4	Important	Rouge	Blanc	+
	Isp5	Moyenne	Beige	Blanc	+
	ISP6	Moyenne	Rouge Brik	Rouge brik	+
	ISP7	Absence	Absence	Absence	-
	Bennet GYEA	Faible Absence	Beige Absence	Blanc Absence	- -
Act368	Isp1	Important	Blanc	Blanc	-
	Isp2	/	/	/	/
	Isp3	/	/	/	/
	Isp4	Important	Marron	Gris	-
	Isp5	Important	Jaune	Gris avec contour blanc	+
	Isp6	/	/	/	+
	Isp7	Important	Marron	Gris avec tache noir	/
	Bennet GYEA	/ Faible	/ Absence	/ Absence	+/
Act97	Isp1	Très important	Marron	Gris avec contour beige	+
	Isp2	Important	Marron	Gris avec contour beige	+
	Isp3	Faible	Beige	Beige	+
	Isp4	Important	Marron	Gris	-
	Isp5	Important	Beige	Grenat avec contour blanc	+
	isp6	Important	Beige	Marron	-
	Isp7	Important	Rouge	Rouge	+
	Bennet GYEA	Important faible	Marron Beige	Marron avec contour beige blanc	+ -
Act170	Isp1	Important	Marron	Blanc avec contour gris	-
	Isp2	Moyenne	Beige	Blanc avec contour beige	-
	Isp3	Moyenne	Marron	Gris avec contour blanc	+
	Isp4	Important	Marron	Gris	+
	Isp5	Important	Marron	Blanc	-
	Isp6	Important	Beige	Beige	-
	Isp7	Important	Beige	Blanc avec contour jaune	-
	Bennet GYEA	Important Faible	Marron Beige	Gris avec tache blanc Beige	+ -

## Suite du tableau 9

N° de souche	Milieu	Croissance	MS	MA	P
Act299	Isp1	Importante	Beige	Blanc avec contour gris	-
	Isp2	Moyenne	Beige	Gris avec contour blanc	-
	Isp3	Importante	beige	Vert	-
	Isp4	Importante	beige	Blanc	-
	Isp5	Importante	blanc	Blanc avec contour beige	-
	Isp6	Important	Beige	Beige	-
	Isp7	Absence	Absence	Absence	-
	Bennet GYEA	Important Moyenne	Beige beige	Vert Beige avec contour blanc	+ -
Act359	Isp1	Important	Beige	Vert	-
	Isp2	Important	Beige	Gris avec contour blanc	-
	Isp3	Important	Beige	Vert avec contour blanc	-
	Isp4	Important	Beige	Gris	-
	Isp5	Important	Blanc	Blanc avec contour beige	-
	Isp6	Important	Beige	Beige	-
	Isp7	Absence	Absence	Absence	-
	Bennet GYEA	Important moyenne	Blanc Beige	Vert Beige	- -
Act370	Isp1	Faible	Absence	Absence	-
	Isp2	Absence	Absence	Absence	-
	Isp3	Absence	Absence	Absence	-
	Isp4	Important	Beige	Gris	-
	Isp5	Absence	Absence	Absence	-
	Isp6	Faible	Marron	Beige	-
	Isp7	Absence	Absence	Absence	-
	Bennet GYEA	Faible Absence	Absence Absence	Absence Absence	- -
Act130	Isp1	Important	Marron	Gris avec contour blanc	+
	Isp2	Faible	Blanc	Beige	-
	Isp3	Important	Marron	Gris	+
	Isp4	Important	Marron	Gris avec contour blanc	+
	Isp5	Important	Marron	Gris	+
	Isp6	Important	Marron	Jaune ave contour blanc	+
	Isp7	Important	Gris	Gris avec contour blanc	+
	Bennet GYEA	Faible Important	Blanc Beige	Blanc Blanc	- - + +
Act257	Isp1	Importante	Beige	Blanc	-
	Isp2	Moyenne	Blanc	Blanc	-
	Isp3	Moyenne	Beige	Gris	-
	Isp4	Important	Rouge Brik	Gris avec contour rouge	-
	Isp5	Important	Gris	Gris	+
	Isp6	Moyenne	Beige	Blanc	-
	Isp7	Absence	Absence	Absence	-
	Bennet GYEA	Absence Faible	Absence Blanc	Absence Blanc	- -

(-)absence

(+) présence

(/) nondéterminer

D'après les résultats obtenus après une période d'incubation de 14 jours les souches ACT 368, ACT 158, ACT 170, ACT 292, ACT 257, ACT 316, ACT 406 et ACT 97 présentent une bonne croissance sur tous les milieux avec une préférence sur le milieu ISP2 sauf l'ISP3, ISP7, Bennett et GYEA. Tandis que la croissance de la souche ACT 370 sur les milieux ISP1, ISP6 et Bennett est mauvaise qui se traduit par une absence totale de sporulation.

Tous les isolats apparaissent après mise en culture au bout du 3<sup>ème</sup> jour, c'est une caractéristique des actinomycètes à croissance rapide, en effet (Nodwel et Losick., 1998) ont constaté que les colonies de *Streptomyces* érigent des hyphes en 2 à 3 jours. Par contre les autres isolats présentent une faible croissance comme ACT406, ACT 299, ACT359.

L'observation des colonies permet de déterminer la couleur de mycélium aérien qui est variable dans la plupart des souches, entre blanche, grise beige pour la majorité, Ou bien orange, rouge brique, marron, et crevette Pour certains isolats cultivés, la différence de composition de chaque milieu peut être responsable de changement des couleurs de MA et MS (Vijgenboom et Keijer.,2001).

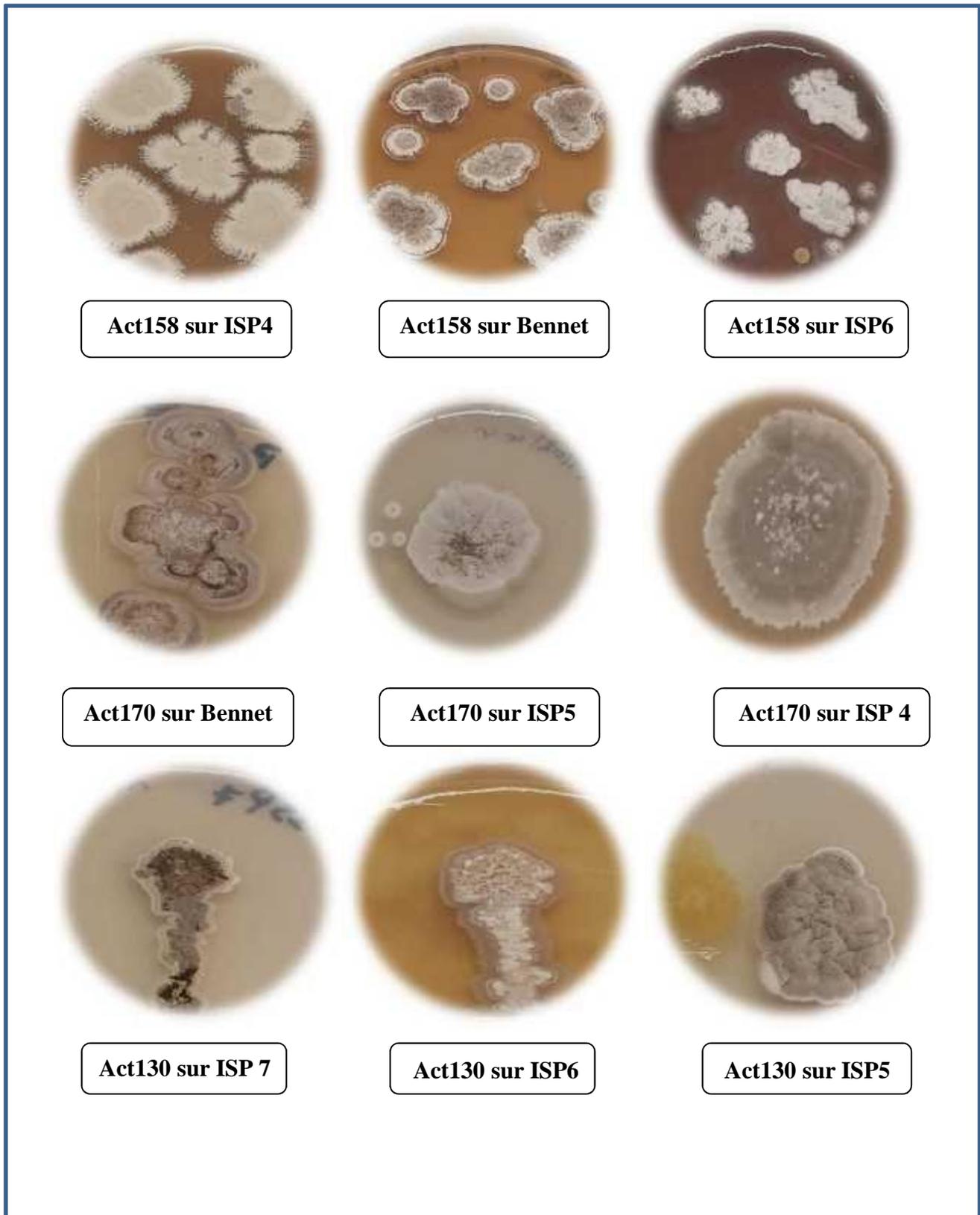
Les deux souches ACT158 et ACT368 présentent une excellente croissance sur les milieux ISP (2,5,6 et 7). Leur mycélium aérien donne une couleur blanche et un mycélium de substrat donne une couleur marron avec des colonies bombées et pâteuses pour Act158 et plat et rugueux pour Act368. d'autre par la croissance de la souche ACT130 et ACT97 et très bonne sur les milieux ISP(1,4,5,6) et le Bennett, qui donnent un MA de couleur gris avec un contour blanc d'aspect poudreux alors que le MS présente une couleur marrons.

La souche ACT170 donne un aspect variable dans les milieux ISP (7,4 et 5) et Bennett ou la colonie rugueuse, pâteuse et crémeuse avec un mycélium de substrat marron et un MA qui se manifeste par une couleur gris avec contour blanc.

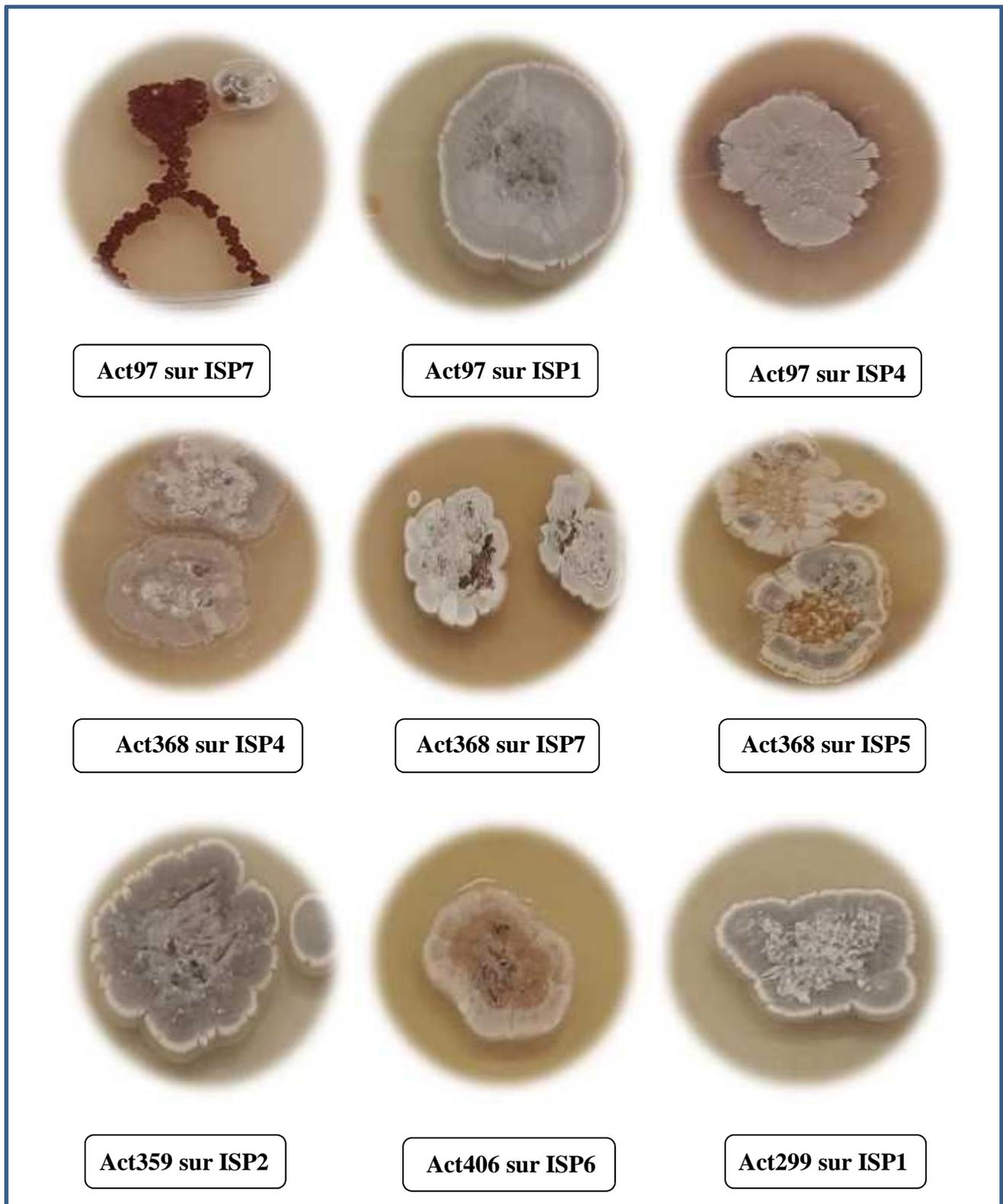
Selon les résultats obtenus les actinomycètes reconnus par la production des pigmentations différents selon les milieux. Cette caractéristique a une relation avec le métabolisme secondaire des actinomycètes.

Un certains nombres d'auteurs tel que (Thompson et al., 2002 ; Alem et al.,2010). Rapportent que les actinomycètes produisent des métabolites bioactifs pigmentés. Ces derniers sont souvent des antibiotiques. C'est un métabolite coloré soit des phénazines (pigment rouge et brun) synthétisé par le genre de *Streptomyces*, *Streptosporangium* des prodigiosines (pigment rouge) ou bien des caroténoïdes de couleur orange. La production de pigment mélanoïde de couleur brun a également été notée chez les isolats étudiés comme les souches ACT158 ACT97 et ACT368.

Cette caractéristique observée sur milieu ISP6 et ISP7 est considérée par (Shirling et Gottlieb., 1972). Comme une clé pour la classification des espèces du genre *streptomyces*. Tandis que la souche ACT406 produise une pigmentation sur ISP (1, 4,6) .et la souche ACT316 produise une pigmentation sur ISP4.



**Planche 02 :** Photo représente les caractères morphologiques des 12 isolats d'actinomycètes à différentes milieux



**Planche 02 :** Photos représentent les caractères morphologiques des 12 isolats d'actinomycètes à différentes milieux

### III.2.2 Etude micromorphologique

Ces Résultats ne sont pas déterminés

### III-3 Etude de la biodiversité physiologique

#### III.3 .1. La croissance à différent température

Les résultats obtenue sont résumé dans le **tableau 10**, Tous les isolats d'actinomycètes ont donné une bonne croissance à 30°C avec une croissance importante à 37°C à l'exception de la souche ACT370 ui donne une croissance faible, ce qui explique que la température optimale de la croissance de ces isolats varie entre 30 37°C, tandis que les souches Act368 , Act316 , Act97 , Act158 , Act406 et Act292 donnent une croissance moyenne à 25°C par contre les isolat Act130 , Act370 , Act275 donnent une faible croissance. Ainsi, on a constaté une croissance faible des souches Act 299, Act 292, Act 130, Act 257 et Act 316 à température de 44°C et absence totale de croissance à 4°c.

Ces résultats sont analogues à des notions mentionnés dans le travail de (Smaoui., 2010) qui consistent à ce que les Actinomycètes qui croient à des températures comprises entre 30 et 40°C sont des Actinomycètes mésophiles (**Kitouni,2007**) et les thermophiles (**Leveau et Bouix., 1993** ) se développent à une température de 55°C, à partir de cette comparaison, on peut dire, que nos isolats sont des actinomycètes mésophiles (30 à37°C).

**Tableau 10** : les résultats de test de croissance des 12 isolats à différentes températures.

Température / N° de souche	4C°	25C°	30C°	37C°	44C°
Act158	-	++	+++	++	+/-
Act406	-	+	++	+	+/-
Act170	-	+	++	+	+
Act292	-	+	++	+	+
Act97	-	+	++	+	+/-
Act368	-	+	++	+	+/-
Act130	-	+/-	++	+	+
Act299	-	+	++	+	+
Act316	-	+	++	+	+
Act359	-	+	++	+	+
Act257	-	+	++	+	+
Act370	-	+/-	++	+/-	+

(-) pas de croissance, (+/-) faible, (+) moyenne, (++) importante, (+++) très importante.

D'après les résultats exprimés dans le **Tableau 10** et Planche 3 .il apparait une biodiversité physiologiques remarquable entres les actinomycètes étudiés.



**Planche 03** : photo représente des résultats du test de croissance de 12 isolats à différentes températures.

### III -3-2-Tolérance à différents degrés du pH

Les résultats ne sont pas déterminés

### III -3-3-Tolérance à différentes concentrations de NaCl

Les résultats ne sont pas déterminés

### III -4-Etude de la biodiversité métabolique

#### III-4-1- Résultats de test d'hydrolyse d'amidon (Recherche de l'amylase )

D'après le **Tableau N°11** et la **Planche 7**, on remarque que 3 souche sur 12 présentent une activité amylolytique sur le milieu GN à base d'amidon.

L'apparition d'un halo claire autour de la colonie traduit la dégradation de l'amidon (**planche 7**) comme les souches Act316, Act299, Act158. Cela montre que les souches testées possèdent une amylase, alors que l'apparition d'une couleur brune des souches signifie que l'amidon n'a pas été hydrolysé ; (**planche 7 tableau 11**). Ces résultats rassemblent à ceux présenté par **Kuo et Hartman., (1966)**, qui ont montré la production des amylases thermophiles par les souches *Thermoactinomyces vulgaris*.

Nos résultats montrent que cette enzyme produit par les actinomycètes mésophiles à une température de 30°C (**Chao et Wen, 2007**). Les amylases jouent un rôle majeur dans les applications biotechnologiques telles que l'industrie alimentaire, la fermentation et le textile. Dans l'industrie papetière environ 25% des amylases sont demandé sur la marche mondiale des enzymes (**Janaki , 2017**).

D'après les résultats de la culture sur les différents milieux d'ISP, Bennett et GYEA précédemment on a remarqué l'apparition d'un halo claire autour des colonies essentiellement sur les milieu ISP4

**Planche 8**, car ce milieu contient l'amidon. Donc ses souches amylolytiques.

#### III.4.2. Résultats d'hydrolyse de la gélatine

Après l'incubation de 7 jours, l'éclaircissement des bandelettes des films photographiques apparaît chez la plupart des isolats sauf Act97, Act158 et Act370. Ce qui traduit la dégradation de gélatine par l'enzyme gélatinase produite par les actinomycètes. (**Planche 5 tableau 11**). Ces résultats ressemblent aux résultats des travaux de (**Won-gae chi et al.,2003**) sur la présence de l'enzyme gélatinase chez les *streptomycetes sp*, ainsi ils sont similaires à ceux trouvés par **Djaballah, (2010)** dont il a assigné la liquéfaction de la gélatine par les souches halophiles et halotolérants isolés de la sebkha d'ain M'lila qui sont proches des genres *Streptosporangium, Streptoaloteichus*.

#### III.4.3 Résultats d'hydrolyse de lait écrémés (Recherche de coagulase)

Les résultats de ce test apparaissent après 14 jours d'incubation donne la coagulation du lait écrémé chez 60% des isolats, montrent que les actinomycètes produisent la coagulase (**Planche 4 tableau 11**).

### III.4. 4 Résultats de test de la recherche de catalase

Tous les isolats d'actinomycètes présents un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse qui indique la dégradation de l'eau oxygéné, donc catalase positive. (**Planche 6 tableau 11**). La catalase est une oxydoréductase hémunique qui catalyse la réaction du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau et dioxygène O<sub>2</sub>. Les résultats obtenus par (**Qiong Ting et al., 2012**) montrent que les souches actinomycètes sont aérobies. Les chercheurs **Tortora et al. (2003) in Abbes Samiha et bouterraa (2017), Sudhanshu Dwivedi et al. (2011)** ont obtenus les mêmes résultats.

### III -4-5-Dégradation de Cellulose: recherche de cellulase :

Les résultats ne sont pas déterminés.

### III -4-6-Dégradation des sels de sodium :

Les résultats ne sont pas déterminés.

### III- 4-7. La recherche de Nitrate réductase :

Les résultats ne sont pas déterminés.

### III -4-8-Hydrolyse de tween 80 (recherche d'estérase) :

Les résultats ne sont pas déterminés.

### III -4-9-Hydrolyse de caséine de lait :

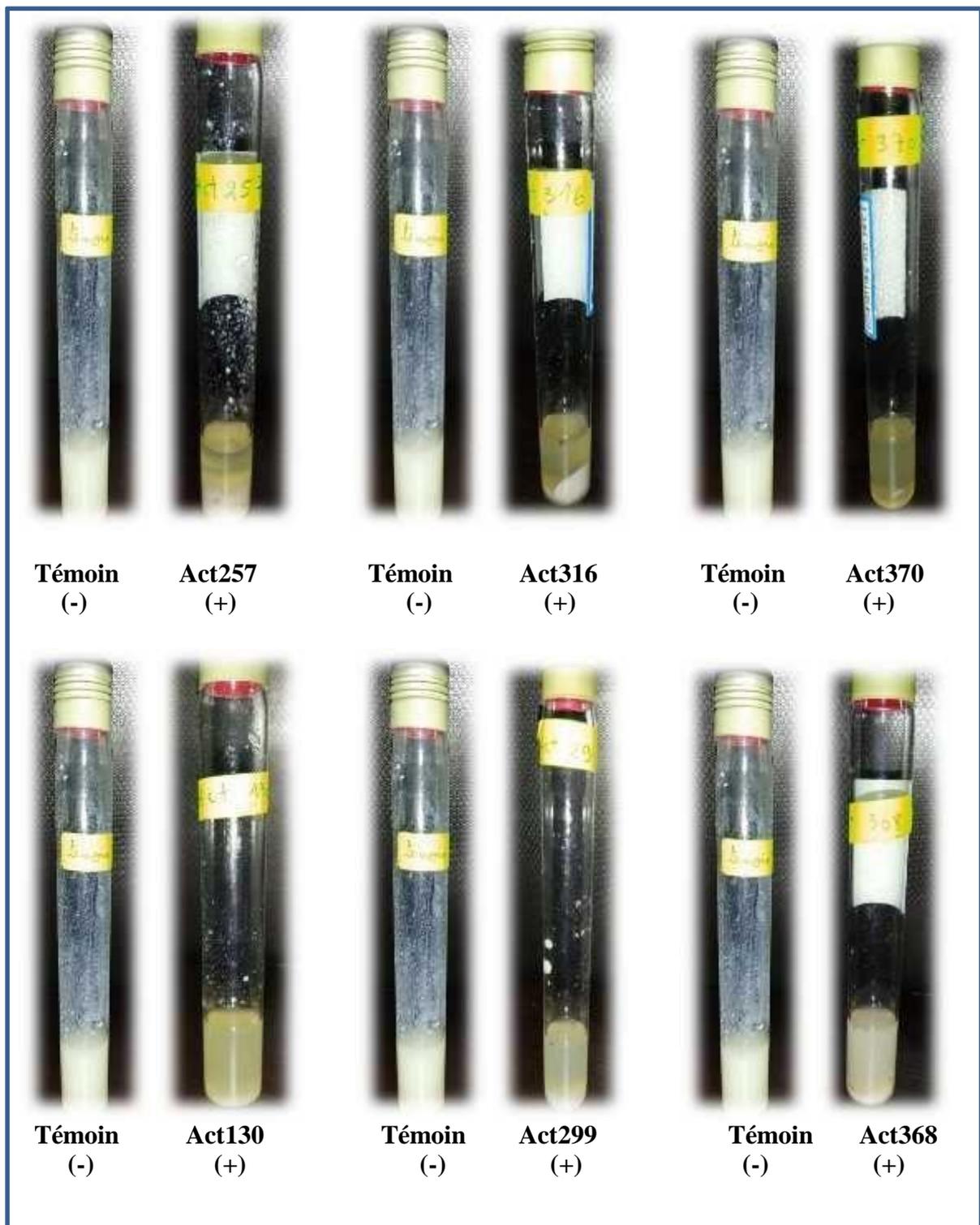
Les résultats ne sont pas déterminés.

### III -4-10-La recherche de l'activité hémolytique :

Les résultats ne sont pas déterminés.

**Tableau 11** : résultats de test de la biodiversité métabolique de 12 isolats.

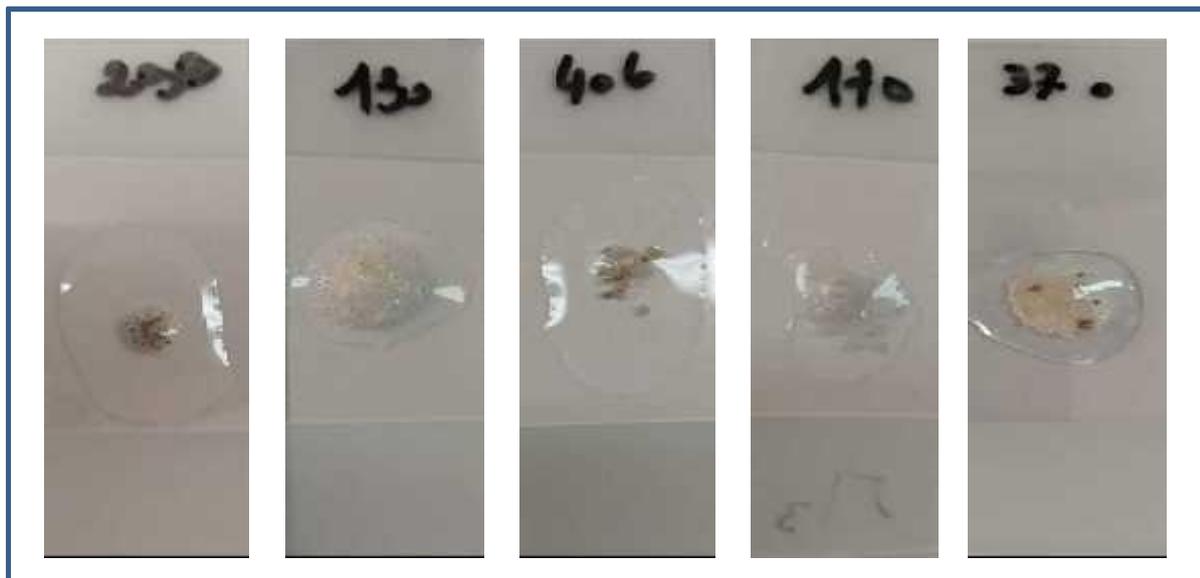
Teste N° de souche	Amylase	gélatinasse	Coagulasse	catalase	Témoin négatif-
<b>Act406</b>	-	+	+	+	-
<b>Act158</b>	+	-	+	+	-
<b>Act170</b>	-	+	+	+	-
<b>Act292</b>	-	+	+	+	-
<b>Act97</b>	-	-	-	+	-
<b>Act368</b>	-	+	+	+	-
<b>Act130</b>	-	+	+	+	-
<b>Act299</b>	+	+	+	+	-
<b>Act316</b>	+	+	+	+	-
<b>Act359</b>	-	+	-	+	-
<b>Act257</b>	-	+	+	+	-
<b>Act370</b>	-	+	+	+	-



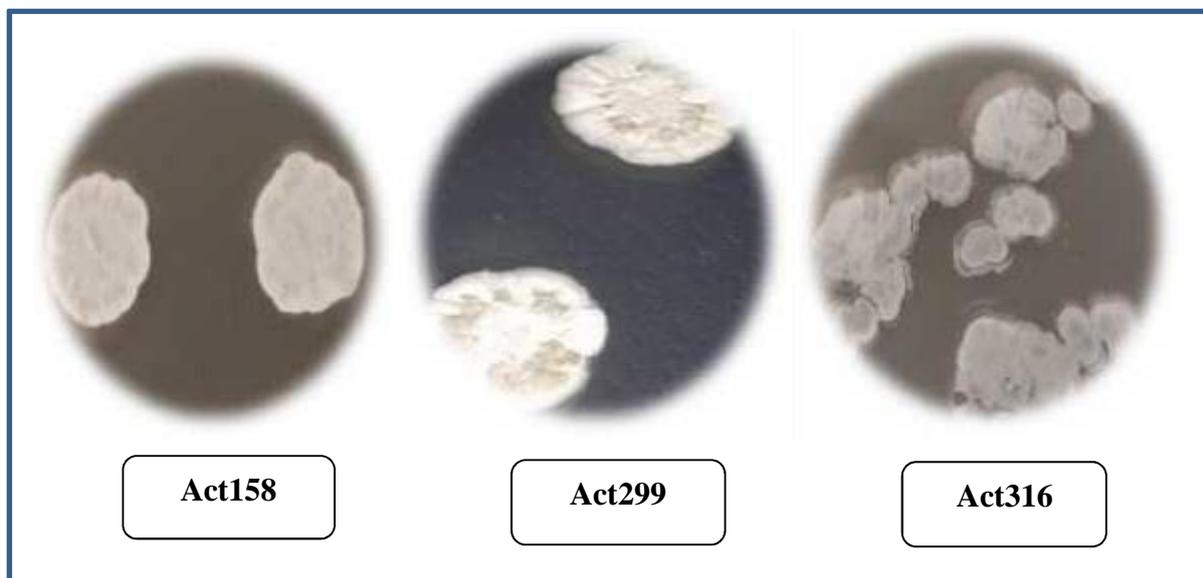
**Planche 04.** Photos de résultat du teste de l'actions sur lait écrémé.



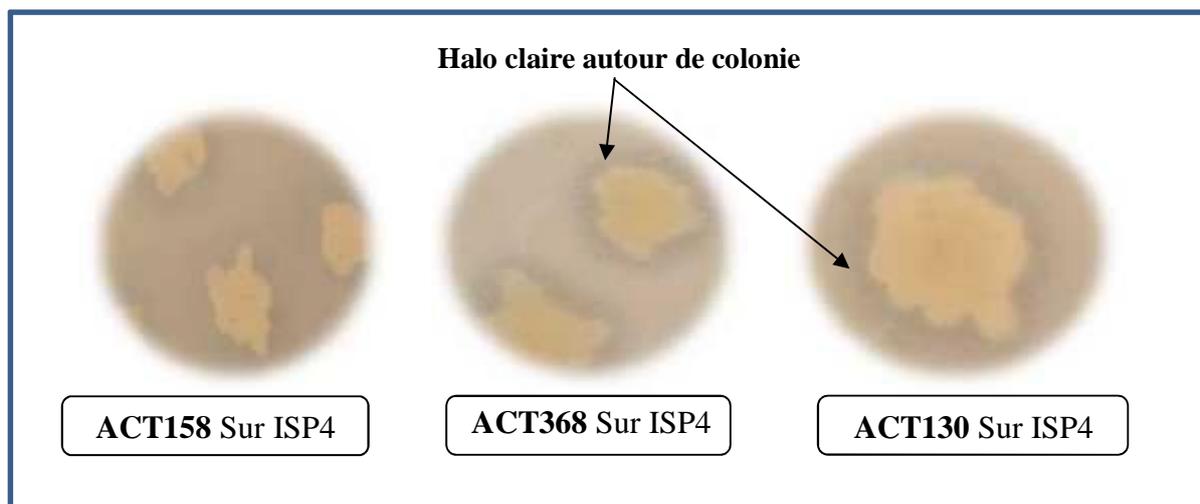
**Planche 05.** Photos de résultat du test de gélatinase.



**Planche 06.** Photos de résultat du teste de catalase.



**Planche 07.** Photos de résultat du test de l'hydrolase de l'amidon



**Planche 08.** Photos représente l'aparition d'halo calire autour des colonie sur milieu ISP4

## Conclusion et perspectives

L'objectif essentiel de notre travail était la mise en évidence de l'activité de biodégradation de douze isolats d'actinomycètes, qui proviennent d'une collection d'actinomycètes isolées d'un écosystème naturelle.

Dans ce travail Nous sommes intéressés aux aspects phénotypiques (Macromorphologiques) physiologiques, et essentiellement la biodiversité métabolique. À partir des résultats phénotypiques, on a pu constater que la majorité des isolats cultivés pendant 14 jour sur ISP (*International Streptomyces Project*) (1, 2, 3, 4, 5,6 ,7) Bennett, GYEA.

Présentent des colonies poudreuses de couleur blanchâtre ou mélangé avec d'autre couleur de taille petites régulières ou non, platies ou bombés avec une odeur terreuse. Cet aspect est particulier pour les isolats développant un mycélium arien d'autre apparaissent pigmentées et sporulées.

En effet là plus part des souches développent à différentes températures sont des mésophiles. Après nous avons constatés à partir l'étude métabolique que ces isolats sont capables de métaboliser diverses molécules et possèdent une activité amylolytique, ainsi ils sont capables de dégrader la gélatine, et ont une large gamme des enzymes : coagulase, catalase, gelatinase ...etc.

Enfin on conclut, que les isolats d'actinomycètes présentent une large diversité métabolique.

Comme perspectifs, il reste plusieurs travaux à mener afin de répondre aux questions soulevées lors de cette étude. Parmi ces travaux on cite :

- Optimisation du milieu et des conditions de culture pour un meilleur rendement
- Compléter les études des activités de biodégradation pour différents source de carbone.
- L'extraction et la purification des différents métabolites actifs ainsi que leur identification par les techniques chromatographies comme la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).
- Faire un screening sur les souches les plus active ont vu de leur utilisation pour l'extraction des métabolites secondaire.
- Identifications moléculaire des isolats ont étudié, par différents techniques moléculaires

## Référence Bibliographique

### A

**Anandan R., Dharumadurai D., Manogaran G.P., (2016).** Au Introduction to Actinobacteria. In: Dhanasekaran D., Jiang Y. (eds) Actinobacteria: Basics and Biotechnological Applications. Intech, Rijeka, pp.3-37.

**Ara I.; Kudo T., (2007).** Krasilnikovia gen. nov., a new member of the family Micromonosporaceae and description of Krasilnikovia cinnamonea sp. nov. Actinomycetologica, 21(1), 1–10.

**Arvind K., Bohra C. P. and Singh L. K., (2003).** Environment, pollution and management. S.B. Nangia ET A.P.H. Publishing Corporation: 531.

**Athalye M., Goodfellow M., Lacey J., White R. P., (1985).** Numerical Classification of Actinomadura and Nocardiopsis. Int. Journal. System. Bacteriol, 35 (1), 86-98.

**Avril J. L. et al., 1992.** Bactériologie clinique. 2 éd. Paris : ellipses. Pp: 511.

### B

**Badji. B ; Zitouni. A; Mathieu. F; Lebrihi. A; and Sabaou. S. ,(2006).** - Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura* sp. AC104 isolated from an Algerian Saharan soil. **Can. J. Microbiol, 52, 373–382.**

**Basilio A., (2003).** Patterns of antimicrobial from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. J.Appl. Microbiol., (95): 814-823.

**Becker B.; Lechevalier M. P. ; Lechevalier H. A., (1965).** Chemical Composition of Cell-Wall Preparations from Strains of Various Form-Genera of Aerobic Actinomycetes. Appl. Environ Microbiol, 13(2), 236-243.

**Belyagoubi .,L(2015).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. THÈSE. Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. p : 7-23.

**Bendale, M. S., B. L. Chaudhari et S. B. Chinchlkar., (2009).** Influence of environmental factors on siderophore production by *Streptomyces fulvissimus* ATCC 27431. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy. 03(4): 362-371.

**Benimeli C. S.; Amoroso M. J.; Chaile A. P.; Castro G. R.,( 2003).** Isolation of four aquatic *streptomyces* strains capable of growth on organochlorine pesticides. *Biores Technol.* 89, 133-138.

**Bergey's Manual., 2007.** Garrity. G.M.; Lilburn. T.G; Cole. J.R; Harrison. S.H., Euzéby. J; and Tindall. B.J. In: Part 10: Taxonomic Outline of the Bacteria and Archeae. Coyright, Michigan State University Board of Trustees.

**Bergey's Manuel** , (2007). Garrity. G.M.; Lilburn. T.G; Cole. J.R; Harrison. S.H., Euzéby. J; and Tindall. B.J. *In*: Part 10: Taxonomic Outline of the Bacteria and Archeae. Coyright, Michigan State University Board of Trustees.

**Boucheffa K., (2010).** Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques: Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits.

**Boudemagh, A., (2007).** Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives.

Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine.

Algérie. 132 p.

**Boudjella. H. (2007).** Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par trois souches. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique El-Harrach (Alger). pp 177. Bulletin, Vol. 34 (3), 242–247.

#### ————— C —————

**Cabrera, G., A. Xiong, M. Uebel, V. K. Singh et R. K. Jayaswal., (2001).** Molecular characterization of the iron-hydroxamate uptake system in *Staphylococcus aureus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 1001-1003.

**ChaoHsun Y & ; L , Wen-Hsiung (2007).** Cloning and characterization of a maltotrioseproducing  $\alpha$ -amylase gene from *Thermobifida fusca*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34 (4).P: 325-330.

**Chaphalkar S.R. and Dey S., (1996).** Computer assisted identification of *Streptomyces* species with high extracellular protease activity. *Actino.* 7(2), 47-54.

**Colombié V., (2005).** Description de la production de spiramycine par *Streptomyces ambofaciens*. Modélisation métabolique, simulation et capteur logiciel. Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse. pp174.

**Conn V. M., (2005).** Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University. pp 297. Constantine. 73 p.

#### ————— D —————

**Delarras C., (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.

**Delaunay S., Rondags E. et Germain P. (2003).** Production d'antibiotiques par biotechnologies. Techniques de l'ingénieur. Opérations unitaires, génie de la réaction chimique. J 6 008 1-12.

**Divya Teja, D., N. Harsha, S. Satya Vishala, P. K et Santhosha Lakshmi.,( 2014).** Production of L-glutaminase from marine ecosystems and optimal conditions for maximal production by actinomycetes. *Int. J. Adv. Res.* 2 (1):485-491.

**Djaballah C., (2010).** Biodiversité des Actinomycètes Halophiles et Halotolérante Isolat de la sebkha de Ain Mlila .Mémoire de Magister. Ecologie Microbienne. Université Mentouri Constantine. P : 4-9.

**Djibaoui, R. et A. Bensoltane.,( 2005).** Effect of iron and growth inhibitors on siderophores production by *Pseudomonas fluorescens*. *Afr. J. Biotechnol.* 04 (7): 697-702.

#### E

**Ensign et al., (1993).** JC Ensign, P Normand, JP Burden, et al. Physiology of some actinomycete genera. *Research in Microbiology*, 144 (1993), pp. 657-660.

**Erikson, D., (1941).** Studies on Some Lake-Mud Strains of *Micromonospora*. *Journal of Bacteriology*, 41(3), 277–300.

**Errakhi, R., Bouteau, F., Lebrihi, A., Barakate, M. (2007).** Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23, 1503-1509.

#### F

**F. Bailey et M. J. Morra., (2002).** Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving.

**Farris, M.H., Olson, J.B., (2007).** Detection of Actinobacteria cultivated from environmental samples reveals bias in universal primers. *Lett Appl Microbiol*, 45(4): 376–381.

#### G

**Gebreselema .G ;S.Samuel & R. Nagappan., (2013).** Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6. P: 426-435.

**Geraldine, M., Schofield, M., Schaal, K. P.,(1981).** A numerical taxonomic study of members of the *Actinomycetaceae* and related taxa. *J Gen Microbiol*, 127(2): 237–259.

**Goodfellow, M. et S. T. Williams. ,(1983).** Ecology of the actinomycetes. *Annu. Rev. Microbiol.* 37: 189-216.

**Gordon R.E & RE Smith.,(1953).** Rapidly growing, acid fast bacteria I. Species descriptions of *Mycobacterium phlei*. *J. Bacteriol.* 66. P: 41-48.

**Guiraud. J & P .Duriod., (2003).** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod .P : 188-193.

## H

- Hasegawa SA, Meguro M, Shimizu T, Nishimura et Kunoh H (2006).** Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. *Actinomycetol.* 20 (2): 72-81.
- Hayakawa H.; Yoshida Y.; Imura Y., (2004).** Selective isolation of bioactive soilactinomycetes belonging to the *Streptomyces violaceusniger* phenotypic cluster. *J. Appl. Microbiol.*, 96, 973–981.
- Hayakawa. M. (2008).** Studies on the Isolation and Distribution of Rare Actinomycetes in Soil. *Actinomycetologica*, 22 (1), 12-19.
- Hayakawa. M.,(2008).** Studies on the Isolation and Distribution of Rare Actinomycetes in Soil. *Actinomycetologica*, 22 (1), 12-19.
- Holt J. G.; Kreig N. R.; Sneath P. H. A.; Staley J. T.; Williams S. T., (1994).** In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th edition. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Huang Y.; Cui Q.; Wang L.; Rodriguez C.; Quintana E.; Goodfellow M.; Liu Z.,( 2004).** *Streptacidiphilus jiangxiensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from acidic rhizosphere soil in China. *Antonie van Leeuwenhoek* , (86): 159-165.
- Hwang B. K., Lim S. W., Kim B. S., Lee J. Y., Moon S.S., (2001).** Isolation and in vivo and in vitro antifungal activity of phenylacetic acid and sodium phenylacetate from *Streptomyces humidus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 3730-3745.

## J

- Janaki.T.,(2017).**Enzymes From Actinomycetes – Review . *International Journal of ChemTech Research*,10(2): 176-182.
- Jean-Paul Larpent et Jean-Jacques Sanglier.,( 1989).** *Biotechnologie des Antibiotiques. XII + 481 S. Paris-Milan-Barcelone-Mexico . Masson Editeur. 380 F.* ISBN: 2-225-81657-3.

## K

- Kalakoutskaa L. V. and Agre N. S., (1976).** Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriol. Rev.* 40 (2), 469–524.
- Kim B.; Al-Tai A. M.; Kim S. B.; Somasundaram P.; Michael Goodfellow M., (2000).** *Streptomyces thermocrophilus* sp. nov., a cellulase-free endo-xylanaseproducing streptomycete. *Int. J. Sys. Ev. Microbiol.*, (50): 505-509.
- 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. Th doctorat :Microbiologie : Université MentouriConstantine.

**Kuo M.J & PA Hartman.,(1966).** Isolation of amyolytic stains of *Thermo-actinomyces*-  
Kurup V. P. Barboriak J. J. Fink J. N. and Lechevalier M. P., (1975). *Thermoactinomyces* candidus, a new species of thermophilic actinomycètes. *International vulgaris* and production of thermophilic actinomycete amylases, J. Bacteriol. Vol. 92.No.3

**Kurup V. P. Barboriak J. J. Fink J. N. and Lechevalier M. P., (1975).** *Thermoactinomyces* candidus, a new species of thermophilic actinomycètes. *International*.

## L

**Lamari L., (2006).** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université de Tizi Ouzou Mouloud Mammeri.

**Le Minor, L., Veron, M. ,(1989).** Bactériologie médicale, 2ème édition , Flammarion Médecine-Sciences, Paris.2:428-432.

**Lechevalier M. P. ; Lechevalier H. A., (1970).** Composition of whole cell hydrolysates as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes *in: The Actinomycetales*. Prauser. H; Fisher Verlag. G; Jena, 311-316.

**Lechevalier M. P., 1985.** Actinomycetes in agriculture and forestry, p. 327-358. In M. Goodfellow, S. T. Williams, and M. Mordarski (ed.), *Actinomycetes in biotechnology*. Academic Press, Inc., New York.

**Lechevalier M. P.; De Bievre C.; Lechevalier H. A., (1977).** Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochem. Syst. Ecol.*, 5, 249-260.

**Lechevalier, H. A., Lechevalier, M.P. ,(1981).** Introduction to the order Actinomycetales. In: *The prokaryotes*, Vol. 2 (Starr M. P., H. Stolp, H. G. Truper, A. Ballows and H. G.

**Lechevalier M. P. ; Lechevalier H. A., (1980).** The chemotaxonomy of actinomycetes. In: *microbiology thayer . Actinomycete taxonomy*. Eds : A. DIETZ, D.W.. Society for industrial SIM special publication number 6. Arlington, Virginia USA. 225-291.

**Lee, J.Y., Hwang, B. K., (2002).** Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Can J Microbiol*, 48(5): 407–417.

**Leveau .J .Y &M Bouix ., (1993).** *Microbiologie Industrielle*. Paris. P : 424-439.

**Lichtman H., Watson J., Ginsberg V., Pierce J.V., Stokstad E.L., Jukes T.H., (1949).** Vitamin B12b some properties and its therapeutic use. *Experimental Biology and Medicine.*, 72(3), 643-645.

**Loucif K., (2010).** Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection des Souches d'actinomycètes. *Caractérisation préliminaire de molécules bioactives*.139.p :05-10.

- Macagnan, D., R. da S. Romeiro, A. W.V Pomella et T. de Souza.,( 2008)**. Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora (ex Crinipellis) pernicios*a by phylloplane actinomycetes. *Biol. Control.* 47: 309-314.
- Marchal, N., Bourdon, J. L., (1991)**. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin éditeurs –Paris. 509p.
- Mariat f. ; Sebald M., 1990**. Les actinomycètes Dans: Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.
- Mariat F. et Sebald M., (1990)**. Actinomycetes In :Bactériologie Medicale. Le Minor L. et véron M. 2éme édition, Flammarion. Paris. 935-949.
- Mariat, F., Sebald M., (1990)**. Les actinomycetes. Dans : Bactériologie . Maximal production by actinomycetes. *Int. J. Adv. Res.* 2 (1).P: 485-491.
- McKinney R. E., (2004)**. Environmental Pollution Control Microbiology. CRC Press : New York. Pp: 448. Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.
- Messaoudi O.,( 2012)**. Contribution à la caractérisation de souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha de kenadsa (Bechar).
- Messoudi O., (2003)**. Contribution à la caractérisation des souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha de Kenadsa (Bechar).
- Thèse de Magistère en Microbiologie Appliquée. Université Abou BakrBelkaid Tlemcen. 78p. de Tizi Ouzou. *Microbiol.* 68: 2161-2171.
- Mighélez EM, Hardisson C and Manzanal MB (2000)**. Streptomycetes: A new model to study cell death. *J. Cell. Biol.* 3: 153–158.
- Miyadoh S., (1993)**. Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: a producing microorganisms approach. *Actinomycetologica*, 9, 100-106.
- Morakchi H .,(2011)**. Isolement et identification de souche d'Actinomycètes productrices de molécules Bioactives au niveau du lac Oubeira : Etude morphologique, physiologique, moléculaire et spectre d'activitéThèse de Doctorat. Microbiologie Appliqué. Université BADJI MOKHTAR-ANNABA.P : 33-39.
- Muiru W.M ;EW Mutitu &DM Mukunva .,(2008)**. Identification of selected actinomycetes isolated and characterisation of their metabolites. *J. Biol. Sci.*, 8 (6),1021-1026.

**Muller, M., C. Deigele et H. Ziegler.,( 1989).** Hormonal interactions in the rhizospheres of maize (*Zea mays* L.) and their effect on plant development. *Z Pflanzenernahr. Bodenkd.* 152: 247-254.

## N

**Narayana. K.J.P; Prabhakar. P; Vijayalakshmi. M; Venkateswarlu. Y; and Krishna., (2008).**

P.S.J. Study on bioactive compounds from *Streptomyces* sp. ANU 6277. **Polish Journal of Microbiology**, 57 (1), 35-39.

**Nedal A., (2007).** Post-PKS modifications in the biosynthesis of the antifungal antibiotic nystatin. Thèse de Doctorat. Norwegian University of Science and Technology, (Norvège). pp 81.

**Nodwell, J. R., and Losick R., (1998).** Purification of an extracellular signaling molecule involved in production of aerial mycelium by *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* 180:1334-1337.

**Nouredine L.,( 2006).** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université de TiziOuzou (Algerie). pp186.

**Nyysola. A; and Leisola. M. (2001).** Actinopolyspora halophila has two separate pathways for betaine synthesis. *Arch Microbiol*, 176, 294–300.

## O

**Omura S., 1992.** Trends in the search for biactive microbial métabolite .*Journal of Industrial Microbiology*,10,135-56.

**Oskay M.; Tamer A.U.; Azeri C., (2004).** Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 3 (9), 441 –446.

**Oskay M.; Tamer A.U.; Azeri C., (2004).** Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 3 (9), 441 –446.

**Ou X.; Zhang B.; Zhang L.; Dong K.; Liu C.; Zhao G.; Ding X.,( 2008).** SarA influences the sporulation and secondary metabolism in *Streptomyces coelicolor* M145. *Acta. Biochim. Biophys Sin*, 40 (10), 877-882.

**Ouhdouch Y. ,(1989).**Bactéries actinomycétales rares productrices d'antifongiques. Thèse de Doctorat . Université de Nancy.

## P

**Pridham, T.G., Gottlieb D. (1948).** The utilization of carbon compounds by some actinomycetales as an aid for species determination. *J Bacteriol*, 56(1) : 107–114.

**Prescott &al., (2010).** Microbiologie. 3eme édition. Paris.p: 589-603.

**Prescott L. M.; Harley J. P.; Klein D. A., (2007).** Microbiologie. De Boek & Larcier, Bruxelles: 805–825.

**Prescott L., (2003).** Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp: **1164.**

## R

**Rangaswami G.; Bagyaraj D. J.; Bagyaraj D. G., (2004).** Agricultural Microbiology. PHI : New Delhi. Pp: 440. réaction chimique. J 6 008 1-12.

**Rickes E.L., Brink N.G., Koniuszy F.R., Wood T.R., Folkers K. (1948).** Crystalline vitamin B12. Science., 107(2781), 396-397.

## S

**Sabaou, N., (1988).** Contribution à l'étude des Actinomycètes des sols des palmeraies samples reveals bias in universal primers. *Lett Appl Microbiol*, 45(4): 376–381.

**Sandhya G.; Nanjani & Harsha P.; Soni., 2011.** Isolation and characterization of extremely halotolerant and halophilic organisms from dwarka and veraval. *Bioinformatica*. Vol:1. N°1. Pp: 1-15.

**Sanglier, J.J., Trujill M., (1997).** Sanglier, J.J., Trujill M., (1997). Substances bioactives produites par les actinomycetes, strategie de selection de souches. *Bull Soc Fr Microbiol*, 12(3): 269–276.

**Sarma AD, Mallick AR, Ghosh AK.,(2010)** . Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*. 1(3);185-92

**Schäfer, J., Jäckel, U., Kämpfer, P. ,(2010).** Development of a new PCR primer system for selective amplification of Actinobacteria. *FEMS MicrobiolLett*, 311(2): 103–112.

**Schmid .RD. and Verger R.,( 1998).** Lipases: Interfacial enzymes with attractive applications. *Angew. Chem. Int..* 37: 1608-1633.

**Shirling, E. B., Gottlieb, D., (1966).** Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int J Syst Bacteriol*, 16(3): 313–340.

**Smaoui S., 2010.** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France. P :251.

**Smaoui, S., (2010).** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de soils of Korea. *Can J Microbiol*, 48(5): 407–417.

**Sommer P., Bormann C., and Cötz F., (1997).** Genetic and biochemical characterization *Streptomyces humidus*. *Infect dis.* 5 (3): 207-213. souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura*.

**Sridevi, M., , K. G. Kumar et K. V. Mallaiah.,( 2008).** Production of catechol-type of siderophores by *Rhizobium* sp. isolated from stem nodules of *Sesbania procumbens* (Roxb.) W and A. *Res. J. Microbiol.* 03(4): 282-287.

**Stackebrandt E., (1997).** A proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47, 479–491. strategie de selection de souches. *Bull Soc Fr Microbiol*, 12(3): 269–276.

**Strub. C; Brandam. C; Meyer. X and Lebrihi. A. (2008).** - Investigations of *Saccharothrix Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Appl. Environ. Streptomyces project taxonomie criteria-the Boundary Microorganisms*. Toppan.

**Sykes, G., Skinner, F.A., (1973).** Actinomycetales: Characteristics and praticai importance.

## T

**Tang. S. K .,(2003).** Studies of the biological characteristics of some halophilic

**Tarkka M.; Hampp R.,( 2008).** Secondary Metabolites of Soil Streptomyces in Biotic Interactions *in* Secondary Metabolites in Soil Ecology. *Soil Biology*, P. Karlovsky (ed.), 14, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

**Theilleux J., (1993).** - les actinomycètes in *Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel*, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V 612p, pp 425.

**Theilleux J., (1993).** - les actinomycètes in *Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel*, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V 612p, pp 425.

Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. 226 p.

**Thomson, C.J., Power, E., Ruebsamen-Waigmann, H., Labischinski, H., (2004).** Antibacterial research and development in the 21(st) Century-an industry perspective of the challenges. *Curr Opin Microbiol*,7(5):445–50.

**Thumar, J. T. et S. P. Singh.,( 2007).** Secretion of an alkaline protease from a salttolerant and alkaliphilic *Streptomyces clavuligerus* Strain MIT-1. *Braz. J. Microbiol.* 38: 766-772.

**Tokala, R. K., J. I. Strap, C. M. Jung, D. L. Crawford, M. H. S. Love, L. A. Deoblad, J.**

**Tortora FC., (2003).** Introduction à la microbiologie. Canada. 2eme édition.P : 332. Université des Sciences et de la technologie Houari Boumediene. Alger. 192p.

## V

**Ventura M.; ( 2007).** Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*, 71 (3), 495–548. *vulgaris* and production of thermophilic actinomycete amylases, *J. Bacteriol.* Vol. 92.No.3.

## W

**Wang L.; Huang Y.; Liu Z.; Goodfellow M.; Rodri guez C., (2006).** *Sreptacidiphilus oryzae* sp. nov. an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. *In. J. Sys. Ev. Microbiol.* Vol 56. Pp: 1257-1261.

**Wayne, L., D. J. Brenner, R. R. Colwell, P. A. D. Grimont, O. Kandler, M. I. Krichevsky, L. H. Moore, W. E. C. Moore, R. G. E. Murray, E. Stackebrandt, M. P. Starr, H. G. Trüper.**,(1987).International Committee on Systematic Bacteriology: Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics Int. J. Syst. Bacteriol. 37 463–464.

**William B. R Whitman ; T Krieg ; T James ; R Daniel ;P Brian Hedlund & J. Paster ;L., Williams S.T. et Cross T., (1971).** Actinomycetes, dans: Methods in microbiology. Academic Press, London: 295-334.

**Williams, M. J.; Chambliss, C. G.; Brolmann, J. B., (1993).** Potential of Savanna Stylo as a stockpiled forage for the subtropical USA. J. Prod. Agric., 6 (4): 533-556.

## X

**Xu L.H., Li Q R., Jiang C.L., (1996).** Diversity of soil actinomycetes in Yunnan. China Applied in Environmental and Microbiology. (62): 244-248.

## Z

**Zaitlin B.; Watson S. b.; Ridal J.; Satchwill T.; Parkinson D.,( 2003).** Actinomycetes in lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. Res J Can, 95 (2): 113-118.

**Zaitlin. B; and Watson. S.B., (2006).** - Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: Myths, tenets and truths. 40 (9), 1741-1753.

**Zhi X. Y.,( 2009).** An update of the structure and 16S RNAr 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. Int J Syst Evol Microbiol, 59 (Pt 3): 589–608.

**Zvyagintsev D. G.; Zenova G. M.; Sudnizin I. I.; Doroshenko E. A., (2005).** The Ability of Soil Actinomycetes to Develop at an Extremely Low Humidity. Vol : 405. Pp 461-463.

**Zvyagintsev. D.G; Zenova. G.M; Doroshenko. E.A; Gryadunova. A.A; Gracheva. T.A; and Sudnitsyn. I.I. ,(2007).** Actinomycete Growth in Conditions of Low Moisture. Biology.

## Annexe

### Annexe I : Milieux de culture

#### I- Composition des milieux utilisés pour l'étude morphologique des Actinomycètes

##### Les milieux ISP

###### \*ISP1

-Tryptone.....	5g
-Extraitdelevure.....	3g
-Agar.....	20g
-H2Odistillée.....	100g

**pH :7**

###### \*ISP2

-ExtraitdeMalt.....	10g
-Extraitdelevure.....	4g
-Glucose.....	4g
-Agar.....	15g
-H2Odistillée.....	1000ml

**pH : 7.0 a 7.2**

###### \*ISP 3

-Solutiond'avoine.....	100g
-Solutionsalinestandard.....	1g
-Agar.....	18g

**-pH : 7.2**

###### \*ISP 4

-Amidon.....	10g
-k2HPO4.....	1g
-MgSO7H2O.....	1g
-NaCl.....	1g
-(NH4)2SO4.....	2g
-CaCO3.....	2g
-Solutionsalinestandard.....	1ml
-H2Odistillée.....	100ml

-  
Agar ..... 20g

**-pH : 7.0 à 7.4**

**\*ISP 5**

-Glycérol ..... 10g  
-Lasparagine ..... 1g  
-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>... ..... 1g  
-Solutionsalinstandard... ..... 100ml  
-Agar ..... 20g

**-pH : 7.0 à 7.4**

**\*ISP 6**

-Peptone ..... 20g  
-Extraitdelevure ..... 1g  
-Citrateferriqueammoniacal ..... 0.5g  
-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>... ..... 1g  
-Thiosulfatedesodium ..... 0.08g  
-Agar ..... 15g  
-H<sub>2</sub>Odistillée ..... 1000ml

**pH : 7.2**

**\*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  
-NaCl..... 0.5g  
-FeSO<sub>4</sub>,7H<sub>2</sub>O..... 0.01g  
-Solutionsalinstandard... ..... 1ml  
-Agar ..... 20g  
-H<sub>2</sub>Odistillée ..... 1000ml

**pH : 7.2**

## le milieu Bennet

-

Peptone.....	2g
-Glucose .....	10g
-Extraitdeviande .....	1g
-Extraitdelevure .....	1g
-Agar .....	18g
-H2Odistillée .....	1000ml

**pH : 7,3**

## II- Composition des milieux utilisés pour l'étude de labiodégradation

### II-1-Milieu amidon 1%

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

### II-3- Milieu de test action sur le lait écrémé • 10%

-H2Odistillée .....	100ml
-Laitécrémé .....	10g

### II-4-Milieu de test d'estérase

-NaNO3.....	1g
-Extraitdelevure .....	5g
--Solutionsaline .....	50ml
-Ca Cl2 2H2O.....	0.1g
-Tween80... ..	10ml
-Agar .....	18g
-H2Odistillée .....	1000ml

**pH : 6 a 6.2**

### II-5-bouillon nitrate

-Bouillonnitrate .....	21g
-H2Odistillée .....	1000ml

**pH: 7.2 a 7.2**

## Annexe II : Solutions et Réactifs

### 1- Solution salinestandard

-

K2HpO4.....	0.25g
-------------	-------

-MgSo47H2O .....	0.125g
-NaCl.....	0.125g
-FeSo47H2O .....	0.001g
-MnSO4 .....	0.001g
-Eaudistille .....	50ml

**2- Solutionsaline1**

-FeSo47H2O .....	0.1g
-MnCl24H2O .....	0.1g
-ZnSO47H2O .....	0.1g
-Eaudistille .....	100ml

**3- Solution saline2**

-CuSo47H2O.....	0.64 g
-FeSo47H2O .....	0.11g
-MnCl2 4H2O .....	0.79g
-ZnSO47H2O .....	0.15g
-Eaudistille .....	100ml

**4- Eauphysiologique**

-NaCl.....	8.5 g
-H2Odistillée .....	1000ml