



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de chahid cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la



Vie

Département de Biologie Appliquée

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master

En : Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Par :

M^{lle}. **Hammi Ferial**

Intitulé :

**Contrubition à L'étude de la Déversité Métabolique de Souche
D'actinomycètes Xérophiles**

Devant le jury :

<i>M. Djabri Belkacem</i>	<i>Pr</i>	<i>Université de Tébessa</i>	Président
<i>Mm. Benhadj Mabrouka</i>	<i>M.C.A</i>	<i>Université de Tébessa</i>	Encadrant
<i>Mm. Toumi Nacima</i>	<i>M.C.A</i>	<i>Université de Tébessa</i>	Examinatrice

Année Universitaire: 2024/2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿وَمَا تَوْفِيقِي إِلَّا بِاللَّهِ عَلَيْهِ تَوَكَّلْتُ وَإِلَيْهِ أُنِيبُ﴾

Remerciements

À Dieu Tout-Puissant, pour la volonté, la santé et la patience qu'Il nous a accordées tout au long de ces années d'études.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadrant, **Mm. Benhaj Mabrouka**. Pour sa confiance, ses conseils avisés, son précieux soutien, ainsi que pour sa disponibilité et son professionnalisme tout au long de la réalisation de ce mémoire.

et un grand merci au Dr Maroua Limami pour son aide au laboratoire et un grand merci au **Mm, Maroua Limami** pour son aide au laboratoire pour collecter les informations

Nous remercions également **Pr. Djabri Belkacem**, président du jury, ainsi que **Mm. Toumi Nacima**, pour avoir lu et, examinatrice, accepté de lire et d'évaluer ce travail.

Nos remerciements vont également à tous nos enseignants et à tout le personnel du Département de Biologie Appliquée de l'Université de Tébessa, pour la qualité de leur enseignement, leur encadrement et leur soutien tout au long de notre formation.

Résumé

Dans ce travail, un total de 28 souches d'actinomycètes ont été sélectionnées à partir d'une collection d'actinomycètes isolés d'un écosystème naturel et ont été testées pour analyser leur capacité morphologique, physiologique et principalement métabolique.

La mise en évidence des caractéristiques morphologiques, après observation macroscopique, consiste à ensemercer par touche les différents milieux d'identification (la gamme des ISP) montrant que la majorité des isolats présentent une diversité culturelle.

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

À partir de l'étude physiologique de la culture à différentes températures, nous estimons que la majorité de nos isolats sont des mésophiles.

Les critères métaboliques ont révélé la présence d'une forte activité enzymatique telle que la gélatinase, la coagulase et l'amylase, par la dégradation de différentes molécules. Après divers tests réalisés, nous avons pu distinguer une biodiversité morphologique, physiologique et métabolique remarquable.

Mots clés: Actinomycètes – biodiversité métabolique – biodiversité morphologique

Abstract

In this study, a total of 28 strains of actinomycetes were selected from a collection of actinomycetes isolated from a natural ecosystem and were tested to analyze their morphological, physiological, and primarily metabolic capabilities.

The highlighting of morphological characteristics, following macroscopic observation, involves inoculating various identification media (the range of ISP) by touch, demonstrating that the majority of the isolates exhibit cultural diversity.

Based on the results obtained, we observed that most colonies are small, either regular or irregular, flattened or raised, pigmented or sporulated, and powdery, with an earthy odor. From the physiological study of the culture at different temperatures, we estimate that most of our isolates are mesophiles. The metabolic criteria revealed a strong enzymatic activity presence, such as gelatinase, coagulase, and amylase, through the degradation of various molecules. After conducting various tests, we were able to distinguish a remarkable morphological, physiological, and metabolic biodiversity.

Key Words: actinomycetes – metabolic biodiversity. – morphological biodiversity

المخلص

في هذه الدراسة، تم اختيار 28 سلالة من الفطريات الشعاعية من مجموعة معزولة من نظام بيئي طبيعي، وخضعت للاختبار لتحليل قدراتها المورفولوجية والفسولوجية، وخاصةً الأيضية. يتطلب تحديد الخصائص المورفولوجية، بعد الملاحظة العيانية، تلقيح أوساط تعريف مختلفة (نطاق ISP) عن طريق اللمس، مما يدل على أن غالبية العزلات تُظهر تنوعاً ثقافياً. بناءً على النتائج التي تم الحصول عليها، لاحظنا أن معظم المستعمرات صغيرة، إما منتظمة أو غير منتظمة، مسطحة أو بارزة، مصبوغة أو مَبوغة، ومسحوقة، ذات رائحة ترابية. من خلال الدراسة الفسيولوجية للثقافة عند درجات حرارة مختلفة، نقدر أن معظم عزلاتنا من البكتيريا المحبة للحرارة المتوسطة. كشفت المعايير الأيضية عن وجود نشاط إنزيمي قوي، مثل الجيلاتيناز، والكواجولاز، والأميليز، من خلال تحلل جزيئات مختلفة. بعد إجراء اختبارات مختلفة، تمكنا من تمييز تنوع بيولوجي مورفولوجي وفسولوجي واستقلابي ملحوظ.

Table des matières:

Remerciments

Dédicaces

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des Planches

Liste des abréviations

Introduction

Partie théorique

Chapitre I: Généralités sur les actinomycètes

I.1. Définition.....2

I.2. Cycle de vie.....2

I.2.1. Classification des actinomycètes.....3

I.3 Écologie et répartition dans la nature.....5

I.4 Importance des actinomycètes5

Chapitre II: Les intérêts des actinomycètes

II.1 Métabolisme général des actinomycètes8

II.1.1 Le métabolisme primaire.....8

II.1.2. Le métabolisme secondaire8

II.2 Les substances bioactives produites par les actinomycètes9

II.2.1 Production des antibiotiques10

II.2.2. Production des enzymes11

II.2.3. Production des vitamines.....12

II.2.4. Production des pigments.....12

Partie Pratique

Matériels et Méthode

I.1 Cader de l'étude13

I.2 Matériels utilises13

I.2.1 Grands matériels13

I.2.2.Petits matériels13

I.3 Matériels biologiques	14
I.4 Les milieux de cultures	15
I.5 Les solutions et colorants utilises	15
I.6 Repiquage et Purification des Isolats d'actinomycètes	15
II.1 Étude des caractéristiques morphologiques.....	16
II.1.1 Étude micromorphologique.....	16
II.1.2 Étude macromorphologique	16
II.2 Etude de la biodiversité physiologique.....	17
II.2.1 Croissance à différentes temperatures.....	17
II.2.2 Tolérance à divers niveaux de pH	17
II.2.3 Tolérance à diverses concentrations de NaCl	17
II.2.4 Recherche de catalase	17
II.3 Étude de la biodiversité métabolique.....	18
II.3.1 Action sur le lait écrémé.....	18
II.3.2 L'hydrolyse des caséinases	18
II.3.3 Hydrolyse de l'amidon	18
II.3.4 Dégradation des sels de sodium	18
II.3.5 L'hydrolyse des acides gras	18
II.3.6 Hydrolyse de la nitrate réductase.....	18
II.3.7 Dégradation de celluloses	19
II.3.8 Activité hémolytique	19
II.3.9 Hydrolyse de la gélatine	19
II.4 Identification par le système Api 20E	19
II.4.1. Principe	20
II.4.2.Mode opératoire galerie Api 20E	20
II.4.3. Interprétation.....	20
Résultats et Discussion	
I.1. Repiquage et vérification de la pureté des isolats.....	22
I.2. Étude morphologique des isolats d'Actinomycètes.....	24
I.2.1. Étude micromorphologique.....	24
I.2.2. Etude physiologiques des souches sélectionnées.....	29
I.2.3 Étude de la biodiversité métabolique.....	36
Conclusion et perspective	
Annexe	

Références bibliographiques

Liste des Figures:

Figure 01 Cycle de développement des actinomycètes sur un milieu solide.....	3
Figure 02 Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes.....	10
Figure 03 Distribution de la production de molécules bioactives.....	11

Liste des Tableaux:

Tableau 01: Classement des actinomycètes selon le Manuel de Systématique Bactériologique de Bergey..	04
Tableau 02: Importance médicale de certains antibiotiques produits par le genre Streptomyces.....	06
Tableau 03: les différences majeures entre les métabolites primaires et secondaires.....	09
Tableau 04: Paramètres physico-chimiques des enzymes dérivées des actinomycètes.....	11
Tableau 05: Les pigments produites par les actinomycètes	12
Tableau 06: les codes des souches d'actinomycètes.....	14
Tableau 07: les différents types d'hémolyse	19
Tableau 08: Résultats de test de croissance des V28 isolats à différentes pH.....	30
Tableau 09: Les résultats de test des croissances des 28 isolats à différentes températures	31
Tableau 10: Les résultats de test catalase des 28 isolats d'actinomycète	33
Tableau 11: Les résultats de test catalase des 28 isolats d'actinomycète	34
Tableau 12a: Résultats des tests de biodiversité métabolique des 28 isolats.....	36
Tableau 12b: Résultats de API20E pour les enzymes produit par les 13 isolats.....	43

Liste des Planches:

Planche 01: Photos de conservation des différents isolats d'actinomycètes sur milieu SFM.....	23
Planche 02: Photos représentant les caractères cultureux de quelques isolats d'Actinomycètes sur le milieu ISP2.....	23
Planche 03: Coloration de Gram de certains isolats d'actinomycètes (G ×100).....	24
Planche 04: Photos des caractères cultureux de l'isolat ATSP sur les différents milieux.....	25
Planche 05: Photos des caractères cultureux de l'isolat ATP sur les différents milieux	25
Planche 06: Photos des caractères cultureux de l'isolat GH sur les différents milieux.....	27
Planche 07: Photos des caractères cultureux de l'isolat OS sur les différents milieux	27
Planche 08: Observation microscopiques de lamelle des différentes souches (G×100)	28
Planche 09: Photos des résultats de système Api 20E des quelques isolats.....	44

Liste des Abbreviation:

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: Polymerase chaîne réaction
BAT: Hydroxytoluène
BHA: Hydroxyanisole butylé
ISP: International Streptomyces Project (milieu de culture)
GYES: Glucose-Yeast-Extract-Agar (milieu de culture)
ACT: Actinomycète
H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène
NO₃: Nitrat
NO₂: Le dioxyde d'azote
MA: Mycélium aérien
%: Pourcentage
M: Mètre
ISP: The International Streptomyces Project.
ARN: Acide ribo nucléotide
ARN 16: Acide ribonucléique ribosomique 16 Sous-unité
SFM: Soja flour manitole
+C°: Degré Celsius
GC: Coefficient de Chargaff

Mm: Micromètre

G+: Bactérie Gram positive

G-: Bactérie Gram négative

NaCl: Clore de sodium

Abbréviation

OMS Organisation Mondiale de la Santé

DSS Direction des Services de Santé

DSP	Direction de la Santé et de la Population
TIAC	Toxi-infection Alimentaire Collective
UE	Union Européenne
ISO	Organisation Internationale de Normalisation
FAO	Food and Agriculture Organization
EFSA	European Food Safety Authority (<i>Autorité européenne de sécurité des aliments</i>)
LC	Liquid Chromatography
ALC	Acide Linoléique Conjugué
CAC	Codex Alimentarius Commission
CE	Communauté Européenne / Commission Européenne
E.coli	Escherichia coli
L. monocytogenes	Listeria monocytogenes
S. aureus	Staphylococcus aureus

Introduction:

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à coloration de Gram positif, présentant une teneur élevée en G + C (69 à 78%) dans leur ADN, et subissant un cycle de développement très différencié avec des transformations morphologiques au cours de leur cycle de vie (**Prescott & Harley, 2003**).

En réponse à des conditions défavorables, telles qu'un manque de nutriments et d'eau, leur présence dans la microflore du sol dépend de la nature de la matière organique, de la profondeur, du pH, de l'humidité et de l'aération (**Larpen et Sanglier, 1989**).

Les actinomycètes sporulent, ce qui signifie que lorsque les conditions redeviennent favorables, les spores peuvent germer et donner naissance à de nouveaux mycéliums végétatifs. Cette caractéristique est cruciale pour leur large répartition dans la nature (**Djaballah, 2010**).

Ils sont adaptés à divers milieux écologiques, se trouvant ainsi dans les sols, les eaux douces ou salines, et dans l'air.

Cependant, ils sont particulièrement abondants dans le sol, qui constitue leur principal réservoir, surtout dans les sols alcalins et ceux riches en matière organique, où ils représentent une part significative de la population microbienne. Par conséquent, ils jouent un rôle essentiel dans la décomposition de la matière organique, rendant le sol fertile et améliorant ainsi les récoltes (**Baldacci, 1962**).

Les actinomycètes, une famille de bactéries, se distinguent par la richesse de leur métabolisme et la diversité des métabolites qu'ils produisent (**Overbye et Barret, 2005**).

En général, ils sont capables de métaboliser une variété de composés, y compris les polysaccharides, les alcools, les acides aminés et les composés aromatiques, grâce à la production d'enzymes extracellulaires (**Kitouni, 2003**).

Leur capacité à dégrader les pesticides, les herbicides et les hydrocarbures a également été rapportée, cette diversité métabolique étant attribuée à leur génome étendu qui possède une centaine.

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

niveau du laboratoire de microbiologie, (Département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Tébessa).

L'étude a portée sur les étapes suivantes:

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



Partie théorique

Chapitre I : Généralité sur les actinomycètes

I. Généralités sur les actinomycètes:

I.1. Définition:

Les actinomycètes sont des procaryotes à Gram positif (**Williams et al. 1993 ; Sanglier et Trujillo, 1997**) avec un pourcentage de GC supérieur à 55 % (**Goodfellow, 1983**).

La majorité d'entre eux sont saprophytes et aérobies.

En général, les actinomycètes sont chimioorganotrophes, tirant leur énergie d'une grande variété de sources, y compris des polymères complexes, tandis que d'autres espèces sont chimioautotrophes (**Mariat et Sebald, 1990 ; Ensign et al. 1993**).

Leur paroi cellulaire ne contient ni chitine ni cellulose, mais plutôt une glycoprotéine qui peut inclure de la lysine (dans les formes fermentatives) ou de l'acide diaminopimélique (dans les formes oxydatives), et leur cytologie est similaire à celle des bactéries (**Lechevalier et Lechevalier, 1985 ; Mariat et Sebald, 1990**).

Ils forment généralement des hyphes ramifiés et des spores asexuées capables de survivre pendant de longues périodes dans 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 et préfèrent un pH neutre ou légèrement alcalin. Certaines espèces sont thermophiles et peuvent tolérer des températures proches de 50°C, allant jusqu'à 60°C (Omura, 1992).

Les actinomycètes représentent les microorganismes les plus largement répandus dans la nature (**Narayana et al., 2008**).

Ce groupe microbien présente une diversité considérable avec un mode de sporulation complexe, ainsi qu'une capacité à produire un large éventail de métabolites secondaires (**Bouix, 1993**).

I.2. Cycle de vie:

Les actinomycètes présentent un cycle de vie qui découle de trois processus physiologiques majeurs: la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire, suivie de la mort (**Danilenko et al., 2005**).

Dans un milieu solide, les spores d'actinomycètes engendrent un ou plusieurs mycéliums de substrats (MS), qui sont ramifiés et non fragmentés, à la suite de la germination d'une spore, et se développent par croissance apicale (Figure 1).

Le mycélium aérien se forme grâce à la réutilisation de composés assimilés par le mycélium végétal, tels que l'ADN, les protéines, ainsi que des composés stockés issus de la lyse du MS (**Ou et al., 2008**).

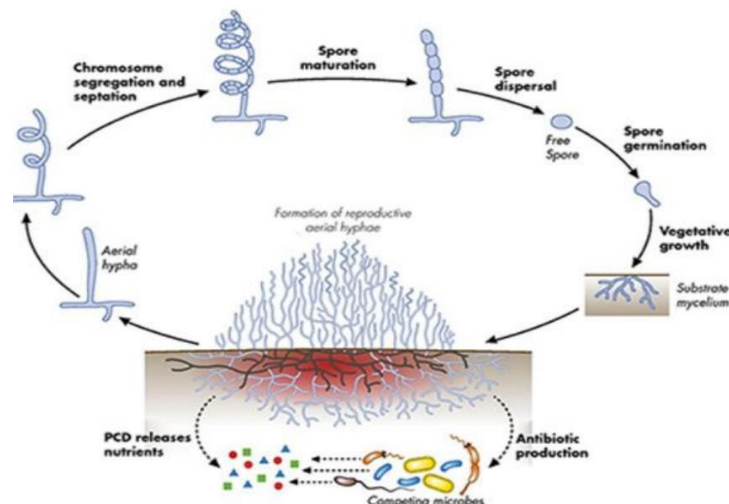


Figure 01: Cycle de développement des actinomycètes sur un milieu solide (**Hopwood et al., 1985**).

I.2.1. Classification des actinomycètes:

La classification des Actinobactéries s'appuie sur un ensemble de caractéristiques morphologiques, physiologiques, chimio-taxonomiques et moléculaires :

A. Caractères morphologiques:

Les actinomycètes affichent une vaste diversité morphologique, allant du simple bacilli diphtérique aux formes mycéliennes complexes (**Gottlieb, 1973**).

Les actinomycètes les plus différenciés développent sur un milieu gélosé une masse d'hyphes mycéliens répartis en deux couches distinctes:

- Le mycélium aérien (colonies poudreuses fermement attachées au milieu).
- Le mycélium du substrat (colonies pâteuses facilement détachées des milieux).

Selon les cas, des spores peuvent se former sur le mycélium aérien ou sur le mycélium du substrat, ou sur les deux à la fois, permettant ainsi la propagation de la souche (**Zermane, 2008**).

B. Chimiques Caractères physiologiques:

Plusieurs facteurs peuvent affecter la croissance des actinomycètes. Parmi ces facteurs (conditions environnementales), on peut mentionner: l'oxygène, le pH, la température...etc

- **Oxygène:** Les actinomycètes isolés du sol sont généralement des oxydatifs aérobies tels que les Streptomyces, mais certains genres peuvent être anaérobies facultatifs, voire même anaérobies stricts, comme c'est le cas du genre Actinomyces (**Lee et al., 2002**).

- **Température:** En général, les actinomycètes se développent le mieux à des températures modérées, variant entre 25 et 30 °C, ce qui les classe comme mésophiles, mais certaines espèces sont thermophiles et peuvent supporter des températures élevées de 50 à 60 °C, comme le genre *Thermoactinomyces* (**Holt et al., 1994**).
- **PH :** Les actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles et se développent dans un intervalle de pH allant de 5 à 9, avec une croissance optimale à un pH neutre ou légèrement alcalin (**Djaballah, 2010**).
- **Taux d'humidité:** Les actinomycètes sont isolés de sols présentant des niveaux d'humidité faibles ou modérés (**Oskay, 2004**).

C. Caractères chimio-taxonomiques:

La chimiotaxonomie est une discipline scientifique qui a pour but de classer les espèces vivantes (taxons) en fonction de leurs caractéristiques chimiques.

L'analyse des acides aminés de la paroi cellulaire, des glucides, des lipides et des acides nucléiques constitue les principaux traits utilisés dans les chimiotaxonomies (**Kitouni, 2007**).

D. Caractères moléculaires:

La caractérisation moléculaire repose sur: la détermination du pourcentage (G+C), le séquençage des gènes de l'ARNr 16S et l'hybridation ADN-ADN (**Stackebrandt, 1997**).

Selon ces critères, les Actinomycètes sont classés comme indiqué dans le tableau ci-dessous:

Domaine	Bactéria		
Phylum	<i>Actinobacteria</i>		
Classe	<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Actinobacteria</i>
	<i>Rubrobacteria</i>	<i>Coriobacteria</i>	<i>Thermoleophilia</i>
Ordre	- <i>Actinomycetales</i> - <i>Streptomycetales</i> Plus les 13 Ordres.		
Famille	<i>Actinomycetaceae</i> <i>Streptomycetaceae</i>		
Genre	<i>Actinomyces</i> Plus les 6 autres genres <i>Streptomyces</i> Plus les 2 autres genres.		

Tableau 01: Classement des actinomycètes selon le Manuel de Systématique Bactériologique de Bergey.

I.3 Écologie et répartition dans la nature:

Les actinomycètes sont des micro-organismes omniprésents dans les substrats naturels courants, ce qui les rend ubiquitaires (**Lacey, 1973**).

Ils ont été découverts dans les eaux douces et salées, dans les composts, dans l'atmosphère et dans divers substrats. Ils occupent 80 % de la surface du sol, et leur présence diminue avec la profondeur (**Goodfellow et al., 1983**).

La majorité d'entre eux sont des saprophytes, jouant un rôle crucial dans la décomposition des macromolécules dans le sol, contribuant ainsi au recyclage de la matière organique (**Meij et al., 2017**).

I.4 Importance des actinomycètes :

La diversité des actinomycètes dans divers écosystèmes a engendré une multitude de composés bioactifs de grande valeur commerciale, utilisés dans plusieurs secteurs (industriels, biotechnologies, pharmaceutiques et alimentaires) (**Bouaziz, 2018**).

➤ **En agronomie:**

Certains métabolites issus des actinomycètes jouent un rôle dans le processus de recyclage (en bioremédiation). Ils ont la capacité de décomposer des composés organiques complexes tels que la chitine, grâce à un potentiel enzymatique riche et à des spores résistantes à la dessiccation (**Djinni, 2009**).

Cette aptitude à décomposer activement renforce l'importance des actinomycètes dans la microflore de la rhizosphère. Le genre *Frankia*, par exemple, contribue à la fixation de l'azote atmosphérique en symbiose avec les nodules racinaires de certaines plantes dicotylédones.

De plus, certains antibiotiques sécrétés par les actinomycètes ont trouvé des applications dans la lutte contre certaines maladies des plantes, comme la kasugamycine. Ces antibiotiques sont utilisés depuis longtemps et à grande échelle dans l'agriculture japonaise, notamment contre certaines maladies du riz (**Boudjelal-Bencheikh, 2012**).

➤ **En biotechnologie:**

Les actinomycètes synthétisent de nombreuses molécules bioactives et antibiotiques qui occupent une place prépondérante dans l'arsenal thérapeutique et commercial dans les secteurs pharmaceutiques, médicaux et vétérinaires (**Bouaziz, 2018**).

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

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

Chapitre II: Les intérêts des actinomycètes

II.1 Métabolisme général des actinomycètes:

En règle générale, les actinomycètes sont des bactéries chimioorganotrophes qui exploitent une large gamme de sources de carbone et d'énergie, y compris des biopolymères complexes tels que la chitine, la cellulose et la lignine. Cependant, plusieurs espèces ont également la capacité de croître de manière chimio-autotrophe, en utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le dioxyde de carbone comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**).

Leurs caractéristiques varient selon la phase de synthèse (**Delaunay et al., 2003**).

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

II.1.1 Le métabolisme primaire:

Le métabolisme primaire englobe les réactions cataboliques et anaboliques qui permettent la formation de biomasse. Le pouvoir réducteur et l'énergie générés par ces réactions sont utilisés pour créer et assembler les monomères (par exemple : acides aminés) en macromolécules (par exemple : protéines) (**Strub, 2008**).

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

II.1.2. Le métabolisme secondaire:

Le métabolisme secondaire comprend l'ensemble des voies qui permettent la synthèse de petites molécules, non essentielles mais pouvant offrir un avantage sélectif dans certaines conditions.

Le métabolisme secondaire est généralement considéré comme opposé au métabolisme primaire, qui regroupe toutes les voies cataboliques et anaboliques nécessaires à la survie et à la reproduction de la cellule. Il existe une grande diversité de métabolites secondaires, présentant des structures chimiques variées et complexes, ainsi qu'une multitude d'activités biologiques (**Drago, 2015**).

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

Les espèces du genre *Streptomyces* sont réputées pour la richesse de leur métabolisme secondaire. Ces métabolismes peuvent présenter des propriétés biologiques intéressantes et de nombreuses molécules utilisées en médecine proviennent d'un métabolite produit par un *Streptomyces*.

Avec l'augmentation des données de séquençage, plusieurs outils de recherche de clusters du métabolisme secondaire ont été mis au point (**Medema et al., 2011**).

Les actinobactéries se classent en tête comme fournisseurs de substances bioactives, dont 45 % de ces molécules sont d'origine microbienne, soit environ 10 100 composés (**Berdy, 2005 ; Solecka et al., 2012**).

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

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

II.2 Les substances bioactives produites par les actinomycètes:

Les métabolites bioactifs résultent du métabolisme primaire et secondaire de divers organismes (plantes, animaux, champignons, bactéries) (**Solecka et al., 2012**).

Les actinomycètes sont réputés pour leur capacité à produire des substances biologiquement actives telles que des antibiotiques, des vitamines, des enzymes et des pigments. Certaines espèces possèdent la capacité de solubiliser le phosphore, tandis que d'autres jouent également un rôle dans le contrôle phytopathologique et la production de composés antifongiques (**Gebreselema, 2013**).

En effet, les actinomycètes sont responsables de 47 % des molécules bioactives dérivées de microorganismes, découvertes entre 1940 et 2010, dont 24 % proviennent d'actinomycètes rares (**Berdy, 2012**).

Deux des caractéristiques les plus notables des actinomycètes sont leur capacité à se développer sur une grande variété de substrats et leur aptitude à synthétiser un grand nombre de métabolites bioactifs. la streptomycine a été le premier antibiotique dérivé d'une souche de *Streptomyces* (**Ramanarivo, 2017**).

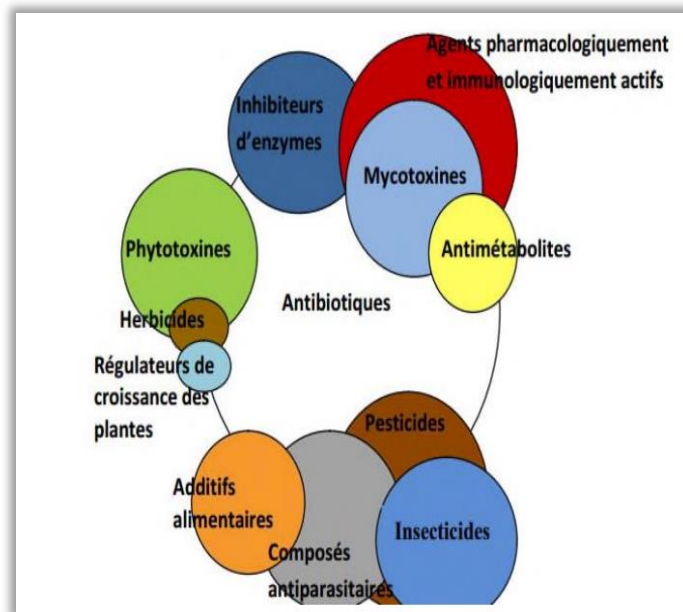


Figure 02: Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes

II.2.1 Production des antibiotiques:

Les actinomycètes jouent un rôle crucial dans le secteur de la biotechnologie des antibiotiques. Ils constituent également une source de substances antitumorales telles que l'actinomycine, l'adriamycine, la rebeccamycine et la mitomycine, ainsi que d'insecticides (mitomycine), de pesticides (antimycine A), d'herbicides (phinitricine) et de composés ayant des propriétés immunosuppressives et immunostimulantes (rapamycine et FK500).

Les actinomycètes sont particulièrement significatifs en raison de leur capacité à produire une grande variété d'antibiotiques. Environ 70 % des 25 000 antibiotiques actuellement répertoriés sont synthétisés par des microorganismes, dont 60 % proviennent des actinomycètes (Leclerc et al., 1986).

Le genre *Streptomyces* est reconnu comme le producteur du plus grand nombre d'antibiotiques (Okami et al., 1988 ; Long et al., 1993).

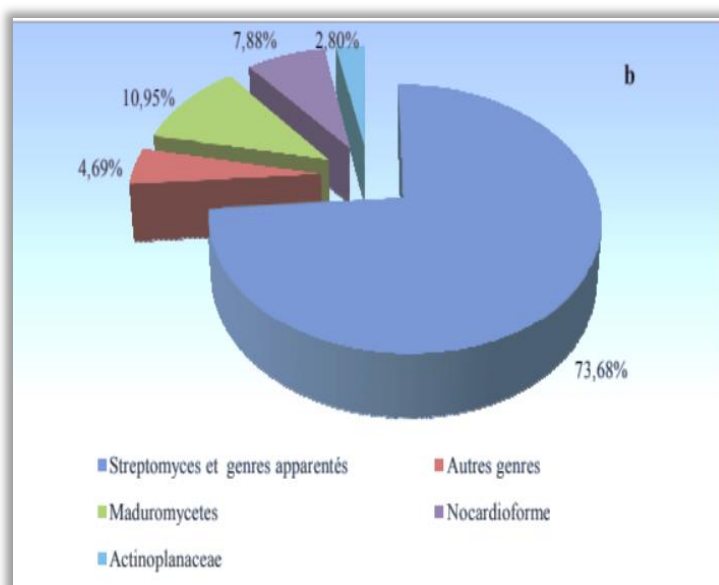


Figure 03: Distribution de la production de molécules bioactives, antibiotiques et non antibiotiques, entre les Streptomyces et les genres apparentés d'une part, et les autres genres d'Actinomycetales.

II.2.2. Production des enzymes:

Les enzymes constituent le produit industriel le plus important après les antibiotiques. En effet, les Actinomycètes sont d'excellents producteurs d'enzymes à usage industriel, telles que les cellulases et les xylanases, qui sont utilisées dans le traitement des sous-produits, ainsi que les protéases, les chitinases, les lipases et les amylases (voir tableau 2).

Elles jouent également un rôle crucial dans l'industrie alimentaire, la fermentation, ainsi que dans les secteurs du textile et du papier (Mukesh, 2014).

Enzymes	Souches productrices
Cellulase	<i>Thermomonospora sp</i> <i>Recombinant streptomyces sp</i> <i>Thermobifidahalotolerans</i>
Xylanase	<i>Actinomadurasp</i> <i>Streptomycesspp</i>
Amylase	<i>Streptomycessp</i> <i>Streptomyceserumpens</i> <i>Nocardiopsis sp</i>
Pectinase	<i>Streptomyceslydicus</i>
Protease	<i>Streptomycespactum</i> <i>Streptomyces thermoviolaceus</i> <i>Streptomyces sp</i>

Tableau 04: Paramètres physico-chimiques des enzymes dérivées des actinomycètes.

II.2.3. Production des vitamines:

La flore intestinale est riche en vitamines naturelles, en aliments d'origine végétale et en micro-organismes, tout en jouant un rôle crucial dans la synthèse chimique de nombreuses vitamines présentes dans divers produits alimentaires. La vitamine B12, également connue sous le nom de cobalamine, est essentielle à la formation des globules rouges, et sa carence entraîne une anémie pernicieuse. C'est une vitamine hydrosoluble essentielle, largement utilisée dans les secteurs médical et alimentaire (Sumathy et al., 2020). Elle est synthétisée par différents types d'Actinomycètes, les principaux étant : *Streptomyces chromogenws*, *S. griseus* et *S. antibioticus*.

II.2.4. Production des pigments:

Les pigments sont des composés ayant des caractéristiques significatives pour de nombreuses industries. Dans le secteur alimentaire, ils sont employés comme additifs, intensificateurs de couleur, antioxydants, etc.

Les actinomycètes ont la capacité de synthétiser une vaste gamme de pigments sombres, appelés pigments de mélanine/mélano devoir (tableau II.3). Certains pigments bien connus provenant d'actinomycètes sont (Ramalingam et al., 2017).

Les pigments	Souches productrices
Bleu	<i>Streptomyces coelicolor</i>
Brun	<i>Streptomyces sp</i>
Vert	<i>Actinomyces viscosus</i> <i>Saccharomonospora viridis</i>
Orange	<i>Actinomyces naeslundii</i>
Rouge	<i>Streptomyces echinoruber</i>
Violet	<i>Streptomyces mauve colo</i>

Tableau 05: Les pigments produites par les actinomycètes



Partie Pratique

Matériels et Méthode

I.1 Cader de l'étude:

Ce travail a été réalisé au sein de laboratoire de microbiologie, département de biologie appliquée, faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'université Larbi Tébessi –Tébessa.

I.2 Matériels utilises:

I.2.1 Grands matériels:

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

I-2-2-Petits matériels:

- Anse de platine
- Barreaux magnétique
- Bec bunsen
- Boîtes de Pétri (grands et minies boites).
- Portoirs
- Entonnoir
- Film photographique
- Lames
- Micropipette
- Papier wattman
- Pissette
- Pipettes Pasteur
- Cure dents
- Spatule

I.3 Matériels biologiques:

Origines des souches Les 28 isolats d'actinomycètes étudiés ont été fournis par notre encadreur Mme Benhadj Mes souches proviennent d'une collection d'actinomycètes chacune avait un code selon le tableau suivant :

N° de la Souche	Code Souche
Souche N°1	ATSP6
Souche N°2	ATSP8
Souche N°3	ATSP11
Souche N°4	ATSP12
Souche N°5	ATSP13
Souche N°6	ATSP15
Souche N°7	ATSP18
Souche N° 8	ATSP24
Souche N°9	ATSP25
Souche N°10	ATP26
Souche N°11	ATP28
Souche N°12	ATSP30
Souche N°13	ATP35
Souche N°14	ATP36
Souche N°15	ATP37
Souche N°16	ATSP39
Souche N°17	ATP40
Souche N°18	ATP41
Souche N°19	ATP46
Souche N°20	ATP48
Souche N°21	ATP49
Souche N°22	ATP50
Souche N°23	ATP50
Souche N°24	GH57
Souche N°25	OS65
Souche N°26	OS66
Souche N°27	ATSP78
Souche N°28	ATSP79

Tableau 06: les codes des souches d'actinomycètes

I.4 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
- Citrate de Simmons
- NB (la composition de chaque milieu est présentée dans l'annexe).

I.5 Les solutions et colorants utilises:

- L'eau distillée stérile
- L'eau physiologique stérile
- L'eau Oxygénée
- Violet de Gentiane
- Lugol
- Alcool
- Fuchsine
- Huile à immersion
- Solution salines standard
- Solution saline 1
- Solution saline 2

Origines des souches Les 28 isolats d'actinomycètes analysés ont été fournis par notre encadrante Mme Benhadj. Mes souches proviennent d'une collection d'actinomycètes,

I.6 Repiquage et Purification des Isolats d'actinomycètes:

La purification des isolats constitue une étape cruciale dans notre recherche, car elle permet d'obtenir des colonies bien distinctes et pures ; pour parvenir à ces colonies, il est nécessaire d'ensemencer successivement des boîtes de Pétri préparées avec un milieu ISP2, en appliquant la méthode de strie d'épuisement pour chaque isolat. Par la suite, ces boîtes sont incubées à une température de 30°C pendant 7 jours, étant donné que les Actinomycètes se caractérisent par une croissance relativement lente comparée à celle des autres bactéries (**Shirling et Gottlieb, 1966**).

II.1. Étude des caractéristiques morphologiques:

II.1.1. Mise en évidence de l'activité microbienne des souches d'actinomycète:

II.1.1.1 Etude de l'activité antibactérienne:

- Préparation de culture des bactéries test dans les milieux solides:

Pour le test d'activité antibactérienne des actinomycètes contre les bactéries suivantes : «Staphylococcus aureus ATCC 43400, Staphylococcus aureus ATCC 25293, Micrococcus luteus DSM1790, Escherichia coli ATCC25922, Escherichia coli ATCC8799, Bacillus subtilis ATCC6633, Salmonella ATCC42238, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas sp, Klebsiella pneumoniae ATCC ». A l'aide d'une anse de platine ces bactéries sont ensemencées par la méthode de strie d'épuisement sur les milieux Chapman, LB solide, et MacConkey, puis incubé à 30°C et 37°C selon la bactérie pendant 24h pour vérifier leur pureté.

- **Préparation de l'inoculum**

Après l'incubation de 24h sur les milieux cités précédemment, un inoculum est préparé pour chaque bactérie test en milieu Luria-Bertani (LB) liquide puis les incubé pendant 24h.

Technique des disques d'agar:

Cette méthode consiste à ensemencer les 8 souches d'actinomycète à tester sur les milieux (ISP2, GYEA, Bennet) en stries serrées. Dans le 3^{ème} jour d'incubation, à l'aide des cônes bleus stériles, les cylindres d'agar portant des colonies d'actinomycètes, de 07 mm de diamètre sont découpés à partir de ces milieux, et déposés à la surface du milieu LB molle préalablement ensemencées avec les différentes bactéries « 200µl de l'inoculum prélevé à l'aide de micro pipette est ajouté au 10ml de milieu LB molle » .

Les boîtes ensemencées sont maintenues au réfrigérateur pendant 30min avant d'être incubé, pour permettre la diffusion des substances actives tout en empêchant la croissance des bactéries, puis incubée à 30°C et 37°C (selon la bactérie) pendant 24h (Kitouni, 2007). Ce test a été répété pour des cultures des Actinomycètes de 7 et 10j d'incubation. Les diamètres des zones d'inhibition observées sont mesurées autour des cylindres d'agar (Shomura et al., 1979; Saadoun et Al Moumani, 1997; Petrosyan et al., 2003; Boudjelal et al., 2011).

➤ **Préparation de cultures de levures et de champignons filamenteux:**

Pour le test dans un milieu solide : Pour évaluer l'activité antifongique des isolats d'actinomycètes vis-à-vis des levures « ICF18, ICF19, ICf43, ICF44, ICF65, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Rhodotorula* » et des champignons filamenteux (*Pa.li*, *As.cal*, *As.fl.a*, *Sced.api*, *F.sol*, *Lich.cor*, *F.oxy*), ces germes cibles sont ensemencés par la méthode de strie d'épuisement sur le milieu sabouraud à l'aide d'une anse de platine, puis incubés à 25°C pour les levures et à 30°C pour les champignons filamenteux.

➤ **Préparation de la suspension des germes cibles:**

Après l'incubation des levures et des champignons filamenteux sur le milieu solide, une suspension est préparée pour chaque germe. À l'aide d'une pipette Pasteur, des colonies de levure et de champignons filamenteux sont prélevées et mises dans 500 µl d'eau physiologique stérile.

➤ **Application du test antifongique:**

Le test d'antagonisme vis-à-vis des germes cibles a permis de démontrer l'activité de ces souches contre les levures et les champignons filamenteux par la méthode de double couche (**Vidaver et al., 1972**).

Les isolats d'actinomycètes à tester sont ensemencés au centre de la boîte de Petri, préalablement remplie avec le milieu ISP2 et GYEA, puis incubés à 30°C pendant 7 jours. 200 µl de la suspension des souches cibles est ensemencé en masse dans 10 ml de milieu ISP2 molle pour les levures et les champignons.

L'incubation se fait à 30°C pendant 24 heures pour les levures et à 37°C pendant 24 à 48 heures pour les champignons filamenteux (**Bastide et al., 1986**). Le résultat se manifeste par la présence ou l'absence de croissance de la souche test autour de la colonie d'actinomycète.

II.1.2. Étude macromorphologique:

L'étude macromorphologique permet d'identifier les divers caractères du mycélium de substrat (MS) et du mycélium aérien (MA), qui varient en fonction des milieux. Ce test consiste à ensemencer plusieurs milieux d'identification (la gamme des ISP : ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6 et SP7 « l'International Streptomyces Project ») (**Shirling et Gottlieb, 1969**).

Les milieux sont préparés dans des boîtes de Pétri, puis ensemencés par touche à partir d'une culture pure mature de chaque isolat, avec deux répétitions notées (R1, R2). Cette répétition est considérée comme un test confirmatif, permettant ainsi de récupérer la boîte en cas de contamination et de la remplacer par la seconde boîte.

Ces milieux sont incubés à 30°C pendant 7, 14 et 21 jours, et leur croissance est vérifiée. Ce test permet d'évaluer l'importance de la croissance (très importante, importante, moyenne, faible ou absente). Ces caractères sont notés par des significations (+/-). La couleur du mycélium de substrat et du mycélium aérien varie d'une souche à l'autre et d'un milieu à un autre. De plus, la production de pigments solubles, caractérisée par le changement de couleur du milieu par rapport à sa couleur initiale, est observée. Dans le cas des Actinomycètes, plusieurs couleurs de pigments solubles ont été décrites (**Shirling et Smith, 1953 ; Kitouni, 2007**).

II.2. Etude de la biodiversité physiologique:

II.2.1. Croissance à différentes températures:

Ce test a pour objectif de déterminer la croissance des isolats à cinq températures distinctes (4, 25, 30, 37, 44°C) sur le milieu ISP2. Pour chaque température d'incubation, deux boîtes sont utilisées par souche.

La croissance est évaluée sur une période de 21 jours d'incubation, et la température favorisant une croissance optimale est enregistrée (**Smaoui, 2010**).

II.2.2. Tolérance à divers niveaux de pH:

Ce paramètre physiologique est évalué à l'aide d'un milieu ISP2 gélosé, mais à différents niveaux de pH (5, 7, 9 et 10). Seul le pH 3 est testé dans le milieu ISP2 liquide. Ces milieux, avec leurs divers niveaux de pH, sont inoculés à partir de cultures pures des isolats.

Les résultats sont enregistrés après une période d'incubation de 14 à 21 jours à 30°C.

II.2.3. Tolérance à diverses concentrations de NaCl:

Ce test permet d'identifier les espèces d'Actinomycètes halophiles ou d'origine marine, sur un milieu spécifique (voir l'annexe) à différentes concentrations de NaCl (2,5%, 5%, 7%, 10%) et en utilisant un témoin, qui est le milieu à 0% de NaCl. Ce test consiste à ensemercer chaque souche d'Actinomycète à ces différentes concentrations de NaCl. Les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant une période de 14 à 21 jours (**Boucheffa, 2011**).

II.2.4 Recherche de catalase:

Cette enzyme facilite la décomposition du H₂O₂ par oxydation en présence d'oxygène, selon l'équation suivante : $H_2O_2 = H_2O + \frac{1}{2} O_2$ (L'oxygène libéré se manifeste sous forme de gaz).

La méthode de détection de la catalase consiste à appliquer une colonie sur une lame de

verre propre, accompagnée d'une goutte de H₂O₂ à 10 volumes. La présence de l'enzyme est signalée par la formation de nombreuses bulles d'air sous forme de mousse. Le test de catalase est considéré comme positif si des bulles d'air apparaissent, tandis qu'il est négatif en l'absence de bulles (**Zinedine, 2004**)

II.3 Étude de la biodiversité métabolique:

II.3.1 Action sur le lait écrémé:

Recherche de coagulase Des tubes contenant du lait écrémé liquide (Candia Silhouette) sont inoculés et incubés à 30°C, avec des observations régulières pendant 14 jours pour noter la coagulation du lait causée par les souches (**Williames et Cross., 1971**).

II.3.2 L'hydrolyse des caséinases:

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

II.3.3 Hydrolyse de l'amidon :

Recherche d'amylase Ce test est effectué sur une gélose nutritive contenant 1 % d'amidon soluble. Le milieu est réparti dans des boîtes de Pétri stériles, puisensemencé par touche. Les boîtes sont incubées à 30 °C. Après 14 jours, le milieu est traité avec une solution de lugol. L'hydrolyse est ainsi mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies. En revanche, les zones contenant de l'amidon se colorent en brun (**Gordon et Smith, 1953**).

II.3.4 Dégradation des sels de sodium:

Ce test est effectué dans un milieu de citrate de Simmons, où l'on ensemence la surface du milieu à l'aide de cure-dents stériles. L'incubation se fait à 30 °C pendant une période de 14 à 21 jours. Un changement de couleur du milieu vers le bleu indique un résultat positif au test (**Gordon et Smith, 1953**).

II.3.5 L'hydrolyse des acides gras:

Du Tween 80 est mise en évidence après l'ensemencement des isolats sur un milieu à base de Tween, qui constitue la seule source de carbone, après une incubation de 14 à 21 jours à 30 °C. Le résultat se manifeste par l'apparition d'un halo autour des colonies, indiquant la dégradation des acides gras.

II.3.6 Hydrolyse de la nitrate réductase

Des tubes contenant 10 ml de milieu bouillon nutritif (ISP8) sontensemencés, puis incubés à 30 °C pendant 7 jours. Une coloration allant du rose au rouge clair, observée après l'ajout des réactifs (Nit I et Nit II), indique la réduction du nitrate en nitrites (**Guiraud**

et Duriod., 2003). $\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+$ Nitrate réductase $\text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O}$. En l'absence de cette coloration, quelques milligrammes de poudre de zinc sont ajoutés : - L'apparition d'une coloration rouge indique un test négatif (les nitrates du milieu ne sont pas réduits par la souche). - En l'absence de coloration, le test est considéré comme positif (les nitrates sont réduits au-delà du stade des nitrites) (Marchal et al., 1991).

II.3.7 Dégradation de celluloses:

Dans cette expérience, des tubes contenant 5 ml de milieu liquide ISP9 et des bandelettes de papier Wattman N°1 stériles ont été employés comme unique source de carbone. Ils ont ensuite été inoculés avec des isolats d'actinomycètes, un tube sans colonies (non inoculé) servant de contrôle négatif. Les tubes ont été incubés à 30 °C pendant un maximum de 14 jours, et la croissance des souches sur le papier Wattman a été interprétée comme un résultat positif (Yugal, 2014).

II.3.8 Activité hémolytique:

Celle-ci est effectuée sur gélose Columbia (180mL) à laquelle on ajoute 10 ml de sang. Lorsque les actinomycètes présentent une activité hémolytique, ils génèrent différentes zones hémolytiques sur la gélose au sang. (Guerin et al., 1992).

On distingue trois catégories d'hémolyses en fonction de la zone indiquée :

Zone d'hémolyse	Type d'hémolyse
Colonies a large auréole claire, a bord net, hémolyse complète	β hémolytique
Colonies a halo étroit, avec verdissement (Formation de méthémoglobine), hémolyse incomplète.	α hémolytique
Colonies sans zone d'hémolyse	γ hémolytique

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

II.3.9 Hydrolyse de la gélatine :

Recherche de gélatinase Une suspension de la bactérie test est préparée dans de l'eau physiologique à laquelle une bandelette de film photographique est ajoutée. Un tube non ensemencé contenant une bandelette servira de témoin négatif, puis les échantillons sont incubés pendant 7 jours à 30°C.

Un éclaircissement du film photographique, qui indique l'attaque de la gélatine par la bactérie, témoigne d'une réaction positive. (Williames et Cross., 1971).

II.4 Identification par le système Api 20E:

L'API 20 E (BioMérieux), est un système standardisé d'identification des Enterobacteriaceae, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, cela permet d'aborder

parallèlement des aspects du métabolisme bactérien (permet de mettre en évidence l'assimilation de certains sucres ainsi que la recherche de la production de certaines enzymes caractéristiques de certaines voies métaboliques), d'après ces caractères, il peut être utilisé pour le groupe des Actinomycètes (**Stanckebrandt et al., 2001**).

II.4.1. Principe:

La galerie Api 20E se compose de 20 microtubes contenant un substrat déshydraté, on inocule chaque microtube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile par une suspension préparée à partir des cultures pures jeunes de chaque souche d'Actinomycètes à identifier, et incubée sous 7 à 30 C°. Les réactions produites après la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs ; la lecture et l'identification s'effectuent à l'aide d'une base de données (Voir tableau 3) (**Stanckebrandt et al., 2001**).

II.4.2. Mode opératoire galerie Api 20E:

- Préparation de la galerie
- Répartir un peu d'eau dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Déposer la galerie de façon stérile dans la boîte.
- Inoculation de la galerie
- Ensemencer la galerie avec une pipette Pasteur stérile ouverte chargée en suspension, pointe posée sur un côté de la cupule, en laissant couler doucement la suspension dans la cupule.
- Tenir la boîte légèrement inclinée pour éviter la formation de bulles.
- Pour les caractères encadrés (CIT, VP, GEL) : remplir entièrement la cupule (tube et orifice) pour la mise en aérobiose. □ Pour les autres caractères, il suffit de remplir uniquement le tube.
- Concernant les caractères soulignés (ADH, LDC, ODC, H₂S, URE) : il est nécessaire de remplir l'orifice de la cupule avec de l'huile de vaseline stérile mise en anaérobiose. Matériels et méthodes
- Refermer la boîte et la placer dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. (Stanckebrandt et al., 2001).

II.4.3. Interprétation:

- L'identification est réalisée à partir du profil numérique.

- Détermination du profil numérique : Sur la fiche de résultats, les tests sont organisés en groupes de trois et une valeur de 1, 2 ou 4 est attribuée à chaque test.
- La galerie API 20 E, qui comprend 20 tests, permet d'obtenir 7 chiffres en additionnant les valeurs correspondant aux réactions positives à l'intérieur de chaque groupe.

Pour les isolats d'Actinomycètes, la galerie biochimique a été utilisée comme test de confirmation, d'une part, et pour ajouter d'autres résultats relatifs aux activités de biodégradation, notamment en ce qui concerne l'assimilation des sucres, d'autre part.

Résultats et Discussion

I. Résultats et Discussion:

Dans le cadre de cette étude, nous avons examiné la biodiversité de 28 isolats d'Actinomycètes, en nous concentrant sur les aspects phénotypiques et physiologiques.

Plus particulièrement, nous avons analysé les propriétés métaboliques de ces isolats afin de déterminer s'il existe une diversité métabolique, en mettant en évidence les activités de biodégradation.

I.1. Repiquage et vérification de la pureté des isolats:

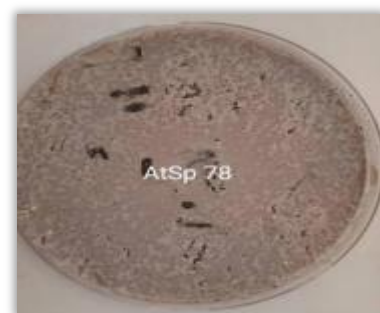
Pour obtenir des souches pures, les isolats ont été repiqués dans un milieu ISP2 selon la méthode d'épuisement. Tous les isolats d'actinomycètes provenant des différents échantillons de sol présentaient un mycélium de substrat ainsi qu'un mycélium aérien de couleurs variées, allant du gris, blanc, jaune, jaune brunâtre, beige au vert, à différents degrés, mélanoïdes et marron.

Les colonies des souches d'actinomycètes affichent des aspects poudreux, parfois irréguliers, mais également réguliers, avec une texture rugueuse, des marges plates et granuleuses, et un aspect poudreux semblable à de la craie. La couleur du mycélium du substrat varie d'une souche à l'autre. Selon (**Lazouni et al. 2022**).

La couleur du mycélium aérien et celle du mycélium du substrat sont considérées comme de bons critères pour caractériser les actinomycètes. De plus, après 7 jours d'incubation, les colonies perdent leur pigmentation verte, olivâtre, mélanoïde, qui devient noire et s'étale dans le milieu, tandis que la couleur des colonies évolue vers le blanc ou le grisâtre.

La pigmentation diffuse produite par ces isolats d'actinomycètes pourrait avoir des propriétés bioactives, comme l'indiquent (**Braghta et al.2014**).

Ce résultat démontre également que les souches d'actinomycètes présentent trois variantes de croissance : faible (-), moyenne (+) et forte (++), comme illustré dans les Planches 01 et 02.



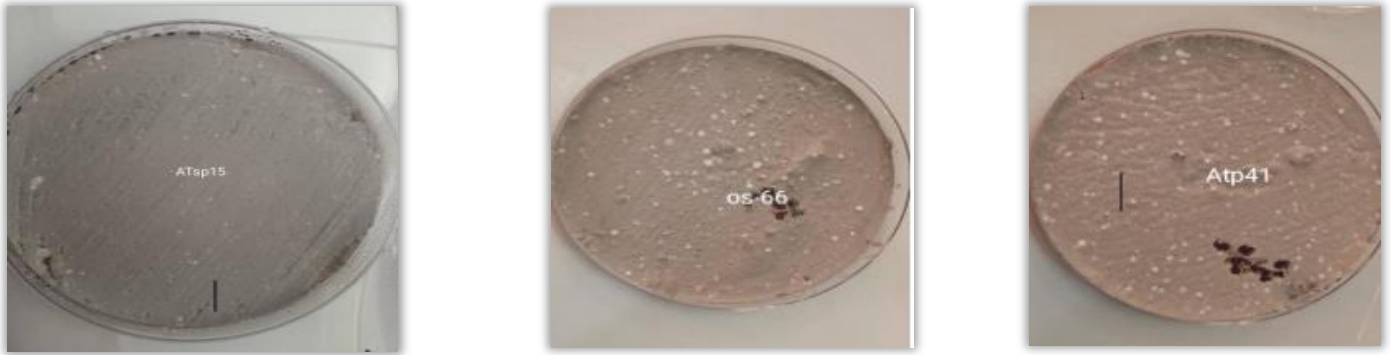


Planche 01. Photos de conservation des différents isolats d'actinomycètes sur milieu SFM

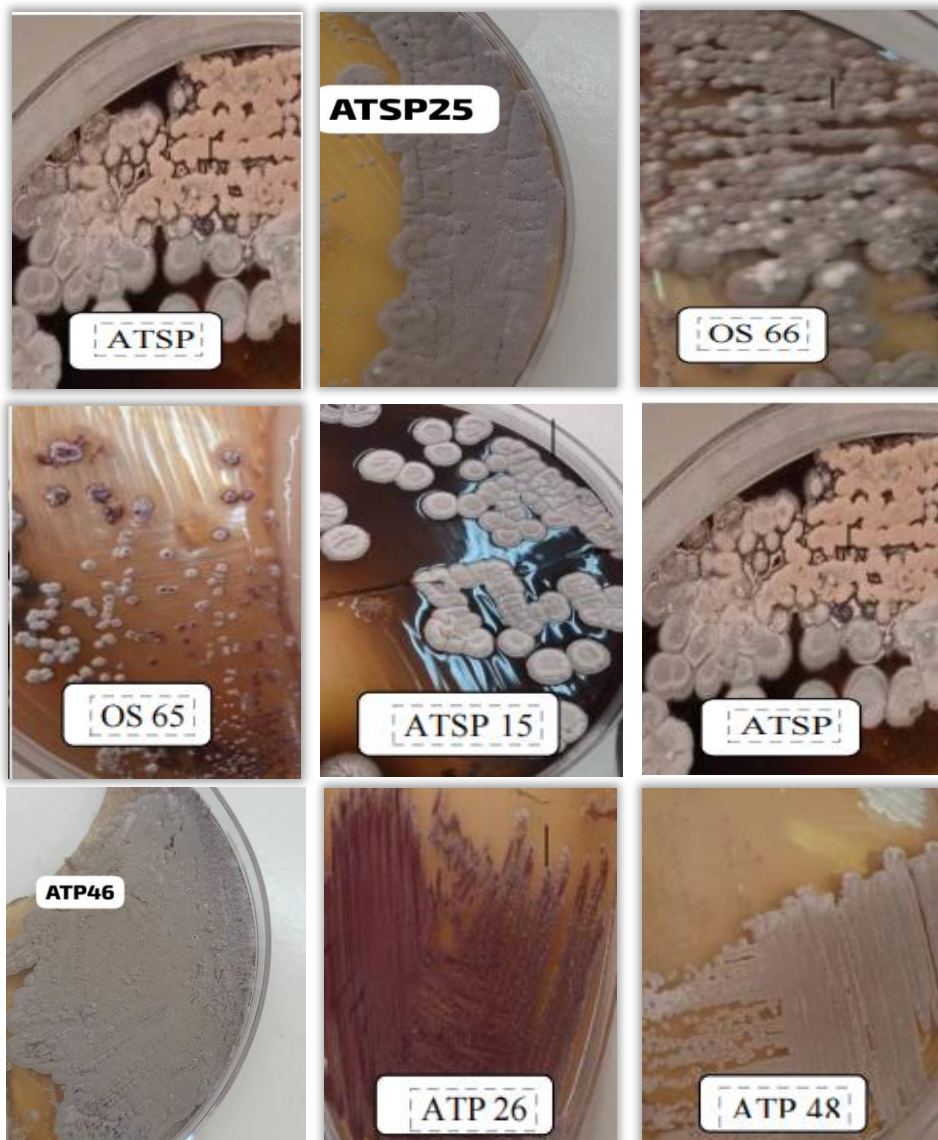


Planche 02:Photos représentant les caractères cultureux de quelques isolats d'Actinomycètes sur le milieu ISP2.

I.2. Étude morphologique des isolats d'Actinomycètes:

I.2.1. Étude micromorphologique:

L'examen microscopique et la coloration de Gram révèlent la présence de mycélium et de spores. La microscopie optique du mycélium aérien de la souche met en évidence des chaînes d'hyphes et des spores isolées ou en amas, qui se présentent parfois sous forme de courtes ou longues chaînes situées aux extrémités des hyphes droites (**planche 03**).

Les spores sont cylindriques et rondes, et ne montrent aucune mobilité. De plus, l'observation microscopique à un grossissement de 100 à l'immersion de nos isolats confirme que l'ensemble des souches d'actinomycètes sont des bactéries à coloration de Gram positive. Les actinomycètes possèdent une forme filamenteuse, avec des ramifications fines et enchevêtrées. Selon (**Aouiche et al. 2012**), ainsi que Taleb et al. (2020), il a été confirmé que tous les actinomycètes appartiennent au phylum des actinobactéries, qui regroupe des bactéries Gram positives, ce qui valide l'appartenance de nos isolats au groupe des actinomycètes. De plus, selon (**Balasubramaniam et al. 2011**), les teintes du mycélium aérien diffèrent de celles du substrat, la majorité présentant une teinte blanchâtre tandis que d'autres affichent des couleurs variées telles que le gris, le beige et le marron. Ces observations corroborent

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

L'importance de la taxonomie microbienne ainsi que la description des caractéristiques culturelles des isolats d'actinomycètes cultivés dans la gamme ISP, c'est-à-dire la croissance et la production de pigments, ou sur la base de l'étude de nos isolats dans la gamme ISP (ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6, ISP7), la majorité de ces isolats sont apparus après une période de culture dans tous les milieux utilisés, avec une croissance moyenne à une croissance significative après 7 à 14 jours, Présentant différents degrés de croissance. Les résultats indiquent que tous les isolats d'actinomycètes testés montrent une croissance très forte dans les différents milieux des ISP, allant de l'ISP1 à l'ISP7 parIl existe certains isolats qui présentent un faible degré de croissance sur certains milieux ISP, tels que ATSP 1.

En revanche, d'autres isolats, comme ATP30 et ATP35, ne croissent pas sur ISP3 et ISP1, ainsi que sur les milieux ISP6 ATSP 24, GH 57, OS 66, ATP 41, ATP 28, ATSP 15 et ATSP 78 sur ISP7 et ISP3 (**planche 04**). Par conséquent, nous supposons qu'ils appartiennent au genre *Streptomyces*.

La croissance de tous les isolats débute par la formation d'un mycélium très ramifié dans le milieu ainsi que sur la surface de la gélose. La couleur des hyphes aériens varie d'une souche à l'autre, pouvant être gris foncé, beige, gris clair ou blanc. Pour certains isolats cultivés sur la gamme ISP, la couleur du mycélium aérien change d'un milieu à l'autre. Ainsi, la composition du milieu pourrait être responsable de cette variation. Selon les études de Boukhali et al. (2020) et Bakdi et al. (2016), la composition du milieu a des implications significatives pour le développement de la MA pour certains genres d'actinomycètes tels que *Streptomyces*.

La MA peut présenter deux ou trois couleurs dans les mêmes isolats sur différents supports. Par exemple, la souche ATSP 15 a une couleur de MA grise sur tous les milieux ISP1, ISP2, ISP3 et ISP4, sauf sur le milieu ISP4 où elle est rose clair, et sur le milieu ISP7 où elle est gris à noir. Les résultats obtenus montrent que des isolats tels qu'ATSP18, ATSP 6, ATP 28, GH 57 et produisent des pigments de différentes couleurs. Les souches ATSP24 et ATP 40 produisent des pigments brunâtres sur ISP6 et ISP7, une couleur caractéristique des pigments mélanoides, qui est liée au métabolisme secondaire chez les actinomycètes (Shirling et Gottlieb, 1966).

Le milieu utilisé pour identifier les actinomycètes influence leurs propriétés physiologiques, telles que la production de pigments mélanoides, à l'exception de la souche ATSP qui ne produit aucune pigmentation sur différents milieux.

Des ISP (Abbes et al., 2017) (voir les planches 04, 05, 06 et 07) Sur la base d'observations phénotypiques (croissance, apparence de colonie et coloration de gram), l'isolat ATP 28 montre une bonne croissance dans toute la gamme ISP et présente des caractéristiques typiques associées à *Streptomyces*. Selon Locci et al. (1989) et Serrab et al. (2018), les souches cultivées sur une large gamme de milieux ISP affichent généralement une morphologie typique des *Streptomyces*.

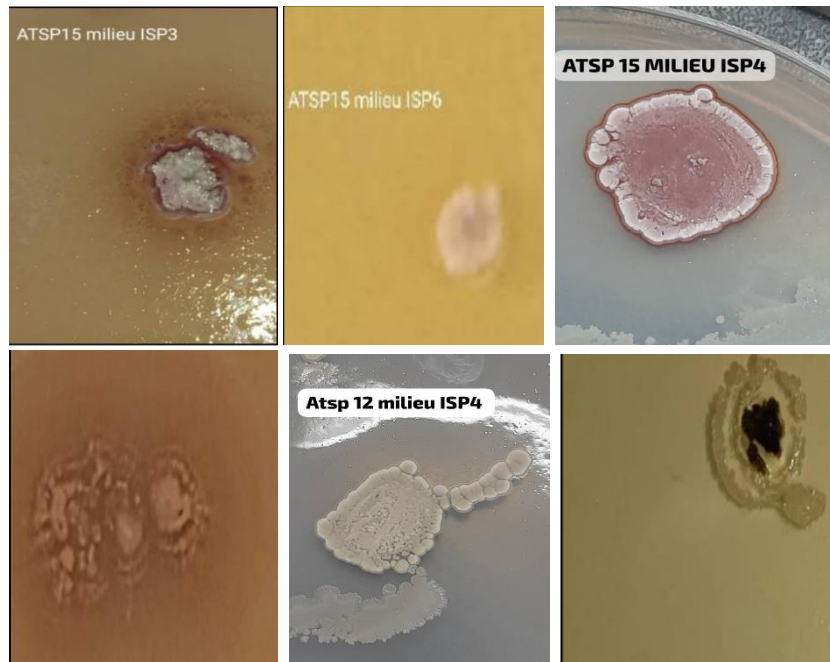


Planche 04. Photos des caractères cultureux de l'isolat ATSP sur les différents milieux.

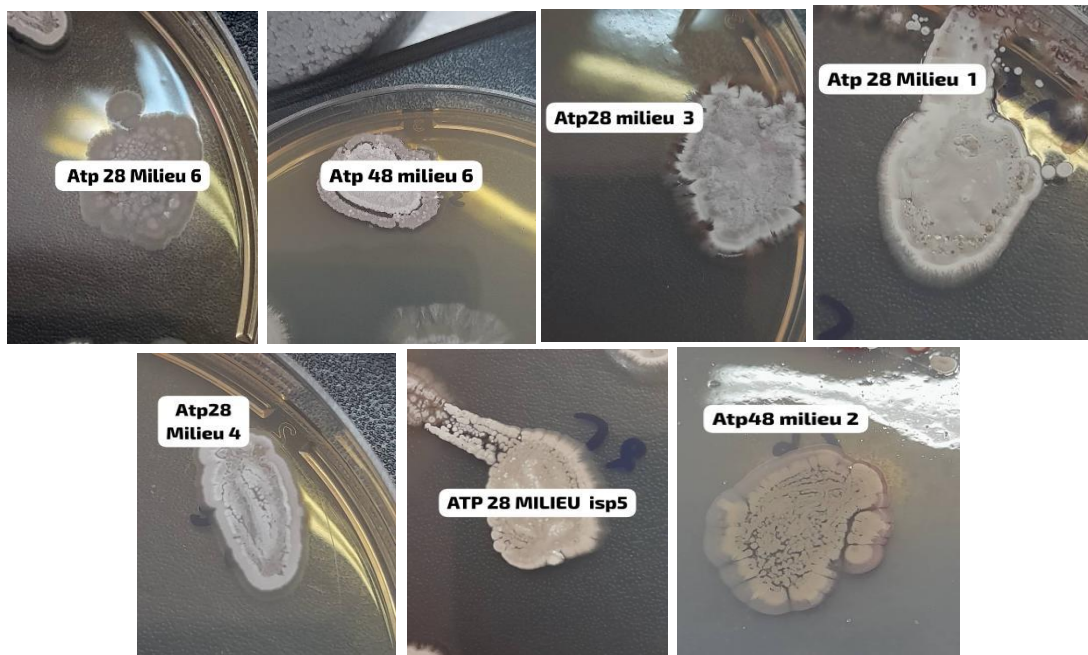


Planche 05: Photos des caractères cultureux de l'isolat ATP sur les différents milieux

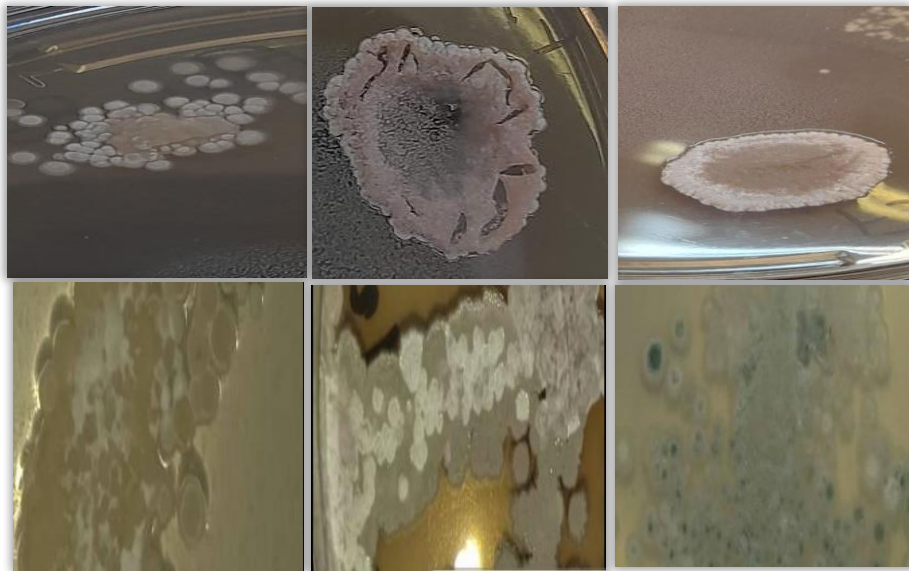


Planche 06: Photos des caractères cultureux de l'isolat GH sur les différents milieux.

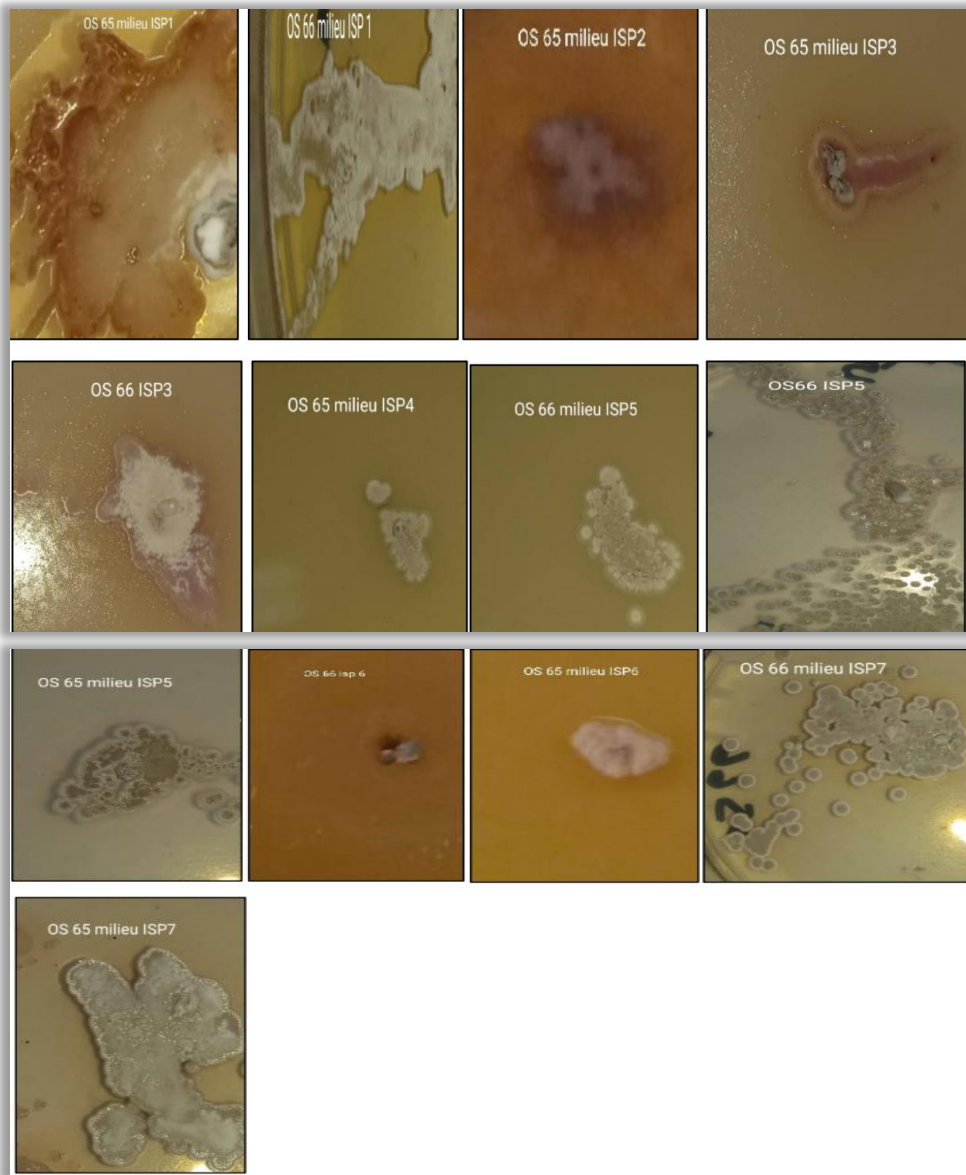


planche 07: Photos des caractères cultureux de l'isolat OS sur les différents milieux.

A. Résultat de la morphologie des mycéliums aériens à l'état frais:

Les résultats de l'observation des lamelles au microscope optique à un grossissement de ($G \times 100$) sont présentés dans la planche 08. D'après les photographies, il en ressort que les mycéliums aériens sont bien développés, portant des chaînes de spores en amas de formes ovales à cylindriques.

En ce qui concerne le mycélium de substrat, il est ramifié et non fragmenté. Cela concerne toutes les souches d'actinomycètes testées (ATSP6 , ATSP 8, ATSP 11, ATSP 12, ATSP 13, ATSP 15, ATSP 18, ATSP 24, ATSP 25, ATP26;ATSP 15, ATP 28, ATP 35, ATP30,ATP 36 ,ATP39 ATP40, ATP46; ATP48; ATP49; ATP50,ATP 41, OS 66, OS 65, , GH57, ATSP 79 et ATSP 78). Ces travaux sont exprimés par Ramanarivo (2017), qui utilise la même méthode pour observer la différenciation des aspects développés du mycélium aérien en relation avec les formes des spores par la méthode de quadrillage.

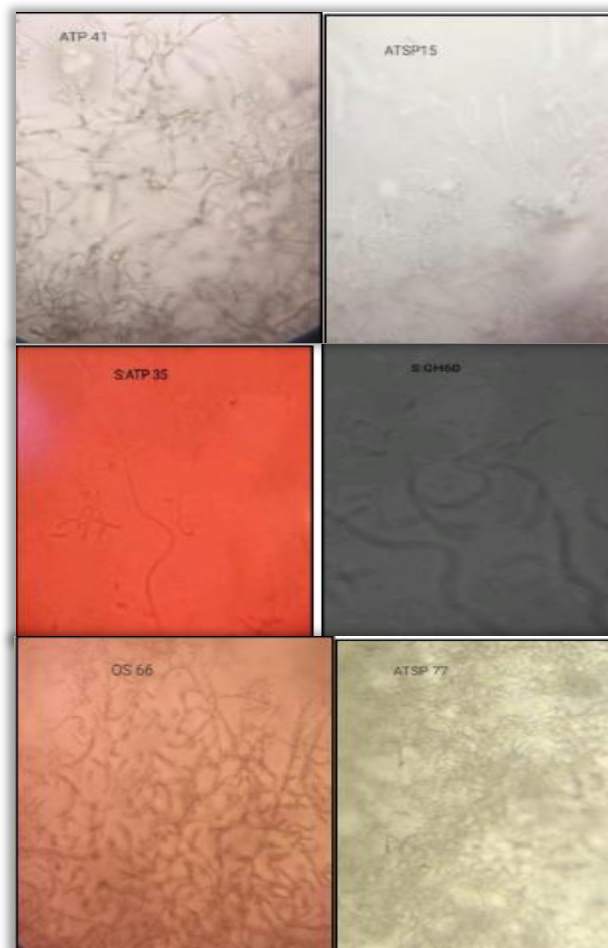


Planche 08: Observation microscopiques de lamelle des différentes souches ($G \times 100$) .

I.2.2. Etude physiologiques des souches sélectionnées:

A. Tolérance à différents degrés de PH:

Les résultats présentés dans le Tableau 07 et la planche 09 indiquent que toutes les souches à été prospèrent à un pH neutre, et la majorité tolère des pH basiques allant jusqu'à 10.

Il est également important de noter que toutes ces souches ne se développent pas à un pH acide, à l'exception de cinq souches (ATP41, GH 57, OS 65, OS 66 et ATSP 78) qui montrent une tolérance significative à pH(3) et pH(5).

Selon Wang et al. (2006), il est mentionné que les actinomycètes se comportent comme des neutrophiles et se développent dans une plage de pH allant de 7 à 8, avec une croissance optimale à un pH neutre ou légèrement alcalin.

Cela est en accord avec nos résultats, car la plupart de nos isolats provenant des échantillons de sol de Hassi Tijrane, que ce soit dans la région sans végétation ou dans celle avec végétation, sont à la fois des neutrophiles et des basophiles, tels que les souches (ATSP6, ATSP8, ATSP11, ATSP12, ATSP 13 et ATP 28).

À l'exception de deux souches (ATP 46 et ATP41 ATSP 78) qui se sont révélées acidophiles, notre échantillon de sol de Ghardaïa et Oued ne contient que des souches acidophiles capables de croître à des valeurs de pH comprises entre 3 et 5, à l'exception de la souche GH57 qui a été neutrophile et tolérante à un pH basique allant jusqu'à 10.

Les codes des souches	PH3	PH5	PH7	PH10
ATSP6	-	-	-	++
ATSP8	-	-	++	++
ATSP11	-	-	++	++
ATSP12	-	-	+	++
ATSP13	-	-	+	++
ATSP15	-	+	++	++
ATSP18	-	+	+	++
ATSP24	-	+	++	++
ATSP25	-	-	+	++
ATP26	-	-	+	++
ATP28	-	-	++	++
ATP30	-	-	+	+
ATP35	-	-	+	+
ATP36	-	-	++	++
ATP37	-	-	++	++
ATSP39	-	-	+	+
ATP40	-	-	++	++
ATP41	+	-	++	++
ATP46	-	-	++	++
ATP48	-	-	+	++
ATP49	-	-	+	++
ATP50	+	+	+	++
GH57	-	+	++	++
OS65	-	-	++	++
OS66	+	-	+	++
ATSP78	-	-	+ -	++
ATTSP79	+	-	++	++

Tableau 08: Résultats de test de croissance des V28 isolats à différentes pH
 (-) : pas de croissance ;(+/-) : faible ;(+) : moyenne ;(++) : importante

B. Croissance à différentes températures des souches représentatives:

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

	4C°	25C°	30C°	37C°	44C°
ATSP6	-	-	+++	+	-
ATSP8	-	+	+++	+	-
ATSP11	-	+	+++	++	+
ATSP12	-	+	+++	++	++
ATSP13	-	-	+++	-	-
ATSP15	-	+++	+++	+++	-
ATSP18	-	+++	+++	_ ⁺	_ ⁺
ATSP24	-	-	+++	-	-
ATSP25	-	-	+++	-	+
ATP26	-	-	+++	_ ⁺	-
ATP28	-	+++	+++	+	+
ATSP30	-	-	+++	-	-
ATP35	-	-	+++	-	-
ATP36	-	+++	+++	+	-
ATP37	-	+++	+++	++	+
ATSP39	-	-	+++	-	-
ATP40	-	+++	+++	+++	+
ATP41	-	+++	+++	++	+
ATP46	-	+++	+++	-	-
ATP48	-	- ⁺	+++	+	-
ATP49	-	+	+++	+	-
ATP50	-	+	+++	+	+
GH57	-	+++	+++	+++	+
OS66	-	-	+++	-	-
OS65	-	+	+++	++	+
ATSP78	-	++	+++	_ ⁺	-
ATSP79	-	+++	+++	+	-

Tableau 09: Les résultats de test des croissances des 28 isolats à différentes températures

Selon les résultats présentés dans le Tableau 08, il a été observé que la meilleure croissance à 30 °C se traduit par un développement plus significatif du MA, principalement pour tous les isolats d'actinomycètes.

En revanche, la croissance est moyenne à 37 °C, tandis que pour d'autres isolats, comme ,ATSP 8 et ,ATSP 11, ET ATSP15, ATP 37,ATP 41 , GH57 , elle est importante avec la production de pigments solubles à cette température.

Il a été constaté que, selon les résultats et la discussion, la croissance commence à diminuer à 44 °C, avec une absence de MA, sauf pour les deux souches ATSP11, ATSP12, ATSP15, ATP 46 ,ATP48,ATP49 et OS 65, OS 66,ATSP79 ,ATP79, ATP30,ATP35,ATP39, et il y a une absence totale de développement à partir de 4 °C. Cet isolat se développe à différentes températures, notamment à 37 °C, où l'optimum de croissance est observé à 30 °C. On a également noté la capacité de la souche à croître à 50 °C (thermotolérants), tandis qu'une croissance faible est observée pour les températures inférieures à 30 °C.

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

C. Résultat de test catalase:

Les résultats de croissances de test catalase de 28isolats d'actinomycètes étudiés sont résumés dans le Tableau 09 .

La souche	Résultats de catalase
ATSP6	+
ATSP8	+
ATSP11	+
ATSP12	+
ATSP13	-
ATSP15	+
ATSP18	+
ATSP24	+
ATSP25	+
ATSP26	+
ATP 28	+
ATSP30	+
ATP35	+
ATP36	+
ATP37	+
ATP39	+
ATP40	+
ATP41	+
ATP46	+
ATP48	+
ATP49	+
ATP50	-
GH57	-
OS65	+
OS66	+
ATSP78	+
ATSP79	+

Tableau 10: Les résultats de test catalase des 28 isolats d'actinomycète

Tous les isolats d'actinomycètes testés ont montré un dégagement gazeux important sous forme de mousse, ce qui indique la décomposition du peroxyde d'hydrogène, et étaient donc un résultat positif. Cependant, les souches ,ATSP13, ATP 50, etGH 57 n'ont montré aucune réaction, ce qui signifie que la catalase est négative. Résultats et discussion 52. Les résultats obtenus par Qiong Ying et al. (2012), Bekacher (2018) ainsi que Zergoug et al. (2022) indiquent que les souches d'actinomycètes sont aérobies et présentent une catalase positive. Les résultats obtenus par Qiong Ying et al. , (2012) et Bekacher (2018) aussi Zergoug et al.(2022) montrent que les souches d'actinomycètes sont aérobies à catalase positive.

D. La tolérance à différentes concentrations de NaCl:

Les résultats du test de tolérance à différentes concentration de NaCl sont représentés dans le Tableau 11.

	0%	2,5%	5%	7%	10%
ATSP6	-	-	-	-	-
ATSP8	-	-	-	-	-
ATSP11	+-	++	-	-	-
ATSP12	+-	+-	-	-	-
ATSP13	-	-	-	-	-
ATSP15	++	++	++	+	+
ATSP18	++	++	+-	-	-
ATSP24	+-	+-	+-	+	+
ATSP25	+-	+-	+-	-	-
ATSP26	-	-	++	-	-
ATP28	++	++	++	+	+
ATP30	+	+	-	-	-
ATP35	-	-	-	-	-
ATP36	-	-	-	+	+
ATP37	-	-	-	+	+
ATP39	-	-	-	-	-
ATP40	+	+	++	+	+
ATP41	++	++	++	+	+
ATP46	-	-	+	-	-
ATP48	+	+	+	-	-
ATP49	+	+	+-	-	-
ATP50	-	-	+-	-	-
GH57	++	++	+	-	-
OS 65	++	-	+	+	+
OS66	++	++	+	+	++
ATSP78	++	++	+	+-	+
ATSP79	++	++	++	+	+

Tableau 11: Les résultats de test catalase des 28 isolats d'actinomyète

D'après les résultats présentés dans le Tableau 10 et la planche 11, il est 35ells35p que tous les isolats se développent dans un milieu où la concentration de Na Cl est nulle (0 %), ce qui indique qu'ils ne sont pas des isolats halophiles (Messaoudi, 2011).

De plus, la plupart de ces isolats tolèrent jusqu'à une concentration de 10 % de Na Cl. En outre, les souches (ATSP 4, ATSP 15, ATSP 78) montrent une croissance significative à 2,5 % de Na Cl, tandis qu'une croissance moyenne est observée dans les souches (ATSP 3, ATSP 9, ATP 28, ATP 35, ATP 41, GH 60, OS 66, ATSP 77). En revanche, l'isolat OS 65 est inhibé par une concentration de 2,5 %, ce qui indique que cet 35ells35p est faiblement halophile, et aucune croissance n'est observée dans les souches (ATSP 1, ATSP 10, GH 61), ce qui suggère que ces isolats sont des actinomycètes non halophiles.

D'autre part, les souches (ATSP 1, ATSP 2, ATSP 3, ATSP 4, ATSP 5, GH 61, GH 61) sont inhibées par des concentrations de 5 % à 10 %, ce qui signifie que ces souches d'actinomycètes ne tolèrent pas plus de 2,5 % de Na Cl. En revanche, les souches (ATSP 15, ATSP 77, ATSP 78, ATP 28, ATP 35, ATP 41, OS 65, OS 66) présentent une croissance optimale supérieure à la moyenne à 5 %, 7 % et 10 % de Na Cl, et sur la base de cette classification, ces isolats pourraient être considérés comme des actinomycètes modérément halophiles.

D'autre part, les bactéries halotolérantes 35ells35per des concentrations modérées, mais non obligatoires, de sels pour leur croissance (DasSarma et Arora, 2001 ; Lefebvre, 2005 ; Benhadj et al., 2019). Les études de Tang et al. (2003) montrent que les actinomycètes halophiles 35ells35pe nécessitent le Na Cl pour leur croissance et peuvent se 35ells35per à des concentrations de (14,63 – 30,4 %) de Na Cl, tandis que les actinomycètes halotolérants n'exigent pas le Na Cl pour leur croissance et tolèrent (1,77 à 14,63 %) de Na Cl.

Ainsi, en comparant ces notions avec nos résultats, nous pouvons supposer que la majorité de ces isolats sont des actinomycètes halotolérants qui n'exigent pas le Na Cl. Pour leur développement, ils tolèrent (1,77 à 14,63%) de Na Cl.

Ainsi, en comparant ces concepts avec nos résultats, nous pouvons présumer que la plupart de ces isolats sont des actinomycètes halotolérants qui ne nécessitent pas le Na Cl pour leur croissance, comme (ATSP1, ATSP 2, ATSP3), tandis que certains peuvent tolérer jusqu'à 10% de Na Cl, 35ells que les isolats (ATSP 10, ATP 28, OS 66)

I.2.3 Étude de la biodiversité métabolique:

Ce travail a pour objectif de démontrer les capacités métaboliques de ces isolats, y compris la production de divers types d'enzymes essentielles telles que l'amylase, la gélatinase, la lipase et la nitrate réductase, etc.

Ainsi, nous avons évalué la capacité d'assimilation de différents types de sucres (Boucheffa, 2011). Ces tests reposent sur la culture d'isolats d'actinomycètes dans des milieux adaptés à chaque test (voir matériels et méthodes), ce qui permet de déterminer par la suite la présence ou l'absence d'activité enzymatique dans chaque isolat. Les résultats sont présentés dans le Tableau 12 a, 12 b et les planches 12, 13 .

	ISP8	Citrate De Simmons	cellulose	lait écrémé	gélatinase	ésterase	amidon	caséine	hémolysine
ATSP6	+	+++	-	+	+++	+++	-	-	β
ATSP8	-	+++	+	+	+++	+++	-	-	γ
ATSP11	-	+++	+	+	+++	+++	-	-	γ
ATSP12	-	+++	-	-	+++	+++	+	-	γ
ATSP13	+	-	+	-	+++	+++	+	-	γ
ATSP15	-	+++	-	+	+++	+++	+	-	β
ATSP18	+	+++	+	+	+++	+++	+	-	β
ATSP24	+	+++	+	-	+++	+++	+	+	γ
ATSP25	+	+++	+	-	+++	+++	+	-	β
ATSP26	+	+++	+	-	+++	+++	-	-	γ
ATP28	+	+++	+	-	+++	+++	+	-	β
ATP30	+	-	-	+	+++	+++	+	+	γ
ATP35	-	-	-	+	+++	+++	-	-	λ
ATP36	+	+++	+	+	+++	+++	+	+	β
ATP37	+	+++	+	+	+++	+++	+	-	β
ATP39	+	+++	-	+	+++	+++	+	-	γ
ATP40	+	+++	+	+	+++	+++	+	-	β
ATP41	+	+++	+	+	+++	+++	+	+	β
ATP46	+	-	+	+	+++	+++	-	-	γ
ATP48	-	+++	+	+	+++	+++	-	+	β
ATP49	-	+++	+	-	+++	+++	-	+	γ
ATP50	+	+++	+	+	+++	+++	-	+	β
GH57	+	+++	+	+	+++	+++	+	-	β
OS 65	+	+++	+	+	+++	+++	+	+	β
OS66	+	+++	+	+	+++	+++	+	-	β
ATSP78	+	+++	-	+	+++	+++	+	-	γ
ATSP79	+	+++	+	+	+++	+++	+	-	γ

Tableau 12a: Résultats des tests de biodiversité métabolique des 28isolats.

A. Résultats des tests de production de nitrate réductase:

Les résultats concernant la réduction du nitrate par les 19 souches d'actinomycètes examinées dans les différents échantillons de sol (ATSP, ATP, GH, OS) sont présentés dans le tableau 11 a et la planche 12. Il est observé que 100 % des souches testées montrent une réduction du nitrate, indiquant ainsi une activité de nitrate réductase positive.

Cette activité se manifeste par une coloration rouge après l'ajout de 3 gouttes des deux réactifs, nitrate réductase 1 et 2, dans la suspension bactérienne, à l'exception des souches (ATSP 6, ATSP 13, ATP 41, ATP35) qui n'ont révélé aucun résultat, indiquant un milieu sans nitrite. Cela peut être expliqué soit par la conversion du nitrite en diazote, soit par l'absence de nitrate réductase dans ces souches microbiennes.

De plus, de la poudre de zinc a été ajoutée aux souches précédemment mentionnées, qui n'ont pas montré de virage de couleur vers le rouge, et qui sont capables de réduire le nitrate en nitrite. Une réaction évidente a également été observée, ce qui démontre que le réactif ajouté a un effet sur le nitrite, confirmant ainsi que la nitrate réductase est positive.

Ainsi, les actinomycètes transforment le nitrate en nitrite, entraînant par la suite une dénitrification.

Sur la base de ces résultats, il est possible de conclure que la plupart de ces isolats possèdent une nitrate réductase, comme l'indiquent les études réalisées par Benchaker (2018) et Ktir (2022).

B. Résultat du test de dégradation des sels de sodium:

La décomposition des sels de sodium a été clairement observée après le changement de couleur de l'indicateur, passant du vert au bleu ou au bleu (le bleu de bromothymol utilisé comme indicateur de pH) sur le milieu Simmons Citrate.

Après incubation, 53 % de ces souches, telles que (ATSP 2, ATSP 3, ATSP 5, ATSP 10, ATSP 15, ATP 41, GH 61, OS 65, OS 66 et ATSP 78), ont montré une dégradation, tandis que 47 % des souches ont maintenu la même couleur (vert), indiquant qu'elles ne se sont pas développées sur ce milieu, comme (ATSP 1, ATSP 4, ATSP 6, ATSP 9, ATP 28, ATP 35, GH 60 et ATSP 77) (Gordon et al., 1974).

C. Résultat de dégradation de cellulose:

Les résultats concernant l'utilisation de la cellulose par les 19 souches d'actinomycètes testées sont présentés dans le Tableau 11a et la planche 12. Presque toutes les souches montrent une activité cellulolytique sur le milieu ISP9, qui contient de la cellulose comme unique source de carbone et d'énergie.

Les résultats révèlent que les souches testées possèdent l'enzyme cellulase, responsable de l'hydrolyse de la cellulose, à l'exception de 4 isolats qui ne présentent aucune activité cellulolytique. Ces enzymes sont généralement produites par des actinomycètes (**Sanglier, 1993**).

Les résultats indiquent que les souches d'Actinomycètes se développent sur bandelette de papier wattman, ce qui explique pourquoi ces isolats montrent une activité cellulolytique. Différentes cellulases ont été identifiées dans divers genres d'actinomycètes, principalement *Streptomyces cellulomonas* (**Jang et Chenks, 2003 ; Loliam et al., 2013**), *Micromonospora* (**Stutzenberger, 1988 ; Menezes et al., 2008 ; Saratale et al., 2010**).

Ces enzymes sont généralement des produits majeurs des actinomycètes par rapport aux autres. (**Gunasinghe et al., 2020**)

D. Résultats des tests d'action sur le lait écrémé:

Selon les résultats présentés dans le Tableau 11 a et la planche 12, il est observé que 100% des souches d'actinomycètes montrent une forte croissance dans le milieu de lait écrémé, ce qui indique qu'une action peut être induite sur les tubes de lait écrémé, à savoir la coagulation des protéines du lait écrémé. On peut conclure que plusieurs études menées dans ce domaine rapportent que la majorité des souches d'actinomycètes sont reconnues pour leur capacité à produire des coagulases (**Aouar, 2006 ; Manseur, 2018 ; Melki, 2010**).

E. Résultat d'hydrolyse de la gélatine:

Après une incubation de 7 jours, des bandes de film lumineuses ont été observées dans 99% des isolats, indiquant l'hydrolyse de la gélatine par une enzyme extracellulaire gélatinase (Planche 12), à l'exception du cas de la souche GH 60, où la couleur de la bande est restée inchangée, comme dans le témoin négatif durant la période d'incubation (Tableau 12).

Ces résultats sont comparables à ceux décrits par Djaballah, (2010).

F. Résultat de dégradation des acides gras:

D'après les résultats présentés dans le tableau 11 a, il est possible d'affirmer que tous les isolats d'actinomycètes ont la capacité de dégrader le tween 80, ce qui se manifeste par l'apparition d'un halo opaque autour des colonies, indiquant la présence d'estérases, détectées chez 100% de ces isolats (planche 12).

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Brault, (2014), qui ont mis en lumière la production de lipases principalement associées à streptomyces fradiae et streptomyces coelicolor (**Alkama, 2014**).

Nos résultats démontrent également qu'il existe une activité lipasique parmi les souches ayant donné des résultats positifs, appartenant au genre streptomyces.

On peut conclure que l'utilisation de ces enzymes, qui appartiennent aux bactéries filamenteuses à gram positif, concerne de manière exceptionnelle les actinomycètes (**Borkar, 2022**).

Ces derniers sont connus pour leur capacité à produire du lait écrémé et à dégrader la gélatinase. Ils agissent sur des acides gras, des sels de sodium et de la cellulose grâce à des enzymes spécifiques telles que la coagulase, la nitrate réductase, la gélatinase, les estérases et les lipases, qui sont des enzymes robustes des actinomycètes, ainsi que la cellulase (**Suneeta, 2011 ; Benhadj et al., 2019**).

G. Résultats d'hydrolyse de l'amidon :

Recherche d'amylase A partir du tableau 11 b et de la planche 13, le test d'hydrolyse d'amidon s'avère positif pour 10 isolats, qui ont produit 53 % d'enzymes par les actinomycètes (**Gunasinghe et al., 2020**).

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

De nombreuses recherches présentent des résultats de tests d'amylase similaires concernant les souches d'actinomycètes, en accord avec les études d'Allouani et al. (2019) ainsi que celles de Saci et al. (2017).

Ces travaux valident que les actinomycètes possèdent une activité amylatique.

H. Résultat d'hydrolyse de la caséine

Les résultats de ce test sont exposés dans le tableau 11 b après 14 jours de culture dans un milieu à base de caséine à 5%. L'hydrolyse de la caséine se manifeste par l'apparition d'un halo autour des colonies et la production de caséinase par trois souches d'actinomycètes : ATP 41, GH 60 et OS 66.

En revanche, les autres souches ne montrent aucun résultat positif en matière de production de caséinase (voir planche 13).

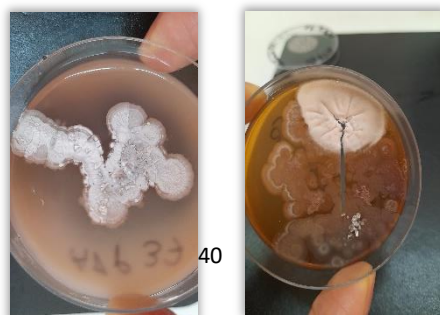
La présence de ces zones claires indique que la caséine présente dans le milieu de culture a été hydrolysée par les enzymes des actinomycètes. Plusieurs études réalisées sur les actinomycètes démontrent que la majorité de ces souches sont capables d'hydrolyser les caséines du lait (**Mihaela et al., 201; Ara et al., 2012 ; Palaniyandi et al., 2013**).

D'autres recherches sur les actinobactéries montrent également que la plupart des souches de *Streptomyces* peuvent hydrolyser les caséines du lait (**Mihaela et al., 2011 ; Palaniyandi et al., 2013 ; Boughachiche et al., 2016**).

I. Résultat d'hémolyse : recherche d'hémolysine:

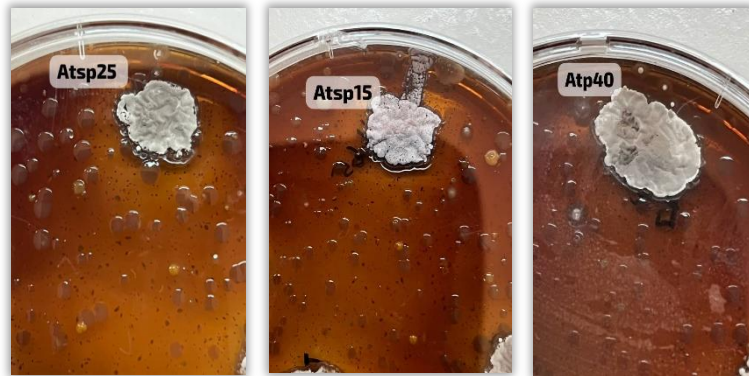
Selon le Tableau 11 il est observé que 26,32% de ces souches présentent une activité B-hémolytique, tandis que 73,68% (γ) ne montrent pas de zones d'hémolyse (voir matériel et méthode). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Le Brun et al. (2015) et Guérin et al. (2008), qui indiquent que les genres *Arcanobacterium*, *Mobiluncus* et *Actinomyces* possèdent une activité hémolytique sur gélose au sang, se manifestant sous forme de colonies avec une activité hémolytique variable (voir planche 13).

Test Caséinase

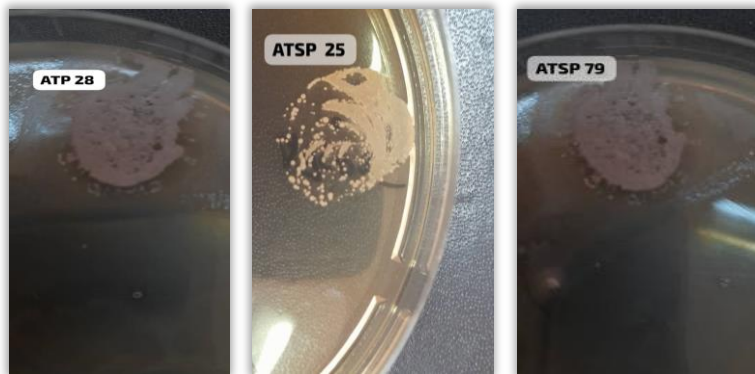


ATP37

Test d'hémolyse:



Test d'estérase:



Test amidon:



Test de citrate



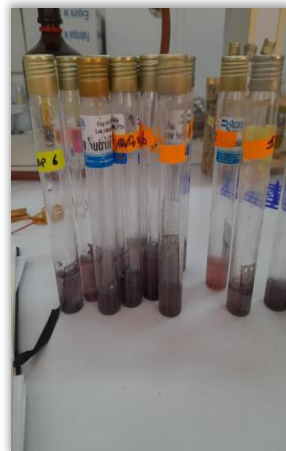
de simonice:



Test de l'action sur lait écrémé:



Test de gélatinase:



Test de bouillon nitrate:



Test Cellulose:



Il est important de souligner que ces tests ont été validés et complétés par le système Api 20E, les résultats de la galerie biochimique étant présentés dans le tableau 12, qui indique que la majorité des isolats d'Actinomycètes possèdent la capacité de produire certains types d'enzymes, principalement la gélatinase (Planche ; ainsi, il en ressort que ces isolats ont utilisé les sucres comme source de carbone de manière différente, ce qui est comparable aux résultats obtenus antérieurement (**Planche 7**).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans les travaux de **Boudjalleb (2009)**, qui a également utilisé le système Api 20E. On constate que les différentes souches d'Actinomycètes sont capables d'exploiter diverses sources carbonées et de produire certaines enzymes essentielles à leur métabolisme.

Ces enzymes ont trouvé des applications dans plusieurs domaines de la biotechnologie, notamment dans les industries alimentaires, l'industrie textile et la bioconversion des déchets cellulosiques (**Ando et al., 2002 ; Sukumaran et al., 2005**).

Paramètre	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
S 129a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
S 129b	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
S 171	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
S 211	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
S 386	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
S 403	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
S 417	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
S 418	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 419	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
S 428	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
S 429	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S 430	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
S 431	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
%des testes	7%	0%	0%	0%	46%	0%	7%	40%	0%	0%	77%	77%	38%	15%	7%	15%	7%	15%	7%	23%

Tableau 12b: Résultats de API20E pour les anzymes produit par les 13isolats.

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

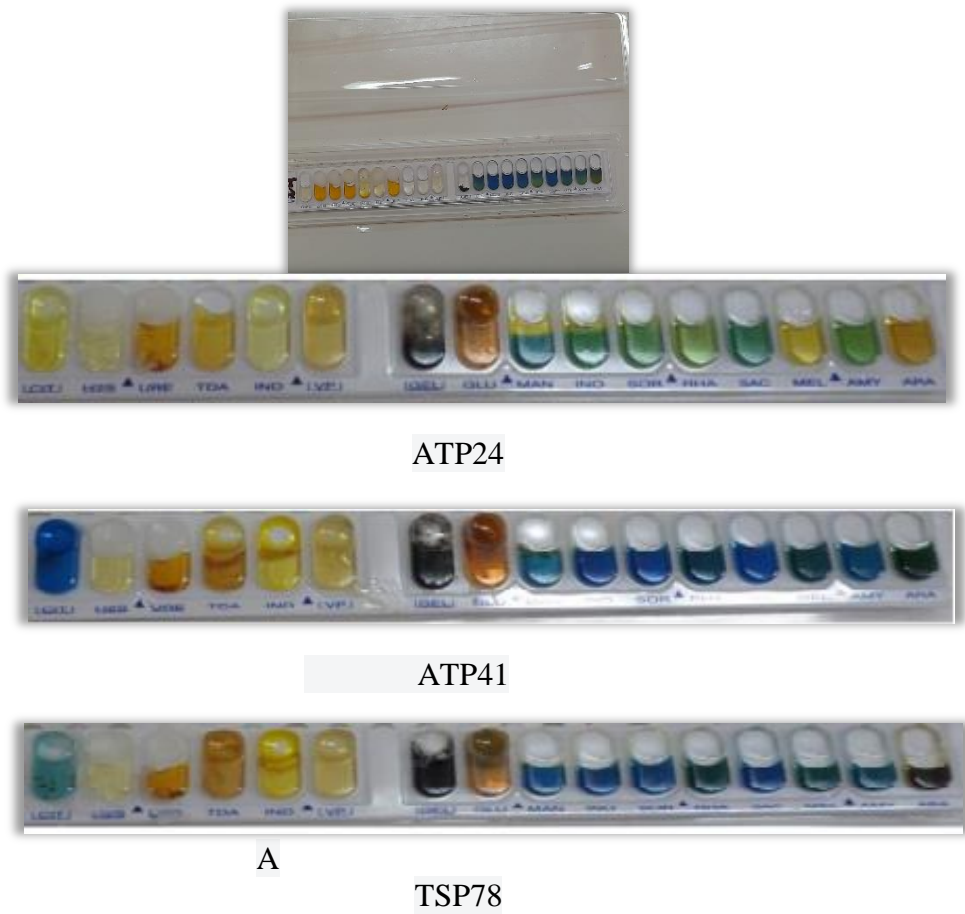


Planche 09: Photos des résultats de système Api 20E des quelques isolats.

Conclusion et Perspectives:

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la diversité métabolique des souches d'actinomycètes xérophiles isolées de milieux arides et semi-arides. À travers une série de tests enzymatiques, nous avons mis en lumière une vaste gamme d'activités métaboliques chez ces microorganismes, illustrant leur adaptabilité aux conditions extrêmes et leur potentiel biotechnologique.

Les résultats obtenus ont révélé que plusieurs isolats sont capables de produire des enzymes extracellulaires d'intérêt industriel, telles que l'amylase, la cellulase, la lipase, la gélatinase, la nitrate réductase, la caséinase, ainsi que des estérases.

De plus, la capacité de certaines souches à exercer une hémolyse partielle ou totale met en avant leur diversité fonctionnelle, mais souligne également la nécessité d'évaluer plus en profondeur leur innocuité dans un contexte d'application.

Cette étude confirme que les actinomycètes xérophiles, en particulier ceux du genre *Streptomyces*, constituent une ressource biologique précieuse, encore largement sous-explorée, pouvant contribuer au développement de nouvelles solutions enzymatiques dans les secteurs agroalimentaire, pharmaceutique, médical et environnemental.

Perspectives Pour valoriser pleinement le potentiel des souches étudiées, plusieurs pistes peuvent être envisagées :

- **Caractérisation moléculaire avancée :** La mise en œuvre de techniques de biologie moléculaire (PCR, séquençage 16S rRNA, métagénomique) permettrait une identification précise des souches et une meilleure compréhension de leur patrimoine enzymatique.
 - **Optimisation des conditions de production enzymatique :** Des études visant à optimiser les milieux de culture, la température, le pH et d'autres paramètres physico-chimiques pourraient améliorer significativement la production enzymatique à l'échelle pilote ou industrielle.
 - **Études de stabilité et d'applicabilité industrielle :** Les enzymes produites doivent être testées pour leur stabilité thermique, leur activité en conditions extrêmes (pH, sels, solvants) et leur compatibilité avec des formulations industrielles.
- Évaluation de la biosécurité : Un criblage de la cytotoxicité et du

pouvoir pathogène éventuel est recommandé avant toute application, notamment dans les secteurs alimentaire et pharmaceutique.

- Intégration à des procédés éco-industriels : Les souches les plus prometteuses pourraient être intégrées à des procédés de bioconversion, de biodégradation ou de production de biopolymères, notamment dans une optique d'économie circulaire.

En somme, ce travail constitue une base solide pour des recherches plus approfondies sur les actinomycètes xérophiles, avec une orientation claire vers leur valorisation biotechnologique durable.

Les Annexes

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

Le milieu ISP2 :(purification et conservation)1.

Extrait de levure.....4g
Extrait de malt.....10g
Glucose.....4g
Agar.....20g
H2O distillé1000ml

2. Le milieu SFM (conservation)

3.

Mannitol.....20g
Farine de soja20g
Agar agar20g
H2O distillé1000ml

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

1. Les milieux ISP

ISP1

Tryptone.....5g
Extrait de levure3g
Agar20g
H2O distillée1000ml
PH :7.0 a 7.2

ISP 2

Extrait de levure.....4g
Extrait de malt.....10g
Glucose.....4g
Agar.....20g
H2O distillée.....1000ml
PH : 7.2

ISP 3

Avoine20g
Solution saline standard.....1ml
Agar.....18g
Eau distillé1000ml
PH :7.2

L'ISP 4

Amidon10g
 K₂HPO₄1g
 MgSO₄, 7H₂O1g
 Na Cl.....1g
 (NH₄)₂SO₄2g
 CaCO₃.....2g
 Solution saline standard.....1ml
 H₂O distillée.....1000ml
 Agar.20g
PH :7.0 a 7.4
L'ISP 5

Glycérol.....10g
 L-Asparagine.....1g
 K₂HPO₄1g
 Solution saline standard.....1ml
 H₂O distillée1000ml
 Agar.20g
PH : 7.0 a 7.4
L'ISP 6

Peptone.....20g
 Extrait de levure.....1g
 Citrate ferrique ammoniacal..... 0.5g
 K₂HPO₄1g
 Thiosulfate de sodium0.08g
 Agar.15g
 H₂O distillée.....1000ml
PH : 7.2
L'ISP 7

Glycérol15g
 L-Tyrosine.....0.5g
 L-Asparagine1g
 KH₂PO₄0.5g
 MgSO₄, 7H₂O0.5g
 Na Cl.....0.5g
 FeSO₄ 7H₂O.....0.01g
 Solution saline standard.....1ml
 Agar20g
 H₂O distillée.....1000ml
PH : 7.2

2. Composition des milieux utilisés pour l'étude physiologique
2.1 Test Tolérance au Na Cl

Peptone de caséine.....10g/l
 Extrait de levure.....5.0g/l

H2O distillée1000ml
Agar.....20.0g/l

PH : 7.0 a 7.4

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

3.1 Milieu amidon 1%

GN.....100ml
Amidon1g

3.2 Milieu caséine 5%

Eau distille.....100ml
Agar2g
Caséine soluble5g

PH : 6 à 6.5

3.3 Milieu de test action sur le lait écrémé 10%

Eau distillé100ml
Lait écrémé.....10g

3.4 Milieu de test d'estérase

NaNO₃.....1g
Extrait de levure5g
Solution saline50ml
CaCl 2 2H₂O.....0.1g
Tween 80.....10ml
Agar18g
Eau distillé.....1000ml

3.5 Citrate de Simmons

Citrate de Simmons.....28.29g

Eau distillée1000ml

PH : 6 à 6.2

3.6 bouillon nitrate « ISP 8 »

Bouillon nitrate21g
Eau distillée.....1000ml

PH : 7.2 a 7.2

3.7 ISP 9 liquide

(NH₄)₂SO₄..... 2.64g
KH₂PO₄.....2.38g
K₂HPO₄.....5.65g
MgSO₄.7H₂O.....1g
Solution saline 2.....1ml
Eau distillée.....1000ml

PH : 6.8 a 7

3.8 Gélose Columbia au sang de patient à 10%

Columbia agar base42.5g
Eau distillé1000g

IV . Les solutions et Réactifs

1. Solution saline standard

K₂HPO₄.....0.25g
MgSO₄ 7H₂O.....0.125g
Na Cl0.125g
FeSO₄ 7H₂O.....0.001g
Mn SO₄.....0.001g
Eau distille50ml

2. Solution saline1

FeSO₄ 7H₂O.....0.1g
Mn Cl₂ 4H₂O.....0.1g
ZnSO₄ 7H₂O.....0.1g
Eau distille.....100ml

3. Solution saline 2

CuSO₄ 7H₂O.....0.64 g
FeSO₄ 7H₂O.....0.11g
Mn Cl₂ 4H₂O.....0.79g
ZnSO₄ 7H₂O.....0.15g
Eau distille100ml

4. Eau physiologique

Na Cl8.5 g
H₂O distillée.....1000 ml

5.H₂O distillé modifié

Echantillon de Sol.....50g
Eau distillé250ml
Ajtation30min

III .Technique de Utilisation de l'Api20E

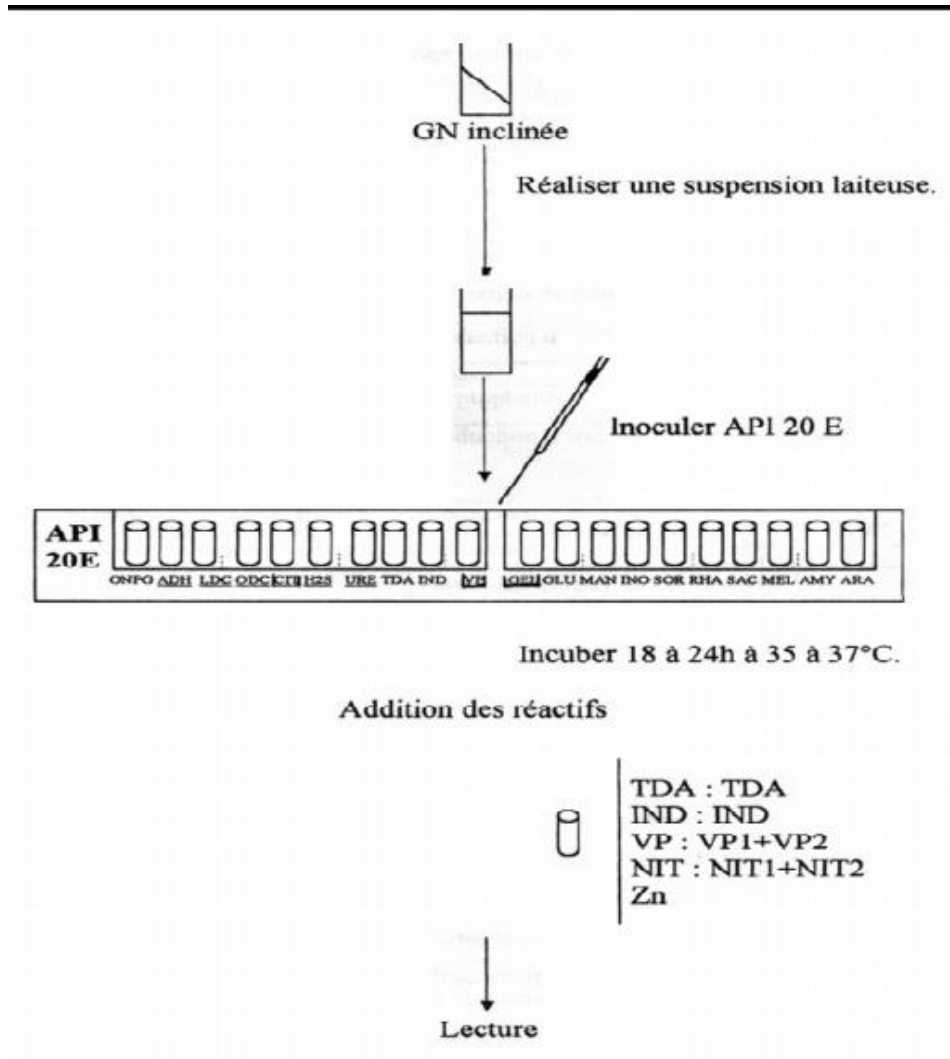


Figure 13 : Mode opératoire du système API 20 E.

Tableau 13: lecture du système API 20E

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho NitroPhényl-β-D-Galactopyranosidase)	incolore	jaune (1)
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé (2)
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
CIT	trisodium citrate	0,750	utilisation du Citrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (3)
H ₂ S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
URE	urée	0,75	UREase	jaune	rouge / orangé (2)
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	jaune	TDA / immédiat marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,18	production d'INDole	incolore vert pâle / jaune	JAMES / immédiat rose
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétolins (Voges Proskauer)	incolore	VP 1 + VP 2 / 10 min rose / rouge (5)
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUcose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
INO	Inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOsitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAmmose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARABinose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	

A

- ❖ Ara, I., Bukhari, N.A., & Hozzein, W.N. (2012). Screening and characterization of protease-producing actinomycetes from soil. *African Journal of Biotechnology*, 11(45), 10359–10367.
- ❖ Allouani, H., Ayed-Boussema, I., & Ennouri, K. (2019). Antimicrobial and enzymatic properties of actinomycetes isolated from Algerian soils. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(1), 1282–1292
- ❖ Arora, D. S., et al. (2015). Culturable bioactive actinomycetes from the Great Indian Thar Desert. *Annals of Microbiology*, 65(4), 1901–1914.
- ❖ Aouar, L. (2006). *Étude des propriétés enzymatiques des actinomycètes*. Thèse de doctorat, Université de [Nom].
- ❖ Alkama, R. (2014). *Étude des lipases chez Streptomyces fradiae et Streptomyces coelicolor*. Thèse de Master, Université de [Nom], [Ville].

B

- ❖ Boughachiche, F., Tabbene, O., & Sabaou, N. (2016). Caseinase-producing actinomycetes from Algerian soils. *African Journal of Microbiology Research*, 10(20), 678–686
- ❖ Barka, E.A., Vatsa, P., Sanchez, L., et al. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43.
- ❖ Borkar, S. (2022). *Enzymes produites par les bactéries filamenteuses Gram positif*. *International Journal of Microbial Research*, 14(2), 85-92.
- ❖ Brault, A. (2014). *Production de lipases chez les actinomycètes*. *Journal de Microbiologie Appliquée*, 28(3), 150-157.
 - ❖ Benkacher Sabiha, H. N. (2018). Isolement, Identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries des caries dentaires
 - ❖ Boucheffa ,K (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques : Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits. Mémoire de Magister. En microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes. Université Abderrahmane Mira Bejaia. P : 3-15
- ❖ Boudjelal-Bencheikh F. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. P : 5-35.

- ❖ Benhadj, M., et al. (2019). *Isolation et caractérisation de bactéries halotolérantes à partir de sols salins en Algérie*. *Journal of Applied Microbiology*, 127(5), 1456–1465
- ❖ Bouaziz S. (2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 4-13.
- ❖ Bekacher, S. (2018). *Biochemical characterization of actinomycetes isolates*. *Journal of Applied Microbiology*, 124(3), 789–800. DOI

D

- ❖ Djinni I. (2009). Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées production de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Bejaia. Thèse de Magister. Université. A. Mira-Bejaia. 154 p.
- ❖ DasSarma, S., & Arora, P. (2001). *Halophiles*. In *Encyclopedia of Environmental Microbiology* (pp. 1383–1394). Wiley.
- ❖ Djaballah, C. (2010). Biodiversité des Actinomycètes Halophiles et Halotolérante Isolat de la sebkha d'Ain Mlila .Mémoire de Magister. Ecologie Microbienne. Constantine, Université Mentouri.
- ❖ Danilenko V.N., Mironov V.A.,Elizarov S.M.2005.Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes .A Review *App BiochemMicrobiol* 41(4):319–329.

❖ 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.

❖ G

- ❖ Guérin, F., Barnaud, G., & Cattoir, V. (2008). Identification of hemolytic species among actinomycetes. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(10), 3274–3278.
- ❖ Gunasinghe, S.D., He, H., & Rahman, M.A. (2020). Industrial applications of actinomycete-derived enzymes: A review. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1455.
- ❖ Gordon R.E & RE Smith.,(1953).Rapidly growing,acid fast bacteria I.Species descriptions of Mycobacterium phlei.J.Bacteriol. 66. P: 41-48.

- ❖ Gottlieb D. (1973). General consideration and implication of the Actinomycetales. In: Sykes G., Skinner F. A. (éds). Actinomycetales characteristics and practical importance. London, New York: Academic Press.
- ❖ Goudjal, Y., et al. (2013). Plant-growth-promoting potential of endosymbiotic actinobacteria isolated from sand truffles (*Terfezia leonis* Tul.) of the Algerian Sahara. *Annals of Microbiology*, 66(1), 91–100.
- ❖ Gordon, R. e. (1974). *Nocardia coeliaca* *Nocardia autotrophica*, and the Nocardin strain. *International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,(1), 54-63.

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

❖ H

- ❖ . Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J., Williams S.T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Éd. Williams and Wilkins, USA. p.611-703.

❖ J

- ❖ Jang, J., & Chens, R. (2003). Identification and characterization of cellulase enzymes from *Streptomyces cellulomonas*. *Journal of Microbial Biotechnology*, 15(4), 234-241.

❖ K

- ❖ Kumar, A., & Singh, A. (2015). Screening and characterization of lipase producing *Streptomyces* sp. isolated from soil. *Journal of Applied Microbiology*, 118(3), 499-507.
- ❖ Kitouni M (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à Partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation
- ❖ préliminaire des substances élaborées. P: 15-17.
- ❖

- ❖ Kitouni, M., (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes, Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire de substances élaborées. Thèse de doctorat. Université Mentouri- Constantine.
- ❖ □ Ktir, M., Lamine, T., & Nada, B. D. (2022). Etude de la diversité métabolique et extraction des biomolécules produites par des souches d'actinomycètes (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa)

❖ L

- ❖ Lacey, J (1973). Actinomycetes in soils, composts and fodders. In: Actinomycetales: characteristics and practical importance. Eds.: G. Sykes, F.A. Skinner. Academic press, London, New York: 231–251.
- ❖ Loliam, A., et al. (2013). Cellulase production by actinomycetes isolated from soil samples. *International Journal of Biological Sciences*, 9(2), 112-118.
- ❖ . Lee, H., Kok, P., & Dowling, J. P. (2002). A quantum Rosetta stone for interferometry. *Journal of Modern Optics*, 49(14-15), 2325-2338.
- ❖ LAZOUNI, F., FERHAOUI, W. S., & ZERGOUG, A. (2022). Isolement et Sélection des
- ❖ Souches d'Actinomycètes d'Origine Marine Productrices d'Antibiotiques (Doctoral dissertation).
- ❖ Le Brun, C., Gérard, P., & Courvalin, P. (2015). Hemolytic activity among actinomycetes: differentiation of species. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(5), e41–e46.
- ❖ 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.
- ❖ Lefebvre, C. (2005). *Les bactéries halotolérantes : caractéristiques et applications*. Microbiologie et Biotechnologie, 19(2), 45–52.

❖ M

- ❖ Manseur, A. (2018). Production de coagulase par des actinomycètes isolés. *Revue Algérienne de Microbiologie*, 12(1), 45-53
- ❖ Marchal, N., Bourdon, J. L., (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin éditeurs –Paris. 509p.

- ❖ Guiraud. J & P .Duriod., (2003). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod .P : 188-193.
 - ❖ . Meij, A.V.D; Worsley, S.F; Hutchings, M.I; Van Wezel, G.P. Chemical ecology of antibiotic production by Actinomycine. FEMS Microbiol. Rev. 2017; 41: 392–416.
 - ❖ Mariat, F., Sebald M., (1990). Les actinomycetes. Dans : Bactériologie . Maximal production by actinomycetes. Int. J. Adv. Res. 2 (1).P: 485-491.
 - ❖ Mariat F. et Sebald M., (1990). Actinomycetes In :Bactériologie Medicale. Le Minor L. et véron M. 2éme édition, Flammarion. Paris. 935-949.
 - ❖ Messaoudi, S. (2011). *Isolation et caractérisation de bactéries halophiles et halotolérantes à partir de sols salins algériens*. Thèse de doctorat, Université de Béjaïa, Algérie.
 - ❖ Menezes, R.C., et al. (2008). Characterization of cellulase from *Micromonospora*. *Enzyme and Microbial Technology*, 42(5), 465-470.
 - ❖ Melki, R. (2010). Capacité des actinomycètes à coaguler les protéines du lait. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1632-1638.
 - ❖ Mihaela, M., Ilie, L., & Irina, C. (2011). Casein hydrolysis by actinomycetes. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(2), 6107–6114.
- ❖ O
- ❖ Oskay, M. (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 3(9), 441- 446
 - ❖ Ou. X ; Zhang. B ; Zhang. L; Dong. K; Liu. C; Zhao. G; and Ding. X. (2008). SarA influences the sporulation and secondary metabolism in *Streptomyces coelicolor* M145. *Acta. Biochim. Biophys Sin*, 40 (10) 877-882.

❖ P

- ❖ Patel, R., & Bhatt, P. (2017). Lipase production from *Streptomyces* and their applications: a review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(2), 243-251.
- ❖ Palaniyandi, S.A., Yang, S.H., Zhang, L., & Suh, J.W. (2013). Biological control of bacterial plant pathogens by *Streptomyces* species. *Plant Pathology Journal*, 29(2), 144–154

❖ S

- ❖ Saci, M., Hacene, H., & Boudjema, B. (2017). Screening of soil actinomycetes for amylase production. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 4(1), 563–568.
- ❖ Santos, C.I., Silva, A.S., & Lima, M.F. (2012). Screening of actinomycetes for amylase production. *African Journal of Microbiology Research*, 6(31), 6034–6040.
- ❖ Stamford, T.L.M., Stamford-Arnaud, T.M.R., Coelho, L.C.B.B., & Araújo, J.M. (2001). Production and characterization of amylase from *Nocardiopsis* sp. isolated from soil of Northeastern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 44(2), 139–144.
- ❖ Saadoun, I., & Ghazi, I.M. (2007). Actinomycetes: Biotechnological applications and potential use in bioremediation. *African Journal of Biotechnology*, 6(24), 2739-2749
- ❖ Singh, A., & Saini, G.K. (2013). Microbial lipases: production and applications. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2), 493-503.
- ❖ Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U.C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, 19(8), 627-662.
- ❖ Suneeta, P. (2011). *Enzymatic activity of actinomycetes isolated from soil*. *Journal of Environmental Biotechnology*, 7(1), 35-42
- ❖ Saratale, G.D., et al. (2010). Cellulolytic activity of actinomycetes isolated from compost samples. *Bioresource Technology*, 101(19), 7237-7244.
- ❖ Stutzenberger, F.J. (1988). Cellulase activity in *Micromonospora* species. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 29(3), 345-350.
- ❖ Souagui, A., et al. (2015). Antimicrobial potential of actinomycetes isolated from the unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity. *Journal of Applied Microbiology*, 119(6), 1603–1615

- ❖ Shirling and Gottlieb, E. (1966). Methods for Characterisation of Streptomyces Species.
- ❖ International journal of systemic and evolutionary microbiology(3), 313-340.
- ❖ Sanglier, J.J. (1993). *Activités cellulolytiques chez les actinomycètes*. [Titre de la publication ou thèse si disponible], [Nom de l'institution ou revue].
- ❖ Stackebrandt E & al(2001) *Nonomuraea dietzii* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 51 : 1437–1441
- ❖ Shirling. E. B & D Gottlieb (1966). Methods for characterization of streptomyces species. International journal of systematic bacteriology. Vol. 16. N° 3. Pp : 313-340.
- ❖ Smaoui. S 2010 Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse doc : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). Pp : 207.
- ❖ Stackebrandt, E.-R. (1997). Proposal for a new hierarchic classification system. Actinobacteria classis Nov. Int. J. Syst.Evol, 47(2), 479–491.
- ❖ 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.
- ❖

❖ T

- ❖ Tang, J., et al. (2003). *Halophilic and halotolerant actinomycetes from saline environments*. FEMS Microbiology Letters, 220(1), 1–6

❖ Y

- ❖ Yugal K M (2014). Isolation of Cellulose-Degrading Actinomycètes and Evaluation of their Cellulolytic Potential. Bioengineering and Bioscience. (5): 1-5
- ❖ Ying, Q., et al. (2012). *Biochemical characterization of actinomycetes from Namibia rocky crest mountainous soil and analyzing their bioactive metabolites*

for antagonistic effect against human respiratory pathogens. Pan African Medical Journal, 48(12). DOI: [10.11604/pamj.2014.48.12.3772](https://doi.org/10.11604/pamj.2014.48.12.3772)

❖ W

- ❖ William B. R Whitman ; T Krieg ; T James ; R Daniel ;P Brian Hedlund & J. Paster ;L
- ❖ (2010) Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology. Springer New York Dordrecht
- ❖ Heidelberg London p : 25-49
- ❖ 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.

❖ Z

- ❖ Zinedine, A. (2004). Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnels. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc.

- ❖ Zerizer H. (2014). Les genres d'actinomycètes (hors mycobactéries) impliqués dans les infections dans la région de Constantine. Thèse de Doctorat en Sciences en Biochimie et Microbiologie Appliquées. Université Constantine 1.p 11
- ❖ Zermane F., (2008). Etude des caractéristiques culturelles des Actinomycètes impliquées dans la biodégradation de la cellulose, des substances pectiques et des composés organiques de synthèse. Mémoire de Magistère, Université Mentouri Constantine. 123p.7i
- ❖ Zergoug, A., et al. (2022). *Isolation, characterization and antimicrobial screening of bioactive substance-producing actinobacteria isolated from Algerian soil samples.* International Journal of Biosciences, 21(2), 199–211.