



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 / 2024

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :
RAHMANI Kaouthar et BOULHAIS Aya
Le: mardi 11 juin 2024

Synthèse : Les actinobactéries productrices des molécules antimicrobiennes identifiées à partir des sols arides en Algérie

Jury:

M.	Tarek BENMEDDOUR	Pr	Université de Biskra	Président
Mme.	Souad BABA ARBI	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
M.	Fathi BENBELAID	Pr	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2023 - 2024



Remerciement

Avant tout, nous remercions "ALLAH" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous avons permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir

éclairé le chemin de la réussite.

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur Madame **Souad BABA ARBI** qui nous dirigées ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans lui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour*

Merci également les membres de jury,

Un remerciement chaleureux est adressé à nos enseignants responsables de la filière pour ses conseils et son soutien tout au long de l'année théorique. Aussi, nous remercions nos collègues pour leur aide amicale et pour leurs encouragements

Merci également à tous ceux qui, nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce modeste mémoire



Dédicace

من قال أنا لها "نالها" وأنا لها وإن أبت رُغماً عنها أتيتُ بها.

نلتها وعانقت بما مجداً عظيماً

لم تكن الرحلة قصيرة ولا ينبغي لها أن تكون , لم يكن الحلم قريباً ولا الطريق محفوفاً بالتسهيلات.

راجية من الله تعالى أن ينفعي بما علمني وأن يعلمني ما أجهل ويجعله حجةً لي لا عليّ

الحمد لله حُباً وشكراً وإمتناناً ، الحمد لله الذي بفضله أدركت اسمي الغايات

Je dédie ce travail à :

MA TRÈS CHÈRE MÈRE MERIEM

La source de mes efforts et de mes encouragements

je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur

Merci Mama

MON TRÈS CHER PÈRE ABD EL-KADER

MON CHER FRÈRE : ABD EL-RAOUF

Mes adorables sœurs : SOUMIA, OUMEIMA, NOUR EL YAKINE, ALAE

Et mes chères cousines : INSAF, SELMA

Mon cher beau-frère : MOHAMMED AMINE

Et ma merveilleuse tante : FATIMA

Vous trouverez dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et

mon affection

la plus sincère

Mes chères amies : NEAMA, RIMA, KHADIJA, ZOHRA, DJIHANE,

MAJED, SIVEM

En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail avec tous mes

vœux de bonheur de santé et de réussite

Kaouthar

الإهداء

الحمد لله حبا ، الحمد لله شكرا، والحمد لله امتنانا على البدء والختام.

وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين

لم تكن الرحلة قصيرة ولا ينبغي لها أن تكون، لم يكن الحلم قريبا لا الطريق كان محفوظا

بالتسهيلات لكنني فعلتها فالحمد لله الذي يسر البدايات وبلغنا النهايات.

ها أنا أقف على عتبة تخرجي أقطف ثمرة تخرجي وأرفع قبعتي بكل فخر. فالحمد لله قبل أن

ترضى، و لك الحمد إذا رضيت، ولك الحمد بعد الرضا، لأنك وفققتني على إتمام هذا النجاح

وتحقيق حلمي . وبكل حب أهدي ثمرة نجاحي

إلى من أحمل اسمه بكل فخر، الذي ساندني وعلمني أن الحياة صراع و سلاحها العلم، الذي

علمني الصبر والاستمرار رغم الصعاب ،الذي لطالما حفنتني دعواته أبي الغالي

إلى الغالية التي كانت أمني، إلى القلب الحنون داعمي الأول في مسيرتي سندي وقوتي أمني

حبيبتي

إلى من ساندتني بكل حب عند ضعفي، وأزاحت عن طريقي المتاعب ممهدة لي الطريق وزرع

الثقة والإصرار بداخلي، فكانت خير معين ومحفزا لي ،توأم روحي أختي إيمان

إلى ملائكة رزقني الله بهم في حياتي إخوتي الصغار محمد إسلام، أسماء، إسراء

إلى كل طالب علم سعى بعلمه ليفيد الإسلام والمسلمين بكل ما لأعطاه الله من علم ومعرفة.

آية

Table de matières

Remerciement

Dédicace

Table de matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Partie I . Synthèse bibliographique

Chapitre I . Généralités sur les actinobactéries et les antibiotiques

I. Généralités sur les actinomycètes	5
I.1 Introduction	5
I.2 Morphologie et habitat	5
I.2.1 Morphologie	5
I.2.2 Habitat	6
I.3 Cycle de développement des actinomycètes	7
I.4 Classification des actinobactéries.....	8
I.5 Applications biotechnologiques des actinomycètes	9
II. Généralités sur les antibiotiques.....	11
II.1 Définition des antibiotiques	11
II.2 Classification des antibiotiques	11

Partie II . Synthèse des articles

Chapitre II . Matériel et méthodes

II.1 Isolement des souches d'actinomycètes	15
II.2 Etude de l'activité antimicrobienne	16

II.2.1 Méthodes des stries croisées	16
II.2.2 Méthodes des cylindres d'agar.....	17
II.3 Identification moléculaire et analyses phylogénétiques des souches du gène de l'ARNr 16S	18
II.3.1 Extraction d'ADN	18
II.3.2 Amplification ADNr 16S	18
II.3.3 Séquençage	19
II.3.4 Analyses phylogénétiques.....	19

Chapitre III . Résultats et discussion

III.1 Résultats de l'isolement	22
III.2 Résultats de l'activité antibiotiques.....	25
III.3 Résultat de l'identification moléculaire	29
Conclusion.....	34
Références bibliographiques	36
Annexes	41
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1. Pigments d'actinobactéries . _____	10
Tableau 2. Classes d'antibiotiques d'actinomycètes _____	11
Tableau 3. Les milieux d'isolement d'actinobactérie des défèrent région _____	15
Tableau 4. Résumé des souches cibles pour tester l'activité antibiotique d'actinomycètes. __	17
Tableau 5. Les amorces utilisées en PCR _____	19
Tableau 6. Les nombre d'isola par région d'étude _____	22
Tableau 7. Les résultats de l'activité antibactérienne _____	27
Tableau 8. Résultat de l'identification moléculaire et le pourcentage d'homologie _____	30

Liste des figures

Figure 1. Colonie d'actinomycètes se développant sur gélose .	6
Figure 2. Écologie de l'actinomycète	7
Figure 3. Cycle de développement de l'actinomycètes	8
Figure 4. Arbre phylogénétique basé sur 97 séquences génomiques de l'embranchement des actinobactéries .	9
Figure 5. Répartition des milieux selon le pourcentage d'utilisation	23
Figure 6. Répartition des souches isolées	24
Figure 7. Répartition des méthodes utilisé	25
Figure 8. Pourcentage d'homologie de l'identification moléculaire	31

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARNr 16 S : Acide ribonucléique ribosomique 16 S.

ATCC : American type culture collection

CMA : Complex medium agar

GSE : Extrait de sol Glycérol

GYE : Extrait de levure Glycérol

ISP: The International Streptomyces Project.

ISP1 : Gélose à la tryptone et à l'extrait de levure

ISP2 : Gélose à l'extrait de levure et à l'extrait de mal

MH : Mueller Hinton

NA : Gélose nutritive

NaCl : Chlorure de sodium.

PCR : Réaction de Polymérase en Chaîne.

Sp: Species (Espèce).

WYE: Water–Yeast extract–Agar

GLM: Glucose–Yeast extract–Malt

YMA: Yeast extract – Mannitol–Agar

Introduction

Introduction

Les actinobactéries sont largement reconnues pour leur capacité à produire une variété d'antibiotiques qui sont essentiels pour la lutte contre les infections bactériennes. Les sols arides, en raison de leur environnement unique et souvent extrême, pourraient être des sources particulièrement riches en actinobactéries productrices d'antibiotiques encore inconnues. En Algérie, un pays doté de vastes étendues de déserts et de régions arides, ces micro-organismes pourraient représenter une ressource précieuse mais largement inexploitée pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens (Messis *et al.*, 2014 et Messaoudi *et al.*, 2020)

Les recherches des antibiotiques ont été principalement réalisées dans des environnements tempérés ou tropicaux, tandis que les habitats arides ont été sous-étudiés. Toutefois, les sols secs sont caractérisés par des conditions particulières, comme des taux élevés de salinité, de sécheresse et des fluctuations de température extrêmes, qui pourraient avoir un impact sur la diversité et la bio activité des actinobactéries (Messis *et al.*, 2014).

La recherche de nouveaux antibiotiques est devenue une priorité mondiale en raison de l'émergence de souches bactériennes résistantes aux traitements existants. En exploitant les ressources microbiennes des sols arides en Algérie, cette étude vise à contribuer à l'effort Algérien de découverte de nouveaux agents antimicrobiens pour lutter contre les infections bactériennes résistantes.

Alors :

- Quels sont les divers actinobactéries présentes dans les sols arides en Algérie ?
- Quels sont les types d'antibiotiques produits par ces bactéries et leur potentiel d'activité antimicrobienne ?

Nous postulons que les sols arides en Algérie abritent une diversité élevée d'actinobactéries productrices d'antibiotiques en raison de leur adaptation aux conditions environnementales extrêmes. De plus, nous supposons que ces actinobactéries produisent des antibiotiques uniques avec des activités biologiques potentiellement intéressantes pour la lutte contre les infections résistantes.

Introduction

Le premier chapitre de ce travail est une synthèse bibliographique, qui représente des informations générales sur les Actinobactéries qui traite leur taxonomie, leur écologie ainsi qu'à leur importance. Les métabolites bioactifs produits par les actinobactéries et un deuxième chapitre est consacré pour la synthèse de quelques travaux de même axe que notre étude.

Partie I.

Synthèse bibliographique

Chapitre I.

**Généralités sur les
actinobactéries et les
antibiotiques**

I. Généralités sur les actinomycètes

I.1 Introduction

Les actinomycètes représentent les principales sources de métabolites secondaires à activité anti cellulaire (Boudemagh et *al.*, 2005). Ce sont des bactéries Gram positif et saprophytes libres, les actinobactéries sont largement distribuées dans le sol, l'eau douce et l'eau de mer et jouent un rôle important dans la décomposition des matières organiques telles que la cellulose et la chitine, leurs rôle est crucial dans les processus de régénération de la matière organique et dans le cycle du carbone, car ils favorisent la récupération des nutriments du sol et contribuent de manière significative à la formation d'humus (Ranjani et *al.*, 2016).

I.2 Morphologie et habitat

I.2.1 Morphologie

Les actinobactéries présentent la plus grande différenciation morphologique parmi les bactéries aérobies Gram-positives omniprésentes qui présentent une grande variété de morphologies et certaines d'entre elles, comme celles appartenant au genre *Streptomyces*, ressemblent à des champignons filamenteux. L'intérêt biotechnologique de ces micro-organismes réside dans leur capacité à produire différents composés bioactifs (Mohamed et *al.*, 2017).

Cependant, la structure cellulaire des actinomycètes est typique des procaryotes et est complètement différente de celle des champignons, la structure globale des cellules hyphales correspond à l'organisation des bactéries, le cytoplasme contient des régions d'ADN génomique, des ribosomes et divers corps d'inclusion qui sont probablement des matériaux de stockage tels que des poly phosphates, des lipides et des polysaccharides. Les actinomycètes classiques ont un mycélium radial bien développé. Le mycélium peut être divisé en mycélium de substrat et en mycélium aérien en fonction des différences de morphologie et de fonction, certaines actinobactéries peuvent former des structures complexes telles que des spores, des chaînes de spores, des sporanges et des sporangiophores, le modèle de croissance et de rupture du *mycélium* du substrat, l'emplacement des spores, le nombre de spores, la structure de la surface des spores, la forme du sporange et la présence ou l'absence de flagelles dans les sporanges sont tous des caractéristiques morphologiques importantes (Ranjani et *al.*, 2016).

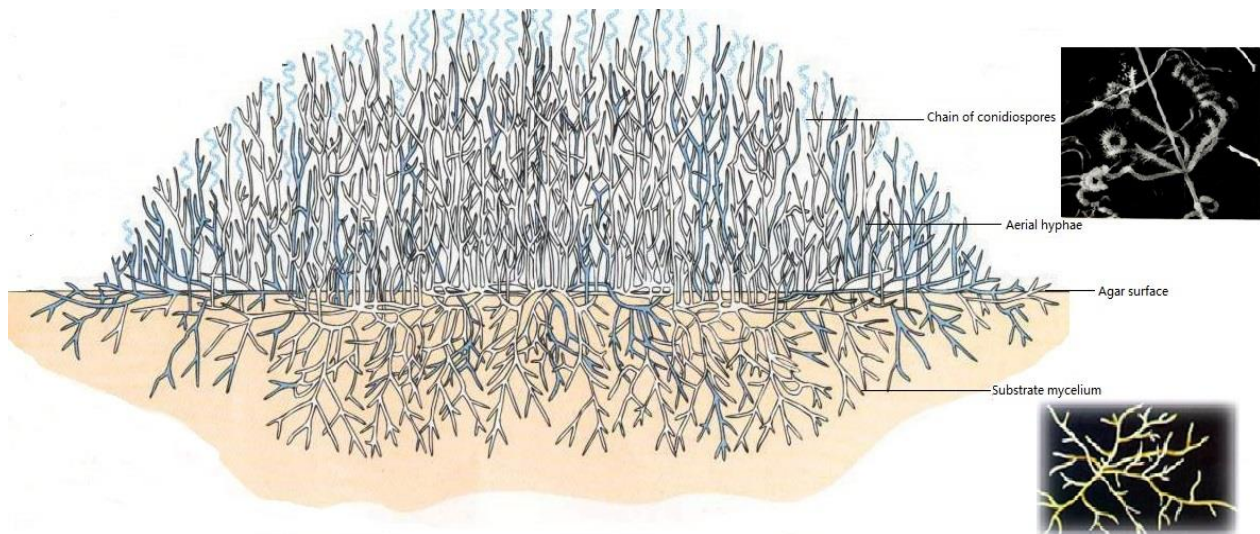


Figure 1. Colonie d'actinomycètes se développant sur gélose Ranjani et *al.*, (2016).

I.2.2 Habitat

Les actinobactéries libres sont omniprésentes dans les écosystèmes du sol, marins et d'eau douce, ils jouent un rôle écologique important dans la régénération de la matière organique (Ranjani et *al.*, 2016).

De nombreux actinomycètes ont évolué pour vivre en symbiose avec des plantes, des champignons, des insectes et des animaux, la plupart de ces interactions actinobactéries-hôte impliquent que les actinomycètes produisent des produits naturels qui permettent à l'hôte de se protéger contre les pathogènes et les ravageurs, ou produisent des enzymes qui dégradent les polymères naturels résistants comme la lignocellulose (Van der meij., 2017).

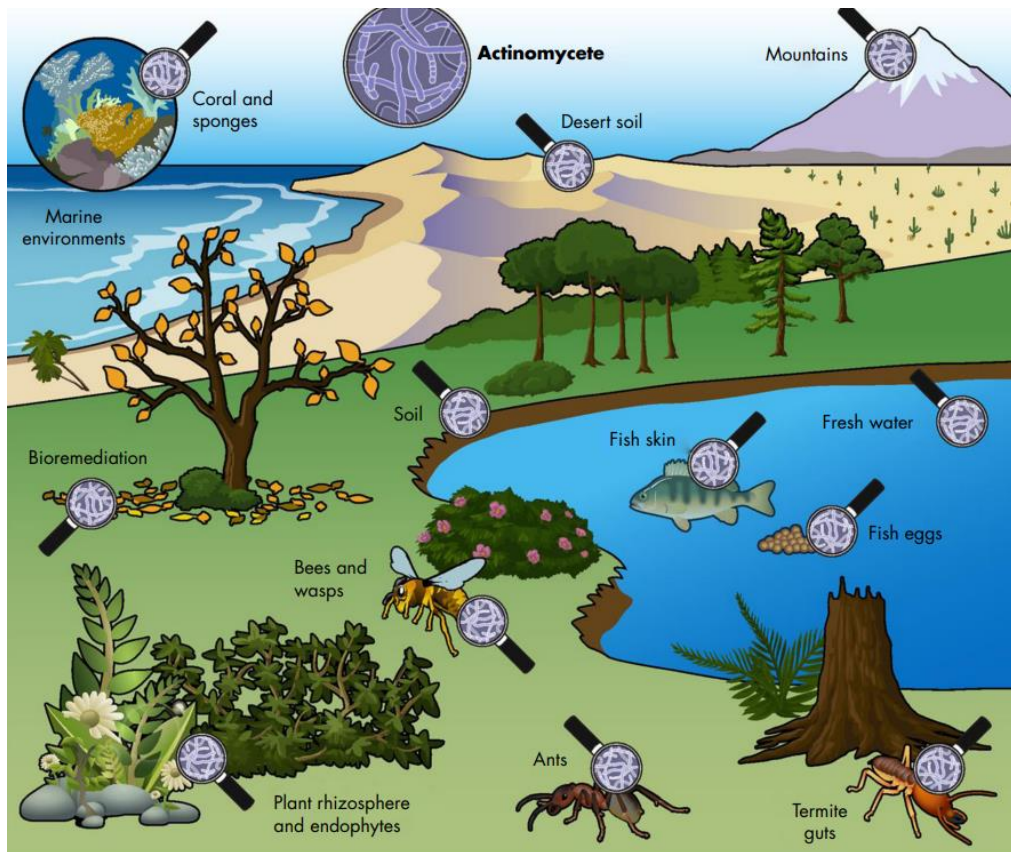


Figure 2. Écologie de l'actinomycète (Van der meij., 2017)

I.3 Cycle de développement des actinomycètes

Les colonies formées par les actinobactéries sur milieux solides présentent différents aspects macroscopiques et peuvent être classées en trois types :

- Colonies pulvérulentes recouvertes de mycélium aérien fermement attaché au milieu (Van der meij., 2017).
- Colonies pâteuses sont facilement séparées des solides et se solubilisent dans le milieu liquide (Van der meij., 2017).
- Mycélium matriciel (mycélium de substrat) de colonie qui ne se dégrade pas dans le milieu liquide il est constitué d'hyphes aériens attachés au milieu (Van der meij., 2017).

Les différents genres d'actinobactéries peuvent soit détruire certains hyphes pour former des conidies, plus ou moins résistantes aux conditions rudes que les hyphes, soit en produisant des endospores (actinobactéries thermiques) (Van der meij., 2017).

D'autres genres d'actinobactéries, comme *Streptosporandium*, sporulent en produisant des sporanges (Van der meij., 2017).

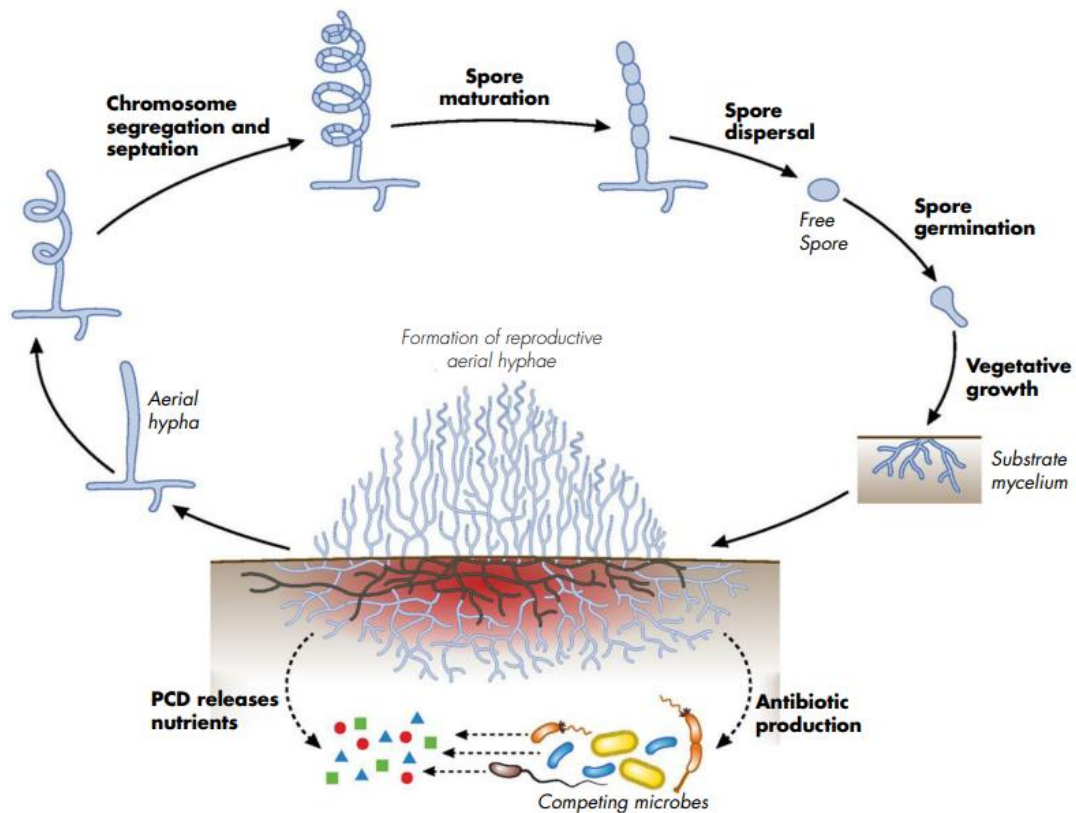


Figure 3. Cycle de développement de l'actinomycètes (Van der meij., 2017)

I.4 Classification des actinobactéries

La classification des actinobactéries est assez complexe et détaillée. Selon la taxonomie actuelle, le phylum des actinobactéries est constitué de plusieurs classes, ordres et sous-ordres. Dans la partie suivante un aperçu de la classification :

- **Phylum** : *Actinobacteria*

- **Classe** : *Actinobacteria*

- **Ordres** : Plusieurs, y compris *Actinomycetales*, *Bifidobacteriales*, *Corynebacteriales*, et d'autres.

- **Autres Classes** : *Rubrobacteria*, *Thermoleophilia*, *Coriobacteriia*, *Acidimicrobiia*, *Nitriliruptoria* (Barka et al., 2016)

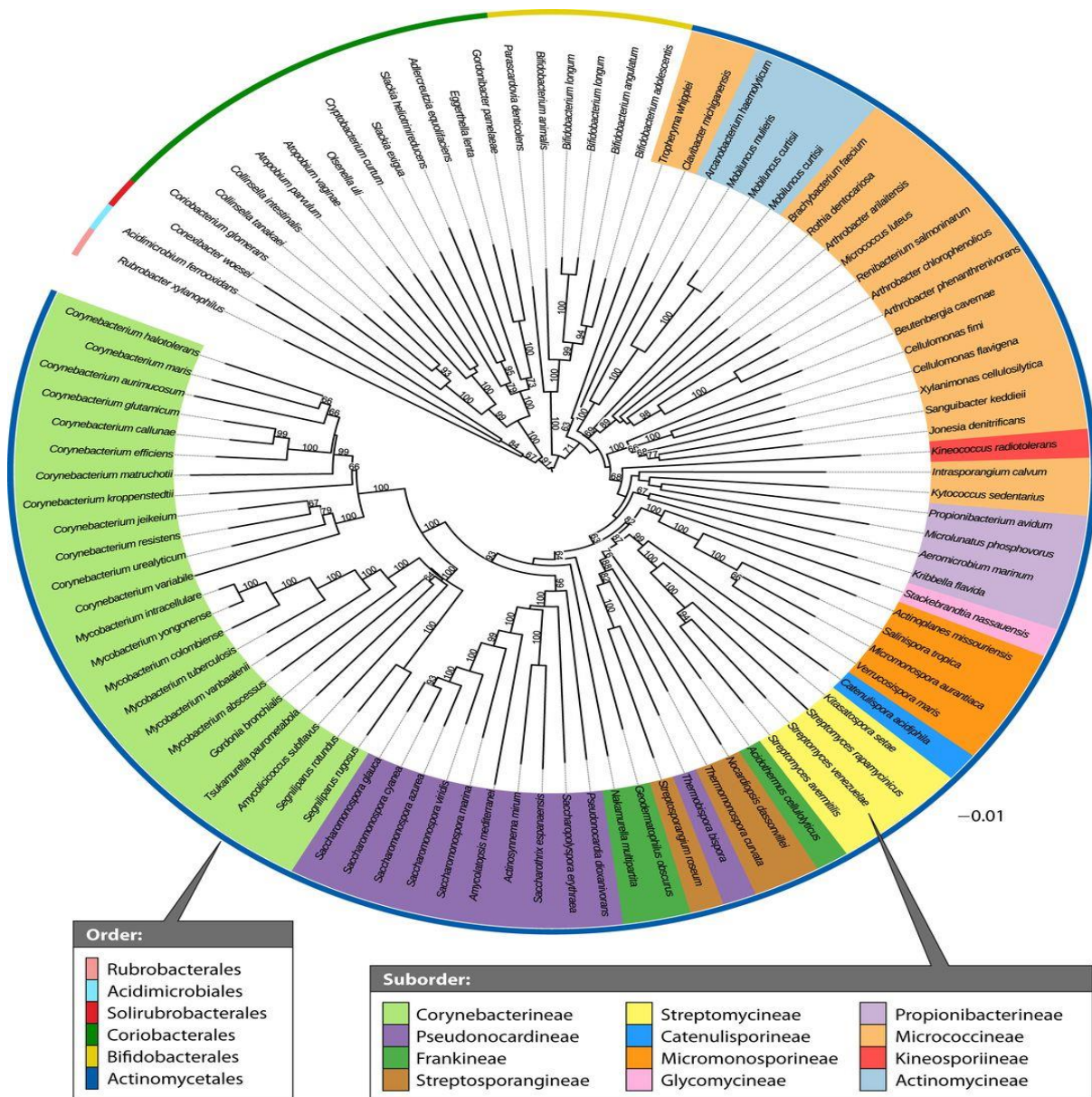


Figure 4. Arbre phylogénétique basé sur 97 séquences génomiques de l'embranchement des actinobactéries (Barka *et al.*, 2016).

I.5 Applications biotechnologiques des actinomycètes

➤ Les actinobactéries sont des micro-organismes très importants avec de nombreuses applications biotechnologiques, sont également reconnues pour leur rôle dans la production de métabolites secondaires avec des activités bioactives, y compris des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, anticancéreuses, antiparasitaires et immunosuppressives. Ils contribuent donc de manière significative aux secteurs de la biotechnologie et de la médecine (Ranjani *et al.*, 2016).

➤ **Production d'enzymes** : Les actinobactéries sont une source importante d'enzymes industrielles comme, lactase, la tyrosinase et la cellulase (Ranjani et *al.*, 2016).

➤ **Production des Bioherbicides** : Ils peuvent produire des substances qui aident à contrôler les mauvaises herbes comme herbicides contre les herbes et les mauvaises herbes indésirables (Ranjani et *al.*, 2016).

➤ **Production de Vitamines** : Certaines actinobactéries sont utilisées pour produire des vitamines, Les fermentations produisant les antibiotiques streptomycine, auréomycine, griséine et néomycine produiront également de la vitamine B12 si le milieu est complété par du cobalt, sans apparemment affecter les rendements en substances antibiotiques. (Ranjani et *al.*, 2016).

➤ **Production de Pigments** : Ils sont capables de produire des pigments naturels Ranjani et *al.*, (2016).

Tableau 1. Pigments d'actinobactéries (Ranjani et *al.*, 2016).

Pigment	Class	Actinobacteria
Rhodomycin	Anthracycline glycoside	<i>Synodontis violaceus</i> DSM 40704
Actinomycin	Phenoxazinone	<i>Streptomyces</i> sp.
III Undecylprodigiosin IV Metacycloprodigiosin	Prodigiosin	<i>Streptomyces longispororuber</i> DSM 40599
Granaticin	Naphthoquinone	<i>Streptomyces litmocidin</i> DSM 40164

➤ **Bioremédiation** : Ils jouent un rôle dans la dégradation des polluants et la purification de l'environnement, comme leur capacité à recycler le carbone organique et à dégrader les polymères complexes (Sanscartier et *al.*, 2009 ; Ranjani et *al.*, 2016).

➤ **Utilisation en lutte biologique** : Ils peuvent être utilisés pour contrôler les maladies des plantes et des insectes nuisibles En tant que source de composés agro-actifs de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et d'outils de lutte biologique, Actinobactérie est particulièrement intéressée par l'agro-industrie (Behal, 2000 ; Ranjani et *al.*, 2016).

II. Généralités sur les antibiotiques

Les actinobactéries sont connues par la production d'une grande variété d'antibiotiques, Près de 80 % des antibiotiques utilisés dans le monde proviennent d'actinobactéries, principalement des genres *Streptomyces* et *Micromonospor*. (Ranjani et al., 2016).

II.1 Définition des antibiotiques

Le terme antibiotique (du grec anti : contre, biotikos : sur la vie) est un adjectif utilisé pour la première fois en 1889, pour désigner une substance fabriquée par un organisme. Afin de détruire un autre organisme (Muylaert et al., 2012).

Un antibiotique est une substance qui inhibe les germes, d'origine biologique champignons microscopiques et bactéries. Ces substances chimiques ont la capacité d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres micro-organisme, (Yala et al., 2001).

II.2 Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques repose sur plusieurs critères, incluant leur structure chimique, leur mécanisme d'action et le spectre d'activité antibactérienne. Les antibiotiques peuvent être catégorisés en fonction de leur origine en antibiotiques naturels, semi-synthétiques et synthétiques. Selon leur structure chimique, ils sont divisés en groupes tels que les bêta-lactamines (qui incluent les pénicillines et les céphalosporines), les aminoglycosides, les macrolides, les tétracyclines, les quinolones et les glycopeptides. (Yala et al., 2001).

Tableau 2. Classes d'antibiotiques d'actinomycètes

Classe	Exemple	Organisme producteur
Aminoglycosides	Kanamycine A	<i>Streptomyces Kanamycétique</i>
Tétracyclines	Tétracycline	<i>Streptomyces auréofaciens</i>
Amphénicol	Chloramphénicol	<i>Streptomyces venezuela</i>
Macrolides	Érythromycine	<i>Saccharopolyspora érythrée</i>
Tuberactinomycines	Viomycine	<i>Streptomyces puniceus</i>
Glycopeptides	Vancomycine	<i>Amycolatopsis orientalis</i>
Lincosamides	Clindamycine	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
Ansamycines	Rifamycine SV	<i>Amycolatopsis rifamycinica</i>
Cyclosérines	Séromycine	<i>Streptomyces orchidaceus</i>

Streptogramines	Pristinamycine	<i>Streptomyces Pristinaespiralis</i>
Phosphonates	Fosfomycine	<i>Streptomyces fradiae</i>
Carbapénèmes	Méropéne	<i>Streptomyces Cattleya</i>
Lipopeptides	Lipopeptides	<i>Streptomyces roseosporus</i>
Lipiarmycines	Fidaxomicine	<i>Dactylosporange aurantiacum subsp. Hamdénèse</i>

Partie II.

Synthèse des articles

Chapitre II.

Matériel et méthodes

Notre travail consiste à une synthèse des articles étudiant les caractères et la classification des actinomycètes à partir des sols arides des différentes régions de l'Algérie.

II.1 Isolement des souches d'actinomycètes

L'isolement des actinobactéries est généralement réalisé par la technique de dilution sur divers milieux de culture. Parmi ces milieux, on trouve la gélose Glycérol Yeast Extract (GYE) et la gélose Glycérol Soil Extract (GSE), Water–Yeast extract–Agar (WYE), Bennett, et Glucose–Yeast extract–Malt (GLM) (Boudemagh *et al.*, 2005 ; Reggani *et al.*, 2021). En outre, deux milieux sélectifs sont utilisés : le milieu gélose complexe et la gélose acide humique-vitamines, qui peuvent être supplémentés ou non avec 20% de NaCl et 50 mg/l d'actidione (Meklat *et al.*, 2011 ; Meklat *et al.*, 2012 ; Meklat *et al.*, 2013 ; Zitouni *et al.*, 2005).

Selon, Boudjelal *et al.*, (2023) et Selama *et al.*, (2020) et Yekkour *et al.*, (2015) ; Meklat *et al.*, (2013) et Meklat *et al.*, (2012) et Meklat *et al.*, (2011) et Boudemagh *et al.*, (2005), chaque échantillon de sol sec a été mis en suspension dans de l'eau distillée stérile et dilué (10 g de sol dans 90 ml d'eau). Des aliquotes (0,2 ml) de chaque dilution ont été étalées sur un milieu gélose humique-vitamines additionné de NaCl (10 %) et de cycloheximide antifongique (50 µg/ml) pour inhiber la croissance des champignons. Les plaques de culture ont été incubées à 30°C pendant deux semaines.

Le **tab.3** présente les différents milieux d'isolement utilisés pour l'étude des halophiles actinomycètes.

Tableau 3. Les milieux d'isolement d'actinobactérie des défèrent région

Région	Milieux d'isolement	Références
Ain Loarak, Sebkhah de Bougtob, El Bayadh	GYM	Belgacem <i>et al.</i> (2023)
Sud-ouest et sud-est Béni-Abbès, Adrar, Bouda, Tolga, Touggourt, Tamanrasset, M'sila, Ourgala	Milieu R8 alcaline Trypticase-soy-agar (T.S.A)	Nouasri <i>et al.</i> (2023)

Tamanrasset	GYE GSE	Reggani et al. (2021)
Melghir et Taghit et Alger	NA (gélосé nutritive) Gélose de Widdel et Bak (BW)	Selama et al. (2020)
Sahara Algerine	ISP2	Harir et al. (2017)
El Bayadh		Benreguieg et al. (2017) Belgacem et al. (2023) Selama et al. (2020)
Bechar	Milieu agar chitine- vitamine	Yekkour et al. (2015)
Adrar, Bechar, Djelfa, El Golea, El Oued, Ghardaia, Laghouat, Ouargla et Tolga.	CM agar Acide humique- vitamines agar	Meklat et al. (2011) Meklat et al. (2012) Meklat et al. (2013) Boudjelal et al. (2023)

II.2 Étude de l'activité antimicrobienne

Pour évaluer les activités antimicrobiennes, les auteurs ont employé différentes techniques pour la mise en contact des souches étudiées, telles que les stries croisées, les cylindres d'agar, à l'égard de diverses souches pathogènes, bactéries et champignons.

II.2.1 Méthodes des stries croisées

L'activité antimicrobienne des souches actinobactérienne peut être évaluée sur différents : milieux ISP1 (gélose à la tryptone et à l'extrait de levure), ISP2 (gélose à l'extrait de levure et à l'extrait de malt), NA (gélose nutritive) et Bennett. Les souches actinobactérienne ont été inoculées en ligne droite sur les milieux de culture solides, puis incubée pendant 10 jours à 30°C. Après la période d'incubation, des micro-organismes cibles ont étéensemencés dans des stries perpendiculaires qui croisaient la strie de la souche étudiée. Après une nouvelle période d'incubation de 24 heures pour les bactéries et les levures à 30°C et de 48 heures pour les champignons filamenteux à 25°C, l'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant la distance d'inhibition entre les micro-organismes cibles et la souche actinobactérienne (Lahoum et al, 2019 ; Zitouni et al, 2005).

De même Reggani et *al.*, (2021) il a utilisé différents milieux sont Extrait de levure Glycérol « GYE », Extrait de sol Glycérol « GSE » et Mueller Hinton « MH », pour le criblage préliminaire de l'activité antibactérienne

II.2.2 Méthodes des cylindres d'agar

Selon Belgacem et *al.*, (2023) ; Benreguieg et *al.*, (2017) ; Boudjelal et *al.*, (2023), les 18 souches d'actinomycètes sont ensemencées en stries serrées sur 15 ml de milieu GYM. Après 7 jours d'incubation à 28°C, des cylindres de gélose de 6 mm de diamètre sont prélevés et placés sur le milieu Mueller-Hinton, ensemencé au préalable avec les bactéries testées à l'aide d'un écouvillon. Les boîtes de Pétri sont ensuite placées à 4°C pendant deux à quatre heures pour permettre la diffusion des substances actives, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Après cette incubation, l'activité antibactérienne est évaluée en mesurant la zone d'inhibition entre les micro-organismes cibles et la souche actinobactérienne.

Certains travaux utilisent les deux méthodes en même temps pour un résultat plus fiable comme Harir et *al.*, (2017). Ils ont réalisé un premier test à l'aide de la méthode de stries croisées contre des champignons et des levures choisis, tandis que le second test a été réalisé à l'aide du cylindre de gélose contre des bactéries pathogènes choisies.

Selon Boudemagh et *al.*, 2005 ; Yekkour et *al.*, 2015 ; Lahoum et *al.*, 2019 Benreguieg et *al.*, 2017 ; SELAMA et *al.*, 2020, les souches cibles utilisées pour évaluer l'activité Antibiotique sont issues de l'American Type Culture Collection (ATCC) et de l'Unité de mycologie de l'Institut Pasteur (UMIP).

Tableau 4. Résumé des souches cibles pour tester l'activité antibiotique d'actinomycètes.

Les champignons		Les bactéries
Les levures	Les moisissures	
<i>Candida albicans</i> UMIP 48,72,	<i>Aspergillus fumigatus</i> UMIP 1082,74.	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Candida albicans</i> UMIP 884,65,	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404 et <i>Fusarium</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> E13
<i>Candida tropicalis</i> R2 UMIP 1275,81.	<i>oxysporum</i> UMIP 625.72. <i>Alternaria</i> sp.,	<i>Escherichia coli</i> E52
<i>Candida albicans</i> ,	<i>Fusarium oxysporum</i> ,	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Kluyveromyces lactis</i> ,	<i>f.sp. Albedinis</i> ,	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	<i>Fusarium oxysporum</i>	IPA1
		<i>Salmonella enterica</i> E32
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922

<p><i>Candida albicans</i> C2, C3, IPA200</p> <p><i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4226</p>	<p><i>f.sp. lini, Penicillium</i> <i>sp Aspergillus</i> <i>carbonarius</i> M333, <i>Aspergillus flavus</i> AF3, <i>Aspergillus brasiliensis</i> ABI <i>A. carbonarius</i> AC1 <i>A. carbonarius</i> AC2 <i>A. flavus</i> NRRL 3251 <i>Fusarium culmorum</i> FC1 <i>F. oxysporum</i> <i>f. sp. albedinis</i> Foa1 <i>F. o.</i> <i>f. sp. radicans</i> <i>lycopersici</i> Forl, <i>Rhizoctonia solani</i> AG3</p>	
--	---	--

II.3 Identification moléculaire et analyses phylogénétiques des souches du gène de l'ARNr 16S

II.3.1 Extraction d'ADN

L'ADN de chaque bactérie est extrait en ajoutant dans un micro tube quelques colonies d'actinomycètes, 500 µl d'eau de biologie moléculaire de qualité stérile et 150 µl d'une solution de résine Chelex (15% [p/v] Chelex 100 résine, 0,1% [p/v] SDS, 1% [v/v] Nonidet P40, 1% [v/v] Tween 80). Le mélange est agité au vortex pendant 2 min puis chauffé à 100 °C pendant 30 min et centrifugé à 10.000 × g pendant 8 min (Boudemagh et al., 2005 ; Meklat et al., 2013 ; Boudjelal et al., 2023 ; Yekkour et al., 2015 ; Selama et al., 2020).

II.3.2 Amplification ADNr 16S

L'amplification est effectuée dans un thermocycleur (Hybaid, Omnigene Teddington, Royaume-Uni) dans les conditions suivantes : premier cycle de dénaturation à 94 °C pendant 10 min, 45 cycles de 30 s de dénaturation à 94 °C, puis 30 s d'hybridation à 58 °C et 30 s d'élongation à 72 °C, suivis d'un troisième cycle de 10 min d'élongation à 72 °C (Boudemagh et al., 2005 ; Meklat et al., 2013 ; Boudjelal et al., 2023 ; Yekkour et al., 2015 ; Selama et al., 2020).

Après amplification, 1 µl d'échantillon est analysé par électrophorèse horizontale sur un gel d'agarose à 2% (Ultrapure, Bio-Rad) contenant 0,5 µg/ml de bromure d'éthidium, dans un tampon TAE (40 mM Tris-acétate, 2 mM Na₂ EDTA₂ H₂O), (Boudemagh *et al.*, 2005 ; Selama *et al.*, 2020 ; Boudjelal *et al.*, 2023).

Tableau 5. Les amorces utilisées en PCR

Amorces	Séquences	Références
1492R 27F	5'-ACGGCTACC TTGTTACGACTT-3' 5'-AGT TTGATCCTGGCTCAG-3'	Gacem <i>et al.</i> , (2020) Boudjelal <i>et al.</i> , (2023) Selama <i>et al.</i> , (2020) Yekkour <i>et al.</i> , (2015)
91E 16S2	5' CGGGGCGAGTTAAG KAAACT 3' 5' GCC CGG GAA CGT ATT CAC 3'	Boudemagh <i>et al.</i> , (2005)
10-30 F 1500R	5'-GAGTTTGATC-CTGGCTCA-3' 5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3'	Meklat <i>et al.</i> , (2012)

Ensuite, la purification a été effectuée à l'aide d'un kit de nettoyage (Macherey-Nagel, Nucleo Spin, gel and PCR clean up, Düren, Allemagne). La purification des produits PCR a été confirmée par électrophorèse selon les mêmes conditions précédentes (Selama *et al.*, 2020).

II.3.3 Séquençage

Le séquençage des produits PCR a été effectué en utilisant cinq amorces : 27F, 518R, 1100F, 1100R et 1492R, au DSMZ. Les séquences d'ADN obtenues ont été visualisées et éditées à l'aide du logiciel Geneious V7 (Gacem *et al.*, 2020 ; Boudemagh *et al.*, 2005 ; Meklat *et al.*, 2013 ; Boudjelal *et al.*, 2023 ; Yekkour *et al.*, 2015 ; Selama *et al.*, 2020).

II.3.4 Analyses phylogénétiques

Les analyses phylogénétiques et d'évolution moléculaire sont effectuées généralement en utilisant MEGA (version 7.0). Et le programme CLUSTAL W a été utilisé pour aligner les séquences du gène de l'ARNr 16S des souches avec les séquences de nucléotides correspondantes des souches de référence extraites de GenBank et d'EzTaxon-e.

Les similitudes de séquences d'ARNr 16S entre les souches ont été calculées par alignement par paire à l'aide du serveur EzTaxon-e. Les arbres phylogénétiques ont été produits avec les algorithmes du maximum de vraisemblance et de l'assemblage des voisins à l'aide du logiciel Mega V7. La stabilité de la topologie des arbres phylogénétiques a été évaluée par la

méthode bootstrap à 1000 répétitions. Une matrice de distance a été générée en utilisant le modèle de Kimura à deux paramètres. Toutes les positions présentant des lacunes et des données manquantes ont été éliminées (Boudjelal et *al.*, 2023 ; Selama et *al.*, 2020 ; Yekkour et *al.*, 2015 ; Meklat et *al.*, 2013 ; Meklat et *al.*, 2012 ; Meklat et *al.*, 2011 ; Boudemagh et *al.*, 2005 ; Gacem et *al.*, 2020).

Chapitre III.

Résultats et discussion

Dans cette partie, nous présentons les principaux résultats obtenus dans les travaux analysés concernant l'étude de l'activité antibiotique des actinobactéries contre certaines souches cibles, ainsi que l'étude phylogénétique de ces bactéries.

III.1 Résultats de l'isolement

Les résultats d'isolement présentent une grande variété à travers diverses régions, ce qui met en évidence une vaste répartition des actinomycètes halophiles dans le Sahara algérien, ce qui indique une riche et une biodiversité microbienne dans ces environnements extrêmes.

Le **tab.6** présente les actinomycètes isolés par divers auteurs dans plusieurs régions du Sahara algérien.

Tableau 6. Les nombre d'isola par région d'étude

Région	Nombre d'isolats	Références
5 régions du Sahara Algérien	23	Boudjelal et <i>al.</i> (2023)
Adrar	1	Lahoum, et <i>al.</i> (2019)
Ain Loarak, Sebkhha de Bougtob, El Bayadh	18	Belgacem, et <i>al.</i> (2023)
Béni-Abbès, Adrar, Bouda, Tolga, Touggourt, Tamanrasset, M'sila, Ourgala	48	Nouasri et <i>al.</i> (2023)
Tamanrasset	10	Reggani et <i>al.</i> (2021)
Melghir et Taghit et Alger	10	Selama et <i>al.</i> (2020)
Sahara Algérien	32	Harir et <i>al.</i> (2017)
El Bayadh	52	Benreguiég et <i>al.</i> (2017)
Bechar	1	Yekkour et <i>al.</i> (2015)
Région de Oued Righ (El-Oued)	1	Meklat et <i>al.</i> (2013)
Ouargla	1	Meklat et <i>al.</i> (2012)

Adrar, Bechar, Djelfa, El Golea, El Oued, Ghardaia, Laghouat, Ouargla et Tolga.	52	Meklat et al. (2011)
Ourgla, Biskra et El-Oued	86	Zitouni et al. (2005)
Ourgla, Biskra et El-Oued	27	Boudemagh et al. (2005)

D'abord on remarque qu'un grand nombre d'actinomycètes, (avec 86 et 52) est isolés à partir des régions Ouargla, Biskra et El-Oued et El Bayadh, Adrar, Bechar, Djelfa, El Golea, El Oued, Ghardaia, Laghouat. Ces régions montrent une prévalence significative de ces bactéries, suggérant des conditions environnementales similaires propices à leur prolifération,

De même, nous constatons que des nombres moins a été isolé dans d'autres régions, à savoir : Melghir et Taghit et Alger et Tamarrasset, avec 10 isolats. Ce nombre reste important par rapport aux régions suivantes dans lesquelles une seule souche a été isolée : région d'Oued Righ, Bechar et Adrar. Ce résultat faible n'indique pas la pauvreté de ces régions en actinobactéries mais il est dû à que les auteurs ont focalisé leurs études sur un seul isolat.

La distribution de l'utilisation des différents milieux d'isolation est présentée dans la **fig.5**, avec une forte préférence pour CMA et ISP2, GYM.

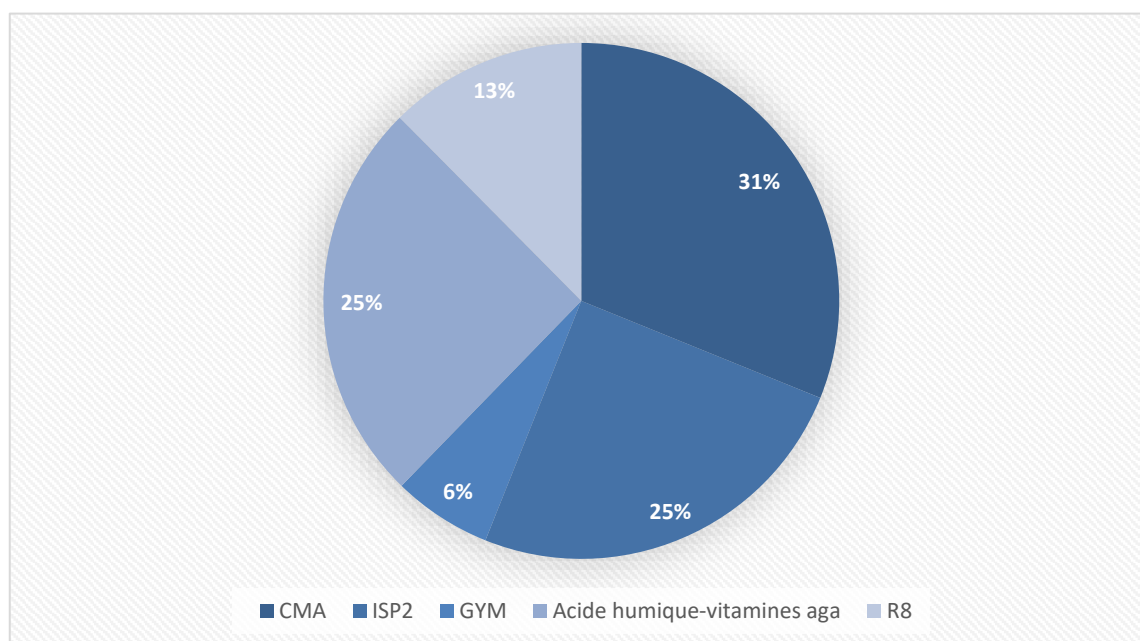


Figure 5. Répartition des milieux selon le pourcentage d'utilisation

La **fig.5** montre une répartition variée de quatre différents types des milieux d'isolement, avec une prédominance du CMA et l'utilisation égale entre l'ISP2 et du GYM, tandis que l'acide humique-vitamines agar et le R8 sont moins utilisés. Cela pourrait être pertinent pour comprendre les préférences ou l'efficacité dans le contexte où ces milieux sont appliqués.

Le CMA, dominant avec 31%, pourrait indiquer une efficacité pour ce milieu dans certaines conditions expérimentales. L'ISP2 et le GYM, partageant chacun 25%, suggèrent qu'ils sont également favorisés et pourraient avoir des propriétés similaires ou complémentaires au CMA. L'acide humique-vitamines agar, avec seulement 13%, et le R8, avec 6%, ce qui pourrait indiquer qu'ils sont moins efficaces ou moins adaptés à l'isolement. Ce qui pourrait refléter leur moindre efficacité ou leur utilisation dans des conditions plus spécifiques. Cette analyse comparative met en lumière les choix stratégiques des chercheurs et pourrait guider les décisions pour de futures expériences.

Les milieux CMA et ISP2 et GYM sont généralement utilisés en raison de leur composition, de leur pH ou d'autres caractéristiques qui favorisent l'isolement sélectif des actinobactéries.

Ce schéma **Fig.6** illustre les différences dans les résultats des diverses recherches sur l'isolement des souches.

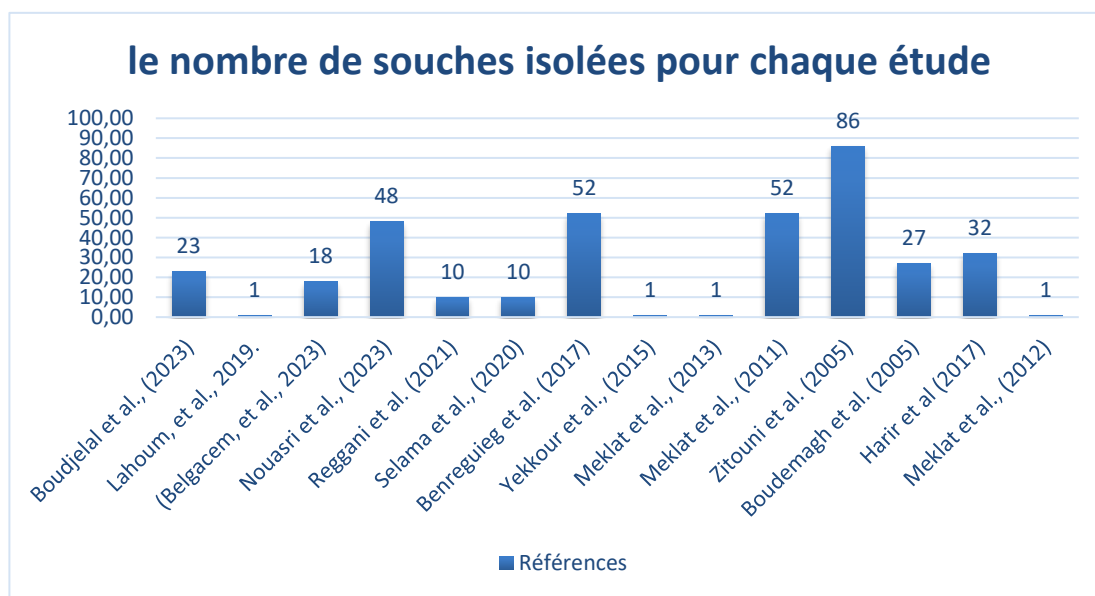


Figure 6. Répartition des souches isolées

La **fig.6** montre une variabilité notable dans le nombre de souches isolées par différentes études. Certaines études, comme celles de Boudemagh et *al.*, (2005) et de Yekkour et *al.*, (2015), ont réussi à isoler un grand nombre de souches (86 et 52 respectivement), tandis que

d'autres, telles que celles de Lahoum et *al.*, (2019) et Meklat et *al.*, (2012) et Meklat et *al.*, (2013), n'ont isolé qu'une seule souche, indiquant des différences dans les conditions expérimentales ou l'efficacité des méthodes utilisées.

III.2 Résultats de l'activité antibiotiques

Selon les recherches, il est possible que différentes méthodes soient employées pour mettre en évidence l'activité antibiotique des Actinobactéries. La technique des stries croisées est la plus répandue, elle est utilisée dans 52% des cas. En comparaison, la méthode des cylindres d'agar est employée à 42%, ce qui suggère une certaine aversion pour cette méthode. Enfin, une combinaison des deux approches n'est utilisée que dans 6 % des cas, ce qui suggère qu'il est rare d'utiliser ces deux en même temps (**fig.7**).

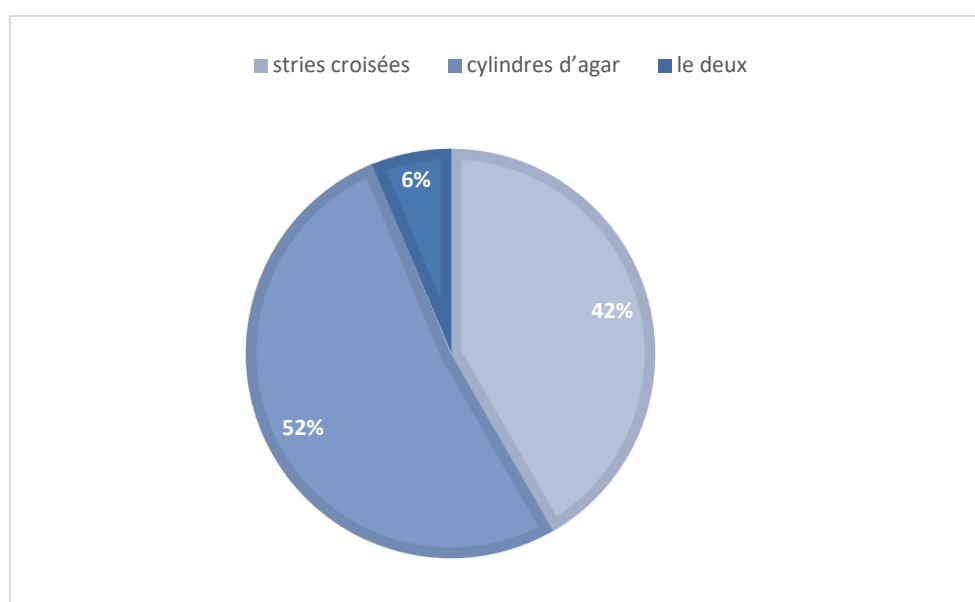


Figure 7. Répartition des méthodes utilisé

D'après la **fig.7**, divers milieux de culture sont employés dans le but même, mais il est possible de constater que le milieu ISP2 est le plus propice à la production de substances antimicrobiennes.

Les résultats des articles montrent que certaines souches isolées présentent une activité antimicrobienne élevée et faible dans plusieurs régions arides contre *Candida albicans*, *Escherichia coli*, et *Aspergillus flavus*. Les résultats varient comme les isola de Ouargla présenté que la souche H16 elle a très forte activité contre *Klebsiella pneumoniae* avec une zone d'inhibition de 42 mm. Par contre Aucune activité n'a été observée contre *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum* ou *Candida albicans* (Meklat et *al.*, 2012).

On a observé à partir les résultats de Yekkour et *al.*, (2015) et Benreguiég et *al.*, (2017) et Belgacem et *al.*, (2023), une forte activité antimicrobienne de la souche isolée de Bechar contre *Bacillus subtilis* et *Fusarium culmorum*, avec des distances d'inhibition supérieures à 38 mm. De même, ont trouvé que la souche d'actinobactérie isolée avait une faible efficacité contre *Salmonella Typhimurium* et *Candida albicans* (moins de 20 mm).

De même, On a observé les résultats montrent que la souche MBA07 testée présentent une activité antimicrobienne variable contre différents pathogènes, avec les plus grandes zones d'inhibition observées contre *Bacillus subtilis* (22 mm) et *Aspergillus flavus* (20 mm), et les plus petites zones contre *Salmonella Typhimurium* (11 mm) et *Penicillium expansum* (12 mm). Ces variations indiquent l'efficacité spécifique des souches contre certains microorganismes et une moindre efficacité contre d'autres. (Benreguiég et *al.*, 2017)

Alors que, Belgacem et *al.*, (2023) et Harir et *al.*, (2017) rapportent que Parmi les 32 actinomycètes prélevés dans les sols du Sahara algérien, 3 souches appelés C, MS1 et 10 démontré des propriétés antimicrobiennes à large spectre contre diverses bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus*, avec la plus grande zone d'inhibition 35 mm.

Selon les résultats de Boudemagh et *al.*, (2005) la sélection de 27 actinomycètes provenant des sols sahariens du sud-est algérien, il a été constaté que seulement 7,4 % des souches ont une activité antibactérienne. Ce petit taux est contraire à Benreguiég et *al.*, (2017), qui montre que la première sélection, environ 79 % des souches isolées présentent une activité antimicrobienne importante.

Des résultats similaires sont obtenus par Benreguiég et *al.*, (2017) et Yekkour et *al.*, (2015) dont l'activité antimicrobienne des actinobactéries isolées à partir de Bechar et El Bayedh était très élevée contre *Bacillus subtilis* ; *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Le **tab.7** résume les résultats des 40 Actinobactéries isolés des différentes régions sur différents milieux de culture et par différentes méthodes ainsi les différentes souches cibles.

On peut conclure à partir de ces résultats de le **tab.7** que les actinomycètes possèdent une capacité significative à produire certains composants, notamment les antibiotiques.

Tableau 7. Les résultats de l'activité antibactérienne

Nombre d'isolats	Région	Souche cible	Activité observé	Références
Une seule souche	Bechar	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	+++	Yekkour et al. (2015)
		<i>Staphylococcus aureus</i>	++	
		<i>Enterobacter cloacae</i> E13	++	
		<i>Escherichia coli</i> E52	+++	
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	++	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IPA1	++	
		<i>Salmonella enterica</i> E32	+	
		<i>Fusarium culmorum</i>	+++	
		<i>Fusarium moniliforme</i>	++	
		<i>Fusarium sporotrichoides</i>	++	
		<i>Fusarium graminearum</i>	++	
		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. lini	++	
		<i>F. oxysporum</i> f. sp. albedinis	++	
		<i>Fusarium proliferatum</i>	++	
		<i>Fusarium equiseti</i>	+++	
		<i>Aspergillus carbonarius</i>	+++	
		<i>Aspergillus niger</i>	++	
		<i>Aspergillus flavus</i>	++	
		<i>Aspergillus parasiticus</i>	++	
		<i>Penicillium glabrum</i>	+++	
<i>Penicillium expansum</i>	+++			
<i>Umbelopsis ramanniana</i>	+++			
<i>Candida albicans</i> IPA 200	+			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4226	+++			
Une seule souche	Adrar	<i>Candida albicans</i> M2	ISP2 +++	Lahoum et al. (2019)
			Bennett +++	
		<i>Candida albicans</i> M3	ISP2 +++	
			Bennett +++	
		<i>Candida albicans</i> IPA200	ISP2 +++	
			Bennett +++	
		<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4226	ISP2 +++	
			Bennett +++	
<i>Aspergillus brasiliensis</i> AB1	ISP2 +++			

			Bennett +++	
		<i>Aspergillus carbonarius AC1</i>	ISP2 +++ Bennett +++	
		<i>Aspergillus carbonarius AC2</i>	ISP2 +++ Bennett +++	
		<i>Aspergillus flavus NRRL 3251</i>	ISP2 +++ Bennett +++	
		<i>Fusarium culmorum FC1</i>	ISP2 +++ Bennett +++	
		<i>Fusarium oxysporum f. sp. albedinis Foa1</i>	ISP2 +++ Bennett +++	
		<i>Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici Forl</i>	ISP2 +++ Bennett +++	
		<i>Rhizoctonia solani AG3</i>	ISP2 +++ Bennett +++	
Une seule souche	El Bayedh	<i>Bacillus subtilis</i>	+++	Benreguieg et al. (2017)
		<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	
		<i>Listeria monocytogenes</i>	+++	
		MRSA	++	
		<i>Enterococcus faecalis</i>	+++	
		<i>Escherichia coli</i>	+++	
		<i>Salmonella Typhimurium</i>	+	
		<i>Candida albicans</i>	++	
		<i>Penicillium expansum</i>	++	
		<i>Aspergillus flavus</i>	+++	
<i>Fusarium graminearum</i>	++			

		<i>Aspergillus ochraceus</i>	+++		
		<i>Aspergillus parasiticus</i>	++		
27	Ourgla, Biskra et El-Oeud.	<i>Candida albicans</i> UMIP 48,72,	GLM ++	Boudemagh A et <i>al.</i> (2005)	
			Bennett –		
		<i>Candida albicans</i> UMIP 884,65,	GLM ++		
			Bennett -		
		<i>Candida tropicalis</i> R2 UMIP 1275,81	GLM ++		
			Bennett -		
		<i>Aspergillus fumigatus</i> UMIP 1082,74.	GLM +		
			Bennett +		
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	GLM ++				
	Bennett +				
<i>Fusarium oxysporum</i> UMIP 625.72	GLM ++				
	Bennett +				
10	Melghir et Taghit	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	NA (2s) ++	Selama et <i>al.</i> (2020)	
			(4s) - -		
			BW (3s) ++		
			(1s) - -		
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25853		NA (1s) ++
					(5s) - -
		Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) ATCC 433	BW (4s) - -		
			NA (5s) ++		
		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	(1s) +++		
			BW (4s) ++		
			NA (1s) ++		
			(5s) - -		
	BW (4s) - -				

+++ : Activité antibactérienne très forte ; ++ : Activité antibactérienne forte ; + : Activité antibactérienne faible ; -- Aucune activité ; s : souche.

III.3 Résultat de l'identification moléculaire

Le **tab.8** présente les résultats de l'identification moléculaire de diverses souches et isolats d'actinomycètes halophiles issus des sols sahariens d'Algérie, ainsi que leur pourcentage de similarité avec des espèces de référence.

Tableau 8. Résultat de l'identification moléculaire et le pourcentage d'homologie

Étude	Souche/Isolat	Genre	Espèce	Similarité (%)
Meklat et al. (2012)	H16	<i>Actinopolyspora</i>	<i>Actinopolyspora mortivallis</i> DSM 44261T	98,7
Yekkour et al. (2015)	WAB9	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces ambofaciens</i> ATCC 23877T	99,85
Meklat et al. (2013)	H23T	<i>Actinopolyspora</i>	<i>Actinopolyspora</i>	94,8 - 97,8
Boudjelal et al. (2023)	Les groupe I, II, III + AH4	<i>Nocardiopsis</i>	<i>Nocardiopsis xinjiangensis</i>	99,4 à 99,8
			<i>Nocardiopsis litoralis</i>	99,7
	<i>N. kunsanensis</i>		99,5	
	Groupe V		<i>Nocardiopsis litoralis</i>	99,3 à 99,6
Gacem et al. (2020)	Isolats	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces lasiicapitis</i>	99,93
Boudemagh et al. (2005)	Isolat 30	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces spectabilis</i>	98,96
			<i>Streptomycescaviscabies</i>	100
			<i>Streptomyces griseus</i>	100
			<i>Streptomyces setonii</i>	100
	Isolat C3	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces himgiriensis</i>	99
			<i>Streptomyces virginiae</i>	99
			<i>Streptomyces lavendulae</i>	99
			<i>Streptomyces subrutilus</i>	99

Les genres d'actinobactéries sont généralement caractérisés par l'étude des caractéristiques morphologiques, macroscopiques et microscopiques, des souches

d'actinobactéries. Les caractéristiques biochimiques et physiologiques et l'identification moléculaire jouent un rôle important dans l'identification plus ou moins précise de l'espèce et est la méthode la plus recommandée par la plupart des auteurs pour déterminer la position phylogénétique des souches avec un taux d'homologie élevé et identifier les microorganismes.

Pour obtenir les résultats de l'identification moléculaire, les méthodes de PCR et séquençage ont été utilisées et les informations génétiques sont collectées à partir de la séquence de l'ADNr 16S des actinobactéries étudiées et comparées avec d'autres de la GENBANK.

De plus, les résultats de Boudemagh et *al.*, (2005) révèlent des similarités de 100 % pour certains isolats avec des espèces du genre *Streptomyces* sont *Streptomyces caviscabies* et *Streptomyces griseus*, confirmant une identification précise au niveau de l'espèce.

Par contre les résultats de Boudjelal et *al.*, (2023) montrent que 23 isolats appartiennent au genre *Nocardiopsis* et révèlent des similarités de 99,4 à 99,8% comme il est indiqué sur le **tab 8**.

Les études de Meklat et *al.*, (2012) et Meklat et *al.*, (2013) et Yekkour et *al.*, (2015) montrent que les espèces *Actinopolyspora* et *Streptomyces* ont été majoritairement identifiées, avec des pourcentages de similarité allant de 94,8 % à 99,85 %. Boudjelal et *al.*, (2023) et Gacem et *al.*, (2020) ont également identifié des espèces du genre *Nocardiopsis* avec des similarités de 99,3 % à 99,7 %.

Ces études soulignent la richesse et la diversité des actinobactéries dans les sols algériens, avec une mention particulière pour les zones sèches, où une plus grande variété et une efficacité antibactérienne accrue ont été observées.

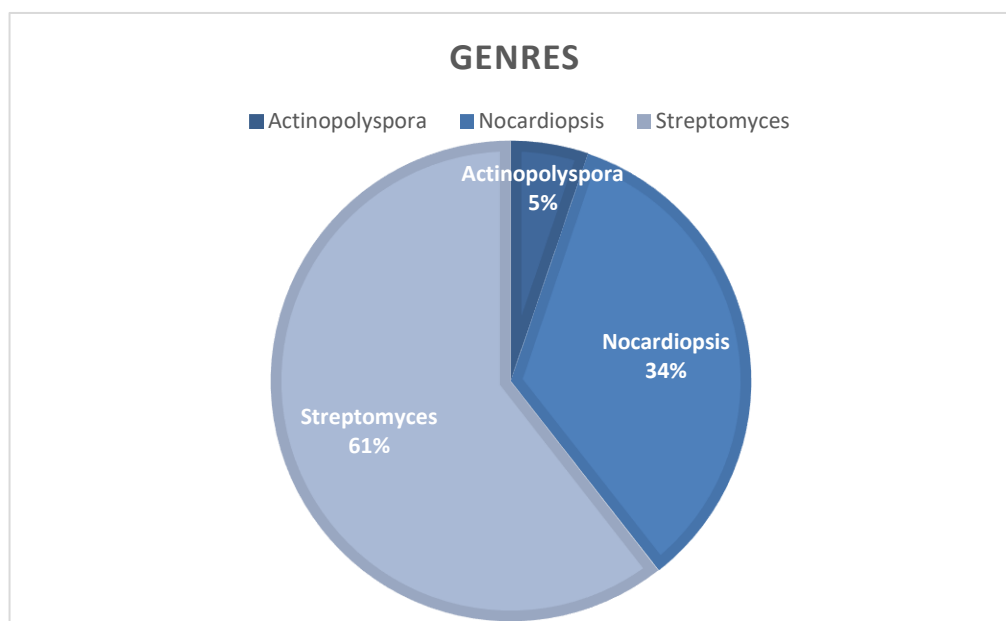


Figure 8. Pourcentage d'homologie de l'identification moléculaire

D'après la **fig.8** et le **tab.87**, l'identification moléculaire et le pourcentage d'homologie pour les genres d'actinomycètes halophiles isolé à partir de les sols sahariens d'Algérie, le genre *Streptomyces* domine avec 61 % des isolats et les espèces suivantes sont présentées: *Streptomyces ambofaciens* ATCC 23877T, *Streptomyces lasiicapitis*, *Streptomyces spectabilis*, *Streptomycescaviscabies*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces setonii*, *Streptomyces himgiriensis*, *Streptomyces virginiae*, *Streptomyces lavendulae*, dans les régions suivantes : Bechar, Ouargla, Biskra et El-Oued (Yekkour et *al.*, 2015 ; Boudemagh et *al.*, 2005).

Par la suite, on retrouve le genre *Nocardiopsis*, qui compte pour 34% des isolats et présentées les espèces suivantes : *Nocardiopsis xinjiangensis* ; *Nocardiopsis litoralis* ; *N. kunsanensis*, à partir de 5 régions du Sahara Algérien (Boudjelal et *al.*, (2023).

Enfin, 5% des isolats sont du genre *Actinopolyspora*, Nous observons l'apparition d'une *Actinopolyspora mortivallis* DSM 44261T dans Ouargla (Meklat et *al.*, (2012) ; Meklat et *al.*, (2013).

La diversité des actinomycètes présents dans cet environnement extrême est mise en évidence par ces résultats, mettant en évidence l'importance de ces micro-organismes pour des applications biotechnologiques potentielles, en particulier en raison de leur capacité à survivre et à prospérer dans des conditions de forte salinité.

Conclusion

Conclusion

La propagation des maladies causées par des champignons et des bactéries pathogènes résistants constitue aujourd'hui un problème de santé majeur, et la nécessité de rechercher de nouvelles substances bioactives contre ces champignons et bactéries pathogènes est une étape essentielle vers la lutte contre ces maladies.

L'objectif principal de cette étude est de présenter une synthèse des résultats sur les actinobactéries isolés et identifiés des sols arides d'Algérie, en mettant en évidence leur activité inhibitrice vis-à-vis de certaines bactéries et champignons pathogènes.

L'étude des souches des actinobactéries par les différents auteurs a met en évidence une disparité dans les résultats obtenus, même s'ils ont utilisé la même méthode d'isolement. Comme exemple, le nombre d'isolats obtenus est le plus élevé chez Zitouni et *al.*, (2005) dont ils ont isolé 86 souches par contre Lahoum, et *al.*, (2019) il a isolé une seule souche à partir de Adrar. Ces différences peuvent être dues à la diversité des sites d'échantillonnage (sol saharien, sol d'ouest d'Algérie...).

La méthode de dilution apparaît comme la plus efficace en termes d'isolement, puisqu'elle est utilisée dans 100 % par des travaux analysés.

Afin de déterminer l'efficacité antimicrobienne des actinobactéries isolées, les chercheurs ont utilisé des micro-organismes cibles référencés par des collections internationales telles que l'American Type Culture Collection (ATCC) et d'autres, pour effectuer un screening antimicrobien de toutes les souches isolées.

Ils ont utilisé différentes techniques pour la mise en évidence de cette activité, telles que cylindres d'agar et les stries croisées, contre les diverses souches pathogènes, bactéries et champignons.

Les résultats obtenus sont variés, et on remarque que :

La souche H16 de Ouargla montrait une très forte activité contre *Klebsiella pneumoniae*, Par contre aucune activité n'a été observée contre *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum* ou *Candida albicans*.

L'activité antimicrobienne des actinobactéries isolées à partir de Bechar et El Bayedh était très élevée contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Conclusion

-Deux étapes principales ont été suivies par les différents auteurs pour identifier leurs isolats, à savoir l'identification phénotypique et l'identification moléculaire, afin d'obtenir une connaissance plus précise des espèces étudiées.

-Plus de 50% des chercheurs ont trouvé des souches appartenant au genre *Streptomyces*.

-L'identification moléculaire est importante pour la détermination des espèces. C'est la méthode recommandée par la plupart des auteurs pour la localisation phylogénétique des souches avec un taux d'homologie élevé et l'identification des micro-organismes.

Enfin, il faut noter que malgré ces travaux, les études sur les caractères moléculaires sont encore à un stade initial et insuffisantes en Algérie.

Plusieurs perspectives et recommandations peuvent être envisagées :

- ♦ Il est très intéressant de développer et améliorer les études et la recherche sur la biodiversité des actinomycètes dans d'autres régions arides et humides en Algérie
- ♦ Le développement de techniques de culture plus efficaces pour l'isolement d'espèces d'actinobactéries nouvelles et rares,
- ♦ Conception et création d'une banque de cultures (Souchier) algériennes d'actinomycètes.

Références bibliographiques

A

Abdelhadi, N. C. (2018, July 20). Antimicrobial activities of novel bipyridine compounds produced by a new strain of *Saccharothrix* isolated from Saharan soil. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 56–65.

B

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H. P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2015). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 80(1), 1–43.

Belgacem, H., Benreguieg, M., Adli, D. E. H., & Benzerga, A. (2023). Antifungal and antioxidant activities of actinobacteria isolated from Algerian desert soils. *Journal of Applied Biological Sciences*, 17(1), 20-38.

Bhat, M. K. (2000). Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances, 18*, 355-383.

Belyagoubi L., Belyagoubi-Benhammou N., Jurado V., Dupont J., Lacoste S., Djebbah F., Ounadjela F.Z., Benaissa S., Habi S., Abdelouahi D.E. and Saiz-Jimenez C., 2018. Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi) isolated from Chaabe Cave, Algeria. *International Journal of Speleology*, 47 (2), 189-199.

Boudjelal, F., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2010). Taxonomy and antimicrobial activities of two novel halophilic *Saccharomonospora* strains isolated in Algerian Sahara soils. *Annals of Microbiology, 61*(2), 299-305.

Boudjella, H., Bouti, K., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2006). Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium* Sg 10 isolated from a Saharan soil. *Microbiological Research, 161*(4), 288-298.

Badji, B (2006). Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura* et *Nonomurea*. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. P.226.

Référence bibliographique

Benreguieg, Adli, Hachem, & Kaid. (2017). Bioactive compound produced from Algerian arid soil *Streptomyces* MBA07 and its antimicrobial activity. *Bioscience Research, 14*(3), 678-685.

Boudemagh, A., M. Kitouni, F. Boughachiche, H. Hamdiken, L. Oulmi, S. Reghioua, H. Zerizer, et al. (2005) . "Isolement et identification moléculaire d'actinomycètes de quelques sols sahariens du Sud-est de l'Algérie (Biskra, El-oued et Ourgla) Etude de l'activité antifongique des souches isolées." *Journal de Mycologie Médicale* 39–44.

Boudjelal, A., Zitouni, A., Bouras, N., Spröer, C., Klenk, H., Smaoui, S., & Mathieu, F. (2023). Rare halophilic *Nocardiosis* from Algerian Saharan soils as tools for biotechnological processes in pharmaceutical industry. *BioMed Research International, 13*.

G

Gacem, M. A., Ould-El-Hadj-Khelil, A., Boudjemaa, B., Wink, J. 2020. Antimicrobial and antioxidant effects of a forest actinobacterium v 002 as new producer of Spectinabilin, Undecylprodigiosin and Metacycloprodigiosin. *Current microbiology, 77(10), 2575-2583*

H

Habiba, M. D. (2023). Antifungal and antioxidant activities of actinobacteria isolated from Algerian desert soils. *Journal of Applied Biological Sciences*, 17(1), 20-38.

Harir, M.Bellahcene, Z.Fortas, M.José, A.García, V.Antonio, and R.Susana. 2017. "Isolation and Characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara Soils with Antimicrobial Activities." *International Journal of Molecular and Cellular Medicine (IJMCM)* Vol 6: 110-120.

Hacène H., Sabaou N., Bounaga N., Lefevre G. 1994. Screening for non-polyenic antifungal antibiotics produced by rare Actinomycetales. *Microbios; 79:81–5.*

L

Lahoum, N.Sabaou, C.Bijani, N.Bouras, F.Pont, P.Snini, and F.Mathieu. (2019). "Antimicrobial activities of novel bipyridine compounds produced by a new strain of *Saccharothrix* isolated from Saharan soil." *Saudi Pharmaceutical Journal* 56–65.

M

Messaoudi, O., Bendahou, M., Benamar, I., & Abdelwouhid, D. E. 2015. Identification and preliminary characterization of non-polyene antibiotic secreted by new strain of actinomycete isolated from sebkha of Kenadsa, Algeria. *Asian pacific journal of Tropical biomedicine*, 5(6) :438-445.

Meklat, A., & Sabaou, N. (2011). Isolation, taxonomy, and antagonistic properties of halophilic actinomycetes in Saharan soils of Algeria. *American Society for Microbiology*, 77(18), 6710–6714.

Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., & Sabaou, N. (2013). *Actinopolyspora righensis* sp. Nov., a novel halophilic actinomycete isolated from Saharan soil in Algeria. *Open Archive Toulouse Archive Ouverte (OATAO)*, 104(3), 301-307.

Meklat, A., Sabaou, N., Bouras, N., Zitouni, A., Spröer, C., Klenk, H., & Lebrihi, A. (2012). A novel strain of **Actinopolyspora mortivallis** with antibacterial activity isolated from a Saharan soil. **Annals of Microbiology**, 62, 1049–1057.

Meklat, Atika Nouredine Bouras, Salim Mokrane, Abdelghani Zitouni, Nadjette Djemouai, Isolation, Classification and Antagonistic Properties of Alkalitolerant Actinobacteria from Algerian Saharan Soils. *Geomicrobiology Journal*, 2020, 37 (9), pp.826-836.

N

Nouasri, A. A., Zitouni, A., & Toumi, M. (2023). Étude taxonomiques de deux genres d'actinobactérie isolés de sols sahariens algériens. **Revue Agrobiologia**, 3574-3586.

O

Ouchene Rima, Laurent Intertaglia, Nawel Zaatout, Mouloud Kecha, Marcelino Suzuki. Selective isolation, antimicrobial screening, and phylogenetic diversity of marine actinomycetes derived from the Coast of Bejaia City, Algeria, a polluted and microbiologically unexplored environment. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132 (4), pp.2870-2882.

R

Ranjani, A., Dhanasekaran, D., & Gopinath, P. M. (2016). An Introduction to Actinobacteria. InTech. doi: 10.5772/62329

Reggani, K., Drici, H., & Ghallai, L. (2021). Morphological characterization and preliminary screening for antibacterial activity of actinobacteria strains isolated from Tamanrasset soil as a hyper arid region in southern Algeria. **Algerian Journal of Arid Environment*, 11*, 4-21.

S

Selama, O., Sifi, K., Djabrouhou, A. S., Anad, A., Abderrahmani, A., Wellington, E. M. H., & Hacene, H. (2020). Screening for antimicrobial activity from UV-tolerant actinobacteria and spore-forming bacteria strains isolated from the Algerian Sahara Desert soils after UVC exposition. **Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie**, 162-170.

V

Van der Meij, A., Worsley, S. F., Hutchings, M. I., & Van Wezel, G. P. (2017). Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes. **FEMS Microbiology Reviews*, 41*(3), 392-416.

Y

Yekkour, A., A. Meklat, C. Bijani, O. Toumatia, R. Errakhi, A. Lebrihi, F. Mathieu, A. Zitouni, and N. Sabaou. 2015. "A novel hydroxamic acid-containing antibiotic produced by a Saharan soil-living *Streptomyces* strain." *Letters in applied Microbiology* 60 (6): 589-596.

Yala, D., Merad, A. S., Mohamed, D., Ouar Korich, M. N. (2001). Classification et Yunnan, China. *Applied and Environmental Microbiology, 62*, 244-248.

Z

Zitouni, A., Boudjella, H., Lamari, L., Badji, B., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2005). Nocardiosis and Saccharothrix genera in Saharan soils in Algeria: Isolation, biological activities, and partial characterization of antibiotics. *Research in Microbiology, 156*, 984–993.

Annexes

Annexe: Les articles utilisés

- Benreguieg, B., Adli, M. E., & Benzerga, A. (2023).** Antifungal and antioxidant activities of actinobacteria isolated from Algerian desert soils. *Journal of Applied Biological Sciences*, 17(1), 20-38.
- Benreguieg, H., Adli, M., Hachem, R., & Kaid, N. (2017).** Bioactive compound produced from Algerian arid soil *Streptomyces* MBA07 and its antimicrobial activity. *Bioscience Research*, 14(3), 678-685.
- Boudemagh, A., Kitouni, M., Boughachiche, F., Hamdiken, H., Oulmi, L., Reghioua, S., & Boiron, P. (2005).** Isolement et identification moléculaire d'actinomycètes de quelques sols sahariens du Sud-est de l'Algérie (Biskra, El-oued et Ouargla) Etude de l'activité antifongique des souches isolées. *Journal de Mycologie Médicale*, 15(1), 39–44.
- Boudjelal, F., Zitouni, A., Bouras, N., Spröer, C., Klenk, H., Smaoui, S., & Mathieu, F. (2023).** Rare halophilic *Nocardiosis* from Algerian Saharan soils as tools for biotechnological processes in the pharmaceutical industry. *BioMed Research International*, 2023, 13.
- Boukaya, N., & Yekkour, M. (2018).** Biocontrol and plant-growth-promoting capacities of actinobacterial strains from the Algerian Sahara and characterization of *Streptosporangium becharense* SG1 as a promising biocontrol agent. *Biocontrol Science and Technology*, 28(9), 858-873.
- Gacem, M. A., Ould El Hadj Khelil, A., Boudjemaa, B., & Wink, J. (2020).** Antimicrobial and antioxidant effects of a forest actinobacterium V002 as a new producer of spectinabilin, undecylprodigiosin, and metacycloprodigiosin. *Current Microbiology*.
- Harir, M., Bellahcene, M., Fortas, Z., José, M., García, A., Antonio, V., & Susana, R. (2017).** Isolation and characterization of actinobacteria from Algerian Sahara soils with antimicrobial activities. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine (IJMCM)*, 6, 110-120.
- Lahoum, A., Sabaou, N., Bijani, C., Bouras, N., Pont, F., Snini, P., & Mathieu, F. (2019).** Antimicrobial activities of novel bipyridine compounds produced by a new strain of *Saccharothrix* isolated from Saharan soil. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(1), 56-65.
- Meklat, A., & Sabaou, N. (2011).** Isolation, taxonomy, and antagonistic properties of halophilic actinomycetes in Saharan soils of Algeria. *American Society for Microbiology*, 77(18), 6710–6714.

- Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., & Sabaou, N. (2013).** *Actinopolyspora righensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from Saharan soil in Algeria. *Open Archive Toulouse Archive Ouverte (OATAO)*, 104(3), 301-307.
- Meklat, A., Sabaou, N., Bouras, N., Zitouni, A., Spröer, C., Klenk, H., & Lebrihi, A. (2012).** A novel strain of *Actinopolyspora mortivallis* with antibacterial activity isolated from a Saharan soil. *Annals of Microbiology*, 62, 1049–1057.
- Nouasri, A. A., Zitouni, A., & Toumi, M. (2023).** Études taxonomiques de deux genres d'actinobactérie isolés de sols sahariens algériens. *Revue Agrobiologia*, 3574-3586.
- Reggani, K., Drici, H., & Ghallai, L. (2021).** Morphological characterization and preliminary screening for antibacterial activity of actinobacteria strains isolated from Tamanrasset soil as a hyper arid region in southern Algeria. *Algerian Journal of Arid Environment*, 11*, 4-21.
- Selama, O., Sifi, K., Djabrouhou, A. S., Anad, A., Abderrahmani, A., Wellington, E. M., & Hacene, H. (2020).** Screening for antimicrobial activity from UV-tolerant actinobacteria and spore-forming bacteria strains isolated from the Algerian Sahara Desert soils after UVC exposition. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*, 162-170.
- Yekkour, A., Meklat, A., Bijani, C., Toumatia, O., Errakhi, R., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2015).** A novel hydroxamic acid-containing antibiotic produced by a Saharan soil-living *Streptomyces* strain. *Letters in Applied Microbiology*, 60*(6), 589-596.
- Zitouni, A., Boudjella, H., Lamari, L., Badji, B., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2005).** *Nocardiosis* and *Saccharothrix* genera in Saharan soils in Algeria: Isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *Research in Microbiology*, 156(8), 984–993.

المخلص

تجمع هذه الدراسة بحثاً حول البكتيريا actinobactéries من التربة القاحلة في الجزائر، وتسلسل الضوء على نشاطها المثبط ضد البكتيريا والفطريات المسببة للأمراض. تم عزل السلالات بشكل رئيسي بطريقة dilution en suspension وتم تقييم فعاليتها المضادة للميكروبات باستخدام تقنيات مثل les stries croisées و cylindres d'agar . تفاوتت نتائج العزل والنشاط المضاد للميكروبات حيث بلغ عدد السلالات المعزولة 86 سلالة، بينما عُزلت سلالة واحدة فقط من منطقة أدرار. أظهرت السلالة H16 المعزولة من ورقلة نشاطاً قوياً ضد *Klebsiella pneumoniae* ولكن لم يكن لها نشاط ضد *Escherichia coli* و *Candida albicans*. تنتمي أكثر من 50% من البكتيريا الأكتينوبكتيرية التي تم تحديدها إلى جنس *Streptomyces*.

الكلمات المفتاحية: المضاد الحيوي، الأكتينوبكتيريا، النشاط المضاد للميكروبات، التربة القاحلة.

Résumé

Cette étude synthétise les recherches sur les actinobactéries des sols arides d'Algérie, en mettant en évidence leur activité inhibitrice contre des bactéries et champignons pathogènes. Les souches ont été isolées en utilisant principalement la méthode de dilution en suspension et évaluées pour leur efficacité antimicrobienne contre des micro-organismes par des techniques comme la cylindres d'agar et les stries croisées. Les résultats de l'isolement et de l'activité antimicrobienne varient le plus grand nombre d'isolats avec 86 souches, tandis qu'une seule souche a isolé à partir de la région d'Adrar., la souche H16 montrant une forte activité contre *Klebsiella pneumoniae* mais aucune activité contre *Escherichia coli* et *Candida albicans*, Les actinobactéries identifiés sont de plus de 50 % du genre *Streptomyces*.

Les mots clés : Actinobactéries, activité antimicrobienne, identification, sol aride.

Summary

This study summarizes research on actinobacteria from Algerian arid soils, highlighting their inhibitory activity against pathogenic bacteria and fungi. The strains were isolated mainly using the suspension dilution method and evaluated for their antimicrobial efficacy against micro-organisms using techniques such as agar cylinders and cross streaking. The results of the isolation and antimicrobial activity vary the largest number of isolates with 86 strains, while only one strain was isolated from the Adrar region, Strain H16 showed strong activity against *Klebsiella pneumoniae* but no activity against *Escherichia coli* and *Candida albicans*. More than 50% of the actinobacteria identified were of the genus *Streptomyces*.

Keywords: Actinobacteria, antimicrobial activity, characterization, arid soil