



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2023

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Fondamentale et Appliquée

Présenté et soutenu par :

ROUAHNA Faiza
DRIS Saliha

Caractérisation phénotypique et étude préliminaire des activités enzymatiques et inhibitrices des actinomycètes du sol aride

Jury :

Dr.	TRABSA Hayat	Grade	Université de Biskra	Président
Dr.	BABA ARBI Souad	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Dr.	DENDOUGA Wassila	Grade	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2022 -2023

Remerciement

Avant toute chose, nous tenons à remercier « Allah » gloire à Dieu qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadreur Mme Baba Arbi Souad, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Biskra, pour son encadrement, pour le temps qu'elle a consacré à nous 'apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche. Son exigence nous a grandement stimulées, ses conseils scientifiques, son efficacité et sa bienveillance, qui nous a permis de bien faire ce modeste travail.

Nous remercions ensuite l'ensemble des membres du jury, qui nous a l'honneur de bien vouloir étudier avec attention notre travail.

Nous adressons également des remerciements à Dr Bouguenoun et Dr Benabdallah pour nous fournir des souches cibles, et nous remercions tous les enseignants qui ont contribué à notre formation et à notre éducation durant ces deux ans.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont participé directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Dédicace

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

Je dédie ce modeste travail à : La personne, le plus chère au monde que je ne remercierais jamais assez : son aide, l'encouragement, Soutiens, sacrifices et sa patience pendant toute ma vie : Ma chère Papa.

A la mémoire de mon Mère, à qui je dois ce que suis devenue aujourd'hui, qu'Allah lui accorde son vaste paradis.

A mon tondre marie qui m'a encouragé, qui ma donnée la force et la volonté de surmonter tous les obstacles et les difficultés, Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon frère et mes sœurs et leurs enfants.

Mes chères amies de la promotion de master en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. Tous les étudiants, enseignants et personnels du département des Sciences Biologique.

A mon binôme Faiza, je vous souhaite succès.

Saliha

Dédicace

Je remercie dieu le tout puissant, qui nous a tracé le chemin de notre vie et de m'avoir donné la force, la patience et la volonté pour réaliser ce travail.

J'ai pu réaliser ce travail que je dédie : A mes chers parents Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous. Vous m'avez comblée avec tendresse et affection tout au long de mon parcours. Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour.

A mon cher marie qui m'a soutenu et ma donnée la force et la volonté de surmonter tous les obstacles et les difficultés, Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes belles filles. Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie.

À mes agréables et aimables sœurs et frères.

À tous les membres de ma chaleureuse famille et à mes amis au travail.

À celle avec qui j'ai partagé ce travail Saliha.

Faiza

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Table des matières I

Liste des Tableaux..... IV

Liste des Figures V

Liste des abréviations..... VI

Introduction générale..... 1

Partie I Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les actinomycètes

1.1 Définition..... 3

1.2 Morphologie 3

1.3 Physiologie et Métabolisme..... 4

1.4 Ecologie et distribution..... 4

1.5 Cycle de développement..... 5

1.6 Critères d'identification des actinomycètes..... 6

1.6.1 Critères morphologiques 6

1.6.2 Critères physiologiques..... 6

1.6.3 Critères biochimiques 6

1.6.3.1 Les acides aminés..... 6

1.6.3.2 Les sucres 7

1.6.3.3 Les lipides 7

1.6.4 Critères moléculaires..... 8

1.7 Taxonomie 8

Chapitre 2 : Intérêt des actinomycètes En biotechnologie

2.1 Amélioration de la qualité de sol agricole 10

2.2 Importance dans le domaine médical, vétérinaire et industriel	10
2.3 Production des antibiotiques.....	11
2.4 Production des enzymes	11
2.4.1 Protéases	11
2.4.2 Cellulases	11
2.4.3 Lipases	11
2.4.4 Chitinases	11
2.4.5 Amylase	12
2.4.6 Kératinases	12
2.5 Résistance des actinomycètes aux métaux lourds	12

Partie II Partie Expérimentale

Chapitre 3 : Matériel et Méthodes

3.1 Echantillonnage du sol	13
3.2 Matériel biologiques (souches cibles)	13
3.3 Matériel utilisés, Milieux de culture.....	13
3.4 Isolement à partir du sol	13
3.5 Caractérisation des actinomycètes	13
3.5.1 Caractérisations macroscopiques	13
3.5.2 Caractérisations microscopiques	14
3.6 Test catalase :.....	14
3.7 Conservation des souches	14
3.8 Mise en évidence des activités enzymatiques	14
3.8.1 Recherche de l'amylase	15
3.8.2 Recherche de la caséinase	15
3.8.3 Recherche de la pectinase	15
3.8.4 Recherche de la gélatinase	15
3.9 Recherche de l'activité antimicrobienne	15

3.9.1 Recherche de l'activité antimicrobienne par méthode des stries croisées	16
3.9.2 Recherche de l'activité antimicrobienne en milieu liquide par méthode des puits .	16
3.10 Etude la résistance des souches aux métaux lourds	17
Chapitre 4 Résultats et Discussion	
4.1 Caractérisation macroscopique	19
4.2 Résultat de la coloration de Gram	21
4.3 Résultat de Test Catalase	22
4.3 Mise en évidence des activités enzymatiques	22
4.3.1 Recherche de l'amylase	22
4.3.2 Recherche de la pectinase	23
4.3.3 Recherche de protéase (caséinase)	23
4.3.4 Recherche de la gélatinase	24
4.4 Résultat de recherche de l'activité antimicrobienne	26
4.4.1 Méthode des stries croisées	26
4.4.2 Méthode des puits	30
4.5 Etude de la résistance ou la sensibilité aux métaux lourds	33
Conclusion	
Références Bibliographiques	
Annexes	
Annexes	
Résumés	

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Types de parois des actinomycètes en fonction des constituants en acides aminés et en sucres (Lechevalier et Lechevalier, 1970).....	6
Tableau 2 : Les sucres totaux cellulaires des actinomycètes (Lechevalier et Lechevalier, 1970).....	7
Tableau 3 : Les types de phospholipides présents chez les actinobactéries (Boukahili et al, 2019).....	7
Tableau 4 : la classification hiérarchique de la classe Actinobacteria basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr / ARNr 16S (Garrity et al ; 2004)	9
Tableau 5 : Caractéristiques culturelles des isolats d'actinomycètes sur milieu Amidon-caséine.	19
Tableau 6 : Les résultats des tests catalas.	22
Tableau 7 : Les résultats des tests des activités enzymatiques des isolats.....	25
Tableau 8 : Résultat de test antimicrobienne * Méthode stries croisé*	26
Tableau 9 : Résultat de test antimicrobienne * Méthode des puits*	31

Liste des Figures

Figure 1 : La coupe transversal d'une colonie d'Actinobactéries qui se développant sur gélose (Prescott et al ; 2018)	5
Figure 2 : Cycle de développement de Streptomyces (Barka et al ; 2016)	5
Figure 3 : Principaux mécanismes d'action des bactéries promotrices de croissance des plantes. Créé avec BioRender.com . (Guilherme da Cruz Silva.2022).	10
Figure 4 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne sur milieu solide ISP2 par la technique des stries croisées.....	16
Figure 5 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode des puits.	17
Figure 6 : Aspect macroscopique de quelque souche après l'isolement et plusieurs repiquages sur milieu Amidon caséine agar	20
Figure 7 : Aspect microscopique de quelques souches après coloration de Gram (Gx100)...	21
Figure 8 : Test d'hydrolyse de l'amidon est positif pour les isolats des actinomycètes	23
Figure 9 : Test d'hydrolyse de la caséine est positif pour les isolats des actinomycètes	24
Figure 10 : Test d'hydrolyse de la gélatine est positif pour les isolats des actinomycètes	25
Figure 11 : Résultats d'activité antimicrobienne *technique striée croisée*	26
Figure 12 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes sur les bactéries-tests par la technique des stries croisées.....	27
Figure 13 : Résultats d'activité antimicrobienne *méthode de puits*	30
Figure 14 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes sur les bactéries-tests par la technique des puits	31

Liste des abréviations

MA : Mycélium aérien

MS : Mycélium de substrat

SCA : Starch Caséin Agar

g : Gramm.

G+C : Coefficient de Chargaff.

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

J : jour

LPS : Lipopolysaccharide

Introduction générale

Pendant de nombreuses années, les sols arides ont été considérés sans importance économique ou écologique, y compris l'examen des caractéristiques microbiennes, était sporadique. Au cours des deux dernières décennies, l'utilisation économique et agricole des terres arides est devenue un élément essentiel du maintien et de l'amélioration de l'approvisionnement alimentaire mondial ; par conséquent, les recherches biologiques et environnementales sur ces sols sont multipliées (Brock,1979 ; Williams,1981). Les sols sahariens d'Algérie représentent des écosystèmes particuliers. Leur exploration a permis de mettre en évidence leur richesse et leur biodiversité en actinobactéries rares (Boudjella *et al.*, 2014).

Les actinomycètes sont des bactéries Gram positives filamenteuses qui présentent une véritable ramification. Ils sont reconnus depuis plus de cent ans principalement sur leurs critères morphologiques (Srinivasan MC,2022). Leur hétérogénéité biochimique, leur diversité écologique et leur exceptionnelle capacité à produire des métabolites secondaires font d'eux des producteurs potentiels de nombreux composés intéressants en industrie pharmaceutique et alimentaire (Hamaki *et al.*, 2005).

La valeur des actinomycètes dans la production d'enzymes est renforcée par leurs rendements relativement élevés, leur rentabilité et leur facilité de manipulation génétique. Les enzymes d'origine microbienne sont largement utilisées dans la transformation des aliments, les détergents, le textile, l'industrie pharmaceutique et la thérapie médicale (Srinivasan MC, 2022).

La capacité naturelle de production des antibiotiques est associée aux actinobactéries (Melouah, 2015), ce groupe représente la source de 70% ces antibiotiques et plus de 80% De ces molécules sont produits par le genre *Streptomyces* (Watve *et al.*, 2001). D'autres molécules bioactives sont produites par les actinobactéries telles que, les vitamines, les immunosuppresseurs, les insecticides, les herbicides, les antioxydants ...etc. (Genilloud *et al.*,2011), ces métabolites jouent un rôle important dans différent domaines : L'industrie, l'agriculture, science vétérinaire et pharmaceutique (Oskay *et al.*, 2004).

La contamination des sols par les métaux lourds est un phénomène répandu occurrence due à des activités humaines, agricoles et industrielles (Beladi *et al.*, 2011). Ces activités se traduisent par l'accumulation de métaux traces dans les sols agricoles, créant une menace pour la sécurité alimentaire et la santé publique en général (Dary *et al.*, 2010).

Pour minimiser les risques des métaux lourds, différents processus ont été mis en place y compris le traitement biologique qui, consiste à utiliser des microorganismes ayants une résistance vis-à-vis des métaux lourds (Hamedi *et al.*, 2015).

Plusieurs études ont montré l'efficacité de certaines souches d'actinomycètes dans le traitement biologique et l'élimination des métaux lourds (Hozzein *et al.*, 2012).

Alors quels sont les actinomycètes qui peuvent être isolées à partir des sols arides en Algérie ? Quels sont leurs caractères phénotypiques ? et est-ce qu'ils ont une aptitude pour synthétiser des substances antimicrobiennes et des enzymes d'intérêt industriel ?

Dans cette étude, nos principaux objectifs sont les suivants :

- La recherche et l'isolement des actinomycètes à partir d'échantillons de sols arides provenant du Sahara Algérienne des régions Illizi, Touggourt et Tindouf.
- Etude phénotypiques des isolats d'actinomycètes qui implique la caractérisation micro-morphologique et macromorphologiques.
- Etude de l'activité enzymatique (dégradation des substrats) de ces isolats.
- Recherche d'activité antimicrobienne des souches étudiées.
- Recherche de la résistance des souches étudiées vis-à-vis aux métaux lourds.

Ce travail est structuré en deux parties :

Première partie : il s'agit d'une étude bibliographique répartie en deux chapitres ; le premier présente des généralités sur les actinomycètes, alors que le deuxième chapitre examine l'intérêt de ces derniers en différents domaines.

La deuxième partie concerne l'étude expérimental effectuée en deux chapitres : un chapitre regroupe l'ensemble des matériels et des méthodes utilisés pour la réalisation de cette étude et le dernier chapitre représente et discute les résultats obtenus.

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur les actinomycètes

1.1 Définition

Etymologiquement le mot actinomycètes du grecs « Aktis », synonyme rayon et « mykes » veut dire champignon ; « champignons à rayons » ou « champignons rayonnants » (Lamari, 2006). Bactéries filamenteuses de Gram-positif, à taux élevé de G+C (compris entre 60-70%), elles ont un mode de vie mycélien et subissent une différenciation morphologique complexe (Barka *et al.*, 2016).

Les actinomycètes présentent certaines caractéristiques particulières, notamment au niveau de leur paroi constituée de peptidoglycane mais ne constituée pas de chitine ou de cellulose. Leur organisation cellulaire est de type procaryotique. Ils sont sensibles à certains antibiotiques antibactériens mais pas aux antifongiques (Reghioua *et al.*, 2006).

1.2 Morphologie

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes.

Le premier groupe : se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium).

Le second groupe : comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (Lechevalier, 1985).

Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- des colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
- des colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
- des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

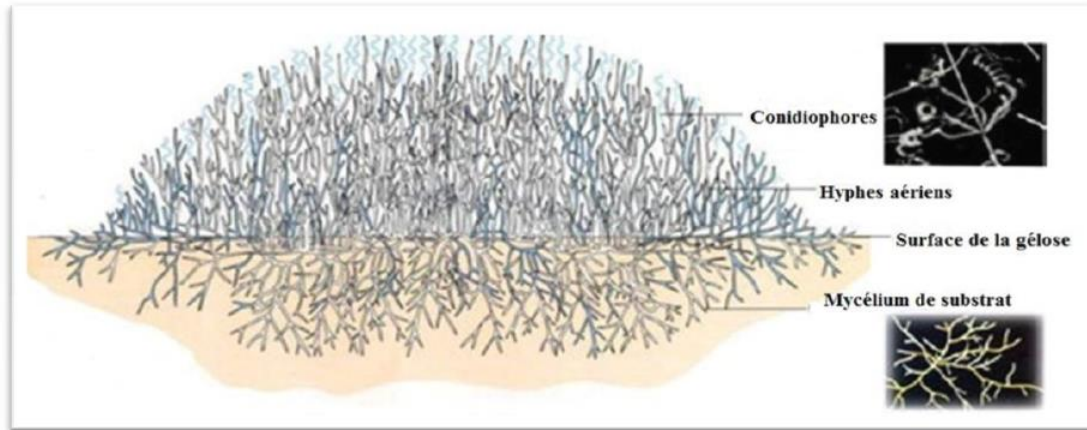


Figure 1: La coupe transversal d'une colonie d'Actinobactéries qui se développant sur gélose (Prescott *et al.*, 2018)

En culture liquide et sans agitation, les hyphes formés après la germination des spores montent en surface pour croître en contact de l'air (Keulen *et al.*, 2003). Cependant, en milieu liquide avec agitation, les *Streptomyces* forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'agrègent pour former enfin les pellets (Reichl *et al.*, 1992 ; Tamura *et al.*, 1997).

1.3 Physiologie et Métabolisme

En général, les actinomycètes sont des chimio-organotrophes utilisant une grande variété de sources d'énergie y compris les polymères complexes. Mais plusieurs espèces sont des chimio-autotrophes utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (Mariat et Sebald , 1990).

1.4 Ecologie et distribution

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux écologiques (Goodfellow *et al.*, 1983).

Dans le sol : le sol est le réservoir principal des Actinomycètes spécialement dans les sols alcalins et les sols fertiles riches en matière organique (Lansing *et al.*, 2003). Ces Actinomycètes produisent des substances spécifiques responsables de l'odeur de géosmine caractéristique des sols, telles qu'*Actinomyces humiferus* (Dommergurs et Mangenot, 1970).

Dans le milieu marin : les actinomycètes *Streptomyces purpurascens* isolés à partir des milieux marins présentent des formes terricoles adaptées à la salinité de l'eau (Weyland, 1981).

Eaux douces : Certains genres d'Actinomycètes telle que *Rhodococcus coprophilus* et *Thermoactinomyces vulgaris* préfèrent les eaux douces, en revanche, ils sont absents dans les eaux minières très acides et les sources thermales très chaudes d'origine volcanique. (Boucheffa, 2011 ; Gerard *et al.*, 2001).

Air : L'air n'est pas un habitat pour les Actinomycètes, mais il est un moyen de transport des spores dispersées dans la poussière (Michael et John, 2007).

Les composts : en présence d'oxygène et dans des conditions contrôlées, sous l'action de macro et micro-organismes comme *Rhodococcus coprophilus* la décomposition biologique thermophile de déchets organiques produit du compost de type humique stable et de composés minéraux (Mustin, 1987).

L'existence des actinomycètes est très influencée par les conditions environnementales tels que la température, l'humidité, pH et végétation (Basilio *et al.*, 2003). Beaucoup sont susceptibles de sporuler, ce qui leur permet de survivre en conditions défavorables (Zaitlinet Watson, 2006). Cette propriété joue un rôle principal dans leur distribution.

Les sols des oasis du Sahara Algérien, bien que soumis à un climat aride, se sont révélés riches en actinomycètes parfois réputé rares de par le monde (Boudemagh, 2007).

1.5 Cycle de développement

Les cycles de vie observée chez les Actinobactéries sont uniques parmi les procaryotes et semblables aux eucaryotes multicellulaires, il résulte de trois processus physiologiques majeurs : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire, suivies de la mort (Ait Barka *et al.*, 2016).

La Figure ci-dessous montre le cycle de développement des actinobactéries.

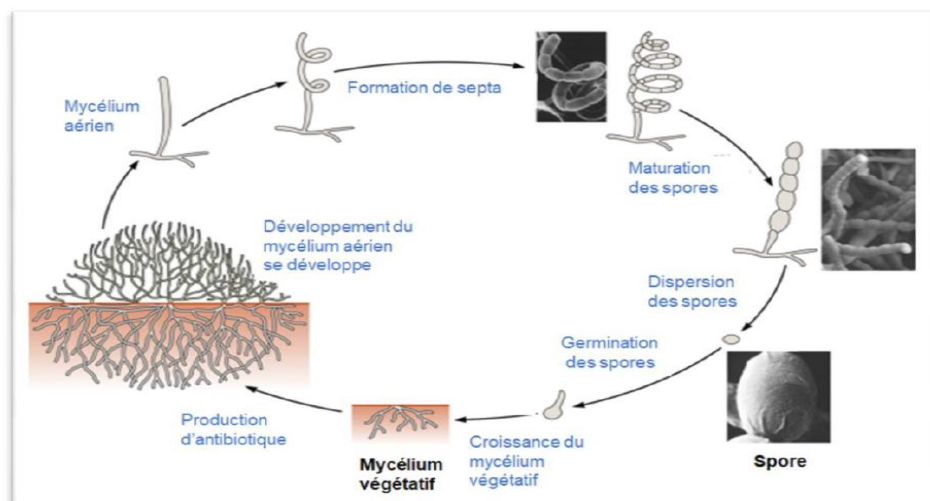


Figure 2 : Cycle de développement de *Streptomyces* (Barka *et al.*, 2016)

1.6 Critères d'identification des actinomycètes

Pour la caractérisation et l'identification des actinomycètes, ensemble des données phénotypiques et génotypiques doivent être rassemblées, pour arriver jusqu'au niveau de l'espèce ou de la souche (Holt *et al.*, 2000).

1.6.1 Critères morphologiques

La forme, la taille et la texture de la colonie des actinomycètes sont des critères qui aident à différencier les genres. Les mycéliums, végétatif et aérien, peuvent avoir des pigments intracellulaires différents. La couleur des pigments varie selon les espèces (Shirling et Gottlieb, 1966).

1.6.2 Critères physiologiques

Il s'agit de réaliser des tests de dégradation de différents composés : glucidiques, lipidiques, protidiques, polymères complexes, ...etc. Ainsi que d'autres tests comme la résistance aux agents antimicrobiens, chimiques (métaux lourds), biochimiques et aux variations des conditions extrêmes (température, pH.), (Goodfellow *et al.*, 1990).

1.6.3 Critères biochimiques

La composition de la paroi cellulaire en acides aminés, glucides et lipides constituent le principal caractère utilisé en chimio-taxonomie (Aouar, 2006).

1.6.3.1 Les acides aminés

La paroi cellulaire des actinomycètes est composée d'un peptidoglycane dont les chaînes peptidiques sont composées d'acides aminés très diverses. Certains ont une grande valeur taxonomique, telle que : lysine, l'acide 2,6-diaminopimélique (DAP) (forme LL ou DL), l'acide 2,4-diaminobutyrique et la glycine. La combinaison des d'acides aminés et de glucides du peptidoglycane permet un classement en 8 groupes principaux (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

Tableau 1 : Types de parois des actinomycètes en fonction des constituants en acides aminés et en sucres (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

Type de paroi	Constituants majeurs	Exemples de genres
I	LL-DAP	<i>Streptomyces</i>
II	Méso-DAP, Glycine, Xylose, Arabinose	<i>Micromonospora</i>
III	Méso-DAP, Madurose ou aucun sucre	<i>Actinomadura</i>

IV	Méso-DAP, Arabinose, Galactose	<i>Actinomaces israelii</i>
V	Lysine, Ornithine	<i>Nocardia</i>
VI	Lysine	<i>Oerskovia</i>
VII	DAB, Glycine	<i>Agromyces</i>
VIII	Ornithine	<i>Cellulimonas</i>

DAP : Acide 2.6-diaminopimélique ; DAB : Acide 2.4-diaminobutyrique

1.6.3.2 Les sucres

L'arabinose, le galactose, la xylose et le madurose sont les sucres ayant une importance taxonomique (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

Tableau 2 : Les sucres totaux cellulaires des actinomycètes (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

Profils de sucres	Sucres caractéristiques	Genres représentatifs
A	Arabinose, Galactose	<i>Nocardia, Rhodococcus, Saccharomonospora</i>
B	Madurose	<i>Actinomadura, Streptosporangium, Demaphilus</i>
C	Aucun	<i>Thermomonospora, Actinosynnema, Geodermatophilus</i>
D	Arabinose, Xylose	<i>Micromonospora, Actinoplanes</i>

1.6.3.3 Les lipides

Les lipides taxonomiquement importants peuvent être représentés par quatre groupes : les lipides polaires, les ménaquinones, les acides mycoliques et les acides gras.

➤ Les lipides polaires (phospholipides)

Les lipides polaires les plus communs chez les actinomycètes sont les phospholipides.

Tableau 3 : Les types de phospholipides présents chez les actinobactéries (Boukahili *et al.*, 2019).

Type de phospholipides	PE	PC	PG	PGI	Genre
PI	-	-	-	V	<i>Actinomadura</i>

PII	+	-	-	-	<i>Streptomyces, Pseudonocardia</i>
PIII	-	+	-	V	<i>Nocardiopsis, Amycolatopsis</i>
PIV	+	-	+	-	<i>Nocardia, Nonomuraea</i>
PV	-	-	+	+	<i>Oerskovia</i>

PE : phosphatidyléthanolamine ; PC : phosphatidylcholine ; PG : phospholipides contenant de la glucosamine ; PGI : phosphatidylglycérol ; + : présent ; - : absent ; v : variable selon les genres et les espèces. Le Phosphatidylinositol PI est présent chez toutes les actinobactéries.

➤ Les ménaquinones

Micrococcus kristinae, *M. lylae* et *M. nishinomiyaensis*, *M. sedentarius* possèdent les ménaquinones présentes au niveau de la membrane plasmique qui sont des lipides et participent dans le transport des électrons et dans la phosphorylation oxydative (Collin *et al.*, 1980) exp :

➤ Les acides mycoliques

Ce sont des composés des parois constituées de 20 à 90 carbones, présents uniquement chez certains genres : *Rhodococcus coprophilus*, *R. equi*, *R. erythropolis*, *Mycobacterium bovis*. Ils sont utiles pour différencier certains genres de ce type entre eux, par leur présence ou leur absence (Mordarska *et al.*, 1972).

➤ Les acides gras

Ce sont des chaînes qui peuvent être droites ou ramifiées, saturées ou insaturées (Kroppenstedt *et al.*, 1990 ; Minnikin et Goodfellow, 1981). Le nombre d'atomes de carbone comportant de 12 à 20 atomes de carbone et caractéristique du genre *Nocardia kirovani* (M. guinand *et al.*, 1970).

1.6.4 Critères moléculaires

Les déterminations portent sur le GC%, sur le spectre obtenu par électrophorèse des fragments de l'ADN, sur le taux d'hybridation ADN – ADN et sur la séquence de l'ARNr 16S. Deux souches sont sans relation si la différence de plus de 10 %. Au-delà de 70 % de similitude, deux souches sont estimées comme appartenant à la même espèce (Larpent et Larpent-Gourgaud, 1985).

1.7 Taxonomie

Les actinomycètes sont classés dans le Règne des Procaryotes, le Domaine des *Bacteria* ou *Eubacteria*, le Phylum des *Actinobacteria*, la Classe des *Actinobacteria*, la Sous-Classe des *Actinobacteridae* et l'Ordre des *Actinomycetales* (Euzéby, 2011).

Tableau 4 : la classification hiérarchique de la classe *Actinobacteria* basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr / ARNr 16S (Garrity, 2004)

Classe <i>Actinobacteria</i>					
S/Cl	<i>Acidimicrobidae</i>	<i>Rubrobacteridae</i>	<i>Coriobacteridae</i>	<i>Sphaerobacteridae</i>	<i>Actinobacteridae</i>
S/Cl	<i>Actinobacteridae</i>				
Ordres	<i>Bifidobacteriales</i>		<i>Actinomycetales</i>		
Ordre <i>Actinomycetales</i>					
S/O <i>Actinomycineae</i>	S/O <i>Micrococcineae</i>	S/O <i>Corynebacterineae</i>	S/O <i>Micromonosporineae</i>	S/O <i>Propionibacterineae</i>	
Famille <i>Actinomycetaceae</i>	Familles <i>Micrococcaceae</i> <i>Bogoriellaceae</i> <i>Rarobacteraceae</i> <i>Sanguibacteraceae</i> <i>Brevibacteriaceae</i> <i>Cellulomonadaceae</i> <i>Dermabacteraceae</i> <i>Dermatophilaceae</i> <i>Dermacoccaceae</i> <i>Intrasporangiaceae</i> <i>Jonesiaceae</i> <i>Microbacteriaceae</i> <i>Beutenbergiaceae</i> <i>Promicromonosporaceae</i>	Familles <i>Corynebacteriaceae</i> <i>Dietziaceae</i> <i>Gordoniaceae</i> <i>Mycobacteriaceae</i> <i>Nocardiaceae</i> <i>Tsukamurellaceae</i> <i>Williamsiaceae</i>	Famille <i>Micromonosporiaceae</i>	Familles <i>Propionibacteriaceae</i> <i>Nocardiodiaceae</i>	
S/O <i>Pseudonocardineae</i>	S/O <i>Streptomycineae</i>	S/O <i>Streptosporangineae</i>	S/O <i>Frankinea</i>	S/O <i>Glycomycineae</i>	
Familles <i>Pseudonocardiaceae</i> <i>Actinozynnemataceae</i>	Famille <i>Streptomycetaceae</i>	Familles <i>Streptosporangiaceae</i> <i>Nocardiopsaceae</i> <i>Thermomonosporaceae</i>	Familles <i>Frankiaceae</i> <i>Geodermatophilaceae</i> <i>Microsphaeraceae</i> <i>Sporichthyaceae</i> <i>Acidothermaceae</i> <i>Kineosporiaceae</i>	Famille <i>Glycomycetaceae</i>	

S/Cl: sous classe, S/O: sous ordre

Chapitre 2

Intérêt des actinomycètes

En biotechnologie

L'hétérogénéité biochimique, la diversité écologique et la capacité exceptionnelle des actinomycètes permettent de produire des métabolites secondaires intéressants en industrie pharmaceutique, alimentaire, médicale et environnementale (Mincer *et al.*, 2002 ; Behal, 2003 ; Overbye et Barrett, 2005 ; Abbas, 2006 ; Baltz, 2008).

2.1 Amélioration de la qualité de sol agricole

Les actinomycètes ont un rôle important dans l'amélioration de la qualité du sol agricole. Ils contribuent aux processus de recyclage et de la biodégradation de la matière organique et des éléments minéraux (Goodfellow *et al.*, 1984). Les Actinomycètes ont un grand pouvoir de transformation des substances organiques complexes difficilement dégradables ou non, par les autres microorganismes, comme les polymères complexes : les polysaccharides, les lignocelluloses, la chitine (Goodfellow et Williams, 1983).

Quelques espèces d'actinomycètes sont des symbiotes de plantes (Larpen et Larpen-Gourgand, 1985). Le genre *Frankias* s'intègre aux racines avec plus de 200 espèces des angiospermes, en offrant une protection contre les phytopathogènes (Sardi *et al.*, 1992 ; Thirupl *et al.*, 2001 ; Pawlowski et Sirrenberg, 2003) et en résistant aux stress environnementaux (Guilherme da Cruz Silva, 2022). Ils améliorent aussi l'infiltration de l'eau dans le sol et permettent ainsi une bonne aération du sol (Mckenna *et al.*, 2002).

Augmentation de la biodisponibilité des nutriments : fixation biologique de l'azote, solubilisation des phosphates et production de sidérophores (Guilherme da Cruz Silva, 2022).

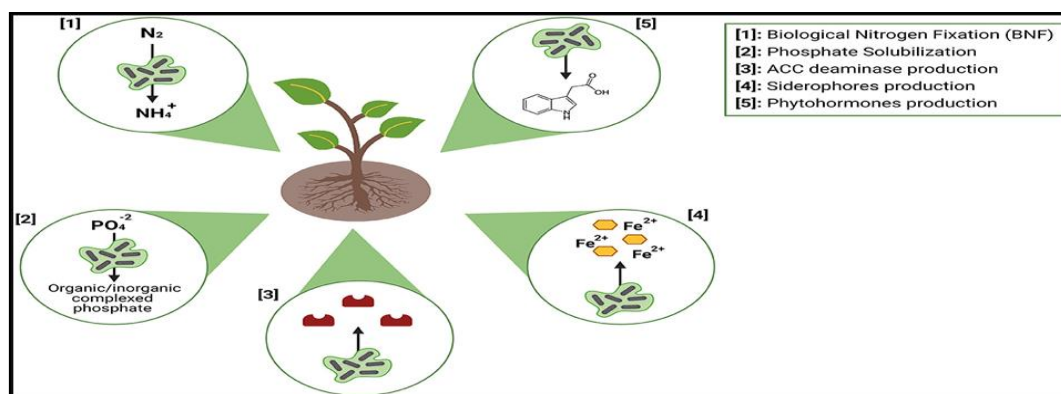


Figure 3 : Principaux mécanismes d'action des bactéries promotrices de croissance des plantes (Guilherme da Cruz Silva, 2022).

2.2 Importance dans le domaine médical, vétérinaire et industriel

Les actinobactéries sont la source la plus courante des antibiotiques et constituent une source prometteuse d'un large éventail des enzymes, des inhibiteurs d'enzymes, et des vitamines (Silva *et al.*, 2013), des herbicides, des pesticides ou des antiparasitaires (Oskay *et al.*, 2004),

de facteurs de croissance, de substances probiotiques, anticholestérolémiques, antihistaminiques, et des anticancéreuses...etc (Buckingham ,1997). Certaines espèces de *Propionibacterium* jouent un rôle important dans la fermentation propionique lors de la fabrication du fromage suisse (Tortora, 2003).

2.3 Production des antibiotiques

En effet les actinomycètes constituent une source importante d'antibiotiques, plus de 70% des antibiotiques d'origine microbienne sont produits par ce vaste groupe bactérien (Gundliffe, 2006). Le genre *Streptomyces* produit 75% des antibiotiques.

Les actinomycètes sont aussi une grande source de molécules possédant des activités biologiques variées comme des agents antitumoraux (Petit *et al.*, 1999), des médicaments cliniquement utiles, des antiviraux (Wehrli et Staehelin, 1971). Ainsi, des inhibiteurs d'enzymes, des vitamines, des immunomodulateurs (Badji, 2006), ou des antiparasitaires (Oskay *et al.*, 2004).

2.4 Production des enzymes

Après les antibiotiques, les enzymes représentent le second grand groupe de produits industriels synthétisés par les actinomycètes.

2.4.1 Protéases

Elles constituent plus de 65% des applications industrielles : agents blanchisseurs dans les détergents ou dans la synthèse des peptides (Thumar et Singh, 2007) telle que : *Streptomyces griseus*, *Nocardopsis dassonvillei*

2.4.2 Cellulases

Les cellulases sont utilisées en industrie pharmaceutique dans des formules médicamenteuses à vocation d'aide digestive (Scriban, 1993) telle que : *Thermomonospora curvata*, *Thermobifida*, *Saccharomonospora*, *Streptomyces*, *Pseudonocardia*, *Micromonospora*, *Microbispora* and *Rhodococcus*.

2.4.3 Lipases

Les lipases ont de nombreuses applications dans les industries des détergents, des produits alimentaires, des procédés oléochimiques, ainsi que dans les domaines pharmaceutiques (Schmid et Verger, 1998). Comme les : *Amycolatopsis mediterranei*, *Streptomyces halstedii*.

2.4.4 Chitinases

Les chitinases ont une action antagoniste la plus efficace dans le contrôle de certaines maladies fongiques (Macagnan *et al.*, 2008) telle que : *Actinoplanes philippinensis*,

A. missouriensis, et *S. clavuligerus*

2.4.5 Amylase

Les enzymes amylolytiques produisant par *Streptomyces albus*, *Streptomyces aureofaciens* et *Streptomyces griseus* jouent un rôle majeur dans les applications biotechnologiques telles que l'industrie agro-alimentaire, la fermentation et les industries du textile et du papier (Pandey *et al.*, 2000).

2.4.6 Kératinases

Ces enzymes sont principalement utilisées pour l'hydrolyse de la kératine qui produit par les *Thermoactinomyces candidus*.

2.5 Résistance des actinomycètes aux métaux lourds

Les métaux lourds tels que le zinc, le cadmium, le cuivre, le chrome, le fer et le plomb sont présents de façon naturelle dans les sols. Ils proviennent en grande partie de l'altération de la roche mère. Toutefois, les concentrations les plus importantes de métaux lourds dans les sols sont liées à l'activité humaine : stockage de déchets industriels et urbains ; pollution dues à des retombées atmosphérique (Belanger, 2009).

Généralement, les métaux lourds se trouvent sous forme de traces ayant une densité supérieure à 6 g/cm³. Ils sont indispensables pour les réactions métaboliques et fonctionnent d'ordinaire comme un centre coordinateur de la structure et de la stabilité des enzymes et des protéines (Behrouz, 1995). Mais ils sont considérés aussi comme éléments toxiques à des concentrations élevées (Monchy, 2007).

Pour minimiser les risques des métaux lourds, différents processus ont été mis en place y compris le traitement biologique qui, consiste à utiliser des microorganismes ayant une résistance vis-à-vis des métaux lourds (Hamedi *et al.*, 2015).

Plusieurs études ont montré l'efficacité de certaines souches d'actinomycètes telle que *Streptomyces albus* et *Arthrobacter nicotianae* dans le traitement biologique et l'élimination des métaux lourds (Hozzein *et al.*, 2012).

Parie II

Partie Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et Méthodes

3.1 Echantillonnage du sol

Notre étude est basée sur trois types d'échantillons du sol aride du Sahara Algérien qui ont été prélevés à partir de trois régions différents (Illizi, Touggourt, Tindouf).

Le prélèvement est effectué selon la technique de Pochon et Tardieux (1962) : à l'aide d'une grande spatule stérile, les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés, on prélève alors notre échantillon dans la couche sous-jacente (entre 5 et 15, jusqu'à 30 centimètres de profondeur) tout en écartant les gros débris (pierres, racines, etc.). Les échantillons sont ensuite transportés et stockés dans des bacs en plastique hermétique, étiquetés et stockés à 4°C jusqu'à l'analyse (Mokrane et al., 2020).

3.2 Matériel biologiques (souches cibles)

Les souches bactériennes référentielles utilisées sont des espèces Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*).

La souche fongique utilisée est la levure (*Candida albicans*).

3.3 Matériel utilisés, Milieux de culture

Le matériel utilisés, les milieux de culture et leurs compositions sont donnés au fur et à mesure dans la partie des méthodes.

3.4 Isolement à partir du sol

Un échantillon de 1 gramme de sol étudié est pesé ensuite mélangé dans un tube contenant 9ml d'eau distillée stérile, la suspension ainsi obtenue est ensuite agitée vigoureusement durant 4 à 5 minutes au Vortex, le mélange est laissé sédimenté quelques minutes, on prend 100µL de surnageant, et étalés sur la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture Amidon caséine Agar (annexe 1) (Robert. S et al., 1962).

L'isolement des actinomycètes est réalisé sur des milieux de cultures sélectifs (exp : milieu amidon-caséine) qui favorisent la croissance des microorganismes particuliers (Delarras, 2014).

3.5 Caractérisation des actinomycètes

3.5.1 Caractérisations macroscopiques

L'aspect macroscopique et les caractères cultureux sont mis en évidence après culture des isolats d'actinomycètes sur le milieu amidon-caséine.

Les critères sont d'ordre macroscopique ; il s'agit de : la forme générale des colonies, leur taille, leur consistance, la couleur du mycélium végétatif et du mycélium aérien, la diffusion ou non de pigments dans le milieu, la couleur des pigments diffusables.

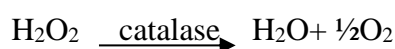
3.5.2 Caractérisations microscopiques

Les isolats d'actinomycètes sont observés au microscope optique après une coloration de Gram (Annexe 2). Examiné à immersion (à l'objectif $\times 100$).

Cet examen microscopique, nous permet de déterminer quelques propriétés morphologiques des Actinomycètes, concernant le type de Gram et des indications sur leurs formes des filaments et absence ou présence de spores isolées (William *et al.*, 2010).

3.6 Test catalase

Cette enzyme permet la dégradation du H_2O_2 qui résulte de l'oxydation par l'oxygène de l'air selon l'équation suivante :



Une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame en présence d'un échantillon d'isolat.

Si le test est positif un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulle traduit la décomposition de dioxygène, s'il n'y a pas de bulles le test catalase est négatif (Delarras. C *et al.*, 2007 ; F. Denis *et al.*, 2007).

3.7 Conservation des souches

Les souches pures obtenues après purification, par repiquage successif sur le milieu amidon-caséine, sont conservées par ensemencement dans des tubes de gélose incliné de même milieu, ensuite on les incube à $30^\circ C$ pendant 7 jours. Après croissance et apparition des souches, les tubes sont retirés de l'étuve et conservés à $4^\circ C$ pour assurer la viabilité du matériel biologique et mettre en place des procédures permettant la gestion de nombreux d'échantillons (C. heraud *et al.*, 2010 ; F. Denis *et al.*, 2007).

3.8 Mise en évidence des activités enzymatiques

Standardisation de l'inoculum des bactéries

Tous les tests suivants sont réalisés à partir du même inoculum préparé comme suivant :

Les souches d'actinomycètes sont mises en culture sur gélose Amidon caséine de 4-7 jours à $30^\circ C$, Après incubation, quelques colonies d'actinomycètes sont diluées dans 10 ml d'eau distillée stérile pour l'obtention d'une suspension bactérienne.

Cette suspension est ajustée à une valeur de densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 600 nm correspondant à 10^7 cellules/ml

3.8.1 Recherche de l'amylase

Ce test est réalisé sur le milieu : ISP9 additionné d'une concentration d'amidon de 1 à 2 %. L'ensemencement est fait à partir d'inoculum d'actinomycètes par strie et incubé à 30°C pendant 7-10 jours (dos Santos *et al.*, 2012 ; Khwaja *et al.*, 2011).

Après incubation, l'hydrolyse de l'amidon est mise en évidence par l'inondation des boîtes avec une solution de Lugol. Les zones contenant l'amidon se colorent en brun, les souches à halo clair sont considérées comme productrices d'amylases. Le diamètre des zones d'hydrolyse est pris en considération pour la sélection de la souche amylolytique la plus performante (Tatsinkou *et al.*, 2005 ; Boudemagh, 2007 ; Haritha *et al.*, 2010).

3.8.2 Recherche de la caséinase

Les inoculums des souches d'actinomycètes sont ensemencés sur un milieu gélosé ISP9 contenant 1-2 % de la caséine puis incubé à 30°C pendant 4-7 jours. L'apparition d'une auréole claire autour des colonies indique la dégradation de la caséine (Raval *et al.*, 2012 ; Roy *et al.*, 2014).

3.8.3 Recherche de la pectinase

Pour tester l'activité pectinolytique, nous avons utilisé le milieu gélosé ISP9 additionné de 1 % de pectine. L'ensemencement se fait par des stries de chaque inoculum de la souche à tester, puis les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 4-7 jours (Priyanka, 2019 ; Saleh ghamari *et al.*, 2010). Les colonies produisant de la pectinase montrent des zones claires par contre une couleur opaque du milieu non hydrolysé indique un résultat négatif (Saoudi *et al.*, 2015 ; Das *et al.*, 2012).

3.8.4 Recherche de la gélatinase

Ce test a été réalisé sur un milieu gélosé ISP9 additionnée de 1-2 % de la gélatine selon la méthode de Williams et Gross (1971). L'ensemencement de chaque inoculum de souche à tester se fait par des stries suivies d'une incubées à 30 °C pendant 4-7 jours. La dégradation de la gélatine se manifeste par l'apparition d'une auréole claire autour des colonies (R. Rizvi *et al.*, 2013).

3.9 Recherche de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes est mise en évidence par deux méthodes : les stries croisées et la méthode des puits.

Une suspension microbienne est obtenue par dilution dans 10 ml d'eau distillée stérile de quelques colonies, pour chaque espèce cible (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*,

Candida albicans), d'une culture de 24-48 heures à 37°C sur milieu favorable agar nutritif. Cette suspension est ajustée à une valeur de densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 620 nm, correspondant.

3.9.1 Recherche de l'activité antimicrobienne par méthode des stries croisées

Cette méthode consiste à ensemercer les isolats d'actinomycètes par des traits dans un tiers de la surface du milieu solide ISP2. Les boîtes sont incubées pendant 7 jours à 30°C. Ensuite, chaque espèce cible (*E. coli*, *staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) en suspension, sera ensemercée par une strie croisée perpendiculaire à celle des actinomycètes. L'incubation est faite à 37 °C pendant 24 heures. (Aouiche *et al.*, 2012).

Nous avons ensemençé trois espèces cibles par boîte de pétri qui contient une souche d'actinomycète.

Après l'incubation, un résultat positif ; c'est à dire présence d'une activité antimicrobienne, qui se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition (absence de la croissance de la souche cible). Les diamètres d'inhibition sont mesurés à l'aide d'une règle graduée.

L'absence de zones d'inhibition claires (présence de la croissance de la souche cible) indique un résultat négatif.

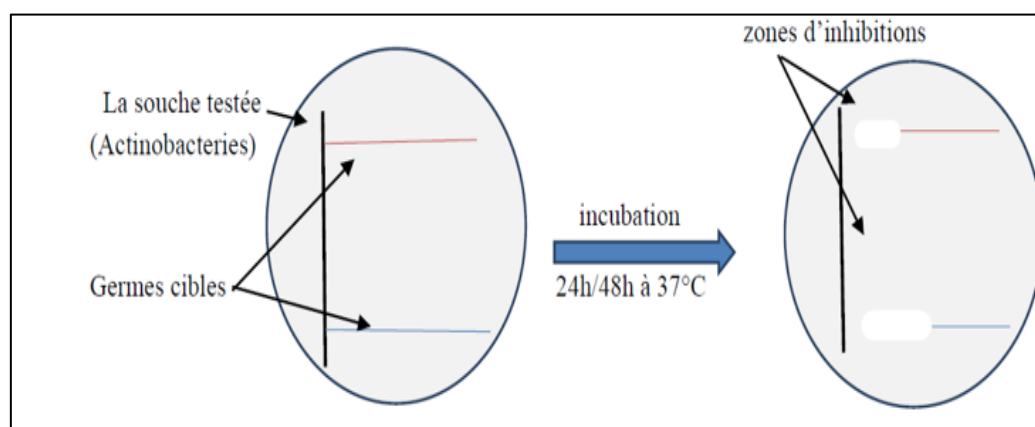


Figure 4 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne sur milieu solide ISP2 par la technique des stries croisées.

3.9.2 Recherche de l'activité antimicrobienne en milieu liquide par méthode des puits

Les souches d'actinomycètes sont mises en culture dans 10 ml du bouillon ISP2 (Lechevalier *et al.*, 1986 ; Hulya *et al.*, 2006) dans des tubes à essais, puis incubées 7-14 jours à 28±1°C avec agitation (nous avons utilisé bain marie avec agitation, en mettant les tubes en

position dans un état incliné), les cultures ont été arrêtées, après une centrifugation à 5500rpm pendant 15 minutes, les surnageants brutes de chaque souche sont obtenus.

Des puits de 6 mm de diamètre sont creusés dans des boîtes (de trois répétition) de milieu Mueller Hinton ensuite ensemencés (par écouvillonnage) avec le germe cible, 50 μ L de surnageant brut de chaque souche d'actinomycète est déposé dans chaque puits. Les boîtes de Pétri sont incubées à $37\pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 h. La lecture des résultats s'effectue en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des puits. Le test est illustré dans la figure (5) (Lemriss *et al.*, 2003 ; Valanarasu *et al.*, 2010).

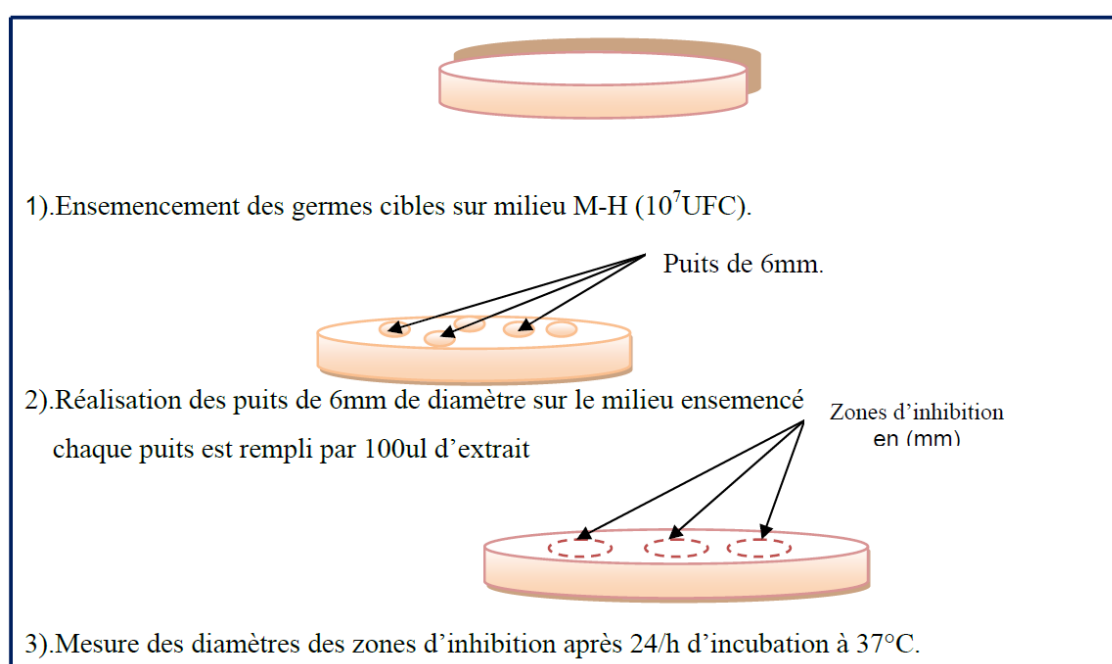


Figure 5 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode des puits.

3.10 Etude la résistance des souches aux métaux lourds

Afin d'étudier la résistance ou la sensibilité des isolats aux métaux lourds, les souches isolées sont ensemencées sur des milieux de culture gélose Amidon-caséine additionnés de différentes concentrations des métaux lourds sous forme de sels hydrosolubles suivant (Daboor *et al.*, 2014) :

- Sulfate de Zinc ($\text{Zn SO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}$) : 200, 400, 600 $\mu\text{g/ml}$;
- Sulfate de Cuivre ($\text{Cu SO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$) : 25, 50, 70 $\mu\text{g/ml}$;
- Chlorure de mercure (HgCl_2) : 10, 15, 20, 25 $\mu\text{g/ml}$.

Puis couler dans des boites pétries et inoculé par les souches à tester avec anse de platine en spot (Imen C. Fatnassi et *al.*, 2014).

L'appréciation de la résistance ou de la sensibilité des isolats testes vis-à-vis des métaux lourds est traduite par la croissance ou non des souches sur les milieux respectifs.

Chapitre 4

Résultats et Discussion

Dans ce chapitre nous allons présenter et discuter les résultats obtenus dans les quatre parties de cette étude : les caractères macro et microscopiques des souches d'actinomycètes isolées, leurs capacités à dégradé des composées complexes et leurs activités antimicrobiennes vis à vis des souches cibles et en fin la sensibilité de nos souches aux métaux lourds.

4.1 Caractérisation macroscopique

Les caractéristiques morphologiques et culturales des souches d'actinomycètes sont étudiées par l'ensemencement de ces dernières dans milieux de culture amidon-caséine.

Après l'isolement et la purification de 18 souches bactériennes provenant de trois sols différents on a pu retenir que 9 souches qui sont : Iliz1, Iliz3, Iliz4, Iliz5, Tt1, Tt2, Tf 1, Tf 2, Tf 3 pour la réalisation de cette étude.

Des repiquages successifs de ces 9 souches sur le milieu de culture amidon caséine ont été effectués. Après incubation à 30 °C pendant 21 jours. Différents caractères macroscopiques à savoir : l'aspect et la couleur des colonies et la production de pigmentation, rassemblés dans le tableau 05 et illustrés par la Figure 6.

Tableau 5 : Caractéristiques culturales des isolats d'actinomycètes sur milieu Amidon-caséine.

	Couleur de colonie	Pigmentation	Spore	Aspect de la colonie
Iliz 1	Beige	Beige	+	Plate poudreuse
Iliz 3	Beige	Blanc	+	Légèrement rugueuse poudreuse
Iliz 4	Blanc	Vert	+	Légèrement rugueuse poudreuse
Iliz 5	Violet	Rose violacé	+	Légèrement élevée poudreuse
Tt 1	Gris	Beige Marron	+	Rugueuse élevée en chou-fleur
Tt 2	Gris verdâtre	Gris	+	Légèrement rugueuse poudreuse
Tf 1	Beige	Beige	+	Rugueuse légèrement élevée en chou-fleur
Tf 2	Blanc	Beige	+	Plate poudreuse
Tf 3	Beige	Beige	+	Elevée rugueuse

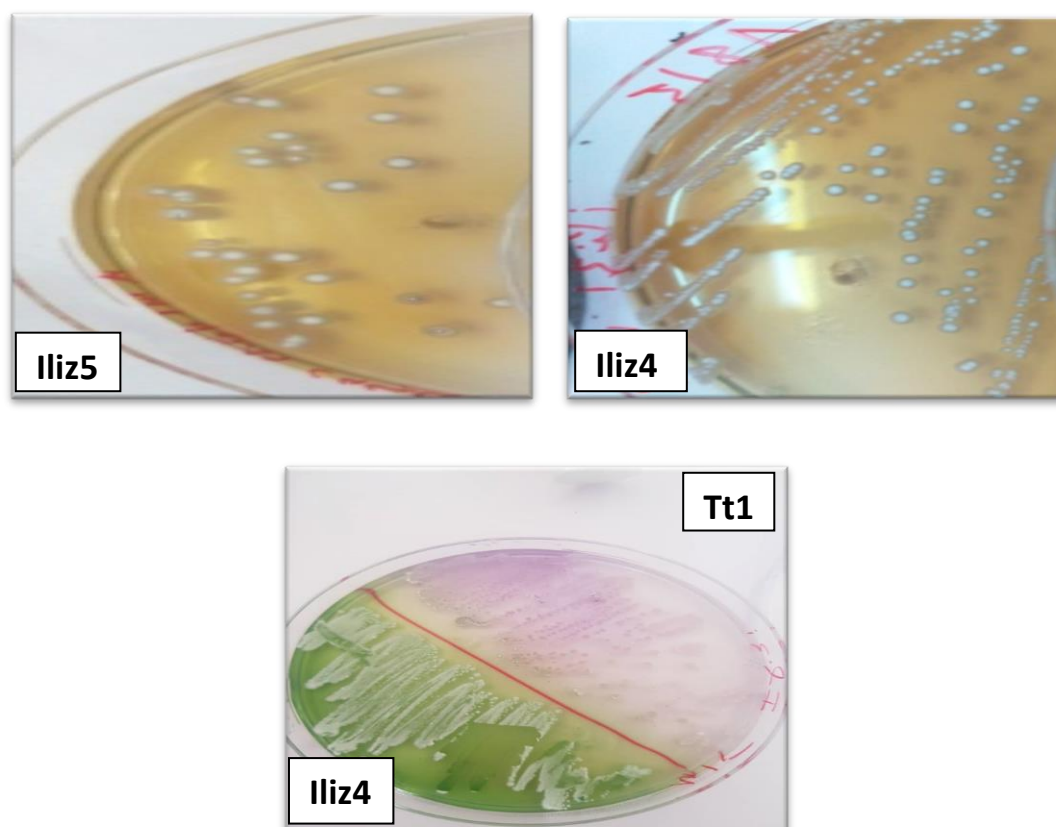


Figure 6 : Aspect macroscopique de quelque souche après l'isolement et plusieurs repiquages sur milieu Amidon caséine agar

D'après le tableau 05 et la figure 6, les isolats des actinomycètes montrent un aspect morphologique très caractéristique. La croissance des actinomycètes est plus lente que celle des autres bactéries ; le temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures (Ottow et Glathe, 1968 ; Larpent et Sanglier, 1989), pour tous les isolats, les premiers stades de la croissance après 3 à 4 jours consistent en l'apparition de colonies pâteuses avec production d'une odeur terreuse. Du 14^{ème} jour jusqu'au 21^{ème} jour d'incubation, la majorité des isolats donnent des colonies poudreuses, crayeuses ou granuleuses de différentes couleurs (blanc, beige, gris, gris verdâtre et violet), cet aspect est particulier pour les isolats développant un mycélium aérien et ce changement de couleurs correspond à la formation de spores sur les extrémités des hyphes aériens.

L'observation de l'envers de la colonie (dos de la boîte de Pétri) permet de déterminer la couleur du mycélium de substrat qui peut être (blanc, beige, vert, rose violacé, gris et beige marron).

Les colonies qu'ils forment sur milieux solides sont caractéristiques, elles résultent de l'accumulation des hyphes ramifiés. Le diamètre des colonies est de 1 à 4 mm. L'aspect des colonies est compact, sec, lisse ou rugueux en chou-fleur à bordures lisse ou échancré. Elles sont fréquemment pigmentées en blanc, crème, jaune, violet, rose, gris (Perry *et al.*, 2004), ce qui confirme les résultats constatés et mentionnés le tableau 05.

Selon Shirling et Gottlieb (1976), l'identification des actinomycètes repose en grande partie sur les caractéristiques morphologiques qui sont considérées comme des propriétés stables. Les actinomycètes sont reconnus par leur aspect morphologique caractéristique, colonies ancrées dans la gélose apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, de taille moyenne, poudreuses, régulières ou non, aplaties ou bombées, avec un mycélium moyen aérien et végétatif en général, certains d'entre eux montrent seulement un mycélium de substrat (Boudemagh *et al.*, 2005).

4.2 Résultat de la coloration de Gram

Les résultats de la coloration de Gram de quelques souches sont montrés dans la figure 7

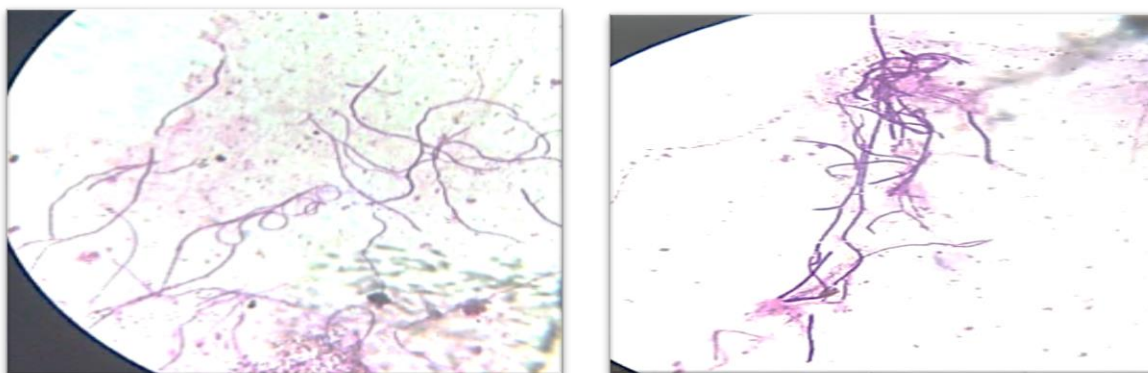


Figure 7 : Aspect microscopique de quelques souches après coloration de Gram (Gx100).

L'observation microscopique, de nos isolats après coloration différentielle de Gram, a révélé que ces espèces sont des bactéries Gram positif, possédant une forme filamenteuse fines ramifiées. Les résultats obtenus par Zerizer *et al.* (2006) et Djaballah (2010), Boudjella (2007) montrent que l'observation microscopique des Actinobactéries présentent un aspect filamenteux avec existence des spores isolés ou en amas, spécialement les Streptomycètes qui appartiennent au groupe des bactéries à coloration de Gram positive (Kitouni, 2007).

L'étude des caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques des souches actinomycétales, les colorations cellulaires, les caractéristiques biochimiques et physiologiques

sont d'une grande importance dans la détermination des genres d'actinomycètes avec une plus grande précision (Boiron *et al.*, 1993 ; Carlotti *et al.*, 1994).

D'après, Palaniyandi (2013), les couleurs des mycéliums aériens des actinomycètes sont différents de celles des substrats et la plupart ont une couleur blanchâtre et d'autres ont des couleurs différentes comme gris, beige, noir, marron, vert, jaune, ce qui confirme les résultats constatés (fig 6).

Selon Holt *et al.* (1994), Cheriet *et al.* (2015), le mycélium aérien des actinomycètes *est* bien développé, ramifié, non fragmenté, portant des spores ou des vésicules globuleuses et sphériques contenant des spores et que les actinomycètes sont à Gram positif. Ces observations confirment que les différentes souches sont du genre *Streptomyces sp.*

4.3 Résultat de test catalase

L'examen de la recherche de catalase, montre un résultat positif. L'apparition de bulles d'air signifie la présence de catalase. Tous les isolats des actinomycètes sont catalase positive (Tableau 6). Ces derniers présentent une oxydoréductase qui catalyse la réaction du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en eau et dioxygène O₂. Les mêmes résultats sont obtenus par les chercheurs Boulahrouf (2016) et Maameri (2007).

Tableau 6 : Les résultats des tests catalase.

Enzyme Isolats	Catalase
Iliz1	+
Iliz3	+
Iliz 4	+
Iliz 5	+
Tt1	+
Tt2	+
Tf 1	+
Tf 2	+
Tf 3	+

4.3 Mise en évidence des activités enzymatiques

4.3.1 Recherche de l'amylase

Les amylases des actinomycètes sont des enzymes extracellulaires thermostables peuvent être utilisé dans l'industrie pharmaceutique, la boulangerie, du papier et de la pâte (Mukhtar *et al.*, 2017).

Les résultats de ce test apparaissent généralement après de 7 jours sur un milieu à base d'amidon. L'hydrolyse d'amidon est témoinnée après addition du lugol par l'apparition d'une zone claire autour des colonies indique la dégradation de l'amidon, alors que l'apparition d'une couleur brune du milieu notifie que l'amidon n'a pas été hydrolysé (Santos *et al.*, 2012), ce qui correspond au nos résultats illustrés dans la figure 8.

Les résultats des études menées pour rechercher de l'activité amylase rapportés par Khwaja *et al.* (2011) et Janaki (2017) montrent que plusieurs espèces d'actinomycètes comme les *Streptomyces limosus* et *Thermomonospora curvata* et *Thermomonospora viridis* ont été révéler comme une source puissante d'enzyme d'amylase.

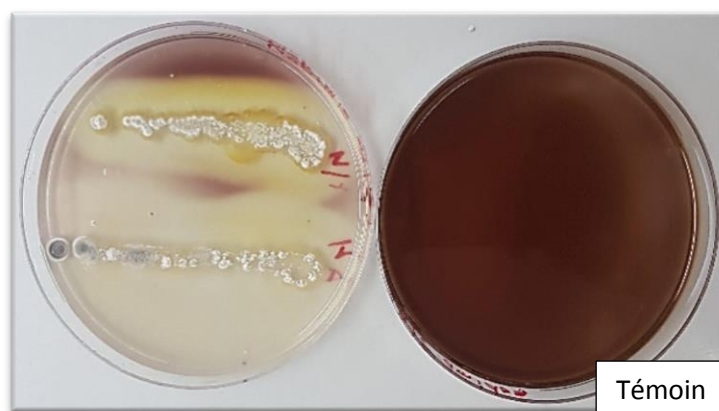


Figure 8 : Test d'hydrolyse de l'amidon est positif pour les isolats des actinomycètes

4.3.2 Recherche de la pectinase

Après incubation aux conditions favorables, la lecture des résultats s'effectue par l'apparition d'une zone claire autour des colonies montre la présence d'une activité pectinolytique (Ladjama *et al.*, 2007).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Praveenkumar et suneeth (2015), dont la production des enzymes pectinolytiques a été mise en évidence chez quelques genres d'actinomycètes tel que : *Micromonospora*, *Microbispora*, *Actinoplanes*, *Streptosporangium* et *Streptomyces*.

Ces enzymes sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour l'extraction et clarification des vins, jus, huiles, composés aromatisants et industrie de textile pour la préparation de tissus de lin et la fabrication de chanvre (Saoudi *et al.*, 2006 ; Saoudi *et al.*, 2015).

4.3.3 Recherche de protéase (caséinase)

Autour de chaque souche des isolats testés après une incubation de 7 jours à une température de 28 à 30°C, on remarque la présence d'un halo claire autour de la culture signifie

que ces souches sont à protéase positive (tab.7 et fig. 9) (Ara *et al.*, 2012). Cette dégradation de caséine est due à des synthèses extracellulaires des caséinases des différents isolats dans le milieu caséine-amidon.

La présence de ces zones claires signifie que la caséine présente dans le milieu de culture a été hydrolysée par les enzymes des souches *Streptomyces*. Plusieurs travaux réalisés sur les actinomycètes prouvent que la plupart de ses souches peuvent hydrolyser les caséines du lait (Mihaela *et al.*, 2011 ; Palaniyandi *et al.*, 2013).

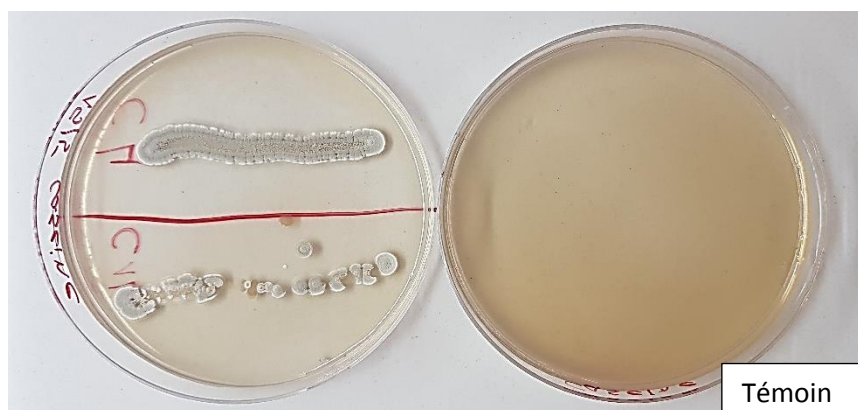


Figure 9 : Test d'hydrolyse de la caséine est positif pour les isolats des actinomycètes

Les protéases des Actinobactéries comme *Streptomyces sp* peuvent être utilisées dans le traitement de différents déchets agroindustriels comme les plumes, les ongles, les cheveux et les déchets végétaux. Les protéases produites par *Nocardioopsis spp* sont connues comme des enzymes industrielles importantes et ont le potentiel d'être largement utilisées dans les industries de cuir, pâtisserie, textile, détergent, brasserie, fromage et épilation.

4.3.4 Recherche de la gélatinase

Les résultats obtenus sont positifs, la gélatine du milieu a été dégradée par la gélatinase sécrétée par toutes les souches des actinomycètes. Des zones larges claires autour des cultures reflètent une bonne dégradation de la gélatine. Les diamètres de ces zones varient selon l'espèce des actinomycètes (tab.7 et fig. 10).

Ces résultats ressemblent aux résultats des travaux de Boulahrouf (2016) sur le sol de Sebkhia et le travail de Messaoudi (2013) sur le sol forestier de Bechar qui confirment les capacités de genre *Streptomyces sp* à dégrader certains substrats et déchets. (Bergey, 2012).

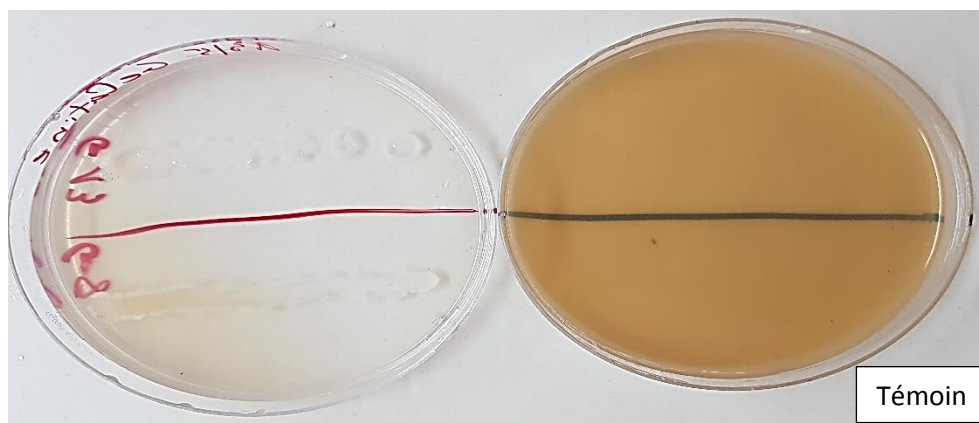


Figure 10 : Test d'hydrolyse de la gélatine est positif pour les isolats des actinomycètes

Les résultats des tests des activités enzymatiques sont affichés dans le tableau 07 :

Tableau 7 : Les résultats des tests des activités enzymatiques des isolats.

Enzyme Isolats	Amylase	Caséinase	Gélatinase	Péctinase
Iliz1	+	+	+	+
Iliz3	+	+	+	+
Iliz 4	+	+	+	+
Iliz 5	+	+	+	+
Tt1	+	+	+	+
Tt2	+	+	+	+
Tf 1	+	+	+	+
Tf 2	+	+	+	+
Tf 3	+	+	+	+

(+) : test positif, présence d'enzyme chez les souches. (-) : test négatif, absence d'enzyme chez les souches.

Les processus de dépistage systématique de la diversité microbienne ont permis d'identifier un grand nombre d'Actinobactéries (R. Sathya, T. Ushadevi 2014). Nos souches ont été obtenus à partir de différents sols aride (Illizi, Tindouf, Touggourt) elles ont donné les résultats présentes dans le tableau 7 qui expriment que ces souches possèdent une grande capacité d'activité enzymatique telle que les quatre enzymes étudiées. Ces données sont pertinentes avec la plupart de recherche sur l'activité enzymatique des Actinobactéries.

4.4 Résultat de recherche de l'activité antimicrobienne

4.4.1 Méthode des stries croisées

Le spectre d'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes a été recherché par la méthode des stries croisées vis-à-vis une souche de bactéries à Gram positif (*S. aureus*) et une souche bactérienne à Gram négatif (*E. coli*), et une levure (*Candida albicans*). Les résultats obtenus après incubation à 30°C pendant 24h à 48h pour les bactéries et la levure, permet d'indiquer la présence ou non d'activité antimicrobiennes contre les germes cibles.

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 11 et tableau 08



Figure11 : Résultats d'activité antimicrobienne *technique striée croisée*

Tableau 8 : Résultat de test antimicrobienne * Méthode stries croisé*

Bactérie cible Isolats	<i>Candida albicans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Iliz1	04 mm	08 mm	+
Iliz3	13 mm	08 mm	12 mm
Iliz 4	+	05 mm	+
Iliz 5	+	35 mm	+

Tt1	10 mm	25 mm	+
Tt2	+	15 mm	+
Tf 1	+	10 mm	22 mm
Tf 2	+	-	+
Tf 3	-	-	07 mm

(...mm) : distance d'inhibition de la croissance bactérienne cible.

(+) : inhibition totale de la croissance bactérienne cible.

(-) : aucun inhibition (croissance bactérienne cible).

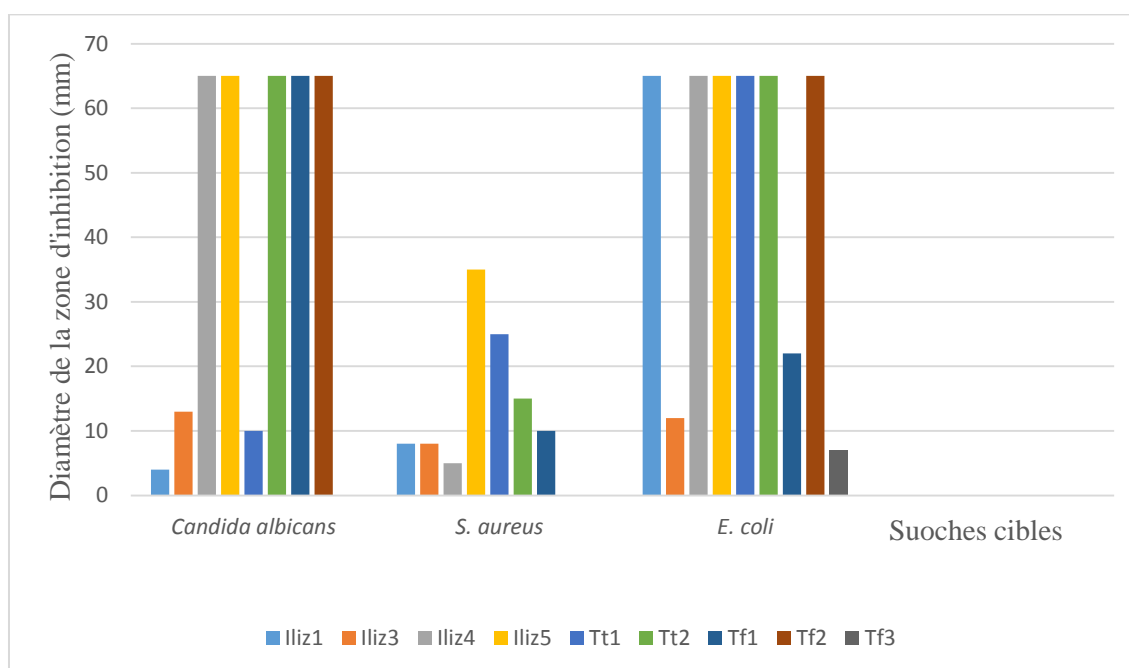


Figure 12 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes sur les bactéries-tests par la technique des stries croisées

Les résultats obtenus montrent une activité antimicrobienne importante vis-à-vis les microorganismes testés par la méthode des stries croisées.

D'après les informations illustrées dans la Figures 12, les résultats obtenus indiquent que 100% de nos isolats présente une activité antibactérienne contre *E. coli*, tandis que parmi les 09 isolats obtenus, on a relevé que 77,77% (soit 7 isolats) produits des substances antibactériennes contre la bactérie Gram positif *Staphylococcus aureus*, alors que 88,88% (8 isolats) ont montré une activité antimicrobienne vis-à-vis *Candida albicans*.

Tous les isolats semblent actifs envers au moins un microorganisme-test avec des zones d'inhibition variables de 4 à 35 mm de diamètre ou une zone d'inhibition totale, sur le même milieu de culture.

Les isolats Iliz1, Iliz3 montrent une activité antifongique faible contre *C. albicans* avec des zones d'inhibition de 4 et 8 mm respectivement et une activité antibactérienne aussi faible vis-à-vis de *S. aureus* avec une même zone d'inhibition de 8 mm, par contre l'isolat Iliz1 a une activité antibactérienne importante vis-à-vis *E. coli* avec une zone d'inhibition totale (absence totale de croissance bactérienne) tel que l'isolat Iliz3 avec une zone de 12 mm de diamètre.

Par ailleurs, les isolats Iliz4, Iliz5 montrent une activité antifongique contre *C. albicans* et une activité antibactérienne vis-à-vis de *E. coli* très importante avec une zone d'inhibition totale, mais l'isolat Iliz4 montre une activité antibactérienne faible vis-à-vis *S. aureus* avec un diamètre de 5mm, tandis que l'isolat Iliz5 montre la plus grande zone d'inhibition (35 mm) contre *S. aureus*.

L'isolat Tt1 a présenté un potentiel antifongique faible contre *C. albicans* avec une zone d'inhibition de 10 mm, tandis que l'isolat Tt2 a présenté un potentiel antifongique important contre la même levure *C. albicans* avec une zone d'inhibition totale. Les mêmes isolats montrent une activité antibactérienne moyenne vis-à-vis de *S. aureus* avec une zone d'inhibition 25, 15 mm respectivement et une inhibition totale par les deux isolats contre *E. coli*.

Les derniers isolats Tf1, Tf2 ont montré une activité antifongique importante contre *C. albicans* avec une zone d'inhibition totale, mais une absence d'activité d'inhibition pour l'isolat Tf3, Pour l'activité antibactérienne vis-à-vis de *S. aureus* seulement l'isolat Tf1 qui montre une zone de 10 mm tandis que les deux autres isolats aucune activité n'a été déterminée.

Concernant l'activité antibactérienne vis-à-vis de *E. coli*, les trois isolats Tf1, Tf2, Tf3 présentent un diamètre variable (22mm, inhibition totale et 7mm) respectivement.

À partir des 09 isolats d'Actinobactéries obtenus, 6 isolats Iliz1, Iliz4, Iliz5, Tt1, Tt2, Tf2 ont montré une forte activité antibactérienne (inhibition totale) contre la bactérie Gram négatif *E. coli*. Par contre, pour la bactérie cible Gram positif *Staphylococcus aureus* l'activité antibactériennes été faible. Ces résultats ne correspondent pas avec les travaux de Mellouk et al ; 2016 ; qui montre que l'isolat *Streptomyces sp* TA4 est fortement active contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) avec des diamètres d'inhibition de 40 et 32 mm, respectivement alors qu'aucune activité n'est enregistrée contre les bactéries à Gram négatif.

Dans le même sens, les résultats de Fortas *et al.* (2017) ; Aouiche *et al.* (2012) ; Belghit *et al.* (2016) ; Khebizi *et al.* (2018) (Badji *et al.* (2006) montrent que toutes les souches isolées d'actinomycètes ont une grande activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, Par contre nos résultats montrent une activité antimicrobienne presque faible contre *Staphylococcus aureus*.

Nos résultats sont semblables avec ceux obtenus par Fortas *et al.* (2017) ; Aouiche *et al.* (2012) et Badji *et al.* (2006) qui montrent que 71% des souches testées ont une activité antimicrobienne contre *Escherichia coli*.

Nos résultats sont parfaitement cohérents avec ceux obtenu par Fortas *et al.* (2017) ; Belghit *et al.* (2016) et Badji *et al.* (2006) qui montrent que 57% des souches ont une activité antimicrobienne contre *Candida albicans*. Ainsi que, Aouiche *et al.* (2012) ; Khebizi *et al.* (2018) et Badji *et al.* (2006) indiquant que 42% des souches n'ont pas une activité antimicrobienne contre *Candida albicans*.

En effet, Aouiche (2012) a montré dans une étude qu'un isolat *Streptomyces sp* possède une activité antimicrobienne importante sur les bactéries (*Staphylococcus aureus* =10 mm ; *E. coli* = 20 mm) et un seul champignon *Candida albicans* d'une zone d'inhibition entre 7 à 13 mm.

Des résultats similaires ont été rapportés par Loucif (2011) indiquant que l'activité antimicrobienne se diffère d'une souche Actinobactéries à l'autre d'une part, et d'autre part, pour la même souche d'Actinobactéries contre les différentes souches cibles.

Selon Srivibool et Sukchotiratana (2006), les résultats obtenus sont semblables, et illustrent que l'absence d'activité antibactérienne ou antifongique n'indique pas forcément que la substance est absente ou pas assez active, mais cela peut être dû à une mauvaise diffusion de celle-ci, dans le milieu, car n'étant pas polaire ou bien constituée de composés non polaires.

D'autre part, Boughachiche *et al.* (2005) et Boudemagh *et al.* (2005), expliquent que les variations des zones d'inhibition sont dues au fait qu'une souche d'Actinobactéries peut constituer plusieurs molécules antimicrobiennes (différents spectres d'action) dont la nature dépend de la composition du milieu de culture.

D'ailleurs les différences en composition de la paroi entre les bactéries Gram positive et négative peuvent être responsables de leurs différences de sensibilité. En effet, les bactéries Gram négative portent dans leurs membranes externes des sucres de nature

lipopolysaccharidique (LPS) ce qui rend leurs parois imperméables au passage des solutés lipophiles, contrairement aux bactéries à coloration de Gram positif qui ont une paroi tapissée uniquement par le peptidoglycane qui n'est pas une barrière efficace (Sateesh *et al.*, 2011).

C'est probablement la structure de la paroi cellulaire, constituée principalement de peptidoglycane, qui rend de groupe de bactérie à Gram positif plus sensible aux extraits. Par contre la paroi des bactéries à Gram négatif est formée d'une couche externe composée d'un complexe lipopolysaccharides, des phospholipides et des protéines. Cette couche est une barrière sélective ce qui les rend moins vulnérables aux extraits que les bactéries à Gram positif (Kim *et al.*, 1994 ; Sateesh *et al.*, 2011 et Singh *et al.*, 2016). Plusieurs chercheurs ont aussi observé une résistance remarquable des bactéries à Gram négatif par rapport à leur homologues bactéries Gram positif (Ullah *et al.*, 2012).

4.4.2 Méthode des puits

Sur la base des résultats précédents, obtenus sur milieu gélosé (strie croisée), nous avons retenu les 9 souches d'actinomycètes ayant montré des activités intéressantes vis-à-vis des trois germes cibles utilisés dans le but de confirmer la capacité de ces souches à produire des antibiotiques en appliquant une autre méthode.

Après culture d'Actinobactéries sur milieux ISP2 liquide au bout de 10 jours d'incubations les cultures ont été arrêtées, après une centrifugation à 5500rpm, les surnageant brutes de chaque souche sont obtenus et ces derniers ont été testés vis-à-vis des trois germes cibles *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

La mesure des diamètres des zones d'inhibition est effectuée après 24 heures d'incubation à 37°C. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 13 et le tableau 9.



Figure 13 : Résultats d'activité antimicrobienne *méthode de puits*

Tableau 9 : Résultat de test antimicrobienne * Méthode des puits*

Bactérie cible Isolats	<i>Candida albicans</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	Iliz1	-	-	-	07mm	07mm	C	07mm	C
Iliz 3	03mm	-	-	08mm	08mm	08mm	07mm	07mm	07mm
Iliz 4	-	-	-	07mm	07mm	05mm	07mm	05mm	05mm
Iliz 5	-	01mm	-	02mm	02mm	C	12mm	15mm	15mm
Tt1	02mm	02mm	-	04mm	04mm	C	C	+	+
Tt2	01mm	01mm	-	06mm	06mm	C	C	+	+
Tf 1	05mm	05mm	05mm	04mm	04mm	C	+	+	C
Tf 2	03mm	03mm	03mm	05mm	03mm	C	+	+	C
Tf 3	-	-	-	03mm	03mm	C	+	+	C

(...mm) : diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne cible.

(+) : inhibition totale de la croissance bactérienne cible.

(-) : aucun inhibition (croissance bactérienne cible).

(C) : Contamination de la boîte de pétri.

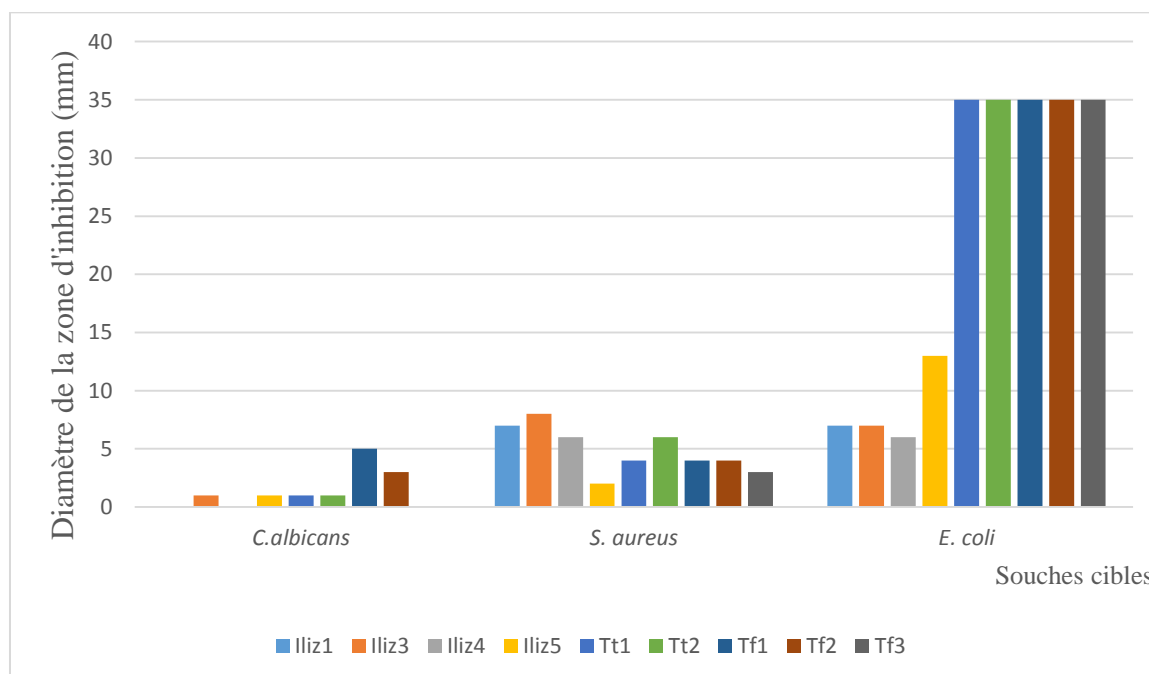


Figure 14 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes sur les bactéries-tests par la technique des puits

D'après les résultats obtenus illustrée dans les Figures 13,14 et le tableau 12, on constate un pourcentage de 100% de nos 9 isolats présente une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et *E. coli*, par contre seulement 66,66% (soit 6 isolats) montre une activité antifongique contre *Candida albicans*.

On remarque la présence d'une activité antibactérienne faible contre les bactéries à Gram positif (*S. aureus*) avec un diamètre compris entre (2 et 8 mm), tandis que contre les bactéries à Gram négatif (*E. coli*) nos isolats montrent une activité antibactérienne faible pour les isolats Iliz1, Iliz3, Iliz4, Iliz5 avec une zone d'inhibition de 5 à 15 mm, et une activité antibactérienne importante pour les restes isolats Tt1, Tt2, Tf1, Tf2, Tf3 avec une zone d'inhibition totale.

La souche cible *Candida albicans* est résistante par rapport aux 9 isolats d'actinomycètes soit par l'absence d'inhibition pour les isolats Iliz1, Iliz3, Iliz4, Iliz5, Tf3 soit par un petit diamètre d'inhibition compris entre 1 et 5 mm pour les restes isolats.

Nous remarquons clairement que l'activité d'inhibition des 9 souches en culture liquide est réduite ou perdue vis-à-vis des souches cible par rapport au milieu solide.

Ces résultats sont similaires à ceux rapporté par Nedialkova et Naidenova (2005) et Singh *et al.* (2006) qu'ont observé une réduction voire une absence d'activité en milieu liquide en comparaison avec celle observée par la culture en milieu solide.

D'autres résultats ont été rapporté indiquant que l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes n'apparaît que sur milieu solide (Valan Arasu *et al.*, 2008).

Les résultats de ce travail montrent aussi que l'activité antimicrobienne des isolats d'Actinobactéries testées dépend de la méthode utilisée ce qui concorde avec les travaux de Lemriss (2003) et Alharbi *et al.*, (2012), rapportant que la production des métabolites antibactériens est parfois influencée par la composition du milieu de culture et les conditions de cultures, tels que l'aération, agitations, pH, température d'incubation, la salinité, temps d'incubation, source de carbone et d'azotes, et cela varie d'un microorganisme à un autre.

Le potentiel antagoniste et inhibiteur des actinomycètes s'explique par que la capacité des actinomycètes à produire plusieurs et différentes molécules antimicrobiennes est en relation aux différences de composition et des concentrations de milieu de culture (ISP, Bennett... *etc.*) et selon le milieu de culture soit solide ou liquide et aux méthodes utilisé (puits, des disques, cylindre d'agar, doubles couches et stries croisées). Cette différence apparaît dans les résultats obtenus par les différents chercheurs.

Autres résultats ont montré que l'activité antibiotique des souches d'actinomycètes, pour lesquels les activités ont été rapportées uniquement sur milieux solides (Valan Arasu *et al.*, 2008). D'après Moncheva *et al.* (2002) cela peut probablement être dû à l'inadéquation du milieu de culture liquide utilisé pour la production d'antibiotiques. Selon les études menées sur la diversité des actinomycètes des sols sahariens, de nombreuses souches d'actinomycètes productrices des antibiotiques ont été isolées. Parmi les caractéristiques distinctes de ces souches, leurs aptitude à supporter les conditions halophiles (Saker *et al.*, 2015 ; Boudjelal *et al.*, 2015; Meklat *et al.*, 2012; Djinni, 2009).

Plusieurs résultats montrent que les actinomycètes producteurs d'antibiotiques sont isolés à partir des environnements extrêmes, comme exemple :

- Une nouvelle espèce *Saccharotrix algeriensis* NRLL B-24137 a été caractérisée. Cette espèce a été isolée de sol collecté de la palmeraie de l'oasis d'Adrar.

- *Streptomyces sannanensis*, une actinobactéries halophile et alcaliphile isolée à partir d'un sol de Phoomdi dans le lac Loktak Inde alcalin, produit un antibiotique puissant contre les bactéries à Gram positif (Singh *et al.*, 2006).

4.5 Etude de la résistance ou la sensibilité aux métaux lourds

Les 9 souches d'actinomycètes ont étéensemencées sur des milieux de culture à base d'agar nutritif (milieu amidon caséine) supplémenté des métaux lourds à différentes concentrations dans le but de mettre en évidence leur aptitude à se développer en présence de ces métaux lourds.

Cette étape a pour objectif la sélection des souches d'actinomycètes présentant une meilleure croissance sur les différents milieux de culture comportant les métaux lourds. Pour cela une observation quotidienne est réalisée après 3, 7 et 14 jours d'incubation à 30°C.

D'après les résultats obtenus, les neuf souches testées présentent une sensibilité vis-à-vis des 3 métaux lourds (cuivre, zinc, mercure) à différentes concentrations qui se traduit par une absence de croissance.

Les souches d'Actinomycètes notamment le genre *Streptomyces* ont été rapportés comme des bons candidats pour la bio remédiation des sols contaminés par les métaux lourds. Des recherches ont démontré que le genre *Streptomyces* est capable de résister en présence de concentration élevé de métaux lourds comme le Cadmium, le Mercure, le plomb, le nickel et le fer (Desale *et al.*, 2012) ainsi que le Cuivre (Maryan *et al.*, 2012). Les *Streptomyces* sont également démontrées comme espèces capable de bio remédier un sol contaminé par du métal

lourds Cr et de pesticides (Lindane) (Marta et *al.*, 2007 ; Aparicio et *al.*, 2015). Il s'est avéré que nos résultats ne corroborent pas ceux obtenus par ces auteurs. Cela pourrait s'expliquer par la qualité des métaux lourds disponibles au niveau du laboratoire.

Conclusion

L'objectif essentiel de ce travail était la mise en évidence des caractères phénotypiques des souches d'actinomycètes de sol aride (Illizi, Touggourt et Tindouf) et leur biodiversité métabolique (production des enzymes) et l'activité antimicrobienne des souches, et finalement la résistance de ces souches vis-à-vis métaux lourds.

L'étape d'isolement sur milieu en utilisant le milieu Amidon-Caséine, nous a permis d'obtenir un total de 9 souches. Après la sélection et la purification des souches d'actinomycètes sur le même milieu, les observations macro et microscopiques montrent que les actinomycètes ayant une forme filamenteuse, ses colonies ont des tailles différentes varie de 1 à 3 mm. Leurs formes sont variables : bombé, aplatie, possédant un mycélium aérien et de substrat de différentes couleurs selon la souche. Ils présentent des structures ramifiées, et une coloration de Gram positif.

D'après les résultats des tests enzymatiques, on peut conclure que nos isolats des actinomycètes du sol aride présentent une grande activité enzymatique, toutes les souches ont une activité amylolytique et protéolytique et sont capables d'hydrolyser la gélatine, de plus ces souches peuvent produit l'enzyme catalase et possèdent une activité pectinolytique.

L'activité antimicrobienne a été cherchée sur un milieu solide par la technique des stries croisées et la technique des puits sur un milieu liquide.

Après les tests des propriétés antagonistes de l'ensemble des 9 isolats d'actinomycètes en utilisant des méthodes de criblage : stries croisées sur un milieu de culture solide Muller-Hinton contre 2 souches de référence dont une bactérie à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et une autre à Gram négatif (*Escherichia coli*), et contre une levure (*Candida albicans*). Les résultats de l'activité antibactérienne indiquent que la plupart des isolats sont actifs sur les bactéries à Gram négatifs, que sur les bactéries à Gram positifs qui pourrait suggérer une action sur la synthèse des composants pariétaux. Aussi la moitié présente une forte activité contre *Candida albicans*. Ces résultats signifient que nos souches sont des actinomycètes possèdent des activités antimicrobiennes à large spectre contre des différentes bactéries pathogènes et levures.

La technique des stries croisées a donné un pourcentage plus important d'isolats actifs par rapport à la technique des puits. On pourrait donc supposer que la technique des stries croisées est une technique préliminaire pour l'étude de l'activité antimicrobienne surtout lorsqu'il s'agit d'une importante collection de souches à tester.

Enfin, l'activité antimicrobienne de ces isolats diffère entre les germes cibles utilisés et d'un isolat d'actinomycètes à un d'autre.

L'évaluation de la résistance ou de la sensibilité des 9 isolats d'actinomycètes obtenus à partir de différentes origines a été étudié sur le milieu de cultures solide Amidon-Caséine additionné de métaux lourds (Cuivre, Zinc, mercure) à différentes concentrations, les résultats obtenus affirment que l'ensemble des 9 isolats sont sensibles vis-à-vis aux concentrations testées.

Les perspectives de recherche consisteraient à :

- Elargir les zones et le nombre des échantillons dans régions sahariennes.
- Fait utilisée dans le domaine de la lutte biologique.
- Recherche et mise en évidence de l'activité insecticide.
- Séparation et purification des molécules antibiotiques produites
- Caractérisation des molécules actives des Actinobactéries testées,
- Compléter l'identification moléculaire des Actinobactéries testées,
- Tester la réduction d'autres métaux lourds par d'autres souches d'actinomycètes
- L'extraction et la purification des molécules antibactériennes,
- L'élargissement des tests antagonistes contre de nombreux germes pathogènes à l'Homme (bactéries ou champignon),

Références Bibliographiques

- **ABBAS I. H. (2006).** A biological and biochemical studies of Actinomycetes isolated from Kuwait saline soil-Kuwait. J. Appl. Sci. Res., 10 : 809-815.
- **Ait Barka Essaid, Parul Vatsa, Lisa Sanchez, Nathalie Gaveau-Vaillant, Cedric Jacquard, Hans-Peter Klenk, Christophe Clément, Yder Ouhdouch, Gilles P. van Wezel. (2016).** Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. Microbiol Mol Biol R. 1 :80
- **A. Malik,** Environ. Int., 30 (2004) 261.
- **Alharbi S. A; Arunachalam C; Murugan A. M; Wainwright M; (2012).** Antiba activity of actinomycetes isolated from terrestrial soil of Saudia Arabia. Journal of agriculture and environment. 2(10), 1093-1097.
- **Aouar Lamia (b).** Mise en évidence des actinomycètes aérobies pathogènes impliqués dans les infections traitées au service des maladies infectieuses du CHU de Constantine, Etude des caractéristiques culturelles des souches isolées et purifiées. Biochimie et microbiologie appliquées. Université Mentouri Constantine, 2006, 63 p
- **Aouiche, Adel and Sabaou, Nasseridine and Meklat, Atika and Zitouni, Abdelghani and Mathieu, Florence and Lerbrihi, Ahmed., (2012)** Activité antimicrobienne de *Streptomyces sp.* PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. Journal de Mycologie Médicale/ Journal of Medical Mycology., 22(1): 42-51.
- **AparicioJ., Sola M.Z.S., Benimeli C.S., Amoroso M.J. &Polti M.A. (2015).** Versality of *Streptomyces sp.* M7 to bioremediate soils co-contaminated with Cr (VI) and lindane. Ecotoxycology and Environmental Safety. 116:34-39
- **Ara I., Bukhari N.A ., Wijayanti D. R & Bakir M. A.2012.** Proteolytic activity of alkaliphilic, salt-tolerant actinomycetes from various regions in Saudi Arabia. African Journal of Biotechnology 11(16) : 3849-3857.
- **Badji B., Riba A., Mathieu Badji B., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., and Sabou S., (2006)** Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura sp.* AC104 isolated from an Algerian Saharan soil. Can. J. Microbiol., 52: 373-382.
- **Baltz R. H. (2008).** Renaissance in antibacterial discovery from actinomycetes. Curr. Opin. Pharmacol, 8 : 1-7.
- **Barka E., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Klent HP., Clément C., Ouhdouche Y and Wezel GP van .2016.**Taxonomy, physiology and naturalproducts of Actinobacteria. Microbial Mol Biolrev 80 : 1 – 43 .
- **Basilio, A., González, I., Vicente, M.F., Gorrochategui, J., Gabello, A., González, A., BEHAL V. (2003).** Alternative sources of biologically active substances. F. Microbiol., 48 : 563-571.
- **Belanger David.** Utilisation de la faune macrobentique comme bioindicateur de la qualité de l'environnement marin côtier. maitre en écologie internationale. Canada, Aout 2009
- **Belghit, S., Driche, E.H., Bijani, C., Zitouni, A., Sabaou, N., Badji, B., Mathieu F.,(2016).**Activity of 2,4-Di-tert-butylphenol produced by a strain of *Streptomyces mutabilis* isolated from a Saharan soil against *Candida albicans* and other pathogenic fungi.Journal de Mycologie Médicale, Volume 26, Numéro 2, Pp :160-169

- **Whitman W. B; Goodfellow M; Kampfer P ; Busse H . J; Trujillo M. E; Ludwig W; Suzuki K. I.** Bergey's manual of systematic bacteriology, volume (2012). Spring; 2nd Edition.
- **Boiron P., Provost F., Dupont B. (1993).** Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la nocardiose. Institut Pasteur, Collection "Commission des laboratoires de référence et d'expertise de l'Institut Pasteur", Paris. 180 p.
- **Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.-P. and Sabaou N. 2013.** *Saccharothrix hoggarensis* sp. nov., an actinomycete isolated from saharan soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 63: 549-553.
- **Boucheffa K. (2011).** Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques : identification des souches productrices et essai de caractérisation des antifongiques produits. Thèse de Magister en microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes. Université Abderrahmane Mira, Bejaia.
- **Boudemagh, A. 2007.** Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse Références bibliographiques 33 de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine. Algérie. 132 p
- **Boudjelal F., Zitouni A., Bouras N., Schumann P., Spröer C., Sabaou N., Klenk H.P. 2015.** *Actinoalloteichus hoggarensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 65: 2006–2010.
- **Boudjella H., Iamaril L., Boutik K., Sabaoun N., (2014)** Activité antilevurienne d'une souche d'actinobactérie appartenant au genre *streptosporangium* et isolée d'un sol saharien., Algerian journal of arid environment.,2 :3-18.
- **Boudjella. H. 2007.** Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par trois souches. Thèse de Doctorat, Institut National El-Harrach – Alger.
- **Boughachiche F., Reghiooua S., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M. et, Boudemagh A., Boulahrouf A. (2005).** Isolement d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkhah de Ain Mlila. Sciences & Technologie C N°23, juin (2005), pp. 5-10.
- **Boukahili, A. B., Chachoua, H., & Hamames, M. (2020).** Caractéristiques des actinomycètes et de certains de leurs métabolites bioactifs (antibiotiques et enzymes).
- **Boulahrouf A., Rachedi K., Duran R., Lauga B., Karama S., B Lynda., Boulezaz S., Boukrouma M., Boutaleb H., and Boughachiche F.,(2016).** Optimization of alkaline protease production by *Streptomyces* sp. strain isolated from saltpan environment. african journal of biotechnology.15(26) :1401-1412
- **Brock, T. D. (1979):** Ecology of saline lakes. M. Shilo Strategies of microbial life in extreme environments. Verlag Chemie. Weinheim.
- **Buckingham J. (1997).** Dictionary of natural product. Chapman and Hall/ CRC. England CRC Press.

- **Carelotti A., Boiron P., Provost P., Villard J. (1994).** Nocardia et bactéries apparentées. In : Manuel de Bactériologie clinique. Eds : Freney, J., Renauld, F., Hansen, W., and Bollet C. 2^{ème}Éd. 2: 811–831.
- **Cecile Revellin , Cécile Heraud , Christian Steinberg , Véronique Edel-Hermann (2010)**MIAE : collection de référence dédiée aux microorganismes d'intérêt agro-environnemental.
- **Cheriet M., Amari S., Benmammar Y.,(2015).** Étude de quelques activités enzymatiques d'une collection d'actinomycètes.
- **Collins M. D., Goodfellow M. Minnikin D. E. (1980).** Fatty acid, isoprenoid quinone and polar lipid composition in the classification of Curtobacterium and related taxa. J. Gen. Microbiol., 118: 29 – 37
- **Daboor S.M., Amany M.H., Neven Abd Elfatah E., and Hanouna S.I.** Heavy metal Adsorption of *Streptomyces chromofuscus*. J. C. L. Med, (2014); 2(6),p. 431-437.
- **Das A., Soudbakhsh M., Bhattacharya S., Hamedani k ., Suryan S., Prashanthi k. 2012.** Enzymatic Screening, Antibacterial Potential and Molecular Characterization of *Streptomyces* Isolated from Wayanad District in Kerala, India. International Journal of pharmacy and biological science 2(1):201-210 .
- **Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Méd. Int. Lav.,23 : 450-476.
- **Delarras C., (2014).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Tec et doc Lavoisier. 492p Edition de la tourelle, St. Mandé. Pp. 110-111.
- **Desale P., Prakash D., keyur P., Rupali A., Nawai N., Kpadnis B., Khetmalasa M nadMandal A. (2012).** Biosorption heavy metals by Actinomycete for treatment of Industrial effluents. UMT 11th International Annual Symposium of Sustainability Science and Management. Terengganu, Malaysia.
- **Djaballah C.2010.**Biodiversité des Actinomycètes Halophiles et Halotolérante Isolat de la sebkha d'Ain Mlila.Mémoire de Magister,Université Mentouri Constantine, 56p.
- **Djinni I. 2009.** Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées productrices de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Béjaia. Mémoire de Magister ,Université A. Mira de Bejaia,5p.
- **Dommergue Y., Mangenot F., (1970)** Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie (Eds.), Paris.
- **Dos Santos E.R., Santos Teles Z.N., Campos N.M., de Souza D.A.J., da Rocha Bispo A.S and do Nascimento R.P.2012.** Production of α -Amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 Strain Using Agro-Industrial By-Products. Braz Arch Biol Technol 55 (5): 793-800.
- **Fortas Z., Bellahcene M., Harir M., José M., Antonio V., & Susana R. 2017.** Isolation and Characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara Soils with Antimicrobial Activities. Internatinal Journal of Molecular and Clinical Microbiology6(2):110-120

- **François Denis, Marie Cecile Ploy, christian Martin, edouard, Bingen, Roland Quentin 2007**, Bactériologie médicale technique usuelles
- **Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G. (2004)**. Taxonomic Outline of the Prokaryotes, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition Release 5.0, SpringerVerlag, New York. 1-399. [http:// dx.doi.org/10.1007/bergeysoutline200310](http://dx.doi.org/10.1007/bergeysoutline200310)
- **Genilloud O.,Gonzalez I.,Alazar O.,Martin J.,Vicente F.2011**.Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. Journal of Industrial and Microbiological Biotechnology 38:373-389.
- **Gerard T.,(2001)**. Microbiologie. 2eme édition. Canada. P : 152-154
- **Goodfellow M and Cross T. 1984**. Classification. In: The Biology of the actinomycetes. Goodfellow M., Williams S.T. and Mordarski M. (Eds.). Academic Press London pp. 7-164.
- **Goodfellow M, et Williams S. T., (1983)**. Ecology of Actinomycetes. Ann Rev Microbiol., 37: 189-216.
- **Goodfellow M., Stalon L.J., Simpson K.E. and Minnikin D.E. (1990)**. Numerical and chemical classification of Actinoplanes and some related actinomycetes. J. Gen.Microbiol., 136, 19-36.
- **Guilherme da Cruz Silva^{1,2}, Isabella Takahashi Kitano^{2,3},Iron Amoreli de Figueiredo Ribeiro^{2,3} and Paulo Teixeira Lacava (2022)** The Potential Use of Actinomycetes as Microbial Inoculants and Biopesticides in Agriculture.
- **Gundliffe E. (2006)**. Antibiotic production by actinomycetes: the Janus faces of regulation. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 33, 500-506
- **Hamaki T., Suzuki M., Fudou R., Jojima Y., Kajiura T., Tabuchi A., Sen K., Shibai H. (2005)**. Isolation of novel bacteria and actinomycetes using soil-extract agar medium. Journal of bioscience and bioengineering. 99(5): 485 – 492.
- **Hamedi,J, Dehhaghi,M et Mohammadipanah,F(2015)** Isolation of extremely Heavy metal Resistant Strains of Rare Actinomycetes from High Metal Content Soils In Iran .Int. J. environ. Res ., 9(2) : 475-480
- **Haritha R., Siva Kumar K., Jagan Mohan Y.S.Y.V.2010** . Amylolytic and proteolytic actinobacteria isolated from marine sediments of Bay of Bengal. International J Microbiol Res 1(2): 37–44.
- **Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T., Williams S. T. (2000)**. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Will. & Kilk., 15 : 619-623.
- **Hulya A.K.,Tarhan L.2006**. Vancomycin antibiotic production and TCA-glyoxalate pathways depending on the glucose concentration in *Amycolatopsis orientalis*. EnzymeMicrobTechnol38:727-734.
- **Janaki T. 2017**. Enzymes from Actinomycetes .Review. International Journal of ChemTech Research.10: 176-182
- **Joseph- Pierre Guiraud . 2003**. Microbiologie alimentaire.

- **Keulen G. V., Jonkers H. M., Closson D. Woston H. A. B. (2003).** Differentiation and anaerobiosis in standing liquid cultures of *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* 185(4): 1455 – 1458.
- **Khebizi, N., Boudjella, H., Bijani, C., Bouras, N., Klenk, H.P., Pont, F., Mathieu, F., Sabaou, N.(2018).** Oligomycins A and E, major bioactive secondary metabolites produced by *Streptomyces sp.* Strain HG29 isolated from a Saharan soil *J. Mycol.*, 28 (1) , Pp :150-160.
- **Khwaja S., Ram P., Santosh K and Manish D.V.2011.** Isolation of soil thermophilic strains of actinomycetes for the production of α - amylase. *African Journal of Biotechnology* 10(77):17831-17836
- **Kim, C., Lee, K., Kwon, O., Yoo, I., and Shimazu, A. (1994).** Selective isolation of actinomycetes by physical pretreatment of soil sample. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22, 222–225..
- **Kitouni M., 2007.** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaires des souches actives et caractérisation préliminaires des substances élaborées. Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine ,89 P.
- **Korayem A.S., Abdelhafez A.A., Zaki M.M., Saleh E.A.2015.** Optimization of biosurfactant production by *Streptomyces* isolated from egyptian arid soil using plackett-burman design. *Ann Agric Sci* 60:209–217.
- **Kroppenstedt R. M., Stackebrandt E., Goodfelloz M. (1990).** Taxonomic revision of the actinomycete genera *Actinomadura* and *Microtetraspora*. *Syst. Appl. Microbiol.*, 13 : 148-160.
- **Ladjamai A., Taibi Z., Meddour A.2007.** Pectinolytic enzymes using *Streptomyces* strains isolated from palm grove soil in Biskra area (Algeria). *African Crop Science Conference Proceedings* 8:1155-1158.
- **Lamari L., (2006)** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycètes, *Saccharothrix geriensis*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou., p186.
- **Lansing M., P John., A Donald., (2003).** *Microbiologie*. 2ème édition .Française. P : 599-541.
- **Larpent J-P., Sanglier J-J. (1989).** *Biotechnologie des antibiotiques*. Ed. Masson, Paris.481
- **Larpent, J.P. et Larpent- Gourgaud, M., (1985).** *Manuel pratique de microbiologie*. Herman. Paris.
- **Lechevalier H., (1985)** Biology of actinomycetes not belonging to genus streptomyces In: *Biology of industrial microorganisms*. The Benjamin Cummings Publishing Company, INC., p: 315-360.
- **Lechevalier M.P and Lechevalier H.A 1970.** Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 20, 435-443
- **Lechevalier M.P., Prauser H., Labeda D.P.,Ruan J.S. 1986.** Two new genera of nocardioform actinomycètes :*Amycolatagen. nov.* and *Amycolatopsisgen. nov.* *Int J Sys Bacteriol* 36 :29-37

- **Lemriss S., Laurent F., Couble A., Casoli E., Lancelin J. M., Saintpierre-Bonaccio D., Rifai S., Fassouane A and Boiron P. 2003.** Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Can Journal Microbiology* 49: 669–674.
- **Leulmi N.2018.**Identification polyphasique des souches d'actinobactéries isolées d'échantillons de sols semi-arides. Caractérisation structurale des antibiotiques produits .Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri,Constantine,36 p
- **Loucif K. (2011).** Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en microbiologie. Université Mentouri-Constantine : 21p
- **M. A. Polti, M. J. Amoroso and C. M. Abate,** *Chemosphere*, 67 (2007) 660.
- **M. J. Amoroso, G. R. Castro, A. Duran, O. Peraud, G. Oliver and R. T. Hill, J.** *Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 26 (2001) 210. 39.
- **Maameri M., 2007.** Caractérisation microbiologique des sols sous conditions semi-arides. (Ksar Chellala) Mémoire.Ing.Agro.Univ. Ibn-Khaldoun, Tiaret.
- **Macagnan, D., R. DA S. Romeiro, A. W.V Pomeilla. (2008).** Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora (ex Crinipellis) pernicioso* by phylloplane actinomycetes. *Biological Control*. 47: 309-314.
- **Mariat F., Sebald M.(1990).** Actinomycétales..In:Le Minor. L., Véron M. Bactériologie médicale.Medecine-Sciences.Flammation.France. Deuxième partie : 933-999.
- **Marta A.P., Maria J.A., Carlos M.B. (2007).** Chromium (VI) resistance and removal by actinomycete strains isolated from sediments. *Chemosphere*. 67: 660-667. Maryam B.K., Khorso I.,Akram T., Mohammad R.M.K.P. and Alireza M. (2012). Isolation of Hg and Cu resistant *Streptomyces* from marine sediments in different regions of Caspian Sea. *African Journal of Microbiology Research*. 6(18): 4048-4052.
- **McKenna F., El-Tarabili K.A., Petrie S. and Dell B. (2002).** Application of actinomycetes to soil to ameliorate water repellency. *Lett. Appl. Microbiol.* 35, 107-112.
- **Meklat A. 2012.**Taxonomie et potentiel antagoniste des actinomycètes halophiles des sols sahariens et mise en évidence de nouvelles espèces d'Actinopolyspora. Thèse de Doctorat, Ecole Normale Supérieure de Kouba - Alger, 211p
- **Mellouk I., Meklat A., Nalubega F., Chaabane C., Fawzia., Ait Yahia A., Bounas N., Mokrane S., Mathieu F., et Sabaou N., (2016)** Description et potentiel antagoniste d'une nouvelle souche d'actinobactéries isolée de la cote de Tipaza., 9(1): 65-78.
- **Melouah R. (2015)** .Production et extraction de quelques principes actifs isolés à partir des Actinomycètes UKM Ouargla. Mémoire de master académique. Microbiologie appliquée. Université kasdi Mesbah Ouargla. Pp.12-13
- **Michael T. Madigane ., John Martinko** 11^{ème}édition. ISBN : 978-2-7440-7209-3. Université Carbondale de Illinois du sud.

- **Mincer T. L., Jensen R., C. A., W. Fencial. (2002).** Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *App. Environ. Microbiol.*, 68 : 5005-5011.
- **Minnkind. E., Goodfellow. M. (1981).** Lids in the classification of actinomycetes. *Zentralbl. Bakteriol.*, 11: 99 – 109.
- **Moncheva P., Tishkov S., Dinitrova N., Chipéva V., Antonova Nikolova S., Bogatzev ska N. 2002.** Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica. *Journal of culture collections* 3:3-14.
- **Monchy, S. 2007 :** Organisation et expression des gènes de résistance aux métaux lourds chez *Cupriavidus metallidurans* CH34. thèse de doctorat, Pp (13.33).
- **Mukhtar S., Zaheer A., Aiysha D., Abdulla Malik K and Mehnaz S. 2017.** Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. *J Proteomics Bioinform* 10: 316-319.
- **Mustin M., (1987).** Le composte, gestion de la matière organique. Edit. François. 12p.
- **Nedialkova D., Naidenova M. 2005.** Screening the antimicrobial activity of actinomycetes strains isolated from Antarctica. *Journal of Culture Collections* 4: 29-35.
- **Oskay M., Tamer A., Azeri C. (2004).** Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Biotechnol.*, 3 : 441–446.
- **Ottow J. C. G., Glathe H., (1968).** Rose Bengal-malt extract-agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Appl. Microbiol.* 16: 170 – 171.
- **Overbye K. M., Barrett J. F. (2005).** Antibiotics: where did we go wrong?. *Dru. Disc.*, 10 : 45-52.
- **Palaniyandi S.A., Yang S.H., and Suh J.-W., (2013).** Extracellular proteases from *Streptomyces phaeopurpureus* ExPro13 inhibit spore adhesion, germination and appressorium formation in *Colletotrichum trichumcoccodes*. *Applied Microbiology*. pp1364-5072.
- **Pandey, A., Nigam, P. Soccol, C., R. Soccol, V., T. Singh D. Mohan R. 2000.** Advances in microbial amylases. *Biotechnol Appl Biochem.*; 31(2):135–152. 7.
- **Pawlowski K. and Sirrenberg A. (2003).** Symbiosis between Frankia and actinorhizal plants: root nodules of non-legumes. *Indian J. Exp. Biol.* 41, 1165-83.
- **Perry J. J., Staley J. T., Lory S. (2004).** *Microbiologie*. Dunod, Paris.
- **Pettit G. R., Tan Melody N., Kielty J. M., Pettit R. K., Herald D. L., Tucker B. E., Mallavia L. P., Doubek D. L., Schmidt J. M. (1999).** Isolation and structure of montanastatin from a terrestrial actinomycete. *Bio. Med. Chem.*, 7 : 895-899
- **Priyanka S.B. 2019.** Isolation, Purification and Characterization of Pectinase Enzyme from *Streptomyces Thermocarboxydus*. *JBB MS* 1(5).1-6.
- **R. Sathya, T. Ushadevi * 2014.** Industrially Important enzymes producing *streptomyces species* from mangrove sediments Original Article

- **Raval K.M., Vasawani P.S.,Mujumder D.R. 2012.**Biotransformation of a single amino-acid Ltyrosine into a bioactive molecule L-Dopa.International Journal of scientific and research Publication 2: 2250-3153.
- **Reghioua, S.Boughachiche, F.Zerizer,H. Oulmi,L. Kitouni,M. Boudemagh,A .Boulahrouf ,A..(2006).** Activité antibactérienne d'actinomycètes rares isolées d'échantillons de sol aride du Sud-est Algérien.Antibiotiques.8: 147-152
- **Reichl U., King R. and Gilles E. D. (1992).** Characterization of pellet morphology during submerged growth of *Streptomyces tendae* by image analysis. Biotech. Bioeng. 2, 164 – 170.
- **Robert. S safferman and Mary-Ellen Moris (1962),** The method for the isolation and enumeration of actinomycetes related to water supplies.
- **Roy S., Das I ., Munjal M., Karthink I., Kumar G., Kumar S.,Rao R.V.B. 2014.**Isolation and characterization of tyrosinase produced by marine anterobactéria and its application in the removal of phenol from aqueous environment Front. Biol.9(4): 306-316.
- **Ruhi Rizvi, L H Kamble, A S Kadam 2013.**A report on extracellular enzyme production potential of actinomycetes isolated from sediments of river Godavari, India. Article review. journals
- **Saker R.(2015).**Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes .pour obtention de diplôme doctorat. Université Ferhat Abbes. Sanglier J.J., Masson : Paris. 33-70p.
- **Santos E.R.D., Teles Z.N.S., Campos N.M., Souza D.A.j.D., Bispo A.S.D.R ., Nascimento R.P.D.2012.** Production of a-Amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 Strain Using AgroIndustrial By-Products. Braz Arch Biol Technol 55 (5): 793-800.
- **Saoudi B., Habbeche A., Kerouaz B., Haberra S., Romdhane Z.B., Tichati L., Ladjama A. 2015.** Purification and characterization of a new thermoalkaliphilic pectate lyase from *Actinomadura keratinilytica* Cpt20. Process Biochemistry 50(12): 2259-2266.
- **Saoudi B., Ladjama A.2006.** Screening and isolation of pectate lyase producing *Streptomyces* from Algerian saharian soil, Biologia (Tunisia) 4 : 121–122
- **Sateesh V., Naikpatil et Rathod J.L., (2011)** Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. Journal of Ecobiotechnology., 3: 48- 53.
- **Schmid .RD. 1998. and Verger R.** Lipases: Interfacial enzymes with attractive applications. Angew. Chem. Int.. 37: 1608-1633.
- **• Scribian .R.1993** Biotchnologie.4émeedution .Technique et documentation lavoisier. Paris.
- **Shirling E. B., Gottlieb D. (1966).** Methods for characterization of *Streptomyces species*. Sys. Bacteriol., 16 : 313-340.
- **Silva M. S., Sales A. N., Magalhaes-Guedes K. T., DiasD. R., Schwan F. (2013).** Brazilian cerrado soil actinobacteria ecology. Biomed. Res., 10 : 9-32.

- **Singh, S. P., and Gaur, R. (2016).** Evaluation of antagonistic and plant growth promoting activities of chitinolytic endophytic actinomycetes associated with medicinal plants against *Sclerotium rolfsii* in chickpea. *Journal. Applied. Microbiology.* 121, 506–518. doi: 10.1111/jam.13176
- **Srinivasan MC and SK.2022.** Practical guidebook to actinomycete biology and technology applications. MACS-Agharkar Research Institute, Pune, India.
- **Srivibool, M. (2006).** Bioperspective of actinomycetes isolates from coastal soils, a new source of antimicrobial producers. *Sci. Technol.*, 28 : 493-499.
- **Sujatha P., Bapi-Raju K. V. V. S. N. and Ramana T.2005 .**Studies on a new marin streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Res*160: 119-126.
- **Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al (2013)** MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol Biol Evol* 30:2725–2729. doi: doi: 10.1093/molbev/mst197
- **TatsinkouFossi B., Tavea F., Ndjouenkeu R. 2005.** Production and Partial Characterization of Thermostable Alpha Amylase from *Ascomycete Yeast* Strain Isolated from Starchy Soil. *Afr Journal Biotechnol.* 14–18
- **Thirupl L., Johsen K. and Winding A. (2001).** Succession of indigenus *Pseudomonas spp.* and Actinomycetes on barley roots affected by the antagonistic strain *Pseudomonas fluorescens* DR54 and the fungicide imazalil. *Appl. Env. Microbiol.* 67 (3), 1147-1153.
- **Thumar J-T., Singh S-P. (2007).** Secretion of an alkaline protease from a salttolerant and alkaliphilic *Streptomyces clavugerus* strain Mit-1. *Brazilian Journal of Microbiology.* Vol 38.
- **Tortora G. J., Frunke B.R., et Case L.C., (2003)** Introduction à la microbiologie. 7ème éd. Saint. Laurent: ERPI.
- **Ullah I., Masood Arshad M, Chuadhry-M., Noureen U., Jadoon W-A., Jadoon M-A. (2012).** Actinomycetes screening for bioactive potential isolated from the moist forest soils of Pakistan. *Rec. Zool. Surv. Pakistan.* Vol : 21. Pp: 10-13
- **Valan Arasu M., Duraipandiyan V., Agastian P and Ignacimuthu S. 2008.** Antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. ERI-26 recovered from Western Ghats of Tamil Nadu. *J Mycol Méd* 18: 147-153
- **Wael N.Hozzein, Mohammed bastawy Ahmed et Marzouka Shaban Abdel Tawab (2012).**Efficiency of some actinomycetes isolates in biological treatment and removal metals from wastewater.*A.J.B.V.*11(5),pp1163-1168.
- **Watave M. G., Tckoo R., Jog . M. M., Bhol B. D. (2001).** How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Arch. Microbiol.*, 176: 386 – 390.
- **Wehrli W., Staehelin M. (1971).** Actions of the rifamycins. *Bacteriol. Rev.*, 35 : 290-309.
- **Willey , Sherwood, Woolverton.2018.** Microbiologie de prescott. 5^e édition.

- **William B. R., Whitman., T Kieg., T James., R Daniel., P Brian Hedlund., J. Paster., (2010).** Bergey's Manual Of Sytematic Bacteriology. Springer New York Dordercht Heidelberg, London. Pp 25-49
- **Williams, W.D. (1981)** The limnology of saline lakes in Western Victoria - a Review of some recent studies Hydrobiologia
- **Zaitlin B., Watson S.B. 2006.** Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: Myths, tenets and truths. Water Res 40(9) : 1741–1753.
- **Zerizer H., Oulmi L., Boughachiche F., Rrghioua S., Boudemagh A., Kitouni Mand Boulahrouf A.2006.** Identification d'une Actinomycetale, production d'antibactériens, isolée de sols arides de region de Biskra.Scienceset technologie C-24 :17-22
- **Zheng, B., Li, J., Liu, C., Li, B., Yuan, H and Yang, J.** Identification and molecular characterization of a novel DyP-Type peroxidase from *pseudomonas aeruginosa* PKE117. Applied Biochemistry and Biotechnology. (2012) ; vol. 166,n°3, p.774-785.

Annexes

Annexe 1**I- Milieux de culture****Milieu ISP1 (Meklat, 2012)**

Tryptone	5g
Extrait de levure	3g
Agar	20g
Eau distillés	1000ml
PH=7,2	

Milieu ISP2

Extrait de malt	10g
Extrait de levure	4g
Glucose	4g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml
PH =7,2	

Milieu ISP9 (milieu de base)

(NH ₄) ₂ SO ₄	2,64g
KH ₂ PO ₄	2,38g
K ₂ HPO ₄	5,65g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	1g
Solution saline*	1 ml
Eau distillée	1000 ml
Agar	20g
PH = 6-8-7.	

Milieu Muller-Hinton

Infusion de viande	300g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon	1.5g
Agar	17g
Eau Distillée	1000ml
PH=5.6	

Milieu SCA (Leulmi,2018)

Amidon	10g
KNO ₃	2g
K ₂ HPO ₄	2g
NaCl	2g
Caséin	0,3g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,05g
CaCO ₃	0,02g
FeSO ₄ 7 H ₂ O	0,01g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml
PH =7.5	

Réactifs**La solution de lugol**

Iodure de potassium	02 g
Iode métalloïde I ₂	01 g
Eau distillée	100 m

Annexe 2

Coloration de Gram

Préparation de frottis :

On dépose une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame en verre, puis à l'aide d'une anse à boucle bien flambée, on prélève une colonie de la souche à étudier et étaler à la surface de la lame,

Sécher la lame a la chaleur de la flamme du bec bunsen.

Fixer le frottis en passant la lame 3 fois dans la flamme du bec bunsen et laisser refroidir. Il faut travailler dans les meilleures conditions d'asepsie (Joseph- Pierre Guiraud. 2003).

Etapes :

La méthodologie est la suivante (F. Denis et al 2007) (Joseph- Pierre Guiraud. 2003) :

- Quelques gouttes de solution aqueuse de violet de gentiane est répandue sur le frottis pendant 01minute, puis un rinçage à l'eau de robinet.

- Le frottis est ensuite recouvert de Lugol de Gram pendant 01minute, puis un rinçage à l'eau de robinet.

- La lame décolorée à l'alcool absolu goutte à goutte.

- Après lavage à l'eau du robinet, le frottis est recoloré à la fuschine de ziehl pendant 30 secondes à 01minute, puis lavé à l'eau.

- Séché au buvard ou à l'air.

- Examiné à immersion (à l'objectif $\times 100$).

Résumé

Le présent travail s'intéresse à 9 souches d'actinomycètes qui sont isolées sur milieu amidon-caséine à partir des sols de Sahara algérienne : Illizi, Touggourt, Tindouf dans le but d'étudier leurs propriétés phénotypiques ainsi que leur capacité à décomposer des polymères tels que l'amidon, caséine, pectine, gélatine et leur aptitude à synthétiser des molécules antimicrobiennes.

Les souches isolées montrent des propriétés phénotypiques identiques aux actinomycètes qui sont des bactéries filamenteuses à Gram positif sporulées à croissance lente.

Les isolats d'actinomycètes ont une capacité remarquable à dégrader les composés complexes amidon, caséine, pectine et gélatine ce qui montre qu'ils possèdent une réserve enzymatique importante.

L'activité antimicrobienne des isolats est étudiée selon deux méthodes sur les milieux solide et liquide contre des micro-organismes pathogènes. Les isolats d'actinomycètes ont montré une forte activité inhibitrice vis-à-vis des souches à Gram négatif *Escherichia coli* et moins d'activité inhibitrice vis-à-vis des souches à Gram positif *Staphylococcus aureus* et de levure *Candida albicans*, aussi bien le milieu solide que celui qui a donné le meilleur résultat par rapport au milieu liquide.

L'étude de la résistance ou de la sensibilité des isolats aux métaux lourds a été testée sur le milieu de culture Amidon-caséine additionné de différentes concentrations de 3 métaux lourds (cuivre, zinc, mercure). En résultat, les neuf souches testées présentent une sensibilité vis-à-vis des 3 métaux lourds (cuivre, zinc, mercure) à différentes concentrations qui se traduit par une absence de croissance.

Mots clés : Actinomycètes, molécules antimicrobiennes, métaux lourds, sols de Sahara algérienne, amidon-caséine.

Abstract

The present work focuses on 9 strains of actinomycetes isolated on starch-casein medium from the Algerian Sahara soils of following regions; Illizi, Touggourt and Tindouf, with the aim of studying their phenotypic properties, their ability to break down polymers such as starch, casein, pectin and gelatin, and their capacity to synthesize antimicrobial molecules.

The isolated strains show phenotypic properties identical to actinomycetes, which are slow-growing, Gram-positive, filamentous and spore-forming bacteria.

Actinomycetes isolates have a remarkable capacity to degrade complex compounds such as starch, casein, pectin and gelatin, demonstrating an important enzymatic reserve.

The antimicrobial activities of the isolates were studied using two methods on solid and liquid media against the pathogenic micro-organisms; Actinomycetes isolates showed strong inhibitory activity against Gram-negative *Escherichia coli* strains and less inhibitory activity against Gram-positive *Staphylococcus aureus* and yeast *Candida albicans* strains, with a solid medium providing better results compared to the liquid medium.

Isolates were tested for resistance or sensitivity to heavy metals on a starch-casein culture medium supplemented with different concentrations of 3 different heavy metals (copper, zinc, mercury). As a result, the nine strains tested showed sensitivity to the 3 heavy metals (copper, zinc, mercury) at different concentrations, resulting in an absence of growth.

Keys words: Actinomycètes, antimicrobial molecules, heavy metals, Algerian Sahara soils, starch-casein.

الملخص

يتركز هذا العمل على 9 سلالات من الأكتينومييسيت التي تم عزلها في وسط نشاء- كازيين من تربة الصحراء الجزائرية: إليزي، تقرت، تندوف من أجل دراسة خواصها الظاهرية وكذلك قدرتها على تفكيك الجزيئات المعقدة مثل النشاء والكازيين والبكتين والجيلاتين وقدرتها على تصنيع جزيئات مضادات الميكروبات.

تظهر السلالات المعزولة خصائص النمط الظاهري مماثلة للفطريات الشعاعية والتي هي عبارة عن البكتيريا الخيطية إيجابية الجرام ذات الأبواغ البطيئة النمو.

تتمتع عزلات الأكتينومييسيت بقدرة ملحوظة على تحليل المركبات المعقدة كالنشاء والكازيين والبكتين والجيلاتين، مما يشير إلى أن لديها احتياطي إنزيمي كبير.

تمت دراسة النشاط المضاد للميكروبات للعزلات باستخدام طريقتين في الوسائط الصلبة والسائلة ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض. أظهرت عزلات الأكتينومييسيت نشاطا مثبطا عاليا ضد السلالات سالبة الجرام الإشرشيا كولي ونشاطا مثبطا أقل ضد سلالات المكورات العنقودية الذهبية وخميرة المبيضات البيض، حيث الوسط الصلب أعطى أفضل نتيجة مقارنة بالوسط السائل.

تم اختبار دراسة مقاومة أو حساسية العزلات للمعادن الثقيلة على وسط استزراع النشاء والكازيين بتركيزات مختلفة من 3 أنواع من المعادن الثقيلة (النحاس والزنك والزنبق). نتيجة لذلك، فإن السلالات التسعة التي تم اختبارها لديها حساسية للمعادن الثلاث الثقيلة (النحاس والزنك والزنبق) بتركيزات مختلفة وذلك لانعدام النمو.

الكلمات المفتاحية: الأكتينومييسيت، جزيئات مضادات الميكروبات، المعادن الثقيلة، النشاء والكازيين.