

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

**Filière :** Sciences Biologiques

**Option :** Microbiologie appliquée

### THEME

---

**Evaluation d'activités antioxydante et antifongique des métabolites  
secondaires bruts extraits de quelques bactéries du genre  
*Streptomyces* isolées des sources thermales de la région de sidi-  
Aissa - Wilaya de Saida -**

---

**Présenté par :**

BENBERTAL AFFAF

ZEBOUDJ ROUMAÏSSA

**Devant le jury**

**Président(e) :** Krantar Kamel

**Rapporteur :** Gacem Mohammed Amine

**Co-Rapporteur :** Boudjemaa Badreddine

**Examineur :** Zerrouki Mohamed Hocine

**Université Amar Telidji-Laghouat**

**Université Amar Telidji-Laghouat**

**Université Amar Telidji-Laghouat**

**Université Amar Telidji-Laghouat**

**Soutenu publiquement le 12/06/2019.**

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...*

*tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude...*

*l'amour, le respect, la reconnaissance...*

*aussi, c'est tout simplement que*



*Je dédie ce mémoire à...*



*A ma chère famille que Je ne remercierais jamais assez pour leurs  
aides, encouragements, soutiens,*

*Sacrifices et leur patience pendant toute ma vie  
et particulièrement mes parents Bachir et Nadjat  
et ma grand-mère Aouda ;*

*A ma Binôme «Roumaïssa» qui a partagée avec moi  
les moments difficiles de ce travail ;*

*Tous mes chers amis qui ont étaient toujours  
avec moi avec leurs aides et soutiens ;*

*Sans oublier mes braves Amies de la promotion Master II  
Microbiologie appliquée 2018-2019*

*AFFAF*

*A mes très chers parents ZEBOUDJ M. & M.*

*Vous avez fait de votre vie une succession de sacrifices et d'oublis de soi afin que mes frères et moi ne manquions de rien. Très tôt, vous avez su nous inculquer la soif d'apprendre et la volonté de réussir.*

*En ce jour, j'aimerais vous dire que je suis fier de vous et j'espère que vous l'êtes aussi de votre fille.*

*Tant de renoncements et d'abnégations par amour pour ses enfants, il faut le faire.*

*Recevez à travers ces modestes mots l'expression de mon profond attachement et de ma gratitude éternelle.*

*Puisse ALLAH vous accorder de jouir du fruit de votre labeur.*

*On ne choisit pas ses parents mais soyez rassurés que je vous aurais choisis si c'était le cas.*

*Ce travail le vôtre.*



*A Mes deux frères & mes deux sœurs*

*Vous m'avez soutenu et comblé tout au long de mon parcours. Que ce travail soit témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux.*

**DIEU PRÉSERVE NOTRE FAMILLE.**

**ROUMAÏSSA**

# ***remerciement***

## ***A nos maîtres et juges de mémoire***

*Vous avez accepté très spontanément de faire partie du jury.  
Nous vous remercierons pour vos enseignements et vos connaissances.  
Veuillez trouver ici, maîtres, l'expression de notre profond respect  
Et notre entière gratitude.*



## ***A notre maître et rapporteur de mémoire***

*Malgré vos multiples préoccupations, vous avez bien voulu nous confier  
ce Travail et le diriger.*

*Vos qualités humaines et professionnelles nous ont toujours marqué.*

*Votre disponibilité et votre acharnement nous inspirent un grand  
respect. Veuillez trouver, ici, le témoignage de notre estime et de notre  
sincère gratitude*



## ***En témoignage de notre gratitude et de nos remerciements***

*A toute personne qui, de près ou de loin, a contribué dans la réalisation  
de ce travail.*

## Résumé

### **Evaluation des activités antioxydante et antifongiques des métabolites secondaires bruts extraits de quelques bactéries du genre *Streptomyces* isolées des sources thermales de la région de Sidi-aissa wilaya de Saida.**

Les actinomycètes sont des bactéries responsables de la production de la plupart des molécules bioactives, particulièrement ceux du genre *Streptomyces* impliqué dans la biosynthèse des antibiotiques. L'objectif de cette étude été d'évaluer l'activité antifongique et l'activité antioxydante de quelques souches d'actinobactéries isolées des sources thermales de la région de Sidi-Aissa, Wilaya De Saida. Les résultats de l'activité antifongique ont dévoilé une sensibilité changeante selon l'espèce fongique cible et le volume de l'extrait brut des souches d'actinobactéries isolées. L'extrait SX4 a exprimé une bonne activité antifongique contre les souches *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* et *Fusarium graminearum* et ceci avec les volumes d'extraits suivants 20 µl, 30 µl et 40 µl. L'extrait SX1 a enregistré une activité antifongique moyenne à 40 µl et 30 µl d'extraits contre *Aspergillus parasiticus*. Cependant une activité antifongique nulle a été enregistrée avec l'extrait SX3 contre les souches *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* et *Fusarium graminearum*. L'extrait SX2 a eu une faible activité antifongique contre les souches *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus ochraceus*. L'activité antioxydante des extraits des souches du genre *Streptomyces* a été évalué à travers le piégeage des radicaux libre ABTS et DPPH ; pour le premier test les pourcentages d'inhibitions ont été estimés à 88.69%, 85.55%, 70.98% et 29.86% avec le volume 100µl des extraits SX3, SX1, SX4 et SX2 respectivement. Par ailleurs le pourcentage d'inhibition de la DPPH se rapproche de 52% pour tous les extraits.

**Mot clés :** Actinomycètes, *Streptomyces*, métabolite secondaire, activité antifongique, activité antioxydante, DPPH, ABTS.

## *Abstract*

### **Evaluation of the antioxidant and antifungal activities of crude secondary metabolites extracted from some *Streptomyces* bacteria isolated from hot springs in the region of Sidi-Aissa wilaya of Saida.**

Actinomycetes are bacteria responsible for the production of most bioactive molecules, particularly those of the genus *Streptomyces* involved in the biosynthesis of antibiotics. The objective of this study was to evaluate the antifungal activity and the antioxidant activity of some strains of actinobacteria isolated from thermal springs in the region of Sidi-Aissa, Wilaya De Saida. The results of the antifungal activity revealed a changing sensitivity according to the target fungal species and the volume of the crude extract of isolated actinobacterial strains. The SX4 extract expressed a good antifungal activity against the strains *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* and *Fusarium graminearum* and this with the following volumes of extracts 20 µl, 30 µl and 40 µl. The extract SX1 recorded an average antifungal activity at 40 µl and 30 µl of extracts against *Aspergillus parasiticus*. However, no antifungal activity was recorded with SX3 extract against *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* and *Fusarium graminearum* strains. SX2 extract had low antifungal activity against *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus ochraceus* strains. The antioxidant activity of extracts of *Streptomyces* strains was evaluated through the trapping of free radicals ABTS and DPPH; for the first test the percentages of inhibitions were estimated at 88.69%, 85.55%, 70.98% and 29.86% with 100µl volume of extracts SX3, SX1, SX4 and SX2 respectively. In addition, the percentage inhibition of DPPH is close to 52% for all extracts.

**Key words:** Actinomycetes, *Streptomyces*, secondary metabolite, antifungal activity, antioxidant activity, DPPH, ABTS.

## ملخص

تقييم النشاطات المضادة للأوكسدة و للفطريات في المستقلبات الثانوية الخام المستخرجة من بعض بكتيريا جنس *Streptomyces* المعزولة من الينابيع الحارة في منطقة سيدي عيسى بولاية سعيدة. الأكتينومييسات هي بكتيريا مسؤولة عن إنتاج معظم الجزيئات النشطة بيولوجيًا ، ولا سيما تلك الخاصة بالجنس *Streptomyces* التي تشارك في التخليق الحيوي للمضادات الحيوية. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للفطريات ونشاط مضادات الأوكسدة لبعض سلالات *Streptomyces* المعزولة من الينابيع الحارة في منطقة سيدي عيسى بولاية سعيدة . كشفت نتائج النشاط المضاد للفطريات عن حساسية متغيرة وفقًا للأنواع الفطرية المستهدفة وحجم المستخلص الخام لسلالات *Streptomyces* المعزولة. أعرب مستخلص SX4 عن نشاط مضاد للفطريات جيد ضد سلالات *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus ochraceus* و *Fusarium graminearum* وهذا مع الكميات التالية من المستخلصات 20 µl و 30 µl و 40 µl. سجل المستخلص SX1 نشاطًا متوسطًا مضادًا للفطريات عند 40 µl ، 30 µl من المستخلصات ضد *Aspergillus parasiticus*. ومع ذلك لم يتم تسجيل أي نشاط مضاد للفطريات باستخدام مستخلص SX3 ضد سلالات *Aspergillus parasiticus* ، *Aspergillus ochraceus* ، *Fusarium graminearum* ، كان لمستخلص SX2 نشاط مضاد للفطريات منخفض ضد سلالات *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus ochraceus*. تم تقييم نشاط مضادات الأوكسدة من مستخلصات سلالات من الجنس *Streptomyces* من خلال التقاط الجذور الحرة للجزيئات ABTS و DPPH في الاختبار الأول ، قدرت نسب التثبيط بنسبة 88.69 % ، 85.55 % ، 70.98 % و 29.86 % مع حجم 100 µl من مستخلصات SX3 ، SX1 ، SX4 و SX2 على التوالي. بالإضافة إلى ذلك ، فإن نسبة تثبيط DPPH تقترب من 52 % لجميع المستخلصات.

الكلمات المفتاحية: الأكتينومييسات ، *Streptomyces* ، النواتج الأيضية الثانوية ، النشاط المضاد للفطريات ، النشاط المضاد للأوكسدة.



# SOMMAIRE

**Dédicaces**  
**Remerciements**  
**Résumé**  
**Abstract**  
**ملخص**  
**Liste des Abréviations**  
**Liste des Figures**  
**Liste des Photos**  
**Liste des Tableaux**  
**Introduction**

| Le chapitre                                                         | titre                                                                                  | page      |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i><b>Partie Bibliographique</b></i>                                |                                                                                        |           |
| <b>Chapitre I :<br/>Généralités sur<br/>les<br/>actinobactéries</b> | I.1. Définition des actinobactéries                                                    | <b>3</b>  |
|                                                                     | I.2. Similitude entre les Actinomycètes et les champignons                             | <b>3</b>  |
|                                                                     | I.3. Caractéristique générale d'actinobactéries                                        | <b>4</b>  |
|                                                                     | I.4.Taxonomie des actinobactéries                                                      | <b>5</b>  |
|                                                                     | I.4.1.. Taxonomie phylogénétique                                                       | <b>6</b>  |
|                                                                     | I.5. Distribution des Actinomycètes                                                    | <b>7</b>  |
|                                                                     | I .5.1. Environnement terrestres                                                       | <b>7</b>  |
|                                                                     | I.5.2. Eaux douces et marines                                                          | <b>7</b>  |
|                                                                     | I.5.3.L'Air                                                                            | <b>8</b>  |
|                                                                     | I.8. Propriétés générales des actinomycètes                                            | <b>8</b>  |
|                                                                     | I.8.1.Morphologie et Reproduction des actinomycètes                                    | <b>8</b>  |
|                                                                     | I.8.2.Formation des spores                                                             | <b>10</b> |
|                                                                     | I.8.3.Physiologie de développement                                                     | <b>11</b> |
|                                                                     | I.8.3.1.L'oxygène                                                                      | <b>11</b> |
|                                                                     | I.8.3.2. Le pH                                                                         | <b>12</b> |
|                                                                     | I.8.3.3.La température                                                                 | <b>12</b> |
|                                                                     | I.8.3.4.L'activité de l'eau (Aw)                                                       | <b>12</b> |
|                                                                     | I. 9 .1.Description du genre <i>Streptomyces</i>                                       | <b>12</b> |
|                                                                     | I.9.2.Cycle de développement du genre <i>Streptomyces</i>                              | <b>13</b> |
|                                                                     | I.9.3.Quelques exemples de <i>Streptomyces</i> et des métabolites secondaires produits | <b>14</b> |
|                                                                     | I.10. Propriétés métaboliques des Actinomycètes                                        | <b>15</b> |
|                                                                     | I.10.1 Le métabolisme secondaire des actinomycètes                                     | <b>15</b> |
|                                                                     | I.10.1.1.Les antibiotiques                                                             | <b>15</b> |
|                                                                     | I .10.1.2.La production des Antibiotiques par le genre <i>Streptomyces</i>             | <b>16</b> |
|                                                                     | I.10.1.3.Production d'Enzymes                                                          | <b>16</b> |
|                                                                     | I.10 .1.4.Production des enzymes par le genre <i>Streptomyces</i>                      | <b>16</b> |
|                                                                     | I.10.1.5.Production de vitamines par les actinobactéries                               | <b>17</b> |
|                                                                     | I.10.1.6.Les biopesticides                                                             | <b>17</b> |
|                                                                     | I.10.1.7.Actinomycètes dans la Bioremédiation                                          | <b>17</b> |
|                                                                     | I.10.1.8.Les probiotiques                                                              | <b>18</b> |
|                                                                     | I.11. Importance des actinobactéries                                                   | <b>19</b> |
|                                                                     | I. 12.Les actinomycètes en tant que microorganismes                                    | <b>19</b> |

|                                                                          |                                                                                             |           |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
|                                                                          | pathogènes                                                                                  |           |
| <b>Chapitre II : les antioxydantes</b>                                   | II.1 Stress oxydatif                                                                        | <b>20</b> |
|                                                                          | II .2 Les radicaux libres                                                                   | <b>20</b> |
|                                                                          | II.3Les antioxydant                                                                         | <b>21</b> |
| <i><b>Partie expérimentale</b></i>                                       |                                                                                             |           |
| <b>Chapitre III :<br/>Matériels et méthodes</b>                          | III.1. Prélèvement des échantillons                                                         | <b>23</b> |
|                                                                          | III.1.2. Traitement des échantillons                                                        | <b>23</b> |
|                                                                          | III.1.3. Préparation des sols pour isolement des actinomycètes                              | <b>23</b> |
|                                                                          | III.1.4. Isolement et purification des actinomycètes                                        | <b>24</b> |
|                                                                          | III.1.5. Purification et conservation des actinomycètes                                     | <b>24</b> |
|                                                                          | III.2. Screening de l'activité antifongique                                                 | <b>25</b> |
|                                                                          | III.2.1 Choix des souches fongiques                                                         | <b>25</b> |
|                                                                          | III.2.4. Préparation et extraction des métabolites secondaire                               | <b>25</b> |
|                                                                          | III.2.2. Evaluation du pouvoir antifongique des actinomycètes par la méthode des puits      | <b>27</b> |
|                                                                          | III.3.Mesure de l'activité antioxydant                                                      | <b>27</b> |
|                                                                          | III.3.1. Mesure de l'activité antioxydant par DPPH                                          | <b>27</b> |
|                                                                          | III.2.3.Mesure de l'activité antioxydant par ABTS                                           | <b>29</b> |
| <b>Chapitre IV :<br/>Résultats et discussions</b>                        | IV.1. Isolement, purification et identification des actinomycètes                           | <b>31</b> |
|                                                                          | IV.2. Vérification de la pureté des souches fongiques                                       | <b>31</b> |
|                                                                          | IV.3. Résultats de l'activité antifongique des extraits obtenus des souches d'actinomycètes | <b>33</b> |
|                                                                          | IV.4. Résultats de l'activité antioxydante                                                  | <b>37</b> |
|                                                                          | IV.5. Discussion                                                                            | <b>39</b> |
| <b>Conclusion</b><br><b>Références bibliographiques</b><br><b>Annexe</b> |                                                                                             |           |

## *Liste des abréviations*

|                |                                                                               |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ABTS</b>    | Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). |
| <b>ADN</b>     | Acide désoxyribonucléique                                                     |
| <b>ARNr16S</b> | Acide ribonucléique ribosomique                                               |
| <b>AW</b>      | Activité de l'eau                                                             |
| <b>BHA</b>     | Butyl hydroxyanizole                                                          |
| <b>BHT</b>     | Butylhydroxytoluène                                                           |
| <b>C+G%</b>    | coefficient de Chargaff                                                       |
| <b>DPPH</b>    | 2,2-diphényl- 1-picrylhydrazyl                                                |
| <b>PR</b>      | Pourcentage de réduction                                                      |
| <b>Rpm</b>     | Rotation par minute                                                           |

## *Listes Des Figures*

| <b>Figure</b>    | <b>Titre</b>                                                                                                                                                                                                 | <b>Page</b> |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Figure 1</b>  | Classification du genre <i>Streptomyces</i> selon Bergy' Mannual of Systematic Bacteriology .                                                                                                                | <b>05</b>   |
| <b>Figure 2</b>  | Classification phylogénétique des Actinobacteria, basée sur les séquences du gène codant d'ARNr 16S                                                                                                          | <b>06</b>   |
| <b>Figure 3</b>  | Croissance d'une colonie d'actinomycètes sur milieu solide                                                                                                                                                   | <b>09</b>   |
| <b>Figure 4</b>  | Les morphologies rencontrées de <i>Streptomyces olindensis</i> cultivé en milieu liquide                                                                                                                     | <b>09</b>   |
| <b>Figure 5</b>  | Clichés de microscopie électronique illustrant la diversité des types de surface De spores chez le genre <i>Streptomyces</i>                                                                                 | <b>11</b>   |
| <b>Figure 6</b>  | Représente les colonies de <i>Streptomyces</i> au stade du mycélium végétatif (A) et après différenciation morphologique et apparition des spores (B).Mycélium végétatif (x2200) et chaines de spores (x300) | <b>13</b>   |
| <b>Figure 7</b>  | Cycle de développement du genre <i>Streptomyces</i>                                                                                                                                                          | <b>14</b>   |
| <b>Figure 8</b>  | Différents types d'enzymes produits par Actinobacteria , A. Amylase. B. Protease. C. Lipase                                                                                                                  | <b>17</b>   |
| <b>Figure 9</b>  | Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes                                                                                                                                             | <b>19</b>   |
| <b>Figure10</b>  | Les espèces réactives, le dommage oxydatif et les réponses cellulaires au stress oxydatif                                                                                                                    | <b>21</b>   |
| <b>Figure11</b>  | Site de prélèvement du sol de la station thermale Sidi-Aissa de la wilaya de Saïda                                                                                                                           | <b>23</b>   |
| <b>Figure 12</b> | Isolement et purification des actinomycètes                                                                                                                                                                  | <b>24</b>   |
| <b>Figure 13</b> | Extraction des métabolites secondaire                                                                                                                                                                        | <b>26</b>   |
| <b>Figure 14</b> | Mesure de l'activité antioxydant par DPPH                                                                                                                                                                    | <b>28</b>   |
| <b>Figure15</b>  | Mesure de l'activité antioxydant par ABTS                                                                                                                                                                    | <b>30</b>   |
| <b>Figure 16</b> | Résultat de l'activité antifongique de l'extrait SX1                                                                                                                                                         | <b>33</b>   |
| <b>Figure17</b>  | Résultat de l'activité antifongique de l'extrait SX2                                                                                                                                                         | <b>34</b>   |
| <b>Figure 18</b> | Résultat de l'activité antifongique de l'extrait SX3                                                                                                                                                         | <b>35</b>   |
| <b>Figure 19</b> | Résultat de l'activité antifongique de l'extrait SX4                                                                                                                                                         | <b>36</b>   |
| <b>Figure 20</b> | pourcentage d'inhibition du radical libre <b>ABTS</b> en fonction des différentes concentration des extraits                                                                                                 | <b>37</b>   |
| <b>Figure21</b>  | Pourcentage d'inhibition du radical libre <b>DPPH</b> en fonction des différentes concentrations des extraits                                                                                                | <b>38</b>   |

## *Liste des photos*

| <b>Photo</b>   | <b>Titre</b>                                                                                          | <b>Page</b> |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Photo1</b>  | Aspect macroscopique des colonies d'actinomycetes après purification sur milieu : CSA ,GYM et Bennett | <b>31</b>   |
| <b>Photo2</b>  | Aspect microscopique des souches <i>Aspergillus parasiticus</i>                                       | <b>32</b>   |
| <b>Photo3</b>  | Aspect microscopique des souches <i>Aspergillus ochraceus</i>                                         | <b>32</b>   |
| <b>Photo4</b>  | Aspect microscopique des souches <i>Fusarium graminearum</i>                                          | <b>33</b>   |
| <b>Photo5</b>  | Résultat de l'activité antifongique de l'extrait SX1                                                  | <b>34</b>   |
| <b>Photo6</b>  | Résultat de l'activité antifongique de l'extrait SX2                                                  | <b>35</b>   |
| <b>Photo7</b>  | Résultat de l'activité antifongique de l'extrait SX3                                                  | <b>36</b>   |
| <b>Photo 8</b> | Résultat de l'activité antifongique de l'extrait SX4                                                  | <b>37</b>   |

## *Liste des tableaux*

| <b>Tableau</b>     | <b>Titre</b>                                                                | <b>Page</b> |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Tableau I</b>   | Habitats de certaines actinobacteries                                       | <b>08</b>   |
| <b>Tableau II</b>  | Quelques exemples de molécules antibiotiques et microorganismes producteurs | <b>16</b>   |
| <b>Tableau III</b> | Souches fongiques utilisées pour tester l'activité biologique des extraits  | <b>25</b>   |

# *Introducción*

Les microorganismes sont les principaux colonisateurs de la terre, composé d'une diversité physiologique et fonctionnelle inséparable qu'on applique dans tous les domaines : agriculture, médecine, industrie et environnement ... **(Sandeep et Menaka ,2014)** ,Parmi les microorganismes présentant un intérêt biotechnologique à notre époque actuelle : les actinomycètes (ou « actinobacteries » qui est une appellation récente a ces bactéries filamenteuses) **( Samiha et Imane, 2016).**

Les actinomycètes sont d'une importance primordiale ; principalement reconnus comme des organismes de curiosité académique et producteurs de molécules bioactives et des métabolites secondaires actifs **(Sandeep et Menaka ,2014).**

Une large gamme taxonomique d'actinomycètes a la capacité de produire des métabolites secondaires ayant des activités biologiques telles que : les antibiotiques, les antifongiques, les antiviraux, les anticancéreux, les enzymes, les immunosuppresseurs et d'autres composés utiles sur le plan industriel **(Baltz, 2007; Demain et Sanchez, 2009; Kekuda et al., 2010; Naine et al., 2011; Newman et Cragg, 2007)**, y compris le genre *Streptomyces* qui est le plus répandue et le plus étudié, il comprend des bactéries filamenteuses qui sont bien connues pour leur capacité à produire des antibiotiques et des enzymes lytiques (Rugthaworn et al., 2007), Le nombre de composés antimicrobiens signalés chez l'espèce de ce genre a augmenté chaque année de façon presque exponentielle **(Watve MG et al .,2001)**. Les streptomycètes sont largement utilisés dans l'industrie en raison de leur capacité à générer un certain nombre de : composés chimiques, enzymes, inhibiteurs d'enzymes, agents antitumoraux, composés antifongiques, agents antiviraux, et des pesticides... etc. **(Kim BS et al .,2003).**

La capacité des membres de ce genre à produire des composés importants sur le plan commercial, en particulier des antibiotiques, reste inégalée **(Goodfellow et al ., 1986)**. De plus, Des rapports récents démontrent que les bactéries *Streptomyces* produisent des métabolites ayant une activité antioxydante puissante qui pourraient être développés en médicaments thérapeutiques pour lutter contre le stress oxydatif **( Loh Teng-Hern et al .,2017).**

En effet, environ 80% des antibiotiques d'origine actinomycétale sont produits par les espèces de ce genre **(Demain, 2006; Jose et al., 2011)**. Par ailleurs, beaucoup d'autres genres d'actinomycètes tels que *Micromonospora*, *Saccharothrix*, *Actinomadura*, *Nocardia*, *Nocardiopsis*, *Actinoplanes*, *Amycolatopsis*, *Saccharopolyspora*, *Streptosporangium*, *Nonomuraea*, etc., ont déjà montré un grand potentiel de production de molécules bioactives intéressantes sur le plan médical **(Genilloud et al., 2010; Flattet al.,2013; Nakae et al., 2013).**



Les actinomycètes jouent aussi un rôle vital dans des sols tels que : la minéralisation de matières organiques, l'immobilisation de nutriments, antibiose et production de promoteurs végétaux **(Anderson et al., 2011; Sonia et al., 2011)** ,

Les chercheurs s'évertuent à isoler perpétuellement de nombreuses souches d'actinobactéries de divers milieux, surtout ceux où les conditions de vie sont très difficiles (sols salés, sols alcalins, sols acides, marais salants, sols pollués par du pétrole, etc.), en vue de découvrir de nouveaux taxons et également de nouvelles molécules bioactives ayant des activités intéressantes **(Solecka et al., 2012)**. En outre le taux de découverte de nouveaux métabolites secondaires produits par les actinomycètes a diminué.

Par conséquent, de nombreux efforts ont été déployés pour sélectionner et isoler les actinomycètes d'autres biotopes, tels que : l'eau des lacs **(Singh et al., 2006)**, les sédiments marins **(Kumar et al., 2011)**, la surface et les tissus des plantes **(Zin et al. , 2011)**

Les objectifs principaux de notre étude consistent à l'isolement et purification des actinomycètes à partir d'échantillons provenant du sol de la source thermique Sidi-Aissa, wilaya de Saida et l'évaluation de l'activité antifongique et antioxydante des métabolites secondaires extraits des souches d'actinobactéries isolées.

Ce mémoire se présente sous forme de deux parties, une partie bibliographique consacré aux actinobactéries et à leurs métabolites secondaires. La deuxième partie de ce mémoire comporte l'étude expérimentale avec une description du matériel et méthodes utilisées ainsi qu'une présentation des résultats et leur discussion. Une conclusion vient finaliser ce mémoire en valorisant les résultats et en proposant des perspectives pour la continuité de ce travail.

# *Revue bibliographique*

## I. Généralités

### I.1. Définition des Actinobactéries :

Ce sont l'un des phylums taxonomiques les plus importants et les plus anciens du domaine des bactéries et sont bien connus pour leurs métabolites secondaires (Verma, 2013). Elles sont classées selon : (Euzéby, 2015).

- Domaine : *Bacteria* ou *Eubacteria*.
- Phylum: *Actinobacteria*.
- Classe: *Actinobacteria*.
- Sous-classe: *Actinobacteridae*

Les actinomycètes ou Actinobactéries forment un grand groupe de microorganismes procaryotes Gram positif ayant un pourcentage en "guanine + cytosine" (G+C%) relativement élevé dans leur ADN (généralement compris entre 60 et 75 mol %) (Pelmont, 2005).

Les actinomycètes ont longtemps été considérés comme des champignons primitifs, du fait de leur mycélium qui est souvent à la fois aérien et pénétrant dans le substrat nutritif, et également de la fructification par sporanges libérant des spores chez nombre d'entre eux (Hasley et Leclerc, 1993 ; Horinouchi, 2002).

### I.2. Similitude entre les Actinomycètes et les champignons

Un ensemble des caractères qui rapproche les Actinomycètes à les champignons ; principalement la structure de leur mycélium présentant des ramifications, avec toutefois que ses filaments ont un diamètre deux fois plus faible (0,5 à 1,2µm) que ceux des champignons, d'où le terme de pseudo mycélium, parfois employé pour désigner cette structure. Ainsi la formation fréquente d'un mycélium aérien et de conidies malgré ces analogies entre les Actinomycètes et les champignons, Mais il ya des différences fondamentales qui les séparent. Les Actinomycètes sont des procaryotes alors que les champignons sont des eucaryotes (Perry et al., 2004 ; Shukla, 2010).

### **I.3. Caractéristique générale d'actinobactéries**

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, séptées, ramifiées, à coloration de Gram positive (**Nanjwad et al, 2010**).

La morphologie des différents groupes d'actinomycètes est très variable, elle va de formes peu évoluées comme *Mycobacterium*, à des formes très évoluées comme le genre *Streptomyces*, qui forme un véritable mycélium non fragmenté et sporulant - (**Smaoui, 2010**).

Les actinomycètes sont des bactéries saprophytes capables de dégrader la matière organique dans le sol et d'utiliser des molécules plus complexes pour leur croissance (**Lechevalier et Lechevalier, 1970**). Ceci leur permet de s'adapter et de coloniser les différents milieux rhizosphériques. Cette caractéristique est essentielle dans la lutte biologique.

Ainsi, les actinomycètes peuvent agir par différents mécanismes d'action comme : l'antibiose, la compétition nutritionnelle ou spatiale ou encore le parasitisme (**Errakhi, 2008**).

Les actinomycètes forment des colonies circulaires constituées d'hyphes - c'est-à-dire de filaments qui irradiant par croissance centrifuge - tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Eunice et prosser, 1983**).

Cela explique leur dénomination qui provient de deux substantifs grecs «aktis» et «mykes» et signifie « champignons à rayons» ou « champignons rayonnant». Ils présentent un cycle biologique semblable à celui de certains champignons, mais leur structure procaryotique, sans noyau distinct, les a classés parmi les bactéries. En effet, leurs parois ne renferment ni cellulose ni chitine mais une glycoprotéine contenant de la lysine (formes fermentatives) ou de l'acide diaminopimélique (formes oxydatives). Le diamètre de leurs mycéliums est plus petit que la plupart des hyphes fongiques (généralement 0,7 à 0,8  $\mu\text{m}$ ). Enfin, elles sont sensibles aux antibiotiques antibactériens, aux attaques des bactériophages et des lysozymes. Cependant leur croissance est plus lente que celle des autres bactéries ; le temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures (**Larpent et Sanglier, 1989**).

La paroi des actinomycètes est constituée d'une épaisse couche de peptidoglycane qui joue un important rôle dans le maintien de la rigidité cellulaire ainsi que dans la protection physique de la membrane sous-jacente. Certains groupes, tels les nocardio bactéries, ont une paroi cellulaire très riche en lipides et en cires de 60 à 90 carbones appelées acides mycoliques. Ces acides sont des acides gras complexes et leur présence ainsi que celle

d'autres lipides à l'extérieur du peptidoglycane rendent les bactéries positives à la coloration de Ziehl Neelsen (acido-alcoolo-résistantes). (P Prescott L et JP Harley, 1995)

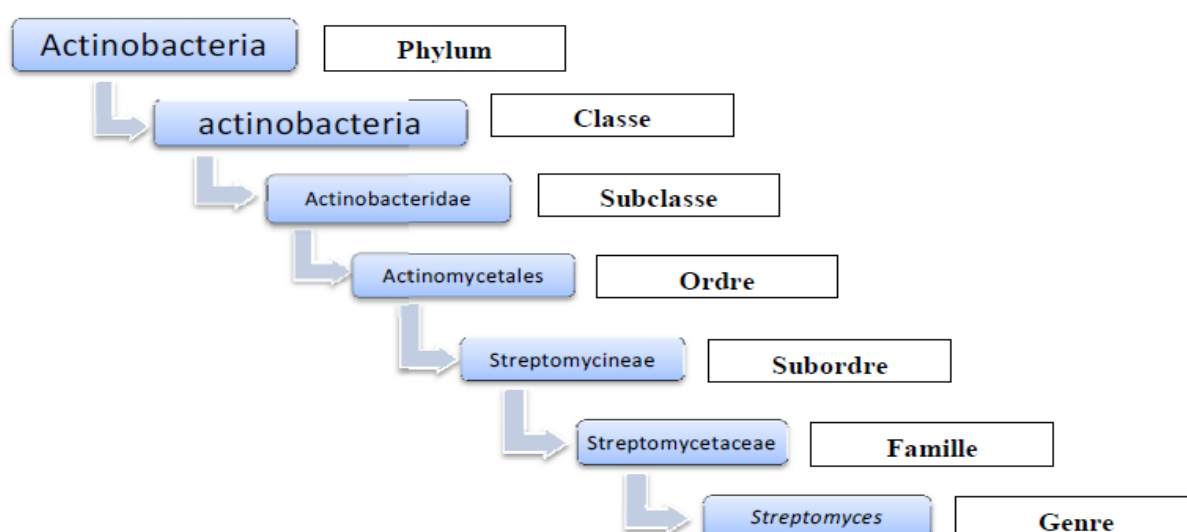
Pour les actinomycètes, il existe 4 types principaux de paroi identifiables selon 3 caractéristiques issues de la composition et de la structure du peptidoglycane (P Prescott L et JP. Harley, 1995) C'est également selon le type de paroi que l'on peut séparer les genres les uns des autres et former des groupes dans la classification classique des microorganismes. Les actinomycètes pour la plupart ne sont pas mobiles. Lorsqu'il y a mobilité, elle est confinée aux spores flagellées (Atef Z. 2007).

#### I.4.1. Taxonomie des actinobactéries

La taxonomie des actinomycètes est basée sur plusieurs critères : morphologiques, Chimiques, physiologiques et moléculaires.

L'identification des genres est facilitée par les études morphologiques tandis que les critères physiologiques et moléculaires (ex. hybridation ADN-ADN) séparent les espèces, Selon la classification du « Taxonomic Outline of The Prokaryotes », Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology », (Garrity et al., 2007), le phylum *Actinobacteria* (bacteria Gram positif et à G+C % élevé) est constitué d'une seule classe dénommée également « *Actinobacteria* »,

La classe des *Actinobacteria* est divisée en 5 sous-classe (Garrity et al., 2007): *Acidimicrobiales*, *Rubrobacteriales*, *Coriobacteriales*, *Sphaerobacteriales*, *Actinobacteriales*.

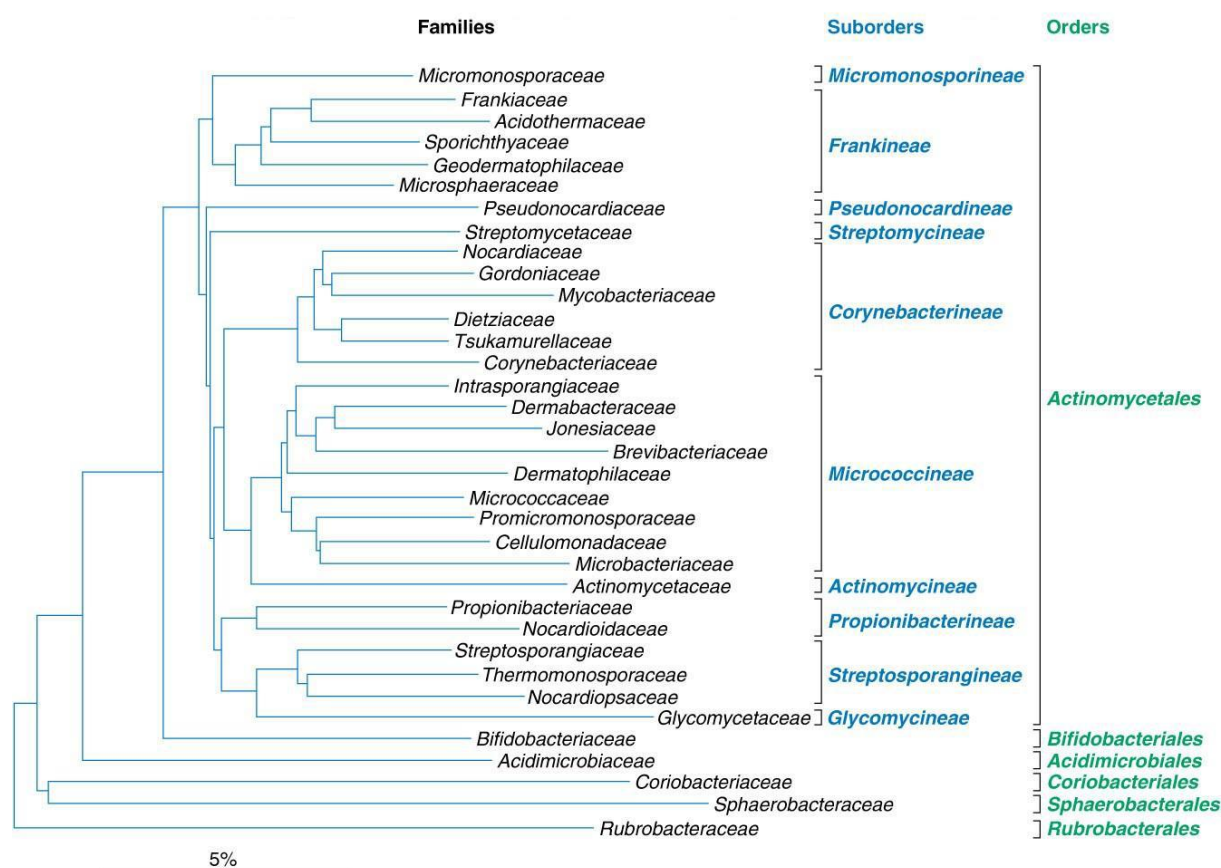


**Figure 1.** Classification du genre *Streptomyces* selon Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2006). (abbes et al., 2016)

### I.4.1. Taxonomie phylogénétique

La biologie moléculaire s'est imposée comme un outil puissant et incontournable en Taxonomie. Actuellement, il n'est plus possible de proposer une nouvelle espèce sans effectuer des analyses génétiques. Les principales analyses moléculaires utilisées pour la détermination des espèces sont le séquençage de l'ADN ribosomal 16S et l'hybridation ADN-ADN. Le pourcentage G+C n'est obligatoirement demandé que lors d'une proposition de nouveaux genres.

L'hybridation ADN-ADN est une méthode qui permet d'estimer le degré de parenté entre deux microorganismes. Elle s'est avérée appropriée pour déterminer les relations entre des taxons étroitement liés, tels que les espèces (Stackebrandt and Goebel 1994).



**FIGURE 2 :** Classification phylogénétique des Actinobacteria, basée sur les séquences dugène codant d'ARNr 16S (Zhi et al., 2009).

La barre représente 5 substitutions de nucléotides par 100 nucléotides. Les familles contenant des membres soumis au séquençage complet du génome sont représentées en gras.

## I.5 .Distribution des Actinomycètes

### I .5.1.Environment terrestre

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires que l'on rencontre sur tous les substrats naturels courants (**Tableau 1**), et en particulier le sol (**Williams et al. , 1984**).

Dans Le sol, de nombreuses actinomycètes sont saprophytes et participent à la dégradation de la Matière organique et à la formation de l'humus, tout comme les champignons. Les Actinomycètes du sol sont surtout présents en surface, entre 0 et 2 m de profondeur.

Ils Produisent des substances spécifiques telles que la géosmine et le 2-méthyl isobornéol qui Sont responsable de l'odeur caractéristique des sols humides et de l'humus (**Larpen et Sanglier, 1989**).

Les actinomycètes sont ainsi présents dans des sols polaires gelés en permanence tout Comme dans les sols désertiques chauds et secs, dans le pétrole brut, les sols hautement Contaminés avec les métaux lourds et les grottes naturelles (**Moncheva et al, 2002**).

### I.5.2.Eaux douces et marines

Les actinomycètes ont été isolés à partir de nombreux environnements aquatiques : eau de mer et sédiments marins ( **Jensen et al ,1991,Meklat et al ,2011**),eau douce (**Kitouni et al , 2005**).

Certaines souches ont été apparentées dans des environnements marins et dans des sédiments situés à plus de 4000 m de profondeur, et sont aussi présentes dans les fonds fluviaux ou lacustres.

Les Véritable genres d'Actinomycètes préfèrent des habitats spécifiques, comme les *Micromonospora* qui sont abondants dans les lacs et on peut facilement isoler des souches d'*Actinoplanes* et de *Streptosporangiu* .Ils se trouvent essentiellement dans les lacs extrêmement alcalins, les lacs salés, mais, ils sont absents dans les eaux minières très acides (pH <1) et les sources thermales très chaudes d'origine volcanique. (**Boucheffa ,2011 ; Gerard., 2001**).

### I.5.3.L’Air

L’air n’est pas un habitat pour les Actinomycètes mais est un moyen de transport. Les Actinomycètes présentes dans l’air sous forme de propagules, Les spores des Actinomycètes proportionnelles aux poussières dispersées par le vent (Michael et John, 2007) .

**Tableau I : Habitats de certaines actinobacteries (Williams et al, 1984).**

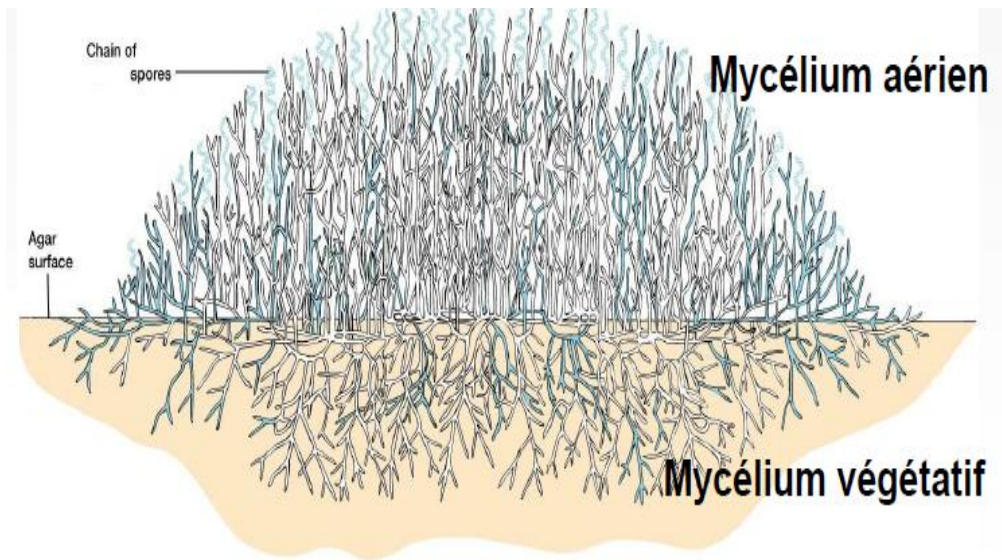
| Actinobactéries                        | Habitats                                      |
|----------------------------------------|-----------------------------------------------|
| ➤ <i>Actinoplanesspp</i>               | ➤ Eau douce, litière végétal,sol              |
| ➤ <i>Frankiaspp</i>                    | ➤ Nodules racinaires des non légumineuses,sol |
| ➤ <i>Micromonosporaspp</i>             | ➤ Eau douce, sédiments, sols(humides ou non)  |
| ➤ <i>Nocardiaamarae</i>                | ➤ Boues activées                              |
| ➤ <i>Rhodococcusprophylus</i>          | ➤ Déjections animales ,eau,sol                |
| ➤ <i>Saccharopolysporarectivirgula</i> | ➤ Foin moisi ,sol                             |
| ➤ <i>Saccharomonospora</i>             | ➤ Compost,sol                                 |
| ➤ <i>Streptomycesspp</i>               | ➤ Sol,litièrevégétal,eau                      |

## I.6. Propriétés générales des actinomycètes

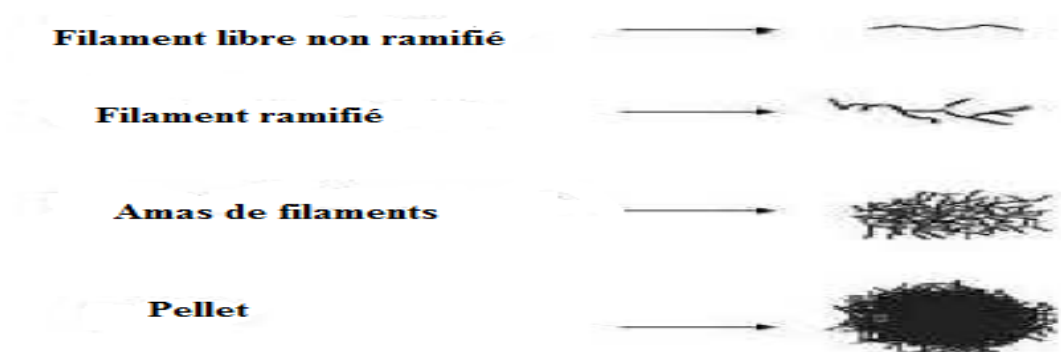
### I.6.1.Morphologie et Reproduction des actinomycète

La majorité des actinomycètes cultivés sur milieu solide forment un mycélium de substrat Et un mycélium aérien (**Figure 3**). Néanmoins, il existe des groupes qui ne forment qu’un Mycélium de substrat poussant à la surface et dans le milieu de culture, ou un mycéliumAérien dont les hyphes sont attachés au milieu par des crampons (**Kalakoutskii et Agre,1976**). En culture liquide et sans agitation, les hyphes formés après la germination des spores Montent en surface pour croître en contact de l'air (**Pamboukianet al, 2002**). Cependant, enmilieu liquide avec agitation, il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. Les**Streptomyces**forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'agrègent pour former Enfin les pellets (**Figure 3**).





**Figure 3.** Croissance d'une colonie d'actinomycètes sur milieu solide (Prescott et al., 2003).



**Figure 4 :** Les morphologies rencontrées de *Streptomyce solindensis* cultivé en milieu liquide (Pamboukian et al., 2002).

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

1. Des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
2. Des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides;

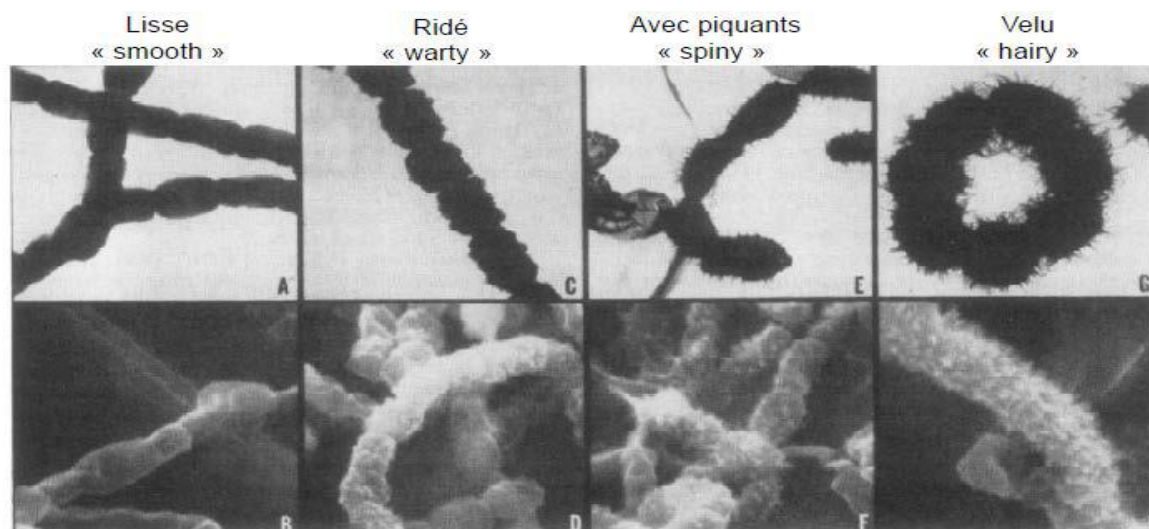
3. Des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons. (Kalakoutskii et Agre, 1976).

Quant au milieu liquide, ces bactéries peuvent se présenter sous différents aspects :

Filaments libres ou ramifiés qui s'agrègent formant ainsi des pelotes hérissées, ou allongées (**figure4**), cette diversité est dépendante des conditions de culture (Belyagoubi, 2014).

#### I.6.2. .Formation des spores

- Les spores d'actinomycètes ont une fonction de dispersion et de survie dans des conditions défavorables de croissance végétative. Les divers types de spores des actinomycètes peuvent être classés en deux groupes principaux selon leur mode de formation: exospores et endospores (Leveau et Buix, 1993).(figure 5 ).
- Les exospores sont le type le plus fréquent, elles sont formées par septation d'hyphes existants et séparation des éléments obtenus.
- Les endospores sont produites par des actinomycètes thermophiles, elles sont issues d'une réorganisation cytoplasmique et de la formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphes existant
- La viabilité des spores est fonction de leur type: des endospores de *Thermoactinomyce* sont survécu plusieurs centaines d'années dans des sédiments lacustres à 5°C. Comparativement des exospores sèches de *Streptomyces* survivent 20 à 30 ans comme les conidies de champignons (Leveau et Buix, 1993).



**Figure 5.** Clichés de microscopie électronique illustrant la diversité des types de surface De spores chez le genre *Streptomyces* (Lyons et Pridham, 1971).

### I.7. Physiologie de développement

Au niveaux du sol, les actinomycètes représentent l'une des principales communautés microbiennes. Leur présence est significativement influencée par les conditions environnantes l'humidité. La température, le pH, la salinité, le type de sol, la profondeur dans le sol, les faibles taux d'humidité (Sykes et Skinner, 1973 ; Bsilio et al, 2003) .

#### I.7.1.1. L'oxygène

On peut deviser les actinomycètes selon leurs types respiratoires en deux groupes :

- Les formes fermentatives anaérobies, représentées par le genre type *Actinomyces*, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs, Ils font partie de la flore de Veillons (Avril., 1992).
- Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces*, sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol (Avril. 1992).

#### I.7.2. Le pH

Pour le pH, la plupart des actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre

7-8, mais on peut observer une croissance à des valeurs de pH inférieures à 4 (McKinney, 2004) .

### **I.7.3.La température**

La température optimale de croissance est entre 25 à 30 C°, mais les espèces thermophiles peuvent croître à des températures de 55 à 65 C° (Rangaswami et al, 2004).

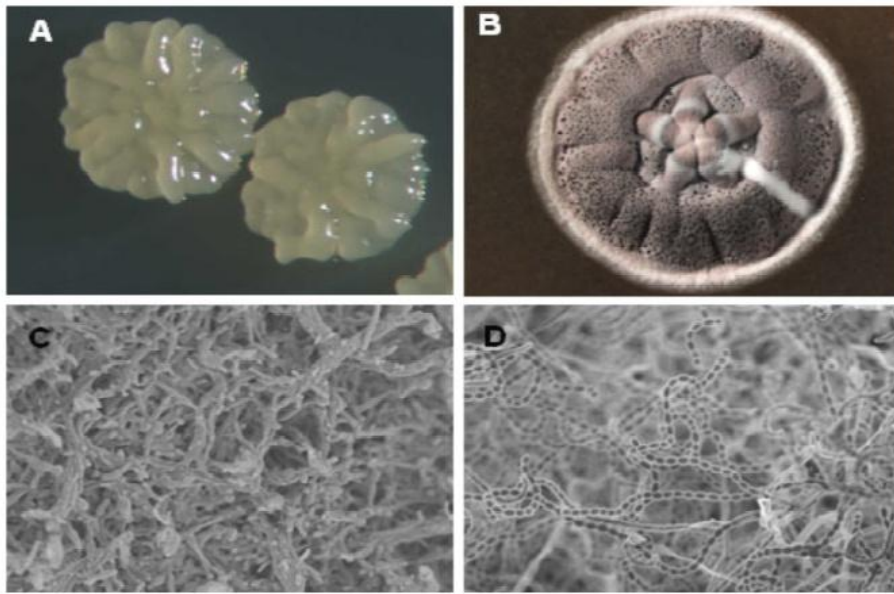
### **I.7.4.L'activité de l'eau (Aw)**

La germination des spores de la pluparts des actinomycètes, peut-être observée à des valeurs d'activité d'eau supérieures ou égales à 0.67, l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est égal à 0,98 (Zvyagintsev et al, 2005).

## **I. 8 .1.Description du genre *Streptomyces***

Les Streptomyces sont des bactéries Gram positives, filamenteuses appartenant au groupe des actinomycètes, groupe qui englobe la majorité des espèces bactériennes du sol, Ce sont des bactéries ubiquistes du sol, aussi retrouvées en milieu marin (sédiments...), (Selvakumar et al, 2015),Ce sont des bactéries avec une proportion de G+C élevée (69 à 78%) formant des colonies à la morphologie complexe. Quatre cents espèces de Streptomyces ont été décrites dans un premier temps, puis elles ont été classées dans 19 groupes majeurs (notés A à J) et 40 sous-groupes notés par un chiffre arabe [Hodgson (2000)].

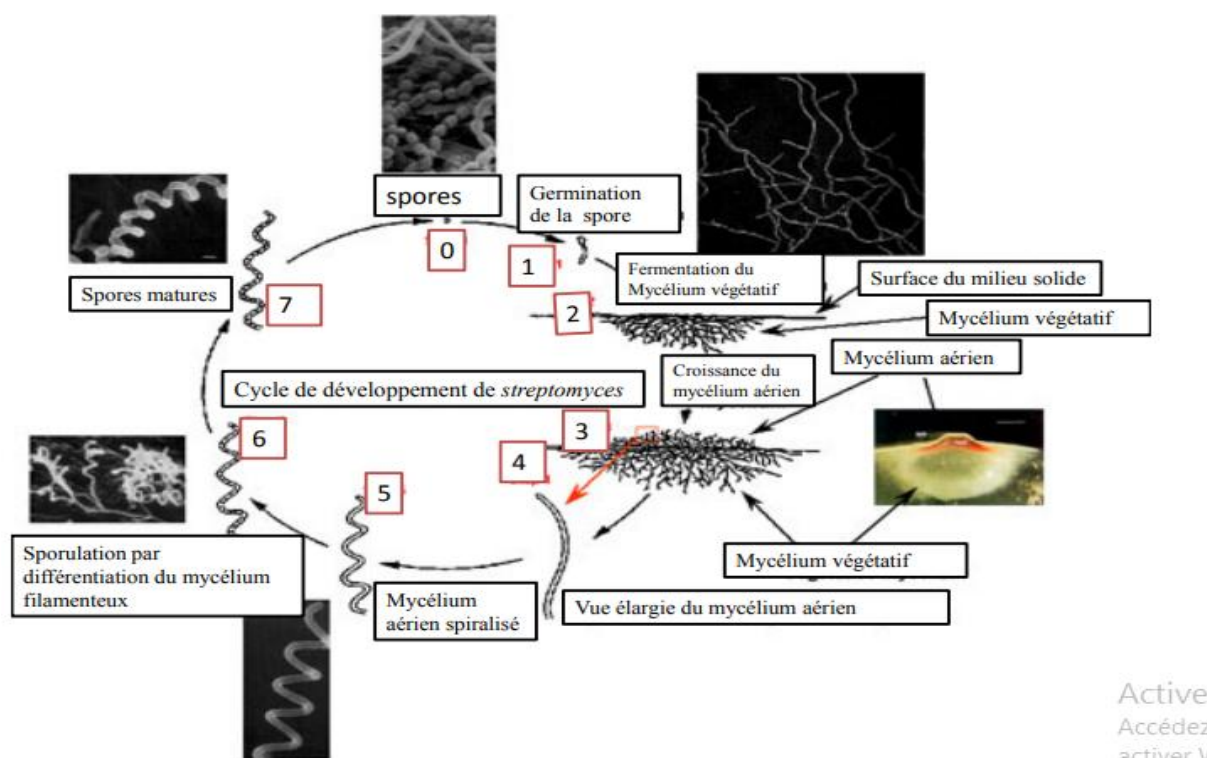
- **Sur un milieu solide** : il débute par la germination d'une spore qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes non septés et plurinucléés, ramifié et ancré dans le milieu solide. Un mycélium aérien se développe sur ce mycélium primaire, en effet ce dernier s'autolyse et les produits de la lyse sont cannibalisés par le mycélium aérien. Les extrémités des hyphes aériens se spiralisent puis se cloisonnent et se différencient pour former des chaînes de spores uninucléées ; ces spores sont des agents de dissémination ,
- **En milieu liquide**, les cellules se développent uniquement sous forme de mycélium primaire, même si certains Streptomycètes peuvent sporuler dans cet environnement. [Hodgson (1992)].



**Figure 06:** Représente les colonies de *Streptomyces* au stade du mycélium végétatif (A) et après différenciation morphologique et apparition des spores (B). Mycélium végétatif (C, gross. 2200×) et chaînes de spores (D, gross. 300×) (Madigan et Martinko, 2007)

### I.8.2. Cycle de développement du genre *Streptomyces*

Les actinomycètes du genre *Streptomyces* présentent un cycle biologique cellulaire asexué similaire à celui des champignons imparfaits. Il débute par la germination d'une spore qui donne naissance à un mycélium végétatif formé d'hyphes ramifiées, un mycélium aérien secondaire se développe sur ce mycélium végétatif en utilisant ce dernier comme substrat. En effet, le mycélium végétatif s'autolyse et les produits de la lyse sont utilisés par le mycélium aérien. La croissance des hyphes est apicale (se fait par le sommet) et s'accompagne de la formation de septa. Les cellules se différencient ensuite pour former des spores pigmentées en général (Kim et al., 2004). (figure 7).



**Figure 7** : Cycle de développement du genre *Streptomyces* (Maguelez et al.,2000).

### I.8.3. Quelques exemples de *Streptomyces* et des métabolites secondaires produits

Les Streptomycètes ont la capacité de produire une large gamme de métabolites qui ont des applications importantes en santé humaine et animale. Les plus répandus sont les antibiotiques mais d'autres ont des effets immunosuppresseurs ou sont des inhibiteurs d'enzymes. Ces microorganismes sont une des sources les plus utilisées de métabolites secondaires. Il y a une quinzaine d'années, six milles antibiotiques avaient été identifiés chez les Actinomycètes dont cinq milles chez les Streptomycètes sur un total de 9000 antibiotiques connus [Goodfellow et O'Donnell (1992)].

Le premier antibiotique produit par un *Streptomyces* à avoir été identifié est la streptomycine (Schatz et al., 1944), produite par *Streptomyces griseus* et utilisée à l'époque comme traitement contre la tuberculose. Sa découverte a permis à Selman A. Walksman de recevoir le prix Nobel en 1952 (site 1).



*Streptomyce sambofaciens* a été découvert dans les années 50 à Péronne dans la Somme (**Pinnert-Sindico, 1954**) et est connu pour la production de congocidine (**Cosar et al., 1952**) et de spiramycine (**Pinnert-Sindico, 1954**)

Les enzymes des Streptomycètes sont également très intéressantes en biotechnologie, par exemple la xylose isomérase issue d'un Streptomycète thermophile [**Hodgson (2000)**].

## **I. 10. Propriétés métaboliques des Actinomycètes**

### **I.10.1. Le métabolisme secondaire des actinomycètes**

Le métabolisme des actinomycètes peut être divisé en deux parties : le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire. Ces bactéries filamenteuses sont connus pour la richesse de leur métabolisme secondaire. Le métabolisme primaire regroupe les réactions cataboliques et anaboliques qui permettent la formation de biomasse. Le pouvoir réducteur et l'énergie produits par ces réactions sont utilisés pour former et assembler les monomères (ex : acides aminés) en macromolécules (ex : protéine). (**Caroline S. 2008**).

La production de métabolites secondaires chez les Actinobactéries est fortement influencée Par divers paramètres de fermentation tels que les nutriments disponibles, pH, température, Pression partielle d'oxygène, agitation, sels minéraux, les ions métalliques, les précurseurs, Les inducteurs et les inhibiteurs qui varient souvent d'un organisme à l'autre (**Iwai et Omura, 1982**),

Les actinomycètes sont des groupes les plus effectifs producteurs de métabolites secondaires et sont très importants d'un point de vue industriel (**Solanki , 2008**) . Parmi ces métabolites secondaires on peut citer :

#### **I.10.1.1. Les antibiotiques**

Les actinobactéries représentent actuellement le groupe le plus producteurs de composés bioactifs tels que les antibactériens, les antifongiques, les antiviraux mais aussi les antiparasitaires, les antis tumoraux et les enzymes (**Solecka et al., 2012**).

En effet, plus de 90% des antibiotiques utilisés proviennent de ces bactéries qui produisent environ deux tiers de tous les composés bioactifs isolées (**Brédy, 2005**).

### I.10.1.2. La production des Antibiotiques par le genre *Streptomyces*

Les antibiotiques produits par *Streptomyces* montrent une grande diversité au niveau de leur structures et de leurs cibles cellulaires,. Ils couvrent les familles de composés majeures commercialisées aujourd'hui : macrolides, glycopeptides, pénicillines, aminoglycosides, angucyclinones. Ils représentent aujourd'hui un marché considérable de vingt-huit milliards de dollars au niveau mondial (**Thomson et al.2004**).

**Tableau II : Quelques exemples de molécules antibiotiques et microorganismes producteurs (Aboul-Enein et Ali, 2000)**

| Microorganismes producteurs          | Antibiotiques   |
|--------------------------------------|-----------------|
| ■ <i>Streptomycesorientalis</i>      | ■ Vancomycine   |
| ■ <i>Streptomycesazureus</i>         | ■ Thiostreptone |
| ■ <i>Actinoplanesteichomyceticus</i> | ■ Teicoplanine  |
| ■ <i>Nocardialurida</i>              | ■ Ristocetine   |
| ■ <i>Nocardiamediterranei</i>        | ■ Rifamycine    |
| ■ <i>Streptomyces kanamyceticus</i>  | ■ Kanamycine    |
| ■ <i>Streptomycesgriseus</i>         | ■ Streptomycine |

### I.10.1.3. Production d'Enzymes

Essentiellement, les Actinomycètes synthétisent de nombreux enzymes telles que les chitinases, les glucanases(**Tokala et al., 2002**), les peroxydases et les glutaminases, ainsi que d'autres espèces qui ont la capacité de produire; des amylases, des cellulases et des hémicellulases et de dégrader la lignine. (**Divya et al., 2014**),

### I.10 .1.4. Production des enzymes par le genre *Streptomyces*

Les *Streptomyces* produisent différents types d'enzymes telles que; les protéases, les lipases, les cellulases, les amylases, les pectinases et les xylanases (la xylose isomérase issue d'un Streptomycète thermophile) ...etc., qui sont très intéressantes en biotechnologie (**Colombié, 2005**).

Les protéases sont le groupe le plus important des enzymes industrielles et représentent, environ 60% des enzymes bactériennes totales, qui sont produites



principalement par les *S.clavuligeru* *S. griseus*, *S. rimouses*, *S. thermoviolaceus*, *S. thermovulgaris*).(Guebla et al ., 2016)



**Figure 8** : Différents types d'enzymes produits par Actinobacteria. A. une Amylase.,B. Protease., C. Lipase. (Abesse et al., 2016).

#### **I.10.1.5.Production de vitamines par les actinobactéries**

Ce sont des Substances organique, sans valeur énergétique, mais indispensable à l'organisme, apportée en petite quantité par l'alimentation. Ces vitamines sont également produites par des microorganismes, surtout les actinobactéries, on trouve des espèces du genre *Streptomyces* telle que *S.olivaceus* exploitée en biotechnologie pour la production de la vitamine B12 (**Harlow et al., 1953**). On a montré que les actinobactéries produisaient de thiamine et le dérivé d'acide pteroylglutamique qui favorise la spéciales de certaines de *Leuconostoc citrovorum* et de la coenzyme A (**Anandan et al, 2016**) .

#### **I.10.1.6.Les biopestisides**

Les actinomycètes jouent un rôle important dans la lutte biologique contre les insectes en produisant des composés insecticides actifs contre la mouche domestique, *Muscadomestica* (**Hussain et al., 2002**). La mortalité des stades larvaire et nymphale était terriblement élevée, atteignant 90% après le traitement par actinomycètes (**Hussain et al. 2002**). Les actinomycètes ont été efficacement utilisés contre *Culex quinque fasciatus* (**Sundarapandian et al. 2002**)

#### **I.10.1.7.Actinomycètes dans la Bioremédiation**

Le pétrole est devenu l'un des contaminants les plus courants des grandes surfaces de sol et est finalement considéré comme un problème environnemental majeur (**Sanscartier et al. 2009**). Les hydrocarbures se sont dégradés dans l'environnement de plusieurs manières.

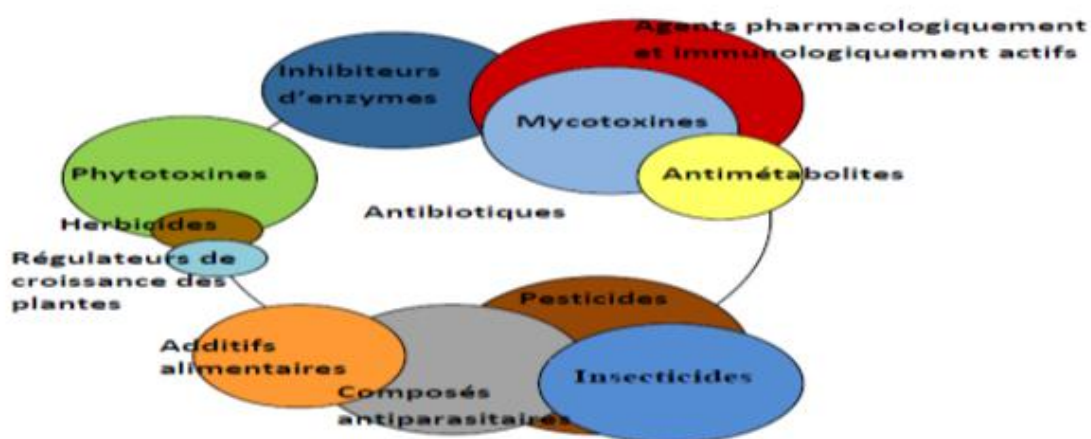
La biorestauration est l'un des mécanismes permettant de les éliminer de l'environnement. La bioremédiation consiste à utiliser des microbes du sol pour dégrader les polluants en substances inoffensives (Collin, 2001).

Les actinomycètes possèdent de nombreuses propriétés qui en font de bons candidats pour la bioremédiation de sols contaminés par des polluants organiques. Ils jouent un rôle important dans le recyclage du carbone organique et sont capables de dégrader des polymères complexes (Goodfellow et Williams, 1983).

#### I.10.1.8. Les probiotiques

Le terme “probiotique” est un mot relativement nouveau qui signifie “en faveur de la vie” et qui est actuellement utilisé pour désigner des bactéries associées à des effets bénéfiques chez l’homme et les animaux (Metchnikoff, 1907)

You et al. (2005) ont décrit le potentiel de *Streptomyces* contre le pathogène des crevettes *Vibrio spp.* et ont recommandé que les souches *Streptomyces* marines ont un potentiel probiotique en raison de leur capacité à dégrader les macromolécules comme l'amidon et des protéines en culture d'eau de l'étang, pour produire des agents antimicrobiens et à former des spores qui résistent à la chaleur et dessiccation.



**Figure 9 :** Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes (Conn, 2005).

### **I.11. Importance des actinobacteries**

#### **❖ Importance écologique des actinobacteries**

Au niveau de la rhizosphère, les actinobacteries forment des relations symbiotiques avec les racines des plantes, en contribuant à la promotion de leurs croissances par des effets directs (**Barreto et al., 2008**) comprennent la solubilisation du phosphore, la fixation d'azote atmosphérique, la production de phytohormones, (**El-Mehalawy et al., 2004**), et des effets indirects qui peuvent être dus au contrôle des agents pathogènes par la production des métabolites secondaires, tel que les antibiotiques (**Barreto et al., 2008**),

#### **❖ l'importance En domaine pharmaceutique**

les *actinomycètes* produisent 60 % des médicaments telle que l'actinomycine D (Demain et Leucini, 2006), ils possèdent diverses activités biologiques (**Manivasagan et al., 2014 ; Blunt et al., 2016**) comme les activités anticancéreuses, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti oxydantes (**Lam, 2006**). En outre, ils jouent un rôle significatif dans la fixation de l'azote et l'amélioration des paramètres physiques du sol (**Goodfellow et Williams, 1983**).

#### **❖ L'importance en agronomie**

Les actinomycètes ont un rôle important dans l'amélioration de la qualité du sol agricole. En effet, ils contribuent à la fertilisation du sol. Ils contribuent aux processus de recyclage et de la biodégradation de la matière organique et des éléments minéraux (**Goodfellow et al., 1984**).

Mazzola (2002) a montré qu'un sol riche en actinomycètes est suppressif aux maladies phytopathogènes qu'un sol pauvre de ces bactéries (**Errakhi, 2008**).

### **I.12. Les actinomycètes en tant que microorganismes pathogènes**

Les actinomycètes se sont révélées être les agents causaux de nombreuses maladies humaines ; animales et des plantes, Notons l'actinomycose et la nocardiose,

Les Actinomycoses constituent une partie non négligeable de la pathologie humaine et animale parmi les micro organismes responsables de telles maladies ; on

rencontre : des germes anaérobies stricts (groupe de l'*Actinobacterium israeli* ) ; Des germes micro aérophiles (*Actinomyces bovis*) et des germes aérobies que nous groupons dans les genres *Nocardia* et *streptomyces* (**Pine et al.,1960 ,Prévot, 1960**).

Les espèces pathogènes du genre *Nocardia* sont responsables de trois types d'actinomycoses : le Farcin du bœuf, actinomycoses ganglionnaire due à *N.farcinica* ; les nocardios esvraies dues à *N.asteroides* et les mycétomes à petits grains dus à *N.asteroides* et *N.brasiliensis* (**Mariat F. 1962**)

Peu de maladies des plantes sont provoquées par les Actinomycètes. Notons la gale de la pomme de terre (*potatoscab*) causée par *Streptomyces scabies* et la gale de la patate douce (*S. ipomoeae*). Des *Streptomyces* peuvent aussi s'attaquer à la betterave à sucre et à de jeunes plantes de pommiers et d'érables à sucre. De plus, *Nocardiavaccinii* est la cause de gale des myrtilliers.

De nombreux Actinomycètes peuvent profiter de blessures des arbres pour s'introduire dans leurs vaisseaux et les boucher. Certaines espèces dont *Streptomyces flavovirens* peuvent dégrader la lignocellulose et jouer un rôle secondaire dans la carie des bois (**site 2**).

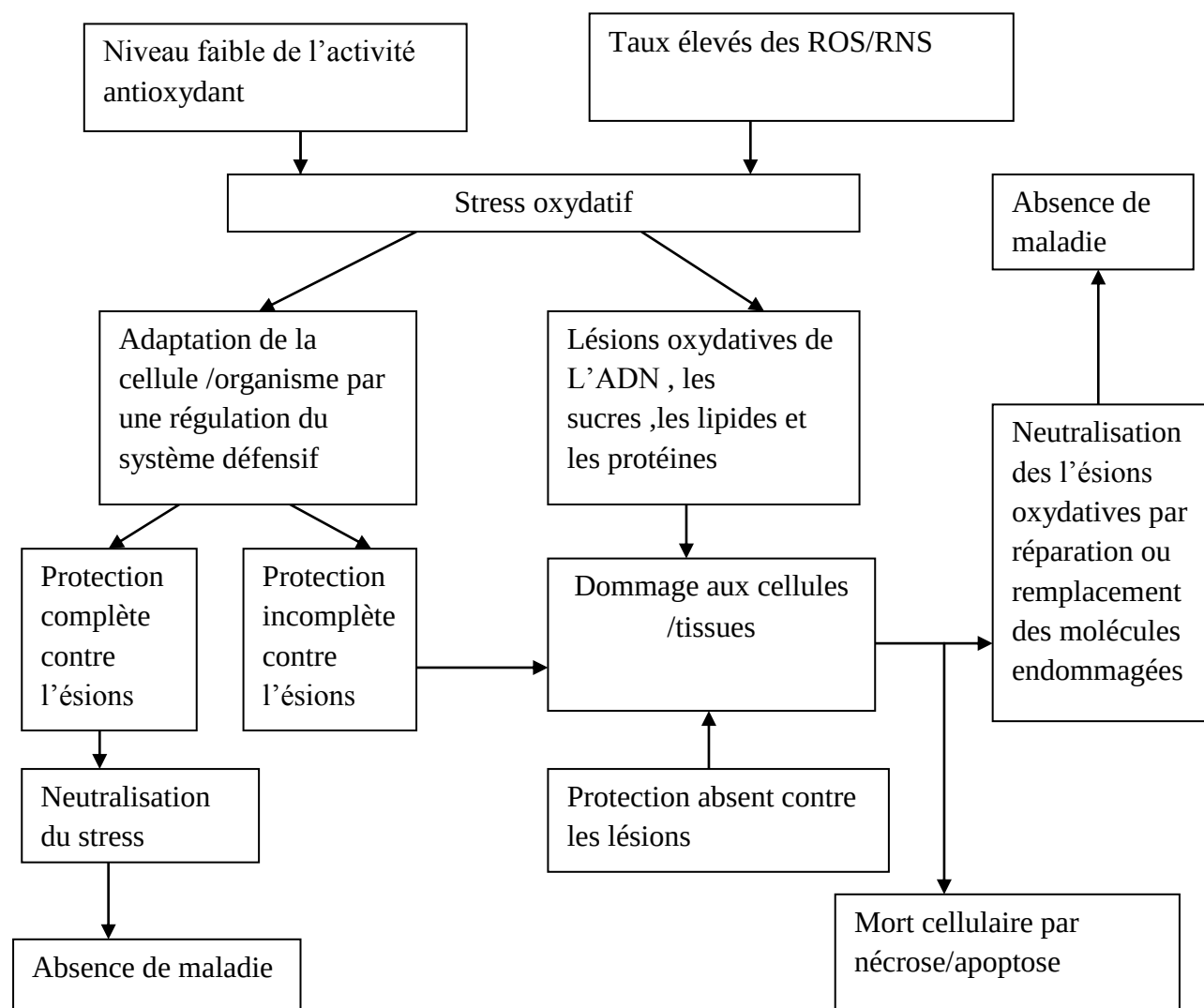
## II.1. Stress oxydatif

L'oxygène est indispensable à la vie des organismes aérobies où les mitochondries, "poumons" de la cellule, qui en utilisent la majeure partie comme substrat de la chaîne respiratoire pour la production de l'énergie sous forme d'ATP. Ce métabolisme induit la production d'espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA) en équilibre avec les systèmes antioxydants (**Roede et Jones, 2010**). Le stress oxydant est défini comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production de composés pro-oxydants et leur élimination.

## II.2. Les radicaux libres

« Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène ». Ceci leur confère la dénomination

d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) ou de l'azote (ERA ou RNS) (Serteyn 2002) .



**Figure10.** Les espèces réactives, le dommage oxydatif et les réponses cellulaires au stress oxydatif. (Kohen and Nyska, 2002).

### II.3.Les antioxydantes

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques des ROS., donc notre organisme réagit constamment à cette production permanente de radicaux libres (Pincemail et al.,1999).

En effet, dans l'ensemble de nos tissus sains, les antioxydants sont capables de faire face et détruire les radicaux libres produits en excès.

Cependant, dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydante (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif **(Sarma et al.,2010 et Mohankumar et al., 2012)**.

Selon leur nature ces molécules peuvent être divisées en deux groupes :

✚ **Antioxydants naturels** : Qui peuvent être des composés phénoliques tels que (les tocophérols, les flavonoïdes, et les acides phénoliques), composés azotés (alcaloïdes, dérivés de chlorophylle, acides aminés, et amines), ou bien les caroténoïdes et l'acide ascorbique, les  $\beta$ -carotènes, les flavonoïdes, les composés phénoliques,...etc. **(Kohen et Nyska, 2002)**.

✚ **Antioxydants synthétiques** : Qui sont généralement préparés au laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques avec des structures phénoliques de divers degrés de substitution alkylique, on cite parmi les antioxydants synthétiques : l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxy toluène butylé (BHT). Dans l'industrie alimentaire, l'ajout d'antioxydants naturels dans les aliments est une technique complètement nouvelle **(Ribéreau-Gayon et al.,1972)**.

# *Matériels et Méthodes*

### III.1.Prélèvement des échantillons

Les échantillons de sol ont été prélevés selon la technique de **Pochon et Tardieux (1962)** à partir du sol de la source thermale Sidi-Aissa de la wilaya de Saïda, à l'aide d'une grande spatule stérile, les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés, on prélève alors avec une petite spatule stérile dans la couche sous-jacente (entre 5 et 15centimètres de profondeur) 100 à 150 grammes de terre qui sont déposés sur une feuille d'aluminium stérile. Les gros débris sont écartés (pierres, racines, etc.) et environ 50grammes sont placés dans un flacon stérile et transportés le plus rapidement possible au laboratoire. Le site de prélèvement est illustré dans la figure suivante.



**Figure11.** Site de prélèvement du sol de la station thermale Sidi-Aïssa de la wilaya de Saïda (34.962288, 0.163680).

### III.1.2. Traitement des échantillons

Les échantillons du sol prélevés ont été séchés à l'air libre dans une chambre d'incubation afin de limiter la contamination par les moisissures durant les manipulations. Un gramme de chaque sol séché à l'air est mélangé avec 0,1 gramme de  $\text{CaCO}_3$  puis incubé à  $28^\circ\text{C}$  pendant 7 jours dans une atmosphère saturée d'humidité (**Cavalla et Eberlin, 1994**).

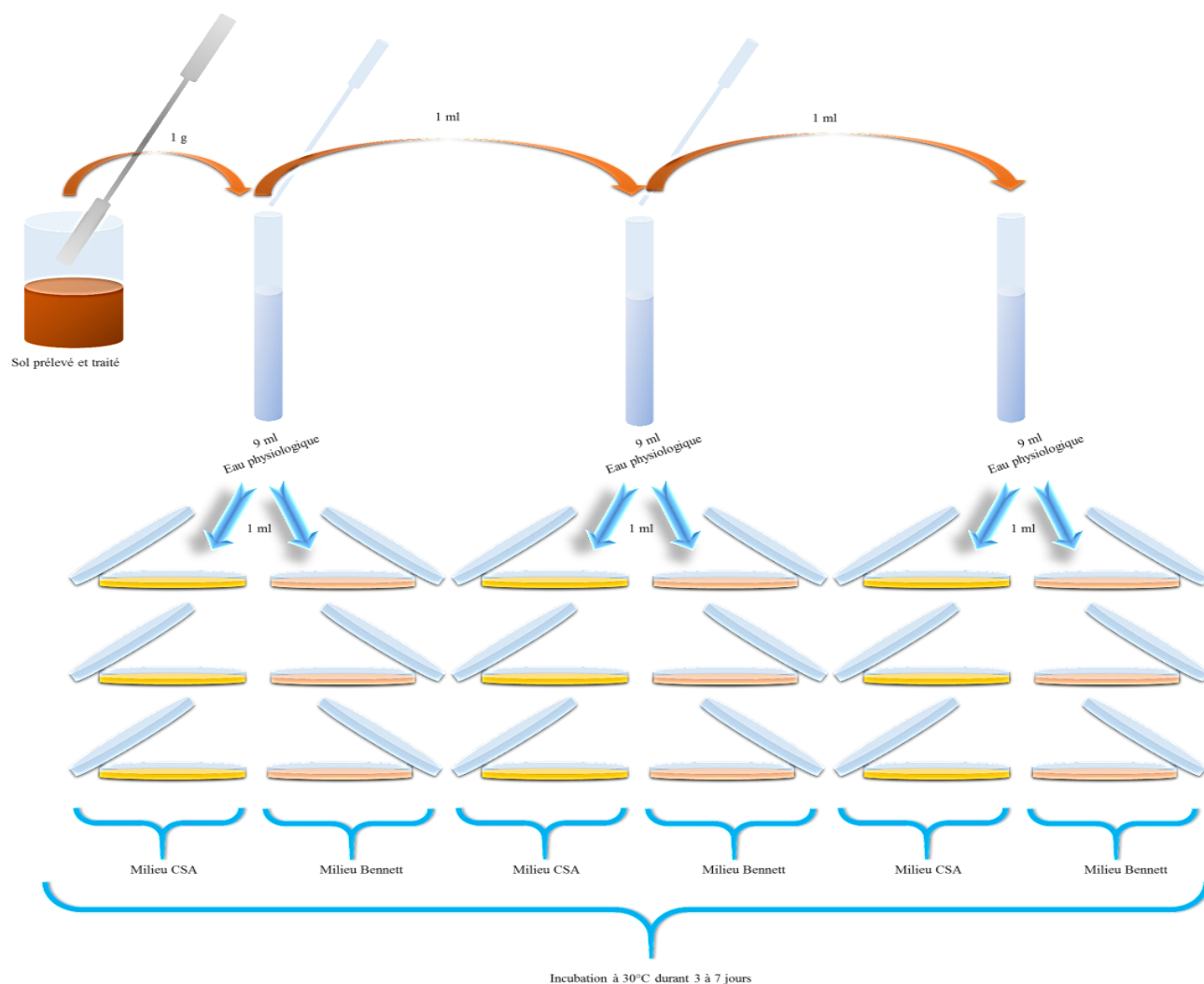
### III.1.3. Préparation des sols pour isolement des actinomycètes

Une fois le sol est prêt, la dilution mère est préparé dans un tube a essaie à partir d'un gramme de sols pour chaque échantillon dans 9 ml d'eau physiologique, le mélange doit être homogénéisé à l'aide du vortex pendant 10 minutes. Des dilutions décimales sont ensuite réalisées ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ).



### III.1.4. Isolement et purification des actinomycètes

A partir de chaque dilution préparée précédemment, 100 µl de suspension est ensemencé par inondation sur la surface du milieu CSA et Bennett. Les boîtes de pétries sont ensuite incubées à 30°C pendant trois à sept jours (**Figure 08**).



**Figure 12.** Isolement et purification des actinomycètes

### III.1.5. Purification et conservation des actinomycètes

Après examinaisons des colonies à l'aide d'un microscope photonique, les colonies typiques d'Actinobactéries sont purifiées sur la surface du milieu CSA puis incubées à 30 pendant trois à sept jours. Une fois la culture pure, les colonies sont transférées dans 100 ml de milieu Gym liquide. L'incubation se fait à 30°C pendant sept jours. Les colonies actinomycétales pures sont encore conservées d'une part à 2°C dans la gélose CSA inclinée, et d'autre part à -20°C en suspension en présence de glycérol à 50 %.

## III.2. Screening de l'activité antifongique

### III.2.1. Choix des souches fongiques

Les souches fongiques utilisées pour tester l'activité antifongique des actinomycètes sont des champignons microscopiques réputés toxigènes. Elles sont à l'origine d'importantes maladies. Ces souches sont regroupées dans le tableau.

**Tableau III.** Souches fongiques utilisées pour tester l'activité biologique des extraits

| Souches fongiques              | Code | Origine                                                                        |
|--------------------------------|------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Aspergillus ochraceus</i>   | A O  | Département de biologie,<br>faculté des sciences – Université<br>de Laghouat . |
| <i>Aspergillus parasiticus</i> | A P  |                                                                                |
| <i>Fusarium graminearum</i>    | F G  |                                                                                |

Les trois souches fongiques ont été choisies soigneusement pour :

- Les différentes altérations alimentaires provoquées.
- Les problèmes potentiels qu'ils posent en clinique.

### III.2.4. Préparation et extraction des métabolites secondaire

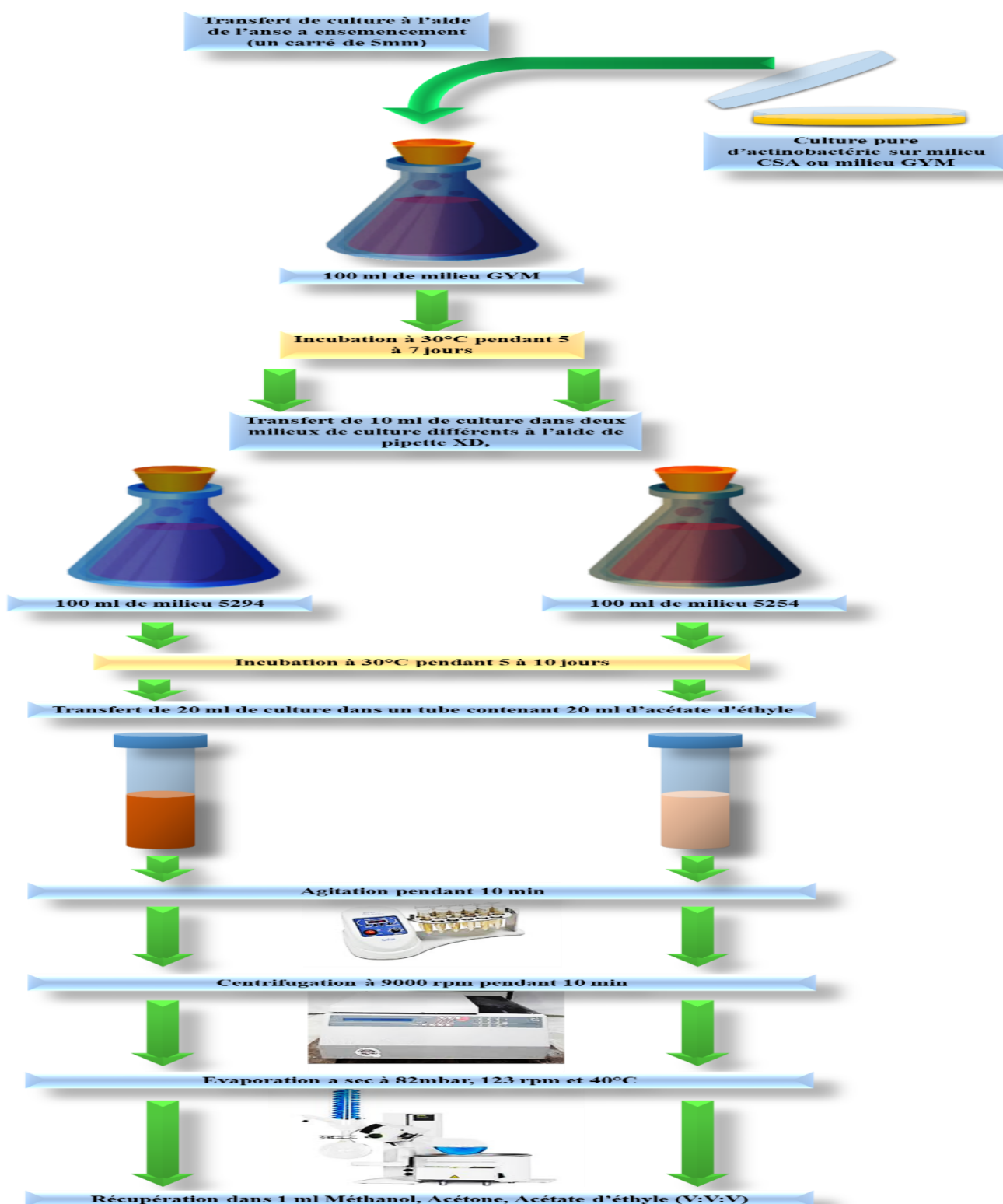
A partir des cultures liquides dans les milieux Gym, 10 ml de chaque culture est transféré dans des flacons contenant 100 ml de milieu 5294. L'incubation se fait à 30°C sous agitation continue (160-180 rpm) durant 5 à 10 jours. La vérification de la pureté des cultures se fait sous le microscope afin d'éviter toute contamination.

- **Extraction des métabolites secondaires**

Une fois les cultures sont prêtes, l'extraction des métabolites secondaire est réalisée suivant le protocole décrit comme suit :

20 ml de chaque culture est porté dans des tube en plastique gradué à l'aide de pipettes sur lequel 20 ml d'acétate d'éthyle est ajouté, chaque mélange est bien mixé puis porté dans dans agitateur a rotation pendant 10 à 12 minutes. Les tubes sont ensuite centrifugés à 9000 rpm pendant 10 minutes. Les surnageant sont enfin récupérés dans des boules en verre puis est évaporé à l'aide du rotavapor à 40°C et 123 rpm jusqu'à l'évaporation à sec. L'extrait

ensuite récupéré dans des tubes contenant 1ml de méthanol-acétone-acétate d'éthyle est gardé à -20°C jusqu'à leur utilisation (**Figure13**).



**Figure 13.**Extraction des métabolites secondaires

### **III.2.2. Evaluation du pouvoir antifongique des actinomycètes par la méthode des puits**

Pour chaque moisissure, l'inoculum doit être préparé à partir d'une culture de 7 jours sur milieu PDA à 25°C. Récupérer les spores en imbibant un écouvillon stérile avec du Tween 20 et de le transférer dans 3 ml de solution saline stérile 9%. Pour empêcher l'agglutination des spores, mélanger vigoureusement à l'aide d'un vortex la suspension de spores pendant 15-20 secondes, puis transférer le surnageant dans un tube stérile et ajuster la densité optique (DO) à l'aide d'un spectrophotomètre à 530 nm pour obtenir une suspension de stock de  $10^6$  spores/ml. Un volume de 100 µl de suspension fongique pour chaque souche est ensuite ensemencée sur les milieux PDA solidifié sur les boîtes.

Des volumes de 20, 30 et 40 µl sont prélevés des extraits déjà préparés pour chaque souche d'actinobactérie est injecté dans les puits préparés préalablement par perforation des milieux PDA ensemencés. Les boîtes sont enfin incubées à  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 5 jours. L'activité antifongique est mesurée par le rapport entre la surface de l'inhibition créée par l'extrait et la surface de la boîte entière multipliée par 100% (**Magnusson et Schnürer 2001**). Le résultat obtenu est exprimé comme suit :

- Si le pourcentage de l'inhibition est entre 0.1 et 3%, l'activité antifongique est considérée comme faible.
- Si le pourcentage de l'inhibition est entre 3- 8%, l'activité antifongique est considérée comme moyenne
- Si le pourcentage de l'inhibition est supérieur à 8%, l'activité antifongique est considérée comme élevée.

### **III.3 Mesure de l'activité antioxydant**

#### **III.3.1. Mesure de l'activité antioxydant par DPPH**

L'évaluation de l'activité antioxydant des extraits par DPPH est réalisée suivant le protocole de **Atoui et al en (2005)**

#### **❖ Principe :**

C'est une méthode largement utilisée dans l'étude de l'activité antioxydant. Le DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (**Figure 14**).

### ❖ Mode opératoire

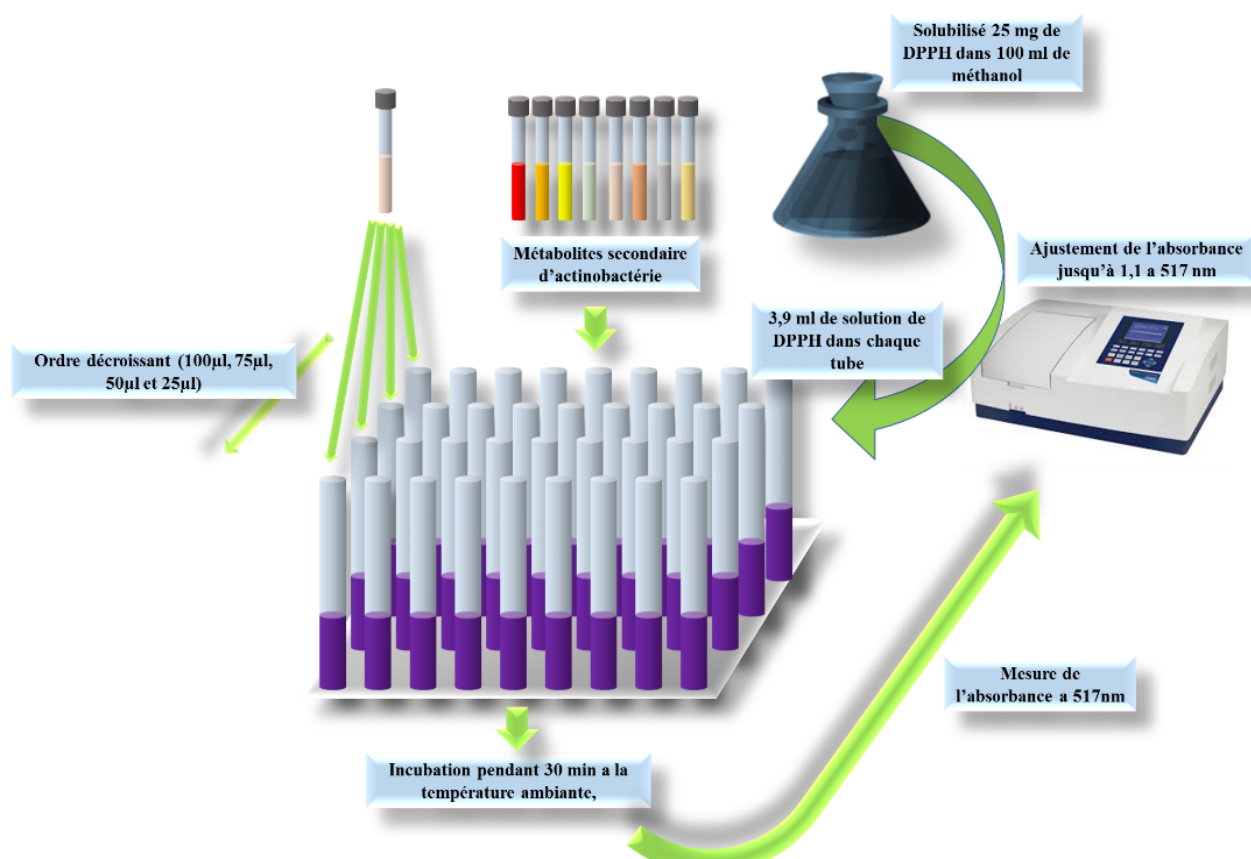
A 3.9 ml de la solution du DPPH ayant une absorbance de 1.1 (0.0025g DPPH dans 100ml méthanol) on ajoute 100, 75, 50, 25µl de chaque extrait, pour le contrôle négatif, on mélangeant 100 µl du méthanol avec 3.9ml de DPPH. Le blanc de l'appareil est le méthanol. L'incubation est durant 30 minutes à température ambiante. La lecture se fait à 517 nm,

### ❖ Calcul des pourcentages d'inhibition :

Le pourcentage de réduction du DPPH est donné par la formule suivante(Yen et al, 1994).

$$\% \text{ PR du DPPH} = [((\text{DO cont à } t_0) - (\text{DO éch à } t_{30 \text{ min}})) / (\text{DO cont à } t_0)] \times 100$$

- % PR du DPPH : pourcentage de réduction ou d'inhibition du DPPH.
- DO cont à t0 : densité optique du DPPH à t0.
- DO cont à t30 : densité optique à 30 min après avoir ajouté l'extrait.



**Figure 14.** Mesure de l'activité antioxydant par DPPH.

### III.2.3 Mesure de l'activité antioxydant par ABTS

#### ❖ Principe

L'activité antiradicalaire des extraits est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical  $ABTS^+$  « 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) » qui est utilisé comme un radical libre pour évaluer l'activité antioxydant des échantillons. Ce radical cationique est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleue (**Prouillac, 2006**) (**figure 15**).

L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cationique entraîne la réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance. Cette diminution dépend de l'activité antioxydant des composés testés, du temps et de la concentration (**Re et al., 1999**).

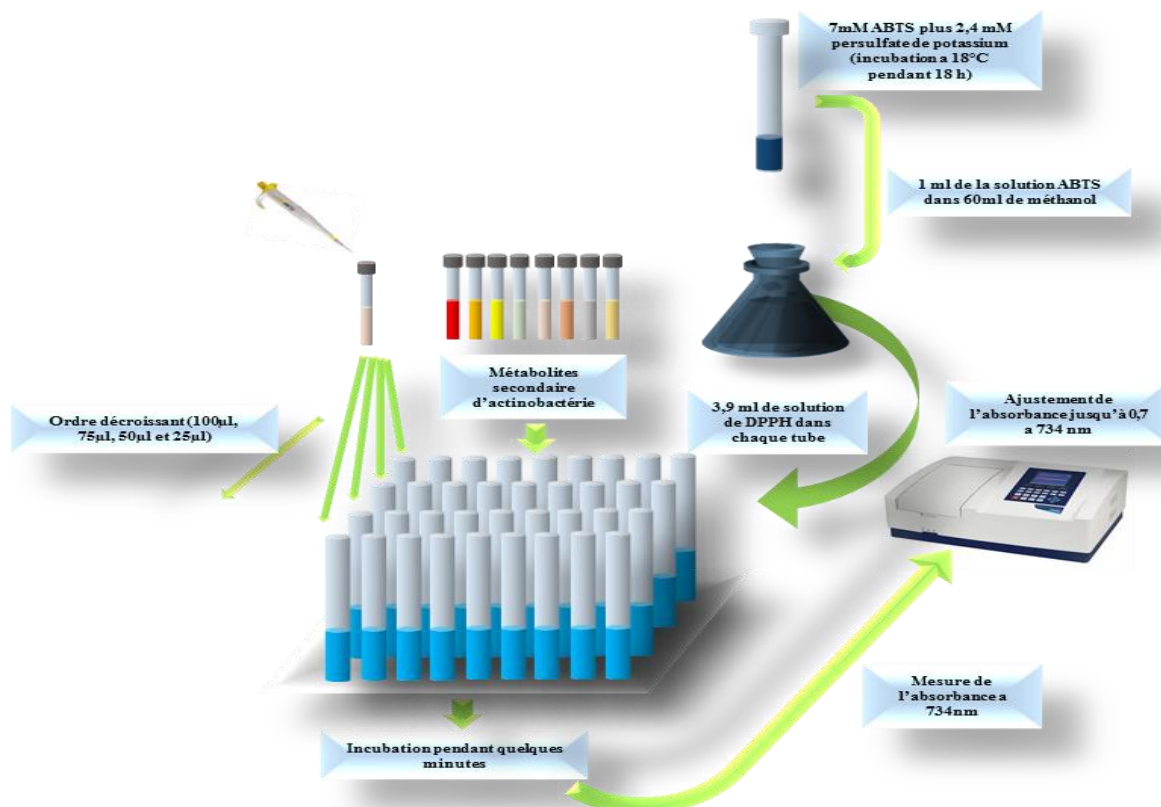
#### ❖ Mode opératoire

Le pourcentage d'inhibition du radical  $ABTS^+$  est évalué par la méthode de **Ramful et al. (2010)**. La solution d' $ABTS^+$  préparée par mélange de 7 mM d'ABTS et de 2,45 mM de persulfate de potassium incubée pendant 12-16 h à l'abri de la lumière et à température ambiante avant l'utilisation. La solution d'ABTS est diluée avec le méthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de  $0,7 (\pm 0,02)$  à 734 nm. 3,9 ml de la solution d'ABTS est additionné à 100, 75, 50 et 25  $\mu$ l de l'extrait.

Après l'incubation pendant 7 min à l'obscurité et à température ambiante, on mesure la réaction de réduction de la solution d'ABTS à 734 nm. Le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical  $ABTS^+$  :

$$\% \text{ PR du ABTS} = [(DO \text{ cont à } t_0) - (DO \text{ éch à } t \text{ 7 min})] / (DO \text{ cont à } t_0) \times 100$$

- % PR du ABTS : pourcentage de réduction ou d'inhibition du ABTS.
- DO cont à  $t_0$  : densité optique du ABTS à  $t_0$ .
- DO cont à  $t_7$  : densité optique à 7 min après avoir ajouté l'extrait.



**Figure15.** *Mesure de l'activité antioxydant par ABTS*

# *Résultats*



## 1. Isolement, purification et identification des actinomycètes

Les colonies d'Actinobactéries apparaissent Après 7 jours d'incubation ; à 30°C sur les milieux d'isolements : **Bennett, GYM et CSA**, ces colonies sont reconnues par leur aspect macroscopique caractéristique: **colonies dures incrustées dans le gélose.**

L'aspect macroscopique des isolats et la forme des colonies sont différents : colonies bombées ou aplaties ; incrustées dans la gélose, possédant un mycélium végétatif surmonté d'un mycélium aérien de couleur multiples : jaune, blanche, orange, marron et noire.

## 2.Vérification de la pureté des souches fongiques :

La pureté des souches fongiques est vérifiée par la méthode de micro culture ,basée sur des caractères macroscopique (couleur, aspect de colonie ....) et microscopique (forme de thalle et des spores) des souches fongique sélectionnées.

L'observation microscopique de la souche fongique « **A** »mettant en évidence les conidiophore, Les têtes aspergillaires sont majoritairement unisériées caractérisées par des vésicules sphériques, phialides verdâtres,thalle verte jaune sombre et des colonies granuleuses Nous pouvons déduire qu'il s'agit d'*Aspergillus Parasiticus* .

Selon à l'observation microscopique de la souche fongique « **B** », les conidiophores sont rugueux, les têtes conidiennes sont bisériées,les phialides sont portées par des métules de dimensions variables, les colonies poudreuses ou granuleuses sont blanches au début puis jaunes.Nous pouvons déduire qu'il s'agit d'*Aspergillus ochraceus*.

L'observation microscopique de la souche fongique « **C** » permet de distinguer les macroconidies qui sont fusiformes, courbées. Les chlamydospores sont intercalaires et globuleuses.Les colonies sontau début roses ou rouges puis deviennent brunes. Nous pouvons déduire qu'il s'agit de *Fusarium graminearum*.

### 3. Les résultats de l'activité antifongique

Selon les résultats affichés sur la « **figure 1** » l'extrait **SX1** montre une activité antifongique moyenne à la concentration 40µl contre *A. parasiticus* avec le pourcentage d'inhibition de 3.68%, cette activité antifongique est absente totalement contre *A. ochraceus* et *F. graminum*.

A **30µl** toujours, *A. parasiticus* est apparue sensible avec un pourcentage d'inhibition de 3.4 % qui reflète une moyenneactivité antifongique. Les deux souches fongiques à savoir *A. ochraceus* et *F. graminum* sont apparues très résistantesà cet extrait avec un pourcentage d'inhibition nul.

A **20µl**, *A.* les trois souches fongiques sont apparues très résistantes à l'extrait SX1 avec un pourcentage d'inhibition nul .

Les résultats affichés sur la figure suivantes montrent que les deux souches *A. parasiticus* et *A. ochraceus* ont une sensibilité faible à **40µl** avec un pourcentage d'inhibition 2.57% et 2.43% respectivement.

*A. parasiticus* présente une sensibilité vis-à-vis l'extrait SX2. Cette activité est désormais faible avec un pourcentage d'inhibition de 2.41% à la concentration de 30µl .

Les trois souches fongiques sont très résistantes à l'extrait SX2 avec un pourcentage d'inhibition nul à la concentration de 20µl.

« La figure 18 » montre que toutes les souches fongiques *A. parasiticus* , *A. ochraceus* et *F. graminum* sont très résistantes à l'extrait SX3 avec un pourcentage d'inhibition nul à toutes les concentrations 40µl, 30µl et 20µl.

« **La figure 19** » montre que toutes les souches fongiques ont dévoilées une sensibilité changeante de l'extrait vis -à- vis la concentration. l'extrait SX4 est doué d'une très bonne activité antifongique contre *A. parasiticus*, *A. ochraceus* et *F. graminum* avec un pourcentage d'inhibition de 11.33 % , 13.86% et 40.44%respectivement à la concentration 40µl. Cette activité s'accroît avec l'augmentation de la concentration de l'extrait dans le milieu PDA.

A 30 µl, les trois souches fongiques *A. parasiticus*, *A. ochraceus* et *F. graminearum* montrent une bonne activité antifongique avec un pourcentage d'inhibition de 6.1%, 9.71% et 25.74% respectivement.

#### **4. Résultats de l'activité antioxydant**

Le protocole expérimental est suivi pour étudier l'activité du piégeage du radical libre **ABTS et DPPH**. Les figures **ABTS et DPPH** représentent l'activité antioxydante de l'extraits :**SX1 , SX2,SX3et SX4** à des différentes concentrations .

Les résultats obtenus indiquent que tous les Extraits ont une Capacité antioxydante différente selon la concentration d'extrait. L'extrait **SX1** et **SX4** ajustement serré de pourcentage d'inhibition de l'**ABTS** et de l'extrait, cette activité diminué avec la diminution de la concentration de l'extrait avec **100µl**.

L'extrait **SX3** enregistre le pourcentage d'inhibition le plus élevé avec **88.69%** suivie **SX1et SX4** avec un pourcentage d'inhibition **85.55%** et **70.98%** et enfin **SX2**.

D'après ces résultats, c'est évident qu'il y a une bonne activité antioxydant dans tous les extraits. Le pourcentage d'inhibition de radical libre **DPPH** se rapproche de **52%**.

# *Discussion*

## DISCUSSION

À l'heure actuelle, les antifongiques sont moins disponibles par rapport aux autres antibiotiques malgré leur rôle infini dans le contrôle des maladies mycotiques. Seule un nombre limité de ces agents est disponible pour le traitement d'infections fongiques mettant la vie en danger (**Vicente et al., 2003**).

Aujourd'hui, La nécessité et les nouveaux besoins des antifongiques efficaces sont un défi majeur pour le secteur pharmaceutique d'industrie.

Nos résultats indiquent que parmi les actinomycètes isolées à partir du sol de la source thermale Sidi-Aissa de la Wilaya de Saida, certains ont montré une nette performance à produire des molécules douées d'une activité antifongique.

Nous avons constaté que les deux souches sx1 et sx4 montrent une bonne activité contre la totalité des souches fongiques testées. Par contre, les deux souches SX2 et SX3 présentent une faible activité antifongique contre les souches fongiques sélectionnées.

Certaines études publiées ont déjà rapportée qu'il y a une activité antifongique des souches d'actinomycètes dites Alcaliphile *Streptomyces* sp. BS30 et ce contre : *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium culmorum*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium glabrum*, *Fusarium multifarum*, *Fusarium sporotrichoides* et *Candida albicans*.

Les données obtenues ont démontré aussi que les isolats alcaliphile *Streptomyces* sp. BS30 provenant d'un échantillon de sol aride de Boussaada présentent une forte activité antifongique contre tout champignon pathogène testé, avec un diamètre d'inhibition de **30 mm** contre *A. Niger* et **19 mm** contre *A. flavus* (**Yasmina et al., 2015**). La même souche présente une activité antifongique contre les champignons phytopathogènes. Des résultats similaires ont été rapportés par **Boubetra et al. (2013)** avec *Saccharothrix* SA198 isolé d'un sol du Sahara Algérien, De plus, **BS30** montre une activité inhibitrice potentielle contre tous les toxigènes.

**Valanarasu et al. (2010)** ont fait une étude sur l'activité antifongique d' une souche d'actinomycètes *Streptomyces spp.* ERI-04 isolée de la forêt sol des Ghats occidentaux, Tamil Nadu et Inde.

Les isolats des *streptomyces spp.* ERI-04 - après un dénombrement effectué par le sol technique de la plaque de dilution utilisant un milieu gélose à la caséine et à l'amidon - démontrent une bonne activité antifongique contre les souches fongiques suivant : *Trichophyton rubrum* ; *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton simii* *Epidermophyton floccosum* , *Scopulariopsis spp.* *Aspergillus niger* et *Candida albicans* , Après 2 jours d'incubation ; une activité à large spectre a été mise en évidence avec des diamètres des zones d'inhibition importants qui varient de **18 à 30 mm**.

Le *Streptomyces E65* isolé du lac Mellah en Algérie présente dans 99% une similarité de la séquence de l'ARNr 16S avec la Souche de type *S. yatusi* dans la sous-classe de *S. violaceus niger*.

Un de ses métabolites a une activité antifongique in vitro puissante ; L'antifongique extrait de cette souche E65 montre un original non polyénique,

Un total de 104 actinomycètes est isolé et criblé pour leur activité antimicrobienne; 21 souches sont actives contre *Candida albicans*. La souche **E65** montre une activité in vitro élevée contre *C. albicans* et une bonne activité antifongique contre une souche clinique de *C. albicans* résistante à la 5-fluorocytosine. (**Benouagueni et al ., 2014**)

Une étude est réalisée par **Belaidi et al. (2015)** sur les actinomycètes dont 20 isolats sont isolées du sol agricole dans la région de Ain M'Lila et 20 autres à partir du sol de Sebkha de la région d'El -Oued ou une activité antifongique importante a été mise en évidence contre les souches fongiques suivantes : *Aspergillus Niger*, *Aspergillus finugatus*, *Fusarium oxysporum* et *Candida albicans*. Les résultats de l'étude indiquent que parmi les 40 souches, 18 souches montrent une nette performance à produire des molécules à activité antifongique et seulement 04 souches sont actives contre la levures *Candida albicans* .

Une des résultats comparables ont été rapportés par **Boudemagh et al. (2005)** a partir d'un dépistage effectué sur 27 actinomycètes - isolés des sols Sahariens du Sud Algérien - qui montre que seulement 7,4% des souches présentent une activité antifongique contre les souches fongiques: *Candida albicans*, *C. albicans*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus Niger* Et *Fusarium oxysporum*.

Le pourcentage le plus élevé des souches actives est observé sur les actinomycètes provenant du Milieu GLM, une souche C3 cultivée sur un milieu GLM montre une activité antifongique très importante sur l'ensemble des souches de test utilisées. Cependant, il présente peu ou pas d'activité lorsqu'il est cultivé sur le support de Bennett.

**Abdelaziz et al. (2013)** a trouvé- dans l'écosystème du sol forestier de Tikjda (Algérie)- que sur les 170 actinomycètes (*Streptomyces* sp. TKJ2), 37.05% des isolats montre la capacité de produire une activité antifongique contre divers pathogènes et phytopathogènes tel que les champignons suivants : *Fusarium oxysporum*, *A. niger*, *Botrytis cinerea*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *Penicillium viridicatum*, *A. ochraceus*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium glabrum* et *Fusarium multiforum*.

La résistance de nombreux bactéries et champignons pathogènes aux métabolites secondaires bioactifs couramment utilisés nécessite la recherche de nouvelles molécules antifongiques et antibactériennes pour lutter contre ces agents pathogènes. Les métabolites secondaires produites par les microbes continuent à attirer l'attention ; en raison de leurs structures chimiques sophistiquées et de leurs activités biologiques très spécifiques.

Les bactéries filamenteuses du sol appartenant au genre *Streptomyces* sont des sources riches d'un grand nombre de produits naturels bioactifs ayant une activité biologique. Elles sont largement utilisées dans les industries pharmaceutiques et agrochimiques par la production d'environ 75% des antibiotiques utiles sur le plan commercial et médical (**Miyadoh. 1993**).

Quatre souches *Stréptomyces* utilisées dans ce travail - isolées d'une source thermale de la région de Sidi -Aissa Wilaya De Saida - montrent une activité antioxydante selon les concentrations de l'extrait.

Nos résultats indiquent qu'il y a une convergence marquée dans le pourcentage d'inhibition ABTS avec SX1 SX4 ; un grand pourcentage d'inhibition a été estimé à 85.55% et 70.98% respectivement ; et moyen dans le volume de 100 µl ; 25µl avec un pourcentage de 52.22% et 35.30% respectivement. par ailleurs ce pourcentage est important chez l'extrait SX3 ( 88.69%) et moyen chez SX2 (29.86%) dans la concentration 100 µl.

Concernant le DPPH a partir des résultats des extraits SX1 , SX2 ,SX3 et SX4, un pourcentage d'inhibition fort a été mise en évidence de l'ordre de 52.62% dans la concentration 100µl ; et moyen de 31.09% dans 25µl. Ces résultats confirment que les extraits des souches *streptomyces* sont doués d'activité antioxydante.

Un test de piégeage des radicaux libres de DPPH a été largement utilisé pour évaluer les capacités antioxydantes. Les antioxydants réagissent avec le DPPH réduisant ainsi le nombre de molécules de DPPH égal au nombre de groupes hydroxyle disponibles (Matthaus. 2002).

Le degré de décoloration indique que les échantillons doivent piéger le radical DPPH en raison de sa capacité à donner du proton hydrogène. Semblable à DPPH, la décoloration du radical ABTS reflète la capacité d'une espèce antioxydante à donner des atomes d'électrons ou d'atome d'hydrogène pour inactiver cette espèce radicalaire. Le cation radicalaire ABTS est généré par la réaction de ABTS avec du persulfate de potassium pendant une nuit dans de l'eau (Re et al., 1999).

PrashithKekuda et al. (2010) ont travaillé sur l'extrait butanolique de filtrat de culture de deux *Streptomyces* sp. nettoyé efficacement par le radical DPPH. L'activité de balayage radical de les isolats 1 et 2 étaient respectivement de 58,71% et 59,97% à 0,5 mg/ml. Dans L'extrait à l'acétate d'éthyle de *Streptomyces* sp. , Le filtrat de culture AM-S1 enregistre une activité de piégeage radicalaire de DPPH très forte avec une IC50 de 68,4 µg / ml et ABTS avec une IC50 de 12 µg / ml par rapport à la souche *Streptomyces* Eri12 avec une IC50 de 842,18 et 172,43 µg/ml respectivement (Zhong et al., 2011).

De plus, Huang et Chang (2012) ont rapporté des activités d'élimination des radicaux DPPH et ABTS du filtrat de culture de *Bifidobacterium Adolescentis* de 88% et 81,5% respectivement, à la concentration finale de 7,5% .



Le filtrat de culture du présent isolât montre une activité de balayage plus élevée dans les tests DPPH (57,4% à 100  $\mu$ l) et ABTS (92,7% à 25  $\mu$ l). Ses activités de piégeage supérieures indiquaient que le mécanisme d'action antioxydante était un donneur d'hydrogène et qu'il pouvait mettre fin au processus d'oxydation en convertissant les radicaux libres en formes stables.

# *Conclusion*

Les actinomycètes sont largement distribuées dans les sol et dans d'autres milieux tellurique et aquatiques dont elles jouent un rôle important dans la production des métabolites secondaires en particulière les *streptomyces* comme : les antibiotique , les agents immunosuppresseur , les anti-tumoraux ,enzyme industrielle ,les biopestisides .

Notre étude est basé sur l'évaluation de activité antifongique et antioxydante des métabolites secondaires bruts extraits de quelque bactéries du genre *streptomyces* isolées de la région - sidi aissa- wilaya de Saida en utilisant des souches fongiques pour tester l'activité antifongique ces souches sont : *Aspergillus ochroceus* , *Aspergillus parasiticus* , *Fusarium graminearum* , qu'ont été choisi pour leur toxinogénés.

L'évaluation de l'activité antifongique par la méthode des puits et l'activité antioxydante par ABTS et DPPH.

Selon les résultats d'activités antifongique dévoilés précédemment on peut dire que l'extrait SX3 a une activité nulle, une faible activité du l'extrait SX2, une moyenne activité du SX1, et une bonne activité de l'extrait SX4 contre les souches fongiques sélectionnées.

Par ailleurs, une activité antioxydante importante est enregistrée pour tous les extraits *streptomyces*.

La comparaison des résultats de cette étude avec d'autre travaux nous a permis de conclure le rôle primordial des *streptomyces* dans l'activité antioxydante et antifongique contre la toxicité des moisissures et la résistance aux fongicides. Nous proposent les perspectives suivantes:

- Identification chimio taxonomiques des souches d'actinomycètes.
- Identification de la nature des molécules bioactives avec HPLC couplé à MS
- Etude toxicologique pour déterminer la toxicité des extraits.
- Etude in vivo des molécules bioactives contre certaines maladies fongiques humaines.

# *Références*

*A*

- Atef Z. ( 2007).** Optimisation de la production de l'Oxytétracycline par *Streptomyces rimosus*. Diplôme National d'Ingénieur. Université 7 Novembre de Carthage
- Avril J L. (1992).** Bactériologie clinique. 2 éd. Paris : ellipses. Pp. 511.
- Anderson CR., Condron LM., Clough TJ., Fiers M., Stewart A., Hill RA., Sherlock RR (2011).** Biochar induced soil microbial community change: Implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen and phosphorus. *Pedobiologia* :doi 10.1016/j.pedobi.2011.1007.1005.
- Aboul-enein HY., Ali I. (2000).** Macrocyclic Antibiotics As Effective chiral Selector Resolution by liquid chromatography and capillary Electrophoresis. *Chromatographia*. **52**, 679-691
- ABBES S., BOUTTERAI., 2016.** identification phenotypique de quelques isolats d'actinobactéries possédant une activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes pathogènes université mohamed boudiaf - m'sila. mémoire de mastère

*B*

- Belyagoubi L. (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat. Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,
- Berdy J. 2005.** Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotics*, 58: 1-26.
- Bsilio A., Gonza lez L., Vicente M .F., Gorrochategui J., Cabello A., Genilloud O (2003).** patterns of conditions of pH and salinity. *J. Appl Microbiol* , 95: 814-823.
- Baltz RH. (2007).** Antimicrobials from Actinomycetes. Back to the future. *Microbe* 2: 125-131.
- Boucheffa K. (2011).** Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques : Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits. Mémoire de Magister. En microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes. Université Abderrahmane Mira Bejaia. P : 3-15.
- Bérdy J. (2005).** Bioactive Microbial Metabolites. *The Journal of Antibiotics*. **58**(1), 1-26.

**Ƨ**

**Caroline STRUB. 05 décembre 2008.** Modélisation et Optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrix algeriensis*, thèse de doctorat, Université de Toulouse .

**Cosar C., L. Ninet., S. Pinnert-Sindico., J. Preud'homme.1952.** Trypanocide action of an antibiotic produced by a *Streptomyces*. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Séances De l'Académie Des Sciences* 234, no. 14 (March 31, :1498–99.

**Conn VM. (2005).** - Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University.

**Ƨ**

**Davidson RN., den Boer M., Ritmeijer K . 2009.** Paromomycin. *Trans R Soc Trop Med Hyg* ; 103 (7) : 653–60.

**Decker S R., Adney W S., Tood B. 2001.** Two novel alkalotolerant dextranases from *Streptomyces anulatus*. *Journal of the American Chemical Society Symposium*. 769: 222-235.

**Demain AL., Sanchez S (2009).** Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J. Antibiot.*, 62:5-16.

**Demain AL., Dykhuizen L. (2006).** Ecology and industrial microbiology. Editorial Overview. *Current Opinion in Microbiology* .(9): 237-239.

**Divya D N., Harsha S., Satya Vishala P K., Santhosha Lakshmi. (2014).** Production of L-glutaminase from marine ecosystems and optimal conditions for maximal production by actinomycetes. *Int. J. Adv. Res.* 2 (1).P: 485-491.

**Ƨ**

**Euzeby JP. (2015).** List of bacterial names with standing Nomenclature

<http://www.bacterio.cict.fr/>

**Errakhi R. (2008).** Contribution d'actinomycètes (Actinobactéries) à la lutte biologique contre *Sclerotium rolfsii* et rôle de l'acide oxalique dans l'induction des mécanismes de défense. Thèse de Doctorat. Université Cadi Ayyad, Marrakech Maroc. Xp.

**Eunice JA., Prosser JI.1983.** «Mycelial Growth and Branching of Streptomyces Coelicolor. A3 (2) on Solid Medium ». J. Gen. Microbial. 129: 2029–2036.

**F**

**Falagas ME., Grammatikos AP., Michalopoulos A. 2008.** Potential of old-generation antibiotics to address current need for new antibiotics. Expert Rev Anti Infect Ther ; 6(5) :593–600.

**Fujiwara A., Hoshino T., Westley JW.** Anthracyclin antibiotics. Crit Rev Biotech **1985** ; 3(2) :133–57.

**Flatt PM., Wu X., Perry S., Mahmud T. (2013).** Genetic insights into pyralomicin biosynthesis in *Nonomuraea spiralis* IMC A-0156. J Nat Prod 76:939–946.

**G**

**Genilloud O., Gonzalez I., Alazar O., Martin J., Vicente F. (2011).** Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. J Ind Microbiol Biotechnol., 38:375–389.

**Garrity GM., Cole J R., Harrison S H., Euzéby J., Tindall B J. et Lilburn T G. (2007).** Taxonomic Outline of the the Bacteria and Archaea, Release 7.7 March 6, 2007. Part 10 . The Bacteria: Phylum “Actinobacteria”: Class Actinobacteria. In :Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology. Springer-Verlag. New York.

**Goodfellow M., O’donnell A G. 1992.**Search and discovery of industrially-significant actinomycetes. In: Microbial products: new approaches. Cambridge University Press, Cambridge.

**.Goodfellow M. (2012).** Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In: Goodfellow *et al.* (Editors). Bergey Manuel of Systematic Bacteriology, The *Actinobacteria*, second edition, vol. V, part A, New York, Dordrecht, Heidelberg, London. pp. 1–28 .

**George M., Anjumol A., George G., Mohamed Hatha AA. (2012).** Distribution and bioactive potential of soil actinomycetes from different ecological habitats. Afr J Microbiol Res., 6:2265–2271.

**Griffith RS. 1981.**Introduction to vancomycin. Rev Infect Dis ; 3(Suppl. 2) :S200–4.

**George S P., Ahmad A., Rao M B. 2001.** Studies of carboxymethyl cellulose produced by an alkalothermophilic actinomycete. Bioresources Technology.77: 171-175.

**Gerard T . (2001).** Microbiologie. 2eme édition. Canada. P : 152-154.

**Goodfellow M., Williams E.1986 .** New strategies for the selective isolation of industrially important bacteria.Biotechnol Genet Eng Rev ; 4: 213-262.

**Genilloud O., Gonzalez I., Alazar O., Martin J., Vicente F. (2010).** Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. J Ind Microbiol Biotechnol. DOI10.1007/s10295-010-0882-7.

**Guebla K., AhmaneZ. 2016.** Contribution a l'étude de la diversité métabolique de différentes isolats d'actinomycètes . Mémoire de master université de Larbi Tébessi –Tébessa.

## *H*

**Hodgson DA.2000.** Primary metabolism and its control in *Streptomyces*: a most unusual group of bacteria. Advances in Microbial Physiology . 42:47-238.

**Hodgson D A.1992.** Differentiation in actinomycetes. In: Prokaryotic Structure and Function, Cambridge University Press, Cambridge.

**Holz R., Finkelstein A. 1970.**The water and nonelectrolyte permeability induced in thin lipid membranes by the Polyxène antibiotics nystatin and amphotericin B. J Gen Physiol ; 56(1) :125–45.

## *I*

**Iwai Y., Omura S.1982.** Culture conditions for screening of new antibiotics. J Antibiot ; 35(2) :123.

## *J*

**Jukes TH.1985.** Some historical notes on chlortetracycline Rev Infect Dis ; 7(5) :702 7.

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



**Jose PA., Santhi VS., Jebakumar., S R D. (2011).** Phylogenetic-affiliation, antimicrobial potential and PKS gene sequence analysis of moderately halophilic *Streptomyces* sp. inhabiting an Indian saltpan. *J Basic Microbiol* 51:348–356.

**J Antibiot. (Tokyo), 46 (1993),** pp. 1139-1144 Miyadoh S: Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: a producing microorganisms approach. *Actinomycetologica*. 1993, 9: 100-106. 10.3209/saj.7\_100.



**Kehrenberg C., Schwarz S. 2007.** Mutations in 16S rRNA and ribosomal protein S5 associated with high-level spectinomycin resistance in *Pasteurella multocida*. *Antimicrob Agents Chemother* ; 51(6) : 2244–6.

**Kalakoutskii L V., Agre NS.1967.** Comparative Aspects of Development and Differentiation in *Actinomycetes* ». *Bacteriol. Rev* n° 2, 40 469–524.

**Korkmaz H., Unaldi M N., Aslan B., Coral G., Arican B., Dinçer S. , 2003.** Keratinolytic activity of *Streptomyces* Strain BA7 a new isolate from Turkey. *Annals of Microbiology*. 53: 85-93.

**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 de Mycologie Médicale*, 15, 45–51.

**Kekuda TRP., Shobha KS., Onkarappa R. (2010).** Fascinating diversity and potent biological activities of actinomycetes metabolites. *J. Pharm. Res.*, 3:250-256.

**Kohen R., Nyska A. (2002) .** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30, 620-650.

**Kim BS., Hwang BK.2003.** Biofungicides. In: AroraDK(eds). *Fungal Biotechnology in Agricultural, Food and Environmental Applications*. New York, Marcel Dekker, pp 123-133.

**K Kumaqai., A Fukui., S Tanaka., M Ikemoto., K Moriquichi S.(1993).** Nabeshima P 766B, a new macrolide antibiotic produced by *Nocardia brasiliensis* II. Isolation, physico-chemical properties and structures elucidation.

**Kumar K S., R Haritha., Y Mohan., T. Ramana. (2011).** Screening of marine actinobacteria for antimicrobial compounds. *Res. J. Microbiol.*, 6: 385-393.

## *I*

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

**Larpent JP., Sanglier J.J. (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Masson, Paris.

**Leveau J Y., Buix M. (1993).** Les Actinomycètes. In. : Les microorganismes d'intérêt industriel. Ed : Florent J. Edition Tec et Doc. Lavoisier Apria. pp 424-480.

**Lyons A J., T G. Pridham.1971 .** « Streptomyces Torulosus sp. n., an Unusual Knobby-Spored Taxon ». *Appl Microbiol* 22 : 190–193.

**Loh Teng-Hern T., Kok-Gan., C Tahir Mehmood., K Sarah., I Surasak., S Acharaporn., D Priyia., P Learn-Han., L Bey-Hing G.( 2017).** *Streptomyces* sp. MUM212 as a Source of Antioxidants with Radical Scavenging and Metal Chelating Properties . 8: 276.

## *M*

**Meguelez M., Hardison C., Manzanal MB . (2000).** *Streptomyces* : a new model to study cell death. *Int microbiol* 3:153-158.

**Moncheva P., S Tishkov., N Dimitrova.2002.** « Characteristics of Soil Actinomycetes From Antarctica ».

**Meklat A., Sabaou N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. (2011).** Isolation, Taxonomy, and Antagonistic Properties of Halophilic Actinomycetes in Saharan Soils of Algeria. *Appl Environ Microbiol*, 77(18) : 6710–6714.

**McKinney R E. 2004.** Environmental Pollution Control Microbiology. CRC Press : New York. Pp: 448.

**Matthaus B., Matthaus . 2002.** Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds.

**Mariat F. 1962 .** critères de détermination des principales espèces d'actinomyces aerobies pathogènes , paris.4,pp.651-672.

**Madigan M T., JM Martinko . (2007).** Biologie des microorganismes. Pearson Education France, 11e edition : 331-423, 686-718.

*N*

**Nickel J., Ruseska I., Wright J., Costerton J.1985.** Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. *Antimicrob Agents Chemother* ;27(4):619–24.

**Nanjwad B., Chandrashehara S., Goudanavar PS., Shamarez A M., Manvi F. (2010).** Production of antibiotics from soil isolated actinomycetes and evaluation of their antimicrobial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 9: 373-377.

**Naine J., Srinivasan MV., Devi SC. (2011).** Novel anticancer compounds from marine actinomycetes: a review. *J. Pharm. Res.* 4: 1285-1287.

**Newman DJ., Cragg GM. (2007).** Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat. Prod.*, 70: 461-477.

**Nakae K., Kurata I ., Kojima F., Igarashi M., Hatano M., Sawa R. (2013)** .Sacchathridine, A, a prostaglandin release inhibitor from *Saccharothrix* sp. *J Nat Prod* 76:720–722.

*P*

**Pelmont J . 2005.** Biodégradations et métabolismes: les bactéries. Sciences: Grenoble: Pp: 798 .

**Pamboukian C R D., LM Guimarães., MCR Facciotti.** « Applications of Image Analysis in the Characterization of *Streptomyces Olindensis* in Submerged Culture ». *Brazilian J. Microbiol.* 33 (2002): 17–21.

**Prescott H., Wiley JM Klein., Sherwood L M., Woolverton C J. Microbiologie.** 3rd Ed. De: Boeck, Bruxelles. 2010.

**Pinnert-Sindico S. no. 6 (December 1954).** A new species of *Streptomyces* producing antibiotics *Streptomyces ambofaciens* n. sp., cultural characteristics. *Annales De l’Institut Pasteur* 87, 702– 7.

**Pestka S. 1974.** The use of inhibitors in studies of protein synthesis. *Methods Enzymol* , 30:261–82.

**Pine L., Howell A., S J Watson .1960.** Studies of the morphological , physiological, biochemical characters of *Actinomyces bovis* .*J.Gen Microbiol.*,23 .430-424;

**Prévot A R .1960.**Traité de systématique bactérienne .Dunod.édit .,paris .

**Perry J J., Staley J T., Lory S. (2004).** Microbiologie. Dunod, Pais. 497–498.

**Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O. (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. Vaisseaux, Coeur, Poumons . Vol 4(5) : 133- 8.



**Rawashdah R., Saadoun I., Mahashneh A. 2005.** Effect of cultural conditions on xylanase production by *Streptomyces* sp. (strain Ib24D) and its potential to utilize tomato pomace. African Journal of Biotechnology. 4: 251-5.

**Rangaswami G., Bagyaraj D J., Bagyaraj D G. 2004.** Agricultural Microbiology. PHI : New Delhi. Pp : 440.

**Rugthaworn P., Dilokkunanant U., Sangchote S., Piadang N., Kitpreechavanich V. (2007).** Search and improvement of actinomycete strains for biological control of plant pathogens. Kasetsart. J. (Nat. Sci.). 41, 248-254.

**Ribèreau-Gayon J., Peynaud M., Ribèreau-Gayon, P., Sudraud P. (1972).** Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et contrôle des vins. Ed. Dunod, Paris, p. 671.



**Smaoui.( 2010).** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France. 251p.

**Stackbrandt E., Geobel B M. (1994).** Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. International Journal Systematic of Bacteriology. 44: 846-9.

**Solecka J., Zajko J., Postek M., Rajnisz A. (2012).** Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. Central European Journal of Biology. 7(3), 373- 390

**Solanki R., Khanna M., Lal R. 2008.** Review bioactive compounds from marine actinomycetes. Indian J. Microbiol. ; 48: 410–431.

**Schatz A., Bugle, S A Waksman. (January 1, 1944).** Streptomycin, a Substance Exhibiting Antibiotic Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. Experimental Biology and Medicine 55, 66–69. doi :10.3181/00379727-55-14461.

**Selvakumar J N., S D Chandrasekaran., M Vaithilingam. no. 44 (2015) .** Bio Prospecting of Marine-Derived *Streptomyces Spectabilis* VITJS10 and Exploring Its Cytotoxicity against

Human Liver Cancer Cell Lines. Pharmacognosy Magazine 11, no. 44 (2015) : 469. doi :10.4103/0973- 1296.168974.

**Singh B., Mitchison D.** 1954 .Bactericidal activity of streptomycin and isoniazid against tubercle bacilli. Br Med J ; 1(4854) :130–2.

**Sykes G., Skinner FA.**1973.Actinomycetales:characteristics and pratical importance .Academic press.London .New York.

**Sandeep R. , Menaka D.** 2014 . Antimicrobial Potential of Actinomycetes Isolated from Soil Samples of Punjab, India. Volume 1 Issue 2.

**Samiha A., Imane B.** 2016 . Identification phénotypique de quelques isolats d'actinobacteries présentant une activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes pathogènes. Université Mohamed Boudiaf - M'sila. Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master Académique.

**Solecka J., Zajko J., Postek M., Rajnisz A.** (2012). Biologically active secondary metabolites from actinomycetes. Cent Eur J Biol., 7:373–390.

**Singh LS., I Baruah., T C Bora.** 2006. Actinomycetes of loktak habitat: Isolation and screening for antimicrobial activities. Biotechnology, 5: 217-221 .

**Sonia M-T., Naceur J., Abdennaceur H .** (2011). Studies on the ecology of actinomycetes in an agricultural soil amended with organic residues: I. identification of the dominant groups of Actinomycetales. World J. Microbiol. Biotechnol.:doi 10.1007/s11274-11011-10687-11275.

**Serteyn D., Mouithys-Mickalad A., Franck T., Grulke S., Lamy M, Deby C. and Deby-Dupont G.** (2002). La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. Annale de Médecine Vétérinaire, 146, 137-53.

**Sarma AD., Mallick A R., Ghosh A K .**2010. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR). 1, 185-192.

**Shukla G. ( 2010)** .Soil Enzymology . Springer: Berlin. Pp: 384.



**Thumar J T., Singh S P.** 2007. Secretion of an alkaline protease from a salt-tolerant and alkaliphilic *Streptomyces clavugerus* strain Mit-1. Brazilian Journal of Microbiology. **Vol 38.**

**Thomson C J., Power E., Ruebsamen-Waigmann H., Labischinski H. (2004).** Antibacterial research and development .

*T*

**Verma.2013.** Analyses phylogénétiques de phylum actinobactéries basées sur des séquences entières du génomes Santé médical . vol. 164, n°7, p 718-28.

**Van Soulingher P., Meyer D., Van Der Kley W A., Barnett C., Bolle R., Power S D. 2001.** Cloning and expression of an endocellulase gene from a novel streptomycete isolated from an East African soda lake. *Extremophiles*. 5: 333-341.

*W*

**Williams ST., Lanning S., Wellington EMH. (1984).** Ecology of Actinomycetes. In: The Biology of the Actinomycetes. Eds: M. Goodfellow, M. Mordarski and S.T. Williams. Academic press, London, New York, Sydney, Tokyo, Sao Paulo. pp. 481–528.

**Watve MG., Tickoo R., Jog MM., Bhole BD. 2001.** How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces* . *Arch Microbiol* ; 176: 386-390.

**World J. Microbiol. Biotechnol., 28 (2012),** pp. 2903-2912.

*Z*

**Zaitlin B., Watson S., Ridal J. Satchwill T., Parkinson D. (2003).** Actinomycetes in Lake Ontario: Habitats, Geosmin and MIB Production. *Res. J. Can.* 95(2): 113–118.

**Zhi, X.-Y., W.-J. Li. 2009.** An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *Int J Syst Evol Microbiol*. 59 : 589–608.

**Zvyagintsev DG., Zenova GM., Sudnizin I I., Doroshenko E A. 2005.** The Ability of Soil Actinomycetes to Develop at an Extremely Low Humidity. Vol : 405. Pp 461-463.

**Zhong., 2011b K.Zhong, X.L Gao., Z J.Xu., L H Li .** Isolation and characterization of a novel *Streptomyces* strain Eri11 exhibiting antioxidant activity from the rhizosphere of *Rhizoma Curcuma Longae*.

**Zin NM., KT Ng., NM Sarmin., K Getha., GYTan. 2011.** Anti-trypanosomal activity of endophytic streptomycete. *Curr. Res. Bacteriol.*, 4: 1-8.

**Les sites:**

[http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1952/waksmanlecture.pdf](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1952/waksmanlecture.pdf).

<https://www.universalis.fr/encyclopedie/actinomycetes/4-les-actinomycetespathogenes/>.

# *Annexes*



---

**Composition des milieux de culture****Bennett :**

|                                 |          |
|---------------------------------|----------|
| Glucose                         | 10.0 g   |
| Peptone pancréatique de caséine | 2.0 g    |
| Extrait de Levure               | 1.0 g    |
| Extrait de Viande               | 1.0 g    |
| Agar                            | 15.0 g   |
| Eau distillée                   | 1 000 ml |
| PH                              | 7,2      |

**GYM Streptomyces Agar (DSMZ Medium 65)**

|                   |          |
|-------------------|----------|
| Agar              | 12.0g    |
| Extrait de malt   | 10.0g    |
| Extrait de levure | 4.0g     |
| CaCO <sub>3</sub> | 2.0g     |
| Glucose           | 4.0g     |
| Eau distillée     | 1 000 ml |
| PH                | 7.2      |

**(CSA Starch Casein Agar)**

|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| Amidon                               | 10.0 g   |
| KNO <sub>3</sub>                     | 2.0 g    |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 2.0 g    |
| NaCl                                 | 2.0 g    |
| Caséine                              | 0, 3 g   |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O | 0,05 g   |
| CaCo <sub>3</sub>                    | 0,02 g   |
| FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O | 0,01 g   |
| Agar - agar                          | 18.0 g   |
| Eau distillée                        | 1 000 ml |

**Gélose dextrose à la pomme de terre(PDA):**

|                |        |
|----------------|--------|
| Pomme de terre | 200g   |
| Dextrose       | 15.0g  |
| Agar-agar      | 20.0g  |
| Eau distillée  | 1000ml |