



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة سعيدة د. مولاي الطاهر

Université de Saida Dr. Moulay Tahar

Faculté des Sciences

Laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation
biologique des plantes

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de
Doctorat 3ième Cycle
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

Recherche dans des écosystèmes extrêmes de nouvelles souches d'Actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes : Caractérisation des molécules bioactives

Présenté par : Mme : Belgacem Habiba

Soutenu le : 09/07/2023

Devant le jury composé de :

Président	Mr. Hachem Kadda	Professeur	Université de Saida -Dr. Moulay Tahar
Rapporteur	Mr. Benreguieg Mokhtar	MCA	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar
Examineur	Mr. Belyagoubi Larbi	MCA	Université de Tlemcen
Examineur	Mr. Halla Noureddine	MCA	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar
Examineur	Mr. Bellil Yahia	MCA	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu « Allah » Tout Puissant, le Généreux et le miséricordieux pour m'avoir donné la force, la patience, la volonté et le courage de terminer ce modeste travail, et pour m'avoir guidé vers la lumière de la recherche du savoir et de la science.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma plus vive reconnaissance et mon profond respect à mon directeur de thèse Dr Benreguieg Mokhtar qui a accepté volontairement et aimablement de diriger ce travail. Durant toutes ces années, il n'a pas cessé de m'encourager pour surpasser toutes les difficultés de ce long parcours. Ainsi, je tiens à les remercier chaleureusement pour leurs compétences, leur dynamisme, leur disponibilité, leur aide, leurs conseils prestigieux et surtout leur qualité humaine qui m'ont été d'un grand soutien

Aux membres de notre jury de thèse, pour l'honneur qu'ils nous ont fait de participer à ce jury

Je remercie Mr le Professeur Hachem Kadda, Le président du comité de la formation doctorale pour sa disponibilité ses conseils précieux, et sa rigueur scientifique, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse, Hommages respectueux.

J'exprime tous mes remerciements à Dr BELYAGOUBI LARBI, d'avoir eu l'amabilité d'accepter de juger ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Dr Halla Noureddine, pour toute l'aide qu'il m'a apportée qui a su aménager son temps pour lire le manuscrit et juger ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Je suis également honorée par la participation de Dr Bellil Yahia au jury de cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie sincèrement Dr Taha Ahmed Benabbou pour son aide précieuse surtout pour le traitement de la partie phylogénie et pour leur gentillesse et leur aide si précieuse tout au long de ce travail.

Je remercie vivement Dr Sitayeb Tayeb, Directeur du laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation Biologique des Plantes de m'avoir permis de travailler dans des bonnes conditions. Enfin, je tiens à remercier tous les professeurs de biologie qui m'ont enseigné tout au long de ma carrière scientifique et tous les ingénieurs de laboratoire pédagogique de la faculté de science à l'Université de Saida Dr- Moulay Tahar et surtout Mr Hamad Ahmed pour son aide efficace ainsi que tout le personnel du département de biologie. Je remercie toutes les personnes avec qui j'ai partagé mes études et notamment ces années de thèse.

Dédicaces

À mes très chers parents qui ont toujours été mes piliers, je leur dédie ce travail en signe de gratitude pour leur soutien inconditionnel et pour m'avoir transmis des valeurs de travail acharné et de persévérance. Leur exemple continue de guider ma route et de nourrir ma détermination.

À mes chères enfants Ali, Yacine et Rihab, vous êtes ma plus grande source de bonheur et de motivation. Votre amour et votre présence ont illuminé chaque étape de ce parcours. Que ce travail soit le reflet de l'amour immense que je vous porte et de mon désir de vous offrir un avenir meilleur.

En mémoire de mon mari et tous mes proches disparus, que leurs âmes reposent en paix. Leur absence laisse un vide dans ma vie, mais leur influence continue de m'inspirer et de me motiver à donner le meilleur de moi-même.

À mes frères et sœurs, et à toute ma famille je vous suis reconnaissante pour votre soutien indéfectible et vos encouragements constants. Nos liens familiaux ont été une force inspirante tout au long de cette aventure académique.

À tous mes chers collègues et ami(e)s, votre amitié et votre collaboration ont rendu ce chemin moins solitaire et plus enrichissant. Vos conseils, vos discussions et vos encouragements ont contribué à ma croissance personnelle et professionnelle. Merci d'avoir été présents à mes côtés.

Que cette thèse soit le fruit de toutes ces belles connexions humaines et qu'elle puisse inspirer d'autres chercheurs à poursuivre leurs passions et à réaliser leurs rêves.

Habiba Belgacem

Résumé :

Cette étude s'intéresse d'une part à la recherche et à l'isolement à partir de différents biotopes naturels des souches d'Actinomycètes éventuellement productrices de substances antimicrobiennes et d'autre part à l'étude de ses propriétés antagonistes et à la caractérisation des molécules bioactives sécrétés. Quarante-vingt-dix (90) isolats d'actinomycètes sont obtenus à partir de cinq échantillons de sol, provenant de différentes régions arides et semi arides d'Algérie. Le screening primaire des activités antimicrobiennes en utilisant la technique de cylindres d'agar a montré la présence d'une activité antibactérienne et/ou antifongique chez Soixante-dix-neuf (79) souches parmi les 90 souches isolées. L'isolat codée TR10 isolée de la rhizosphère du sol d'acacia de Tamanrasset, dans le sud de l'Algérie a été sélectionnés pour leurs propriétés antagonistes importantes vis-à-vis de 19 germes cibles. Cet actinomycète rhizosphérique a été caractérisé et soumis à des tests biochimiques ainsi à une fermentation sur milieu liquide et à l'extraction par le solvant d'acétate d'éthyle. Son extrait brut a été examiné pour son activité antimicrobienne en utilisant la gélose Mueller-Hinton (MHA). Les meilleures zones d'inhibition (ZI) détectées contre des organismes cibles *Escherichia coli* ATCC 25922 (40mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (40mm), *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 33591 (18mm). La levure *Candida albicans* ATCC 10231 (20mm) et les champignons phytopathogènes *Penicillium sp* (20mm). La cinétique de production des antibiotiques révèle que la production maximale est au 6 et 7^{ème} jour d'incubation. Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées en utilisant la méthode des dilutions sur les microplaques. Quinze composés de l'extrait méthanolique ont été identifiés à l'aide de la GC-MS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse). Les principales substances trouvées sont phénol (33,23%), Cyclohexanone, 5-méthyl-2-(1-méthyléthylidène)- (9,95%), 1,6-Octadien- 3-ol, 3,7-diméthyl-, formate (20,24%). La taxonomie moléculaire et les analyses phylogénétiques est avéré que la souche TR10 c'est une nouvelle souche qui appartient au genre *Streptomyces*. L'analyse du séquençage des nucléotides de l'ADNr 16S de l'isolat a été rapportée à GenBank avec le code d'accès OP617665. Les résultats de cette étude montrent la présence de divers composés bioactifs dans la rhizosphère du sol d'acacia de Tamanrasset. Dans l'ensemble les micro-organismes découverts dans les écosystèmes extrêmes Algériens inexplorés étaient une source prometteuse pour le développement de nouveaux antibiotiques.

Mots clés: Actinomycètes, composés bioactifs, GC-MS, Activité antimicrobienne. Isolat TR10.

Abstract:

This study is interested on the one hand in the research and isolation from different natural biotopes of Actinomycetes strains possibly producing antimicrobial substances and on the other hand in the study of its antagonistic properties and the characterization of the secreted bioactive molecules. Ninety (90) isolates of actinomycetes are obtained from five soil samples, coming from different arid and semi-arid regions of Algeria. The primary screening of antimicrobial activities using the agar cylinder technique showed the presence of antibacterial and/or antifungal activity in Seventy-nine (79) strains among the 90 isolated strains. The coded isolate TR10 isolated from the rhizosphere of the acacia soil of Tamanrassat, in the south of Algeria was selected for its important antagonistic properties towards 19 target germs. This rhizospheric actinomycete was characterized and subjected to biochemical tests as well as fermentation on liquid medium and extraction by ethyl acetate solvent. Its crude extract was examined for its antimicrobial activity using Mueller-Hinton agar (MHA). The best zones of inhibition (ZI) detected against target organisms *Escherichia coli* ATCC 25922 (40mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (40mm), *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 33591 (18mm), the yeast *Candida albicans* ATCC 10231 (20mm), and the plant pathogenic fungi *Penicillium* spp (20mm). The kinetics of antibiotic production revealed that the maximum production was on the 6th and 7th day of incubation. Minimum inhibitory concentration values were determined using the microplate dilution method. Fifteen compounds from the methanolic extract were identified using GC-MS (gas chromatography coupled to mass spectrometry). The main substances found were phenol (33.23%), Cyclohexanone,5-methyl-2-(1-methylethylidene)- (9.95%), 1, 6-Octadien- 3-ol, 3,7-dimethyl-, formate (20.24%). Molecular taxonomy and phylogenetic analysis showed that strain TR10 is a new strain belonging to the genus *Streptomyces*. The analysis of the nucleotide sequencing of the 16S rDNA of the isolate was reported to GenBank with the access code OP617665. The results of this study show the presence of various bioactive compounds in the rhizosphere of Tamanrassat acacia soil. Overall, the microorganisms discovered in the unexplored Algerian extreme ecosystems were a promising source for the development of new antibiotics.

Key words: Actinomycetes, Bioactive compounds, GC-MS, Antimicrobial activity. Isolate TR10

الملخص:

تهتم هذه الدراسة من ناحية بالبحث والعزل من البيئات الحيوية الطبيعية المختلفة لسلاسل الأكتينوميسيتات التي قد تنتج مواد مضادة للميكروبات ومن ناحية أخرى بدراسة خصائصها المضادة وتوصيف الجزيئات النشطة بيولوجيًا المفترزة. تم الحصول على تسعين (90) عزلة من البكتريا الشعاعية من خمس عينات من التربة ، قادمة من مناطق قاحلة وشبه قاحلة في الجزائر. أظهر الفحص الأولي للأنشطة المضادة للميكروبات باستخدام تقنية أسطوانة أجار وجود نشاط مضاد للجراثيم و / أو مضاد للفطريات في تسع وسبعين (79) من بين 90 سلالة معزولة. تم اختيار العزلة المشفرة TR10 السلالة المعزولة من تربة جذور الأكاسيا في تمنراست في جنوب الجزائر لخصائصها العدائية الهامة تجاه 19 جرثومة مستهدفة. تم توصيف هذه الأكتينوميسيتية الجذرية وإخضاعها لاختبارات كيميائية حيوية بالإضافة إلى التخمر على وسط سائل والاستخلاص بواسطة مذيب أسيتات الإيثيل. تم فحص المستخلص الخام لمعرفة نشاطه المضاد للميكروبات باستخدام وسط أجار Mueller-Hinton (MHA). تم الكشف عن أهم مناطق التثبيط ضد الكائنات الحية المستهدفة

، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (40mm) ، *Escherichia coli* ATCC 25922 (40mm) ، *Candida albicans* ATCC 10231 (20mm) والخميرة، *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 33591 (18mm) ، والفطريات المسببة للأمراض النباتية *Penicillium spp* (20mm).

أظهرت حركة إنتاج المضادات الحيوية أن الحد الأقصى للإنتاج كان في اليومين السادس والسابع من الحضانه. تم تعيين الحد الأدنى لقيم التركيز المثبط باستخدام طريقة تخفيف الصفيحة الدقيقة. تم تحديد خمسة عشر مركبًا للمستخلص الميثانولي باستخدام (GC-MS) كروماتوغرافيا الغاز مقترنة بمطياف الكتلة. المركبات الرئيسية التي تم العثور عليها هي :

1,6-Octadien-3-ol, 3,7-diméthyl-, formate (20,24%) ، Cyclohexanone,5-méthyl-2-(1-méthyléthylidène)- (9,95%) ، phénol (33,23%)

أثبتت تحليلات التصنيف الجزيئي والتطور الوراثي أن السلالة TR10 هي سلالة جديدة تنتمي إلى جنس *Streptomyces*. تم الإبلاغ عن تحليل تسلسل النوكليوتيدات لعزل l'ADNr 16S إلى GenBank برمز الوصول OP617665. أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود العديد من المركبات النشطة بيولوجيًا في تربة جذر أكاسيا بتمنراست. بشكل عام تشكل الكائنات الحية الدقيقة المكتشفة في النظم البيئية الجزائرية غير المكتشفة مصدرًا واعدًا لتطوير مضادات حيوية جديدة.

كلمات مفتاحية : البكتريا الشعاعية ، المركبات النشطة بيولوجيا ، GC-MS ، النشاط المضاد ، العزلة TR10.

Table des Matières

REMERCIEMENTS

AVANT PROPOS

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

RÉSUMÉ

ABSTRACT

الملخص

INTRODUCTION	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre I : Revue Bibliographique	4
I. Les Actinobactéries	4
1. Historique.....	4
2. Définition des actinobactéries.....	4
3. Caractéristique générale d'actinobactéries	5
4. Ecologie des actinobactéries et leur distribution dans la nature	9
4.1. Environnement terrestre.....	11
4.1.1. Actinomycètes de la rhizosphère	11
4.2. Eaux douces et marines.....	12
4.3. Air	12
4.4. Composts	12
4.5. Végétaux, animaux et homme	12
5. Taxonomie et critères d'identification	14
5.1. Taxonomie phénotypique.....	15
5.1.1. Critères morphologiques.....	15
5.1.2. Critères chimiques (chimiotaxonomique).....	16
5.1.2.1. Acides aminés pariétaux.....	16
5.1.2.2. Sucres cellulaires	17
5.1.2.3. Lipide	17
5.2.1.3. Critères physiologiques et taxonomie numérique	18

5.2.2. Taxonomie moléculaire	18
5.2.2.1. Séquençage de l'ADN ribosomique 16S	19
5.2.2.2. Hybridation ADN-ADN	19
5.2.2.3. Pourcentage de guanine-cytosine (G+C)	20
6. Cycle de développement des actinobactéries	22
7. Métabolites secondaires des actinomycètes	22
7.1. Antibiotiques	23
7.2. Pesticides biologiques	24
7.3. Hormones de croissance végétale	24
7.4. Substances anti-tumorales	24
7.5. Agents antiviraux	25
7.6. Composés pharmacologiques	26
7.8. Pigments	26
7.8. Enzymes commerciales	28
7.9. Inhibiteurs enzymatiques	30
7.10. Composés anti-inflammatoires	31
7.11. Aliments protéiques unicellulaires	31
7.12. Biosurfactant	31
7.13. Bioherbicides	32
7.14. Biodégradation des polluants	32
7.15. Effet de biosorption	33
Chapitre II: Matériels et méthodes	34
I. Origine des échantillons et isolement des actinobactéries	34
1. Les échantillons de sols	34
2. Echantillonnage	35
3. Mesure de pH des échantillons	35
4. Isolement des actinobactéries	36
4.1. Prétraitement des échantillons de sols	36
A / le Séchage	36
B / Enrichissement de l'échantillon en bicarbonate de calcium(CaCO ₃)	36
4.2. Les milieux de cultures utilisés	36
4.3. Préparation de la suspension-dilution et ensemencement	36
4.3.1. Ensemencement en masse	37
4.3.2. Ensemencement en surface	37
5. Reconnaissance des actinobactéries	37

6. Dénombrement et Sélection des Actinomycètes.....	37
7. Purification et conservation des actinobactéries	37
II. Criblage de l'activité antimicrobienne des actinobactéries.....	38
1. Microorganismes-cibles	38
2. Tests d'antagonismes (étude de l'activité antagoniste <i>invitro</i>).....	40
2.1. Etude de l'activité antibactérienne	40
2.1.1. Méthode des cylindres d'agar	40
2.2. Etude de l'activité antifongique	40
2.2.1. Préparation des suspensions fongiques.....	40
2.2.2. Mise en évidence des activités antifongiques.....	40
2.3. Lecture.....	41
3. Choix des meilleurs isolats d'actinobactéries antagonistes	41
III. Etude de l'activité antibiotique de la souche sélectionnée.....	41
1. Cinétiques de production des antibiotiques en milieu liquide	41
2. Préparation de pré-culture.....	41
2.1. Ensemencement en fioles agitées.....	41
2.2. Cinétique de production de la substance antimicrobienne	41
2.3. Extraction de la substance antimicrobienne (filtrat deculture)	42
2.4. Choix du solvant d'extraction optimal.....	43
3. Révélation microbiologique de la substance antimicrobienne « bio- autographie».....	43
4. Séparation de l'extrait brut sur chromatographie couche mince(CCM).....	44
4.1. La semi-purification des fractions séparées par CCM :	44
4.2. Contrôle de l'activité de chaque composant séparé :.....	45
5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) du métabolite.....	45
6. Identification des composés bioactifs par chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse (GC/MS) :	45
VI. Caractérisation des isolats.....	46
1. Etude des caractères morphologiques	46
1.1. Aspect microscopique	46
1.2. Aspect macroscopique	46
1.3. Production de pigments mélanoides.....	46
2. Etudes des caractères biochimiques.....	46
2.1. Hydrolyse de l'amidon.....	47
2.2. Hydrolyse de la caséine	47

2.3. Hydrolyse de la gélatine (Test gélatinase).....	47
2.4. Dégradation de l'urée.....	47
2.5. Action sur le lait écrémé.....	47
2.6. Recherche sur le nitrate réductase	47
2.7. Recherche de la production d'indole	48
2.8. Recherche de l'enzyme catalase	48
2.9. Etude de la mobilité et de la dégradation du mannitol	48
2.10. L'utilisation des différents substrats carbonés/Production de H ₂ S.....	48
2.11. L'utilisation de citrate comme seule source de carbone	49
3. Des caractères physiologiques	49
3.1. Croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium.....	49
3.2. Croissance à différents pH.....	49
3.3. Croissance à différentes températures	49
4. Caractérisation moléculaire	50
4.1. Extraction de l'ADN génomique, amplification, purification et séquençage du gène de l'ARNr 16S.....	50
Chapitre III : résultats et discussion.....	52
I. Caractéristiques des échantillons et isolement des actinobactéries.....	52
1. PH des échantillons.....	52
2. Résultats d'isolement des actinobactéries des sols arides et semi arides.....	52
II. Criblage de l'activité antimicrobienne des actinobactéries.....	57
1. Résultats de l'action antagoniste des isolats d'actinobactéries.....	57
1.1. Résultats de l'activité antibactérienne des isolats	57
1.2. Résultats de l'activité antifongique des isolats :	60
2. Résultat de choix de meilleur isolat d'actinobactérie antagoniste	64
III. Résultat d'étude de l'activité antibiotique de la souche sélectionnée «TR10».....	64
1. Résultat de la cinétique de croissance et production de la substance antimicrobienne.....	66
2. Résultat de choix du solvant d'extraction optimal	70
3. Révélation microbiologique de la substance antimicrobienne « bio-autographie ».....	71
4. Séparation de l'extrait brut sur chromatographie couche mince(CCM).....	71
4.1. La semi-purification des fractions séparées par CCM	73
4.2. Contrôle de l'activité de chaque composant séparé :	73
5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :.....	75

6. Identification des composés bioactifs par chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse (GC/MS) :	76
IV. Caractérisation des isolats.....	81
1. Etude des caractères morphologiques.....	81
1.1. Aspect microscopique	81
1.1.1. Coloration de Gram	81
1.2. Aspect macroscopique	82
1.2.1. Isolation et identification de TR10	82
2. Le séquençage du gène de l'ARNr 16S.....	83
Conclusion et Perspectives	87
Références bibliographiques	91
Annexe 1.....	119
Annexe 2.....	123
Publication	127

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01. Habitats de quelques actinobactéries	13
Tableau 02. Chimiotypes rencontrés chez les Actinobacteria	17
Tableau 03. Types de phospholipides membranaires rencontrés chez les Actinobacteria	18
Tableau 04. Valeur du coefficient de Chargaff des différents Genres d'actinomycéta	20
Tableau 05. Les Liste de quelques antibiotiques produits par <i>Streptomyces</i> sp.....	24
Tableau 06. Liste des composés bioactifs dérivés de les actinobactéries ont montré des activités antibactériennes et antitumorales	25
Tableau 07. Enzymes d'intérêt commercial produites par les actinomycètes et leur application	28
Tableau 08. Situation géographique des stations d'échantillonnage pris par GPS.....	34
Tableau 09. Caractéristiques des souches indicatrices.....	38
Tableau 10. résultats de l'isolement de soche d'actinomycètes.....	52
Tableau 11. Aspect macroscopique des isolats d'actinobactéries isolés à partir des échantillons du sol.....	53
Tableau 12. Nombre de souches d'actinomycètes isolées à partir des échantillons du sol.....	56
Tableau 13. Zone d'inhibition (mm) des extraits bruts produits par les souches TR10 sur le milieu MHA en utilisant la méthode de diffusion en puits.....	65
Tableau 14. Zones d'inhibition (mm) des phases organique et aqueuse issues de l'extraction.....	70
Tableau 15. résultat de la chromatographie sur couche mince système Toluène - acide acétique (8 :2)	72
Tableau 16. Résultat du test d'activité des extraits semi purifiés et les Rf des fractions actives.....	73
Tableau 17. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'antibiotique sécrété par l'isolat TR10 contre divers champignons et bactéries.....	75
Tableau 18. Composition chimique des composés de l'extrait de TR10 détectée par GC-MS.....	76
Tableau 19. Composés, temps de rétention, formule moléculaire et masse moléculaire présents dans l'extrait brut méthanolique de l'isolat rhizosphérique TR10 détecté par la technique GCMS.	77
Tableau 20. Principaux composants et activités biologiques de l'extrait au méthanol de l'isolat TR10.....	78
Tableau 21. Caractéristiques physiologiques et biochimiques de la souche <i>Streptomyces</i> TR10.....	83

Liste des figures

Figure 1: Clichés de microscopie électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et Permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre <i>Nocardia</i> qui seFragmentent, (B) Bactéries du genre <i>Streptomyces</i> en sporulation. Barre d'échelle : 1 µm.....	5
Figure 2 : Micrographie électronique à balayage montrant la morphologie de chaîne de spores de <i>Streptomyces sp</i> MN 2(6) à gauche et <i>Streptomyces sp</i> IN2 10 à droite	6
Figure 3 : Clichés de microscopie électronique illustrant la diversité des types de surface de spores chez le genre <i>Streptomyces</i>	7
Figure 4 : Représentation schématique et clichés de microscopie électronique à balayage montrant différents sporanges d'actinomycètes.....	8
Figure 5: Morphologies rencontrées au cours de cultures liquides des <i>Streptomyces</i>	9
Figure 6: Répartition des sites de prélèvement d'Actinobactéries les plus explorés en Algérie. 1 : Alger, 2 : Tizi Ouzou, 3 : Bejaia, 4 : Jijel, 5 : Annaba, 6 : El Taref, 7 : Constantine, 8 : Djelfa, 9 : Biskra, 10 : Khenchela, 11 : Laghouat, 12 : El Oued, 13 : Ouargla, 14 : Ghardaïa, 15 : Béchar, 16 : Adrar, et 17 : Tamanrassat	14
Figure 07: Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles monosporulés.....	15
Figure 08: Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles Dotées d'oligospores.....	16
Figure 09: Photographie au Microscope électronique Microscope électronique d'isolat D'actinobactérie non mobile à sporanges	16
Figure 10: photographie au Microscop électronique d'isolat D'actinobactérie mobile à Sporange	16
Figure 11: Classification phylogénétique des actinobactéries, basée sur la comparaison de séquences d'ARNr 16S	21
Figure 12: Cycle de développement du genre <i>Streptomyces</i> sur milieu solide	22
Figure 13: Répartition des antibiotiques découverts selon leur origine a (nombre), et b (pourcentage).....	23
Figure 14 : Pigments colorés diffusibles produits par diverses actinobactéries A : Pigment coloré diffusible marron, B : Pigment diffusible noir, C : Pigment violet, D : Pigment diffusible rouge et E : Pigment bleu.....	26
Figure 15 : Vue panoramique de <i>Streptomyces coelicolor</i> comprenant l'antibiotique bleu actinorhodine est excrété dans le milieu et dans des gouttelettes aqueuses sur la surface hydrophobe de la colonie.....	27

Figure 16: Marché mondial de l'industrie des enzymes dans les années a (2011) et b (2016)	29
Figure 17 : Croissance du nombre de brevets délivrés pour d'importantes enzymes industrielles au cours des dernières décennies	30
Figure 18 : Sites de prélèvement des échantillons de sol.....	35
Figure 19 : Boîtes de Pétri représentant un isolement d'actinobactéries à partir d'un échantillon de sol (dilution 10^{-4}).....	52
Figure 20 : Caractéristiques morphologiques et culturelles sur milieu ISP2 et GYM des isolats d'actinobactéries obtenus de différents échantillons de sols. Colonies A : de la région de Ain Safra ; B : de la région de Bougtob ; T : de la région de cité de Tamanrasat.....	55
Figure 21 : l'action antagoniste de différents isolats d'actinobactéries contre <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Candida</i> <i>albicans</i>	57
Figure 22 : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Ain Safra contre les bactéries indicatrices.....	58
Figure 23 : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolés de la région de Bougtob contre les bactéries indicatrices.....	59
Figure 24 : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasat (Oued) contre les bactéries indicatrices.....	59
Figure 25 : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasat (Cité) contre les bactéries indicatrices	60
Figure 26 : L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasat (Rhizosphère d'acacia) contre les bactéries indicatrices.....	60
Figure 27: L'activité antifongiques des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Ain Safra contre les souches fongiques indicatrices.....	61
Figure 28: L'activité antifongique des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Bougtob contre les souches fongiques indicatrices.....	61
Figure 29 : L'activité antifongique des isolats d'actinomycètes isolés de la région de Tamanrasat (Oued) contre les souches fongiques indicatrices.....	63
Figure 30 : L'activité antifongique des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasat (Cité) contre les souches fongiques indicatrices.....	63
Figure 31: L'activité antifongique des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasat (Rhizosphère d'acacia) contre les souches fongiques indicatrices.....	64
Figure 32: Mise en évidence de l'activité antibiotique de l'extrait brut produit par la souche TR10 en utilisant la méthode de diffusion en puits sur milieu MHA après 24H d'incubation.....	66

Figure 33 :Cinétiques de l'évolution du pH, de la croissance et des activités antimicrobiennes dans le milieu AF contre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 , <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212 et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 , <i>Phytophthora infestans</i> INPV, <i>Penicillium spp</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> . La croissance est mesurée par l'évolution du poids sec selon la méthode de	69
Figure 34 : Chromatogramme de l'extrait méthanolique de l'isolat TR10 sous UV à 365 nm (UV).....	71
Figure 35 :Chromatogramme représentant les résultats de la semi purification de l'extrait de la souche TR10 sur couche mince de silice sous UV à 365 nm.....	73
Figure 36 : Illustrations des zones d'inhibitions des fractions actives purifiées.....	74
Figure 37 : Chromatogramme de l'analyse de l'extrait actif de l'isolat TR10 par GC-M....	76
Figure 38 : Aspect macroscopique de la souche TR10 cultivée sur différents milieux de culture (a: GYM, b: ISP2, c: ISP3, d: ISP4, e: ISP5, f: ISP6).....	82
Figure 39 : Arbre phylogénétique de voisinage basé sur les séquences presque complètes du gène de l'ARNr 16S montrant la relation entre la souche TR10 et les membres du genre <i>Streptomyces</i>	84

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN 16S : ADN codant pour la sous unité 16S de l'ARN ribosomale

AF : fermentation Actinomycètes

ANIb: Average nucleotide identity blast

ATTC: American Type Culture Collection

Aw : activité de l'eau

BLAST: Basic Local Aligement Search Tool

BLSE : les souches de β -lactamases à spectre étendu

CaCO₃ : bicarbonate de calcium

CCM : Chromatographie sur couche mince

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMB : Concentration Minimale bactéricide

CMI : Concentration Minimale inhibitrice

DAP : l'acide diaminopimélique

DCM : Dichlorométhane

DNTP : Désoxyribonucléotide triphosphate

DO : Densité Optique

(GC%) : pourcentage de Cytosine Guanine

GCMS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectrophotomètre

GN : Gélose nutritive

GYM : gélose-yeast-extrait de malt

H₂O₂:Le peroxyde d'hydrogène

H₂S : Le sulfure d'hydrogène

HPLC : High Performance Liquid Chromatography «CLHP : Chromatographie Liquide à Haute Performance »

INPV : Institut Nationale de Protection des Végétaux

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

ISP : International Streptomyces Project

KDa : Kilo Dalton

LPS : lipopolysaccharide

MA : Mycélium aérien

MA:mycélium aérien

MeOH: Methanol

MH: Muller Hinon

MHz: Megahertz

MRSA : Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus

MS: mycélium substrat

NaAc : l'acetate desodium

NaCl : chlorure de sodium

NCBI: National Center for Biotechnology Information

CLSI : L'Institut des normes cliniques et de laboratoire

NRPS: Non-Ribosomal Peptide Synthetase

NRRL: Northern Regional Research Center

P/V: Poids /volume

PCR: Polymerase Chain Reaction

PDA: Potato Dextrose Agar

PEP: phosphatidylethanolamine

PH : potentiel hydrogène

PHB: Polyhydroxybutyrate

Phe: Phenylalanine

PI : Phosphatidylinositol

PKS : Polyketides synthases

PKSE : Enediyne polyketide synthase

PME : Phosphatidyl méthyl éthanolamine

Ppm : Partie par million

PS : Pigment soluble

R:S : (rhizosphère: sol)

Rf : Rapport frontal

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RPM : Rotation par minute

Rt: (rétention time) Rapport frontal

SDS : Sodium Dodecyl Sulphate

SFM : Mannitol Soybean Flour Agar

SSP : Sous Espèce

Strep : Streptomycine

trs /min : Tours/m

TSI : La gélose au Triple Sugar Iron

UFC : Unité Formant colonies

UV: Ultraviolet

V/V : Volume par Volume

Vinj : Volume injecté

VRSA : Staphylococcus aureus résistant à la vancomycine

NIST : L'Institut national des normes et de la technologie

ul: microlitre

GPS : Système de positionnement global

MPPM: modified phenoxazinone production medium

AGCC: acide gras à chaîne courte

Liste de publications:

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.

Belgacem, H., Benreguieg, M., Benabbou, T.A., Reggani , K . (2023).SCREENING OF NOVEL STREPTOMYCES SP.TR10 FROM THE RHIZOSPHERE OF ACACIA IN THE ALGERIAN DESERT AND EVALUATION OF THEIR ANTAGONISTIC POTENTIAL.*Fresenius Environmental Bulletin*, 32(4), 1983-1994.

Liste de communications:

Belgacem, H., Benreguieg, M .Effets antagonistes des actinomycètes isolés à partir des écosystèmes extrêmes vis-à-vis les souches bactériennes et fongiques pathogènes. Séminaire National: Ressources végétales, Produits Naturels et Santé (RVPNS2021) université Saad Dahlab Blida le 9, 10, 11 juin 2021.Communication Affichée.

Belgacem, H., Benreguieg, M. EXTRACTION, PURIFICATION ET CARACTERISATION PARTIELLE DE L'AGENT ANTIBACTERIEN PRODUIT PAR DES ACTINOMYCETES DU SOL ARIDE DE L'ALGERIE. SÉMINAIRE INTERNATIONAL SUR LES SCIENCES NATURELLES ET DE LA VIE en ligne (webinaire), organisé par International Journal of Human Settlements le 19 et 20 Février 2021.Communication orale.

Belgacem, H., Benreguieg, M.Activite antimicrobienne et antioxydant des actinomycètes isolés du sol de la zone aride de l'ouest algérien. Le 2ème Séminaire National Sciences d'Interfaces Chimie-Biologie 20 Février 2021 Université Mohammed Chérif Messaadia Souk-Ahras.Communication orale.

Belgacem, H., Benreguieg , M. LA PRODUCTION DES BIOMOLECULES D'INTERET THERAPEUTIQUE A PARTIR DES ACTINOMYCETES DU SOL DE LA ZONE ARIDE ALGERIEN .1st international seminar new visions on sustainable amortization of Biodiversity of uncertain areas Naâma 07-08 avril 2021 university center salhi Ahmed Naâma.Communication orale.

Belgacem, H., Benreguieg, M. La synthèse de composés bioactifs à partir d'espèces d'actinomycètes provenant d'écosystèmes extrêmes et l'évaluation de son pouvoir antimicrobien et antioxydant. The Second National webinar on Biodiversity, Biochemistry & Environmental Microbiology 17 Octobre 2021, Université Amar Telidji - laghouat. Communication orale.

Belgacem, H., Benreguieg, M. The role of actinomycetes from Algerian arid soils in the pharmaceutical industry. The first International "Microbes for Life" Webinar 20, 21, 22. October 2021, The LBSM laboratory and the Ecole Normale Supérieure Cheikh Mohamed Bachir Al Ibrahimi de Kouba.Algiers, Algeria.Communication Affichée.

Belgacem, H., Benreguieg, M. Biotechnology of actinomycetes isolated from Algerian arid soils and their role in the treatment of some infectious and fungal diseases. 1st International

E-day on Microbial Biotechnology on November 18th, 2021 in Algeria UNIVERSITY OF ALGIERS 1 -BEN YUCEF BENKHEDDA. Communication Affichée.

Belgacem, H., Benreguieg, M. La richesse de rhizosphère d'Acacia du sud Algérien en Actinomycètes biologiquement active. La 1ère journée scientifique Nationale(Phytodiversité et valorisation) 26 Mars 2022 Université Dr Moulay Tahar Saida. Communication Affichée.

INTRODUCTION

Les produits naturels issus du métabolisme microbien sont l'une des principales sources de la bio-industrie fermentaire dans divers domaines et jouent un rôle prédominant dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques (**Newman et Cragg 2016**). Les micro-organismes sont reconnus comme des excellents candidats pour la transformation, la dégradation et la production d'une variété de métabolites d'intérêt et sont largement utilisés en biotechnologie pour la production d'une variété de métabolites primaires et secondaires à valeur ajoutée et aux activités biologiques très importantes. Parmi ces molécules, on peut citer les alcools, les acides organiques, les acides aminés, les polysaccharides, les vitamines, les enzymes, les antibiotiques, les antifongiques, les antioxydants etc (**Demain, 2000**). Ces microorganismes ubiquitaires dans notre environnement et dans certains aliments que nous consommons ne cessent d'occuper une place importante dans notre vie et sont actuellement à l'origine de l'essor du domaine de la biotechnologie.

Les actinomycètes sont des bactéries aérobies, sporulées, à Gram positif et produisent des mycéliums aériens. Dans le sol, ils participent au cycle de la matière organique et à la dégradation des débris organiques, inhibent les agents pathogènes par la production de métabolites secondaires et participent à la bioremédiation des sols contaminés par les hydrocarbures (**Bhatti et al., 2017**).

Les actinobactéries représentent le groupe le plus important de micro-organismes, qui produisent des composés bioactifs. Ils synthétisent environ les deux tiers de tous les antibiotiques d'origine naturelle actuellement utilisés en médecine, en pratique vétérinaire et en agriculture. La majorité de ces molécules proviennent du genre *Streptomyces* (**Barka et al. 2016 ; Chater 2016**). Les souches d'actinobactéries proviennent généralement du sol (**Guo et al. 2015**), mais elles sont également présentes en abondance dans les mers et les océans (**Hassan et al. 2015 ; Xu et al. 2017**). De plus, les habitats extrêmes tels que les grottes (**Jiang et al. 2015**), les déserts (**Goodfellow et al. 2017**) ou les écosystèmes antarctiques (**Lee et al. 2012**) sont reconnus comme des sources précieuses d'actinomycètes produisant de nouveaux métabolites d'importance pharmacologique (**Solecka et al. 2013 ; Singh et al. 2018**).

Au cours des dernières décennies, les environnements extrêmes sont devenus un point chaud populaire pour les scientifiques et les chercheurs pour trouver nouveaux micro-organismes et produits naturels à potentiel biologique. La recherche de nouvelles souches d'actinobactéries productrices de nouveaux antibiotiques est considérée comme une autre

stratégie suivie par les chercheurs pour combattre l'antibiorésistance des germes pathogènes **(Mahajan et Balachandran 2012)**.

Les actinobactéries extrêmophile isolées du désert correspondent à des bactéries alcalithermophiles, thermophiles, thermoacidophiles, thermophiles radiotolerantes, thermophiles alcalitolerantes, halophiles et haloalcalophiles **(Kurapova et al. 2012)**. Les polyextrémophiles et les polyextrémotolérantes existent également dans les environnements avec des conditions extrêmes et peuvent s'adapter à des environnements à contraintes multiples **(Gupta et al. 2014)**. Plusieurs recherches ont révélé le rôle, l'importance écologique et l'intérêt médical des actinobactéries **(Goudjal et al. 2013 ; Shirokikh et Shirokikh 2017 ; Baoune et al. 2018)**, mais peu d'études se sont intéressées au rôle et l'importance des actinobactéries isolées des environnements extrêmes **(Mohammadipanah et Wink 2015)**.

Les actinobactéries se sont révélées très diverses dans les sols algériens, sahariens et semi-arides. De nombreux travaux ont été publiés sur ces taxonomies microbiennes dans le but de découvrir de nouvelles espèces **(Zitouni et al., 2004 ; Boubetra et al., 2013 et 2015 ; Aouiche et al., 2015 ; Bouras et al., 2015)**), ou Démontrer une activité antimicrobienne **(Boughachiche et al., 2012 ; Boubetra et al., 2013 ; Aouiche et al., 2014 ; Toumatia et al., 2014 ; Driche et al., 2015 ; Yekkour et al., 2015)**. Par ailleurs, plusieurs souches d'actinomycètes de différents sols ont montré leur potentiel d'utilisation comme antagonistes producteurs de molécules antimicrobiennes **(Lamari et al., 2002a,b ; Zitouni et al., 2004 et 2005 ; Badji et al., 2005 ; 2006 et 2007 ; Merrouche et al., 2010 ; Boubetra et al., 2012)**. Nos recherches s'inscrivent dans cette thématique avec l'objectif d'isoler et de sélectionner des souches d'actinomycètes performantes productrices de molécules antibactériennes.

En Algérie, les sols sahariens constituent un écosystème particulier, renfermant un potentiel assez riche en actinobactéries particulièrement les actinobactéries rarement isolés de part le monde tels que les genres *Planomonospora*, *Planobispora*, *Nocardiopsis*, *Actinomadura*, *Saccharothrix* etc, **(Sabaou, 1998)**, qui se sont révélés être de grands producteurs de nouvelles molécules antimicrobiennes **(Boudjella et al., 2006 ; Goudjal et al., 2014)**. Plusieurs études portant sur l'isolement des actinobactéries, la taxonomie des souches isolées et l'étude des antibiotiques secrétés, ont été réalisées. C'est dans ce contexte que s'intègre la présente étude à savoir l'exploitation des sols de différents écosystèmes semi-aride et sahariens de la région de Ain Safra , Bougtob et Tamanrasat.

Ce travail de recherche, réalisé au sein du Laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologique des plantes, Université de Saida Dr- Moulay Tahar

Dans une première partie, nous présentons les revues bibliographiques décrivant les notions nécessaires à la compréhension de nos travaux (taxonomie des actinomycètes, description des microorganismes producteurs d'antibiotiques, et méthodes d'identification des actinomycètes et des principales molécules produites).

La deuxième partie décrit la partie expérimentale et présente les techniques d'isolement, d'identification et de sélection des souches antagonistes des bactéries, levures et champignons pathogènes et toxigènes, et aussi l'étude du profil chimique des extraits actifs.

La dernière partie présente et discute les résultats obtenus dans ce travail. Enfin, le manuscrit se termine par une conclusion qui permettra de tirer quelques perspectives de prolongement à ce travail de recherche.

Dans cette thématique, l'objet de ce travail de thèse a été :

- L'isolement d'actinomycètes au niveau des sols arides et semi arides.
- La mise en évidence de leurs caractéristiques physiologiques et leurs activités de biodégradation.
- L'établissement de leur taxonomie du point de vue moléculaire et phylogénétique.
- La mise en évidence de leurs activités antimicrobiennes vis-à-vis de bactéries, moisissures et levures utilisés comme cibles.
- L'étude de leur cinétique de croissance et de production en cultures sur milieu liquide.
- L'extraction et la caractérisation partielle des métabolites bioactifs produits.

Chapitre I

Revue bibliographique

Chapitre I : Revue Bibliographique

I. Les Actinobactéries

1. Historique

Les actinomycètes ont une longue histoire évolutive, ces bactéries existent sur terre il y a environ 2,7 milliards d'années antécédent le grand événement d'oxydation qui s'est produit depuis 2,3 milliards d'années (**Lewin *et al.*, 2016**). Les actinomycètes ont été isolés pour la première fois à partir d'une source humaine par Cohn en 1875 (**Williams *et al.*, 1984**). C'est en 1943 que S. Waksman a pu isoler un Actinomycète du sol. Il a divisé l'histoire des actinomycètes en quatre groupes principaux. La première période est celle de la découverte de leur rôle en pathologie, de 1874 aux années 1990. La deuxième période (1900-1919) impliquant l'identification et l'étude des actinomycètes du sol par les travaux de Krausky, Cohn, Waksman et Curtis. Durant cette période (1919-1940), les bactéries sont mieux connues grâce aux travaux de Waksman, Lieske, Krassilinkov et al. Enfin, la dernière période historique est celle des antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle a débuté en 1940 et le nom de Selman Waksman lui est indissolublement lié (**le minor, 1989**), Cela permet de classer ces bactéries et de comprendre leur potentiel de biodégradation de la matière organique et leur capacité à produire des métabolites secondaires.

2. Définition des actinobactéries

L'étymologie du terme "Actinomycète" provient des mots grecs "Aktis", qui signifie "rayon", et "mykes", qui signifie "champignons". Ainsi, cela se traduit par "Champignons à rayons" ou "Champignons rayonnants" (**Lamari, 2006**). Les Actinomycètes étaient autrefois considérés comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et les champignons, mais ils sont maintenant reconnus comme des organismes procaryotes. Néanmoins, ces microorganismes présentent des similitudes avec les bactéries et les champignons (**Andriambololona, 2010**). Les actinomycètes, également connus sous le nom d'Actinobacteria (**Perry *et al.*, 2004**), sont des bactéries qui forment des colonies circulaires de morphologie complexe (**Colombié, 2005 ; Eunice et Prosser, 1983**). Ces colonies sont composées d'hyphes, c'est-à-dire de filaments qui se propagent de manière centrifuge à partir de la source de germination (**Gottlieb, 1973 ; Lechevalier et Lechevalier, 1981 ; Eunice et Prosser, 1983**). Les actinomycètes appartiennent à l'ordre des actinomycétales. Ce sont des bactéries qui forment des filaments minces et ramifiés, avec des cloisons, des bacilles à Gram

positif (**Dgigal, 2003**). Elles ont un contenu élevé en GC% (coefficient de Chargaff) compris entre 60 et 70% (**Larpen, 1989**), et sont des organismes saprophytes. La plupart des espèces sont immobiles, hétérotrophes, bien que certaines soient chimio-autotrophes (**Ensign et al., 1993**). Elles sont aérobies, mésophiles et se développent de manière optimale dans une plage de pH allant de 5,0 à 9,0, avec une préférence pour la neutralité (**Williams et Wellington, 1982 a ; Goodfellow et Williams, 1983**).

3. Caractéristique générale d'actinobactéries

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, séptées, ramifiées, à coloration de Gram positive (**Nanjwad et al., 2010**). Les actinomycètes sont morphologiquement très proches des champignons (**Prescott et al., 1997**). Cependant, les hyphes ont généralement un diamètre de 0,5 à 1 μm (**Eunice, 1983**), 2 à 10 fois plus petit (2 à 5 μm) que les champignons (**Gottlieb, 1973**). Le mycélium des actinomycètes présente diverses formes. Nous rencontrons des espèces chez lesquelles le mycélium se développe au point qu'il n'existe pas (la plupart *mycobactéries*), d'autres mycéliums avec des mycéliums éphémères, des fragments de ceux-ci (certaines espèces de *Nocardia*), et Enfin les espèces à mycélium bien développé et persistant un véritable mycélium non fragmenté et sporulant, comme le genre *Streptomyces* (**Smaoui, 2010**). Les fragments et les mycéliums permanents sont illustrés à la (**Figure 1 , 2**)



Figure 1 : Clichés de microscopie électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et Permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre *Nocardia* qui se Fragmentent, (B) Bactéries du genre *Streptomyces* en sporulation. Barre d'échelle : 1 μm .

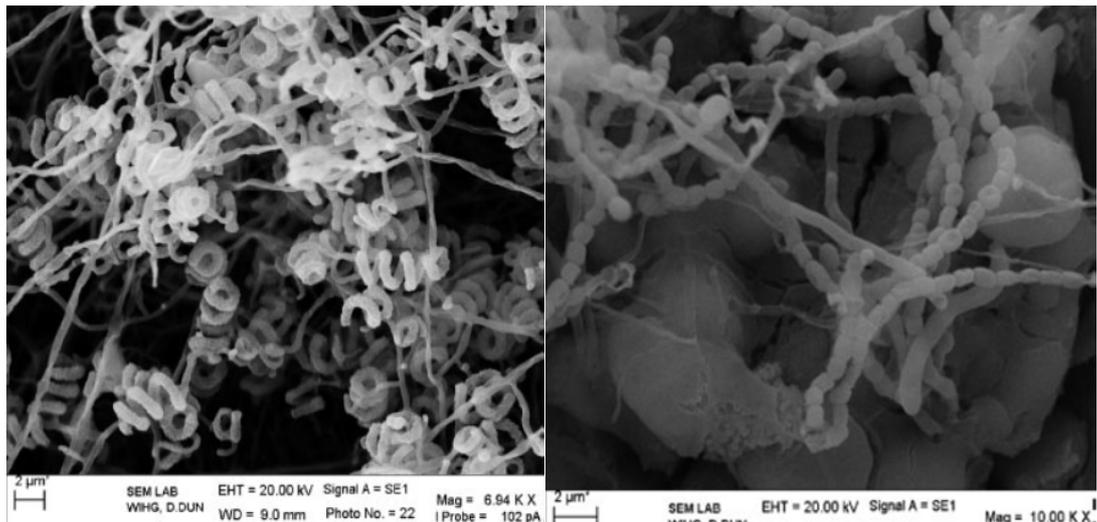


Figure 2. Micrographie électronique à balayage montrant la morphologie de chaîne de spores de *Streptomyces sp* MN 2(6) à gauche et *Streptomyces sp* IN2 10 à droite (**Kumar, 2011**)

Le mycélium permanent peut s'organiser en mycélium végétatif appelé mycélium de substrat Ou mycélium de base) et/ou mycélium aérien. Nous distinguons trois cas :

- Soit seul le mycélium végétatif est formé (exemple : *Frankia, Dactylo sporangium*) La croissance a lieu soit au sein, soit à la surface du milieu. Le mycélium est coénocytique : il renferme un cytoplasme commun multi-nucléoïde, et est donc dépourvu de septum.
- Soit il y a formation de mycélium végétatif puis de mycélium aérien mûré en conidies (Exemple : *Streptomyces*). Le mycélium aérien croît à la surface du mycélium végétatif et utilise ce dernier comme substrat.
- Soit, seul le mycélium aérien est formé, ce qui n'est rencontré que pour le genre *Sporichthya*, dont les hyphes du mycélium aérien sont attachés au substrat par des crampons (**Kitouni, 2021**).

Les propriétés chimiques, physiologiques, et immunologiques des actinomycètes les rangent parmi les procaryotes. Leur paroi cellulaire ne renferme ni chitine ni cellulose mais une glycoprotéine contenant de la lysine ou de l'acide diaminopimélique et leur cytologie est celle des bactéries (**Mariat et Sebald, 1990**). Certaines espèces sont chimioorganotrophes, mésophiles, vivant dans pH compris entre 5,0 et 9,0, le plus neutre (**Williams et Wellington, 1982 ; Goodfellow et Williams, 1983**). Ils sont divisés en deux groupes physiologiques, le plus important est constitué de pathogènes métaboliques oxydatifs vivant principalement dans le sol ; le second Bactéries fermentaires, hôtes de la cavité naturelle humaine et animaux (**Leminor et Veron, 1989**). La plupart des actinomycètes sont immobiles. Cependant, certains produisent les spores flagellées leur permettent de se propager dans les habitats aquatiques.

Ils sont hétérotrophes (**Prescott, 2013**), Les spores d'actinomycètes présentent une grande variété d'arrangements. Ils peuvent être avec une production unique (*Micromonospora*), deux productions longitudinales de deux (*Microbispora*), en Chaîne courte (*Actinomadura*), longues chaînettes (*Streptomyces*). Les spores peuvent être ramifiées ou non ramifiées, droites, flexibles ou hélicoïdales. Elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores. Il y a aussi une grande diversité de la surface des spores d'aspect : lisse, ridée, avec piquants ou velu (**Figure 3**). Dans certains genres, les spores sont contenues dans des sporanges : un compartiment il se développe à l'extrémité d'hyphes spécialisés appelés sporangiophore (**Figure 4**). Sporangies contiennent quelques à plusieurs milliers de spores, formant des chaînes enroulées ou parallèles

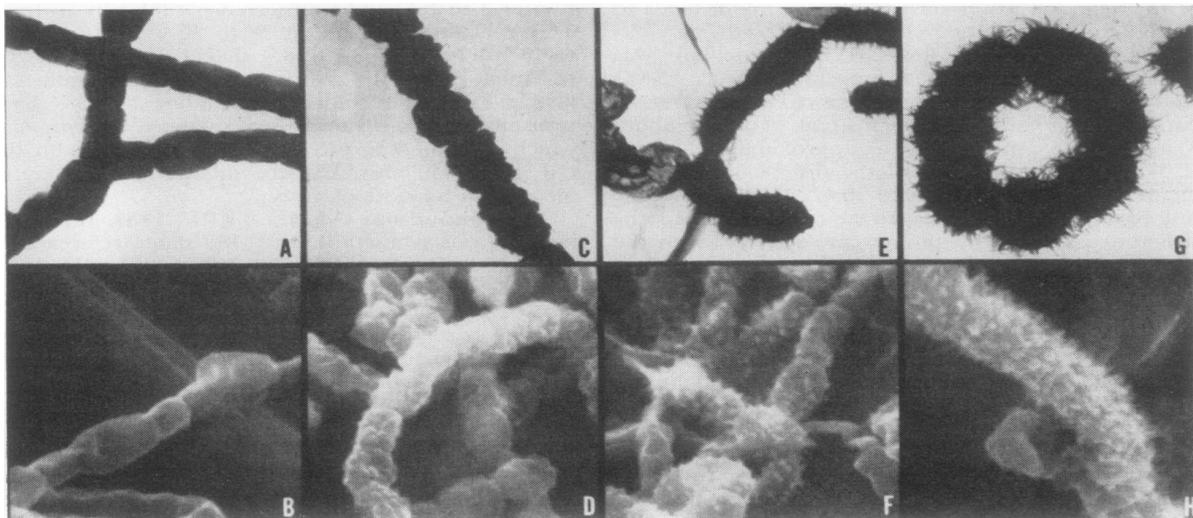


Figure 3 : Clichés de microscopie électronique illustrant la diversité des types de surface de spores chez le genre *Streptomyces* (**Lyons et Pridham, 1971; Dietz et Mathews, 1971**)

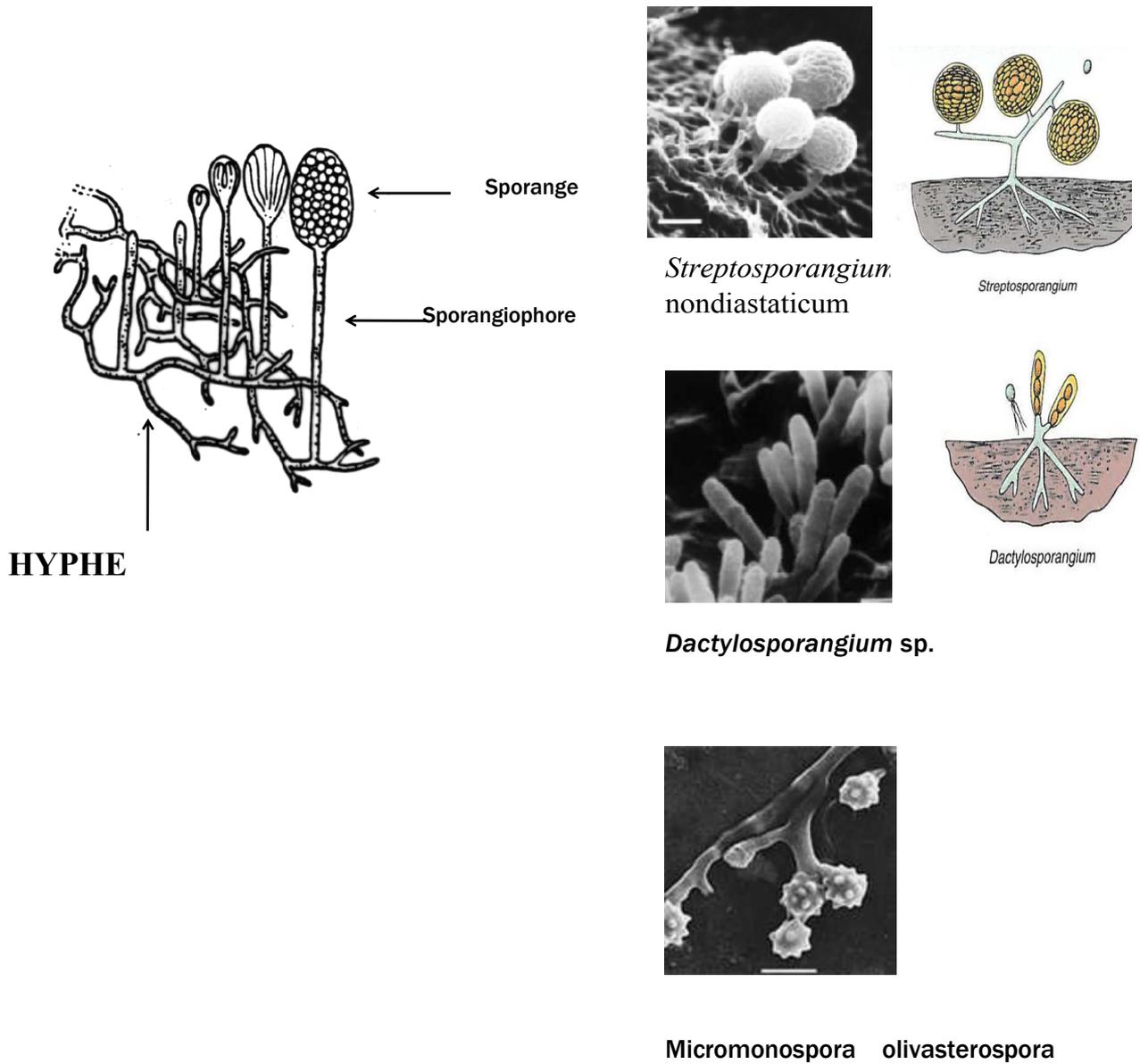


Figure 4: Représentation schématique et clichés de microscopie électronique à balayage montrant différents sporanges d'actinomycètes (Belyagoubi, 2014)

Dans une culture liquide sans agitation, les spores germent pour former des hyphes remonter à la surface pour se développer au contact de l'air (Keulen *et al.*, 2003). Cependant, au milieu liquide subit une agitation les mycéliums aériens et les spores ne sont pas formées. Les *Streptomyces* forment d'abord des filaments libres qui se ramifient et s'enroulent en formant des agrégats (Figure 5). Ces derniers sont généralement de forme sphérique, représentés par des hyphes densément enroulés. En raison du manque de nutriments (Reichl *et al.*, 1992 ; Tamura *et al.*, 1997).

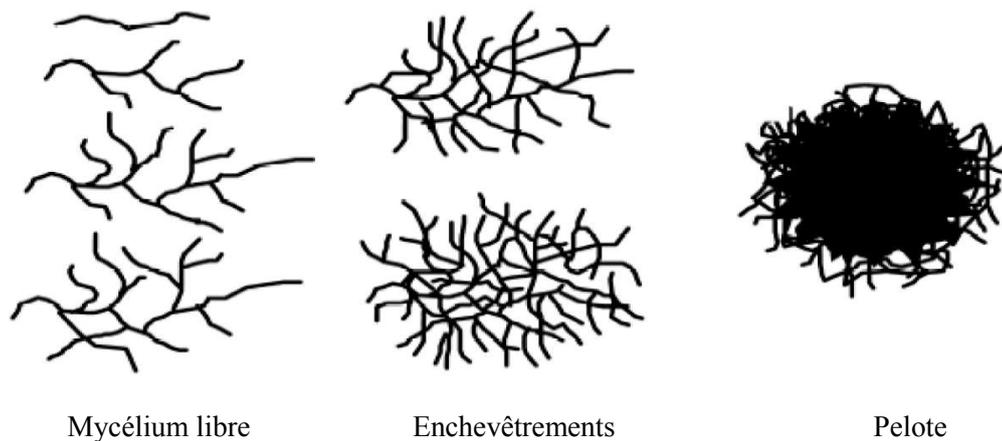


Figure 5: Morphologies rencontrées au cours de cultures liquides des *Streptomyces* (Amanullah *et al.*, 2000).

4. Ecologie des actinobactéries et leur distribution dans la nature

Les actinomycètes sont capables de survivre dans différents habitats et sont largement répandus dans les écosystèmes naturels dans le monde entier (Srinivasan, 1991), ils se trouvent principalement dans le sol (Kuster, 1968) dans le limon des plans d'eau, dans l'air et dans les restes des plantes. Ce sont les organismes les plus abondants qui forment des filaments filiformes dans le sol. Ils se développent sous forme d'hyphes, comme les champignons responsables de l'odeur caractéristique de la terre fraîche cette odeur est due surtout à une huile neutre de bas poids moléculaire, la géosmine et autres métabolites odoriférants se répandent dans les eaux mais les actinomycètes ont été trouvés largement distribués dans une gamme diverse écosystème aquatique, y compris des sédiments provenant des profondeurs marines (Walker *et al.*, 1975), (Colquhoun *et al.*, 1998) et même dans les profondeurs les plus importantes de la fosse des Mariannes (Pathom *et al.*, 2006). Ils peuvent être présents dans des environnements extrêmes, notamment dans la région cryophile de l'Antarctique (Moncheva *et al.*, 2002) et même dans les sols désertiques (Diraviyam *et al.*, 2011). Avec des valeurs estimées allant de 10^4 à 10^8 par gramme de sol. Ils sont sensibles à

l'acidité et au faible pH (pH optimal de 6,5 à 8,0) et aux sols gorgés d'eau. Ce sont des organismes mésophiles (25 à 30 °C) et certaines espèces communément présentes dans le compost et les fumier sont thermophiles et se développent à une température de 55 à 65 °C (par ex. *Thermoactinomyces*, *Streptomyces*). Ils sont présents dans des sols polaires gelés en permanence tout comme dans des sols désertiques chauds et secs, dans le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec des métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés. Par contre, ils semblent être absents des eaux minières très acides (pH < 1) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique.

Certaines espèces d'Actinomycètes semblent préférer certains habitats à d'autres. Par exemple, les *Thermoactinomyces* et les *Faenia* se trouvent dans les composts, les foins en fermentation et les condenseurs de réfrigérateurs et de climatiseurs. Les *Actinoplanes* et les *Actinosynnema* se rencontrent dans les sols cultivés et sur les débris végétaux qu'on trouve aux bords des rivières et des lacs ; les *Micromonospora* au fond des lacs et des réservoirs ; les *Streptosporangium* à la surface des sols forestiers ; les Microbispora et les Actinomadura dans les sols de prairies et les sols cultivés. Les Streptomyces, si nombreux, se rencontrent presque partout. (Le Chevalier, 2023).

La plupart des actinomycètes vivent à une humidité peu élevées de 5 à 25 %, et ils peuvent se développer à une très faible activité de l'eau (aw) (Davies et Williams, 1970 ; Goodfellow et Williams, 1983, Lacey et Cross, 1989).

Les sols sahariens sont caractérisés par une faible humidité, avec des précipitations annuelles généralement inférieures à 100 mm par an, des températures extrêmement élevées et petite quantité d'humus. Les sols du désert ne sont pas stériles, ils sont faits de flore microbienne très diversifiée (Killian et Feher, 1939). Parmi les bactéries isolées, les actinomycètes représentent une communauté microbienne essentielle dont la présence est critique pour ces écosystèmes extrêmes (Killian et Feher, 1939).

La plupart des actinomycètes sont des bactéries saprophytes capables de dégrader la matière organique qui ne peut pas être biodégradée par les champignons et les bactéries (Crawford et al., 1993) forment des polymères (kératine, cellulose, lignine) et produisent des substances probiotiques et antibiotiques (Kieser et al., 2000). dont certains sont pathogènes ou encore symbiotiques des plantes ou des animaux (Williams et al., 1984 ; Locci, 1994 ; Suzuki et al., 1994 ; Peltola et al., 2001).

Elles peuvent coloniser la rhizosphère des plantes et jouer un rôle dans la promotion de leur croissance et les protéger des agents toxiques nocif (El-Tarabily et al., 2009; Qin et al.,

2009; Khamna *et al.*, 2010). Actinomycètes ils sont souvent bactériolytiques en raison d'enzymes hydrolytiques capables de dégrader les peptides de la paroi, ils sont également connus pour leurs propriétés antimicrobiennes et produisent de grandes quantités d'antibiotiques au cours de leur croissance. L'équipement enzymatique des actinomycètes est très diversifié, représente le rôle principal écologiques de ces organismes (Boudemagh, 2005).

4.1. Environnement terrestre

Le sol demeure l'habitat le plus important pour les actinobactéries, le genre des *Streptomyces* est signalé comme le genre le plus abondant. Il existe plusieurs rapports montrant la distribution des actinobactéries dans divers endroits, tels que le sol sablonneux, le sol alcalin noir, le sol limoneux sablonneux, le sol de dessert alcalin, où *Streptomyces* sp étaient dominants suivis par les autres organismes, tels que *Nocardia*, *Nocardioopsis* et *Actinomyces* (Cundell et Piechoski, 2016). Egalement, les actinobactéries jouent un rôle majeur dans la communauté microbienne de la rhizosphère dans le renouvellement de la matière organique végétale récalcitrante (Nithya *et al.*, 2015).

4.1.1. Actinomycètes de la rhizosphère

Il est généralement admis que dans les sols relativement secs, humifères et calcaires, les actinomycètes représentent une part importante de la flore microbienne, avec des cellules viables de l'ordre de 10^6 /g de sol (Goodfellow et Williams, 1983). Cependant, dans les sols submergés, L'indice anaérobie ou acide est relativement faible 10^2 /g de sol sec. Williams et Wellington (1982) ont rapporté que parmi les actinomycètes, la fréquence d'isolement de *Streptomyces* était de 95,3 %, *Nocardia* 1,98 %, *Micromonospora* 1,4 %, *Actinomyces* 0,20 %, *Microbispora* *Bacillus* 0,18 %, *Actinomyces* 0,10 %, *Thermoactinomyces* 0,14 %, *Neurospora* 0,10 %, *Thermomonas* 0,22 % et La pseudonocardie représentait 0,06 %. Habituellement, les actinomycètes sont plus abondants dans la rhizosphère que dans le sol environnant, selon l'espèce et l'âge de la plante (Goodfellow et Williams, 1983). L'effet rhizosphère est représenté par le rapport R:S (rhizosphère: sol). Par exemple, les actinomycètes sont 10 à 18 fois plus abondants dans la rhizosphère du maïs et de la féverole que dans le sol environnant (Abraham et Herr, 1964). Le R:S des plantes sahariennes varie de 16 à 50 (Watson et Williams, 1974). Les actinomycètes sont très importants pour de nombreuses plantes, où les *streptomycètes* rhizosphériques peuvent protéger les racines des plantes en inhibant la croissance du pathogène fongique, un caractère basé sur leur capacité à produire des antibiotiques antifongiques in vitro.

4.2. Eaux douces et marines

Les actinobactéries sont bien représentées dans les milieux aquatiques d'où l'isolement des souches de *Microspora*, d'*Actinoplanes* et de *Streptosporangium* est facile, ils sont trouvés principalement dans les sédiments au fond des rivières ou des lacs. Ils jouent un rôle important dans la décomposition des débris végétaux et donnent à l'eau son odeur et son goût terreux (Xu *et al.*, 1996 ; Hwang *et al.*, 2001).

4.3. Air

L'air n'est pas un habitat pour les actinomycètes, mais un moyen de transport de ses spores qui sont des polluants importants de notre environnement. Ils se développent dans le matériel avarié, causant, en cas d'inhalation, des maladies respiratoires. Les spores d'actinomyces thermophiles sont abondants et facilement mises en suspension dans l'air (Mazodier, 1974).

4.4. Composts

Les actinomycètes sont isolés du compost et ils sont thermophiles comme *Thermoactinomyces*, *Saccharomonospora* et autres bactéries thermotolérantes telles que *Microbispora*, *Micropolyspora* et *Pseudonocardia* (Ensign *et al.*, 1993 ; Song *et al.*, 2001). Les actinomycètes sont actifs dans les dernières étapes du compostage. Ils attaquent spécifiquement les structures plus résistantes comme la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (Zermane, 2007).

4.5. Végétaux, animaux et homme

Les actinomycètes peuvent coloniser l'homme, les végétaux et les animaux, parmi les exemples les mieux connus, il faut citer: *Streptomyces scabies*, *Actinomyces bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Nocardia asteroides* et *Micropolyspora faeni* (Zermane, 2007). *Actinomyces massiliensi* sp. isolée du sang d'un patient (Renvoise *et al.*, 2009), *Actinomyces timonensis* sp. nov. isolée d'un patient qui atteint une ostéo-articulation (Renvoise *et al.*, 2010). Le Tableau 01 présente quelques habitats de certaines actinobactéries.

Tableau 1. Habitats de quelques actinobactéries (Grigorova et Norris, 1990).

Actinomycètes	Habitats
<i>Actinoplanes</i>	eau douce, litière végétale, sol.
<i>Frankia</i>	nodules racinaires des non- légumineuses.
<i>Micromonospora</i>	eau douce, sédiments, sols humides.
<i>Nocardia amarae</i>	boues activées.
<i>Rhodococcus coprophilus</i>	déjections animales, eau, sol.
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	Moisi du foin.
<i>Streptomyces</i>	sol, litière végétale, eau.
<i>Thermoactinomyces</i>	compost

L'Algérie a une superficie de plus de 2 millions de kilomètres carrés et un climat agréable diversité des montagnes enneigées aux régions du nord de la mer Méditerranée au désert du Sahara le plus chaud du monde. Cela affecte l'énorme biodiversité, riche et diversification parmi les actinomycètes, correspondant à une large diversité chimique de métabolites. Un nombre des actinomycètes ont été isolés de différents écosystèmes, dont des plantes sahariennes (Zamoum *et al.*,2015),(Goudjal *et al.*,2013) ,(Baoune *et al.*,2018) Grottes (Belyagoubi *et al.*,2018) eaux usées(Silini *et al.*,2015) ,(Souagi *et al.*,2015), sédiments fluviaux (Djinni *et al.*,2018), zones à forte salinité (Meklat *et al.*,2012) ,(Souagui *et al.*,2015), sols désertiques sahariens (Sabaou *et al.*,1998) ,(Sabaou *et al.*,1992) et des algues dérivées(Djinni *et al.*,2013) . Les sites de prélèvement les plus étudiés pour l'isolement des actinomycètes sont répertoriés dans la (Figure 6).

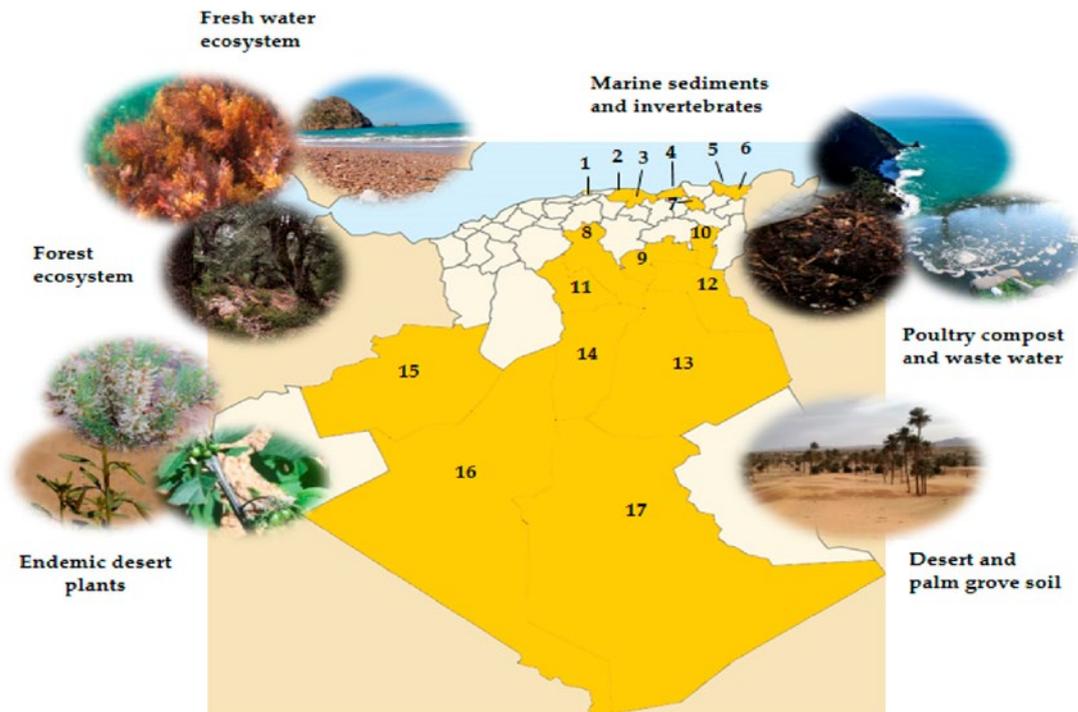


Figure 6: Répartition des sites de prélèvement d'Actinobactéries les plus explorés en Algérie. 1 : Alger, 2 : Tizi Ouzou, 3 : Bejaia, 4 : Jijel, 5 : Annaba, 6 : El Taref, 7 : Constantine, 8 : Djelfa, 9 : Biskra, 10 : Khenchela, 11 : Laghouat, 12 : El Oued, 13 : Ouargla, 14 : Ghardaïa, 15 : Béchar, 16 : Adrar, et 17 : Tamanrasat (**Djinni et al., 2019**).

C'est intéressant de constater que 134 articles ont été publiés en Algérie à partir de 2002 sur le thème de recherche intitulé "Actinobacteria comme ressource de nouveaux agents thérapeutiques potentiels". Ces articles couvrent différents aspects liés aux Actinobacteria, tels que l'isolement et la diversité des bactéries, ainsi que l'étude de la production de métabolites secondaires ciblant un large spectre d'activités biologiques et surtout les propriétés antimicrobiennes. Cependant, d'autres activités ont également été explorées, telles que leur potentiel cytotoxique et leurs effets promoteurs sur les plantes. Ces différentes activités biologiques ouvrent la voie à de multiples applications potentielles en biotechnologie (**Harir et al., 2018**).

5. Taxonomie et critères d'identification

Les actinomycètes sont classés dans le domaine Bactéria et phylum des Actinobacteria selon le **Bergey's manual, (2012)**, ce dernier (phylum) est subdivisé en 06 classes dont celle d'Actinobacteria. Celle-ci se divise en 15 ordres. Les plus importants sont ceux des

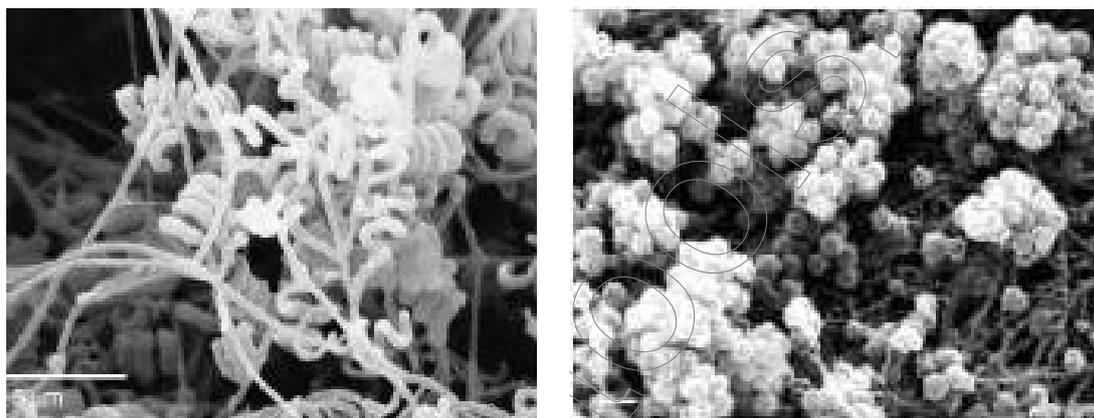
Actinomycetales et Streptomycetales (**Goodfellow *et al.*, 2012**). La classification actuelle des actinomycètes repose sur plusieurs critères :

Morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires. La plupart des genres peuvent défini par des critères morphologiques et chimiques, tandis que la détermination des espèces repose sur les critères physiologiques et moléculaires.

5.1. Taxonomie phénotypique

5.1.1. Critères morphologiques

La morphologie macroscopique et les caractéristiques de culture des actinomycètes ont été déterminées sur différents supports culturels, ils contribuent à la différenciation des genres Actinomycètes. Il s'agit d'observer visuellement si les mycéliums aériens sont produits ou non (MA) et la présence ou non de mycélium du substrat (MS) ainsi que la production ou non de pigments mélanoïdes, à l'aide d'une charte de couleur on peut obtenir Les couleurs du mycélium aérien, du mycélium de substrat ainsi que la production et la couleur des pigments diffusibles dans le milieu de culture (**Kelly et Judd, 1976**). Les caractéristiques micromorphologiques des actinomycètes cultivées sur milieu solide est déterminer à l'aide d'un microscope optique ou électronique (**Tresner *et al.*, 1961; Holt *et al.*, 1994**) Il s'agit d'observer s'il y a des sporophores sur le mycélium, et s'il y a des sporophytes. Sporangies, sclérotés ou synnemata le cas *Actinosynnema*, la présence de spores mobiles, tel que *Planomonospora*, *Actinoplanes*, ou non mobiles, comme *Streptomyces*, *Streptosporangium*, leur forme, leur nombre leur disposition sur les hyphes (**Figure.07, 08, 09 et 10**).



Streptomyces violaceusniger

Micromonospora sp.

Figure 07. Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles monosporulés (**Hayakawa *et al.*, 2004 et Hayakawa, 2008**).

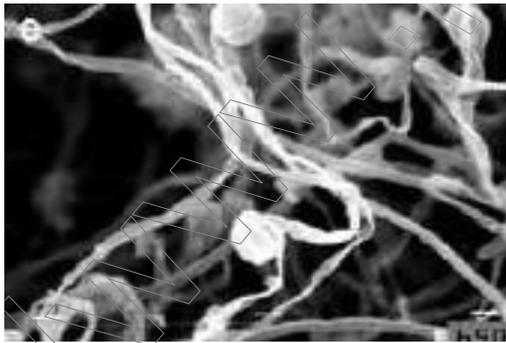
*Nonomuraea sp**Actinomadura spp.*

Figure 08. Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles Dotées d'oligospores (Hayakawa, 2008)

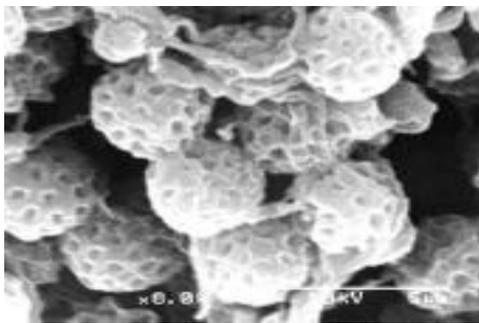


Figure 09. Photographie au Microscope électronique d'isolat D'actinobactérie non mobile à sporanges (Ara et Kudo, 2007).



Figure 10. Photographie au Microscope électronique d'isolat D'actinobactérie mobile à Sporange (Hayakawa, 2008).

5.1.2. Critères chimiques (chimiotaxonomique)

Certains genres d'actinomycètes sont déterminés seulement selon ses caractéristiques morphologiques, cependant la grande majorité nécessitent des études chimiques ou chimiotaxonomiques de composants de leurs parois cellulaires (Becker *et al.*, 1965; Yamaguchi, 1965; Lechevalier et Lechevalier, 1970 a et b) afin de différencier les genres d'actinobactéries et divisèrent les actinomycètes en chimiotypes, ont pu fournir des méthodes pratiques sur la base de l'analyse de la composition cellulaire en acides aminés pariétaux, en phospholipides membranaires, en glucides cellulaires, en ménaquinones, et en acides mycoliques pariétaux et en acides gras membranaires.

5.1.2.1. Acides aminés pariétaux

L'une des caractéristiques importantes de la taxonomie des actinomycètes est la présence de deux acides aminés de la paroi cellulaire, c'est l'acide diaminopimélique (DAP), Il peut s'agir de la forme isomérique LL ou DL (méso) et de la glycine, il est variable. Présente. Chez

certaines actinomycètes la lysine, l'ornithine ou acide diamino butyrique peut remplacer le DAP. (Becker *et al.*, 1965).

5.1.2.2 Sucres cellulaires

Les sucres caractéristiques sont principalement l'arabinose-galactose, l'arabinose-xylose, les couples rhamnose-galactose et le madurose ou 3-O méthyl galactose (Lechevalier et Lechevalier, 1970b). Selon la composition en acides aminés et en sucres des cellules, plusieurs chémotypes sont définis **Tableau 2**.

Tableau 2. Chimiotypes rencontrés chez les Actinobacteria (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

Chimiotype	Caractéristiques	Exemples de genre
I C	LL DAP + glycine (pas de sucres taxonomiquement importants)	<i>Streptomyces</i> .
II D	DL DAP + glycine + arabinose+xylose	Micromonospora, Actinoplanes
III B	DL DAP+madurose	Actinomadura, Streptosporangium
III C	DL DAP (pas de sucres caractéristiques)	Nocardiopsis
III E	DL DAP + rhamnose+ galactose	Saccharothrix.
IV A	DL DAP + arabinose + galactose	Nocardia, Amycolatopsis
V	Ornithine + lysine	Actinomyces.
VI	Lysine	Oerskovia
VII	Acide diamino butyrique et glycine (lysine variablement présente)	Agromyces
VIII	Ornithine	Cellulomonas

5.1.2.3. Lipide

L'analyse des lipides de la paroi cellulaire et membranaires est un moyen important dans la Classification des actinomycètes, y compris les phospholipides, la ménadione, les acides gras et acides mycoliques ; ces derniers sont des lipides insaturés complexes. Analyse des phospholipides permettent de différencier cinq profils phospholipidiques de PI à PV caractérisé par la présence d'un ou deux phospholipides caractéristiques (Lechevalier *et al.* 1977) **Tableau 3**.

Tableau 3. Types de phospholipides membranaires rencontrés chez les *Actinobacteria* (Lechevalier *et al.*, 1977).

Types de phospholipides	PE	PC	PG	PGI	Exemples
PI	-	-	-	V	Actinomadura.
PII	+	-	-	-	Streptomyces, Pseudonocardia
PIII	-	+	-	V	Nocardiosis, Amycolatopsis
PIV	+	-	+	-	Nocardia, Nonomuraea.
PV	-	-	+	+	Oerskovia.

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

5.2.1.3. Critères physiologiques et taxonomie numérique

Pour la détermination des espèces, il est important d'utiliser des tests physiologiques types de dégradation de différents glucides, lipides, protéines, composés polymères Composés, stéroïdes, etc., tests de résistance à différents facteurs physiques (température et pH) et chimiques (chlorure de sodium, phénol, lysozyme, antibiotiques, etc.).

Les taxonomies numériques rendent également l'identification plus claire. **Goodfellow (1971)** a été le premier à avoir appliqué cette analyse aux actinomycètes. Mais étant donné la quantité de tests à faire, Cette méthode est peu utilisée, notamment du fait de la reconnaissance des standards moléculaires.

5.2.2. Taxonomie moléculaire

Depuis l'avènement de la biologie moléculaire au début des années 1980, Les méthodes de classification traditionnelles commencent à être remplacées par la technologie d'études moléculaires basées sur l'analyse de la séquence d'ADN de l'ARN codant ribosome 16S (ADNr 16S), hybridation ADN-ADN et détermination du pourcentage Cytosine Guanine (GC%) pour déterminer la position taxonomique des Actinomycètes (**Stackebrandt et al., 1981**).

5.2.2.1. Séquençage de l'ADN ribosomique 16S

Le premier à appliquer cette technique à la taxonomie des actinomycètes fut Stackebrandt et ses collègues en 1981 et 1983. Gène codant pour l'ARN ribosomal 16S est un gène chromosomique de 1500 paires de bases présent chez toutes les bactéries dont la séquence est spécifique de chaque espèce avec ses extrémités 5' et 3' (15 premières bases et 15 dernières bases) sont conservées chez toutes les espèces bactériennes.

L'étude de l'ADNr 16S utilise deux techniques de base PCR (Polymerase Chain réaction) et séquençage. Le gène ADNr a été amplifié par PCR puis séquencé les produits ont été analysés. Comparaison de séquences obtenues à partir de différents taxons entre eux ou avec des espèces de référence répertoriées dans la base de données génomique (**Rainey *et al.*, 1996 ; Labeda et Kroppenstedt, 2000**) accessible sur Internet par exemple "Ez Taxon". Par conséquent, le séquençage de l'ADNr 16S est un outil très rapide pour l'identification des taxons. Positionnement taxonomique des souches étudiées et leur relations avec les genres et espèces apparentés (phylogénies) à l'aide de méthodes informatiques distance évolutive. Deux genres avec moins de 94% d'identité ont été acceptés sont différents et sont les mêmes pour deux espèces d'homologie ci-dessous 97 % (**Devereux *et al.*, 1990 ; Stackebrandt et Goebel, 1994**). Cependant, il convient de noter qu'un taux d'homologie entre 97% et 100% n'indique pas nécessairement que les espèces sont les mêmes, surtout si cette dernière fait partie d'un genre comptant un grand nombre d'espèces comme c'est le cas pour le genre *Streptomyces*. Le recours à l'hybridation ADN- ADN s'avère donc nécessaire pour statuer définitivement sur des cas pareils. Dans ce contexte (**Meier-Kolthoff *et al.*, 2013 ; Kim *et al.*, 2014**) ont proposé 98,2% et 98,65%, respectivement comme une limite de séparation entre les espèces et ce sans avoir recours à l'hybridation ADN- ADN.

5.2.2.2. Hybridation ADN-ADN

L'analyse de l'hybridation ADN-ADN est essentielle pour identifier définitivement les espèces lorsque les séquences d'ADNr 16S présentent une ressemblance supérieure au pourcentage du seuil de détermination de la nouvelle espèce. Hybrider L'ADN-ADN consiste à estimer le taux de recombinaison (hybridation) de l'ADN génomique d'un taxon avec le taxon d'espèce le plus proche. Deux espèces sont considérées comme différentes si elles ont un taux de similarité de l'ADN génomique inférieur à 70% (**Wayne *et al.*, 1987 ; Devereux *et al.*, 1990**).

5.2.2.3. Pourcentage de guanine-cytosine (G+C)

En 1949, Chargaff et al ont rapporté la teneur en bases puriques et pyrimidiques l'ADN peut varier d'une personne à l'autre, mais reste constant pour les individus d'un même groupe et même espèce. Chez les bactéries, le pourcentage G+C varie de 25% à 75%. pour les actinomycètes, ce coefficient est supérieur à 55 %, généralement compris entre 60 et 78 % (Ensign, 1978 ; Larpent et Sanglier, 1989 ; Chun *et al.*, 1997 ; Stackebrandt *et al.*, 1997). Le tableau 4 représente la valeur GC des actinomycètes

La détermination du coefficient de Chargaff (G+C%) est un critère important non seulement dans l'identification des genres mais aussi des familles d'actinobactéries. De même, d'autres bactéries non mycéliennes telles que *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter* et même Les *Micrococcus*, sont considérées comme faisant partie de la lignée phylogénique des actinobactéries (Goodfellow, 1985 et 1989).

Tableau 4. Valeur du coefficient de Chargaff des différents Genres d'actinomycétales (Jacque, 1985).

Genre	CG%
<i>Mycobacterium</i>	64 à 70
<i>Actinomyces</i>	63 à 73
<i>Nocardia</i>	67 à 69,4
<i>Streptomyces</i>	69 à 76
<i>Micromonospora</i>	71,4 à 72,8
<i>Actinoplanes</i>	70,6 à 76

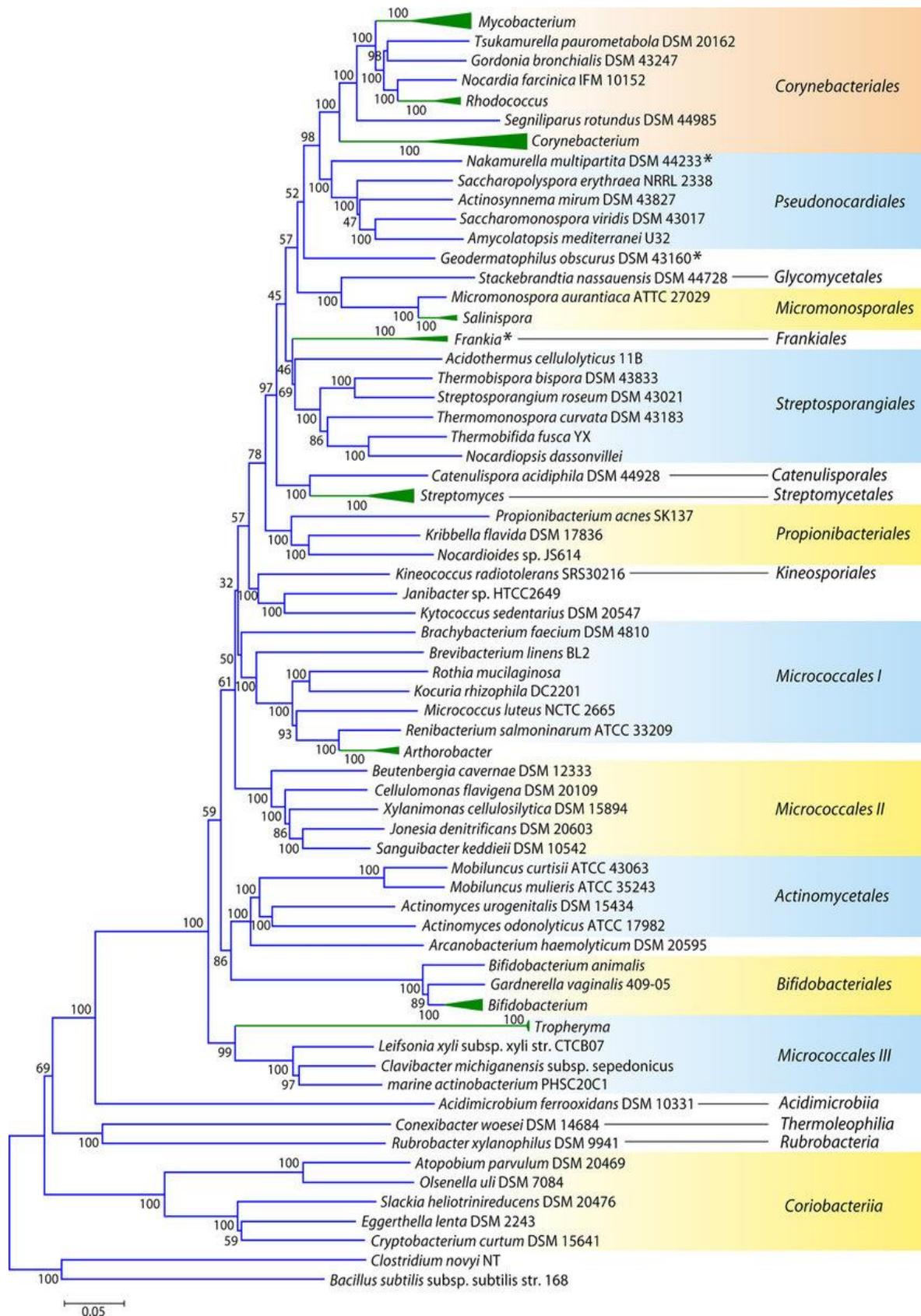


Figure 11. Classification phylogénétique des actinobactéries, basée sur la comparaison de séquences d'ARNr 16S (Gao et Gupta, 2012).

6. Cycle de développement des actinobactéries

Les actinomycètes ont un cycle de vie complexe, comme les eucaryotes multicellulaires qui subissent trois processus physiologiques principaux : la croissance végétative, différenciation cellulaire et la mort. Selon (Tighidet ,2011 ; Danilenko et al., 2005), leur cycle de vie commence par la germination des spores, qui nécessite la présence d'ions calcium. Cette germination produit du mycélium primaire ramifié.

Le genre *Streptomyces* possède un cycle de développement complexe sur un milieu solide. Il commence par la germination d'une spore qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes non septées, polynuclées, ramifiées et immobilisées dans le milieu solide. La germination des spores passe par quatre étapes : l'activation, l'initiation, l'émergence du tube germinatif et sa croissance (Figure 12)(Barka, 2016).

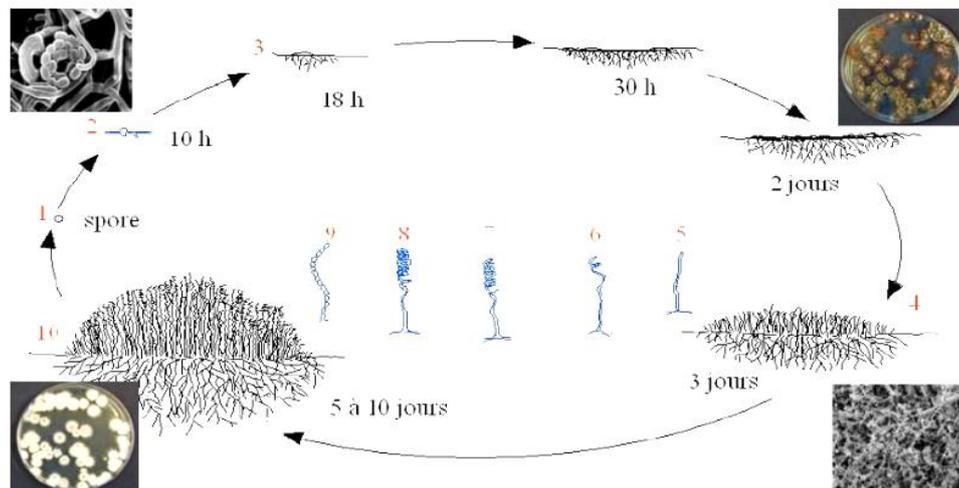


Figure 12. Cycle de développement du genre *Streptomyces* sur milieu solide (Scherr et Nguyen, 2009).

7. Métabolites secondaires des actinomycètes

Les métabolites secondaires créés par les actinomycètes présentent un nombre incroyable d'effets biologiques divers, en plus les activités antimicrobiennes. Les actinomycètes sont responsables de la production de composés bioactifs, avec plus de 10 000 agents antimicrobiens en usage pharmaceutique (Sharma et al.,2014).

7.1. Antibiotiques

Les antibiotiques sont une sorte d'agent chimio thérapeutique exceptionnels produits par des organismes vivants (bactéries, champignons et actinomycètes) qui, en petites quantités, peuvent empêcher la croissance des micro-organismes ou même les tuer. Les antibiotiques sont définis comme des composés organiques de faible poids moléculaire produits par les micro-organismes (Adegboye et Babalola ,2013) . Environ soixante-quinze antibiotiques, principalement des antibactériens, sont produits par des actinomycètes.

Historiquement, l'origine du plus grand nombre de nouveaux antibiotiques sont les *Streptomyces* par rapport aux bactéries et aux champignons (Figure 13) (Sharma et al., 2014 ; Hong et al., 2017).

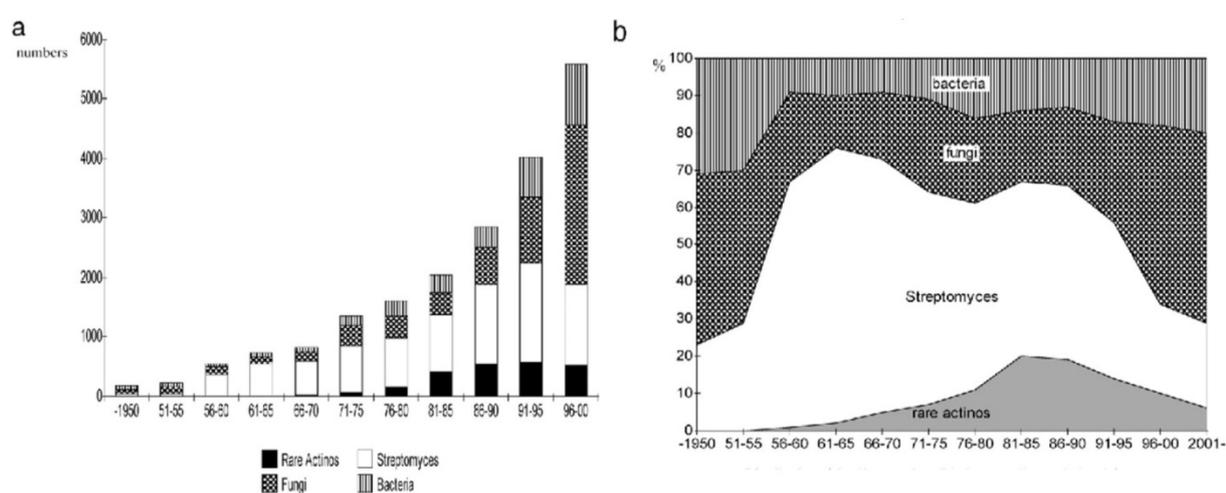


Figure 13. Répartition des antibiotiques découverts selon leur origine a (nombre), et b (pourcentage) (Hong et al., 2017).

Cet ordre a créé à lui seul environ 45 % des métabolites bioactifs connus ; plus de dix mille composés ont été isolés à partir de différentes espèces d'actinomycétales, dont environ 34 % de *Streptomyces* et 11 % des autres actinomycètes (Baltz ,2009) Divulguation de nouveaux antibiotiques sécrétés par les streptomycètes par exemple, les médiomycines A et B et la cléthramycine, ont été isolés à partir de *Streptomycesmediocidicus* ATCC23936 et de *Streptomyces malaysiensis* DSM4137 respectivement ont montré une activité antifongique à large spectre (Hussain et al ., 2002). Les polykétides sont des produits naturels très importants en raison de leurs applications pharmaceutiques. Des exemples de polykétides sont l'érythromycine (antibactérien), la nystatine (antifongique) et l'ivermectine (antiparasitaire). Tous les antibiotiques précédents ont été produits par *Streptomyces sp.* qui sont considérés comme les principaux producteurs d'antibiotiques Table 5 (Hasani et al., 2014)

Table 5.Liste de quelques antibiotiques produits par *Streptomyces* sp (Hasani et al., 2014)

<i>Streptomyces</i> sp.	Antibiotique	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibiotique
<i>S. orchidaccus</i>	Cycloserin n	<i>S. erythraeus</i>	Erythromycin
<i>S. orientalis</i>	Vancomycin	<i>S. vensuella</i>	Chloramphenicol
<i>S. fradiae</i>	Neomycin, actinomycin, fosfomycin, dekamycin	<i>S. aureofaciens</i>	Chlortetracycline, Dimethylchlor
<i>S. nodosus</i>	Amphotricin B	<i>S. ambofaciens</i>	Spiramycin
<i>S. noursei</i>	Nistatin	<i>S. avemitilis</i>	Avermicin
<i>S. mediterranei</i>	Rifampin	<i>S. alboniger</i>	Puromycin
<i>S. griseus</i>	Streptomycin	<i>S. niveus</i>	Novobicin
<i>S. knanamycetic</i>	Kanamycin	<i>S. platensis</i>	Platenmycin
<i>S. tenebrarius</i>	Tobramycin	<i>S. roseosporus</i>	Daptomycin
<i>S. spectabilis</i>	Spectinomycin	<i>S. ribosidificus</i>	Ribostamycin
<i>S. viridifaciens</i>	Tetracycline	<i>S. garyphalus</i>	Cycloserine
<i>S. lincolensis</i>	Lincomycin, clindamycin	<i>S. vinaceus</i>	Viomycin
<i>S. rimosus</i>	Oxytetracyclin	<i>S. clavuligerus</i>	Cephalosporin

7.2. Pesticides biologiques

Les insectes peuvent être contrôlés naturellement en utilisant des micro-organismes, notamment ceux qui leur sont hostiles. Les actinomycètes créent des substances insecticides efficaces pour lutter biologiquement contre les mouches domestiques *Musca domestica* (Sundarapandian et al., 2002). Lors de l'utilisation du pesticide actinomycète, un grand pourcentage des stades larvaires et nymphaux ont péri (jusqu'à 90 %) (Bloemberg et Lugtenberg, 2001). Les actinomycètes ont donné de bons résultats dans la lutte contre le moustique *Culex quinquefasciatus* (Sharma et al., 2014 ; Hasani et al., 2014).

7.3. Hormones de croissance végétale

Les actinomycètes ont été utilisés pour produire des hormones de croissance végétale, qui ont été utilisées pour améliorer la croissance des plantes. Les auxines et les substances similaires à la gibbérelline en sont deux exemples (Hasani et al., 2014 ; Persello et al., 2003). L'acide indole-3-acétique (IAA), le principal type d'auxine généré par les actinomycètes, est à l'origine de la division, de l'élongation et de la différenciation cellulaires.

7.4. Substances anti-tumorales

Les *streptomycètes* sont des groupes discrets qui peuvent produire des substances cytotoxiques uniques dotées de propriétés anticancéreuses (Soria-Mercado et al., 2005 ; Sahu

et *al.*,2008).Le produit chimique synthétisé dans le tableau 4 a démontré une activité significative contre plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (**Kumaret *al.*, 2014**) .

Une substance naturelle appelée mitomycine possède une variété de groupes fonctionnels, y compris le système d'anneau aziridine et l'amino benzoquinone. *Streptomyceslavendulae* a généré le médicament anticancéreux mitomycine C (MC), qui a été utilisé cliniquement comme un traitement antitumoral (**Sheldon et *al.*, 1999 ;Mao et *al.*, 1999**).

7.5. Agents antiviraux

Des peptides appelés complestatines ont été synthétisés par *Streptomyces lavendulae*. Ces peptides interagissent avec les molécules de surface des cellules cibles et empêchent l'adsorption du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) sur les cellules, mais ils n'ont pas d'effet inhibiteur sur les enzymes du VIH **Tableau 6 (Chiu et *al.*, 2001)**.

Tableau 6 .Liste des composés bioactifs dérivés de les actinobactéries ont montré des activités antibactériennes et antitumorales (**Kumar et *al.*, 2014**).

Composé bioactive	Espèces	Activité
Abyssomicin	<i>Verrucosispora</i> sp.	Antibactérien et antitumoral
Actinofuranones A-B	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibactérien et antitumoral
Analogs-metacycloprodigiosin	<i>Saccharopolyspora</i> sp.	Anti-cancéreux
Benzanthraquinone	<i>Chainia purpurogena</i>	Antibactérien et antitumoral
Butenolides	<i>Streptomyces</i> sp.	Antitumoral
Mechercharmycin	<i>Thermoactinomyces</i> sp.	Antitumoral
Diphosphatidylglycerol	<i>Micromonospora</i> sp.	Antitumoral

Les substances bioactives actinobactériennes se sont révélées avoir des propriétés antibactériennes et anticancéreuses (**Kumar et *al.*, 2014**).À partir des surnageants de culture, *Streptomyces chromofuscus* a mis au point un inhibiteur de protéase (PISC-2002). En tant que médicament antiviral contre le virus de la grippe A/Rostock/34 (H7N7), le PISC-2002 est crucial (**Angelova et *al.*,2006**). La pimprinine est un alcaloïde extracellulaire généré par *Streptomyces* sp. Il présente des caractéristiques physicochimiques significatives, une action antibactérienne, une activité anticonvulsive et une activité antivirale contre l'entérovirus 71 (EV71) (**Wei et *al.*, 2014**).

7.6. Composés pharmacologiques

La vitamine B12 est une vitamine très importante du complexe B (B1, B2, B3, B6 et acide folique). Elle a été enregistrée pour la première fois en 1948 à partir de *Streptomyces griseus*. Il n'existe aucune source de cette vitamine en dehors de la synthèse microbienne (Bhawsar, 2011). Il a également été démontré que les actinobactéries produisant d'autres vitamines hydrosolubles, tels que la thiamine et le dérivé de l'acide pteroylglutamique qui favorise la croissance de certaines souches de *Leuconostoc citrovorum* et la coenzyme A (Anandan, 2016).

7.8. Pigments

Les actinomycètes sont caractérisés par la production de différents pigments sur des milieux naturels ou synthétiques. Ces pigments sont généralement bleus, violets, rouges, roses, jaunes, verts, bruns et noirs. Les pigments peuvent être diffusés dans le milieu ou être retenus dans le mycélium (Figure 14,15)(Thompson et al., 2002 ;Zain al Abidin, 2020). Les actinomycètes sont connus pour produire différentes sortes d'antibiotiques et, en outre, ces antibiotiques comprennent de nombreux pigments (Wawrik B et al.,2007). Les mélanines sont régulièrement utilisées en pharmacologie et en cosmétique. *Streptomyces virginiae* a produit le niveau le plus élevé de pigment dans le milieu peptone- extrait de levure-fer, suivi de la tyrosine en milieu liquide.

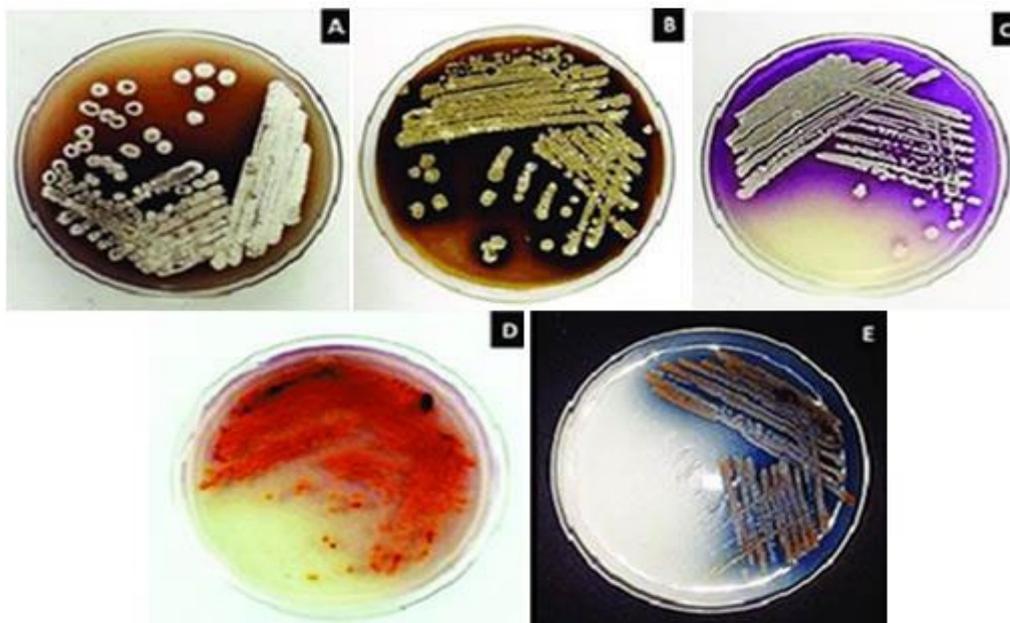


Figure 14. Pigments colorés diffusibles produits par diverses actinobactéries (Zain al Abidin, 2020). A : Pigment coloré diffusible marron, B : Pigment diffusible noir, C : Pigment violet, D : Pigment diffusible rouge et E : Pigment bleu.

L'actinomycète producteur de pigments *Streptomyces hygroscopicus* a montré une activité antibactérienne contre de nombreux pathogènes résistants aux médicaments *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA), *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine (VRSA), et les souches de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Les espèces de *Streptomyces* produisent un pigment antibiotique jaunâtre, le 4-hydroxynitrobenzène. Lorsque le pigment jaune a été extrait dans le chloroforme et a montré une activité contre *Bacillus subtilis* et *Shigella shiga*. De plus, l'extrait d'acétate d'éthyle du pigment violet possède une forte activité inhibitrice contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Serratia marcescens* (Zainal Abidine et al., 2020).

Les pigments microbiens ont des activités antibiotiques ou anticancéreuses et peuvent être utilisés sans danger par l'homme. Sont également sans danger pour l'homme. Quelques-uns d'entre eux sont également démontrés comme des pigments de qualité alimentaire. Ils sont faciles à produire et sont également économiques (Amal et al., 2011 ; Sathi et al., 2002). Les streptomycètes est une classe importante sur le plan industriel, qui ont la capacité de produire de nombreux antibiotiques et pigments.

La capacité de ces organismes à produire des pigments dépend des diverses conditions de nutrition et de culture, où elle peut être fortement augmentée ou complètement perdue. Il est donc très important d'améliorer la bonne combinaison des différentes conditions de culture pour la croissance et la production de pigments. Un pigment biologique est produit par *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces violaceus ruber* et *Streptomyces lividans*. Il est de couleur bleue et basé sur le pH (Figure 15) (Moore et al., 1999).

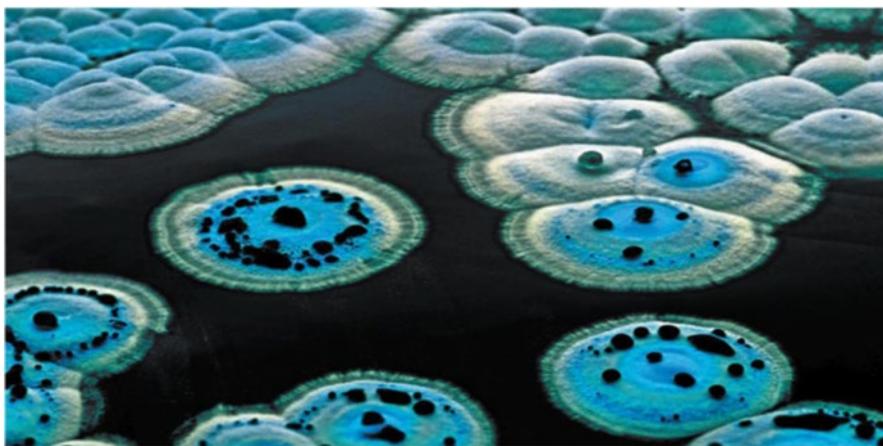


Figure 15. Vue panoramique de *Streptomyces coelicolor* comprenant l'antibiotique bleu actinorhodine est excrété dans le milieu et dans des gouttelettes aqueuses sur la surface hydrophobe de la colonie (Thompson et al., 2002).

Ce pigment a différentes applications telles qu'un antibiotique contre les bactéries Gram positive, un indicateur dans les laboratoires, etc. En raison de sa capacité à présenter des couleurs spéciales en milieu acide et alcalin et enfin, l'actinorhodine peut être utilisée dans l'industrie alimentaire lors de la fabrication de boissons, de desserts, etc. Et peut même être utilisé dans l'industrie cosmétique. Le champ d'application complet du pigment n'a pas encore été exploré (Morens et al., 2004).

7.8. Enzymes commerciales

La valeur des enzymes commerciales s'est considérablement augmentée grâce à leurs différentes utilisations dans l'industrie pharmaceutique, alimentaire et des détergents. Les actinomycètes ont une différente enzyme active qui est capable de catalyser différentes réactions biochimiques avec de nouvelles enzymes. Les applications de quelques enzymes commerciales sont énumérées dans le **Tableau 7**(Kumar et al., 2014).

Tableau 7. Enzymes d'intérêt commercial produites par les actinomycètes et leur application (Kumar et al., 2014).

Enzyme	Souches Actinomycetes	Utilisation	Application industrielle	Références
Protéase	<i>S. galbus</i>	Détergents	Détergents	(Nanjawade et al.,2010)
		production de fromage	Alimentation	
		Clarification - bière hypocalorique	Brassage	
		Démasquer	Cuir	
		Traitement du caillot sanguine	Medicine	
Cellulase	<i>S. actuosus</i>	Détachage, Finition Denim,modification des fibres de papier et de pâte	Finition denim, satinage Coton	(Umamahesw ary et al.,2005)
Lipase	<i>S. griseochromogenes</i>	Enlèvement des taches	Détergent	(Murugan et al.,2007)
		Stabilité de la pâte et conditionnement	Pâtisserie	
		Dégustation de fromage	Laitière	
		Désencrage, nettoyage	Textile	
Xylanase	<i>S. rameus</i>	Conditionnement de la pate	Pâtisserie	(Gorajana et al.,2005)
		Digestibilité	L'alimentation animale	
		Booster de blanchiment	Papier et pate	
Pectinase	<i>S. fradzae</i> <i>Snztrosporeur</i>	Clarification, brassage	Boisson	(Li et al.,2005)
		Récurage	Textile	
Amylase	<i>S. aureofasciculus</i> , <i>S. galilaeus</i>	Soness de pain	Détergent	(Kundu et al.,2006)
		Élimination du volume des taches	Pâtisserie	
		Désencrage, amélioration du drainage	Papier et pate	
		Production de sirops de glucose et de fructose	L'industrie de l'amidon	
		Élimination de l'amidon des tissus	Textile	
Glucos oxidase	<i>Streptomyces</i> sp.	Renforcement de la pate	Pâtisserie	(Sato et Akaji,1980)
Lipoxygenase	<i>Streptomyces</i> sp.	Blanchiment du pain	Pâtisserie	(Petrova et al.,2006)
Phytase Phytate	<i>S. ambofaciens</i> <i>S. lienomycini.</i>	Digestibilité	L'alimentation animale	(Komoda et al., 2004)
Peroxidase	<i>Thermomonospora fusca</i> <i>S. viridosporus</i>	Élimination de l'excès de colorant	Textile	(Greiner,2004)

β-galactosidase	<i>Streptomyces</i> sp.	Hydrolyse enzymatique du lactose provenant du lait/petit-lait ou du lactose pur	Laitière	(Crawford et al.,1981)
L-asparaginase	<i>S. aureofasciculus</i> , <i>S. canus</i> , <i>S. chattanoogenesis</i> , <i>S.hawaiiensis</i> , <i>S.olivoviridid</i> , <i>S. orientalis</i> , <i>S. plicatus</i>	Réduire la formation d'acrylamide, un agent cancérigène présent dans les produits alimentaires riches en amidon.	Industrie alimentaire	(Anisha et Prema,2008)
L-glutaminase	<i>S. r imosus</i> , <i>S. galbus</i>	Agent exhausteur de goût dans les aliments	Industrie alimentaire	(Koshy et al.,1997;Sahu et al., 2007)
Kératinase	<i>Doretomyces microspores</i>	L'alimentation animale	Industrie de la volaille	(Umamaheswari et al.,2003)
Pétinase	<i>Thermomonospora flisca</i> <i>S. viridochromogenes</i>	Rouissage et démulcination des plantes à fibres	Industrie textile	(Sivakumar et al.,2007)

Les espèces de *Streptomyces* produisent des enzymes importantes comme l'amylase, la protéase et la protéolyse et la cellulose, qui ont des applications commerciales dans différentes industries (Kundu S et al., 2006) . La L-glutaminase, la Lasparaginase, et l'α-galactosidase jouent un rôle efficace dans le biocyclage du carbone et de l'azote dans l'eau et sédiments naturels. La L-glutaminase et la L-asparaginase ont montré des activités antitumorales et ont été produites par des *Streptomycètes* marins (Sahu et al., 2007 ; Vignardet et al., 1999). Le marché mondial des enzymes industrielles n'a cessé de croître en raison de diverses fusions et acquisitions (Figure 16).

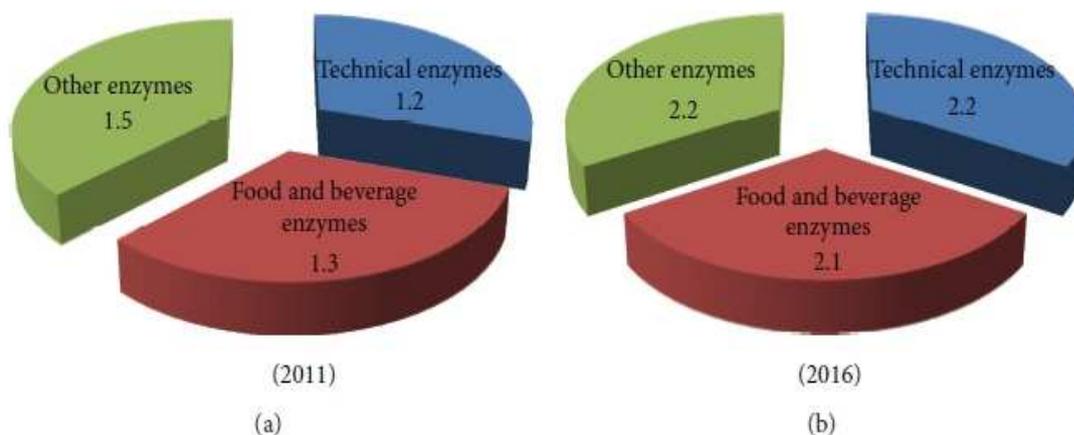


Figure 16. Marché mondial de l'industrie des enzymes dans les années a (2011) et b (2016) (Prakash et al.,2017).

Les enzymes alimentaires et de boissons ont fait l'objet d'une grande attention au cours des dernières décennies. Il y a d'autres augmentations du nombre de brevets au cours des décennies en échelle droite, comme le montre la (figure 17)(Prakash et al., 2017).

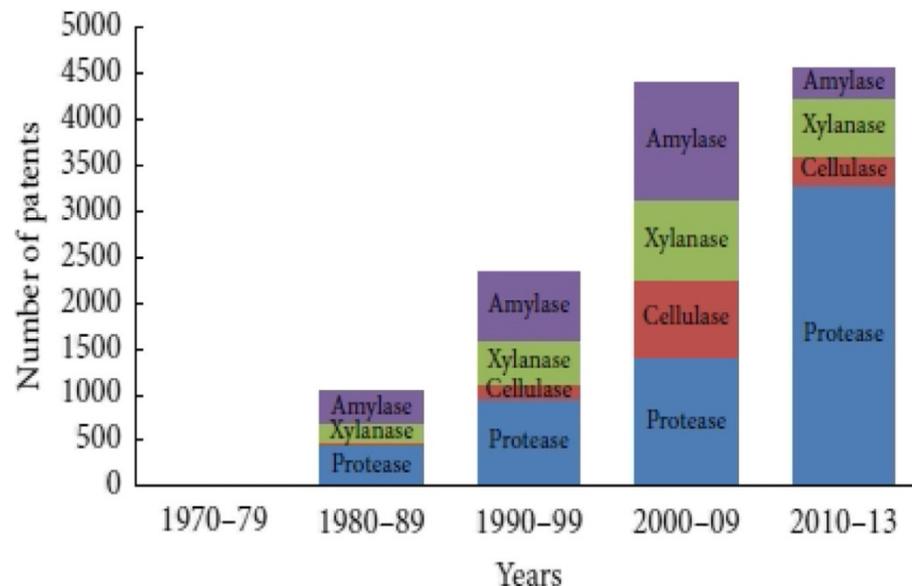


Figure 17. Croissance du nombre de brevets délivrés pour d'importantes enzymes industrielles au cours des dernières décennies (Prakash et al.,2017).

7.9. Inhibiteurs enzymatiques

Les inhibiteurs d'enzymes sont de plus en plus considérés comme des outils précieux, non seulement pour l'étude des structures enzymatiques et des mécanismes de réaction, mais aussi pour leur potentiel d'amélioration dans l'industrie pharmacologique (Stutzenberger ,1987). Les actinomycètes marins sont des sources prometteuses pour la production d'inhibiteurs d'enzymes (Bode et Huber ,1992 ; Sun et al., 2015) , Il a été rapporté que différents types d'inhibiteurs d'enzymes tels que la N-acétyl--D-glucosaminidase, la pyroglutamyl peptidase, et les inhibiteurs de l' α -amylase sont produits d'actinomycètes marins. Les inhibiteurs de l'amylase contiennent des substances qui empêchent l'amidon alimentaire d'être consommé par l'organisme. Les inhibiteurs peuvent être utiles pour la perte de poids. Les inhibiteurs de l'alpha-amylase sont produits par *Streptomyces corchorushii* et *Streptomyces* sp. CC5 respectivement(Sun et al., 2015) . *Streptomyces toxytricini* a produit la lipstatine, qui est un inhibiteur très exceptionnel de la lipase pancréatique .(Weibel et al., 1987)

7.10. Composés anti-inflammatoires

L'acide saphénique et la lipomycine se sont des molécules qui ont une activité anti-inflammatoire produite par des actinomycètes marins (**Manivasagana et al., 2014**). Il a également été indiqué que *Micromonospora* sp produisait des composés bioactifs ayant une activité anti-inflammatoire ainsi qu'une activité antimicrobienne (**Jayaprakashvel , 2012**). *Streptomyces arenicola* produit également les métabolites anti-inflammatoires cyclomarine A et C, où il a été rapporté que la cyclomarine A a une action anti-tuberculeuse et antipaludique (**Barbie et Kazmaier ,2016**). Il a été remarqué que l'enflure diminuait lorsque la cyclomarine A était administrée par voie topique ou intrapéritonéale (**Imade et Okami ,1995**).

7.11. Aliments protéiques unicellulaires

Les actinomycètes marins peuvent être utilisés comme farine de poisson. Les actinomycètes peuvent produire des métabolites secondaires qui peuvent améliorer le développement des jeunes poissons et crevettes. Certains de ces métabolites, par exemple la boromycine, l'aplastomycine (**Raja ,2007**) , et des acides aminés réguliers comme l'alanosine, l'acide amino-dichlobutyrique, l'azaleucine et la 4-oxalysine (**Nakamura et al., 1977**) . Les jeunes crevettes nourries avec des aliments incorporant d'actinomycètes ont montré un taux de développement plus élevé, une Conversion alimentaire et une teneur en protéines plus élevée (**Nakamura et al., 1977**) . Ainsi, Parmi les sources de protéines inhabituelles, la protéine unicellulaire d'origine microbienne semble être un substitut prometteur aux poissons, qui peut remplacer jusqu'à 25 à 50 % de farine de poisson dans les exploitations aquacoles.

7.12. Biosurfactant

Un biosurfactant est une molécule active en surface produite principalement par des micro-organismes. Le terme fait référence à des composés ayant une certaine influence sur les interfaces. L'évaluation des agents tensioactifs est réalisée par des tensions superficielles. Dans la littérature, les termes surfactant et émulsifiant sont souvent utilisés de manière interchangeable (**Fiechter, 1992 ;Feller et al., 1998**).

Les biosurfactants présentent de nombreux avantages en raison de leur spécificité, de leur biodégradabilité et de leur moindre toxicité. En outre, l'efficacité de ces biosurfactants à agir dans des conditions extrêmes de température, de pH et de salinité. Les actinomycètes jouent un rôle vital dans la production de bioémulsifiants. Les dimycolates de tréhalose produits par certains actinomycètes comme *Nocardia* sp (**Thampayak et al., 2008**).*Streptomyces*

griseoflavus et *Nocardiopsis* A17 ont également produit de nombreux biosurfactants (Chakraborty et al., 2015).

7.13. Bioherbicides

Une autre application intéressante de l'Actinobacteria est l'utilisation de leurs métabolites secondaires comme herbicides contre les mauvaises herbes indésirables. *Streptomyces saganonensis* produit des herbicides et des herbimycines qui contrôlent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones. L'anisomycine, produite par *Streptomyces* sp, est un type d'inhibiteur de croissance pour les mauvaises herbes herbacées annuelles telles que le gazon de crabe et les mauvaises herbes à feuilles larges; L'anisomycine peut détruire la capacité des plantes à synthétiser la chlorophylle de même, le bialaphos, un métabolite de *Streptomyces viridochromogenes*, est largement utilisé pour contrôler les mauvaises herbes herbacées annuelles et pérennes et les mauvaises herbes à feuilles larges en inhibant la synthèse de la glutamine. L'anisomycine peut produire de petites graines de barnyardness et crabe commun mort au-dessus de 50 ppm et inhiber la croissance de radicule inférieure à 12,5 ppm. Sa synthétase peut accumuler de l'ammoniac et contrôler la phosphorylation photosynthétique, provoquant la mort de la plante (Xiliang, 1994). *S. hygroscopicus* produit de la coformycine carbocyclique et de l'hydantocidine, ce qui peut réduire la synthetase de l'aclenylosuccinate en augmentant le contenu de l'ATP et en retenant la synthèse (Pillmoor, 1998). De plus, la phthoxazoline, l'hydantocidine et l'homoalanosine de *Streptomyces* sp. Peut contrôler plusieurs mauvaises herbes (Yan Chu, 1993). (Dhanasekaran et al., 2010) ont signalé que *Streptomyces* sp. Avaient la capacité d'inhiber la croissance d'*Echinochilocrusgalli*. Aussibien, *Streptomyces* sp. KA1-3, KA1-4, KA1-7 et KA23A ont été trouvés hautement efficace contre *E. rotundus* (Dhanasekaran et al., 2012). Activité herbicide des composés bioactifs N-phénylpropanamide et N (naphtalène-1-yl) propanamide de *Streptomyces* sp. KA1-3 (Priyadharsini et al., 2013) a également été évalué.

7.14. Biodégradation des polluants

Les actinobactéries marines ont une capacité marquée à dégrader des molécules complexes comme le pétrole. *Rhodococcus* sp et *Mycobacterium* sp, font partie des actinobactéries marines capables de dégrader une gamme de hydrocarbures (Sharma et Pant, 2001). Les grandes marées noires sont l'une des catastrophes environnementales les plus dramatiques et les plus terribles. Les scientifiques ont étudié l'utilisation des actinomycètes marins dans le nettoyage des déversements d'hydrocarbures, car ils dégradent les hydrocarbures présents

dans le pétrole en les utilisant comme source de carbone et ils se développent beaucoup plus lentement que les autres souches bactériennes.

7.15. Effet de biosorption

La biosorption considérée comme une méthode alternative d'élimination des polluants métallique. C'est simple, efficace et économique. De nombreuses industries telles que les industries de la tannerie, des revêtements, de l'automobile, de l'aérospatiale et de l'acier produisent une grande quantité d'eaux usées contenant différentes concentrations de Cu^{+2} , Zn^{+2} et Cr^{+2} . Ces concentrations sont souvent trop faibles pour être traitées par des méthodes standard. Principales technologies couramment utilisées dans la récupération des ions métalliques sont la précipitation, coagulation et absorption, échange dans les eaux usées industrielles ionisation, traitement des membranes et extraction par solvant. Ces technologies souffrent de divers inconvénients (Volesky, 2001).

Utilisation de matériaux et de déchets biosourcés bon marché comme absorbants il s'avère que les ions métalliques dissous peuvent apporter une solution économique à ce problème Mondial. Dans les travaux de biosorption menés en Algérie, les recherches ont proposé nouveau biosorbant pour le traitement des eaux riches en métaux lourds et autres substances contaminants : *Streptomyces rimosus*, bactéries mycéliennes, Gram positive, d'actinomycètes. Dans toutes les études, la biomasse de *Streptomyces rimosus* est obtenue à partir d'une usine de production d'antibiotiques (oxytétracycline) de Médéa (Algérie) Capable d'accumuler des ions métalliques à partir de solutions aqueuses diluées (Selatnia et al., 2004). Ce biosorbant a démontré son efficacité pour le traitement des eaux riches en métaux lourds tels que le zinc batch (Mameri et al., 1999), le cuivre, le zinc et le chrome (Chergui et al., 2006) Plomb (Selatnia et al., 2004a) Cadmium (Selatnia et al., 2004b) Nickel (Selatnia et al., 2004) et fer (Selatnia et al., 2003), bleu de méthylène (Yeddou et al., 2006).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

Chapitre II: Matériels et méthodes

I. Origine des échantillons et isolement des actinobactéries.

1. Les échantillons de sols

L'isolement des actinomycètes est réalisé à partir de cinq échantillons de sol provenant de régions arides et semi-arides non cultivées d'Algérie (Ain Safra, Bougtob, Tamanrasset) (**Figure 18**). Les échantillons sont prélevés entre décembre 2019 et janvier 2020. **Tableau 08** décrit les caractéristiques des échantillons.

Tableau 08. Situation géographique des stations d'échantillonnage pris par GPS.

Code de l'échantillon	Région	Altitude (mètres)	Latitude (N)	longitude (E)	Etage Bioclimatique
Ech 1	Ain Safra (Naama)	1075	33°26'22"	0°34'60"	Semi aride
Ech2	Bougtob (El-Bayadh)	1039	34°02'33"	0°05'21"	Semi aride
Ech 3	La Cité (Tamanrasset)	1400	22°47'13"	0°05'21"	Aride
Ech 4	L'Oued (Tamanrasset)	1400	22°47'13"	0°05'21"	Aride
Ech 5	Rhizospherd'Accacia (Tamanrasset)	1400	22°47'13"	0°05'21"	Aride

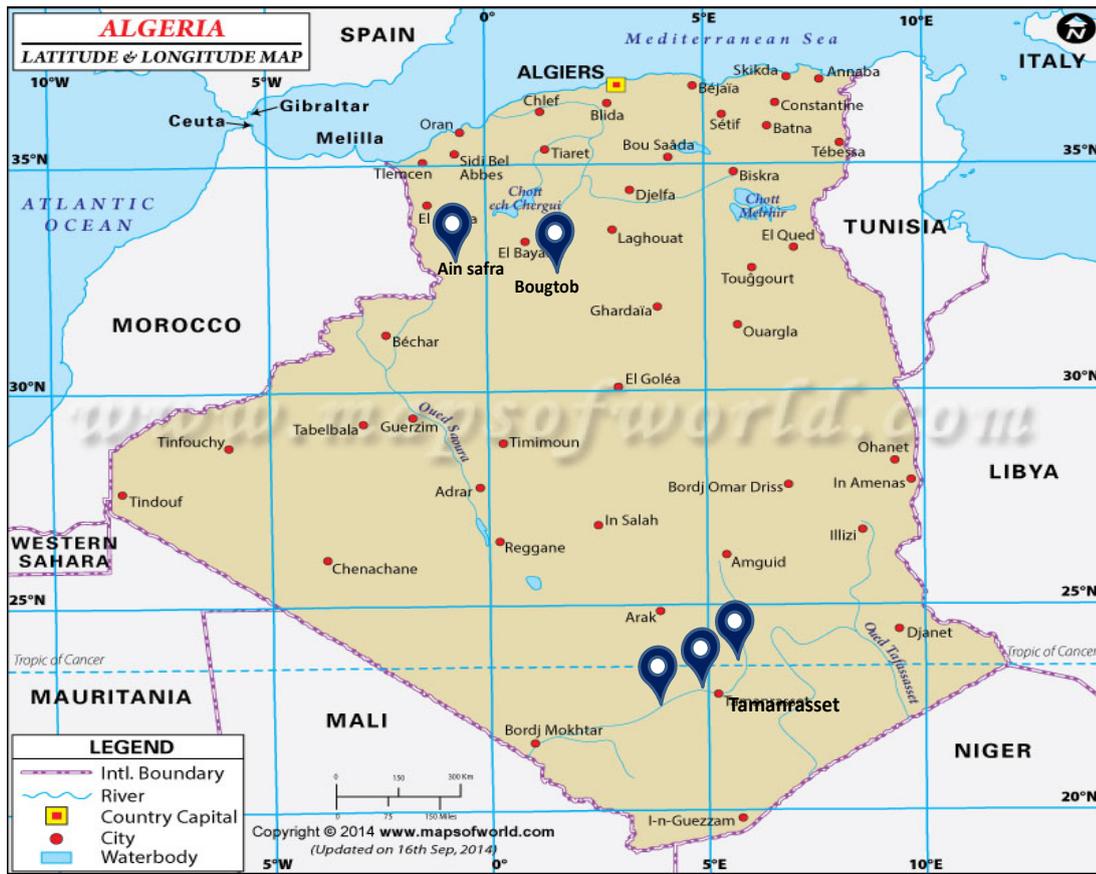


Figure 18. Sites de prélèvement des échantillons de sol (www.mapsofworld.com).

 : Sites d'échantillonnage

2. Echantillonnage

Cinq échantillons de sol sont prélevés aseptiquement à une profondeur de 10 à 20 cm et placés dans des sacs (ou sachets) stériles à raison de 200 g par échantillon. Ils sont ensuite conservés à 4°C jusqu'à l'utilisation. L'échantillon de sol est d'abord séché puis broyé pour faciliter l'isolement bactérien.

3. Mesure de pH des échantillons

Le pH de l'échantillon du sol est mesuré dès l'arrivée au laboratoire selon la technique de (Pochon et Tradieux ,1962), qui consiste à déterminer la valeur du pH d'une suspension du sol en eau distillée, en mettant 5g de sol dans 12,5 ml d'eau distillée stérile.

4. Isolement des actinobactéries

4.1. Prétraitement des échantillons de sols

Les échantillons de sols sont prétraités pour éliminer certaines bactéries indésirables et favoriser la croissance des actinobactéries, à cette fin deux méthodes sont appliquées.

A / le Séchage

Sécher l'échantillon de sol à température ambiante pendant 7 jours ou dans un dessiccateur sous vide. L'effet de ce prétraitement est de réduire la résistance de la flore bactérienne indésirable à ce traitement (à l'exception des actinomycètes) (Suwan *et al.*, 2012).

B / Enrichissement de l'échantillon en bicarbonate de calcium(CaCO₃)

Cette méthode consiste à mélanger 10 g d'échantillon de sol avec 1 g de CaCO₃; incuber le mélange dans une étuve à 40°C en milieu humidifié pendant 7 à 9 jours. L'avantage de ce prétraitement est de réduire la flore fongique et Augmentation du nombre d'actinomycètes (Arshad *et al.*, 2012).

4.2. Les milieux de cultures utilisés

Les milieux de cultures utilisés pour isoler les actinomycètes comprennent :

- Milieu GYM (gélose-yeast-extrait de malt)(annexe1) (Wink *et al.*, 2015).
- Milieu ISP2 (International *streptomyces*Project)(annexe1) (Ara *et al.*, 2012).

Après autoclavage et refroidissement des milieux à une température d'environ 45°C, 5 µg /ml d'Actidione et 5 µg / ml de rifampicine sont ajoutés de manière aseptique au milieu. L'ajout de ces deux composés (actidione et rifampicine), d'une part, réduire la flore des champignons, d'autre part, il réduire le nombre de bactéries (Gram Négatif).

4.3. Préparation de la suspension-dilution et ensemencement

La méthode d'isolement utilisée est la dilution en suspension (Rapilly, 1968), suivie d'un étalement sur milieu approprié versé dans des boîtes de Pétri stériles. Des solutions mères sont préparées en ajoutant 5 g de terre fine (traitée selon la méthode décrite ci-dessus) à 45 ml d'eau distillée stérile correspondant à la dilution de la solution mère. Après homogénéisation de la dilution initiale par vortex (Bastide, 1986 ; Kitouni, 2007), Une série de dilutions 10⁻¹ à 10⁻⁵ est préparée. Étalez 100 µl des trois dernières dilutions (10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵) sur la surface du milieu de culture en

triple exemplaire pour chaque dilution, ou mélangez 1 ml avec du milieu ISP2 en surfusion. Les boîtes sontensemencées et ensuite incubées dans une étuve à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 7 à 21 jours (Rahman *et al.*, 2011). Pour isoler les souches bactériennes d'intérêt, deux méthodes d'inoculation sont appliquées.

4.3.1. Ensemencement en masse

La méthode consiste à placer d'abord 01 ml de la dilution 10^{-4} ou 10^{-5} dans une boîte de Pétri, puis à verser environ 15 ml de milieu ISP2 ou GYM en surfusion. Homogénéiser le contenu de la boîte de Pétri en l'agitant dans un mouvement circulaire lent, puis incubé à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 07 - 21 jours.

4.3.2. Ensemencement en surface

La méthode consiste à déposer 0,1 ml de dilutions 10^{-4} et 10^{-5} de chaque échantillon à la surface d'une gélose ISP2 ou d'un milieu GYM et à étaler à l'aide de pipettes Pasteur stériles. Incuber la boîte à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 7-21 jours.

5. Reconnaissance des actinobactéries

Pendant la période d'incubation, inspecter périodiquement les boîtes de Pétri inoculées à l'œil nu et au microscope optique (grossissements x10 et x40) pour observer la morphologie des colonies d'actinomycètes. Ces observations ont permis d'identifier les isolats bactériens recherchés. Les caractéristiques morphologiques et culturelles qui permettent l'identification des actinomycètes sont soigneusement étudiées. Selon certains auteurs, ces colonies bactériennes sont noyées dans le milieu de culture et ont un aspect poudreux corné avec un centre proéminent aux bords frangés (Girard et Rougieux, 1967).

6. Dénombrement et Sélection des Actinomycètes

Les colonies bactériennes présentant les caractéristiques ci-dessus sont sélectionnées puis comptées (nombre de colonies par échantillon) (Meklat, 2012).

7. Purification et conservation des actinobactéries

Les colonies sélectionnées sont prélevées délicatement à l'aide d'une anse stérile puis purifiées par stries sur milieu GYM ou ISP2. Les isolats obtenus sont numérotés etensemencés dans des tubes contenant le même milieu en position

inclinée. Les tubes sont incubés à 28°C pendant 7 jours puis conservés à 4°C (Arifuzzaman et al., 2010). Les isolats sont repiqués régulièrement sur milieu ISP2 tous les 2 mois.

II. Criblage de l'activité antimicrobienne des actinobactéries

Le criblage des isolats d'actinomycètes pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques permet de sélectionner les isolats ayant l'activité antimicrobienne la plus intéressante. Ces isolats feront l'objet d'études ultérieures.

1. Microorganismes-cibles

Les micro-organismes cibles proviennent de la collection du Laboratoire de Microbiologie de l'Université Djillali Liabés Sidi Bel Abbés, dont la plupart sont catalogués et déposés dans la base de données des dépôts mondiaux (souches ATCC). Les milieux utilisés pour la purification et l'obtention de jeunes cultures de bactéries cibles sont le milieu PDA pour les champignons, l'agar nutritif pour les bactéries et les levures. Le **Tableau 09** liste les caractéristiques de ces microorganismes. Les souches bactériennes et les levures sont réactivées dans 9 ml de bouillon nutritif, puis incubées à 37 °C pendant 18 à 24 h (bactéries) et 3 à 5 jours (levure). Les souches fongiques sont repiquées sur milieu PDA. Les souches indicatrices sont sélectionnées en fonction de leur pathogénicité chez l'homme et les plantes et de leur contribution à la détérioration des aliments pendant la conservation.

Tableau 09. Caractéristiques des souches indicatrices

Microorganismes	Coloration de Gram	Origine
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	Gram Positif	ATCC 44300
2. <i>Staphylococcus aureus</i>		ATCC 25923
3. <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)		ATCC 33591
4. <i>Bacillus cereus</i>		ATCC 11778
5. <i>Listeria monocytogenes</i>		ATCC 19114
6. <i>Micrococcus luteus</i>		ATCC 10240
7. <i>Enterococcus faecalis</i>		ATCC 29212
8. <i>Citrobacter freundii</i>	Gram Négatif	ATCC 43816

9. <i>Escherichia coli</i>		ATCC 25922
10. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>		ATCC 27853
11. <i>Klebsiella pneumonia</i>		ATCC 14028
12. <i>Acinetobacter boumanii</i>		ATCC 17978
13. <i>Enterobacter aerogenes</i>		ATCC 13048
14. <i>Candida albicans</i>	Levures	ATCC 10231
15. <i>Penicillium spp</i>	champignons phytopathogènes	INPV
16. <i>Aspergillus niger</i>		INPV
17. <i>Phytophthora infestans</i>		INPV
18. <i>Endosporium spp</i>		INPV
19. <i>Rhizopus oryzae</i>		INPV

ATCC*: American Type Culture Collection

INPV : Institut Nationale de Protection des Végétaux

1.1. Standardisation des inocula

Pour utiliser une charge identique pour tous les microorganismes cibles, il est nécessaire de standardiser tout les inocula. A partir d'une culture de 18h sur milieu Muller Hinton, une suspension dans l'eau physiologique de chaque bactérie cible est préparée. La densité cellulaire de chaque suspension est ajustée par dilution dans de l'eau physiologique stérile et en comparaison avec la solution 0,5 Mc Farland (une densité optique égale à 0,5 à 650 nm) de façon à obtenir une concentration finale de 10^6 UFC/ml après incorporation dans le milieu (Cavalla et Eberlin, 1994).

La standardisation des champignons est effectuée par la méthode de suspensions dilutions par mesure de la densité optique ($DO = 0,5$) avec un spectrophotomètre (Shimadzu UVmini. 1240) à différentes longueurs d'onde selon le germe. Le dénombrement des spores est effectué à l'aide de la cellule de Malassez. La charge de l'inoculum utilisée est de 107 spores /ml (Billerbeck *et al.*, 2002 ; Matan et Matan, 2008).

2. Tests d'antagonismes (étude de l'activité antagoniste *in vitro*)

L'activité antimicrobienne des actinobactéries est évaluée par la méthode des cylindres d'agar.

2.1. Etude de l'activité antibactérienne

2.1.1. Méthode des cylindres d'agar

La mise en évidence de l'activité antibactérienne des isolats d'actinobactéries a été également réalisée par la méthode des cylindres d'agar sur milieu Mueller-Hinton. Cette méthode consiste à ensemencer les isolats d'actinobactéries en stries très serrées à l'aide d'une anse stérile et d'une manière homogène à la surface du milieu ISP2. Les boîtes sont incubées à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 14 jours (Meklat, 2012). Après incubation, des cylindres de gélose de 6 mm de diamètre sont découpés aseptiquement à l'aide d'un emporte-pièce puis déposés à la surface du milieu Mueller-Hinton, préalablement ensemencé par le germe cible (Djinni, 2009). Les isolats d'actinobactéries libèrent leurs métabolites secondaires dans le milieu au cours de leur croissance. Les boîtes ensemencées sont maintenues à 4°C pendant 2h avant d'être incubées à 37°C . Les zones d'inhibition sont mesurées après 24 h d'incubation à 37°C .

2.2. Etude de l'activité antifongique

La production de métabolites antifongiques par les souches d'actinomycètes est mise en évidence par la technique des cylindres d'agar en utilisant le milieu Sabouraud.

2.2.1. Préparation des suspensions fongiques

Les champignons filamenteux sont repiqués sur milieu PDA et incubés à 28°C pendant 5 jours. Une suspension sporales des souches cibles (*Endosporium* spp, *Phytophthora infestans*, *Penicillium* spp, *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*), sont préparées en grattant la surface de la culture à l'aide d'une spatule stérile afin de récupérer les spores et les mélanger par vortex à 10 ml d'eau physiologique stérile.

2.2.2. Mise en évidence des activités antifongiques

Les souches d'actinomycètes sont ensemencées en stries serrées sur milieu ISP2 et incubées à 28°C pendant 7 jours. Les cylindres de 6mm de diamètre et placés sur le milieu Sabouraud, préalablement, ensemencé à l'aide des écouvillons par des suspensions sporales fongiques des souches tests, les boîtes sont laissées à 4°C pendant 4 heures, pour assurer une bonne diffusion du métabolite antifongique, puis incubées à 28°C . Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après 48 heures d'incubation pour les champignons cibles (Lemriss *et al.*, 2003).

2.3. Lecture

Après incubation, la présence des zones d'inhibition indique un résultat positif. Cette zone est observée autour des disques d'actinomycètes ce qui signifie que ces bactéries produisent des molécules antimicrobiennes capables de stopper la croissance des bactéries et des champignons tests. Le diamètre d'inhibition est mesuré par une règle graduée. L'absence de zones d'inhibition claires autour des disques d'agar, indique un résultat négatif.

3. Choix des meilleurs isolats d'actinobactéries antagonistes

Les isolats retenus sont ceux qui expriment les meilleurs résultats des tests de l'activité antimicrobienne (diamètre supérieur ou égal à 10 mm) vis-à-vis d'une large gamme de microorganismes cibles.

III. Etude de l'activité antibiotique de la souche sélectionnée

Une souche d'actinobactérie est sélectionnée comme meilleur isolat antagoniste afin d'étudier ces composés actifs.

1. Cinétiques de production des antibiotiques en milieu liquide

La cinétique de production des métabolites suspecté (antibiotique) est réalisée dans le milieu de culture AF ou ISP2 à pH 7,2 durant 14 jours.

2. Préparation de pré-culture

Pour obtenir une préculture, les spores d'actinomycètes sont utilisées pour inoculer des tubes contenant chacun 03 ml de milieu AF (Actinomycètes fermentation) liquide. Les tubes sont ensuite incubés à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ et maintenus en agitation dans un shaker à 250 rpm pendant 48 heures.

2.1. Ensemencement en fioles agitées

Des Erlenmeyer de 500 ml contenant chacun 100 ml de milieu AF liquide (pH : 7,2) sont ensemencées par un inoculum bactérien (01 mg d'actinobactéries) dans 3 ml de milieu AF liquide. Les cultures sont incubées à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ et maintenues en agitation dans un Shaker à 250 rpm pendant 14 jours.

2.2. Cinétique de production de la substance antimicrobienne

La cinétique de production d'antibiotiques est réalisée pour déterminer le temps optimal de production. L'évolution de cette production est appréciée en étudiant l'activité antimicrobienne toutes les 24 heures et en mesurant le pH pendant 14 jours. Dans des

conditions aseptiques, des échantillons sont prélevés dans les flacons agités toutes les 24 heures pendant la fermentation. Le volume prélevé est généralement de 4 ml. Les résultats sont exprimés comme la moyenne de deux mesures obtenues à partir de chaque flacon Erlenmeyer. L'activité antibiotique est déterminée par la méthode du puits (**Wu, 1984**). Cette expérience est réalisée sur certaines souches bactériennes ATCC. La méthode consiste à préparer du milieu ISP2 ou Mueller Hinton contenant 12g/l d'agar-agar (pour faciliter la diffusion des antibiotiques), maintenu en surfusion à 44°C et pré-ensemencé avec une suspension des microorganismes cibles. Le milieu est ensuite versé dans des boîtes de Pétri. Une fois le milieu est complètement solidifié, creusez des puits à l'aide d'un emporte-pièce de 10 mm de diamètre. Prélever aseptiquement un volume de 150 µl de surnageant de culture à analyser à l'aide d'une micropipette (embout stérile) et l'introduire dans le puits. Les boîtes sont laissées à 4°C pendant 2h pour faciliter la diffusion de la substance active tout en stoppant temporairement la croissance bactérienne, puis les boîtes sont incubées à 37°C. Les résultats sont lus en mesurant le diamètre de l'anneau d'inhibition autour du puits après 24 heures d'incubation bactérienne, 48 heures d'incubation de levure et 36 heures d'incubation fongique (**Saadoun et Muhana, 2008 ; Gebreyohannes *et al.*, 2013**).

2.3. Extraction de la substance antimicrobienne (filtrat de culture)

Les substances antibactériennes sont extraites des filtrats de culture à l'aide de divers solvants organiques. A cette fin, chaque souche d'actinomycète est inoculée dans deux flacons Erlenmeyer de 500 ml contenant chacun 100 ml de milieu AF liquide (pH = 7,2 ; agité à 250 tr/min. Incuber à 28±2°C. Après avoir optimisé la production d'antibiotiques, divisez le filtrat en 4 aliquotes de 50 ml chacune et mélangez ces filtrats avec des volumes égaux de chacun des quatre solvants sélectionnés : le n-hexane, le dichlorométhane, le n-butanol et l'acétate d'éthyle : mélanger pour obtenir une solution aqueuse et phases organiques dans une ampoule à décanter (V/V). Afin de déterminer quel solvant extrayait le mieux les antibiotiques (quantités importantes), les phases organique et aqueuse sont récupérées puis déshydratées sur papier filtre (Whatman n° 1) Contient du sulfate de sodium anhydre (entonnoir + papier filtre + 2 g de sulfate de sodium) pour éliminer les traces d'eau résiduelles et les éventuels contaminants hydrophiles présents. Les extraits des différentes phases organiques et aqueuses sont concentrés à sec sous vide (40°C) à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis dissous dans 1 ml de méthanol. Les

extraits sont testés pour l'activité à l'aide des puits de 06 mm de diamètre ou de disques de papier (antibiographie) (Harir *et al.*, 2018).

2.4. Choix du solvant d'extraction optimal

Afin de sélectionner le meilleur solvant pour l'extraction des substances antimicrobiennes, l'extrait obtenu à partir du filtrat de culture est testé contre un microorganisme cible sélectionné : *Staphylococcus aureus*(MRSA) ATCC 33591. Lire les résultats après 24 heures d'incubation à 28±2°C. Il s'agit de déterminer le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque. Le solvant qui a fourni le diamètre d'inhibition le plus élevé est considéré comme le meilleur solvant d'extraction (Aouiche *et al.*, 2015).

3. Révélation microbiologique de la substance antimicrobienne « bio-autographie»

Une méthode de mise en œuvre de la bioautographie (Betina, 1973). C'est la révélation microbiologique du chromatogramme. Elle consiste à la détection et la localisation de sites actifs indépendants présents dans l'extrait en déterminant leur nombre et leur RF (Rapport frontal). Chaque plaque est ensuite placée horizontalement (tout en étant maintenue élevée avec une baguette de verre) dans une boîte en polyéthylène (22 x 24 cm) dont l'atmosphère est humidifiée avec du papier de Joseph imbibé d'eau distillée stérile. Le dispositif est stérilisé sous lumière UV à 254 nm pendant 45 min. Simultanément, incubé 50 ml de milieu ISP2 surfondu (à un taux de 7 g/l d'agar) à 45°C avec la suspension de micro-organismes cibles (10^8 /ml). A l'aide d'une pipette stérile, répartir le milieuensemencé sous forme d'un film uniforme sur la plaque de silice. Une fois l'agar solidifié, ajouté 2 à 3 gouttes d'eau distillée stérile au fond de la boîte de Pétri et au papier pour aider à maintenir une atmosphère humide, ce qui retarde le séchage de la gélose pendant l'incubation. Placer la boîte de Pétri à 4°C pendant 2 h pour empêcher la croissance de micro-organismes cibles tout en permettant au composé de diffuser de la plaque de silice dans l'agar. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C. La lecture se fait après 24 heures. Observer la zone d'inhibition du site actif, et calculer le RF de l'antibiotique selon la formule suivante : $RF = \text{Distance de migration entre dépôt et sites actifs} / \text{Distance de migration entre dépôt et front de solvant}$.

4. Séparation de l'extrait brut sur chromatographie couche mince (CCM).

Nous utilisons des plaques de silice Kiesel gel HF254-366 et des cuvettes de chromatographie ascendante. À l'aide d'une micro seringue, déposer un volume de 25 µl de chaque extrait organique en un point sur la plaque. La plaque est séchée à l'aide d'un séchoir et placée dans une cuve de chromatographie dont l'atmosphère a été pré-saturée en solvant.

Systeme de solvant utilisé :

-Acétate d'éthyle-méthanol (AM) (100-15, v/v) (**Badji et al., 2005**)

-Dichlorométhane-méthanol (96-4, v/v) (**Andriambololona, 2010**)

L'atmosphère de la cuve chromatographique contient 100 ml du système solvant. Après développement, lorsque le front de solvant s'est déplacé à une distance d'environ 17 cm du dépôt de l'échantillon, la plaque est retirée de la cuve et laissée sécher à température ambiante. Le chromatogramme a ensuite été observé visuellement et sous lumière UV des taches localisées montrant une absorbance à 254 nm ou une fluorescence à 365 nm. L'extrait brut est séparé par chromatographie sur couche mince (CCM).

4.1. La semi-purification des fractions séparées par CCM :

L'extrait brut est semi-purifié par chromatographie sur couche mince de silice pour obtenir un nombre suffisant de fractions isolées pour pouvoir déterminer lesquelles d'entre elles sont biologiquement actives.

Déposer des volumes de 250 à 600 µl de chaque extrait concentré en fines bandes continues sur des plaques de gel de silice. Celles-ci sont ensuite développées dans les éluants préalablement sélectionnés pour localiser avec précision les taches correspondant aux différents composants séparés.

Une fois la migration terminée, la silice présentant des taches est récupérée en découpant la feuille en bandes à chaque endroit et en les introduisant individuellement dans des tubes à essai secs contenant chacun 2 ml de méthanol (**Boucheffa, 2011 ; Tighidet, 2011**), une fois la silice complètement absorbée dissous dans du méthanol sous agitation continue à température ambiante pendant 30 min. La silice est ensuite éliminée par filtration (**Lamari, 2006**). Les filtrats méthanoliques limpides sont recueillis et leur activité est contrôlée (**Pazhanimurugan et al., 2010**).

4.2. Contrôle de l'activité de chaque composant séparé :

Après l'extraction et la semi-purification des fractions séparées, il est indispensable de tester l'activité inhibitrice de celles-ci, par la méthode des puits sur gélose PDA ensemencé par écouvillonnage selon la méthode CLSI à partir d'une suspension fongique préparée à partir d'une culture pure du germe cible le plus sensible (Lamari, 2006 ; Tighidet, 2011).

Chaque puits recevra le volume de 20 µl de chaque fraction séparée par chromatographie précédemment, l'existence d'un puits témoin contenant le même volume de méthanol est indispensable afin de démontrer si ce dernier a une activité inhibitrice vis-à-vis de la souche cible testée.

Les boîtes sont ensuite déposées à une température de 4°C pendant 2h pour permettre une bonne diffusion des substances dans la gélose. L'incubation se fait ensuite à 25°C pendant 48h, les diamètres des zones d'inhibition autour des puits sont mesurés en mm.

5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) du métabolite

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait d'acétate d'éthyle brut a été réalisée par la méthode de microdilution en utilisant le bouillon liquide, Mueller –Hinton, 40 mg de l'extrait brut est mélangé avec 150 µl d'eau distillée stérile et 50 µl de DMSO stérile, puis homogénéisés chaque puits pour une distribution uniforme des composés. Chaque puits des microplaques 96 stériles contenait 185 µl de bouillon MH stérile, 10 µl des composés et 5 µl de suspensions microbiennes pathogènes issues de culture jeune (10^5 UFC/ml), avec l'eau et le DMSO comme contrôle négatif et l'antibiotique standard streptomycine comme contrôle positif, les microplaques sont recouvertes d'une feuille d'aluminium stérile et maintenues sous agitation dans l'incubateur à 37°C pendant 17 h. Après l'incubation, à partir de chaque puits, 5 µl des cellules sont déposées sur le milieu de gélose MH contenant 2,2 % de gélose et placées dans l'incubateur pour l'observation de la croissance visible. Une méthodologie similaire est suivie pour le contrôle positif, négatif et antibiotique. La CMI est indiquée par le puits qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible à l'œil nu. La CMI est confirmée après trois d'expériences (Al-Dhabi *et al.*, 2019)

6. Identification des composés bioactifs par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC/MS) :

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC)-spectrométrie de masse (MS) est réalisée sur un GC 720A/5977E MSD (Agilent, USA) équipé d'une colonne capillaire en silice fondue HP-5 (30 m × 0,25 mm ID, épaisseur du film 0,25 µm) (Agilent, USA). Le mode

d'injection est Split (rapport de division de 1 : 100). Le débit de gaz vecteur (Hélium) est fixé à 1,0 ml/ min. le volume de l'échantillon injecté est (1 ul) évaporé dans un injecteur fractionné à 250 °C. La température du four de la colonne est maintenue à 40 °C pendant 2 minutes, puis modifiée à 10-250 °C/min, qui est maintenue pendant une minute, et à 5-280 °C/min, qui est maintenue pendant 8 minutes. Entre m/z 40 et 450 obtenu les spectres d'impact électronique dans la méthode d'ionisation positive sont acquis (**Majhool et al.2021**). Mesures de la surface de pic et du temps de rétention, ainsi qu'une comparaison avec la bibliothèque NIST 14 (**Passari et al.2018**) sont employées pour déterminer la composition chimique de l'extrait.

VI. Caractérisation des isolats

1. Etude des caractères morphologiques

1.1. Aspect microscopique

Observation des mycéliums et des spores, réalisée au microscope optique après coloration de Gram (Gx100).

1.2. Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique et les caractères cultureux sont déterminés sur différents milieux de cultures, ces études morphologiques macroscopiques consistent à déterminer la couleur du mycélium aérien (MA) et du mycélium substrat (MS), à évaluer la croissance des souches d'actinomycètes et à observer la production ou l'absence de pigments diffusibles (sauf les mélanoides) dans la gélose. Ces caractéristiques se révèlent après 7 à 14 jours d'incubation à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ sur les milieux ISP2, ISP3, ISP4, ISP5 recommandés par (**Shirling et Gottlieb, 1966**) et sur le milieu de Bennett (**Waksman, 1961**). La production de pigment mélanique par les isolats est observée après 4 à 6 jours d'incubation.

1.3. Production de pigments mélanoides

La démonstration de la production de mélanine (pigment brun diffusible) a été réalisée sur des milieux gélosés ISP7 et MPPM. Les isolats bactériens sont ensemencés en bandes serrées sur ce milieu dans des boîtes de pétri et incubés à $28^\circ \pm 2^\circ\text{C}$, évaluer la production de mélanine après 04 à 6 jours d'incubation. La pigmentation des milieux inoculés a été comparée à celle de milieux non inoculés incubés dans les mêmes conditions (**Shirling et Gottlieb, 1966 ; Margalith, 1992**). La composition des milieux de culture utilisés sont présentées en Annexe I. Tous les tests sont effectués en double

2. Etudes des caractères biochimiques

2.1. Hydrolyse de l'amidon

La gélose nutritive, additionnée de 1 % (P/V) d'amidon soluble, permet de mettre en évidence la dégradation de ce polyholoside par les isolats bactériens ensemencés sur ce milieu en boîte de Pétri, après 14 jours d'incubation à $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Cette culture est ensuite recouverte d'une solution de lugol. L'hydrolyse de l'amidon est mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies. Les zones contenant de l'amidon se colorent en brun (**Geraldine et al., 1981**).

2.2. Hydrolyse de la caséine

Certaines espèces bactériennes sont capables d'hydrolyser la caséine, protéine de lait. Chaque isolat bactérien testé est ensemencé sur gélose nutritive en boîte de Pétri additionnée de 2 à 5% de lait écrémé stérile. Après 7 jours d'incubation à $28 \pm 2^\circ\text{C}$. L'observation des zones claires autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la caséine (Caséinase +) (**Staneck et Roberts, 1974 ; Geraldine et al., 1981**).

2.3. Hydrolyse de la gélatine (Test gélatinase)

Il existe plusieurs méthodes pour tester la gélatinase, y compris la méthode lente sur milieu gélosé nutritif contenant 0,4 % (P/V) de gélatine. Chaque isolat bactérien est ensemencé sur ce milieu en boîte de Pétri et incubé à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 7 à 14 jours. Les zones non dégradées de la gélatine sont devenues opaques lorsqu'une solution de chlorure mercurique est ajoutée (**Geraldine et al., 1981**).

2.4. Dégradation de l'urée

Utiliser un bouillon urée-indole pour démontrer la présence d'uréase, après culture et incubation à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ces milieux deviendront rouges si l'urée est dégradée (**Guiraud, 1998**).

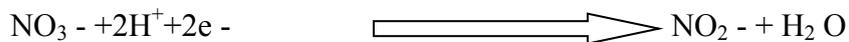
2.5. Action sur le lait écrémé

Ensemencer des tubes contenant 10 % de lait écrémé en poudre dans l'eau physiologique et incubé les cultures à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ (**Williams et Cross, 1971**). Des observations périodiques pendant 14 jours ont permis d'enregistrer la coagulation et/ou la peptonisation (digestion totale) du lait provoqué par la souche.

2.6. Recherche sur le nitrate réductase

Certaines bactéries sont capables de réduire le nitrate en nitrite et parfois en diazote (N_2). La production de nitrate réductase est démontrée dans un bouillon de nitrate. Ensemencer l'isolat d'actinomycètes dans deux tubes contenant chacun 05 ml de milieu et incubé à $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

Après 5 et 10 jours d'incubation, des lectures sont réalisées en ajoutant quelques gouttes (0,2 ml) de réactif Griess I puis Griess II. L'apparition immédiate d'une couleur rouge clair indique que la bactérie possède le nitrate réductase, qui catalyse les réactions suivantes :



Après la caractérisation physiologique des isolats d'actinomycètes qui ont montré une activité antibactérienne, nous avons effectué d'autres tests physiologiques. Dans la nature ou en culture, les bactéries trouvent dans leur environnement les nutriments nécessaires à leur croissance. De plus, ils nécessitent parfois des éléments ou des facteurs de croissance spécifiques (bases puriques et pyrimidiques, acides aminés, vitamines, etc.). Tous ces besoins fondamentaux et particuliers des bactéries doivent être satisfaits dans certaines conditions physico-chimiques (T°, pH, pression osmotique, etc.). De plus, ces conditions environnementales peuvent être utilisées pour établir des conditions de culture bactérienne (**Guérin, 1992**).

2.7. Recherche de la production d'indole

Ensemencer 4,5 ml d'eau physiologique contenant 4 gouttes d'urée-indole, et incuber à 30±1°C pendant 48 heures avant la lecture. Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif Kovacs à 1 ml de culture, la formation d'un anneau rouge vermillon à la surface est une réaction positive (**Marchal and Bourdon, 1991**).

2.8. Recherche de l'enzyme catalase

La dégradation de d'H₂O₂ est démontrée en exposant la culture à 10 volumes de solution fraîche d'H₂O₂. Un dégagement de grandes quantités de gaz sous forme de mousse ou de bulles indiquant la décomposition de l'oxygène (**Delarras, 2007**).

2.9. Etude de la mobilité et de la dégradation du mannitol

Ce test permet d'étudier la mobilité bactérienne et la fermentation du mannitol. Il est réalisé dans des tubes contenant un milieu semi-solide. Le milieu est ensemencé par piqure au centre, et après 7 à 14 jours d'incubation à 30°C, la fermentation du mannitol est indiquée par la coloration jaune du milieu. Les bactéries immobiles se développent le long de la piqure, tandis que les bactéries mobiles se développent dans tout le milieu (**Gerhardt et al., 1981**).

2.10. L'utilisation des différents substrats carbonés/Production de H₂S

Dans ce test, des tubes contenant du milieu TSI sont inoculés avec de la gélose au glucose, du lactose, du saccharose et de la gélose au H₂S ; ces tubes sont ensuite incubés à 30°C pendant 7 à 14 jours (**Marchal et Bourdon, 1991**), les résultats sont comme suit :

- Dégradation du lactose et/ou du saccharose : la pente vire au jaune.
- Dégradation du glucose : création d'un culot jaune.
- Production de H₂S : noircissement du milieu reliant la zone de pente.

2.11. L'utilisation de citrate comme seule source de carbone

Ce test peut déterminer la capacité de la souche à utiliser le citrate comme seule source de carbone, des pentes de milieu citrate de Simmons sont inoculées par la souche en strie longitudinales. L'incubation est réalisée à 30°C. Observer la croissance pendant 07 jours (Wauters et *al.*, 2005).

3. Des caractères physiologiques

3.1. Croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium

La plupart des bactéries, à l'exception de celles qui vivent dans des habitats salins, se développent à de faibles concentrations de sel. Du milieu de Bennett liquide contenant des concentrations croissantes de NaCl (3%, 5%, 7% et 10%) (P/V) est inoculé avec des spores extraites de cultures de 14 jours des isolats d'actinomycètes à identifier. Incuber pendant 14 jours à 28±2°C, puis noter la croissance (faible, moyenne, bonne et très bonne). La tolérance maximale au NaCl correspond à la dernière concentration présentant encore une croissance (Shirling et Gottlieb, 1966).

3.2. Croissance à différents pH

En général, les bactéries se développent bien dans les milieux neutres ou légèrement alcalins (pH 7 à 7,5) et ne supportent pas les pH acides sauf exception. Leur pH optimal de croissance se situe généralement entre 6,5 et 7,5. Beaucoup d'entre eux tolèrent des changements de pH importants. Le test consiste à évaluer la croissance de la souche dans du milieu liquide de Bennet à différentes valeurs de pH. La croissance des souches d'actinomycètes est testée à 28 ± 2°C pendant 24 heures à 48 heures dans la gamme de pH (3, 5, 7, 9 et 11) (Meklat, 2012).

3.3. Croissance à différentes températures

Chaque type de bactérie a une température de croissance optimale, ainsi que des températures extrêmes en dessous et au-dessus desquelles elle ne se développe pas. Le test consiste à évaluer la croissance de la souche sur milieu ISP2 à différentes températures. La croissance des souches d'actinomycètes est testée pendant 7 jours à différentes températures (5, 25, 30, 40 et 50 °C) (Meklat, 2012).

4. Caractérisation moléculaire

4.1. Extraction de l'ADN génomique, amplification, purification et séquençage du gène de l'ARNr 16S

L'extraction de l'ADN génomique est effectuée à l'aide d'un kit d'extraction d'ADN (Stratec Molecular, Invisorb Spin Plant, Mini Kit, Berlin, Allemagne). L'électrophorèse sur gel d'agarose est utilisée pour confirmer que le processus d'extraction de l'ADN était efficace (0,8 % de gel d'agarose, 70 V, 400 mA, 40 min).

L'amplification par PCR est réalisée en utilisant le jeu d'amorces du gène de l'ARNr 16S (27F : 5' - AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG - 3' et 1492R 5'- CCG TCA ATT CCT TTG AGT TT- 3' (Edwards *et al.*, 1989) .Le mélange de réaction PCR contenait 50 µl de master mix (1,25 U Hot Start Taq DNA Polymerase (Solis Biodyne, Estonie), 25-50ng/µl de matrice d'ADN, 0,3 µMµl de chaque amorce, 1,5 µM MgCl₂ Chlorure de magnésium (Solis Biodyne, Estonie), et complété à 50 µl de volume de réaction avec de l'H₂O distillée. Les cycles de PCR se sont déroulés comme suit :

Dénaturation initiale à 94°C (12 minutes), dénaturation à 94°C (1 minute) et recuit à 55°C (1 minute), extension à 72°C (1 minute), l'amplification est répétée en 30 cycles suivis d'une extension finale à 72°C (7 minutes).La PCR est réalisée à l'aide d'un thermocycleur (iCycler Bio-Rad, USA).Dans ce travail, les concentrations d'ADN sont vérifiées à l'aide du spectrophotomètre Nano drop (Nano Drop TM 2000, USA).

Après la réaction PCR, le produit PCR est séparé sur un gel d'agarose à 1,5% (Sigma-Aldrich, USA). Une échelle d'ADN de cent paires de bases (100 pb) (SolisBiodyne, Estonie) est utilisée comme marqueur de poids moléculaire de l'ADN. L'électrophorèse est effectuée à 80 V pendant 1 h 30 min, et le gel est examiné sous lumière UV après coloration avec Midori Green Advance (Nippon Genetics, Japon) et inspecté avec un transilluminateur UV. Les produits PCR sont électrophorés et purifiés (Clean-Up kit, Vivantis) et envoyés à une agence de séquençage (Apical Scientific Sdn. Bhd.). Les séquences générées sont analysées à l'aide de BLASTn, qui est disponible sur le site Web du NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Analyse des séquences : Les produits PCR purifiés sont séquencés dans le sens direct et inverse dans des réactions séparées et en double. Chaque réaction contenait 40µg d'ADN matrice, 2µl de l'amorce PCR appropriée, 10µl d'eau et 2µl de mélange de réaction prêt Big Dye Terminator v3.1 (Applied Biosystems). Chaque réaction est chauffée à 96 °C pendant 1

min, suivie de 25 cycles à 96 °C pendant 10 s, 50 °C pendant 5 s et 60 °C pendant 4 s. Les produits de séquençage sont purifiés à l'aide d'une méthode de précipitation à l'éthanol pour éliminer les réactifs non incorporés et garantir une charge neutre. Brièvement, les produits de séquençage sont lavés dans 80µl de mélange de précipitation à l'éthanol (3µl de NaAc, 62,5µl d'éthanol à 95 % et 14,5µl d'eau) et l'ADN est culotté par centrifugation (13 000t pendant 15 min). Le culot est à nouveau lavé dans 200µl d'éthanol à 75 % et centrifugé (13 000t pendant 5 min). L'ADN culotté est séché à l'air et réhydraté dans 15 µl de formamide, puis chargé sur un 3130 Genetic Analyzer Capillary Array pour la détection (Applied Biosystems). Deux séquences avant et deux séquences arrière pour chaque échantillon sont alignées à l'aide de Bionumerics v3.5 (Applied Maths) pour obtenir une séquence composite. La qualité de chaque trace de séquence est évaluée visuellement, et la séquence de mauvaise qualité est éditée et supprimée. Les organismes de chaque essai sont identifiés en comparant les séquences consensus à une base de données.

Arbre phylogénétique : Les séquences sont comparées et la recherche d'homologie est effectuée en utilisant NCBI BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) et le programme BLASTN. Les séquences correspondantes à des espèces similaires sont extraites de GenBank et utilisées pour les analyses phylogénétiques. Pour construire l'arbre phylogénétique, la méthode de Neighbor-Joining est utilisée avec le logiciel MEGA version 5.0 (Tamura et al., 2011). Le programme est précédé par une série d'alignement de séquences avec le logiciel BioEdit, version 7.0 (Hall, 1999).

Chapitre III

Résultats et Discussion

Chapitre III : résultats et discussion

I. Caractéristiques des échantillons et isolement des actinobactéries

1. pH des échantillons

La mesure du pH est réalisée sur une suspension de terre fine selon la méthode de (**Pochon et Tradieux ,1962**) en maintenant constant le rapport liquide/poids de terre. Tous les échantillons analysés proviennent de zones arides et semi-arides, et se caractérisent par un pH alcalin. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 10**.

Tableau 10 : résultats de l'isolement de souche d'actinomycètes

Echantillon	Site de prélèvement	Description	pH
E1	Ain Safra	Sol Sableux fine dorée	9.17
E2	Bougtob	Sol sableux rouge	9.60
E3	Tamanrasset(Oued)	Sol sableux, Marron Foncé	9.73
E4	Tamanrasset(Cité)	Sol sableux, Marron Foncé	10.01
E5	Tamanrasset (Rhizosphère d'acacia)	Sol sableux, brun foncé	8.99

2. Résultats d'isolement des actinobactéries des sols arides et semi arides

Au bout de 7 jours d'incubation à 28°C, sur des milieux d'isolement (ISP2 et GYM) additionnés de rifampicine et d'actidione (**Annexe I**), des colonies isolées d'actinomycètes mycéliens sont apparues sèches, rugueuses, colorées ou non, colonies allant de 1 à 10 mm, souvent compactes et bien incrustées dans la gélose, et la présence souvent de mycélium aérien et mycélium végétatif (**Figure 19**). Les colonies d'actinomycètes obtenus sont purifiés par repiquage successifs sur milieu ISP2 ou GYM incubées à 28°C pendant 14 jours.

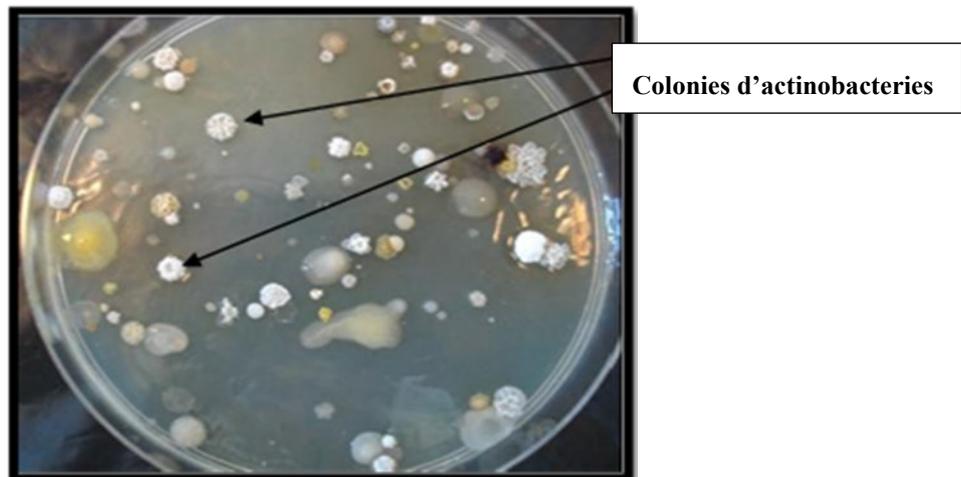


Figure 19. Boîtes de Pétri représentant un isolement d'actinobactéries à partir d'un échantillon de sol (dilution 10^{-4}).

La difficulté lors de l'isolement des actinomycètes réside dans la croissance envahissante des bactéries Gram positive, telles que les bactéries du genre *Bacillus*, qui forment des plages, rendant ainsi l'observation et la purification difficiles. L'ajout d'antibiotiques ciblant les bactéries à coloration de Gram positive permet de réduire considérablement leur nombre. Cependant, ces antibiotiques peuvent également avoir des effets sur les actinomycètes, qui appartiennent également au même groupe (**Kitouni, 2007**).

Les résultats ont clairement montré que le meilleur milieu d'isolement des actinomycètes à partir des échantillons de sols arides et semi-arides analysés était le milieu GYM. Les isolats obtenus ont ensuite été purifiés puis conservés sur gélose inclinée à 4°C et repiqués tous les deux mois (**Hilali et al., 2002**), ou conservés à -20°C dans 20% de glycérol (v/v) en suspension (**Kitouni, 2007**). Le **Tableau 11** liste les résultats des actinomycètes isolés à partir de 05 prélèvements et leurs caractéristiques de culture.

Tableau 11. Aspect macroscopique des isolats d'actinobactéries isolés à partir des échantillons du sol

Code de l'échantillon	Isolats d'actinobactéries	Diamètre des colonies (mm)	Couleur de mycélium aérien	Aspect des colonies
Ech 1 (Ain Safra)	A ₁ - A ₂₉	(1-10)	Blanc cassé, gris clair, marron clair, Blanc.	Colonies de différentes tailles, cotoneuse, avec des contours irréguliers adhérents entre eux, formation de gouttelettes d'eau sur les colonies présence de mycélium de substrat et de mycélium aérien, production des pigments diffusibles dans le milieu gélosé
Ech2 (Bougtob)Wilaya d'El bayadh	B ₁ ,B ₂ ,B ₃ B ₄ , B ₅ ,B ₆ ,B ₇ , B ₈ , B ₉ ,B ₁₀ ,B ₁₁ ,B ₁₂ ,B ₁₃ ,B ₁₄ ,B ₁₅ ,B ₁₆ B ₁₇ , B ₁₈	(2-8)	Blanc, gris Claire, Blanc Cassé, Crème	Colonies moyennes, sous forme de chou-fleur, farineuses, poudreuses avec un contour arrondi, adhérent dans la gélose, présence de mycélium de substrat et de mycélium aérien, production des pigments mélanoides.
Ech 3 (la Cité de Tamanrasset)	TC ₁ , TC ₂ , TC ₃ TC ₄ , TC ₅ , TC ₆ ,	(1-5)	Gris foncé , Gris Claire	Colonies de différentes tailles, farineuses, aplatées avec des contours réguliers, présence de mycélium de substrat et de mycélium aérien. Présence

				de pigments.
Ech 4 (l'Oued de Tamanrasset)	TO ₁ , TO ₂ , TO ₃ , TO ₄ , TO ₅ , TO ₆ , TO ₇ , TO ₈ , TO ₉ , TO ₁₀	(2-4)	Gris Claire	Colonies de petite taille avec un contour arrondi, aplatis, poudreuses, présence de mycélium de substrat et de mycélium aérien. Production de mélanine.
Ech 5 (Rhizosphère d'Acacia de Tamanrasset)	TR ₁ , TR ₂ , TR ₃ , TR ₄ , TR ₅ , TR ₆ , TR ₇ , TR ₈ , TR ₉ , TR ₁₀ , TR ₁₁ , TR ₁₂ , TR ₁₃ , TR ₁₄ , TR ₁₅ , TR ₁₆ .	(2-6)	Gris foncé.	colonies grises foncées, avec taille moyenne adhérent entre elles, poudreuses. Présence de mycélium de substrat et de mycélium aérien. Présence de Pigments.

Un total de 90 isolats a été obtenu à partir des différents échantillons de sol analysés. Parmi ceux-ci, 31 isolats ont été obtenus à partir d'échantillons prélevés dans la région d'Ain Safra, 20 isolats dans la région de Bougtob (Wilaya à El Bayadh), et 19 isolats à partir de la rhizosphère de l'acacia de Tamanrasset. De plus, 8 isolats ont été obtenus à partir du sol de la cité de Tamanrasset et 12 isolats à partir du sol de l'oued Tamanrasset.

Les résultats montrent que le nombre d'actinobactéries isolées de la région semi-aride d'Ain Safra et Bougtob est nettement supérieur. En revanche, le nombre d'isolats obtenus à partir d'autres sols arides était relativement faible. Cette disparité peut s'expliquer par la richesse en matière organique de ces régions par rapport au sol de la région aride de Tamanrasset. Des études antérieures (**Lee et Wang, 2002**) rapportent que le nombre d'actinobactéries est positivement influencé par le taux de matière organique, indépendamment du taux de salinité du sol.

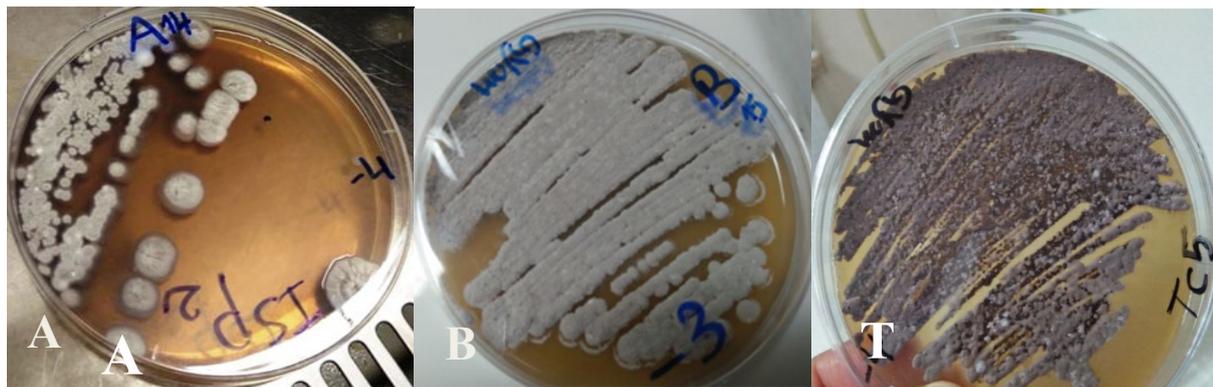


Figure 20 : Caractéristiques morphologiques et culturales sur milieu ISP2 et GYM des isolats d'actinobactéries obtenus de différents échantillons de sols. Colonies A : de la région de Ain Safra ; B : de la région de Bougtob ; T : de la région de cité de Tamanrasset.

Les milieux GYM, ISP₂ ont été utilisés pour l'isolement sélectif des actinomycètes avec une incubation dans une atmosphère saturée d'humidité à 28⁰ C±2, PH=7±0,2. Le milieu ISP₂ peut être utilisé efficacement comme milieu d'isolement des actinomycètes. De plus, ce milieu a été utilisé pour isoler certaines nouvelles espèces, notamment *Amycolatopsis xuchangensis* et *Amycolatopsis jiguanensis* (Passari et al., 2018). On a constaté que le milieu GYM a permis d'isoler un nombre relativement important de colonies par rapport au second milieu de culture ISP₂. Cette propriété s'explique par le fait que ce milieu est riche en substrats carbonés (glucose) et azotés (extrait de levure et peptone). Ces deux éléments semblent stimuler la croissance des actinomycètes, facilitant ainsi leur isolement. Autrement, l'isolement des actinomycètes dépend non seulement du milieu utilisé, mais aussi d'autres facteurs abiotiques comme la température optimale pour l'incubation des actinomycètes qui est de 28 à 30°C. Ce paramètre permet une meilleure croissance des actinomycètes. La période d'incubation est également importante, car la synthèse des métabolites secondaires par les actinomycètes suit une phase de croissance active de 7 jours. Par conséquent, nous recommandons de prolonger cette période jusqu'à 14 jours pour permettre aux actinomycètes de synthétiser les métabolites secondaires (Song et al., 2015), le facteur de dilution (Pathom-aree et al., 2006), et le séchage des échantillons à l'air libre qui pourrait être une étape critique pour l'isolement sélectif des actinomycètes car il réduit la flore indésirable (Rashad et al., 2015). De plus, la saturation de l'atmosphère d'incubation est importante pour l'isolement des actinomycètes (El-Nakeeb et Lechevalier, 1963).

Les trois principaux facteurs écologiques qui influencent la diversité des actinomycètes dans les sols sont le pH, la matière organique et la teneur en eau. D'autres facteurs tels que la température du sol, le type de sol, la végétation, selon (Antoun et al., 1978) les sols agricoles

sont pauvres en actinomycètes avec des pourcentages variant entre 5% et 12%, la situation géographique sont également importants (Adegboye *et al.*, 2012). D'autre part, l'ajout d'agents antifongiques et antibactériens contre les bactéries Gram-négatives au milieu augmente le nombre d'actinomycètes (Takizawa *et al.*, 1993). Le nombre d'isolat obtenu représente un taux d'isolement considérable. Bien que l'échantillonnage a été effectué en hiver (décembre et janvier), lorsque les températures du sol sont plus basse et malgré la colonisation du sol par des bactéries Gram-positives telles que les espèces de *Bacillus* rend difficile l'isolement des actinomycètes. L'ajoute d'antibiotiques anti-Gram-positif réduit significativement le nombre de ces bactéries, mais ces antibiotiques diminuer aussi le nombre des actinomycètes appartenant au même groupe Gram-positif (Kitouni, 2007).

Ce résultat peut s'expliquer par des études réalisées sur l'isolement des actinomycètes d'écosystèmes extrêmes, et l'utilisation d'environnements inexplorés comme sources de tels isollements est le moyen le plus efficace de découvrir des substances bioactives (Tan *et al.*, 2017). Les isolats d'actinobactéries sélectionnés pour leurs caractéristiques culturelles spécifiques notamment pour leur croissance rapide, ont été soumis à un dépistage de leur activité antimicrobienne sur gélose, contre 16 souches cibles. Les résultats présentés dans le **Tableau 12** démontrent que 79 isolats (soit 88 %) possèdent une activité antibactérienne et antifongique contre au moins l'une des souches cibles. Parmi ces isolats, on compte 29 souches provenant du sol d'Ain Safra, 18 de Bougtob (Wilaya à El Bayadh), 06 du sol de la cité de Tamanrasset, 10 du sol de l'oued Tamanrasset, ainsi que 16 isolats de la rhizosphère d'Acacia isolée de la région de Tamanrasset.

Tableau 12: Nombre de souches d'actinomycètes isolées à partir des échantillons du sol.

Code de l'échantillon	Origine	Nombre de souches d'actinomycètes isolés	Nombre d'actinomycètes à activité antimicrobienne
A	Ain Safra	31	29
B	Bougtob	20	18
TC	Tamanrasset(Cité)	8	6
TO	Tamanrasset(Oued)	12	10
TR	Tamanrasset (Rhizosphère d'acacia)	19	16
Total	/	90	79

II. Criblage de l'activité antimicrobienne des actinobactéries

1. Résultats de l'action antagoniste des isolats d'actinobactéries

1.1. Résultats de l'activité antibactérienne des isolats

Le criblage antimicrobien des isolats a révélé une activité antimicrobienne intéressante. Ces souches ont un certain potentiel inhibiteur, affectant un large spectre de bactéries ainsi que des champignons et des levures. Ce criblage avait comme objectif principal de sélectionner les souches douées d'activité antimicrobienne, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 07 et 40 mm (**Figure 21**).

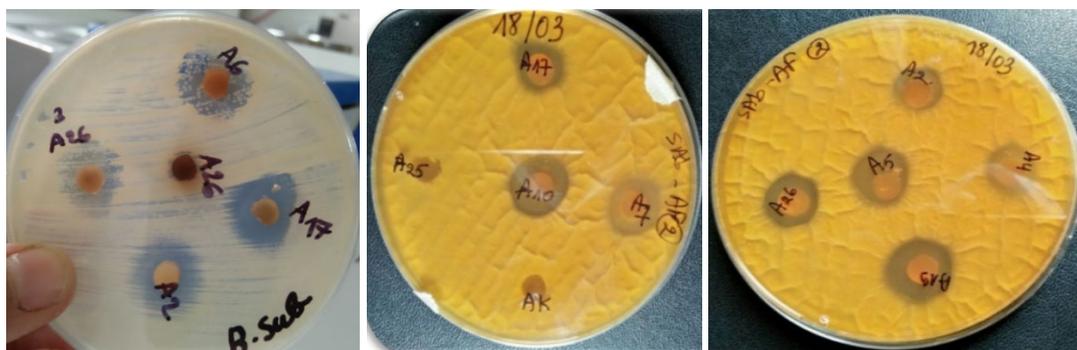


Figure 21. L'action antagoniste de différents isolats d'actinobactéries contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*.

Nous avons constaté que les souches d'actinomycètes codées A et B isolées de la région de Ain Sefra et de la région de Bougtob respectivement, avaient une activité antibactérienne remarquable contre les bactéries à Gram positive avec des diamètres des zones d'inhibition qui varient entre 08 et 18 mm, et une très faible activité contre *Escherichia coli* ATCC 25922 qui a été inhibé par une seule souche codée A11 avec une zone d'inhibition de 27 mm, par contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 a été inhibé par la majorité de ses isolats avec des zones d'inhibitions qui varient entre 10 et 30 mm. En revanche, les souches d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasset codées TR, TO, TC montrent une importante action antibactérienne, antilevurienne et antifongique vis-à-vis des micro-organismes testés. Et surtout vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus* ATCC 44300 et *Escherichia coli* ATCC 25922 avec des zones d'inhibition qui varient entre 12 à 40 mm alors que *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 a été inhibé seulement par les trois souches TR5, TR11, TR15 avec une zone d'inhibition de 40 mm pour chacune, une faible inhibition de la souche *Bacillus cereus* ATCC 11778 a été mentionné avec des zones d'inhibition qui varient entre 07 et 11mm de diamètre. Le reste des souches indicatrices testées se révèlent peu ou pas sensibles à l'antibiotique sécrété par les souches actives.

L'activité antibactérienne contre les bactéries Gram-positives peut être expliquée par la composition chimique de la membrane des bactéries Gram-positives qui est riche en peptidoglycane et dépourvu de la couche lipopolysaccharide (**LPS**) présente chez les bactéries Gram-négatives. Cette couche rend la membrane cellulaire imperméable aux substances lipophiles (**Kim et al., 1994**). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs qui ont suggéré que les bactéries Gram-positives sont plus sensibles aux sécrétions d'actinomycètes que les bactéries Gram-négatives (**Sabaou et al., 1998 ; Prescott et al., 2002**).

Cette hypothèse peut nous guider et nous permettre de comprendre les propriétés de ces substances antimicrobiennes. L'absence d'activité antibactérienne de certains isolats d'actinomycètes contre les bactéries testées peut être due au développement d'une résistance à ces substances antimicrobiennes. En effet, la résistance bactérienne aux antibiotiques actinomycètes peut être attribuée soit à une inactivation enzymatique de ces antibiotiques, soit à une réduction de la perméabilité membranaire bactérienne (**Lobel et al., 2007**).

Parmi les isolats d'actinobactéries testés, l'activité antagoniste la plus importante est présentée par les isolats A2, A9, A11, A14, A17, B4, B6, B16, TR10, TO2 et TC5. Ces isolats possèdent un pouvoir antagoniste vis-à-vis de la majorité des souches testées. Les autres isolats se sont révélés peu efficaces (**Figure 22, 23, 24, 25 ,26**).

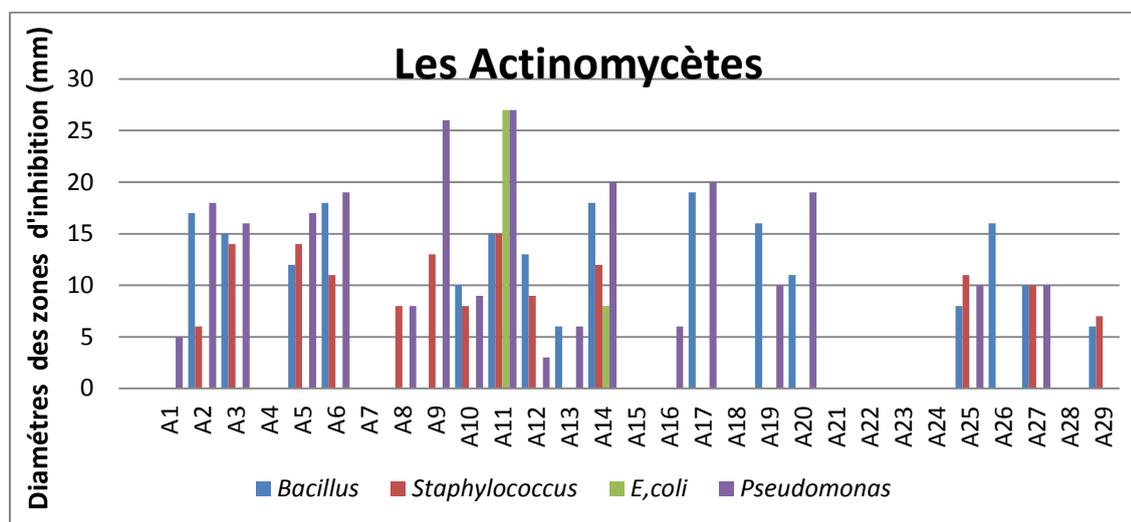


Figure 22. L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Ain Safra contre les bactéries indicatrices.

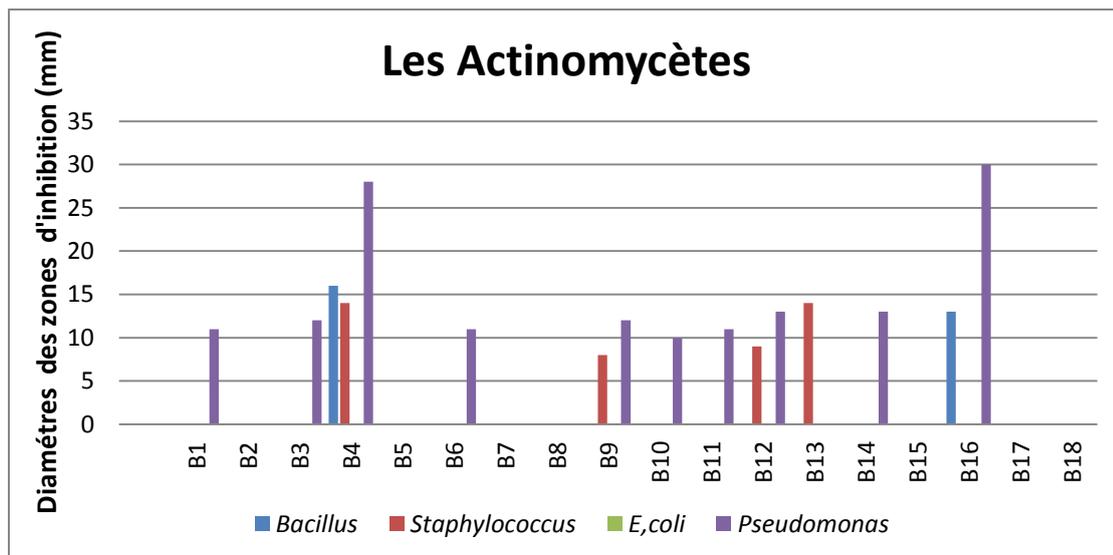


Figure 23. L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolés de la région de Bougtob contre les bactéries indicatrices.

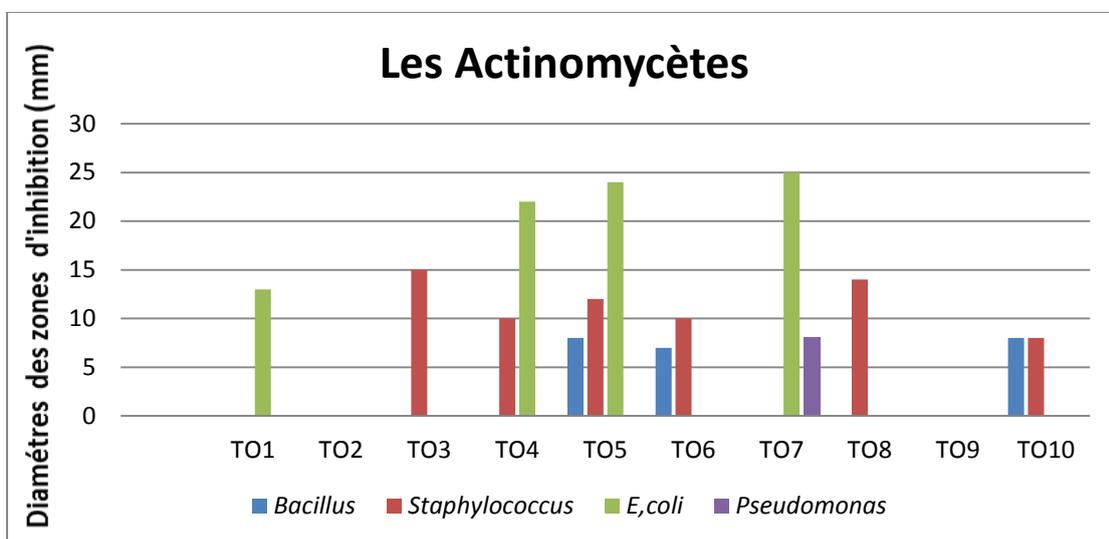


Figure 24. L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasat (Oued) contre les bactéries indicatrices

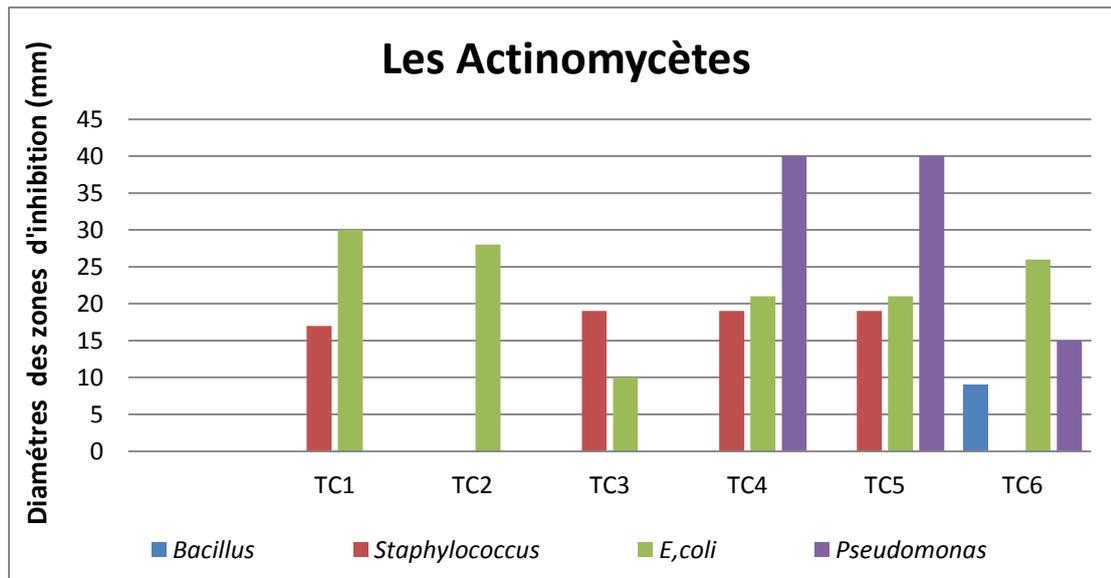


Figure 25. L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasset (Cité) contre les bactéries indicatrices .

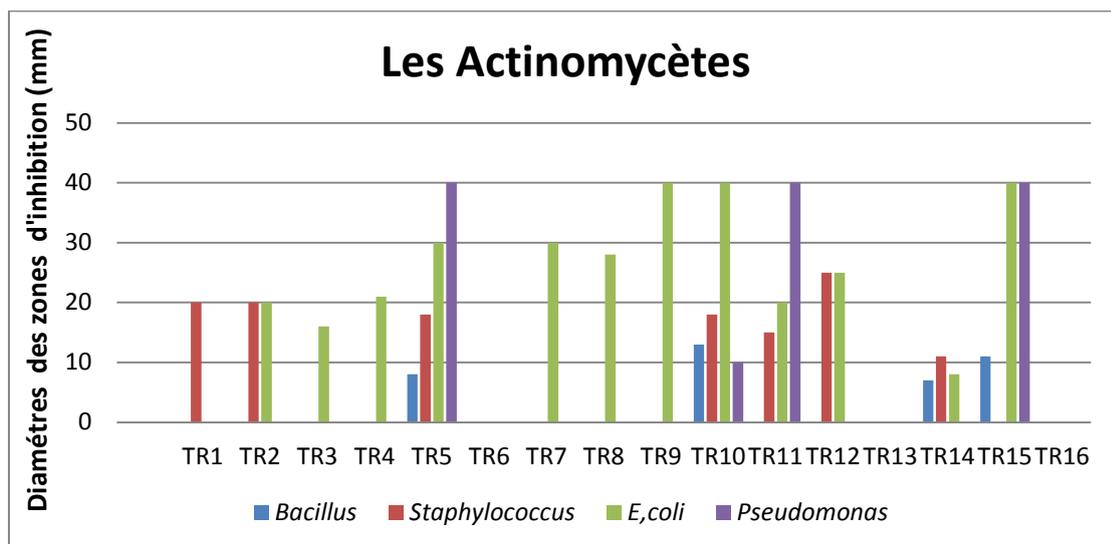


Figure 26. L'activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasset (Rhizosphère d'acacia) contre les bactéries indicatrices.

1.2. Résultats de l'activité antifongique des isolats :

Actuellement, les antifongiques de nature polyénique utilisés dans la thérapie des infections fongiques et particulièrement des mycoses profondes ne réunissent pas les caractéristiques principales d'un antibiotique. C'est pourquoi de nouveaux antifongiques non toxique (non polyéniques) doivent être recherchés (Nafis *et al.*, 2017), ce qui limite leur utilisation du fait de leur toxicité, bien que c'est ;intéressants.

Nous avons noté que les souches d'actinomycètes testés ont montré une activité antifongique remarquable contre au moins 03 champignons phytopathogènes parmi les 04 avec un diamètre de zone d'inhibition qui varient entre 08 et 35 mm, on a remarqué aussi que *phytophthora infestans* est fortement inhibé par les souches actinomycétales A17, A9, B6, TO2 avec des zones d'inhibition de (35,33,33,25mm) respectivement (**Figure 27,28,29,30 et 31**) .

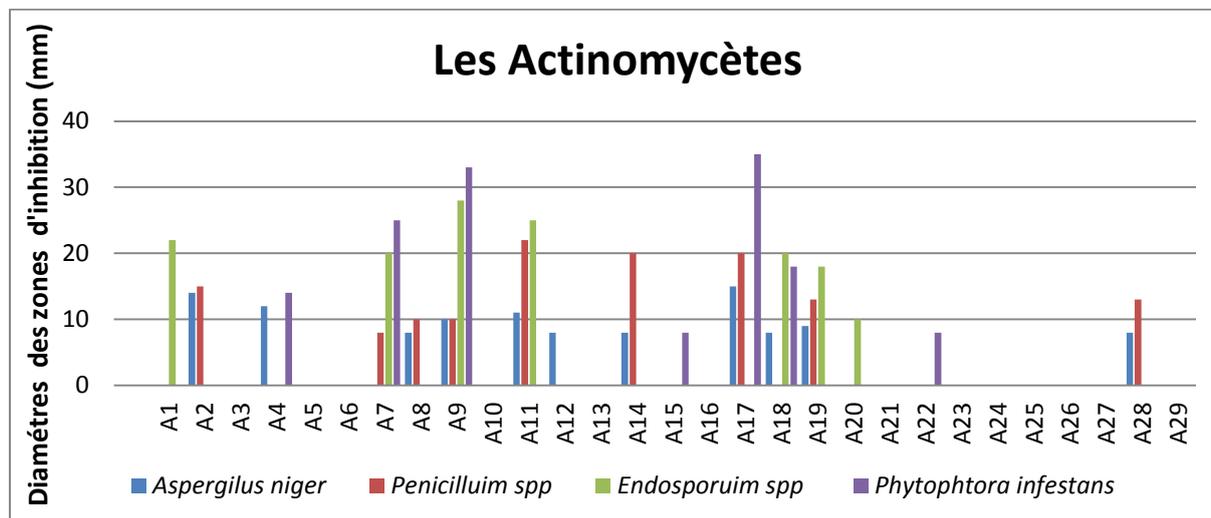


Figure 27. L'activité antifongiques des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Ain Safra contre les souches fongiques indicatrices.

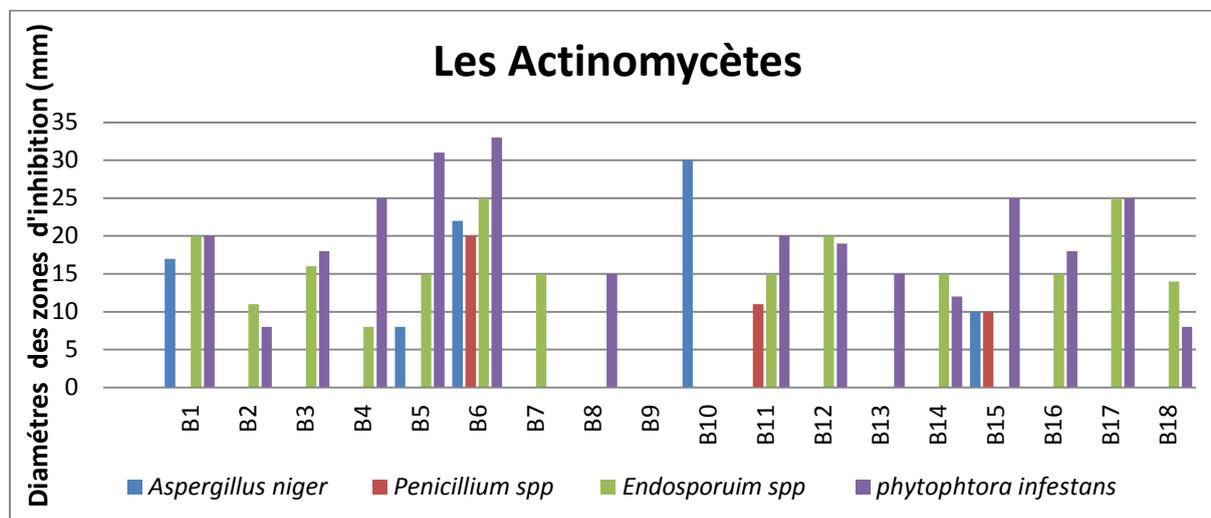


Figure 28. L'activité antifongique des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Bougtob contre les souches fongiques indicatrices.

Cette activité est très réponde chez les actinomycètes (**Dhanasekaran, 2009**). D'ailleurs, l'activité antifongique des actinobactéries a été déjà montré contre plusieurs champignons phytopathogènes tel que : *Verticillium dahliae* (**Entry et al., 2000 ; Harir et al., 2017**),

Phytophthora sp. (Xiao *et al.*, 2002) et *Fusarium oxysporum* (Getha et Vikineswary, 2002). *Aspergillus flavus*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochrasus*, *Penicillium expansum* (Belgacem *et al.*, 2023). Selon (Asselineau et Zalta, 1973), Certains champignons auraient la capacité de synthétiser des enzymes qui inactivent les antibiotiques d'actinomycètes en modifiant leur structure chimique et d'après (Jinhua *et al.*, 2010), le genre d'actinobactérie, *Streptomyces Malayasiensis* MJM1968 produit de l'Azalomycine, un composé antifongique qui réduit efficacement l'effet inhibiteur des champignons phytopathogènes : *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia- Solani* et *Alternaria mali*. Cette activité antibiotique peut être liée à la sécrétion de substances antifongiques (Badji *et al.*, 2005) ou bien à l'action mycolytique des isolats d'actinobactéries par la sécrétion d'enzymes lytiques représentées par les chitinases, qui dégradent la chitine présente sur la paroi des champignons (Mane et Deshmukh 2009).

Parmi les 79 isolats d'actinomycètes testées dans notre travail , 15 souches codées A6, TR14, TO2,TC4,A2,TR10,TR9,B4,TO3,TC6,TO3,TC2,TO9,TR13,TO4 présentent une activité anti-Candidosique avec un diamètre d'inhibition de (30,30,25,25,23,20,20,20,18,17,15,13,10,9 ,9) mm respectivement soit 19% . Cette activité prouvée par plusieurs études (Belyagoubi, 2014) qui a travaillé sur 38 isolats d'actinomycètes telluriques provenant de la couche superficielle de différents sols en Algérie, l'activité anti-Candidosique de ses souches contre *Candida albicans* et *Candida tropicalis* révèle des zones d'inhibition allant de 7 à 21 mm pour 10 souches parmi les 38 testés soit 26,3%. Notant que d'après les résultats des expériences réalisées par (Lemriss *et al.*, 2003) parmi les 110 actinomycètes d'origine clinique, 42 (soit 38%) sont actives contre *Candida albicans* avec des zones d'inhibition qui varient entre 03 et 52mm. De même (Slavica *et al.*, 2005) ont mentionné que des souches appartenant au genre *Streptomyces* montrent des zones d'inhibition entre 11 et 31mm vis-à-vis de *Candida albicans*.

En revanche, 81% de notre isolats étaient inactifs contre *Candida albicans* ceci serait dû soit au fait que les substances produites par ces souches d'actinomycètes ne sont pas fongicide soit à une éventuelle résistance des souches de levures testées vis à vis des substances produites par les actinomycètes même si ces substances sont fongicides. Les résultats sont mentionnés dans (Annexe 2).

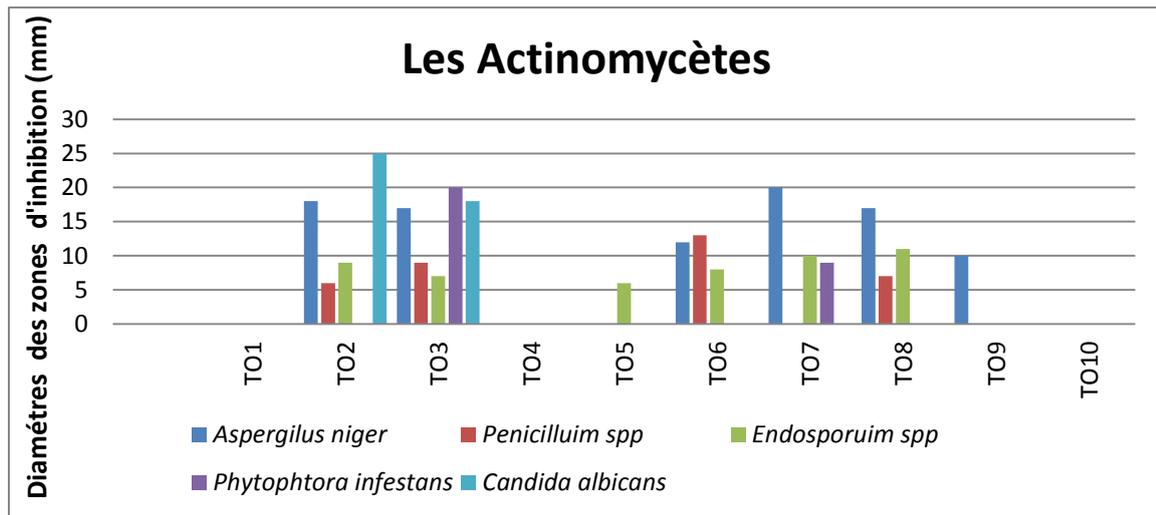


Figure 29. L'activité antifongique des isolats d'actinomycètes isolés de la région de Tamanrasset (Oued) contre les souches fongiques indicatrices.

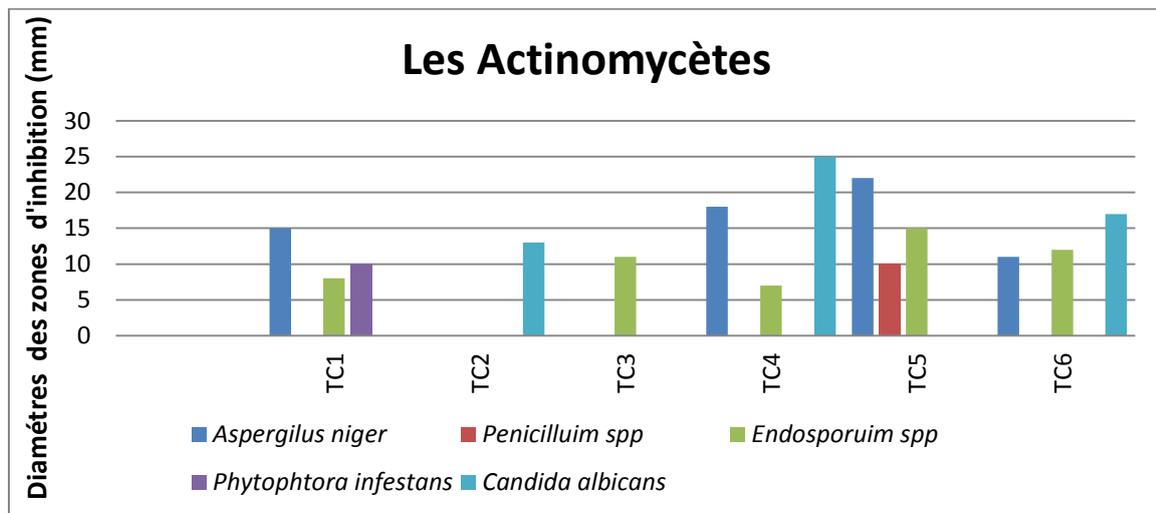


Figure 30. L'activité antifongique des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasset (Cité) contre les souches fongiques indicatrices.

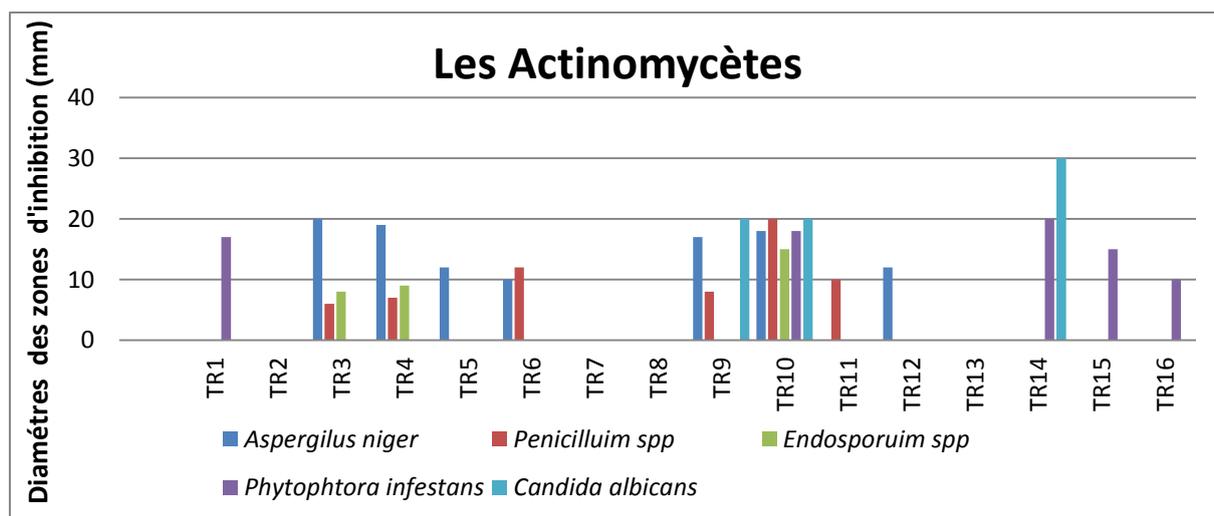


Figure 31. L'activité antifongique des isolats d'actinomycètes isolées de la région de Tamanrasset (Rhizosphère d'acacia) contre les souches fongiques indicatrices.

2. Résultat de choix de meilleur isolat d'actinobactérie antagoniste

Selon les résultats du screening la souche prometteur «TR10» isolé de rhizosphère d'acacia de la région de Tamanrasset présente une activité antimicrobienne significative, une importante action antibactérienne, antilevurienne et antifongique vis-à-vis des micro-organismes testés. Cette souche a été sélectionnée pour d'autres travaux d'identification moléculaire, d'extraction et de caractérisation des substances antibactériennes produites. A partir des résultats obtenus, on note l'intérêt d'explorer les sols sahariens, qui pourraient contenir de nouveaux taxons capables de produire de nouvelles molécules antimicrobiennes.

III. Résultat d'étude de l'activité antibiotique de la souche sélectionnée «TR10»

L'activité antimicrobienne de l'isolat TR10 a été évaluée par la technique de cylindres d'agar qui a permis une meilleure visualisation et une meilleure observation des zones d'inhibition, compte tenu du fait qu'il s'agit d'une méthode dans laquelle l'inoculum de la bactérie cible utilisée est précis à 0,5 mac Farland. La souche TR10 a montré une activité significative contre certains des pathogènes indicateurs sélectionnés comme *Escherichia coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Listeria monocytogenes* et *Klebsiella pneumoniae*. Elle était également puissante contre *Aspergillus niger*, *Phytophthora infestans*, *Penicillium spp*, *Endosporuim spp*, *Rhizopus oryzae*. Après la fermentation sur le milieu AF, nous avons utilisé l'acétate d'éthyle comme solvant car il permet une extraction antimicrobienne plus efficace, l'activité antibactérienne de l'extrait brut de l'isolat TR10 a été testée sur le milieu (MHA) en utilisant la technique de diffusion en puits. Les résultats ont

démonstré que *Escherichia coli* a la plus grande zone d'inhibition (40 mm), suivi par *Enterobacter aerogenes* (22 mm), *Acinetobacter baumannii* (20 mm), *Staphylococcus aureus* multirésistant (MRSA) (18 mm), *Citrobacter freundii* (18 mm), *Klebsiella pneumoniae* (15 mm), *Bacillus cereus* (13 mm), *Listeria monocytogenes* (12 mm), *Micrococcus luteus* (12mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 44300(11mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (10mm), *Pseudomonas aeruginosa*(10mm) et la levure *Candida albicans*(20mm) et les champignons phytopathogènes *Rhizopus oryzae*(35mm), *Penicillium spp*(20 mm), *Aspergillus niger*(18mm), *Phytophthora infestans*(16 mm), *Endosporium spp*(15mm) **Tableau 13.** La capacité antibactérienne des actinomycètes contre les micro-organismes pathogènes peut s'expliquer au moins en partie par l'action de substances biologiquement actives. Par ailleurs, les actinomycètes sont connus pour leurs capacités mycolytiques et surtout antibiotiques (Sabaou, 1998 ; Toumatia *et al.*, 2015).

Tableau 13. Zone d'inhibition (mm) de l'extrait brut produit par la souche TR10 en utilisant la méthode de diffusion en puits sur le milieu MHA

Organismes Test	Zone d'inhibition en (mm)
Bactérie Gram-positive	
<i>Bacillus cereus</i>	13
<i>Micrococcus luteus</i>	12
<i>Enterococcus faecalis</i>	22
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC44300	11
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	18
<i>Listeria monocytogenes</i>	12
<i>Micrococcus luteus</i>	12
Bactérie Gram-Negative	
<i>Escherichia coli</i>	40
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
<i>Citrobacter freundii</i>	18
<i>Acinetobacter baumannii</i>	20
<i>Enterobacter aerogenes</i>	22
Levure	20
<i>Candida albicans</i>	20
Souches fongiques	
<i>Aspergillus niger</i>	18
<i>Phytophthora infestans</i>	16
<i>Endosporium spp</i>	15
<i>Penicillium spp</i>	20
<i>Rhizopus oryzae</i>	35



Figure 32. Mise en évidence de l'activité antibiotique de l'extrait brut produit par la souche TR10 en utilisant la méthode de diffusion en puits sur milieu MHA après 24H d'incubation.

1. Résultat de la cinétique de croissance et production de la substance antimicrobienne

Les cinétiques de croissance, de production des antibiotiques et de l'évolution du pH de la souche TR10 sont illustrées dans la (**figure 33**). Les cultures sont réalisées dans le milieu AF liquide pendant 14 jours.

- **Croissance :**

La cinétique de croissance de la souche TR10 révèle deux phases exponentielles, qui s'expliquent par le phénomène de diauxie. La première phase se situe entre le 1er et le 4ème jour d'incubation. Il est possible que le phénomène de diauxie observé chez la souche TR10 soit également dû à une consommation précoce des acides aminés présents dans l'extrait de levure ajouté au milieu, tandis que le glucose ne serait utilisé comme source de carbone qu'au cours de la seconde phase exponentielle. La seconde phase exponentielle se divise en plusieurs étapes : une phase de croissance rapide du 1er au 2ème jour, où la biomasse atteint 2,4 g/l, suivie d'une phase de ralentissement du 2ème au 3ème jour, puis d'une phase stationnaire du 3ème au 4ème jour, avec un poids sec de 2,9 g/l. À partir du 5ème jour, une seconde phase exponentielle est observée, avec une croissance maximale entre le 4ème et le 5ème jour, atteignant 4 g/l, suivie immédiatement d'une phase de déclin jusqu'au 14ème jour d'incubation, où le poids sec diminue à 2 g/l. Ce phénomène de diauxie est généralement observé dans les milieux contenant deux sources de carbone, telles que le glucose et le lactose, le galactose ou la xylose (**Prescott et al., 2013; Euzéby, 2010**). Cependant, il peut également se produire parfois dans des cultures ne contenant qu'une seule source de carbone et une source d'azote. Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs auteurs concernant la croissance en diauxie des souches de *Streptomyces*, tels que (**Driche, 2010 ; Aouiche et al.,**

2012 ; Toumatia et al., 2014), ainsi que pour d'autres souches d'actinobactéries, notamment *Saccharothrix algeriensis* (Strub, 2008).

D'autre part, le glucose, qui est une source de carbone rapidement assimilable, est connu pour stimuler efficacement la croissance microbienne (Hermans et al., 1989). Sa concentration joue un rôle déterminant dans la production d'antibiotiques. En effet, pour de nombreux microorganismes à des concentrations élevées, le glucose exerce un effet négatif sur la synthèse d'antibiotiques en raison de la répression catabolique glucidique, également connue sous le nom d'effet glucose (Larpent et Sanglier, 1989). Des études ont montré que des concentrations élevées de glucose ou d'autres sources de carbone facilement assimilables sont généralement défavorables à la production d'antibiotiques. L'absence de la phase de latence observée peut s'expliquer par le fait que les pré-cultures utilisées sont jeunes et préparées dans le même milieu.

- **pH :**

L'évolution du pH montre une tendance à l'alcalinisation progressive, se situant entre pH 7,2 et 8,5. Cette observation suggère que l'activité antimicrobienne se manifeste davantage dans un environnement alcalin. En effet, la dégradation des sources organiques d'azote telles que les acides aminés, la peptone ou l'extrait de levure présents dans le milieu entraîne une alcalinisation due à la libération et à l'accumulation d'ammoniac, résultant de la désamination de ces acides aminés. Ces résultats rejoignent les conclusions de nombreuses études sur l'optimisation de la production d'antibiotiques, où le pH optimal correspond à un pH alcalin (Hata et al., 1971; Larpent et Sanglier, 1989; Larpent-Gourgaud et Sanglier, 1992; Boudjella, 2007; Strub, 2008; Jain et al., 2011; Merrouche, 2012; Boubetra et al., 2013b; Boulkour, 2016; Hamza et al., 2018). Il est important de noter que les variations de pH peuvent stimuler ou inhiber la production de métabolites secondaires, tels que les antibiotiques. Des études antérieures (Augustine et al., 2005 ; Asanza-Teruel et al., 1997) ont rapporté que chez *Streptomyces aureofaciens*, les changements de pH au cours de la fermentation peuvent altérer l'équilibre entre la production d'auréomycine et de tétracycline. Le milieu de culture peut également influencer cette production. Selon (Smaoui, 2010), un pH acide favorise la production de chlortétracycline, tandis qu'un pH alcalin favorise la sécrétion de tétracycline.

- **Production d'antibiotiques :**

Les activités antibactériennes de notre isolat TR10 se manifestent entre le milieu et la fin de la phase exponentielle d'incubation (troisième jour) pour *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Elles atteignent leur maximum au sixième jour, à la fin de la phase exponentielle et au début de la phase de déclin, et persistent jusqu'à la fin de l'incubation. Les activités antifongiques contre *Phytophthora infestans* INPV, *Penicillium* spp et *Rhizopus oryzae* apparaissent à partir du quatrième jour d'incubation, c'est-à-dire à la fin de la phase exponentielle, et atteignent leur maximum au cinquième ou sixième jour, persistant jusqu'à la fin de l'incubation (**Figure 33**). Ces résultats indiquent que ces activités antimicrobiennes sont dues à des métabolites secondaires. La production de métabolites secondaires par les microorganismes se produit généralement pendant les phases de ralentissement et stationnaire. Cependant, dans le cas des actinobactéries, cette production peut commencer dès la phase exponentielle (**Zitouni, 2005 ; Badji, 2006**), ou même pendant la phase de déclin (**Aouiche, 2012**).

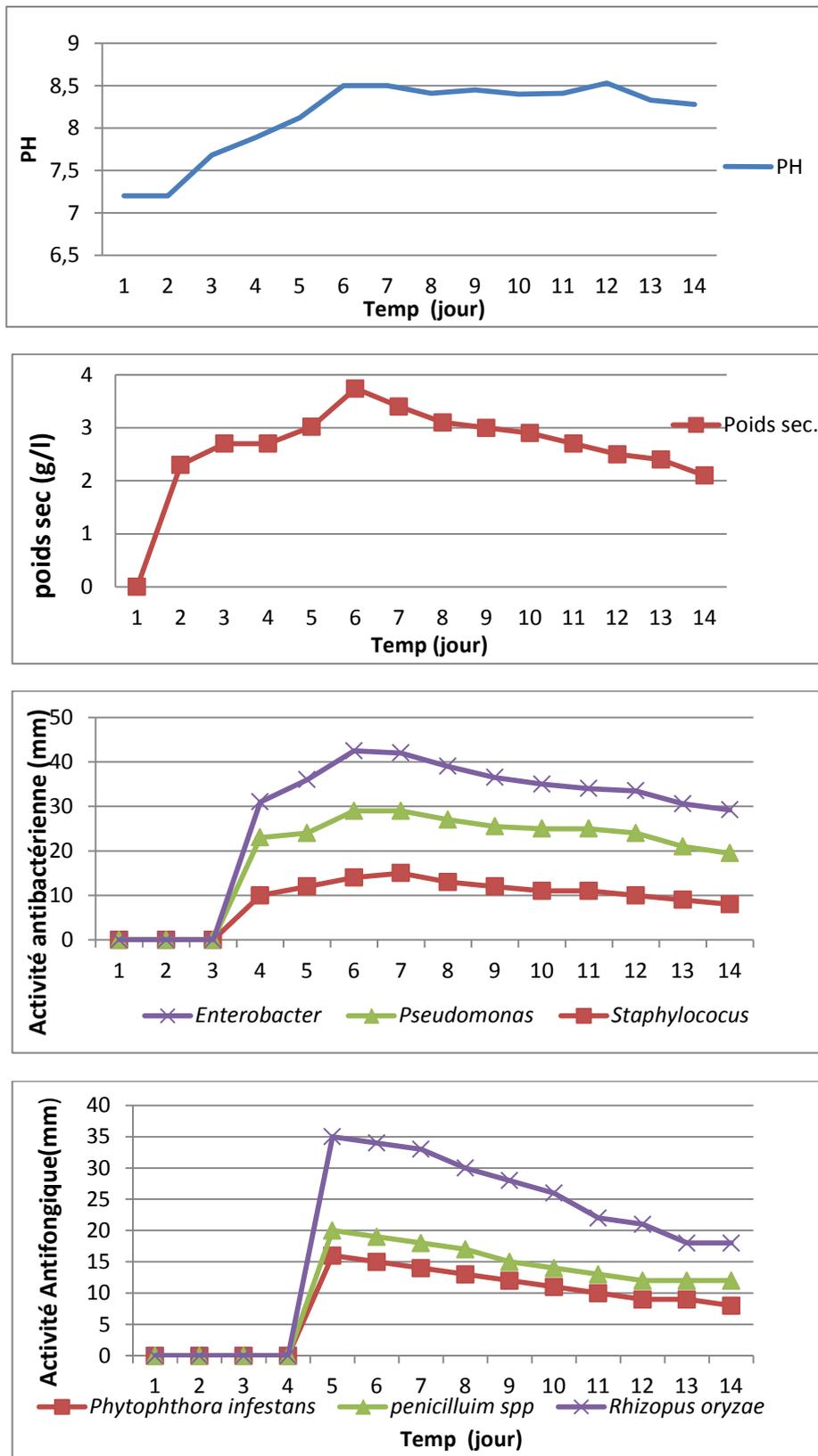


Figure 33 : Cinétiques de l'évolution du pH, de la croissance et des activités antimicrobiennes dans le milieu AF contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC29212 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Phytophthora*

infestans INPV, *Penicillium spp*, *Rhizopus oryzae*. La croissance est mesurée par l'évolution du poids sec selon la méthode de (Pfefferle et al., 2000) .

2. Résultat de choix du solvant d'extraction optimal

La production d'antibiotique d'isolat TR10 a été réalisée sur milieu AF liquide, qui s'est avéré être le milieu le plus favorable à la production de cette molécule antimicrobienne. Après 06 jours de fermentation (production optimale d'antibiotiques), les antibiotiques ont été extraits avec 04 solvants organiques de polarités différentes (n-hexane : apolaire, dichlorométhane : polaire, l'acétate d'éthyle solvant de polarité moyenne et le n-butanol : polaire) dans l'ampoule à décanter. L'activité de la phase organique et la phase aqueuse ont été testée contre la bactérie test (*Staphylococcus aureus* (MRS) ATCC 33591 par la méthode du puits pour sélectionner le meilleur solvant d'extraction. Les résultats de l'antibiogramme sont présentés dans le **Tableau 14**. A travers ces résultats, l'extrait brut issu par l'extraction d'éthyle acétate montre une meilleure activité antimicrobienne par rapport aux autres solvants organiques testés. Cette activité est traduite Par un diamètre d'inhibition avoisinant 18mm en revanche, les activités des extraits obtenus Par le reste des solvants se sont révélés moins importants et parfois négligeables. Par ailleurs, ça été rapporté dans plusieurs recherches que l'acétate d'éthyle est le meilleur Solvant pour l'extraction des métabolites(Joel et Bhimba, 2010) car il permet d'extraire de façon efficace une grande quantité d'antibiotiques. Donc, il est retenu pour les extractions ultérieures (Aouiche et al., 2015).

Tableau 14. Zones d'inhibition (mm) des phases organique et aqueuse issues de l'extraction

Extrait brute (TR10)	Zones d'inhibition (mm)- Phase organique				Zones d'inhibition (mm) -Phase aqueuse			
	Butanol	Acetate d'éthyle	Dichloromethane	Hexane	Butanol	Acetate d'éthyle	Dichloromethane	Hexane
<i>Staphylococcus Aureus</i> (MRS) ATCC 33591	15	18	12	08	11	14	10	07

3. Révélation microbiologique de la substance antimicrobienne « bio-autographie »

La bioautographie est une Technique qui permet de localiser l'activité antibactérienne des extraits sur les chromatogrammes. Cependant, il permet une recherche rapide de nouveaux agents antibactériens grâce à l'isolement guidé par les bio-essais. Cette approche réduit les coûts de dépistage initiaux car elle évite la nécessité de purification préalable des substances (**Scorzoni et al., 2007**). Pour détecter les fractions actives contre les bactéries sensibles aux extraits bruts, un système deux solvants ont été utilisé pour l'extrait organique de TR10. La meilleure séparation a été obtenue avec les éluant suivants : (dichlorométhane-méthanol, 96:04, v/v) comparé au (acétate d'éthyle-méthanol, 100:15, v/v). Malheureusement, aucune des fractions n'était active contre les souches testées, probablement parce que les fractions des extraits devaient agir en synergie pour exprimer l'activité, pour confirmer cette hypothèse, les extraits devaient être soumis à des méthodes de fractionnement sur colonne ou HPLC semi-préparative.

La synergie entre les molécules est considérée comme un phénomène largement reconnu en médecine, mais il existe peu de rapports dans la littérature sur l'évaluation de la synergie des produits naturels (**Belofsky et al., 2004**). Ainsi, plusieurs complications rendent difficile la recherche d'effets synergiques de produits naturels, que l'on distingue comme difficiles à prédire les effets des associations, les mécanismes d'action pharmacologiques sont souvent méconnus, et les explications de la perte d'activité courante lors du fractionnement guidé par bio-essai, en auquel cas deux inférences principales peuvent être établies : perte de principe actif et effet synergique (**Inui et al., 2007**). Les résultats obtenus par (**Boucheffa, 2011**) ont indiqué que les substances avaient une bonne migration sur plaque CCM, mais malgré les répétitions, l'activité antibactérienne était toujours indétectable par la technique de bio-autographie. Cela peut être dû à la quantité insuffisante de molécules produites.

4. Séparation de l'extrait brut sur chromatographie couche mince(CCM).

Nous avons effectué une chromatographie sur couche mince avec l'extrait brut issu de l'extraction par l'acétate d'éthyle. La phase organique obtenue des filtrats de culture sur milieu AF est analysée. Le système de solvant de migration utilisé est le(Dichlorométhane / Méthanol 96 : 04, v/v) et (Acétate d'éthyle / Méthanol 100 : 15, v/v) (**Figure 34**). On a constaté que le système de solvant (Dichlorométhane / Méthanol 96 : 04, v/v) a donné une bonne séparation de notre extrait avec plusieurs spots par rapport le système (Acétate d'éthyle / Méthanol 100 : 15, v/v) qui a donné seulement 2 spots.



Figure 34. Chromatogramme de l'extrait méthanolique de l'isolat TR10 sous UV à 365 nm (UV)

Les résultats de la CCM après la séparation montrent que l'extrait méthanolique de l'isolat TR10 est constituée de 15 composés qui ont migré chacun avec sa polarité et observée sous UV à 365nm possédant des Rf de (0.98 - 0.96- 0.69 - 0.63 - 0.53 - 0.45 -0.37 -0.31 - 0.29 - 0.26 -0.18 -0.14 -0.10 - 0.050 - 0.031) respectivement .Ces résultats sont répertoriés dans le **Tableau 15**.

Tableau 15: résultat de la chromatographie sur couche mince système Toluène - acide acétique (8 :2)

L'extrait brut Les spots	RF (TR10)
1ère spot	0.98
2ème spot	0.96
3ème spot	0.69
4ème spot	0.63
5ème spot	0.53
6ème spot	0.45
7ème spot	0.37
8ème spot	0.31
9ème spot	0.29
10ème spot	0.26
11ème spot	0.18
12ème spot	0.14

13 ^{ème} spot	0.10
14 ^{ème} spot	0.050
15 ^{ème} spot	0.031

4.1. La semi-purification des fractions séparées par CCM

Un volume de 600 µl de chaque extrait concentré est déposé en une bande mince et continue sur les plaques de gel de silice. Celles-ci, sont ensuite développées dans l'éluant sélectionné auparavant (**Figure 35**). Après migration et grattage des différentes bandes séparément, le contenu des taches actives révélées par UV à 254 nm et les taches fluorescentes à 365 nm sont dissoutes dans 2ml de méthanol. Une filtration est effectuée pour éliminer la silice et garder le surnageant contenant les activités.

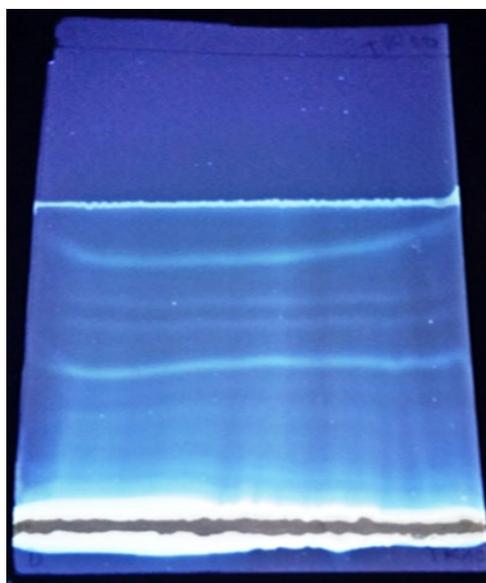


Figure 35. Chromatogramme représentant les résultats de la semi purification de l'extrait de la souche TR10 sur couche mince de silice sous UV à 365 nm.

4.2. Contrôle de l'activité de chaque composant séparé :

L'activité des filtrats est testée sur une souche indicatrice *Escherichia coli* ensemencé sur milieu (MH) **Tableau 16** et la (**Figure 36**) démontrent les rapports frontaux des fractions actives, ainsi que les diamètres des zones d'inhibitions obtenues après incubations de 24h

Tableau 16. Résultat du test d'activité des extraits semi purifiés et les Rf des fractions actives

Les extraits Bruts	Les rapports frontaux (Rf) à 254 nm (UV)	Zones d'inhibition (mm)
Extrait méthanolique TR10	0.98	20 mm
	0.96	18 mm
	0.69	15mm
	0.63	16mm
	0.53	18mm
	0.45	14mm
	0.31	10mm
	0.29	08mm
	0.26	08mm
	0.18	10mm
	0.14	09mm

**Figure 36.** Illustrations des zones d'inhibitions des fractions actives purifiées

Les résultats ont montré que les 5 premiers spots de l'extrait de la souche TR10 ont une forte activité inhibitrice par contre les autres spots ont une faible activité inhibitrice et parfois inexistante donc les molécules bioactives se situent dans ces 5 fractions actives ou le Rf : (0.98- 0.96- 0.69- 0.63- 0.53). (Sharon *et al.*, 2013) ont rapporté que les résultats de la chromatographie en couche mince à haute performance (HPLC) de l'extrait actif obtenu à partir de *Streptomyces sp.*2011 ont montré la présence de quinone, d'ester, de terpénoïdes et de macrolide avec des Rf allant de 0.01 à 0.95. Des résultats supplémentaires de l'analyse des composés par CCM ont montré que les composés antimicrobiens produits par *Streptomyces* isolés à partir d'éponges marines présentaient un Rf allant de 0,40 à 0,78 (Selvakumar *et al.*, 2010). Les résultats de CCM d'extraits d'isolat d'actinomycètes AIA26 ont montré la présence de plusieurs taches dans Rf est entre 0,05 et 0,74 (Kumari *et al.*, 2020).

5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

Les CMI de l'extrait brut TR10 vis-à-vis des microorganismes pathogènes sont données dans le **Tableau 17**. Les résultats indiquent clairement que 40 ug/ml de cet extrait tue complètement les souches microbiennes. Et qu'il est très actif envers les bactéries Gram négatives, les résultats sont cohérents avec le dépistage des actinomycètes contre les agents pathogènes microbiens. La CMI est égale à 10 ug/ml pour les levures et de 01 à 25 ug/ml pour les champignons filamenteux, 10 à 40 ug/ml pour les bactéries à Gram positif et 0.5 à 25 ug/ml pour les bactéries à Gram négatif, les plus sensibles sont ces derniers et surtout *Escherichia coli* et *Rhizopus oryzae* avec CMI allant de (0.5 à 1 ug/ml) les autres souches sont sensibles (CMI entre 10 et 20 ug/mL), Les microorganismes qui sont moyennement sensibles sont *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* avec CMI de 40 ug/ml, l'absence de corrélation entre l'activité de l'isolat TR10 et la résistance des germes cibles aux antibiotiques connus, suggère que l'antibiotique sécrété par la souche d'actinomycète TR10 diffère de ceux auxquels ces germes sont résistants.

Tableau 17. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'antibiotique sécrété par l'isolat TR10 contre divers champignons et bactéries.

Microorganismes-cibles CMI (mg/ml)	CMI (ug/ml)
<i>Escherichia coli</i>	0.5
<i>Rhizopus oryzae</i>	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10
<i>Enterococcus faecalis</i>	10
<i>Penicillium spp</i>	10
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10
<i>Candida albicans</i>	10
<i>Penicillium spp</i>	15
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	15
<i>Citrobacter freundii</i>	15
<i>Aspergillus niger</i>	15
<i>Phytophthora infestans</i>	20
<i>Endosporium spp</i>	25
<i>Klebsiella pneumonia</i>	25
<i>Bacillus cereus</i>	30

<i>Micrococcus luteus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>	40
--	----

6. Identification des composés bioactifs par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC/MS) :

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse quantitative des composés organiques volatils et semi-volatils. Après avoir utilisé la GC-MS pour identifier les substances chimiques de l'extrait méthanolique de l'isolat TR10, nous avons identifié 15 composés actifs ayant des activités antimicrobiennes et d'autres activités biologiques. Tels que les produits anticancéreux, antioxydants et anti-inflammatoires sont présentés dans (Tableau18;Figure37).

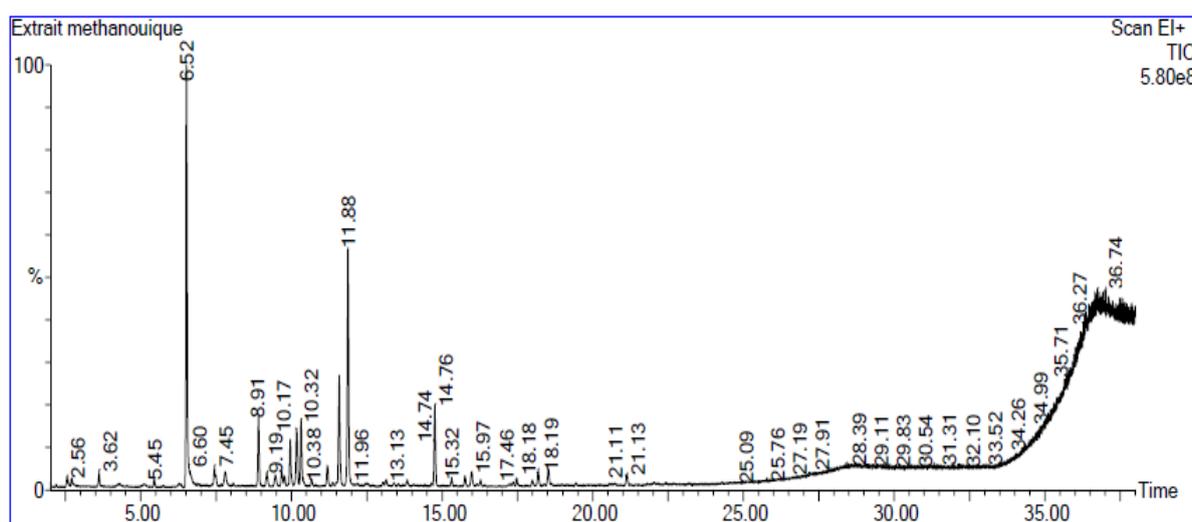


Figure 37. Chromatogramme de l'analyse de l'extrait actif de l'isolat TR10 par GC-MS.

Tableau 18. Composition chimique des composés de l'extrait de TR10 détectée par GC-MS

#	TR	Scan	Hauteur	Zone	Zone %	montant %	Composé
1	3.62	202	14,408,365	961126	0.648	1.21	Butanoic acid, 3-methyl-
2	5.45	1268	577,284,096	561278	13.359	0.69	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 3,6,6-trimethy
3	6.52	1528	27,324,374	27121390	0.940	33.23	Phenol
4	8.91	1626	20,164,352	4785179	0.884	5.86	Linalool, formate
5	9.90	1939	97,274,064	3328957	2.357	4.08	p-Menthan-3-one
6	10.18	2234	63,316,620	4629497	1.640	5.68	Rhodinal
7	10.32	2294	76,925,952	4739185	2.280	5.81	Levomenthol

8	11.59	2334	88,278,568	8120394	2.334	9.95	Cyclohexanone,5-methyl-2-(1-methylethylidene)
9	11.88	2578	28,491,446	16517460	0.821	20.24	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, formate
10	14.76	2689	150,839,632	5595565	4.000	6.86	Caryophyllene
11	15.32	2770	325,315,168	587420	8.136	0.72	cis- α Bisabolene
12	15.75	2689	150,839,632	843359	4.000	1.03	β -Cubebene
13	18.19	3580	110,766,128	1228445	2.756	1.51	Tau-Cadinol acetate
14	18.52	3923	18,218,334	1579566	0.676	1.94	Propanoic acid
15	21.14	4633	23,873,226	1011448	0.778	1.24	Versalide

Tableau 19. Composés, temps de rétention, formule moléculaire et masse moléculaire présents dans l'extrait brut méthanolique de l'isolat rhizosphérique TR10 détecté par la technique GCMS.

Pic	Retention Time (TR)	Composé	Formule moléculaire	Masse moléculaire
1	2.720	2,3- Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.12
2	3.620	Butanoic acid, 3-methyl-	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.13
3	5.450	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 3,6,6-trimethy	C ₁₀ H ₁₆	136.23
4	6.521	Phenol	C ₆ H ₆ O	94.11
5	7.440	Limonene	C ₁₀ H ₁₆	136.23
6	7.448	Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, acetate	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23
7	7.797	1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate	C ₁₄ H ₂₄ O ₂	224.34
8	8.913	Linalool, formate	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182.26
9	9.900	p-Menthan-3-one	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25
10	9.965	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, cis-	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23
11	10.179	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)-	C ₁₀ H ₁₈ O	154.24
12	10.180	Rhodinal	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25
13	10.322	Levomenthol	C ₁₀ H ₂₀ O	156.27
14	11.192	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethylidene)-	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23
15	11.590	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethylidene)-	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23
16	11.880	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, formate	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182.25
17	11.876	Linalylacetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.29
18	14.764	Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204.35
19	15.320	cis- α - Bisabolene	C ₁₅ H ₂₄	204.35
20	15.750	β -Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	204.35
21	15.987	Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-	C ₁₄ H ₄₂ O ₇ Si ₇	519.07
22	18.190	Tau-Cadinolacetate	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	264.40
23	18.518	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	C ₁₆ H ₄₀ OSi	593.2
24	18.520	Propanoic acid	C ₃ H ₆ O ₂	74.0
25	21.140	Versalide	C ₁₈ H ₂₆ O	258.40
26	36.556	Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-	C ₁₄ H ₄₂ O ₆ Si ₇	503.07

		dodecamethyl-		
27	36.681	Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13- tetradecamethyl-	$C_{14}H_{42}O_6Si_7$	503.07
28	36.742	Demecolcine	$C_{21}H_{25}NO_5$	371.4

Tableau 20. Principaux composants et activités biologiques de l'extrait au méthanol de l'isolat TR10

Temp de Rétention (TR)	Composé	Formule Moléculaire	Masse Moléculaire	Activité	Références
3.62	Butanoic acid, 3- methyl-	$C_5H_{10}O_2$	102.13	Activité antibactérienne, antioxydante	Kennedy et al.2019
5.45	Bicyclo[3.1.1]heptane, 3, 6,6-trimethyl	$C_{10}H_{16}$	136.23	Activité antibactérienne	Aghoutane et .al.2020 ; Zhang et al.2014 ; Doughari et al.2012 ; Sun et al.2005; Shu et al.2019 ; Marchese et al.2017
6.52	Phenol	C_6H_6O	94.11	Activité antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoire	Marchese et al.2017 ; Nrendhran et al.2014; Chandrasekar et al.2005
8.9	Linalool, formate	$C_{11}H_{18}O_2$	182.26	Activité anti-inflammatoire, antimicrobienne, anticancéreuse	Ramteke et al.2019
9.90	p-Menthan-3-one	$C_{10}H_{18}O$	154.25	Activité antimicrobienne	Haiyan et al.2016 ; Park et al.2016
10.18	Rhodinal	$C_{10}H_{18}O$	154.25	Activité antibactérienne, Antioxydante, antifongique	Hassene et al.2011
10.32	Levomenthol	$C_{10}H_{20}O$	156.27	Activité antifongique, antibactérienne, antioxydante	Kosalec et al.2007;Sermakkani and Thangapandian 2012;Abdulsalami et al.2022;Turgumbayeva et al.2021
11.59	Cyclohexanone, 5- methyl-2- (1-methylethyliden)	$C_{10}H_{16}O$	152.23	Activité antibactérienne	Hussein et al.2021;Fouillaud and Dufosse2022
11.88	1.6-Octadien-3-ol, 3,7- dimethyl-, formate	$C_{11}H_{18}O_2$	182,25	Activité anticancéreuse , anti-inflammatoire	Sermakkani and Thangapandian 2012. Ramteke et al.2019 Dahham et al.2015 Raymond et al.2022
14.76	Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	204.35	Activité antifongique, anticancéreuse, antioxydante antibactérienne	et al.2015 Raymond et al.2022
15.32	Cis- α Bisabolene	$C_{15}H_{24}$	204.35	Activité antifongique, antibactérienne	Raymond et al.2022
15.75	β - Cubebene	$C_{15}H_{24}$	204.35	Activité antioxydant, anti- inflammatoire ,antimicrobienne	Nazir et al. 2021
18.19	Tau-Cadinol acetate	$C_{17}H_{28}O$	264.40	Activité antimicrobienne	Su et al.2015 ; Eldeghedy et al.2022
18.52	Propanoic acid	$C_3H_6O_2$	74.00	Activité antimicrobienne	Shaala et al.2020
21.14	Versalide	$C_{18}H_{26}O$	258.40	Activité anticancéreux	Cheng et al.2020

La bibliothèque NIST14 a été utilisée pour identifier la structure, le poids moléculaire, la formule moléculaire, le temps de rétention (RT) et le % de surface des quinze composés recueillis par GCMS. Les principaux composés identifiés sont les suivants : acide butanoïque, 3-méthyl- (1,21%), Bicyclo[3.1.1]hept-2-ène, 3,6,6-triméthyl(0,69%), phénol (33,23%), formate de linalol (5,6%), p-menthan-3-one (4,0%), rhodinal (5. 6%), lévomenthol (5. 1%), Cyclohexanone, 5-méthyl-2-(1-méthyléthylidène)- (9,95%), 1,6-Octadiène-3-ol, 3,7-diméthyl-, formate (20,24%), Caryophyllène (6,6%), cis- α Bisabolène (0,72%), Acétate de Tau-Cadinol (1,51%), Acide propanoïque (1,94%), Versalide (1,24%) (Tableau 3). Ces *Streptomyces* sont capables de produire une large gamme de composés qui ont une bonne activité contre une variété d'indicateurs pathogènes.

L'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de la souche TR10 contre les bactéries (Gram-) pourrait être associée à la présence de monoterpène (3, 7, 7-triméthyl bicyclo [4.1.0] hept-3-ène). Selon des recherches antérieures, cette substance possède une activité antibactérienne synergique. Contient d'autres substances comme le limonène et l' α -terpinène. Par conséquent, l'efficacité antibactérienne contre les bactéries pathogènes a été augmentée (**Doughari et al., 2012 ; Sun et al.,2005 ; Marchese et al., 2017**). Les membranes cytoplasmiques des micro-organismes sont endommagées par le composé (3, 7, 7-triméthyl bicyclo[4.1.0]hept-3-ène), qui modifie également la perméabilité et résultant à la fuite de composants biologiques spécifiques, y compris les ions et les protéines, ainsi que la puissance motrice de dissipation du proton et l'inhibition des enzymes respiratoires (**Aghoutane et al.,2020 ; Zhang et al., 2014**). Selon des recherches antérieures, la chute brutale de la concentration bactérienne d'ATP après l'ajout de 3-carène (3,7,7-triméthyl bicyclo[4.1.0]hept-3-ène) peut avoir été provoquée par l'inhibition de la synthèse d'ATP, l'augmentation de l'hydrolyse de l'ATP et la perturbation de la structure du biofilm, confirmant les dommages causés au métabolisme énergétique et aux voies de biosynthèse de la bactérie(**Shu et al.,2019**).

L'acide butanoïque, 3-méthyl-acide gras à chaîne courte (AGCC), semble être un inhibiteur efficace de la croissance des agents pathogènes gram-positifs et gram-négatifs, tels que *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, et *Staphylococcus pseudointermedius*. Il en

provoquait une inactivation importante via une perturbation de la membrane et une acidification cytosolique (**Kennedy et al.,2019**).

Les composés phénoliques ont une activité antioxydant et sont isolés de *Streptomyces cavouresis* KUV39 (**Marchese et al., 2017 ; Nrendhran et al., 2014 ; Chandrasekar et al., 2005**).

Le formate de linalool s'est révélé être le principal composant de l'extrait acétonique des graines de *Coriandrum sativum*. Le linalool est déjà signalé comme un agent anticancéreux en participant à la peroxydation lipidique dans le cancer et d'autres tissus tels que l'estomac et le foie. En plus de ses propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes (**Ramteke et al., 2019**). La P-Menthan-3-one est connue pour son activité antimicrobienne contre *S. aureus*, *E. coli*, et *Klebsiella spp*, *Candida albicans*, dans les huiles essentielles d'*Agastache rugosa* et *Mentha spp* (**Haiyan et al., 2016 ; Park et al.,2016**).

Le rhodinol, qui constitue environ 63,23% de l'huile essentielle de *Pelargonium asperum* des Comores, a un effet antibactérien significatif contre *M. luteus* et *B. subtilis*, l'activité antifongique de cette huile essentielle est plus importante contre les trois champignons *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum* et *Penicillium digitatum*. De plus, elle est dotée d'un grand pouvoir antioxydant vis-à-vis des radicaux libres(**Hassene et al., 2011**).

Le composé Levomenthol a montré une activité antifongique plus forte contre dix espèces de moisissures *Aspergillus*, *Penicillium*, *Absidia*, *Chaetomium*, et *Trichoderma*(**Kosalec et al.,2007 ; Sermakkani et Thangapandian 2012 ; Abdulsalami et al.,2022; Turgumbayeva et al.,2021**).

La Cyclohexanone, 5-méthyl-2-(1-méthyléthylidène) a été signalée comme un composé antibactérien efficace de la plante *Mentha viridis L.* contre les souches bactériennes négatives à deux grammes, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* (**Hussein et al., 2021;Fouillaud et Dufosse 2022**).

Le 1.6-Octadien-3-ol, 3, 7-diméthyl-, formate présent dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Cassia italica* a montré une activité anticancéreuse et anti-inflammatoire (**Sermakkani et Thangapandian 2012 ; Ramteke et al., 2019**).

L'activité biologique du β -caryophyllène contre divers champignons phytopathogènes a été évaluée. *Sclerotinia* et *Fusarium oxysporum* sont deux phytopathogènes dont la croissance a

été fortement ralentie par ces molécules. Les résultats ont montré que *Staphylococcus aureus* était la seule bactérie dans laquelle le β -caryophyllène avait un effet antibactérien. L'effet du β -caryophyllène a été examiné lorsque des cellules cancéreuses du côlon ont été utilisées dans diverses expériences de promotion antitumorale in vitro. Il s'est avéré qu'il avait de puissants effets antinéoplasiques et antioxydants(**Fouillaud et Dufosse 2022 ; Durham et al., 2015 ; Raymond et al., 2022**).

Le cis-bisabolène extrait des huiles essentielles d'*Aframomum alboviolaceum*, d'*Ocimum gratissimum L*, et d'*Ocimum Suave L de Ridley* et *Zingiber* a une efficacité antibactérienne et antifongique contre *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*(**Raymond et al., 2022**)

Le β -cubébène a été isolé de *Eucalyptus robuste*, a illustré les effets antifongiques les plus significatifs envers *Candida albicans* et a montré des effets antioxydants, et a démontré une activité anti-inflammatoire significative (**Nazir et al., 2021**).

Le composé acétate de Tau-cadinol extrait des feuilles d'une variété de *lavandula* cultivée en Egypte et de l'huile essentielle de fleurs de *diospyros discolor* à Taiwan a montré une forte activité antimicrobienne contre *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Enterobacter aerogenes*(**Su et al.,2015 ; Eldeghedy et al., 2022**)

Un composé d'Acide propanoïque de l'actinomycète marin *Streptomyces coelicolor* LY001 isolé de la mer Rouge a montré une activité sélective significative contre *Candida albicans*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*(**Shaala et al., 2020**).

Le versalide s'est révélé être le principal agent stressant et le composé anticancéreux(**Cheng et al., 2020**) .Les principaux composants de l'extrait méthanolique de l'isolat TR10 testés, notamment les alcools terpéniques, ainsi que la réaction synergique entre les différents composés, sont principalement responsables de ses activités antibactériennes et antioxydantes.

IV. Caractérisation des isolats

1. Etude des caractères morphologiques

1.1. Aspect microscopique

1.1.1. Coloration de Gram

Le frotti bactérien de l'isolat TR10 est coloré par la coloration de Gram puis observé au microscope optique à l'objectif (GX100) en utilisant l'huile d'immersion la coloration de Gram montré qu'elle est une bactérie filamenteuse Gram positif aussi qu'elle représente la même forme des actinobacteries.

1.2. Aspect macroscopique

1.2.1. Isolation et identification de TR10

La souche TR10 a été isolée à partir d'un échantillon de rhizosphère sur milieu GYM et ISP2, à $28 \pm 2^\circ\text{C}$, identifiée par sa sporulation ainsi que le développement de mycélium végétatif et aérien. Ces colonies ont bien poussé sur la plupart des milieux organiques utilisés et étaient opaques, de forme arrondie, avec des bords irréguliers et noyés dans le milieu de culture, des Colonies poudreuses. Le mycélium aérien était gris. Le mycélium du substrat de la souche TR10 était jaune pâle, et d'abondants pigments diffusibles brun jaunâtre se sont développés sur les milieux ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6 et GYM (Figure1). Les résultats des propriétés physiologiques et biochimiques des isolats sont détaillés dans le **Tableau 21**.

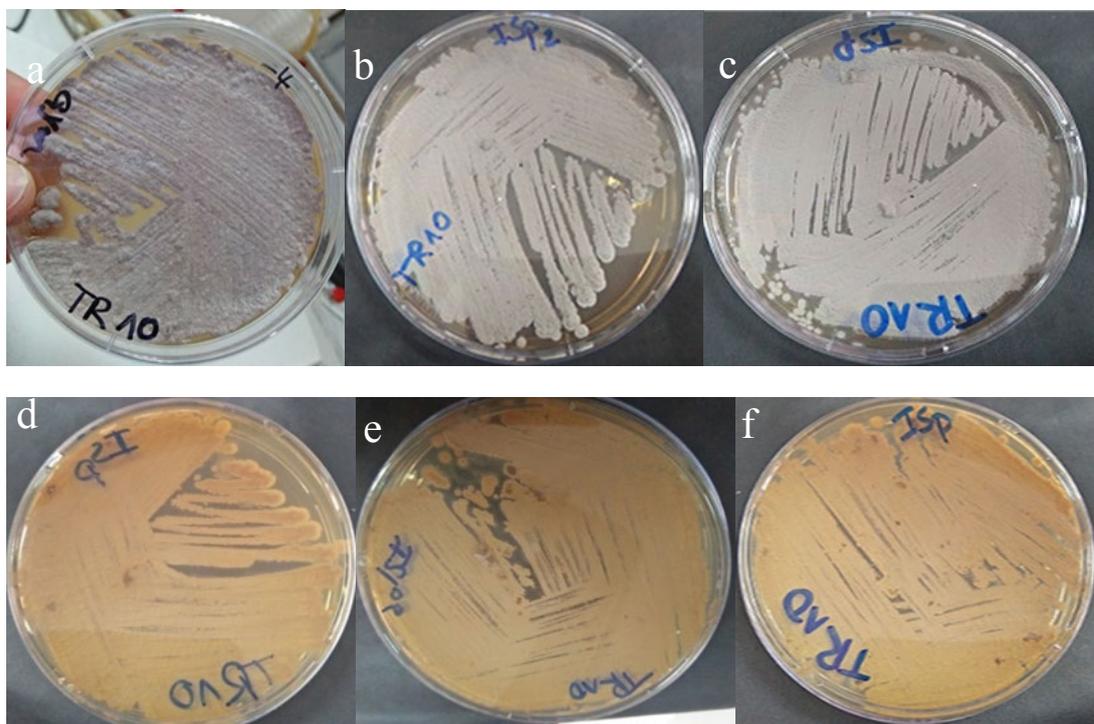


Figure 38. Aspect macroscopique de la souche TR10 cultivée sur différents milieux de culture (a: GYM, b: ISP2, c: ISP3, d: ISP4, e: ISP5, f: ISP6)

Tableau 21. Caractéristiques physiologiques et biochimiques de la souche *Streptomyces* TR10

Tests biochimiques	Résultats
Hydrolyse de l'amidon	+
Hydrolyse de la caséine	++
Hydrolyse de la gélatine	++
Dégradation du glucose	++
Dégradation du lactose	-
Dégradation du saccharose	++
Dégradation du citrate	+++
Production d'hydrogène sulfuré (H ₂ S)	-
Production d'uréase	++
Rouge de méthyle	-
Voges-Proskauer	-
Mannitol	-
Catalase	++
Action sur le lait écrémé	-

Tests physiologiques		Résultats
Coloration de Gram		+
Croissance aérobie		+
Croissance anaérobie		-
Production de pigments mélanoides sur ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP6		+
Température de croissance 25 °C		++++
35 °C	+	
45 °C	-	
55 °C	-	
PH optimal 5		+
7		++++
9		+++
10		++
Tolérance du NaCl (P/V) 3 %		+
5 %	+++	
7 %	+	
10 %	+	

+: Positif, -: négatif, ++: Bonne; +++: Signifiante.

Les résultats ont montré que la souche TR10 se développe mieux à 25°C, 5% de NaCl, et un pH de 7. On a également observé que la caséine, l'amidon, la gélatine, le saccharose, le glucose, le citrate et l'urée étaient dégradés par cette souche **Tableau 21**.

2. Le séquençage du gène de l'ARNr 16S

L'étude du gène de l'ARNr 16S de *Streptomyces sp.* TR10 a révélé que cette isolat est une nouvelle souche présentait des similitudes avec les autres espèces de *Streptomyces* reconnues (**Figure 39**). OP617665 est le numéro d'accession donné aux séquences de gènes lorsqu'elles ont été déposées.

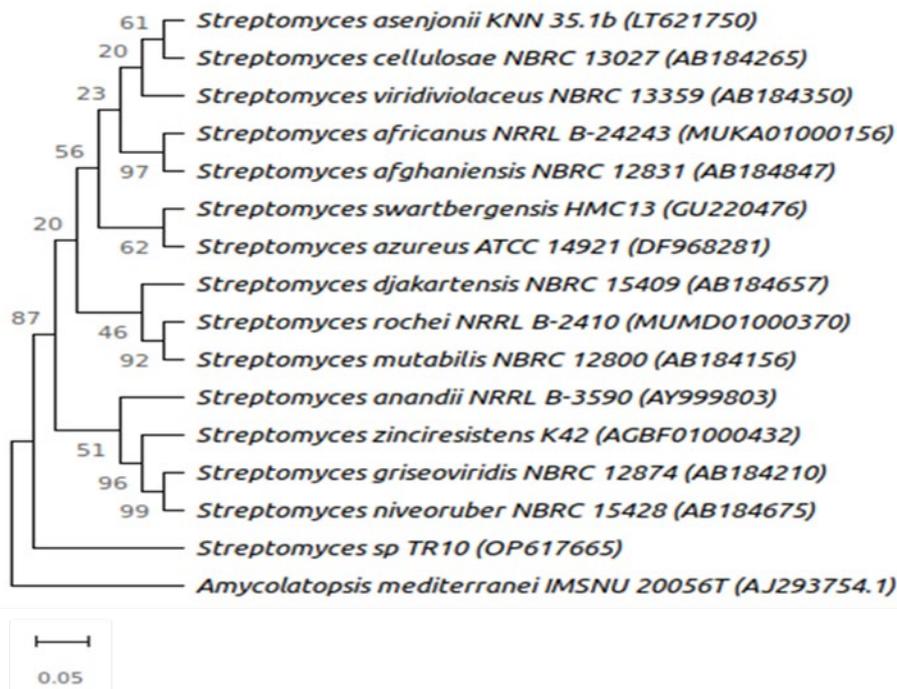


Figure.39 Arbre phylogénétique de voisinage basé sur les séquences presque complètes du gène de l'ARNr 16S montrant la relation entre la souche TR10 et les membres du genre *Streptomyces*.

Les valeurs Bootstrap, exprimées en pourcentage de 1000 répliquions, sont indiquées aux points de branchement. Barre 1 substitution de nucléotides par 100 nucléotides. *Amycolatopsis mediterranei* (AJ293754.1) a été utilisé comme outgroup. Les numéros d'accèsion GenBank sont indiqués entre parenthèses.

Ce travail nous a permis d'isoler 79 souches d'actinomycètes à partir de 5 échantillons de sol provenant de différentes régions aride et semi-aride d'Algérie. La caractérisation moléculaire nous a permis de confirmer que notre isolat TR10 appartenait au genre *Streptomyces*, le genre le plus abondant dans les échantillons telluriques. Nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus par de nombreux auteurs. (Elwan *et al.*, 1985; Sabaou *et al.*, 1998; Peela *et al.*, 2005; Vijayakumar *et al.*, 2007). Selon la littérature, les actinobactéries peuvent synthétiser plus d'une trentaine d'antibiotiques (Trujillo *et al.*, 1997). L'exemple le plus édifiant est celui de *Streptomyces hygroscopicus* qui sécrète plus de 180 antibiotiques (Demain et Fang, 1995). Certaines molécules sont actives uniquement contre les bactéries alors que d'autres ne sont actives que sur les champignons. En revanche, d'autres sont actives sur les deux groupes de microorganismes c'est le cas de notre isolat TR10. D'après la littérature, le genre *Streptomyces* est parmi les germes les plus producteurs d'antibiotiques (Jensen *et al.*, 1991; Hassan *et al.*, 2011). 70% des antibiotiques commercialisés sont sécrétés par ce genre (Perry,

2004). Cette biodiversité des antibiotiques a été signalé par des nombreux auteurs (Staufenberger *et al.*, 2008 ; Wiese *et al.*, 2009). ces *Streptomyces* à large spectre (antibactérien et antifongique) est fréquemment décrit dans la littérature (Duraipandiyar *et al.*, 2010 ; Thakur *et al.*, 2007 ; Valanarasu *et al.*, 2008 et 2009). Certains sont même actifs contre les champignons pathogènes humains et les bactéries multirésistantes (Kumar et Kannabiran, 2010), et même contre les larves d'insectes (Valanarasu *et al.*, 2010).

En Algérie, plusieurs souches de *Streptomyces* isolées du sol, de l'eau et de l'écorce ont montré des activités antibactériennes et antifongiques intéressantes contre divers micro-organismes. et plusieurs études portant sur l'isolement des actinobactéries, la taxonomie des souches isolées et l'étude des antibiotiques secrétés, ont été réalisées (Hacène *et al.*, 1994 ; Nousari, 1996 ; Kecha, 1996 ; Sabaou *et al.*, 1998 ; Lamari *et al.*, 2002a,b ; Zitouni *et al.*, (2004 a,b et 2005) ; Boughachiche *et al.*, 2005 ; Badji *et al.*, 2006 ; Boudemagh *et al.*, 2005 ; Kitouni, 2005 ; Boudjella *et al.*, (2006 et 2010) ; Merrouche *et al.*, 2010 ; Aouiche *et al.*, 2012 ; Meklat *et al.*, (2012 et 2013) ; Boubetra *et al.*, 2013 ; Toumatia *et al.*, 2014 ; Messis *et al.*, 2014,....). Ces travaux ont montré que les sols sahariens, qui représentent un écosystème particulier, renferment un potentiel assez riche en actinobactéries tant du point de vue quantitatif de biodiversité et d'activité antimicrobienne (Sabaou *et al.*, 1998). Les travaux réalisés par (Zitouni *et al.* (2004 a, b et 2005) ont montré qu'une souche du genre *Saccharothrix* SA 103, sécrète plusieurs antibiotiques originaux appartenant aux familles des anthracyclines, des macrolides et des nucléotides. Plusieurs études (Cadet *et al.*, 1996 ; Kauffman et Carver, 1997 ; Kang *et al.*, 2010 ; Mendes *et al.*, 2013) ont été faites concernant l'activité antimicrobienne des Actinomycètes vis-à-vis de germes pathogènes. Les études sur les caractéristiques morphologiques, macroscopiques et microscopiques des souches d'Actinomycètes sont largement utilisées pour caractériser ce genre. Selon Shirling et Gottlieb (1976), l'identification des actinomycètes est principalement basée sur des caractéristiques morphologiques considérées comme des caractéristiques stables. Certains genres d'actinomycètes (*Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *micromonospora*, *microbispora*...) peuvent être identifiés plus précisément par simple observation microscopique (Williams *et al.*, 1983) que d'autres (*Nocardia*, *Actinoimadura*...), car ces genres d'Actinomycètes ont une micromorphologie caractéristique par rapport à d'autres genres appartenant aux Actinomycètes voir (Bergey Manuel, 2012). La qualité de la séquence obtenue après le séquençage de l'ARNr 16S a été vérifiée par le logiciel Sequench pour obtenir une seule séquence, qui a ensuite été comparée à d'autres séquences valides dans BLASTn.

L'analyse de séquençage du gène de l'ARNr 16S, la méthode la plus couramment utilisée pour la caractérisation bactérienne, bien qu'utile et rapide, a montré une ambiguïté dans la distinction des souches de *Streptomyces* étroitement apparentées (qui partagent 99 % de similitude)(**Guo et al., 2008**). Cependant, les progrès du séquençage du génome et son coût réduit ont permis de différencier des espèces de *Streptomyces* étroitement apparentées au niveau génomique et ont révélé des voies de biosynthèse cryptiques inexplorées que possèdent les souches de *Streptomyces* ou les bactéries en général (**Wakefield et al.,2017**).

Les résultats d'analyse GCMS de l'extrait brut de notre isolat TR10 ont montré la présence d'Acide propanoïque ce composé est déjà isolé de l'actinomycète marin *Streptomyces coelicolor* LY001 extrait de la mer Rouge. Les résultats ont également révélé la présence des composés phénoliques, ces composés sont largement trouvé chez *Streptomyces cavouresis* KUV39 (**Marchese et al., 2017 ; Nrendhran et al., 2014 ; Chandrasekar et al., 2005**). Alors que le reste des composés identifier dans notre extrait méthanolique sont généralement très répondu chez les huiles essentielles et les grains des plantes ce qui confirme que cette souche elle est nouvelle très intéressante produise des nouveau molécules bioactives.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

L'émergence de la résistance microbienne aux antibiotiques est une préoccupation majeure lorsqu'il s'agit de microorganismes pathogènes. Cette résistance a permis aux microbes d'acquérir la capacité de résister aux effets des agents chimiothérapeutiques auxquels ils sont habituellement sensibles ; la propagation de ces bactéries est devenue une crise sanitaire mondiale, Par conséquent, la recherche de nouveaux composés comme alternative à l'utilisation d'antibiotiques est devenue une nécessité permanente, avec des efforts de recherche ciblant des molécules ayant des effets plus larges sur différents types de bactéries pathogènes et moins agressif pour l'hôte. La capacité des actinomycètes à produire des composés bioactifs en fait l'un des groupes microbiens les plus explorés parmi les procaryotes. Ces métabolites secondaires produits sont connus pour leurs rôles dans divers processus physiologiques, cellulaires et biologiques.

En Algérie, plusieurs études préliminaires ont été menées sur l'isolement des actinomycètes, la taxonomie des isolats et la sécrétion d'antibiotiques. Plusieurs études ont montré que les sols sahariens, représentatifs d'écosystèmes spécifiques, sont assez riches en potentiel d'actinomycètes en termes quantitatif, de biodiversité et de propriétés antimicrobiennes.

Le travail présenté dans cette thèse vise à rechercher dans des biotopes naturels de l'Algérie de nouvelles souches d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes et caractérisation de sa molécule bioactive. Nous avons isolé un nombre important d'actinomycètes de différents habitats naturels de notre région (arides et semi-arides). Nous avons pu constater une diversité culturelle sur le milieu GYM et ISP2 qui est apprécié par la couleur du mycélium arien et la présence ou non des pigments solubles. La première partie de ce travail est consacrée à l'isolement et le criblage des souches d'actinobactéries productrices de substances antimicrobiennes. L'isolement a été réalisé à partir de cinq échantillons prélevés de trois écosystèmes différents : la région de Ain Safra, Boughtob et Tamanrasset a permis d'obtenir 79 isolats dont 29 à partir d'échantillons prélevés du sol d'Ain Safra, 18 de Boughtob (Wilaya à El Bayadh), 06 du sol de la cité de Tamanrasset, 10 du sol de l'oued Tamanrasset, 16 de la rhizosphère d'Acacia isolée de la région de Tamanrasset. Toutes les souches obtenues ont été subies un Criblage de l'activité

antibactérienne et antifongique, la deuxième étape concerne la production de métabolites secondaire par une fermentation en milieu liquide AF suivi d'une extraction liquide-liquide par des solvants organiques de polarités différentes. Des antibiographies d'extraits organiques vis-à-vis les microorganismes indicatrices ont été réalisées par la méthode des puits.

La bioautographie (révélation microbiologique) réalisée a révélé une activité antibactérienne indétectable. Cela peut être dû à la quantité insuffisante de molécules produites ou à la réaction synergique entre les différents composés.

L'isolat d'actinobactérie « TR10 » a été sélectionnée comme meilleur isolat antagoniste. Les Propriétés antagonistes de la souche TR10 ont été étudiées par la méthode des cylindres d'agar sur une large gamme de microorganismes cibles. Les résultats ont montré que cette souche avait des effets antagonistes à large spectre contre la plupart des micro-organismes testés, en particulier une bonne activité contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ATCC 33591, Une caractérisation partielle des antibiotiques secrétés a été effectuée par chromatographie sur couche mince (CCM), en utilisant différents systèmes d'élution, les résultats révèlent que le système (Dichlorométhane / Méthanol 96 :04) est le meilleur solvant d'extraction pour la souche TR10. Afin d'étudier ces composés actifs on a utilisé la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC/MS) pour identifier ses composés bioactifs. nous avons identifié 15 composés actifs ayant des activités antimicrobiennes et d'autres activités biologiques tels que les produits anticancéreux, antioxydants et anti-inflammatoires.

Grâce à diverses étapes telles que l'extraction de l'ADN génomique, l'amplification, la purification et le séquençage du gène de l'ARNr 16S de notre souche TR10, nous avons réussi à confirmer que ces échantillons appartiennent au genre *Streptomyces*. Cette confirmation s'est basée sur la comparaison des séquences extraites avec celles enregistrées dans la banque génomique GenBank. En utilisant la méthode d'alignement des séquences appelée "Neighbor-joining", nous avons effectué des études phylogénétiques en réalisant plusieurs alignements de séquences. Ces études nous ont permis de construire un arbre phylogénétique des isolats d'espèces apparentées, mettant en évidence un degré élevé de similarité. L'analyse de *Streptomyces* sp TR10 a révélé qu'il s'agit d'une nouvelle souche présentant des similitudes avec d'autres espèces de *Streptomyces* déjà connues. Les

séquences génétiques correspondantes ont été déposées avec le numéro d'accèsion OP617665.

D'autre part, la chromatographie en phase gazeuse (GCMS) est principalement utilisée pour détecter les composés volatils. Cependant, les extraits actifs nécessitent des études plus approfondies, car la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est devenue la méthode de choix pour la plupart des métabolites secondaires non volatils. D'autre part, certains métabolites secondaires sont très fluorescents et peuvent donc être détectés en très petites quantités avec des détecteurs à fluorescence. En outre, l'extraction à partir du fractionnement sur colonne et de l'analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) est nécessaire pour potentiellement caractériser de nouvelles molécules et tester d'autres activités biologiques, notamment des activités antioxydantes et anticancéreuses.

En conclusion, les actinobactéries présentes dans les milieux extrêmes notamment *Streptomyces* sp TR10 isolé à partir de la rhizosphère d'Acacia de la région de Tamanrasset (le désert Algérien) représentent une riche source alternative de composés bioactifs qui peuvent être exploités pour développer de nouveaux médicaments. Et peuvent être potentiellement utilisés pour de nouvelles biomolécules commercialement importantes. De nombreuses études ont prouvé la bioactivité potentielle de ces actinobactéries extrémophiles. Néanmoins, d'autres études approfondies sont nécessaires pour explorer les capacités bioactives de ces actinobactéries extrémophiles.

Perspectives

En perspective à cette étude, nous prévoyons de compléter et d'exploiter ces données théoriques en réalisant des études sur terrain avec :

✓ Optimisation de la production des antibiotiques sur milieu liquide par la recherche des conditions optimales (sources carbonées, azotées, éléments minéraux, aération, pH).

✓ Tester des souches d'actinobactéries ou de leurs extraits dans des champs de culture contre diverses catégories de phytopathogènes qui sont à l'origine de dégâts et de pertes économiques considérables pour notre agriculture locale.

Conclusion et Perspectives

✓ Appliquer des études physiologiques tels que: la capacité des isolats à dégrader les surfactants tel que pétrole, à réduire les nitrates, l'azide de sodium et le Crystal violet.

✓ Appliquer des études chimio-taxonomiques plus approfondies tels que l'analyse des acides aminés, des sucres et les phospholipides éléments discriminants dans l'identification.

✓ Déterminer les activités biologiques autres qu'antibactériennes, telles que l'activité anti-inflammatoire, antitumorale, antioxydant, enzymatique etc).

✓ Analyser le génome de la souche TR10 (recherche de clusters de gènes responsables de la biosynthèse de métabolites spécialisés).

✓ L'exploration de niches écologiques sous-étudiées (tellurique et marine) ainsi que le renforcement de l'enquête sur le désert algérien.

✓ Le développement de techniques culturales plus adaptées à l'isolement de nouvelles espèces d'actinobactéries rares de ces niches.

✓ Le développement de nouvelles espèces biotechnologiquement exploitables.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

Abbes, B., & Samiha, I. (2017). Identification phénotypique de quelques isolats d'actinobactéries présentant une activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes pathogènes (Doctoral dissertation, Université de m'sila).

Abdulsalami, H., Daudu, Y. O. A., Adabara, N. U., & Hamzah, R. U. (2022). Antisalmonellal Activity and GC-MS Analysis of *Piliostigma thonningii* leaf extract. *AROC Nat Prod Res*, 2(02), 01-09.

Abraham T. A., Herr L. J. (1964). Activity of actinomycetes from rhizosphere and non- rhizosphere soils of corn and soybean in four physiological tests. *Can. J. Microbiol.* 10, 281- 285. actinomycetes: phospholipid composition. *Biochem. Syst. Ecol.*, 5: 249-260.

Adegboye M. and F., Babalola O.O. (2012). Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes *African Journal of Agricultural Research*,7(15), 2255-2261.

Adegboye MF, Babalola OO (2013) Actinomycetes: a yet inexhaustive source of bioactive secondary metabolites. In: Méndez-Vilas A (ed) *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*, pp 786–795

Aghoutane, Y., Moufid, M., Motia, S., Padzys, G. S., Omouendze, L. P., Llobet, E., & El Bari, N. (2020). Characterization and analysis of Okoume and aiele essential oils from Gabon by gc-ms, electronic nose, and their antibacterial activity assessment. *Sensors*, 20(23), 6750.

Al-Dhabi, N. A., Esmail, G. A., Duraipandiyar, V., & Arasu, M. V. (2019). Chemical profiling of *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-2 recovered from an extreme environment in Saudi Arabia as a novel drug source for medical and industrial applications. *Saudi journal of biological sciences*, 26(4), 758-766.

Amal AM, Abeer KA, Samia HM, Nadia AH, Ahmed KA, El-Hennawi HM (2011) Selection of pigment (melanin) production in *Streptomyces* and their application in printing and dyeing of wool fabrics. *Res J Chem Sci* 1(5):22–28

Amanullah, A., Jüsten, P., Davies, A., Paul, G. C., Nienow, A. W., & Thomas, C. R. (2000). Agitation induced mycelial fragmentation of *Aspergillus oryzae* and *Penicillium chrysogenum*. *Biochemical Engineering Journal*, 5(2), 109-114.

Andriambololona T. (2010). Etude biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d'Ankafobe. Thèse de doctorat. UNIVERSITE D'ANTANANARIVO, Pp. 5-10.

Andriambololona, R., Ratovonjanahary, A., & Lebrun, A. R. (2010). Computational study of the NGAT using MCNP5. In *Proceedings of IRPA12: 12. Congress of the International Radiation Protection Association: Strengthening Radiation Protection Worldwide-Highlights, Global Perspective and Future Trends*.

Angelova L, Dalgalarondo M, Minkov I, Danova S, Kirilov N, Serkedjieva J, Chobert JM, Haertlé T, Ivanova I (2006) Purification and characterization of a protease inhibitor from *Streptomyces chromofuscus* 34-1 with an antiviral activity. *Biochim Biophys Acta* 1760(8):1210–1216. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2006.03.002>

Anisha, G.S., Prema, P., (2008). Cell immobilization technique for the enhanced production of α -galactosidase by *Streptomyces griseoloalbus*. *Bioresour. Technol* 99, 3325–3330.

Antoun H., Bordeleau L.M., Gagnon., Lachanger R.A (1978). Actinomycètes antagonistes de champignons et n 'affectant pas le *Rhizobium meliloti*. *Canadian journal of Microbiology* 24,558-562.

Aouiche A., Bijani C., Zitouni A., Mathieu F., Sabaou N. (2014). Antimicrobial activity of saquayamycins produced by *Streptomyces* sp. PAL114. isolated from Saharan soil. *Journal of Medical Mycology*, 24(2), 17–24.

Aouiche A., Sabaou N., Meklat A., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., (2012). Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp. PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. *Journal De Mycologie Médicale*.

Aouiche A., Bouras N., Mokrane S., Zitouni A., Schumann P., Spröer C., Sabaou N., Klenk HP. (2015). *Actinokineospora mzabensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from Saharan soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107 (1), 291–296.

Ara I., Bukhari NA., Wijayanti D.R. and 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.

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

Arifuzzaman M., Khatun M.R. and Rahman H. (2010). Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activeity. *African Journal of Biotechnology*, 9(29), 4615-4619

Arshad, M., Ullah, I., Chuadhry, M. J. I., Noureen, U., Jadoon, W. A., & Jadoon, M. A. (2012). Actinomycetes screening for bioactive potential isolated from the moist forest soils of Pakistan. *Rec Zool Surv Pakistan*, 21, 10-13.

Asselineau, J., Zalta, J., & Boissier, J. (1973). Les antibiotiques, structure et exemples de mode d'action. (Actualités scientifiques et industrielles 1353). Paris: Hermann, 1973.

Aubert G., (1978). Relation entre le sol et cinq d'étricacées dans le Sud Est de la France. *Oecol.Plant.*, 13(3) : 253-269.

Augustine, S. K., Bhavsar, S. P., & Kapadnis, B. P. (2005). Production of a growth dependent metabolite active against dermatophytes by *Streptomyces rochei* AK 39. *Indian J Med Res*, 121(3), 164-70.

Badji B. (2006). Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois Souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura* et *Nonomuraea*. Thèse de Doctorat Es-Sciences, option Microbiologie, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou. 226p

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

- 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/Journal of Medical Mycology*, 15(4), 211-219.
- Badji B., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N. (2006). Antimicrobial compounds Produced by *Actinomadura* sp. AC104, isolated from an Algerian Saharan soil. *Canadian journal of Microbiology*, 52.(4), 373–382.
- Baltz, R. H. (2009). Daptomycin: mechanisms of action and resistance, and biosynthetic engineering. *Current opinion in chemical biology*, 13(2), 144-151.
- Baoune, H.; Ould El Hadj-Khelil, A.; Pucci, G.; Sineli, P.; Loucif, L.; Polti, M.A. 2018. Petroleum degradation by endophytic *Streptomyces* spp. isolated from plants grown in contaminated soil of southern Algeria. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 147, 602–609.
- Barbie P, Kazmaier U (2016) Total synthesis of cyclomarin a, a marine cycloheptapeptide with anti-tuberculosis and anti-malaria activity. *Org Lett* 18(2):204–207. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b03292>
- 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 natural products of Actinobacteria. *Microbial Mol Biol rev* 80 : 1 – 43.
- Bastide A., De Méo M., Andriantsoa M., Laget M. et Duménil G. (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non polyéniques. *MIRCEN J Appl Microbiol Biotechnol*, 2(4). 453–466.
- Bavya, M., Mohanapriya, P., Pazhanimurugan, R., & Balagurunathan, R. (2011). Potential bioactive compound from marine actinomycetes against biofouling bacteria.
- Becker. B; Lechevalier. M. P. and Lechevalier. H. A., (1965). Chemical Composition of Cell-Wall Preparations from Strains of Various Form-Genera of Aerobic Actinomycetes. *Appl. Environ Microbiol*, 13(2): 236-243.
- 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.
- Belofsky, G., Percivill, D., Lewis, K., Tegos, G. P., & Ekart, J. (2004). Phenolic metabolites of *dalea versicolor* that enhance antibiotic activity against model pathogenic bacteria. *Journal of natural products*, 67(3), 481-484.
- Belyagoubi, L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens (Doctoral dissertation).
- Belyagoubi, L.; Belyagoubi-Benhammou, N.; Jurado, V.; Dupont, J.; Lacoste, S.; Djebbah, F.; Ounadjela, F.Z.; Benaissa, S.; Habi, S.; Abdelouahid, D.E. 2018. Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi) isolated from Chaabe cave, Algeria. *Int. J. Speleol.*, 47, 189–199.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. (2012). Whitman WB, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Ludwig W, Suzuki Ki, Parte A (Eds). vol 5: The Actinobacteria. 2ème édition, Springer, New York. 1750 p.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" Williams S.T., Sharpe M.E & Holt J.G (Eds). Baltimore: Williams & Wilkins., 4: 2574-2585.

Betina, V. (1973). Bioautography in paper and thin-layer chromatography and its scope in the antibiotic field. *Journal of Chromatography A*, 78(1), 41-51.

Bhatti AA, Haq S, Bhat RA (2017) Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microb Pathog* 111: 458-467.

Bhawsar S (2011) Microbial production of vitamin B12. *Biotechnol Prod* (3):5-21
 Thompson CJ, Fink D, Nguyen LD (2002) Principles of microbial alchemy: insights from the *Streptomyces coelicolor* genome sequence. *Genome Biol* 3(7):1020.1–1020.4. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-7-reviews1020>

Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P., and Marquier P., (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Laboratoire de Bactériologie, virologie et microbiologie industrielle. Hyg. Rev*, N°3.

Bloemberg GV, Lugtenberg BJJ (2001) Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr Opin Plant Biol* 4(4):343–352. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)00183-7](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00183-7)

Bode W, Huber R (1992) Natural protein proteinase inhibitors and their interaction with proteinases. *Eur J Biochem* 204(2):433–451. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1992.tb16654.x>

Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H. P., and Sabaou N., (2013). *Saccharothrix hoggarensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63: 549-553.

Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Schumann P., Spröer C., Klenk HP., Sabaou N. (2015). *Saccharothrix tamanrassetensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil in Algeria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(4). 1316–1320.

Boubetra, D., Sabaou, N., Zitouni, A., Bijani, C., Lebrihi, A., & Mathieu, F. (2013). Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Saharan soil. *Microbiological research*, 168(4), 223-230.

Boucheffa, K. (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques: Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits (Doctoral dissertation, Université Bouira).

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., Bouti K., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N., (2007). Isolation and partial characterization of pigment-like antibiotics produced by a new

strain of *Streptosporangium* isolated from an Algerian soil. *J Appl Microbiol*;103:1364-5072.

Boudjella H., Zitouni A., Coppel C., Mathieu F., Monje M.C., Sabaou N. and Lebrihi A., (2010). Antibiotic R2, a new angucyclinone compound from *Streptosporangium* sp. Sg3. *Journal of Antibiotics*, 63: 709-711.

Boudjella, H. (2007). Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens. Caractérisation des principaux antibiotiques secrétés par ces derniers. Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Agronomiques. Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger. 188 p. Strub, 2008;

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.

Boughachiche F., Reghioua S., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A., Boulahrouf A., (2005). Isolement d'actinomycetales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha d'Ain Mlila. *Sciences & Technologie C*; 23: 5-10.

Boughachiche, F., Reghioua, S., Zerizer, H., & Boulahrouf, A. (2012, March). Antibacterial activity of rare *Streptomyces* species against clinical resistant bacteria. In *Annales de biologie clinique* 70 (2), pp. 169-174.

Bouras N., Meklat A., Zitouni A., Mathieu F., Schumann P., Spröer C., Sabaou N., Klenk H.P.(2015). *Nocardioopsis algeriensis* sp. nov., an alkali-tolerant actinomycete isolated from Saharan soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107(2).313–320.

Cavala M., Eberlin T., (1994). Isolement des streptomycètes du sol. *L'opéron*. 4: 13-7.

Chakraborty S, Ghosh M, Chakraborti S, Jana S, Sen KK, Kokare C, Zhang L (2015) Biosurfactant produced from Actinomycetes nocardioopsis A17: characterization and its biological evaluation. *Int J Biol Macromol* 79:405–412. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.068>

Chandrasekar T, Rao M R K, Kumar R V, Prabhu K, Kumar S N, et al., GC-MS analysis, antimicrobial, antioxidant activity of an ayurvedic medicine, Nimbapatradi Choornam, *J Chem Pharm Res*, 2015, 7(8), 124–136

Chater KF. 2016. Recent advances in understanding *Streptomyces*. *F1000Research*. 5:2795.

Cheng, F., Li, H., Ma, H., Wu, F., Fu, Z., & You, J. (2020). Identifying bioaccessible suspect toxicants in sediment using adverse outcome pathway directed analysis. *Journal of hazardous materials*, 389, 121853. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121853>

Chergui A., Bakhtia M.Z., Chahbouba A., Haddouma S., Selatnia A., Junter G. A., 2006 Simultaneous biosorption of Cu²⁺, Zn²⁺ and Cr⁶⁺ from aqueous solution by *Streptomyces rimosus* biomass. *Desalination* 206 179–184.

Chiu HT, Hubbard BK, Shah AN, Eide J, Fredenburg RA, Walsh CT, Khosla C (2001) Molecular cloning and sequence analysis of the complestatin biosynthetic gene cluster. *Proc Natl Acad Sci* 98(15):8548–8553. <https://doi.org/10.1073/pnas.151246498>

Chun J., Blackall L. L., Kang S., Hah Y. C., Goodfellow M., (1997). A proposal to reclassify *Nocardia pinensis* Blackall et al as *Skermania piniformis* gen. nov., comb. Nov., Int. j. Syst. Bact. 47: 127-131.

Colombié V. (2005). Description de la production de spiramycine par *Streptomyces ambofaciens*. Modélisation métabolique, simulation et capteur logiciel. Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, p174.

Colquhoun, J. A., Mexson, J., Goodfellow, M., Ward, A. C., Horikoshi, K., & Bull, A. T. (1998). Novel rhodococci and other mycolate actinomycetes from the deep sea. *Antonie van Leeuwenhoek*, 74, 27-40..

Crawford D.L., Lynch J.M., Whipps J.M., Ousley M.A., (1993). Isolation and characterization of actinomycete antagonists of fungal root pathogen. *Appl. Environ. Microbiol* 59: 3899-905.

Crawford, L.V., Pim, D.C., Gurney, E.G., Goodfellow, P. and Taylor-Papadimitriou, J. (1981). Detection of a common feature in several human tumor cell lines—a 53,000-Dalton protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 41-45.

Criterion in the classification of aerobic actinomycetes *in*: The Actinomycetales. Prauser. H; Fisher Verlag. G., Jena, 311-316.

Cundell D.R., Piechoski M.P.(2016). Potentially novel Actinobacteria derived antibiotic from unique microenvironments. In: *Antimicrobials Synthetic and Natural Compounds*. (Dhanasekaran et al. 2010, Eds), P.83-98, CRC Press, New York.

Dahham, S. S., Tabana, Y. M., Iqbal, M. A., Ahamed, M. B., Ezzat, M. O., Majid, A. S., & Majid, A. M. (2015). The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. *Molecules*, 20(7), 110-1129.

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

Davies F.L. et Williams S.T., (1970). Studies on the ecology of actinomycetes in soil. 1/ The occurrence and distribution of actinomycetes in a pine forest soil. *Soil. Biol. Biochem.* 2: 227-238.

Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*

Demain A.L, 2000. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol 52:455-63.

Demain, A. L., & Fang, A. (1995). Emerging concepts of secondary metabolism in actinomycetes. *Actinomycetologica*, 9(2), 98-117.

Devereux R., He S.H., Doyle C.L., Orkland S., Stahl D.A., Le Gall J., and Whitman W.B., (1990). Diversity and origin of *Desulfosphaerium* species: phylogenetic definition of a family. *J. Bacteriol.*, 3609-3619

Dgigal D. (2003). Interaction entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorrhiziens) et les nématodes bactérivores: effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse doc : université Cheikh Anta Diop De Dakar. Pp. 157.

- Dgigal D. (2003). Interaction entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactérivores: effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse doc : université Cheikh Anta Diop De Dakar. Pp. 157.
- Dhanasekaran D., Ambika K., Thajuddin N., Panneerselvam A. (2012). Allelopathic effect of Actinobacterial isolates against selected weeds. *Archive Phytopathology Plant Protection*, 45(5), 505- 521.
- Dhanasekaran D., Thajuddin N., Panneerselvam A. (2010). Herbicidal agents from actinomycetes against selected crop plants and weeds. *Natural Products Research*, 24(6), 521-529.
- Dhanasekaran, D., Selvamani, S., Panneerselvam, A., & Thajuddin, N. (2009). Isolation and characterization of actinomycetes in Vellar estuary, Annagkoil, Tamil Nadu. *African Journal of Biotechnology*, 8(17).
- Dietz, A., Mathews J. (1971). Classification of *Streptomyces* spore surfaces into five groups. *Appl Microbiol*, 21(3): 527–33.
- Diraviyam, T., Radhakrishnan, M., & Balagurunathan, R. (2011). Antioxidant activity of melanin pigment from *Streptomyces* species D5 isolated from Desert soil, Rajasthan, India. *Drug Invent Today*, 3(3), 12-13.
- Djinni I. (2009). Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées productrices de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Béjaia. Thèse de Magister, spécialité : Microbiologie Appliquée. Université A. Mira, Bejaia, p.46.
- Djinni, I., Defant, A., Kecha, M., & Mancini, I. (2019). Actinobacteria derived from Algerian ecosystems as a prominent source of antimicrobial molecules. *Antibiotics*, 8(4), 172.
- Djinni, I.; Defant, A.; Kecha, M.; Mancini, I. 2013. Antibacterial polyketides from the marine alga-derived endophytic *Streptomyces sundarbansensis*: A study on hydroxypyronone tautomerism. *Mar. Drugs*, 11, 124–135.
- Djinni, I.; Djoudi, W.; Souagui, S.; Rabia, F.; Rahmouni, S.; Mancini, I.; Kecha, M. 2018, *Streptomyces thermoviolaceus* SRC3 strain as a novel source of the antibiotic adjuvant streptazolin: A statistical approach toward the optimized production. *J. Microbiol. Meth.* 148, 161–168.
- Doughari, J.H.; Ndakidemi, P.A.; Human, I.S.; Benade, S. Antioxidant, antimicrobial and antiverotoxic potentials of extracts of *Curtisia dentata*. *J. Ethnopharmacol.* 2012, 141, 1041–1050. [CrossRef] Driche E., (2010). Recherche des *Streptomyces* actifs contre quelques bactéries pathogènes multirésistantes aux antibiotiques. Mémoire de Magister en Microbiologie, ENS Kouba, Alger.
- Driche E.H., Belghit S., Bijani C., Zitouni A., Sabaou N., Mathieu F., Badji B. (2015). A new *Streptomyces* strain isolated from Saharan soil produces di-(2-ethylhexyl) phthalate, a metabolite active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Annal of Microbiology*, 65, 1341–1350.
- Duraipandiyan V., Sasi A.H., Islam V.I.H., Valanarasu M., Ignacimuthu S., (2010). Antimicrobial properties of actinomycetes from the soil of Himalaya. *J. Mycol. Med.*, 20:15-20.

- Edwards, U., Rogall, T., Blöcker, H., Emde, M., & Böttger, E. C. (1989). Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic acids research*, 17(19), 7843-7853.
- Eldeghedy, H. I., El-Gendy, A. E. N. G., Nassrallah, A. A., Aboul-Enein, A. M., & Omer, E. A. (2022). Comparative Chemical Profiles of Lavandula Species Essential Oils Grown in Egypt and Others from France and Australia: Evidence from Chemometric Analysis. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 25(1), 52-63.
- El-Nakeeb, M. A., & Lechevalier, H. A. (1963). Selective isolation of aerobic actinomycetes. *Applied microbiology*, 11(2), 75-77.
- El-Tarabily K. A., Nassar A. H., Hardy G. E. S. J. and Sivasithamparam K., (2009). Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum* a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *J. Appl. Microbiol.*, 106: 13-26.
- Elwan S.H., Diab A., El Gounaim M.Y. (1985). Ecology of the streptomycetes flora in the desert soil of Kuwait. *Systematic and Applied Microbiology*, 6, 99-104.
- Ensign J., C., (1978). Formation, properties and germination of actinomycetes spores. *Annu. Rev. Microbiol.*, 32: 185-219.
- Ensign, J. C., Normand, P., Burden, J. P., & Yallop, C. A. (1993). Physiology of some actinomycetes genera. *Research in Microbiology*, 144(8), 657-660.
- Entry, J. A., Hubbard, R. K., Thies, J. E., & Fuhrmann, J. J. (2000). The influence of vegetation in riparian filterstrips on coliform bacteria: II. Survival in soils (Vol. 29, No. 4, pp. 1215-1224). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America.
- Eunice J.A., Prosser J. I. (1983). Mycelial growth and branching of *Streptomyces coelicolor* A3 (2) on solid medium. *Journal of genetic microbiology*, 129, 2029-2036.
- Euzéby J., (2010). List of prokaryotic names with standing in nomenclature.
- Feller G, Le Bussy O, Gerday C (1998) Expression of psychrophilic genes in mesophilic hosts: assessment of the folding state of a recombinant α - amylase. *Appl Environ Microbiol* 64(3):1163–1165. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.3.1163-1165.1998>
- Fiechter A (1992) Biosurfactants: moving towards industrial application. *Trends Food Sci Technol* 3:286–293. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(10\)80013-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(10)80013-5)
- Fouillaud, M., & Dufossé, L. (2022). Microbial Secondary Metabolism and Biotechnology. *Microorganisms*, 10(1), 123
- Gao, B., & Gupta, R. S. (2012). Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 76(1), 66-112.
- Gebreyohannes G., Moges F., Sahile S., and Raja N. (2013). Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and

sediments of Lake Tana, Ethiopia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3, 426–435. Doi: 10.1016/S2221-1691(13) 60092-1.

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

Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Costilow, R. N., Nester, E. W., Wood, W. A., Krieg, N. R., & Phillips, G. B. (1981). *Manual of methods for general bacteriology*.

Getha, K., & Vikineswary, S. (2002). Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4: indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28, 303–310.

Girard H., Rougieux R. (1967). *Technique de microbiologie agricole*. Ed. Dunod, Paris, France, 216 p.

Goodfellow M, Busarakam K, Idris H, Labeda DP, Nouioui I, Brown R, Kim B-Y, del Carmen Montero-Calasanz M, Andrews BA, Bull AT. 2017. *Streptomyces asenjonii* sp. nov., isolated from hyper-arid Atacama Desert soils and emended description of *Streptomyces viridosporus* Pridham et al. 1958. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 110:1133–1148.

Goodfellow M. (1971). Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria. *Journal of General Microbiology*, 6: 33-90.

Goodfellow M., (1985). Actinomycetes systematic: present and future prospects. Sixth Int. Symp. on Actinomycetes Biology. Szabo G., Biro S. and Goodfellow M (Eds.), 487-496.

Goodfellow M., (1989). Genus *Rhodococcus* Zopt. In: “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” Williams S.T., Sharpe M.E and Holt J.G (Eds). The Williams and Wilkins Co., 4, 2363-2371.

Goodfellow M., Williams S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annuals Review of Microbiology* (37):189-216.

Gorajana, A., Kurada, B.V., Peela, S., Jangam, P., Vinjamuri, S., Poluri, E. (2005). 1-Hydroxy-1-norresistomycin, a new cytotoxic compound from a marine Actinomycete, *Streptomyces chibaensis* AUBN1/7. *J Antibiot* 58(8), 526–9.

Gottlieb D. (1973). General Consideration and implication of the Actinomycetales. In: Actinomycetales characteristics and practical importance. Edited by G. Sykes and F. A. Sk.

Goudjal, Y., Toumatia, O., Yekkour, A., Sabaou, N., Mathieu, F., & Zitouni, A. (2014). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara. *Microbiological research*, 169(1), 59-65.

Goudjal, Y.; Toumatia, O.; Sabaou, N.; Barakate, M.; Mathieu, F.; Zitouni, A. 2013. Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: Indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 29, 1821–1829.

Greiner, R. (2004). Purification and properties of a phytate-degrading enzyme from *Pantoea agglomerans*. *Protein Journal* 23, 567-576.

Grigorova R., Norris J. R., (1990). Methods in microbiology. VOL 22, Academic Press, London.

growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum* a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *J. Appl. Microbiol.*, 106: 13-26.

Guerin, W. F., & Boyd, S. A. (1992). Differential bioavailability of soil-sorbed naphthalene to two bacterial species. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(4), 1142-1152.

Guo X, Liu N, Li X, Ding Y, Shang F, Gao Y, Ruan J, Huang Y. 2015. Red soils harbor diverse culturable actinomycetes that are promising sources of novel secondary metabolites. Löffler FE, editor. *Appl Environ Microbiol.* 81(9):3086–3103.

Guo, Y., Zheng, W., Rong, X., & Huang, Y. (2008). A multilocus phylogeny of the *Streptomyces griseus* 16S rRNA gene clade: use of multilocus sequence analysis for streptomycete systematics. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(1), 149-159.

Gupta GN, Srivastava S, Khare SK et al (2014) Extremophiles: an overview of microorganism from extreme environment. *Int J Agricult Environ Biotechnol* 7: 371-380.

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

Haiyan, G.; Lijuan, H.; Shaoyu, L.; Chen, Z.; Ashraf, M.A.: Antimicrobial, antibiofilm and antitumor activities of essential oil of *Agastache rugosa* from Xinjiang, China. *Saudi J Biol Sci* 23, 524–530 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.020>

Hamza, K., Bouali, H., Bouras, N., Bouallala, M., Badji, B., Klenk, H. P., & Sabaou, N. (2018). Effet des monosaccharides sur la croissance et la production de chloramphénicol chez deux souches de *Saccharothrix longispora* (PAL 54 et PAL 42) isolées d'un sol de la palmeraie de Ghardaïa. *African Review of Science, Technology and Development.* 3(1): 38-50

Harir Mohammed, Bellahcene Miloud, Baratto Maria Camilla, Pollini Simona, Rossolini Gian Maria, Trabalzini Lorenza, Fatarella Enrico, Pogni Rebecca (2017). Isolation and characterization of a novel tyrosinase produced by Sahara soil actinobacteria and immobilization on nylon nanofiber membranes. *Journal of Biotechnol.* (10):265:54-64.

Harir, M., Bellahcene, M., Baratto, M. C., Pollini, S., Rossolini, G. M., Trabalzini, L.; Fatarella, E.; Pogni, R. (2018). Isolation and characterization of a novel tyrosinase produced by Sahara soil actinobacteria and immobilization on nylon nanofiber membranes. *Journal of biotechnology*, 265, 54-64.

Hasani A, Kariminik A, Issazadeh K (2014) Streptomycetes: characteristics and their antimicrobial activities. *Int J Adv Biol Biomed Res* 2:63–75

Hassan A.A., El-Barawy A.M., El Mokhtar., M.N.(2011). Evaluation of biological compounds of *Streptomyces* species for control of some fungal diseases. *Journal of American science* , 7(4),752-760.

Hassan HM, Degen D, Jang KH, Ebright RH, Fenical W. 2015. Salinamide F, new depsipeptide antibiotic and inhibitor of bacterial RNA polymerase from a marine-derived *Streptomyces* sp. *J Antibiot* (Tokyo). 68:206–209.

Hassane, S. O. S., Ghanmi, M., Satrani, B., Mansouri, N., Mohamed, H., El Hajaji, H., & Chaouch, A. (2011). Composition chimique et activités antibactériennes, antifongiques et antioxydante de l'huile essentielle de *Pelargonium asperum* Ehrh. ex Wilde des Comores. *Acta botanica gallica*, 15(2), 225-237.

Hata, T., Omura, S., Iwai, Y., Ohno, H., Takeshima, H. Yamaguchi N. (1971). A new antibiotic kinamycin: fermentation, isolation, purification and properties. *J. Antibiot.*, 24: 353-359.; Larpent et Sanglier, 1989;

Hayakawa M. (2008). Studies on the Isolation and Distribution of Rare Actinomycetes in Soil. *Actinomycetologica*, 22 (1): 12-19.

Hayakawa. H, Yoshida. Y, and Iimura Y. (2004). Selective isolation of bioactive soilactinomycetes belonging to the *Streptomyces violaceusniger* phenotypic cluster. *J. Appl. Microbiol*, 96: 973-981.

Hilali H., Khattabi A., Nssarlah N., Malki A., et Finance C. (2002). Isolement de nouvelles souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques à partir du milieu naturel marocain. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 2 (1), 49-53.

Hobbs G., Frazer C.M., Gardner D.C.J., Cullum J.A., Olivier S.G. (1989). Dispersed growth of *Streptomyces* in liquid culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 31(3), 272–277.

Holt J.G., Kreig N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T. and Williams S.T., (1994). *In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th edition. Williams and Wilkins Co., Baltimore.

Hong H, Samborsky M, Usachova K, Schnatz K, Leadlay PF, Dickschat JS (2017) Sulfation and amidinohydrolysis in the biosynthesis of giant linear polyenes. *Beilstein J Org Chem* 13:2408–2415. <https://doi.org/10.3762/bjoc.13.238>

Hussain AA, Mostafa SA, Ghazal SA, Ibrahim SY (2002) Studies on antifungal antibiotic and bioinsecticidal activities of some actinomycete isolates. *Afr J Mycol Biotechnol* 10:63–80

Hussien, E. T., Shaban, S. A., Ali, O. M., SEEL H., EL-SAYED, N. E. A., SAMIR, Y. ... & MOHAMMED, A. (2021). Chemical profile and antibacterial activity of *Mentha viridis* L. essential oils and ethanolic extract. *Journal of Agricultural and Crop Research*, 9(2), 34-39

Hwang B.K., Lim S.W., Kim B.S., Lee J.Y., Moon S.S. (2001). Isolation *In Vivo* and *In Vitro* of Antifungal Activity of Phenylacetic Acid and Sodium Phenylacetate from *Streptomyces humidis*. *Applied and Environmental Microbiology*, (67), 3739-3745.

Imade C, Okami Y (1995) Characteristics of marine actinomycete isolated from a deep-sea sediment and production of beta-glucosidase inhibitor. *J Mar Biotechnol* 2:109–113

Inui, T., Wang, Y., Deng, S., Smith, D. C., Franzblau, S. G., & Pauli, G. F. (2007). Counter-current chromatography based analysis of synergy in an anti-tuberculosis ethnobotanical. *Journal of Chromatography A*, 1151(1-2), 211-215.

Jacque A., (1985). Contribution à l'étude des antifongiques : recherché de nouvelles substances produites par les actinomycétales. Thèse de doctorat d'état en pharmacie Nancy I.

Jain, R., Zaidi, K. U., Parveen, N., Saxena. A (2011). Optimization of Cultural Conditions for the Production of Antibiotic by *Streptomyces* sp. VRY-1. *Recent Research in Science and Technol.*, 3: 81-87. Merrouche, 2012;

Jayaprakashvel M (2012) Therapeutically active biomolecules from marine actinomycetes. *J mod Biotechnol* 1(1):1-7

Jensen P.R., Dwight R.Y., Fenical W. (1991). Distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. *Applied Environment and Microbiology*, 57(4), 1102-1108.

Jiang Z, Guo L, Chen C, Liu S, Zhang L, Dai S, He Q, You X, Hu X, Tuo L, et al. 2015. Xiakemycin A, a novel pyranonaphthoquinone antibiotic, produced by the *Streptomyces* sp. CC8-201 from the soil of a karst cave. *J Antibiot (Tokyo)*. 68:771-774.

Joel, E. L., & Bhimba, V. (2010). Isolation and characterization of secondary metabolites from the mangrove plant *Rhizophora mucronata*. *Asian pacific journal of tropical Medicine*, 3(8), 602-604.

Kämpfer, P., 2012. Genre *Streptomyces* : les Actinobactéries. In: Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M.E., Suzuki, K., Ludwig, W., Whitman, W.B. (Eds.), *Bergey's Manual of System*.

Kang, M. J., Strap, J. L., & Crawford, D. L. (2010). Isolation and characterization of potent antifungal strains of the *Streptomyces violaceusniger* clade active against *Candida albicans*. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 37(1), 35-

Kauffman, C. A., & Carver, P. L. (1997). Antifungal agents in the 1990s: current status and future developments. *Drugs*, 53(4), 539-549.

Kecha M. (1996). Isolement et sélection de deux souches de *Streptomyces* productrices d'antifongiques non polyéniques. Taxonomie; extraction, purification et caractérisation partielle des antibiotiques synthétisés. Thèse de Magister. Université de Tizi Ouzou. Pp 127.

Kelly K.L. and Judd D.B., (1976). *Color. Universal Language and Dictionary of Names* (National Bureau of Standards Special Publication 440). Washington, DC: US Department of Commerce.

Keulen, G.V., Jonkers, H.M., Cloesson, D.L.D., Woston H.A.B. (2003). Differentiation and anaerobiosis in standing liquid cultures of *Streptomyces coelicolor*. *J Bacteriol*, 185 (4): 1455-1458.

Khamna S., Yokota A., Peberdy J.F. and Lumyong S., (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *EurAsia. J. BioSci.*, 4: 23-32.

Kieser T., Bibb, M.J., Buttner, M.J., Chater, K.F. and Hopwood, D.A. (2000). *Practical Streptomyces Genetics*: John Innes Foundation, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UH, UK.

Killian CH., Feher D., (1939). Microbiology of desert soils. Encyclopedie Biologique, pp: 21-127.

Kim C., Lee K., Kwon O., Yoo I. and Shimazu A. (1994). Selective isolation of actinomycetes by physical pretreatment of soil sample Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 22, 222–225.

Kitouni, M. (2021). Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés à partir de trois sites Ramsar situés au niveau de la Wilaya d'Oum El Bouaghi (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).

Kitouni M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat en Microbiologie appliquée. Université Mentouri-Constantine. Algérie, P.170.

Kitouni M., Boudemagh A., Oulmi L., Reghioua S., Boughachiche F., Zerizer H., Hamdiken H, Couble A, Mouniee D, Boulahrouf A, Boiron P (2005). Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north east of Algeria. Journal of Medical Mycology, 15(1), 45-51.

Komoda, K., Naito, S., Ishikawa, M. (2004). Replication of plant RNA virus genomes in a cell-free extract of evacuated plant protoplasts. Proc Natl Acad Sci USA 101, 1863–1867.

Kosalec, I., Klarić, M. Š., & Pepeljnjak, S. (2007). Antifungal activity of 2-phenylethanol and levomenthol against molds from indoor air and damp dwellings. Planta Medica, 73(09), P_11.

Koshy, G., Wilkinson, A., Harmsworth, A., & Waldmann, C. S. (1997). Intensive care unit follow-up program at a district general hospital. Intensive Care Medicine, 23, S160.

Kumar R, Biswas K, Soalnki V, Kumar P, Tarafdar A (2014) Actinomycetes: potential bioresource for human welfare: a review. Res J Chem Environ Sci 2(3):5–16

Kumar S., Kannabiran K., (2010). Antifungal activity of *Streptomyces* VITSVK5 spp. Against drug resistant *Aspergillus* clinical isolates from pulmonary tuberculosis patients. J. Mycol. Med., 20: 101-107.

Kumar, V., Bharti, A., Gusain, O., & Bisht, G. S. (2011). Scanning electron microscopy of *Streptomyces* without use of any chemical fixatives. Scanning, 33(6), 446-449.

Kumari, N., Menghani, E., & Mithal, R. (2020). Bioactivity Assessment of potentially active Actinomycetes from Rhizospheric Soil. Journal of Scientific & Industrial Research . 79(08), 712-716.

Kundu S, Sahu MK, Sivakumar K, Kannan L (2006) Occurrence of antagonistically active extra-cellular enzyme producing actinomycetes in the alimentary canal of estuarine fishes. Asian J Microbiol Biotech Envi Sci 8: 707–710

Kundu, B. S., Nandal, S., Tiwari, M. and Tomar, M. (2006). Establishment and influence of phosphate solubilizing bacteria on pearl millet. Indian J. Pl. Physiol 11(2), 201-205.

Kurapova I, Zenova GM, Sudnitsyn II et al (2012) Thermotolerant and thermophilic actinomycetes from soils of Mongolia Desert steppe zone. *Microbiology* 81: 98-108.

Kuster, E. (1968). Taxonomy of soil actinomycetes and related organisms. Ecology of soil bacteria. Liverpool University press, Liverpool, 322-336.

Labeda D.P. and Kroppenstedt R.M., (2000). Phylogenetic analysis of *Saccharothrix* and related taxa: proposal for *Actinosynnemataceae* fam. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50: 331-336.

Lacey J. and Cross T., (1989). Genus *Thermoactinomyces* Tsiklinsky 1989, 501 L. *In* : “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” Williams S.T., Sharpe M.E & Holt J.G (Eds). Baltimore: Williams & Wilkins., 4: 2574-2585.

Lamari L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d’actinomyète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat d’Etat, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, p.186. Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Lamari L., Zitouni A., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Lebrihi A., Lefebvre G., Seguin E. and Tillequin F., (2002a). New dithiolopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *Journal of Antibiotics*, 55: 696-701.

Lamari L., Zitouni A., Dob T., Sabaou N., Lebrihi A., Germain P., Seguin E. et Tillequin F., (2002b). New dithiolopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. II. Physicochemical properties and structure elucidation. *Journal of Antibiotics*, 55(8), 702–707.

Larpent J.P., Sanglier J.J. (1989). Biotechnologies des antibiotiques. Masson. Paris, 481 p

Larpent-Gourgaud, M. et Sanglier, J.J. (1992). Biotechnologie. Principes et méthodes. Doin éditeurs. Paris. France.

Lemriss, S., Laurent, F., Couble, A., Casoli, E., Lancelin, J. M., Saintpierre-Bonaccio, D., ... & Boiron, P. (2003). Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Canadian journal of microbiology*, 49(11), 669-674.

Le Minor, J. M., & Kahn, J. L. (1989). History of anatomy in Strasbourg. *Archives d’anatomie, d’histologie et d’embryologie normales et expérimentales*, 72, 125-155.

Lechevalier H.A., (1970b). Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 20: 435-443.

Lechevalier H.A., and Lechevalier M.P. (1981). Introduction to the order Actinomycetales. *In*: The procaryotes, Eds : Starr M. P., H. Stolp, H. G. Truper, A. Ballows and H. G. Schlegel. Springer- Verlag. Berlin, 2, 1915-1922.

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

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

- Lee L-H, Cheah Y-K, Mohd Sidik S, Ab Mutalib N-S, Tang Y-L, Lin H-P, Hong K. 2012. Molecular characterization of Antarctic actinobacteria and screening for antimicrobial metabolite production. *World J Microbiol Biotechnol.* 28:2125–2137.
- Lee, J.Y., Hwang, B. K. (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Can J Microbiol*, 48(5): 407–417.
- Lemnor L., Veron M., (1989). *Bacteriologie médicale*. 2 ème édition. pp 335-349.
- Lemriss S., Laurent F., Couble A., Casoli E., Lancelin J.M., saintpierre-Bonaccio D., Rifali S., Fassouane A., Boiron P., (2003). Screening of non polyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Canadian Journal Microbiology*, 2003 Nov., 49(11), 669-74. Wu, 1984
- Lewin, G. R., Carlos, C., Chevrette, M. G., Horn, H. A., McDonald, B. R., Stankey, R. J., Currie, C. R. (2016). Evolution and ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications. *Annual review of microbiology*, 70, 235-254.
- Li, F., Maskey, R.P., Qin, S., Sattler, I., Fiebig, H.H., Maier, A. (2005). Chinikomycins A and B: Isolation, structure elucidation, and biological activity of novel antibiotics from a marine *Streptomyces* sp. Isolate M045. *J Nat Prod* 68(3), 349–53.
- Lobel B., & Soussy C. (2007). *Les infections urinaires*. Springer. <http://books.google.calbooks?id=N3pOjLWLObsC>.
- Locci R., (1994). Actinomycetes as plant pathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 100: 179-200. Peltola J.S.P., Anderson M.A., Kampfer P., Auling G., Kropensstedt R.M., Busse H.J.,
- Lyons, A.J., Pridham T.G. (1971). *Streptomyces torulosus* sp. n., an unusual knobby-spored taxon. *Appl Microbiol*, 22(2): 190–3.
- Mahajan GB, Balachandran L (2012) Antibacterial agents from actinomycetes - A review. *Front Biosci* 4: 240-53.
- Majhool, A. A., Idris, H., Hakimi, W. M. N., & Abdullah, M. D. D. (2021). Chemical Compounds and Antimicrobial Activities of Actinomycetes Isolates from BRIS Soil. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(9), 4783-4788.
- Mameri N., Boudries N., Addour L., Belhocine D., Lounici H., Grib H. And Pauss A., 1999 Batch Zinc Biosorption By A Bacterial non living *Streptomyces rimosus* biomass. *Wat. Res.*, pp. 1347-1354, 1999.
- Manivasagana P, Venkatesan J, Sivakumar K, Kim S (2014) Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiol Res* 169(40):262–278. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.014>
- Mao Y, Varoglu M, Sherman DH (1999) Molecular characterization and analysis of the biosynthetic gene cluster for the antitumor antibiotic mitomycin C from *Streptomyces lavendulae* NRRL 2564. *Chem Biol* 6(4):251–263. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(99\)80040-4](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(99)80040-4)
- Marchal, N., Bourdon, J. L. (1991). *Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries: Biologie appliquée. SL: Nouvelle édition.*

Marchese, A.; Arciola, C.R.; Barbieri, R.; Silva, A.S.; Nabavi, S.F.; Tsetegho Sokeng, A.J.; Izadi, M.; Jafari, N.J.; Suntar, I.; Dagila, M.; et al. Update on monoterpenes as antimicrobial agents: A particular focus on p-cymene Materials 2017, 10, 947. [CrossRef] [PubMed]

Margalith, P. Z. (1992). Pigment microbiology (pp. 1-156). London: Chapman & Hall.

Mariat F., Sebald M., (1990). « Les actinomycètes » Dans : Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-science. Flammarion, France

Matan N and Matan N., (2008). Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (*Hevea brasiliensis*). International Biodeterioration & Biodegradation, 62: 75-78.

Mazodier J. (1974). Sociétés industrielles et déchets solides. *Sciences et Vie*, 106, 109-115. 205. McCormick J.R., Flärdh K. (2012). Signals and regulators that govern *Streptomyces* development. *FEMS Microbiology Reviews* 2012 Jan,36(1), 206-31.

Meklat A. (2012). Taxonomie et potentiel antagoniste des actinomycètes halophiles des sols sahariens et mise en évidence de nouvelles espèces d'actinopolyspora .Thèse de Doctorat en sciences biologiques, spécialité: Microbiologie. Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Pp. 40- 48.

Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.P., Sabaou N., (2013). *Actinopolyspora righensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from Saharan soil in Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*. Doi: 10.1007/s10482-012-9859-z

Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.P. and Sabaou N., (2012). *Actinopolyspora algeriensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil. *Extremophiles*, 16: 771-776.

Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS microbiology reviews*, 37(5), 634-663.

Merrouche R., Bouras N., Coppel Y., Mathieu F., Monje M.C., Sabaou N., Lebrihi A. (2010). Dithiopyrrolone antibiotic formation induced by adding valeric acid to the culture broth of *Saccharothrix algeriensis*. *Journal of Natural Products*, 73, 1164–1166.

Messis A., 2014. Isolement et criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non polyéniques. Thèse de doctorats, Université de Bejaia. 182p. *Microbiol* 59: 3899-905.

Mohamed, H., Miloud, B., Zohra, F., García-Arenzana, J. M., Veloso, A., & Rodríguez-Couto, S. (2017). Isolation and characterization of actinobacteria from Algerian Sahara soils with antimicrobial activities. *International journal of molecular and cellular medicine*, 6(2), 109.

Mohammadipanah F, Wink J (2015) Actinobacteria from arid and Desert habitats: Diversity and biological activity. *Front Microbiol* 6: 1541.

- Moncheva, P., Tishkov, S., Dimitrova, N., Chipeva, V., Antonova-Nikolova, S., & Bogatzevska, N. (2002). Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica.
- Moore BS, Trischman JA, Seng D, Kho D, Jensen PR, Fenical W (1999) Salinamides, antiinflammatory depsipeptides from a marine streptomycete. *J Organomet Chem* 64(4):1145–1150. <https://doi.org/10.1021/jo9814391>
- Morens DM, Folkers GK, Fauci AS (2004) The challenge of emerging and reemerging infectious diseases. *Nature* 430(6996):242–249. <https://doi.org/10.1038/nature02759>
- Murugan, M., Srinivasan, M., Sivakumar, K., Sahu, M. K., & Kannan, L. (2007). Characterization of an actinomycete isolated from the estuarine finfish, *Mugil cephalus* Lin.(1758) and its optimization for cellulase production.
- Murugan, S., Anand, R., Uma, D.P., Vidhya, N., Rajesh, K.A. (2007). Efficacy of *Euphobia milli* and *Epulcherrima* on aflatoxin producing fungi (*Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*). *Afric. J Biotech* 6(6),718 –719.
- Nafis, A., Oubaha, B., Azmani, A., Samri, S. E., Niedermeyer, T., Hassani, L., & Barakate, M. (2017). Novonestmycines A et B, deux dérivés d'antifongiques non polyéniques nouvellement produits par *Streptomyces* sp. Z26. *Journal de mycologie médicale*, 27(3), e44.
- Nakamura H, Iitaka Y, Kitahara T, Okazaki T, Okami Y (1977) Structure of aplasmomycin. *J Antibio* 30(9):714–719. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.30.714>
- Nanjawade, B.K., Chandrashekhara, S., Ali, M.S., Prakash, S.G., Fakirappa, V.M. (2010). Isolation and morphological characterization of antibioticproducing Actinomycetes. *Trop J Pharm Res* 9, 231-6.
- Nanjwade, B., Chandrashekhara, S., Goudanavar, P., Shamarez, A., & Manvi, F. (2010). Production of antibiotics from soil-isolated actinomycetes and evaluation of their antimicrobial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(4).
- Narendhran, S., Rajiv, P., Vanathi, P., & Sivaraj, R. (2014). Spectroscopic analysis of bioactive compounds from *Streptomyces cavouresis* kuv39: Evaluation of antioxidant and cytotoxicity activity. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 6, 319-322.
- Nazir, M., Saleem, M., Tousif, M. I., Anwar, M. A., Surup, F., Ali, I., ... & Hussain, H. (2021). Meroterpenoids: a comprehensive update insight on structural diversity and biology. *Biomolecules*, 11(7), 957.
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2016). Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of natural products*, 79(3), 629-661.
- Nithya K., Muthukumar C., Duraipandiyan V., Dhanasekaran D., Thajuddin N.(2015). Diversity and antimicrobial potential of culturable Actinobacteria from desert soils of Saudi Arabia. *Journal of Pharmaceutical Science Research*, 7(3), 117-122.
- Nouasri A., (1996). Les genres *Microellobosporia*, *Saccharomonospora*, *Thermoactinomyces* et *Thermomonospora* (Actinomycetales) dans les sols sahariens : Taxonomie numérique, production, purification et caractérisation partielle des principaux antibiotiques. Thèse de Magister. Pp 130.

- Nouredine-Lamari, L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis* (Doctoral dissertation, Tizi-Ouzou).
- Park, Y. J., Baskar, T. B., Yeo, S. K., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Lim, S. S., & Park, S. U. (2016). Composition of volatile compounds and in vitro antimicrobial activity of nine *Mentha* spp. *SpringerPlus*, 5(1), 1-10.
- Passari, A. K., Chandra, P., Leo, V. V., Mishra, V. K., Kumar, B., & Singh, B. P. (2017). Production of potent antimicrobial compounds from *Streptomyces cyaneofuscatus* associated with fresh water sediment. *Frontiers in microbiology*, 8, 68.
- Passari, A. K., Mishra, V. K., Gupta, V. K., & Singh, B. P. (2018). Methods used for the recovery of culturable endophytic actinobacteria: an overview. *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*, 1-11.
- Pathom-Aree, W., Nogi, Y., Sutcliffe, I. C., Ward, A. C., Horikoshi, K., Bull, A. T., & Goodfellow, M. (2006). *Dermaococcus abyssi* sp. nov., a piezotolerant actinomycete isolated from the Mariana Trench. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56(6), 1233-1237.
- Pathom-Aree, W., Stach, J. E., Ward, A. C., Horikoshi, K., Bull, A. T., & Goodfellow, M. (2006). Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10,898 m) from the Mariana Trench. *Extremophiles*, 10, 181-189.
- Peela S., Kurada B., Terli R. (2005). Studies on antagonistic marine actinomycetes from the Bay of Bengal. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(4), 583-585.
- Perry J.J., Staley J.T., et Lory S. (2004). *Microbiologie*. Paris, Dunod. Pp. 497–498.
- Persello-Cartieaux F, Nussaume L, Robaglia C (2003) Tales from the underground: molecular plant–rhizobacteria interactions. *Review. Plant Cell Environ* 26(2):189–199. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.00956.x>
- Petrova, D.H., Shishkov S.A., and Vlahov, S.S. (2006). Novel thermostable serine collagenase from *Thermoactinomyces* sp. 21E: purification and some properties,” *J Basic Microbiol* 46, 275-285.
- Pfefferle, C., Theobald, U., Gürtler, H., & Fiedler, H. P. (2000). Improved secondary metabolite production in the genus *Streptosporangium* by optimization of the fermentation conditions. *Journal of biotechnology*, 80(2), 135-142.
- Pillmoor J.B. (1998). Carbocyclic coformycin: a case study of the opportunities and pitfalls in the industrial search for new agrochemicals from nature. *Journal of Pesticide Science*, 52(1), 75-80.
- Prakash D, Nawani N, Prakash M, Bodas M, Mandal A, Khetmalas M, Kapadnis B (2017) Actinomycetes: a repertory of green catalysts with a potential revenue resource. *BioMed Res Inter*:1–8. <https://doi.org/10.1155/2013/264020>
- Prescott L.M., Harley and Klein. (2002). *VIII Ecology and Symbiosis* .In *Microbiology*.Fifth edition.The McGraw–Hill Companies, p. 596-697.
- Prescott, Willey J., Sherwood L. M., Woolverton C., (2013). *Microbiologie*. 4^{ème} édition, de boeck, Paris, 1070p.

Priyadharsini P., Dhanasekaran D., Kanimozhi B.(2013). Isolation and structural characterization of N-(naphthalene-1-yl) Propanamide, a herbicidal compound from *Streptomyces* sp. KA1-3. In: Microbiological Research in Agroecosystem Management (Rajesh Kannan Eds), p. 187-195. Springer, India. Properties, second ed. American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, Madison. Pp. 969–987.

Qin S., Zhao G. Z., Li J., Zhu W. Y., Xu L. H. and Li W. J., (2009). *Actinomadura flavalba* sp. nov., an endophytic actinomycetes isolated from leaves of *Maytenus austroyunnanensis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59: 2453-2457.

Raherimandimby, M. selection and characterization of bioactive actinomycetes associated with the medicinal plant ginger (*zingiberofficinale*) onja andriambelason* rado rasolomampianina. Williams, S. T., & Cross, T. (1971). Chapter XI actinomycetes. In *Methods in microbiology* (Vol. 4, pp. 295-334). Academic press.

Rahman M.A., Islam, M.Z., et Islam M.A. (2011). Antibacterial Activities of Actinomycete Isolates Collected from Soils of Rajshahi, Bangladesh. *Biotechnology Research International*, 2011, 1-6.

Rainey F.A., Ward-Rainey N., Kroppenstedt R.M. and Stackebrandt (1996). The genus *Nocardiopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycetes lineage proposal of *Nocardiopsaceae* fam. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46: 1088-1092.

Raja S (2007) Screening of microbial amylase enzyme inhibitors from marine actinomycetes. M.Sc., dissertation. Annamalai University, India, p 40

Ramteke, A. M., Ganatra, S. H., & Gour, P. B. (2019, May). Chemical composition of acetone extract of coriandrum sativum seeds using GC-MS analysis. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2104, No. 1, p. 020045). AIP Publishing LLC.

Rapilly, F. (1968). *Les techniques de mycologie en pathologie végétale*.

Rashad, F. M., Fathy, H. M., El-Zayat, A. S., & Elghonaimy, A. M. (2015). Isolation and characterization of multifunctional *Streptomyces* species with antimicrobial, nematicidal and phytohormone activities from marine environments in Egypt. *Microbiological research*, 175, 34-47.

Raymond, T. S., Justin, D., Majeste, P., Collins, Y. N. T., Raymond, F., Thérèse, N. O., ... & François, T. (2022). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 11(03), 31-330."

Reichl, U., King, R., Gilles, E.D. (1992). Characterization of pellet morphology during submerged growth of *Streptomyces tendae* by image analysis. *Biotechnol Bioeng*, 39(2): 164–170.

Renvoise A., Roux V., Raoult D. *Actinomyces timonensis* sp. nov., isolated from a patient osteo- articular sample. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2010 Jul, 60(Pt 7), 1516-21.

Renvoise A., Roux V., Raoult D. *Actinomyces massiliensis* sp. nov., isolated from a patient blood culture. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2009. Mars, 59(Pt 3), 540- 04.

Saadoun I., and Muhana A. (2008). Optimal production conditions, extraction, partial purification and characterization of inhibitory compound(s) produced by

Streptomyces Ds-104 isolate against multi- drug resistant Candida albicans. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy - Journals.2 (2), 402– 420.

Sabaou, N., Boudjella, H., Bennadji, A., Mostefaoui, A., Zitouni, A., Lamari, L., Bennadji H., Lefebvre G., and Germain, P. (1998). Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes, rares producteurs d'antibiotiques. Science et changements planétaires/Sécheresse, 9(2), 147-153.

Sabaou, N.; Hacène, H.; Bennadji, A.; Bennadji, H.; Bounaga, N., 1992. Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons des sols de surface et profonds d'une palmeraie algérienne. *Can. J. Microbiol* 38, 1066–1073.

Sahu MK, Swarnakumar NS, Sivakumar K, Thangaradjou T, Kannan L (2008) Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. *Indian J Microbiol* 48(3):299–308. <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0024-3>

Sahu, M.K., Sivakumar, K., Poorani, E., Thangaradjou, T., & Kannan, L. (2007). Studies on L-asparaginase enzyme of actinomycetes isolated from estuarine fishes, *Journal of Environmental Biology*, 28(2), 465-474.

Salkinoja-Salonen M.S. and Rainey F.A., (2001). Isolation of toxigenic *Nocardioopsis* strains from indoor environments and description of two new *Nocardioopsis* species, *N. exhalans* sp.nov. and *N. umidischholae* sp. nov. *Appl. Env. Microbiol.*, 67: 4293-4304.

Sathi ZS, Sugimoto N, Khalil MI, Gafur MA (2002) Isolation of yellowish antibiotic pigment 4-hydroxy nitrobenzene from a strain of Streptomyces. *Pak J Biol Sci* 52(2):201–203. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2002.201.203>

Scherr N., and Nguyen L., 2009. *Mycobacterium* versus *Streptomyces* we are different, we are the same. *Current opinion in microbiology*, 12(6), 699-707.

Scorzoni, L., Benaducci, T., Almeida, A. M. F., Silva, D. H. S., Bolzani, V. D. S., & Gianinni, M. J. S. M. (2007). The use of standard methodology for determination of antifungal activity of natural products against medical yeasts *Candida* sp and *Cryptococcus* sp. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 391-397.

Selatnia A., Boukazoula A., Kechid N., Bakhti M.Z., Chergui A., Kerchicy.,2004a . Biosorption of lead (II) from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Biochemical Engineering Journal* 19 (2004a) 127–135.

Selatnia A., Boukazoula A., Kechid N., Bakhti M.Z., Chergui A.,2003. Biosorption of Fe³⁺ from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Process Biochemistry* 39 (2003) 1643–1651.

Selatnia A., Madani A., Bakhti M.Z., Kertous L., Mansouri Y., Yous R.,2004. Biosorption of Ni²⁺ from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Minerals Engineering* 17 (2004 b) 903–911.

Selvakumar, D., Arun, K., Suguna, S., Kumar, D., & Dhevendaran, K. (2010). Bioactive potential of *Streptomyces* against fish and shellfish pathogens. *IRAN. J. MICROBIOL.*, 2(3), 157-164.

Sermakkani, M and Thangapandian, V. (2012). Gc-Ms Analysis of Cassia ita.lica Leaf Methanol extract. *Asian J Pharm Clin Res*, 5(2), 90-94

Shaala, L. A., Youssef, D. T., Alzughabi, T. A., & Elhady, S. S. (2020). Antimicrobial chlorinated 3-phenylpropanoic acid derivatives from the Red Sea marine actinomycete *Streptomyces coelicolor* LY001. *Marine drugs*, 1(9), 450.

Sharma M, Dangi P, Choudhary M (2014) Actinomycetes: source, identification, and their applications. *Int J Curr Microbiol App Sci* 3(2):801–832

Sharma, S.L., and Pant, A. (2001). Crude oil degradation by a marine actinomycete *Rhodococcus* sp. *Indian J. mar. Sci* 30, 146-150.

Sharon, F. B., Kalidass, S., Daniel, R.R. (2013). Qualitative analysis of antimicrobial compound by high performance thin layer chromatography method. *Asian J Pharm Clin Res*, 6(4), 117-20.

Sheldon PJ, Mao Y, He M, Sherman DH (1999) Mitomycin resistance in *Streptomyces lavendulae* includes a novel drug-binding-protein-dependent export system. *J Bacteriol* 181(8):2507–2512. <https://doi.org/10.1128/JB.181.8.2507-2512.1999>

Shirling E.B., Gottlieb D. (1976). Retrospective evaluation of International *Streptomyces* Project taxonomy criteria, in: *Actinomycetes the boundary microorganisms*. Ed : Arai T. Tokyo. 9- 42.

Shirling, E. T., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International journal of systematic bacteriology*, 16(3), 313-340.

Shirling, E.B., et Gottlieb, D. (1966). Retrospective evaluation of international *Streptomyces* project taxonomic criteria- the *Boundary Microorganisms*. Toppan Printing Co Ltd., 161, 9–41.

Shirokikh IG, Shirokikh AA (2017) Soil actinomycetes in the national forest park in northeastern China. *Eurasian Soil Sc* 50: 78.

Shu, H.; Chen, H.; Wang, X.; Hu, Y.; Yun, Y.; Zhong, Q.; Chen, W.; Chen, W. Antimicrobial Activity and Proposed Action Mechanism of 3-Carene against *Brochothrix thermosphacta* and *Pseudomonas fluorescens*. *Molecules* 2019, 24, 3246. [CrossRef] [PubMed]

Silini, S.; Ali-Khodja, H.; Boudemagh, A.; Terrouche, A.; Bouziane, M. 2015, Isolation and preliminary identification of actinomycetes isolated from a wastewater treatment plant and capable of growing on methyl ethyl ketone as a sole source of carbon and energy. *Desalin. Water Treat.* 57, 12108–12117.

Singh B, Gupta V, Passari A. 2018. New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. *Actinobacteria: diversity and biotechnological applications*. Amsterdam, Oxford, Cambridge: Elsevier.

Sivakumar, K., Sahu, M.K., Thangaradjou, T. and Kannan, L. (2007). Research on marine actinobacteria in India. *Indian J. Microbiol* 47, 186-196.

Sivakumar, K., Sahu, M.K., Thangaradjou, T. and Kannan, L. (2007). Research on marine actinobacteria in India. *Indian J. Microbiol* 47, 186-196.

Slavica, I. B., Konstantinović, S. S., & Todorović, Z. B. (2005). UV/VIS analysis and antimicrobial activity of *Streptomyces* isolates. *Facta universitatis series: Med Biol*, 12, 44-46.

Smaoui S., (2010). Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. en vue de l'obtention du doctorat. Toulouse : 22p.

Solecka J, Ziemska J, Rajnisz A, Laskowska A, Guśpiel A. 2013. Promieniowce – Występowanie i wytwarzanie związków biologicznie czynnych. *Postep Mikrobiol.* 52:83–91.

Song J., Weon H.Y., Yoon S.H., Parrk D.S., GoS G., Suh J.W. (2001). Phylogenetic diversity of thermophilic actinomycetes and Thermoactinimycetes isolated from mushroom composts in Korea based on 16S RNA gene sequence analysis. *FEMS Microbiology Letters* , 202, 97-102.

Song, Y., Liu, G., Li, J., Huang, H., Zhang, X., Zhang, H., & Ju, J. (2015). Cytotoxic and antibacterial angucycline-and prodigiosin-analogues from the deep-sea derived *Streptomyces* sp. SCSIO 11594. *Marine drugs*, 13(3), 1304-1316.

Soria-Mercado IE, Prieto-Davo A, Jensen PR, Fenical W (2005) Antibiotic terpenoidchlorodihydroquinones from a new marine actinomycete. *J Nat Prod* 68(6):904–910. <https://doi.org/10.1021/np058011z>

Souagui, S.; Djoudi, W.; Boudries, H.; Béchet, M.; Leclère, V.; Kecha, M. 2019. Modeling and statistical optimization of culture conditions for improvement of antifungal compounds production by *Streptomyces albidoflavus* S19 strain of wastewater origin. *Anti Infect. Agents.* 17, 39–49. *Antibiotics*, 8, 172 19 of 23

Souagui, Y.; Tritsch, D.; Grosdemange-Billiard, C.; Kecha, M. 2015. Optimization of antifungal production by an alkaliphilic and halotolerant actinomycete, *Streptomyces* sp. SY-BS5, using response surface methodology. *J. Mycol. Med.* 25, 108–115.

Srinivasan, M.C. Laxman, R.S. . Deshpande, M.V. (1991) .Physiology and nutrition aspects of actinomycetes e an overview, *World J. Microb. Biotechnol.* 7 171e184

Stackebrandt E. and Gorbel B.M., (1994). Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present spaces definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44: 846-849.

Stackebrandt E. and Woese C.R., (1981). The evolution of prokaryotes. *Symposia of the Society for General Microbiology*, 32: 1-31.

Staneck, J. L., & Roberts, G. D. (1974). Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. *Applied microbiology*, 28(2), 226-231.

Staufenberger T., Thiel V., Wiese J., Imhoff J.F. (2008). Phylogenetic analysis of bacteria associated with *Laminaria saccharina*. *FEMS Microbiology Ecology* , 64, 65–77.

Stutzenberger FJ (1987) Inducible thermoalkalophilic polygalacturonate lyase from *Thermomonospora fusca*. *J Bacteriol* 169(6):2774–2780. <https://doi.org/10.1128/jb.169.6.2774-2780.1987>

Su, Y. C., Hsu, K. P., Wang, E. I. C., & Ho, C. L. (2015). Composition, in vitro cytotoxic and antimicrobial activities of the flower essential oil of *Diospyros*

discolor from Taiwan. *Natural Product Communications*, 10(7), 193457X1501000744.

Sun Z, Lu W, Liu P, Wang H, Huang Y, Zhao Y (2015) Isolation and characterization of a proteinaceous α -amylase inhibitor AAI-CC5 from *Streptomyces* sp. CC5, and its gene cloning and expression. *Antonie Van Leeuwenhoek* 107(2):345–356. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0333-y>

Sun, X.; Wang, J.C.; Li, H.T.; Du, G.C.; Guo, D.S. A study on the antibacterial mechanism of rosmarinic acid. *J. Qingdao Univ. (Nat. Sci.)* 2005, 1, 41–45.

Sundarapandian S, Sundaram MD, Tholkappian P, Balasubramanian V (2002) Mosquitocidal properties of indigenous fungi and actinomycetes against *Culex quinquefasciatus* say. *J Biol Control* 16:89–91

Suntar, I.; Dagila, M.; et al. Update on monoterpenes as antimicrobial agents: A particular focus on p-cymene. *Materials* 2017, 10, 947. [CrossRef] [PubMed]

Suwan N., Boonying W., et Nalumpang S.(2012). Antifungal activity of soil actinomycetes to control chilli anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Journal of Agricultural Technology*, 8(2), 725-737.

Suzuki K., Nagai K., Shimizu Y. and Suzuki Y., (1994). Search for actinomycetes inscreening for new bioactive compounds. *Actinomycetologica*, 8: 122-127.

Takizawa M., Colwell R.R., & Hill, R.T. (1993). Isolation and diversity of actinomycetes in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 997–1002.

Tamura, S., Park, Y., Toriyama, M., Okabe, M. (1997). Change of mycelial morphology in tyrosin production by batch culture of *Streptomyces fradiae* under various shear conditions. *J Ferment Bioeng*, 83(6): 523–528.

Tan, L. T. H., Chan, K. G., Khan, T. M., Bukhari, S. I., Saokaew, S., Duangjai, A., ... & Goh, B. H. (2017). *Streptomyces* sp. MUM212 as a source of antioxidants with radical scavenging and metal chelating properties. *Frontiers in pharmacology*, 8, 276.

Teruel, M. A., Gontier, E., Bienaime, C., Saucedo, J. N., & Barbotin, J. N. (1997). Response surface analysis of chlortetracycline and tetracycline production with K-carrageenan immobilized *Streptomyces aureofaciens*. *Enzyme and microbial technology*, 21(5), 314-320.

Thakur D., Yadav A., Gogoi B.K, and Bora T.S., (2007). Isolation and screening *Streptomyces* in soil from areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. *J. Med Microbiol.*, 17: 242-249.

Thampayak I, Cheeptham N, Wasu P, Pimporn L, Saisamorn L (2008) Isolation and identification of biosurfactant producing actinomycetes from soil. *Res J Microbiol* 3(7):499–507. <https://doi.org/10.3923/jm.2008.499.507>

Thompson CJ, Fink D, Nguyen LD (2002) Principles of microbial alchemy: insights from the *Streptomyces coelicolor* genome sequence. *Genome Biol*3(7):1020.1–1020.4. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-7-reviews1020>

Tighidet, S. (2011). Caractérisation d'antifongiques non polyéniques produits par des souches d'actinomycètes et essai d'optimisation de leurs milieux de production (Doctoral dissertation, univ-bouira. dz; université bouira; univ bouira).

Toumatia O., Yekkour A., Goudjal Y., Riba A., Coppel Y., Mathieu F., Sabaou N., Zitouni A. (2014). Antifungal properties of an actinomycin D-producing strain, *Streptomyces* sp. IA1, isolated from a Saharan soil. *Journal of Basic Microbiology*, 54, 1–8.

Toumatia, O., Yekkour, A., Goudjal, Y., Riba, A., Coppel, Y., Mathieu, F., ... & Zitouni, A. (2015). Antifungal properties of an actinomycin D-producing strain, *Streptomyces* sp. IA1, isolated from a Saharan soil. *Journal of basic microbiology*, 55(2), 221-228.

Tresner, H. D., Davies, M. C., & Backus, E. J. (1961). Electron microscopy of *Streptomyces* spore morphology and its role in species differentiation. *Journal of Bacteriology*, 81(1), 70-80.

Trujillo M.E. and Goodfellow M., (1997). Polyphasic taxonomic study of clinical significant actinomadurae including the description of *Actinomadura*. *Latina sp. Nov Zentralbl. Bakteriologie*, 285: 212-233

Turgumbayeva, A., Akhanova, Z., Kalykova, A., Zhakipbekov, K., Kartbayeva, E., Zhaparkulova, K., Mombekov, S. (2021). Antimicrobial Activity of Hybrid Zea Mays L. Essential Oil/Nanoparticles. *Journal of Nanostructures*.(4): 1455–1458

Umamaheswary, K., Sahu, M.K., Sivakumar, K., Thangaradjou, T., Sumitha, D., Kannan, L. (2005). Investigations on L-glutaminase producing actinomycetes strain LG-33 from the estuarine fish, *Mugilcephalus* (Linnaeus, 1758). *Environ. Ecol* 23, 942-947

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.

Valanarasu M., Duraipandiyan V., Agastian P., Ignacimuthu S., (2009). In vitro antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. ERI-3 isolated from Western Ghats rock soil (India). *J. Mycol. Med.*, 19: 22-8.

Valanarasu M., Kannan P., Ezhilvendan S., Ganesan G., Ignacimu-thu S., Agastian P., (2010). Antifungal and antifeedant activities of extracellular product of *Streptomyces* spp. ERI-04 isolated from Western Ghats of Tamil Nadu. *J. Mycol. Med.*, 20: 290-297.

Valli, S., Suvathi, S. S., Aysha, O. S., Nirmala, P., Vinoth, K. P., & Reena, A. (2012). Antimicrobial potential of Actinomycetes species isolated from marine environment. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(6), 469-473.

Vignardet C, Guillaume YC, Friedrich J, Millet J (1999) A first order experimental design to assess soluble proteins released by a new keratinase from *Doratomyces microsporus* on human substrates. *Int J Pharm* 191(2):95–102. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(99\)00283-5](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(99)00283-5)

Vijayakumar, R., Muthukumar, C., Thajuddin, N., Panneerselvam, A., & Saravanamuthu, R. (2007). Studies on the diversity of actinomycetes in the Palk Strait region of Bay of Bengal, India. *Actinomycetologica*, 21(2), 59-65.

Volesky B., 2001. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century, *Hydrometallurgy*, 59(2001) 203–216.

Wakefield, J., Hassan, H. M., Jaspars, M., Ebel, R., & Rateb, M. E. (2017). Dual induction of new microbial secondary metabolites by fungal bacterial co-cultivation. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1284.

Waksman S.A. (1961). *The Actinomycetes. Volume 2: Classification, identification and descriptions of genera and species.* Williams and Wilkins Co., Baltimore.

Walker, J. D., & Colwell, R. R. (1975). Factors affecting enumeration and isolation of actinomycetes from Chesapeake Bay and Southeastern Atlantic Ocean sediments. *Marine Biology*, 30(3), 193-201.

Watson E.T., Williams S.T. (1974). Studies on the ecology of actinomycetes in soil. VII. Actinomycetes in a coastal sand belt. *Soil Biol. Biochem.* 6, 43-52.

Wauters, G., Avesani, V., Charlier, J., Janssens, M., Vanechoutte, M., & Delmée, M. (2005). Distribution of *Nocardia* species in clinical samples and their routine rapid identification in the laboratory. *Journal of clinical microbiology*, 43(6), 2624-2628.

Wawrik B, Kutliev D, Abdivasievna UA, Kukor JJ, Zylstra GJ, Kerkhof L (2007) Biogeography of actinomycete communities and type II polyketide synthase genes in soils collected in New Jersey and Central Asia. *Appl Environ Microbiol* 73(9):2982–29894. <https://doi.org/10.1128/aem.02611-06>

Wayne L., Brenner D. J., Colwell R. R., Grimont P. A. D., Kandler O., Krichevsky M. I., Moore L. H. Moore W. E. C., Murray R. G. E., Stackbrandt E., Starr M. P., Truper H. G., (1987). Report from the Ad Hoc committee on reconciliation of approaches to bacteriasystematic, *Int J. Syst. Bacteriol*, 37: 463-464.

Wei Y, Fang W, Wan Z, Wang K, Yang Q, Cai X, Shi L, Yang Z (2014) Antiviral effects against EV71 of pimprinine and its derivatives isolated from *Streptomyces* sp. *Virol J* 11(1):195–209. <https://doi.org/10.1186/s12985-014-0195-y>

Weibel EK, Hadvary P, Hochuli E, Kupfer E, Lengsfeld H (1987) Lipstatin, an inhibitor of pancreatic lipase, produced by *Streptomyces toxytricini*. I. Producing organism, fermentation, isolation and biological activity. *J Antibiot* 40(8):1081–1085. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.40.1081>

Wiese J., Thiel V., Gartner A., Schmaljohann R., & Imhoff J.F.(2009). *Kiloniella laminariae* gen. nov., sp. nov., an alphaproteobacterium from the marine macroalga *Laminaria saccharina*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 350–356.

Williams S. T., Wellington E. M. H. (1982 a). Actinomycetes. In: Eds. Page A.L., Miller R.H., Keency O.R.: *Methods of Soil Analysis, part 2, Chemical and Microbiological Properties*, second ed. American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, Madison, pp. 969–987.

Williams S. T., Wellington E. M. H., (1984). Ecology of Actinomycetes. In : Goodfellow, M., (Eds.), *The biologie of the Actinomycetes.* London ,Pp.481-528.

Williams S.T., Wellington E. M. H., (1982). Principales and problems of selective isolation of microbes. In: Bioactive microbial products: Search and discovery. Academic Press, London.9-26.

Williams, S. T., Goodfellow, M., Alderson, G., Wellington, E. M. H., Sneath, P. H. A., & Sackin, M. J. (1983). Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Microbiology*, 129(6), 1743-1813.

Xiao K., Kinkel L.L., and Samac D.A. (2002). Biological control of Phytophthora root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. *Biological Control*, 23(3), 285–295.

Xiliang J. (1994).The mechanism of agricultural antibiotic.Biological Control Aviso, 10(2), 76-81.

Xu J, Gu K, Zhang D-J, Li Y-G, Tian L. 2017. Ghanamycins A and B, two novel γ -butyrolactones from marine-derived *Streptomyces ghanaensis* TXC6-16. *J Antibiot* (Tokyo). 70:733–736.

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

Yamaguchi T., (1965). Comparison of the Cell-Wall Composition of Morphologically Distinct Actinomycetes. *Journal of Bacteriology*, 89 (2): 444-453.

Yan Chu S. (1993). New developments of agricultural antibiotic pesticide.Trans. (China),15(6), 5-12.

Yeddou N., Bensmaili A., 2006. Equilibrium and kinetic modelling of methylene blue biosorption by pretreated dead *Streptomyces rimosus*: Effect of temperature. *Chemical Engineering Journal* 119 (2006) 121–125.

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

Yuan, L.J., Zhang, Y.Q., Yu, L.Y., Sun, C.H., Wei, Y.Z., Liu, H.Y., Zhang, Y.Q., 2010. *Actinopolymorpha cephalotaxi* sp. nov, un nouvel actinomycète isolé de Sol de la rhizosphère de la plante *Cephalotaxus fortunei*. *Int. J. Syst. Évol. Microbiol.* 60 (1), 51–54.

Zainal Abidin Zaima Azira , Nurfathiah Abdul Malek , 2020 . Bioprospect Book -2020 - 106 Review: Actinomycetes Diversity and Biosynthetic Capabilities of East Coast of Peninsular Malaysia Coastalwater p 68-75.

Zamoum, M.; Goudjal, Y.; Sabaou, N.; Barakate, M.; Mathieu, F.; Zitouni, A. 2015. Biocontrol capacities and plant growth-promoting traits of endophytic actinobacteria isolated from native plants of Algerian Sahara. *J. Plant Dis. Prot.*, 122, 215–223.

Zermane F. (2007). Etude des caractéristiques culturales des actinomycètes impliquées dans la biodégradation de la cellulose, des substances pectiques et des composés organiques de synthèse, p.33- 38.

Zhang, Z.; Vriesekoop, F.; Yuan, Q.; Liang, H. Effects of nisin on the antimicrobial activity of D-limonene and its Nano emulsion. *Food Chem.* 2014, 150, 307–312. [CrossRef]

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.

Zitouni A., Boudjella H., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A., (2004b). Mutactimycin PR, a new anthracycline antibiotic from *Saccharothrix* sp. SA 103. I. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Biological Activities. *Journal of Antibiotics*, 57: 367-372.

Zitouni A., Lamari L., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Gaouar A., Mathieu F., Lebrihi A. and Labeda D.P., (2004a). *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(4), 1377-1381

Annexes

Annexe 1

1. Composition de milieu de culture

1.1. Milieux d'identification des actinobactéries

1.1.1. Etude morphologique

Milieu GYM (Glucose-Yeast-Extrait de Malt).

Extrait de levure : 4g ; Extrait de Malt : 10g ; CaCo₃ :2g; Glucose : 4g ; Agar : 12g ; Eau distillée : 1000ml ; pH : 7.2.

Les milieux ISP ont été préconisés lors de l'« International *Streptomyces* Project » (Shirling et Gottlieb, 1966).

ISP2: Glucose: 4 g; extrait de levure: 4 g; extrait de malt: 10 g; eau distillée q.s.p. 1000 ml; agar: 20 g. pH 7,2.

ISP3: Farine d'avoine: 20 g; solution saline standard(*): 1 ml; agar: 20 g; eau distillée q.s.p. 1000 ml. pH 7,2.

(*) **Solution saline standard:** FeSO₄, 7H₂O: 0,1 g; MnCl₂, 4H₂O: 0,1 g; ZnSO₄, 7H₂O: 0,1g; eau distillée q.s.p. 100 ml.

ISP4: Amidon: 10 g; K₂HPO₄: 1 g; MgSO₄, 7H₂O: 1 g; NaCl: 1 g; (NH₄)₂SO₄: 2 g; CaCO₃: 2g; solution saline standard (voir ISP3): 1 ml; agar: 20 g; eau distillée q.s.p. 1000 ml. pH 7,2.

ISP5: (Glycerol-asparagineagar): L-asparagine (anhydrous basis) 10 g; Glycerol10.0g, K₂HPO₄ (anhydrous basis) 1.0g ; Eau distillée 1.0 litre, Trace solution saline 1.0ml, pH : 7.0-7.4, Agar : 20.0g.

ISP6 : Peptone 15.00 g, Protéose Peptone :5.00g , Citrate d'ammonium ferrique :0.50 g, Phosphate dipotassique: 1.00g, Soduim Thiosulfate : 0.08 g, Extrait de levure : 1.00 g, Agar : 20.00, Eau distillée 1000 ml.

Gélose nutritive: Peptone: 5 g; extrait de viande: 1 g; extrait de levure: 2 g; NaCl: 5 g; agar: 15 g; eau distillée q.s.p. 1000 ml. pH 7,5.

1.2. Milieux utilisés pour l'activité antimicrobienne :

Milieu Mueller Hinton : infusion de viande de bœuf : 300,0 ml, peptone de caséine : 17,5 g , amidon : 1,5 g, Agar :17,0g, pH=7,4 .

Milieu Sabouraud: Peptone:10g; Glucose : 40g ; Agar : 15g ; Eau distillée : 1000ml

1.3. Production de pigments mélanoides :**Milieu ISP7 (Tyrosine-agar) (Shirling et Gottlieb, 1966)**

Glycérol: 15 g; L-tyrosine: 0,5 g; L-asparagine: 1 g; K₂HPO₄: 0,5 g; MgSO₄, 7H₂O: 0,5 g; NaCl: 0,5 g; FeSO₄, 7H₂O: 0,01 g; solution saline standard (voir ISP3): 1 mL; agar: 18 g; Eau Distillée q.s.p. 1000 mL. pH 7,2.

MPPM : modified phenoxazinone production medium) : Glycérol: 10 g; glucose: 10 g; farine de soja : 10 g; casaminoacide :5 g ; extrait de levure :5 g ; CaCO₃ : 4 g ; 1 ml solution saline (g/100 ml: 1 g FeSO₄ ;0.9 g ZnSO₄; 0.2g Mn SO₄) ; agar: 18 g; eau Distillée q.s.p. 1000 mL. pH 7,2.

1.4. Milieux De Production d'antibiotiques :**Milieu ISP2 (Shirling et Gottlieb, 1966) :**

Glucose: 4 g; extrait de levure: 4 g; extrait de malt: 10 g; eau distillée: q.s.p. 1000ml. pH7, 2.

Milieu AF :

Extrait de levure: 4 g; Extrait de malt: 10 g; Glucose :2g ; Nacl :2,5g ;CaCo₃:1g ; Agar :15g ; eau distillée: q.s.p. 1000 ml. pH7, 2.

1.5. Milieu Pour Les Champignons**Milieu PDA (Rapilly, 1969)**

Filtrat de pomme de terre: 500 ml; glucose: 20 g; agar: 20 g; eau distillée: 500 ml. pH 5,6. Le filtrat est préparé en mettant à bouillir 200 à 250 g de pomme de terre épluchée dans 500 ml d'eau distillée.

Milieu Sabouraud: Peptone:10g; Glucose : 40g ; Agar : 15g ; Eau distillée : 1000ml

2. Les colorants de coloration de gramme:

Lugol : Iode : 1g ; Iode de potassium : 2g ; Eau distillée : 300 ml.

Violet de gentian: Violet de gentiane : 1g ; Ethanol à 90 : 10g Violet de gentian : 1g ; Phénol : 2g ; Eau distillés :1000 ml.

Fuchsine: Fuchsine basique : 02g ; Acide phénique : 10g ; Alcool absolu : 20ml.

Milieu de culture de sporulation des actinobactéries

Farine de Soja Mannitol agar (MS or SFM) :

C'est un milieu de sporulation de plusieurs espèces des *Streptomyces* : Mannitol : 2g; Farine de soja (Holland and Barrett): 2g; CaCl₂ :10 mM ; Agar : 2g ; Eau distillée : 100 ml ; pH : 7.2.

Annexe 2

Annexe 2

1. Analyses physico-chimiques du sol :

1.1. Mesure du pH

Echantillon du sol	PH
Ain Safra	9.17
Bougtob	9.60
Tamanrasset(Oued)	9.73
Tamanrasset(Cité)	10.01
Tamanrasset (Rhizosphère d'acacia)	8.99

2. Résultats de screening primaire de l'activité antimicrobienne en (mm) :

Tableau 1 : Résultats de screening primaire de l'activité antimicrobienne des actinobacteries en (mm)

Microorganismes cibles	Diamètre de zone d'inhibition (mm)																												
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28	A29
B.G+																													
<i>Bacillus subtilis</i>	0	17	15	0	12	18	0	0	0	10	15	13	6	18	0	0	19	0	16	11	0	0	0	0	8	16	10	0	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	6	14	0	14	11	0	8	13	8	15	9	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	10	0	7
B.G-																													
<i>Ecoli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	18	16	0	17	19	0	8	26	9	27	3	6	20	0	6	20	0	1	19	0	0	0	0	10	0	10	0	0
Souches fongiques	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28	A29
<i>Aspergillus niger</i>	0	14	0	12	0	0	0	8	10	0	11	8	0	8	0	0	15	8	9	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0
<i>Penicillium spp</i>	0	15	0	0	0	0	8	10	10	0	22	0	0	20	0	0	20	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0
<i>Endosporium spp</i>	22	0	0	0	0	0	20	0	28	0	25	0	0	0	0	0	0	20	18	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phytophthora infestans</i>	0	0	0	14	0	0	25	0	33	0	0	0	0	0	8	0	35	18	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0

Annexe 2

Microorganismes cibles	Diamètre de zone d'inhibition (mm)																	
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18
B.G+																		
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	14	0	0	0	0	8	0	0	0	14	0	0	0	0	0
B.G-																		
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	0	12	28	0	11	0	0	12	10	11	13	0	13	0	30	0	0
Souches fongiques																		
<i>Aspergillus niger</i>	17	0	0	0	8	22	0	0	0	30	0	0	0	0i	10	0	0	0
<i>Penicillium spp</i>	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	11	0	0	0i	10	0	0	0
<i>Endosporium spp</i>	20	11	16	8	15	25	15	0	0	0	15	20	0	15i	0	15	25	14
<i>Phytophthora infestans</i>	20	08	18	25	31	33	0	15	0	0	20	19	15	12	25	18	25	8

Annexe 2

Micoorganismes cibles	Diamètre de zone d'inhibition															
	TR1	TR2	TR3	TR4	TR5	TR6	TR7	TR8	TR9	TR10	TR11	TR12	TR13	TR14	TR15	TR16
BG+																
<i>Bacillus cereus</i>	/	/	/	/	8	/	/	/	/	/	/	/	/	7	11	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	20	/	/	18	/	/	/	/	/	15	25	/	11	/	/
BG-																
<i>Escherichia coli</i>	/	20	16	21	30	/	30	28	40	20	20	25	/	8	40	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	/	/	/	/	40	/	/	/	/	/	40	/	/	/	40	/
Souches fongiques																
<i>Aspergillus niger</i>	/	/	20	19	12	10	/	/	17	18	/	12	/	/	/	/
<i>Penicillium spp</i>	/	/	6	7	/	12	/	/	8	20	10	/	/	/	/	/
<i>Endosporium spp</i>	/	/	8	9	/	/	/	/	/	15	/	/	/	/	/	/
<i>Phytophthora infestans</i>	17	/	/	/	/	/	/	/	/	18	/	/	/	20	15	10
<i>Candida Albicane</i>	/		/	/	/	/	/	/	20	/	/	/	9	/	/	/
	Diamètre de zone d'inhibition															
Micoorganismes cibles	TO1	TO2	TO3	TO4	TO5	TO6	TO7	TO8	TO9	TO10	TC1	TC2	TC3	TC4	TC5	TC6
BG+																
<i>Bacillus cereus</i>	/	/	/	/	8	7	/	/	/	8	/	/	/	/	/	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	/	/	15	10	12	10	/	14	/	8	17	/	19	25	19	/
BG-																
<i>Escherichia coli</i>	13	/	/	22	24	/	25	/	/	/	30	28	10	30	21	26
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	/	/	/	/	/	/	8	/	/	/	/	/	/	40	40	/
Souches fongiques																
<i>Aspergillus niger</i>	/	18	17	/	/	12	20	17	10	/	15	/	/	18	22	11
<i>Penicillium spp</i>	/	6	9	/	/	13	/	7	/	/	/	/	/	/	10	/
<i>Endosporium spp</i>	/	9	7	/	6	8	10	11	/	/	8	/	11	7	15	12
<i>Phytophthora infestans</i>	/	/	20	/	/	/	9	/	/	/	10	/	/	/	/	/
<i>Candida.albicane</i>	/	25	15	/	/	/	/	/	/	/	/	13	/	25	/	17

Annexe 2

A : sol d'Ain safra, **B** : sol de bougtob, **TR** : Sol de Rhizospher d'Accacia (Tamanrasset), **TC** : Sol de la Cité (Tamanrasset), **TO** : Sol de l'Oued (Tamanrasset), **BG+** : Bacterie Gram positive, **BG-** : Bacterie Gram négative.

PUBLICATION