



Université Mohammed Kheidre de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire de Master

Domain : Science de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie Fondamentale et Appliquée
Réf :

Présenté et soutenu par :

ARAR Hadjer

Le :

Thème

**Caractérisation phénotypique et étude préliminaire
des activités enzymatiques et inhibitrices des
actinomycètes du sol de Touggourt et Biskra**

Jury :

Mme. BABA ARBI Souad

MCB Université de Biskra

Président

Rapporteur

Examineur

Année universitaire : 2019 -2020

Remerciement

Avant tout je remercie « Allah » qui m'a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.

J'adresse mes plus vifs remerciements à mon encadreur Mme BABA ARBI SOUAD Maitre de conférence à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Biskra, pour son encadrement, ses encouragements, ses orientations, pour ses aides, sagesse, et ses conseils scientifiques judicieux.

Je tiens également à remercier les membres du jury pour avoir accepté l'évaluation de mon travail.

Je tiens aussi à remercier l'ingénieur Walid et toute l'équipement de laboratoire.

Je remercie mes collègues Rofaida F, Badr Eddine B pour les aides et leur soutien à mon égard.

Je remercie tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mon père

Que Dieu ait pitié de lui et le placera au paradis le plus élevé.

A ma chère Mère

Il lui a fait une couronne sur ma tête.

Je lui souhaite la guérison et que Dieu prolonge sa vie.

A mes frères et mes sœurs et leurs enfants : wail, Abdelhafid, Firas, Madjed.

A toute la famille ARAR et KADAR,

A mes très chères amies

Surtout Fella, Assia

A mon binôme Somia, je lui souhaite succès.



Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

Chapitre 1 : Généralités sur les actinomycètes

1.1 Définition et caractères généralité.....	2
1.2 Classification des actinomycètes.....	5
1.2.1 Caractères morphologiques.....	5
1.2.2 Caractères chimio-taxonomiques.....	6
1.2.2.1 Acides aminées.....	6
1.2.2.2 Glucides.....	6
1.2.2.3 Lipides.....	7
1.2.3 Caractères moléculaire.....	7
1.2.4 Caractères physiologiques	8
1.3 Distribution des actinomycètes dans la nature.....	9
1.4 Cycle de développement des actinomycètes.....	9

Chapitre 2 : Les intérêts des actinomycètes

2.1 Importance dans le domaine agronomique.....	12
2.2 Production des substances biologiquement actives.....	12
2.2.1 Production des antibiotiques.....	12
2.2.2 Production des enzymes.....	13
2.2.2.1 Protéases.....	13
2.2.2.2 Chitinases.....	14
2.2.2.3 Amylases.....	14
2.2.2.4 Xylanase.....	14
2.2.2.5 Lipase.....	14
2.2.2.6 Cellulases.....	14

Chapitre 3 : Matériels et Méthodes

3.1 Matériel biologique.....	16
3.2 Revivification et conservation des souches.....	16
3.3 Examen microscopique après coloration de Gram.....	16

3.4 Conservations des isolats.....	16
3.2 Tests des hydrolyses.....	16
3.2.1 Hydrolyse de l'amidon.....	16
3.2.2 Hydrolyse de la cellulose.....	17
3.2.3 Hydrolyse de pectine	17
3.2.4 Hydrolyse de caséine	17
3.2.5 Hydrolyse de tween 80.....	17
3.2.6 Hydrolyse de l'xylène.....	18
3.2.7 Utilisation des différentes sources de carbone	18
3.3 Recherche de l'activité antibactérienne.....	19
3.3.1 Recherche de l'activité antibactérienne en milieu solide.....	19
3.3.1.1 Technique cylindre d'agar	19
3.3.1.2 Technique de stries croisées.....	19
3.3.1.3 Technique des puits	19
3.3.1.4 Technique de doubles couche.....	20
3.3.1.5 Technique des disques.....	20
3.3.2. Recherche de l'activité antibactérienne en milieu liquide.....	20
Chapitre 4 : Résultats et discussion	
4.1 Résultat de la coloration de Gram	23
4.2 Résultats des tests d'hydrolyse des différents substrats.....	24
4.2.1 Résultats d'hydrolyse d'amidon.....	24
4.2.2 Résultat d'hydrolyse de cellulose.....	25
4.2.3 Résultat d'hydrolyse de la pectine.....	25
4.2.4 Résultats d'hydrolyse de la caséine	25
4.2.5 Résultats d'hydrolyse de l'xylène.....	26
4.2.6 Résultat d'hydrolyse de tween 80.....	26
4.2.7 Résultat d'utilisation des composés glucidiques comme source de carbone.....	26
4.3 Résultat de recherche de l'activité antibactérienne	27
Conclusion.....	29
Références bibliographiques.....	32
Annexe	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau I: Caractères macromorphologiques et micro morphologiques recherchés lors de l'étude des actinomycètes	3
Tableau II: Types des glucides caractéristiques présents chez des actinomycètes	4
Tableau III: Types de phospholipides caractéristiques présents chez les actinobactéries	5
Tableau IV: Répartitions des actinomycètes dans la nature	7
Tableau V: Exemples d'antibiotiques produits par des actinomycètes	10

Liste des figures

Figure I: Classification phylogénétique des <i>Actinobacteria</i> , basée sur les séquences du gène codant d'ARNr 16S	6
Figure II: Cycle de développement du genre <i>Streptomyces</i> sur milieu solide	8
Figure III: Aspect microscopique de différentes souches d'actinomycètes après coloration de Gram (Gx100)	25

Liste des abréviations

MA: Mycélium aérien

MS: Mycélium de substrat

ISP: The International *Streptomyces* Project

GYEA: Glucose–Yeast Extract–Agar

SCA: Starch Casein Agar

Introduction

Introduction

Le sol est un produit écologique largement exploré comme niche pour les microorganismes qui produisent des composés naturels biologiquement actifs (Ganesh Kumar *et al.*, 2010). Parmi les microorganismes présentant un intérêt biotechnologique, les actinomycètes ou bien les actinobactéries.

Généralement, les actinomycètes, habitent le sol et sont d'importants décomposeurs de la matière organique, ce qui rend le sol fertile et par conséquent l'amélioration des récoltes. En plus du sol, ils ont été isolés dans de nombreux environnements aquatiques ; à savoir les écosystèmes marins, l'eau douce et les marécages salés (Al-Zarban *et al.*, 2002 ; Boughachiche *et al.*, 2005 ; Kitouni *et al.*, 2005).

L'importance des actinobactéries a été soulignée dans divers domaines : industriel, médical et vétérinaire, ainsi que dans le domaine de l'agriculture et l'agro-alimentaire (George *et al.*, 2012; Solecka *et al.*, 2012). Les actinobactéries, surtout celle qui ont une structure mycélienne sont réputées pour la production d'antibiotiques, en particulier le genre *Streptomyces*.

D'autres molécules bioactives sont également sécrétées par les actinobactéries telles que, les enzymes, les vitamines, les immunosuppresseurs, les insecticides et les herbicides Genilloud *et al.* (2011) et les *Streptomyces* sont les meilleurs candidats pour la production des métabolites secondaires biologiquement actifs. En effet, ce genre bactérien est à l'origine d'environ 70% des molécules antibiotiques utilisées en médecine et 60% des antifongiques utilisés en agriculture (Sujatha *et al.*, 2005).

Plusieurs actinobactéries ont été isolés à partir du sol du Sahara algérien. Certains d'entre eux appartiennent aux genres rares tels que *Actinomadura*, *Nanomuraea*, *Nocardiopsis*, *Saccharothrix*, *Spirillospora* et *Streptosporangium* (Badji *et al.*, 2005; Badji *et al.*, 2007; Zitouni *et al.*, 2005; Hacène *et al.*, 2000; Hacène *et al.*, 1998). Certaines de ces souches produisent de nouvelles molécules antimicrobiennes. À titre d'exemple, une nouvelle espèce *Saccharotrix algeriensis* NRLL B-24137 a été caractérisée, obtenu un isolat de sol collecté en la palmeraie de l'oasis d'Adrar (Zitouni *et al.*, 2004).

L'objectif principal de notre étude consiste à l'identification des souches, basé sur la caractérisation phénotypique des souches bactériennes appartenant au groupe d'actinomycètes isolés à partir d'échantillons de sols provenant des régions Touggourt et Biskra et la recherche des activités enzymatiques et antibactériennes de ces souches.

L'étude a portée sur les étapes suivantes :

- Etude phénotypiques des isolats d'actinomycètes qui implique la caractérisation micromorphologique et macromorphologiques.
- Etude de l'activité enzymatique (dégradation des substrats) de ces souches.
- Recherche d'activité antibactérienne des souches étudiées.

Partie bibliographique

Chapitre 1 :
Généralités sur les actinomycètes

1.1 Définition et caractères généraux

Les actinomycètes sont des bactéries à Gram positif avec un coefficient de (G C) élevé, saprophytes (Goodfellow et O'Donnell, 1989).

Bien que les actinomycètes soient des microorganismes procaryotes, leur morphologie ressemble fortement à celle des microorganismes eucaryotes comme les champignons filamenteux (Osada, 1998). La plupart des actinomycètes sont terrestres, certaines espèces sont marines (Mincer *et al.*, 2002). Les actinomycètes sont répandus dans l'environnement et la plupart des espèces sont chimioorganotrophes, aérobies, mésophiles et croissent de façon optimale dans la gamme de pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité (Williams et Wellington, 1982a ; Goodfellow et Williams, 1983). Les facteurs importants contrôlant l'abondance et l'activité des actinomycètes dans le sol sont : la disponibilité des nutriments, la nature et l'abondance de la matière organique, la salinité, la teneur en humidité relative, la température, le pH et la végétation du sol (Goodfellow et Williams, 1983).

1.2 Classification des actinomycètes

La taxonomie des actinobactéries est basée sur un ensemble de caractères morphologiques, physiologiques, chimio-taxonomiques et moléculaires:

1.2.1 Caractères morphologiques

Les critères morphologiques sont énoncés dans les "Bergey's Manual" des années 1989, 1994 et 2010. Il s'agit de caractéristiques macromorphologiques et des caractères micromorphologiques (Tableau I).

Tableau I:Caractères macromorphologiques et micromorphologiques (Boudjalal ,2012; Harir ,2018).

Caractéristiques macromorphologiques	Caractéristiques micromorphologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Production ou non d'un mycélium aérien (MA). - Présence d'un mycélium du substrat (MS). - Détermination de la couleur du MA et du MS ainsi que des pigments diffusibles dans le milieu de culture. 	<ul style="list-style-type: none"> - Fragmentation ou non du MS. - Présence de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges ainsi que la longueur des sporangiophores. - Formation de spores sur le MA et /ou sur le MS, leur forme, leur taille et leur agencement : isolées, par deux, par quatre ou en chaînes. - Mode de sporulation: spores porté par des sporophores ou mycélium aérien se fragmentant de manière anarchique en spores. - Présence de spores mobiles ou non mobiles. - Ornementation de la surface des spores (lisse,

	rugueuses, épineuses ou chevelues). - Formation de structures particulières: faux sporanges, etc.
--	--

1.2.2 Caractères chimio-taxonomiques

La composition de paroi cellulaire en acides aminées, en glucides et en lipides, constitue la principale caractéristique utilisée en chimiotaxonomie:

1.2.2.1 Acides aminés

Détermination de la forme isomérique de l'acide diaminopimélique (DAP) (forme LL ou DL) et présence ou non de glycine dans la paroi cellulaire. Les parois sont classées en huit groupes chimiques ou chémotypes pariétaux en fonction de leur composition en DAP mais aussi en d'autres acides aminés:

GI: Présent chez *Arachnia*, *Pimelobacter*, *Nocardioides* et *Streptomycetes*.

GII: Présent chez *Actinoplanes* et *Actinomyces*.

GIII: Présent chez *Dermatophilus*, *Maduromycetes* et *Frankia*....ect.

GIV: Présent chez *Micropolyspora* et *Nocardioformes*.

GV: Présent chez *Actinomyces*.

GVI : Présent chez *Microbacterium*, *Oerskovia*, *Promicromonospora*, *Actinomyces* et *Arcanobacterium*.

GVII: Présente chez *Agromyces*, *Calvibacter*.

GVIII:Présente chez *Aureobacterium*,*Curtobacterium*,*Cellulomonas*.

1.2.2.2 Glucides

Les glucides sont taxonomiquement importants et sont regroupés en 4 groupes représentés dans le Tableau II.

Tableau II: Types des glucides caractéristiques présents chez des actinomycètes (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

Type de glucide	Genres
Arabinose + galactose	<i>Nocardia</i> , <i>Actinopolyspora</i> , <i>Prauserella</i>
Madurose	<i>Actinomadura</i> <i>Streptosporangium</i>
Pas de sucres caractéristiques	<i>Nocardiopsis</i>
Arabinose + xylose	<i>Micromonospora</i> , <i>Actinoplanes</i>

1.2.2.3 Lipides

Les lipides sont taxonomiquement important sont:

a- Phospholipides

Les phospholipides sont regroupés en cinq (05) types.

Tableau III: Types de phospholipides caractéristiques présents chez les actinobactéries (Lechevalier *et al.*, 1977).

Types de phospholipides	Genres
-Phosphatidylglycérol.	<i>Actinomadura.</i>
-Phosphatidyléthanolamine	<i>Streptomyces, Pseudonocardia.</i>
-Phosphatidylcholine	<i>Nocardiosis, Amycolatopsis.</i>
-Phospholipides avec glucosamine + phosphatidyléthanolamine	<i>Nocardia, Nonomuraea.</i>
-phosphatidylglycérol + Phospholipides glucosamine	Oerskovia.

b- Acides gras

On trouve les acides gras chez plusieurs genres tels que *Nocardia*, *Mycobacterium* et *Rhodococcus* (Harir, 2018).

c- Acides mycoliques

Les acides mycoliques sont présents chez les genres tels que *Nocardia* et *Rhodococcus*.

d- Ménaquinones

Les ménaquinones sont présentes chez les genres tels que *Thermopolyspora*, *Microbispora* et *Nocardiosis* (Saker, 2015, Boudjella, 2007, Loqman, 2009).

1.2.3 Caractères moléculaires

Détermination du (G+C)%, séquençage des gènes de l'ARNr 16S et hybridation ADN-ADN. La classification phylogénétique des actinobactéries est montrée dans la Figure 1.

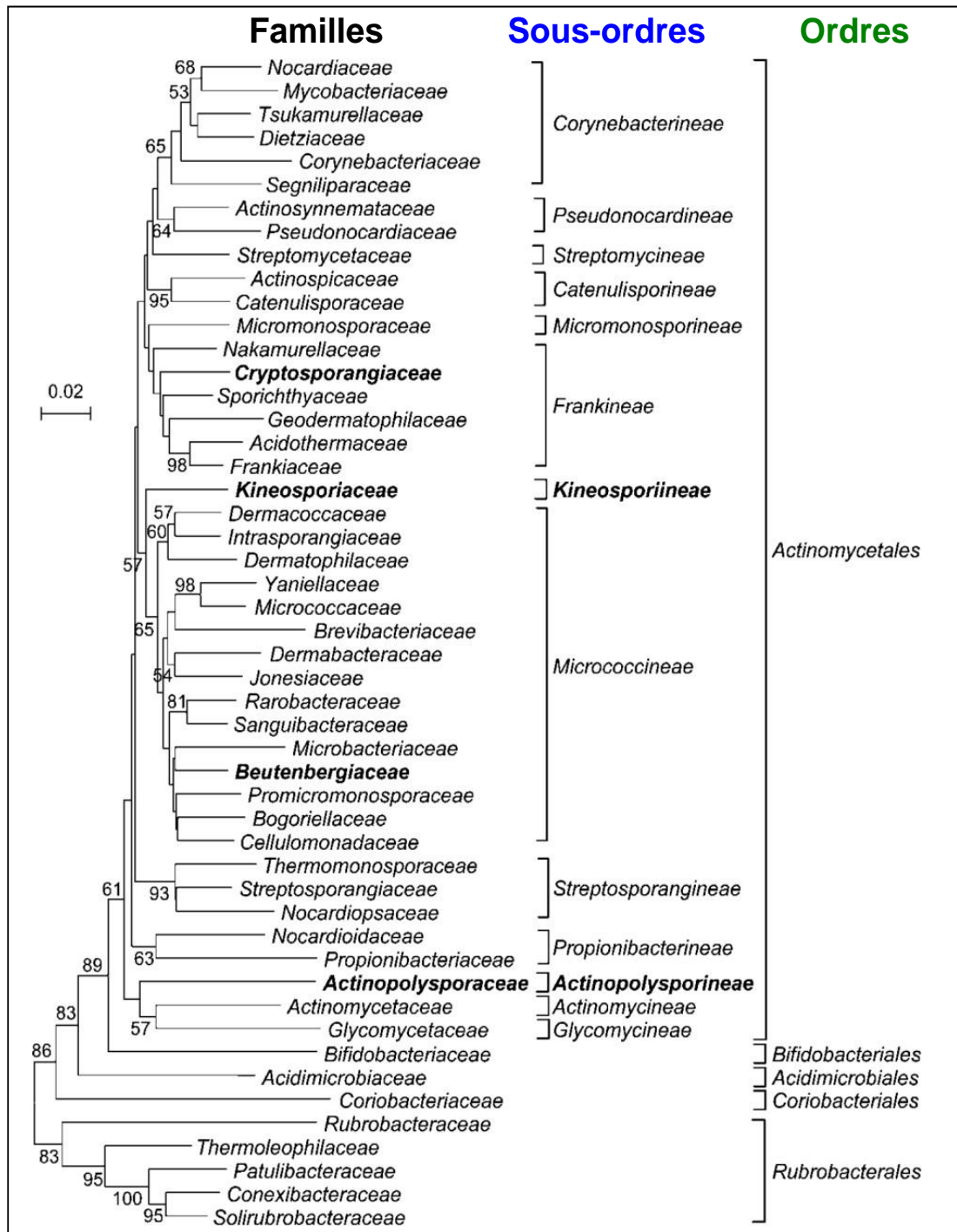


Figure 1.1: Classification phylogénétique des *Actinobacteria*, basée sur les séquences du gène codant d'ARNr 16S (Zhi, 2009).

1.2.4 Caractères physiologiques

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

aux différents agents chimiques (antibiotiques, divers autres agents), et la tolérance à des conditions extrêmes (température, pH, salinité, etc.).

1.3 Distribution des actinomycètes dans la nature

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux écologiques (Goodfellow et Williams 1983). Ainsi, ils peuvent être dans les sols, dans les eaux douces ou salines et dans l'air. Toutefois, ils sont particulièrement abondants dans le sol, spécialement dans les sols alcalins et les sols riches en matières organiques où ils constituent une part importante de la population microbienne (Loqman, 2009).

Le premier dénombrement des actinomycètes dans le sol est réalisé par Hiltner et Stormer (1903) qui ont indiqué que le pourcentage des actinomycètes représente (13 à 30) % de la totalité microbienne du sol. Les actinomycètes ont été également isolés dans de nombreux environnements aquatiques. Ils ont été isolés à partir des eaux de mer et sédiments marins Jensen *et al.* (1991) et Ghanem *et al.* (2000), d'eau douce Kitouni *et al.* (2005) et dans les marécages salés (Al-Zarban *et al.*, 2002; Boughachiche *et al.*, 2005).

Les actinomycètes se rencontrent également sur les débris des végétaux qu'on trouve au bord des rivières et des lacs, les champs de riz Wang *et al.*(2006) et les cavernes naturelles Lee (2006), Beaucoup sont capables de sporuler, ce qui leur permet de survivre en conditions défavorables tel que la salinité (Zaitlin et Watson, 2006). Cette propriété joue un rôle principal dans leur distribution.

Tableau IV: Répartitions des actinomycètes dans la nature (Goodfellow, 1983).

Genre	Habitats
<i>Actinomodura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau et litière
<i>Frankia</i>	Nodule de racine
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol et eau
<i>Nocardia</i>	Sol et eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier et litière
<i>Sacharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau et litière
<i>Streptosporangium</i>	Sol
<i>Thermomonospora</i>	Matière en décomposition et fermentation

1.4 Cycle de développement des actinomycètes

Tout comme les eucaryotes multicellulaires, les actinomycètes possèdent un cycle de vie complexe, qui est le résultat de trois processus physiologiques majeurs : la croissance végétative, la

différenciation cellulaire puis la mort Tighidet (2010) et Danilenko *et al.* (2005), leur cycle de vie commence par la germination des spores, ce processus nécessite la présence d'ions calcium. La germination donne naissance à un mycélium primaire ramifié (Figure 2) (O'Gara *et al.*, 2008).

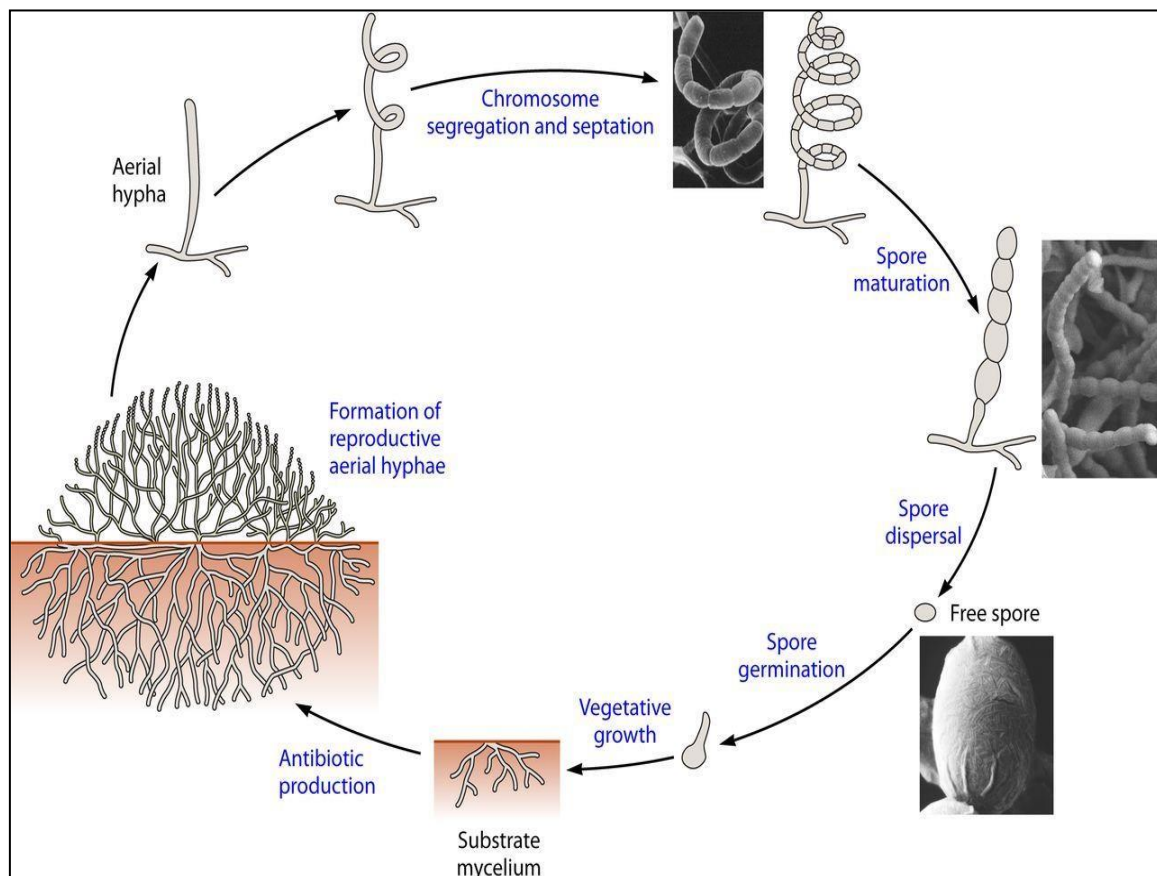


Figure 1.2: Cycle de développement du genre *Streptomyces* sur milieu solide (Barka *et al.*, 2016).

Chapitre 2 :
Intérêts des actinomycètes

Les actinomycètes possèdent une importance économique majeure et aussi possèdent des rôles importants dans le sol et dans les interactions avec les plantes, mais également pour la synthèse de nombreux métabolites d'intérêt biotechnologique ayant des applications dans divers domaines industriels, et en particulier pharmaceutiques. Ils présentent une variété de cycles vitaux qui sont uniques parmi les procaryotes et jouent un rôle majeur dans le recyclage de la matière organique dans l'écosystème du sol.

2.1 Importance dans le domaine agronomique

Les actinomycètes jouent un rôle très important dans les phénomènes de la biodégradation et de transformation de la matière organique. Ils peuvent dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries, tel que les polymères complexes, les polysaccharides, la chitine et les lignocelluloses des plantes (Lechevalier, 1981 ; Goodfellow et Williams, 1983 ; Goodfellow et al, 1984). Ils jouent par conséquent un rôle important dans la fertilité des sols grâce à un potentiel enzymatique riche, les actinomycètes peuvent dégrader la biomasse et décomposer des déchets agricoles ou urbains (Goodfellow *et al.*, 1984).

Grâce à leurs propriétés antagonistes, les actinomycètes sont également utilisés dans la lutte biologique des maladies des plantes (Sutthinan, 2009).

Le genre *Frankia* est très connu en foresterie pour son rôle dans la fixation d'azote atmosphérique en symbiose dans les nodules racinaires de certains arbres dicotylédones (Lechevalier, 1981).

2.2 Production des substances biologiquement actives

2.2.1 Production des antibiotiques

Les antibiotiques constituent la part la plus importante des applications industrielles des actinomycètes, ces molécules d'origine naturelle manifestent à faibles concentrations des activités biologiques de nature principalement antibactérienne, antifongique, anticancéreuse, antivirale, ou antiparasitaire. Les antibiotiques sont des molécules issues du métabolisme secondaire qui ont été particulièrement étudiées du fait de leur importance en thérapie humaine et vétérinaire. Les antibiotiques produits par les actinomycètes sont de différentes classes, y compris les aminosides, les anthracyclines, glycopeptides, β -lactams, macrolides nucléosides, peptides, polyènes, polyéthers, terpènes et tétracyclines, qui possèdent une large gamme des activités (Tableau V) (Ravi Ranjan, 2015).

Tableau V: Exemples d'antibiotiques produits par des actinomycètes (Boughachich, 2012).

Principal classes structurales d'antibiotiques	Exemples d'antibiotiques	Actinobactéries
Aminocyclitols	Gentamicine Paromomycin Streptomycine	<i>Micromonospora purpurea</i> <i>Streptomyces rimosus</i> <i>Streptomyces griseus</i>
Ansamycines	Rifamycine	<i>Nocardia mediterranei</i>
Anthracyclines	Daunorubicine	<i>Streptomyces peucetius</i>
B-lactamines	Céphamycine Thiénamycine	<i>Streptomyces clavuligerus</i> <i>Streptomyces cattleya</i>
Macrolides	Avermectine Spiramycine Tylosine	<i>Streptomyces avremetilis</i> <i>Streptomyces ambofaciens</i> <i>Streptomyces fradiae</i>
Nucléosides	Polyoxine	<i>Streptomyces cacaoi</i>
Peptides	Nosiheptide Pristinamycine Thiostrepton	<i>Streptomyces actuosus</i> <i>Streptomyces pristinaespiralis</i> <i>Streptomyces azureus</i>
Polyènes	Amphotérine Nystatine	<i>Streptomyces nodosus</i> <i>Streptomyces noursei</i>
Polyéthers	Lasalocide Monosine	<i>Streptomyces lasaliensis</i> <i>Streptomyces cinnamomensis</i>
Tétracycline	Chlortétracycline Oxytétracycline	<i>Streptomyces aureofaciens</i> <i>Streptomyces aureofaciens</i>

Parmi les microorganismes producteurs de métabolites secondaires possédant une activité anti-cellulaire, 70% appartiennent au groupe des actinomycètes et parmi eux, on trouve 95% de *Streptomyces* et environ 21% de ces métabolites présentent une activité antifongique (Badji, 2006).

2.2.2 Production des enzymes

Les actinomycètes sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle variée telles que des protéases, des chitinases, des amylases, des cellulases, des xylanases et des lipases (Park *et al.*, 2002).

2.2.2.1 Protéases

La protéase est une enzyme importante sur le plan industriel applications en pharmaceutiques, cuir, blanchisserie, alimentaire et les industries de traitement des déchets Vonothini *et al.*(2008), qui sont produites par *Thermoactinomyces* sp., *Nocardiopsis* sp.,

Streptomyces pactum, *Streptomyces thermoviolaceus* et *Streptomyces* sp.

2.2.2.2 Chitinases

Les chitinases utilisées dans la protection contre les champignons phytopathogènes et dans le traitement des déchets des crustacés. Elles sont généralement produites par *Streptomyces thermoviolaceus* et *Nocardioopsis prasina* (Tsujiibo *et al.*, 2003).

2.2.2.3 Amylases

Les amylases (produites par *Streptomyces erumpens* et *Thermobifida fusca*) sont utilisées dans l'industrie alimentaire comme conservateur dans la production des gâteaux, les jus des fruits et les sirops à base d'amidon et dans l'élimination des polluants environnementaux (la bioremediation) (Mobini-Dehkorde et Javan , 2012).

2.2.2.4 Xylanases

Les xylanases sont utilisées dans la biotransformation des textiles et la fabrication des aliments pour animaux (exemple des producteurs : *Streptomyces* sp. et *Actinomadura* sp.).

2.2.2.5 Lipases

Les lipases sont couramment utilisées en boulangerie, en biscuiterie, en chocolaterie et dans le traitement des sols contaminés par des hydrocarbures comme celles produites par *Streptomyces exfoliates* et *Nocardioopsis alba*.

2.2.2.6 Cellulases

Les cellulases sont utilisées dans l'industrie du textile, l'industrie des pâtes et du papier et dans la production des vins. Elles sont synthétisées par *Streptomyces ruber* et *Thermobifida halotolerans* (El-Sersy, 2010 ; Mukhtar, 2017).

Chapitre 3 :
Matériel et Méthodes

3.1 Matériel biologique

Le matériel biologique de cette étude qui comporte 24 isolats d'actinobactéries ont été donné par Mme BABA ARBI Souad pour la réalisation de ce travail.

3.2 Revivification et conservation des souches

La revivification des souches actinomycètes a été réalisée par des repiquages successifs, sur le milieu de culture de Gausse (Annexe 1) jusqu'à l'obtention d'une culture pure. Les cultures des actinobactéries sont ensuite incubées à 28°C pendant 5-7 jours.

3.3 Examen microscopique après coloration de Gram

La coloration de Gram a été effectuée selon la méthode classique; dont les étapes sont les suivantes:

- Coloration par le violet de Gentiane (1 minute) puis rinçage à l'eau.
- Mordançage avec le lugol (1minute) suivi d'un rinçage à l'eau.
- Décoloration a l'alcool-acétone puis rinçage abondant avec de l'eau.
- Recoloration à la fuchsine (30 secondes).
- Lavage doucement à l'eau.
- Séchage avec du papier absorbant.
- Observation à immersion (à l'objectif $\times 100$).

3.4 Conservations des isolats

Les isolats purs obtenus ont été conservé par ensemencement sur une gélose incliné de Gausse ou d'ISP2, puis incubé pendant 7 jours à 28°C. Les tubes sont ensuite conservés à 4°C.

3.5 Tests des hydrolyses

3.5.1 Hydrolyse de l'amidon

Ce test se réalise sur différents milieux : Bennett, ISP9, gélose de Gausse (Annexe 1)...etc, additionné d'une concentration d'amidon de 1 à 2 %.

L'ensemencement s'est fait par spot de la souche à tester, et incubé à 28°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 à 0,1%. L'absence de la coloration autour des colonies, indique que l'amidon a été hydrolysé. Les zones contenant de l'amidon se colorent en brun soit par la solution d'iode pendant 1 min jusqu'à ce que tout le milieu devienne coloré en bleu. La formation d'une zone jaune clair autour des colonies en milieu bleu a indiqué l'hydrolyse de l'amidon et confirmé la production d' α -amylase (Tatsinkou *et al.*, 2005; Boudemagh, 2007;

Haritha *et al.*, 2010).

3.5.2 Hydrolyse de la cellulose

L'activité cellulolytique peut être réalisée sur le milieu gélosé : SCA, ISP9, additionné 1% de CMC (carboxyméthyl cellulose), soit en utilisant la gélose moyenne minimale (MMA) (Annexe 1). Les cultures étaient inoculées et incubées à 28 °C pendant 7 jours (Saini *et al.*, 2016; Jeffrey, 2008). Pour la visualisation de la zone claire par inondation, on utilise soit le rouge Congo soit l'iode de Gram :

- Une solution de colorant rouge Congo à 0,1% (Annexes 2) pendant 15 min suivie d'une décoloration en utilisant une solution de NaCl 1 M(Annexes 2) pendant 15-20 min (Rathore *et al.*, 2012; Das *et al.*, 2012).
- Une solution de l'iode de Gram (Annexes 2) qui forme un complexe bleu-noir avec de la cellulose mais pas avec cellulose hydrolysée, donnant une zone nette et distincte autour du microorganisme producteur de cellulase en 3 à 5 minutes (Kasana *et al.*, 2008; Rathnan et Ambili, 2011).

3.5.3 Hydrolyse de pectine

Pour tester l'activité pectinolytique, on utilise différents milieux gélosés à base de pectine. Ils sont comme suit pectine agar (Annexe 1) ou ISP9 additionné 1 % de pectine. L'ensemencement s'est fait par des stries de la souche à tester ou par touches, puis ont été incubées à 28 °C pendant 7 jours (Priyanka, 2019 ; Salehghamari *et al.*, 2010).

Des halos d'hydrolyse ont été détectés par inondation en utilisant I₂/KI (0,3% I₂ et 0,6% KI), ou une solution à 1% (p/v) de précipitant de polysaccharide bromure de cetyltriméthyl ammonium (CTAB), dissoutes dans une solution alcoolique à 15% et ensuite utilisées et reste pendant une heure (1h), les colonies produisant de la pectinase ont montré des zones claires contre une couleur opaque du milieu non hydrolysé (Saoudi *et al.*, 2015; Das *et al.*, 2012).

3.5.4 Hydrolyse de caséine

Pour détecter l'activité protéolytique, des milieux de culture solide gélosés contenant des sources de protéines comme 5% du lait écrémé (Annexe 1), ou ISP9 avec 20% de lait écrémé (Viswanathan *et al.*, 2015 ; Habbeche *et al.*, 2013 ; Jani *et al.*, 2012).

L'ensemencement s'est fait par des stries de la souche à tester et l'incubation a été effectuée à 28°C pendant 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).

3.5.5 Hydrolyse de tween 80

La méthode de Sierra (1957), avec quelques des modifications est utilisé pour détecter l'activité lipolytique. L'étude de l'hydrolyse de Tween 80 est démontrée en ajoutant des

Tweens hydrosolubles à un milieu nutritif de Sierra (Annexe 1), ou remplacé tween 80 par tween 20. Ce test a été réalisé en prenant 1% Tween 20 avec le milieu ISP2 aussi. L'ensemencement est fait en spots et les boîtes de Pétri sont incubées à 28°C pendant 7 jours (Jeffri et Halizah, 2014 ; Kishore, 2011).

L'apparition d'un halo opaque autour de la colonie indique la dégradation de tween 80 (Korayem *et al.*, 2015 ; Mansour *et al.*, 2015).

3.5.6 Hydrolyse de xylène

Ce test est réalisé par l'ensemencement des boîtes de Pétri contenant la gélose ISP9 additionnées de 1% de xylène liquide.

Les boîtes ont été inondées d'éthanol absolu (99% v/v) et laissées pendant 1 h à température ambiante. Les colonies produisant l'enzyme xylanase présentaient des zones claires contre une couleur opaque du milieu non hydrolysé (Das *et al.*, 2012).

3.6 Utilisation des différentes sources de carbone

L'utilisation des glucides est généralement vérifiée sur milieu ISP9 (Annexe1) selon la méthode décrite par Pridham et Gottlieb (1948).

Les glucides testés sont : Xylose, Fructose, Saccharose, Mannitol, Sorbitol, Arabinose, Ribose, Lactose et Glycérol. A une concentration à 0,1% (P/V), les sources de carbones sont stérilisées par filtration et ajoutés au milieu juste avant inoculation. Deux contrôles sont réalisés à chaque fois : un control positif avec le glucose comme source de carbone et un control négatif sans source de carbone (Pridham et Gottlieb, 1948 ; Hsu et Lockwood, 1975 ; Williams *et al.*, 1983b).

a-Préparation de l'inoculum à partir d'un milieu liquide

A partir d'une culture de bactérie sur milieu ISP1 liquide pendant 2 à 3 jours sous agitation permanente de 100 rpm, environ 5 à 10 ml de culture sont prélevés dans un tube de centrifugation stérile. La suspension est généralement centrifugée à 5500g pendant 15 min, le surnageant est éliminé et remplacé par un volume égal d'eau stérile pour restaurer le volume initial. La suspension est ré-centrifugée à 5500 rpm pendant 15 min. L'opération de lavage est répétée trois fois, puis le culot est récupéré pour servir d'inoculum.

b-Préparation de l'inoculum à partir d'un milieu solide

Les souches tests d'actinomycètes sont ensemencées sur milieu gélose ISP4. Après 14 jours d'incubation à 28°C, des suspensions denses de fragments mycéliens et de spores sont préparées en eau physiologique stérile. Notant que les inoculums doivent être utilisés dans un délai de 3 heures maximum.

c-Ensemencement et lecture

Les bactéries testées sont ensemencées par stries sur milieu ISP9 contenant une seule source de carbone. Les boîtes sont examinées à 10 et 16 jours et comparées aux contrôles positif et négatif. Les résultats sont notifiés comme suit :

Utilisation positive (+): La croissance sur la source testée est significativement plus élevée que celle obtenue sur le milieu dépourvu de glucide, mais légèrement inférieure à celle avec le glucose.

Utilisation douteuse (\pm) : La croissance sur la source testée est significativement plus élevée que celle obtenue sur le milieu dépourvu de glucide, mais significativement inférieure à celle avec le glucose.

Utilisation négative (-) : La croissance est similaire à celle obtenue avec le milieu dépourvu de glucides (Morakchi, 2011).

3.7 Recherche de l'activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes est mise en évidence par deux criblages, le premier criblage, réalisé sur le milieu solide, consiste à sélectionner le meilleur isolat qui sera utilisé dans le deuxième criblage réalisé sur le milieu liquide.

3.7.1 Recherche de l'activité antibactérienne en milieu solide

3.7.1.1 Technique de cylindre d'agar

Les isolats d'actinomycètes sont ensemencés en strie serrée à la surface du milieu Bennett, ISP1 et ISP2, GYEA (Aouiche *et al.*, 2012; Meklat, 2012) et incubés à la température de 28°C pendant 14 jours. Des cylindres de 3 mm à 16 mm de diamètre sont alors prélevés à l'emporte-pièce et déposés à la surface du milieu Muller-Hinton préalablement ensemencé par les bactéries tests (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*). Les boîtes de Pétri sont ensuite placées à 4°C pendant 02 heures pour permettre une diffusion des substances (Kitouni, 2007; Leulmi, 2018). Après, elles sont incubées à la température de 37°C pendant 24 heures. Les zones d'inhibition formées autour des cylindres sont alors mesurées (Pazhanimurugan *et al.*, 2012).

Les disques des antibiotiques peuvent être utilisés : ampicilline (10 μ g) et de chloramphénicol (30 μ g) sont utilisés comme des molécules de référence.

3.7.1.2 Technique de stries croisées

Cette méthode consiste à ensemencer les isolats d'actinomycètes en un seul trait à la surface du milieu solide ISP2. Les boîtes sont incubées pendant 7 jours à 30°C. Ensuite, chaque bactérie cible (en suspension), sera ensemencée par une strie croisée perpendiculaire à celle des actinomycètes. L'incubation est faite à 37 °C pendant 7 jours.

Après agitation, chaque milieu est coulé en double couche sur la gélose ISP2 renfermant la

souche d'actinomycète. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries. Après le temps d'incubation les diamètres d'inhibition sont mesurés (Aouiche *et al.*, 2012).

3.7.1.3 Technique des puits

Les souches d'actinomycètes sont mises en culture dans 5 ml du bouillon M65, SCA, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5 (Lechevalier *et al.*, 1986 ; Hulya *et al.*, 2006), puis incubées 14 jours à 28±1°C et agitées chaque 2 h. Des puits de 6 mm de diamètre sont creusés dans les milieux tests préalablement ensemencés avec un germe cible pour les bactéries 100 µL de la culture d'actinomycète est déposé dans chaque puits sur le milieu Mueller Hinton. Après 2 heures d'incubation à la température ambiante, les boîtes de Pétri sont incubées à 37±1°C pendant 24 h. Les diamètres de la zone d'inhibition sont alors mesurés (Lemriss *et al.*, 2003 ; Valanarasu *et al.*, 2010).

3.7.1.4 Technique de doubles couches

La souche d'actinomycète à tester est ensemencée au centre d'une gélose ISP2 coulée en boîtes de Petri. L'incubation se fait à 30°C pendant 8 jours. 1 ml de la suspension des microorganismes cibles est ensemencé généralement en masse dans 100 ml de milieu Mueller Hinton gélifié en surfusion (environ 45°C). Les milieux utilisés sont : BCP pour *Escherichia coli* et gélose Chapman pour *Staphylococcus aureus*.

Après agitation, chaque milieu est coulé en double couche sur la gélose ISP₂ renfermant la souche d'actinomycète. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries. Après le temps d'incubation les diamètres d'inhibition sont mesurés (Morakchi, 2011).

3.3.1.5 Technique des disques

Les isolats bactériens ont été ensemencés sur la gélose nutritive durant 72 heures à 30°C. Après, le milieu a été découpé en petits cubes et mis dans des erlenmeyers contenant 40 ml de chaque solvant. L'extraction a été réalisée sous agitation pendant deux heures à température ambiante. L'extrait organique obtenu de chaque solvant a été filtré, puis évaporé à 45°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu sec de chaque solvant a été récupéré avec 5 ml du même solvant qui a servi à l'évaporation.

L'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant des disques en papier (6 mm de diamètre) imbibés par 100 µl des différents extraits et déposés sur la gélose Muller- Hinton déjà ensemencée par les bactéries test dont l'inoculum était préparé de la même façon que celui de l'antibiogramme réalisé par la technique du CLSI (2010). Les boîtes ont été incubées à 4°C pendant deux heures et plus tard à la température adéquate pour chaque type de bactéries test pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés par suite (Ayari *et al.*, 2012).

3.3.2. Recherche de l'activité antibactérienne en milieu liquide

A partir d'une culture sur boîte de l'actinomycète (2 à 4 semaines), préparer une suspension dense qui servira d'inoculum, la densité optique de l'inoculum 0,5 McFarland ($\sim 10^8$ ufc/ml).

Préparer des Erlenmeyer de 150 ml de milieu de cultures (différents milieux peuvent être utilisés sont ISP1, ISP2) (Loucif, 2006).

Inoculer (à raison de 1ml/100ml de milieu) les Erlenmeyer qui seront placés dans un incubateur agitateur à 28°C sous rotation continue de 150 tours/min pendant 15 jours.

Chaque jour, 10ml sont prélevés stérilement, centrifugés, ensuite 50µl du surnageant sont pipetés (micropipette) et placés sur un disque de papier Wattman n°1, séchés à l'étuve (37°C pendant 30 min).

La préparation d'une suspension bactérienne :

A partir d'une culture jeune (18h) pour *S. aureus* et *E. coli*, préparer une suspension d'une densité de 0,5 Mac Farland pour les bactéries.

Après inoculation du milieu avec les microorganismes cibles, les disques sont placés à la manière d'un antibiogramme, placé à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 h pour les bactéries (Joffin et Leyral, 2001 ; Joffin et Leyral, 2006).

Chapitre 4 :
Résultats et discussion

Dans ce qui suit, seront abordés les résultats et les discussions des trois parties de ce travail, relatifs à la purification des souches d'actinomycètes et la mise en évidence leur capacité à dégrader des composés complexes et enfin leur activité antibactérienne vis à vis des souches cibles.

4.1 Résultat de la coloration de Gram

La coloration de Gram est utilisée dans le cadre de cette étude afin d'identifier le type de la paroi des actinobactéries. L'examen microscopique de nos souches permet d'observer la forme et l'aspect des colonies, et aussi déterminer à quel type des bactéries appartiennent, soit Gram positif ou soit Gram négatif.

Les résultats de la coloration de Gram de quelques souches d'actinomycètes sont montrés dans la Figure 3.



Figure 4.3: Aspect microscopique de quelques souches d'actinomycètes après coloration de Gram (Gx100).

L'observation microscopique, de nos isolats après coloration de Gram, a révélé que ces isolats sont des bactéries Gram+, possédant une forme filamenteuse fines ramifiées et enchevêtrées. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Zerizer *et al.* (2006) et Djaballah (2010), Boudjella (2007) montrant que l'observation microscopique des actinomycètes et particulièrement les *Streptomyces* présentent un aspect filamenteux avec présence des spores isolés ou en amas qui sont parfois à court ou à longues chaînes ou enchevêtrés non fragmentés, qui appartiennent au groupe des bactéries à coloration de Gram positive (Kitouni, 2007).

4.2 Résultats des tests d'hydrolyse des différents substrats

4.2.1 Résultats d'hydrolyse d'amidon : recherche de l'amylase

Les amylases extracellulaires des actinomycètes sont des enzymes thermostables peuvent être utilisées dans la boulangerie, l'industrie pharmaceutique, 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 témoignée après addition du lugol par l'apparition d'une zone claire autour des colonies traduit la dégradation de l'amidon, alors que l'apparition d'une couleur brune des souches signifie que l'amidon n'a pas été hydrolysé (Santos *et al.*, 2012).

Les résultats des études menées pour rechercher de l'activité amylase de 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 trouvés être une source puissante d'enzyme d'amylase.

4.2.2 Résultat d'hydrolyse de cellulose : recherche de cellulase

Cette activité se traduit par l'apparition d'un halo jaune orangé entourant la colonie après l'ajout du (rouge Congo à 1%) et d'une solution saline (1N de NaCl) (El-Sersy *et al.*, 2010).

Ces enzymes sont utilisées pour la production de la pâte et le papier, les textiles, les bioraffineries, les matières premières pour animaux, le vin et la brasserie, cuisson au four (Janaki, 2017).

Des rapports ont montré la production de cellulase par différents actinomycètes appartenant aux genres *Cellulomonas*, *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Actinopolyspora*, *Actinoplanes*, *Microbispora*, *Thermomonospora*, *Rhodococcus*, *Nocardia* et *Thermoactinomyces* (Jang et Chenks, 2003 ; De Menezes *et al.*, 2008, 2012; Saratale *et al.*, 2010).

4.2.3 Résultat d'hydrolyse de la pectine: recherche de la pectinase

Après incubation aux conditions favorables, la lecture des résultats s'effectue par l'addition de la solution d'acétate de cuivre et laisser à température ambiante pendant quelques minutes. Si on obtient une apparition d'une zone claire autour des colonies cela indique la présence d'une activité pectinolytique (Ladjama *et al.*, 2007).

Dans des travaux précédents de Praveenkumar et suneeth (2015), la production d'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).

4.2.4 Résultats d'hydrolyse de la caséine : recherche de protéase (caséinase)

L'apparition d'une zone claire autour des colonies des souches testées après une incubation de 7 jours à une température de 28 à 30°C indique une activité d'hydrolyse de

caséine positive (Ara *et al.*, 2012).

Les résultats de l'étude des activités enzymatiques des actinomycètes ont montré que les genres *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia* et *Streptosporangium*s possèdent une activité protéolytique importante (Okpukpara et George-okafor, 2016).

Les protéases de *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 *Nocardiopsis* spp. sont connues comme importantes enzymes industrielles et ont le potentiel d'être largement utilisées dans les industries de cuir, pâtisserie, textile, détergent, brasserie, fromage et épilation.

4.2.5 Résultats d'hydrolyse xylène : recherche de xylanase

L'enzyme extracellulaire xylanase a plusieurs applications biotechnologiques en particulier dans l'industrie des pâtes et papiers (Ninawe, 2005; Taibi *et al.*, 2012).

Les résultats de ce test sont généralement obtenus par la visualisation des halos clairs autour des colonies correspondant aux zones d'hydrolyse du xylène (Rahmani *et al.*, 2018).

Les travaux précédents sur isolement et criblage des actinomycètes producteurs de xylanase du sol de Mamasa, Sulawesi occidentales Putri et Setiawan (2018) ont mis en évidence la capacité des souches d'actinomycètes à synthétiser des enzymes xylanase étaient très faibles telle que les genres: *Asanoa*, *Kribella* et *Streptomyces*.

4.2.6 Résultat de l'hydrolyse de tween 80: recherche d'estérase

Le tween 80 ou le polysorbate 80 est un ester d'acide gras et polyoxyéthylène sorbitane (dérivé d'éthoxylé du sorbitane). C'est une molécule amphiphile utilisée comme émulsifiants et additifs alimentaires (E432, E433, E434, E435 et E436).

La dégradation de tween 80 est traduite par l'apparition d'un halo opaque autour des colonies, ce qui traduit la présence des estérases.

Les résultats ont montré la capacité de quelques actinomycètes appartenant principalement au genre *Streptomyces* (comme *Streptomyces fradiae* et *S. coelicolor*) à synthétiser des enzymes lipases (Brault *et al.*, 2012; Côté et Shareck, 2008).

4.2.7 Résultat d'utilisation des composés glucidiques comme source de carbone

Les résultats de ce test apparaissent après 7 à 14 jours d'incubation. Le résultat est lu par rapport à un témoin positif (milieu ISP9 avec des isolats d'actinomycètes et ajout de glucose comme source de carbone) et un témoin négatif (milieu ISP9 avec des isolats d'actinomycètes en absence de source de carbone). Si le résultat est positif, cela se traduit par une croissance de ses bactéries testées, donc il y a utilisation du glucide comme source de

carbone. Alors que l'absence de la croissance bactérienne indique un résultat négatif, donc la souche n'a pas la capacité d'utiliser le glucide comme source de carbone (Smaoui, 2010).

Paul Njenga *et al.* (2017) ont montré que les actinomycètes ont différentes sources principales de carbone. Le principal déterminant des besoins en sources de carbone des actinomycètes dépend largement mais pas entièrement des activités physiologiques de l'isolat. Cette étude a réalisé des isolats qui différaient avec une étude antérieure sur les besoins en sources de carbone.

La raison possible pourrait être des différences dans le type de souches isolés et les voies métaboliques utilisées par les isolats.

Les résultats de Morakchi (2011) montrent que la plupart des souches des actinomycètes de genre *Streptomyces* utilisent des glucides comme source de carbone mais qui diffère selon les besoins nutritionnelle de chaque souche.

Donc, l'environnement dans lequel les actinomycètes se développent pour déterminer leurs besoins en sources de carbone.

4.3 Résultat de recherche de l'activité antibactérienne

Le développement des résistances bactériennes vis-à-vis des antibiotiques connus, incite les chercheurs à rechercher de nouveaux antibiotiques pour traiter les diverses maladies comme des bactéries multi-résistantes apparaissent telles que *Staphylococcus aureus* (Demain et lancini, 2006; Sharma *et al.*, 2011)

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 tolérer 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, alcalin, produit un antibiotique puissant contre les bactéries à Gram positif (Singh *et al.*, 2006).

Selon Korare *et al.* (2004), les bactéries Gram négatif étant souvent moins sensibles aux antibiotiques produits par les actinomycètes que les Gram positif à cause de la présence d'une membrane externe qui rende leur paroi beaucoup moins perméable.

Le potentiel antagoniste et inhibiteur des actinomycètes est déterminé selon le milieu

de culture soit solide ou liquide et selon les méthodes de recherche utilisées. Et cette différence apparaît dans les résultats obtenus par les différents chercheurs.

Les travaux de Boughachiche *et al.* (2005); Boudemagh *et al.* (2005); Reghioua *et al.* (2008) rapportent que les variations des zones d'inhibition sont dues au fait qu'une souche d'actinomycète peut produire plusieurs molécules antimicrobiennes (différents spectres d'action) dont la nature dépend de la composition du milieu de culture.

Autre résultats ont été rapportés par plusieurs auteurs qui étudièrent 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. D'autres études ont présentés des résultats comparables. En effet, Nedialkova et Naidenova (2005) et Singh *et al.* (2006) ont observé une réduction voir une absence d'activité en milieu liquide en comparaison avec celle observée par la méthode des cylindres d'agar (en milieu solide).

Les variations des résultats exprimés par les variations des zones d'inhibition s'expliquent par la capacité des actinomycètes à produire plusieurs et différents molécules antibactériennes est en relation aux différences des composants et des concentrations de milieu de culture (ISP, Bennett... etc.) et aux méthodes utilisé (puits, des disques, cylindre d'agar, doubles couches et stries croisées).

En plus, on peut remarquer que l'activité antibactérienne s'exprimé mieux par les extraits bruts des isolats d'actinomycètes réalisé par la méthode des disques. Alors qu'on peut aussi considérer la méthode des stries croisées comme non efficace pour confirmer l'activité antagoniste des isolats par rapport aux autres méthodes telle que celle des cylindres d'agar.

: *Conclusion*

Conclusion

De nombreux travaux ont été réalisés dans le but de l'étude et la caractérisation des souches d'actinomycètes à partir des différents types du sol. Ces travaux ont porté sur la mise en évidence de leur biodiversité métabolique (production des enzymes) et l'activité inhibitrices vis-à-vis de quelques bactéries pathogènes comme à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et bactérie à Gram négatif (*Escherichia coli*). Les objectifs essentiels de ce travail étaient la caractérisation phénotypique des souches d'actinomycètes du sol des régions arides (Biskra et Touggourt) dont peu de recherche sont réalisés sur ces sols.

La caractérisation phénotypique des souches du sol des régions (Biskra et Touggourt) est faite sur le milieu Gausse et l'observation microscopique de nos isolats d'actinomycètes montre que ces derniers sont des bactéries à Gram positif, possédant une forme filamenteuse.

Plusieurs études physiologiques ont montré que les actinobactéries ont la capacité de dégrader divers composants complexes : l'amidon, caséine de lait, la pectine, le xylène et le Tween 80, ce qui indique qu'ils sont capables de produire des enzymes qui les aident à décomposer ces substrats (amylase, protéase, pectinase, xylanase et estérase).

L'utilisation des différentes sources de carbone est généralement vérifiée sur milieu ISP9 et les résultats des différents travaux montrent que la plupart des souches d'actinomycètes utilisent différents types des glucides comme source de carbone.

La recherches du pouvoir antibactérien vis-à-vis des bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*) s'effectue sur différents milieux de cultures à composition et concentration variables (Bennett, GLM et ISP) et se réalise par différentes méthodes (stries croisées, cylindre d'agar, des puits, double couches et des disques).

Les résultats des études du pouvoir antibactérien, montrent que des souches d'actinomycètes 76% sont capables de produire des molécules inhibitrices contre les souches cibles utilisées. La production des molécules antibactériennes a été plus remarquable sur le milieu solide que le milieu liquide, ce qui indique que les méthodes de recherche sur milieux solides sont plus efficaces. En plus, on constate que la méthode de cylindre d'agar est la meilleure méthode qui permet de tester plusieurs souches d'actinomycètes à la fois et la mesure de diamètre de la zone d'inhibition par rapport aux autres méthodes, au contraire la méthode de striés croisées est la moins fiable parmi toute les méthodes testées sur milieux solides.

D'après les travaux étudiés on peut remarquer aussi que les actinomycètes isolés

possèdent une activité antimicrobienne plus contre des bactéries à Gram positif que des bactéries à Gram négatif.

Les perspectives de ce travail sont :

- Recherche et mise en évidence de l'activité antifongiques vis-à-vis des champignons et des levures pathogènes.
- Recherche et mise en évidence de l'activité insecticide.
- Etude de l'utilisation des différentes sources d'azote.

Références bibliographiques

A

Alexandre de Menezes B., Robert Lockhart J., Michael Cox J., Heather Allison H and Alan McCarthy J.2008. Cellulose Degradation by Micromonosporas Recovered from Freshwater Lakes and Classification of These Actinomycetes by DNA Gyrase B Gene Sequencing. Applied and environmental microbiology 74(22) : 7080–7084.

Al-Zarban S.S.,Al-Musllam A.A.,Abbas I.,Stackebrandt E.,Kroppenstedt R.M.2002.Saccharomonosporhalophilasp.nov, a novel halophilicactinomycete isolated from marsh soil in Kuwait .Int J Sys EvMicrobiol 52:555-558.

Aouiche A., Sabaou V., Meklat A.X., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. 2012. Antimicrobial activity of a Saharan Streptomyces spp. PAL111 strain against various clinical and toxinogenic microorganisms resistant to antibiotics. Journal de Mycologie Médicale 22 : 42-51.

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.

Ayari A.,Morakchi H.,Gacemi Kirane D.2012. Identificaction and antifungal activity of Streptomyces p.S72 isolated from lake Oubeira sediments in north-east of Algeria.African Journal of biotechnology 11(2):305-317.

B

Badji B., Mostafaoui A., Sabaou N., Lebrihi A., Mathieu F., Seguin E. and Tillequin F. 2007. Isolation and partial characterization of antimicrobial compounds from a new strain *Nonomuraea*sp. NM94. Journal of Industrial Microbiology and biothechnology 34(6):403-412.

Boughachiche F., Reghiooua S., Oulmi L, Zirezer H., Kitouni M., Boudemaghet A., Boulahrouf A. 2005. Isolement d'actinomycètes productrices de substances antibactériennes à partir de la sebkha de Ain Mlila .Science & Techno 23 : 5- 10.

Badji B., Riba A., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N.2005. Activité antifongique d'une souche d'Actinomadura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxigènes. Journal de Mycologie Médicale, 15(4): 211-219.

Badji B.2006.Étude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura* et *Nonomuraea*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. 226 p.

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 .

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

de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine. Algérie. 132 p

Boudemagh A., Kitouni M., Boughachiche F., Hamdiken H., Oulmi L., Reghioua S., Zerizer H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A., Boiron P. 2005. Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra, EL-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *Journal de Mycologie Médicale*, 15: 39-44.

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.

Boudjelal F. 2012. Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97 .Thèse de Doctorat ,Ecole nationale superieure ,El-harrach ,Alger.14p.

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.

Boughachiche F. 2012. Étude de molécules antibiotiques sécrétées par des souches appartenant au genre *Streptomyces*, isolées de Sebkh. Thèse doc : Université Mentouri-Constantine. 150 p.

Brault G., Shareck F., Hurtubise Y., Le'pine F., Doucet N. 2012. Isolation and Characterization of EstC, a New Cold-Active Esterase from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Plo Sone Marche* 7 (3):1-8.

C

CLSI. 2010. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement, M100-S24.

Côté A., Shareck F. 2008. Cloning, purification and characterization of two lipases from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Enzyme and Microbial Technology* 42(5):381-388.

D

Danilenko V.N., Mironov V.A., Elizarov S.M. 2005. Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes .A Review *App BiochemMicrobiol* 41(4):319–329.

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 .

Demain A.L and Lancini G. 2006. Bacterial Pharmaceutical Products in Procaryotes. 1:

812–833.

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.

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.

E

El-Sersy N., Abd-Elnaby H., Abou-Elela G. M., Ibrahim H. A. H. and El-Toukhy N. M. K. 2010. Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine *Streptomyces ruber*. *Afr Journal Biotechnol* 9 (38): 6355-6364.

G

Ganesh Kumar C., Mongolla P., Joseph J., Nageswar Y.V.D., Kamal A. 2010. Antimicrobial activity from the extracts of fungal isolates of soil and dung samples from Kaziranga National Park, Assam, India. *Journal de mycologie medical* 20: 283-289.

George M., Anjumol A., Mohamed Halta A.A. 2012. Distribution and bioactive potential of soil actinomycetes from different ecological habitats. *African Journal of Microbiology Research* 6 (10): 2265-2271.

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.

Ghanem N.B., Sabry S.A., El-Sherif Z.M., Abu El-Ela G.A. 2000. Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *Journal Gen Appl Microbiol* 46: 105–111.

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 and O'Donnell A.G. 1989. Search and discovery of industrially- significant actinomycetes. *Proceeding of the 44th Symposium on Society for General Microbiology, (SCGM'89)*. Cambridge University Press Cambridge : 343-383 .

Goodfellow M., Williams S. T. 1983. Ecology of actinomycetes. *Ann Rev Microbiol* 37: 189-216.

Gulve R. M. and Deshmukh A. M., 2011. Enzymatic activity of actinomycetes isolated from marine sediments. *Recent Reserch in Science and technology*. 3(5): 80- 83.

Gurielidze M., Pataraya D., Cholokava N., Nutsubidze N. 2010. Extremophilic Actinomycetes, Distributed in Various Types of Soils of Georgia and their Protease Activity. *Bull Georg Natl Acad Sci* 4 (3):81-84.

H

Habbeche A., Haberra S., Saoudi B., Kerouaz B., Ladjama A. 2013. Keratinase production from a thermophilic Actinomycete strain Cpt29 newly isolated from poultry compost. *J Minerova Biotechnol* 25: 151-159 .

Hacene H., Boudjellal F & Lefebvre G .1998. AH7, a non polyenic antifungal antibiotic produced by a new strain of *Streptosporangium roseum*. *Microbios* 96: 103–109 .

Hacène H., Daoudi-Hammad F., Bhatnagar T., Baratti J.C. and Lefebvre G. 2000. H107, a new aminoglycoside anti-*Pseudomonas* antibiotic produced by a new strain of *Spirillospora*. *Microbios* 102(402): 69-77.

Harir M. 2018. Caractérisation des molécules bioactive produits par des souches d'actinobactéries isolées des sols arides et semi arides d'Algérie. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella, Oran, 9p.

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.

Hsu S. C and Lockwood J. L. 1975. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of Actinomycetes in water and soil. *Appl Microbiol* 29(3):422-426.

Hulya A.K., Tarhan L. 2006. Vancomycin antibiotic production and TCA-glyoxalate pathways depending on the glucose concentration in *Amycolatopsis orientalis*. *Enzyme Microb Technol* 38:727-734.

J

Janaki T. 2017. Enzymes from Actinomycetes .Review. *International Journal of ChemTech Research*. 10: 176-182.

Jang HD and Chenks. Production and characterisation of thermostable cellulase from *Streptomyces* transformant T3-1. 2003. *Worked Journal Microbiol Biotechnol* 19:263-268.

Jani S.A., Chudasama C.J., Patel D.B., *et al.* 2012. Optimization of extracellular protease production from alkali thermo tolerant actinomycetes: *Saccharomonospora viridis* SJ-21. *Bull Environ Pharmacol Life Sci* 1(6): 84–92.

Jeffrey L. S., Halizah H. 2014. Biological active compounds from actinomycetes isolated from soil of Langkawi Island, Malaysia. *African Journal of Biotechnology* 13(49) : 4523-4528.

Jeffrey L.S.H . 2008. Isolation, characterization and identification of actinomycetes from

agriculture soils at Semongok, Sarawak . Afr Journal of Biotechnol 7 (20): 3697-3702.

Jensen P.R., Dwight R., Fenical W. 1991. Distribution of actinomycetes in near- shore tropical marine sediments. Apple *Environ Microbial* 57(4):1102–1108.

Joffin J .N and Leyrol G.2006. Microbiologie technique. Tome 1. Dictionnaire des techniques. Canope CRDP de Bordeaux 4^{ème} Edition..ISBN 978-2-86617-515-3.

Joffin J .N. and Leyrol. G.2001. Microbiologie technique. Tome 2. Documents techniques, Broché, Bordeaux 2^{ème} édition .ISBN 2-86617-334-1.



Kasana R.C., Salwan R., Dhar H., Dutt S., Gulati A. 2008. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on Agar plates using gram's iodine. *Curr Microbial* 55: 503–507.

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

Kishore J. P., Manojkumar, Z. Chopdia and Raghunathan T.M. 2011. Lipase biodiversity. *Indian. JSci Technol* 4(8).

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.

Korare C.R., Mahadik K.R., Kadam S.S.2004. Isolation caractérisation and antimicrobial activity of marine halophilic actinopolysporas species AH1 from the west coast of India. *Curr Sci India* 86:7-593.

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.

Kumar Govindaraji P., Vuppu S.2020. Characterisation of pectin and optimization of pectinase enzyme from novel *Streptomyces fumigatiscleroticus* VIT-SP4 for drug delivery and concrete crack- healing applications: An eco-friendly approach. *Saudi Journal of Biological Sciences*:1-7.



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.

Lechevalier M.P., De Bievre C., Lechevalier H.A. 1977. Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *BiochemSystEcol* 5 : 249-260.

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.1981.Ecological association involving actinomycetes. *In:Actinomyces*.Shaal and Pulverer (Eds.).*Zbl Bakt Suppl* 11: 159-166.

Lechevalier M.P., Prauser H., Labeda D.P.,Ruan J.S. 1986.Two new genera of nocardioformactinomycètes :*Amycolatagen*. nov.and*Amycolatopsis*gen. nov. *Int J Sys Bacteriol* 36 :29-37.

Lee S.D.2006.*Amycolatopsis*jejuensissp.nov.and *Amycolatopsis* halotolerans sp.nov., novel actinomycetes isolated from a natural cave*Int.J Syst Evol Microbiol* 56:549-553.

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.

Loqman S. 2009. La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycètes antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, France, 216p.

Loucif L.2006.Recherche des souches d'actinomycètes productrices de molécules antibactériennes "Cas des eaux du lac oubeira d'elkala.Mémoire de magister, Université Badji Mokhtar,Annaba,75p.

M

Meklat A. 2012.Taxonomie et potentiel antogoniste 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.

Mansour S.R., Abdel-Azeem A.M and Abo-Deraz S.S.S.2015. A new record of Actinobacteria isolated from soil in Jerusalem and their enzymatic potential. *F1000Research* 4:11.

Mincer T. L., Jensen P.R ., Kauffman C.A and Fenical W . 2002. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *App Environ Microbial* 68: 5005-5011.

Mobini-Dehkordi M and Fahime A.J. 2012. Application of alpha-amylase in biotechnology.

Journal of Biology and today's world : 39-50.

Moncheva P., Tishkov S., Dinitrova N., Chipéva V., Antonova Nikolova S., Bogatzevska N. 2002. Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica. Journal of culture collections 3:3-14.

Morakchi H. 2011. Isolement et identification de souche d'actinomycètes productrices de molécules bioactives au niveau du lac Oubeira : Etude morphologique, physiologique, moléculaire et spectre d'activité. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, 16p.

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.

N

Nedialkova D., Naidenova M. 2005. Screening the antimicrobial activity of actinomycetes strains isolated from Antarctica. Journal of Culture Collections 4: 29- 35.

Ninawe S. K. 2005. Use of xylan-rich cost effective agro-residues in the production of xylanase by *Streptomyces cyaneus* SN32. J Appl Microbiol :1141–1148.

O

O'Gara F., Dowling D. N., Boesten B. 2008. Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs. John Wiley & Sons: Weinheim. Pp: 192.

Osada H. 1998. Bioprobes for investigating mammalian cell cycle control. J Anti Biot 51 :973-981.

Oskay M. 2009. Antifungal and antibacterial compounds from *Streptomyces* strains. Academic journal. 8 (13): 3007-3017.

P

Park J.O., El-Tarabily K.A., Ghisalberti E.L and Sivasithamparam K. 2002. Pathogenesis of *Streptomyces albireticuli* on *Caenorhabditis elegans* and its antagonism to soil-borne fungal pathogens. Letters in Applied Microbiology 35: 361– 365.

Paul Njenga W., Mwaura F.B., Wagacha J.M., Gathuru E.M. 2017. Methods of Isolating Actinomycetes from the Soils of Menengai Crater in Kenya. Arch of Clinical Microb 8(3):45.

Pazhanimurugan R., Gopikrishnan V., Shanmuga S.T., Radhakrishnan M. R. Balagurunathan R. 2012. Bioactive potential of actinobacteria against drug resistant pathogens. Journal of Applied Pharmaceutical Science 2(5) : 167- 17.

Prescott L., Harley J.P., Klein D.A. 2003. Microbiologie. De Boek Ed (Berlin), 2^{ème}

édition, pp 539.

Pridham T.G. and Gottlieb D. 1948. The utilization of carbon compounds by some Actinomycetales as an aid for species determination. *Journal Bacteriology* 56:107-114.

Priyanka S.B.2019. Isolation, Purification and Characterization of Pectinase Enzyme from *Streptomyces Thermocarboxydus* .*JBB MS* 1(5).1-6.

Putri A.L., Setiawan R.2019. Isolation and screening of actinomycetes producing cellulase and xylanase from Mamasa soil, West Sulawesi. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 308 012035.

R

Rahmani N., Kahar P., Lisdiyanti P., Hermiati E., Leeb J., Bambang YPrasetya D., Oginob C., Kondob A. 2018. Xylanase and feruloyl esterase from actinomycetes cultures could enhance sugarcane bagasse hydrolysis in the production of fermentable sugars. *Bioscience biotechnology and biochemistry* 82(5):904–915.

Rahna K. Rathnan and Dr. Ambili M. 2011. Cellulase Enzyme Production by *Streptomyces* Sp Using Fruit Waste as Substrate. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(12): 1114-1118.

Rathnan R.K., Ambili M. 2011. Cellulase Enzyme Production by *Streptomyces* Sp Using Fruit Waste as Substrate. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5(12): 1114–1118.

Raval K.M., Vasawani P.S., Mujumder D.R. 2012. Biotransformation of a single amino-acid L-tyrosine into a bioactive molecule L-Dopa. *International Journal of scientific and research Publication* 2: 2250-3153.

Ravi Ranjan K., Vasantba J., Bhoomi M., Bonisha T., Bhumika C. 2015. Antibacterial Potentials of Actinomycetes Isolated from Gujarat. *Int Journal Pharm Sci Rev Res* 30(15):78-83.

Reghioua S., Boughachiche F., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A., Boulahfrouf A. 2008. Separation et caractérisation préliminaire d'antibiotiques produits par une souche représentative d'actinomycètes isolés de sol aride de la région de Biskra. *Sciences & Technologie* 28:59-64.

Roy S., Das I., Munjal M., Karthik I., Kumar G., Kumar S., Rao R.V.B. 2014. Isolation and characterization of tyrosinase produced by marine anaerobacteria and its application in the removal of phenol from aqueous environment. *Front. Biol.* 9(4): 306-316.

S

Saini P., Gangwar M., Kalia A., Singh N and Narang D. 2016. Isolation of endophytic actinomycetes from *Syzygium cumini* and their antimicrobial activity against human pathogens. *Journal of Applied and Natural Science* 8 (1): 416 – 422.

Saker R. 2015. Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens

et potentialités antagonistes. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas, Sétif, 14p.

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 α -Amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 Strain Using Agro-Industrial 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 *Actinomyces 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.

Saratal G.D., Saratal R.G., Lo Y.C., Chang J.S. 2010. Multi-component cellulase production by *Cellulomonas biazotea* NCIM-2550 and their applications for cellulose biohydrogen production. *Biotechnol prog* 26:406-416.

Sharma D., Kaur T., Chadha B.S & Manhas R. K. 2011. Antimicrobial Activity of Actinomycetes Against Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *E. coli* and Various Other Pathogens. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* December. 10(6) : 801-808.

Singh L. S., I. Baruahet T. C. Bora. 2006. Actinomycetes of Loktak habitat: Isolation and screening for antimicrobial activities. *Biotech*.5: 217-221.

Sierra G., 1957. A Simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie Van Leeuwenhoek* 23:15-22.

Smaoui S. 2010. Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, Tunisie, 103 p.

Solecka J., Zajko J., Postek M. and Rajnisz A. 2012. Biologically active secondary metabolites from actinomycetes. *Central European Journal of Biology* 7:373-390.

Sujatha P., Bapi-Raju K. V. V. S. N. and Ramana T. 2005. Studies on a new marine streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Res* 160: 119-126.

Sutthinan K., Akira Y., Aaisamorn I. 2009. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal Microbiol Biotechnol* 25:649–655.

T

Taibi Z., Saoudi B., Boudelaa M., Trigui H., Belghith H., Gargouri A., Ladjama A. 2012. Purification and biochemical characterization of a highly thermostable xylanase from

Actinomadura sp. strain Cpt20 isolated from poultry compost. *Applied Biochemistry Biotechnology* 166(3):663-679.

Tatsinkou Fossi 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

Tighidet S. 2011. Caractérisation d'antifongiques non polyéniques produits par des souches d'actinomycètes et essai d'optimisation de leurs milieux de production. Mémoire de Magister, Université Abderrahmane Mira Bejaia, Pp. 3-7.

Tsujibo, H., Okami, Y., Tanno, H., Inamori, Y. 2003. Cloning, sequence and expression of a chitinase gene from a marine bacterium, *Alteromonas* sp. strain O-7. *Journal of Bacteriology*: 175-181.

Z

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.

Viswanathan K., Jeyanthi Rebecca L., Arumugam P., Anbarasu K. 2015. Isolation and screening of protease producing marine Actinomycetes from Chennai coastal region. *Int J Adv Res BiolSci*2(8): 153–157

Vonothini G., Murugan M., Sivakumar K., and Sudha S. 2008. Optimization of protease production by an actinomycete Strain, PS-18A isolated from an estuarine shrimp pond. *Agriculture and Forestry Journal* 7(18) :3225-3230.

W

Wang L., Huang Y., Liu Z., Goodfellow M. Rodriguez C., 2006. *Streptacidiphilus oryzae* sp. nov., an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. *Int Journal Sys Ev Microbial* 56:1257-1261.

Williams S. T and Wellington E. 1982. Actinomycetes in methods of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. *Agronomy monograph* 9 (Second Edition). Ed., A. L, ASA-SSSA. Madison, pp. 969-987.

V

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. *Sciences et technologie* C-24 :17-22

Zhi X.Y., Li W.J., Stackebrandt E. 2009. An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *Int J Syst Evol Microbiol* 159 (3): 589–608.

Zitouni A., Boudjella H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. 2004. *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 1377-1381.

Zitouni A., Boudjella H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. 2005. *Nocardiopsis* and *Saccharothrix* genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *Research in Microbiology* 156(10): 984-993.

Annexes

I- Milieux de culture

1-Les compositions des milieux utilisés pour la vérification des actinomycètes

Gausse (Morakchi, 2011)

KNO ₃	1g
K ₂ HPO ₄	0,5g
MgSO ₄	0,5g
NaCl	0,5g
FeSO ₄	0,01g
Amidon	20g
Agar	30g
Eau distillée	1000ml

pH= 7,4

2-Les compositions des milieux utilisés pour les testes hydrolyses et activité antibacterienne:

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 ISP3

Farine d'avoine	20 g
Solution saline standard	1 ml
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml pH=7,2
Solution saline standard: FeSO ₄ , 7H ₂ O: 0,1 g ; MnCl ₂ , 4H ₂ O: 0,1 g ; ZnSO ₄ , 7H ₂ O:g;	
Eau distillée	100 ml

Milieu ISP4

Amidon	10 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	1 g
NaCl	1 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
CaCO ₃	2 g
Solution saline standard	1 ml
pH=7,2	

Milieu ISP7

Glycérol	15 g
L-tyrosine	0,5 g
L-asparagine	1 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0,5 g
NaCl	0,5 g
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0,01 g
Solution standard Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
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 Bennett

Extrait de levure	1g
Extrait de viande	1g
Peptone	2g
Glucose	10g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

Ph=7.2

Milieu Muller-Hinton

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

pH=5.6

Milieu de Sierra additionné de tween 80

Peptone	10 g
NaCl	05 g
CaCl ₂ -1H ₂ O	0.1 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	18 g
Tween 80	10 ml

pH=7,4

Gélose au lait écrémé

Peptone	10 g
NaCl	05 g
Extrait de levure	03 g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml
Lait écrémé	100 g

Gélose à la cellulose

Cellulose	0,5g
NaNO ₃	0.1 g
K ₂ HPO ₄	0.1g
MgSO ₄	0.05 g
Extrait de levure	0.05 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH=7	

Milieu SCA (Leulmi,2018)

Amidon	10g
KNO ₃	2g
K ₂ HPO ₄	2g
NaCl	2g
Caséin	0,3g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,05
CaCO ₃	0,02
FeSO ₄ 7 H ₂ O	0,01
Agar	20
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

▪ La solution aqueuse de Rouge Congo à 1%

Rouge Congo	01 g
Eau distillée	100 ml

▪ La solution du NaCl (1N)

NaCl	56,5 g
Eau distillée	1000ml

Les articles utilisés dans les résultats

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.

Boudemagh A., Kitouni M., Boughachiche F., Hamdiken H., Oulmi L., Reghioia S., Zerizer H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A., Boiron P. 2005. Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra, EL-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *Journal de Mycologie Médicale*, 15: 39-44.

Boughachiche F., Reghioia S., Oulmi L, Zirezer H., Kitouni M., Boudemaghet A., Boulahrouf A. 2005. Isolement d'actinomycètes productrices de substances antibactériennes à partir de la sebkhia de Ain Milila .*Science & Techno* 23 : 5- 10.

Brault G., Shareck F., Hurtubise Y., Le'pine F., Doucet N.2012. Isolation and Characterization of EstC, a New Cold-Active Esterase from *Streptomyces coelicolor*A3(2) .*Plo Sone Marche* 7 (3):1-8.

El-Sersy N., Abd-Elnaby H., Abou-Elela G. M., Ibrahim H. A. H. and El-Toukhy N. M. K. 2010. Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine *Streptomyces ruber*. *Afr Journal Biotechnol* 9 (38): 6355-6364.

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.

Rahmani N., Kahar P., Lisdiyanti P., Hermiati E., Leeb J., Bambang YPrasetyaa D., Oginob C., Kondob A. .2018. Xylanase and feruloyl esterase from actinomycetes cultures could enhance sugarcane bagasse hydrolysis in the production of fermentable sugars. *Bioscience biotechnology and biochemistry* 82(5):904–915.

Reghioia S., Boughachiche F., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A., Boulahrouf A. 2008. Separation et caractérisation préliminaire d'antibiotiques produits par une souche représentative d'actinomycètes isolés de sol aride de la région de Biskra. *Sciences & Technologie* 28:59-64.

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 α -Amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 Strain Using Agro-Industrial By-Products. *Braz Arch Biol Technol* 55 (5): 793-800.

Smaoui S .2010. Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, Tunisie , 103 p.

ملخص:

في هذه الدراسة تمت دراسة 24 سلالة من الاكتينومييسات من التربة من منطقتي بسكرة وتقرت من اجل إبراز خصائصها المظهرية وكذلك قدرتها على تحطيم ركائز مختلفة. كما تناولت هذه الدراسة النشاط المثبط للبكتريا في الوسطين السائل والصلب .

وقد أظهرت النتائج كالتالي :

تظهر السلالات المعزولة خواص ظاهرية مماثلة للأكتينومييسات التي هي عبارة على بكتيريا الهوائية الخيطية ايجابية الغرام بنمو بطيء .

أظهرت عزلات الاكتينومييسات أن لها قدرة كبيرة على تحطيم بعض المركبات (النشاء والكازيين والسليولوز واليكيتين والدهون) مما يدل على أن لديهم خلفية أنزيمية كبيرة.

أظهرت عزلات الاكتينومييسات نشاط مثبط قوي ضد البكتريا ذات النوع الايجابي, كما ان هذا النشاط اعطى نتيجة ايجابية في الوسط الصلب .

الكلمات المفتاحية: التربة, الاكتينومييسات, الخصائص المظهرية, النشاط الانزيمي, النشاط المثبط للبكتريا

Résumé:

Dans cette étude, 24 souches d'actinomycètes ont été isolées du sol de la région de Biskra et Touggourt et leurs propriétés phénotypiques ainsi que leur capacité à décomposer des composés complexes tels que l'amidon, caséine, pectine, cellulose, tween 80 et xylène ont été déterminées. L'activité antimicrobienne des isolats obtenus est effectuée sur les milieux solide et liquide contre les bactéries pathogènes suivantes : bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*).

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 montré une capacité remarquable à dégrader certains composés (cellulose, amidon, caséine, pectine et xylène) ce qui montre qu'ils possèdent un bagage enzymatique important.

Les isolats d'actinomycètes ont montré une forte activité inhibitrice vis-à-vis des souches à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et le milieu solide qui a donné le meilleur résultat par rapport au milieu liquide.

Mots clés: sol, actinomycètes, propriétés phénotypiques, activité enzymatique, activité antibactérienne.

Abstract

In this study, 24 strains of actinomycetes isolated from soils from the Biskra and Touggourt were studied and their phenotypic characteristics, as well as their ability to break down complex compounds such as starch, casein, pectin, cellulose, tween 80 and xylene were determined. Their antimicrobial activity was performed on solid and liquid media against the following pathogenic bacteria: Gram negative bacteria (*Escherichia coli*) and the Gram positive (*Staphylococcus aureus*).

The isolated strains showed phenotypic properties identical to the actinomycetes which are slow-growing, sporulated gram-positive filamentous bacteria.

Isolates of actinomycetes have shown a remarkable ability to degrade certain compounds (cellulose, starch, casein, pectin, tween 80 and xylene) which shows that they have significant enzymatic capacities.

Isolates of actinomycetes showed strong inhibitory activity against Gram positive strains (*Staphylococcus aureus*) and solid medium which give better result than liquid medium.

Keywords: Sol, actinomycetes, phenotypic properties, enzymatic activity, antibacterial activity