

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار تليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

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

***Filière : Sciences Biologiques***

***Option : Microbiologie environnementale et  
Infectieuse***

**THEME**

---

**Évaluation de l'activité antifongique de quelques souches bactériennes du  
genre *Streptomyces* isolées de la région de Skhouna, Commune de Saida.**

---

**Présenté par : Sofiane Imane et Benmahia Bouchra**

**Devant le jury :**

**Soutenu publiquement le : 20-05-2017**

**Président : CHETATHA MOHAMED**

**Rapporteur : GACEM MOHAMED AMINE**

**Co-Rapporteur : BOUDJEMAA BADERDDINE**

**Examineur : KRANTAR KAMEL**

**Année universitaire 2016-2017**

# Remerciements

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

*Au terme de cette étude en achevant notre mémoire Nous voudrions exprimés notre sincère gratitude à notre encadreur Mr. Gacem Mohamed Amine qui me aidée pour faire ce travail-là.*

*Nous remercierons les membres de jury pour leurs disponibilités pour examiner et corriger minutieusement notre mémoire*

*Et aussi nos remerciements s'adressent en particulier tous les enseignants de département de biologie*

*Une pensée amicale à mes collègues et mes amies de la promotion de master pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble. A tous ceux qui nous ont aidés et encouragée de près ou de loin.*

*Imane-Bouchra.*

# *Dédicaces*

*Quand il y a le souci de réaliser un dessein*

*Tout devient facile pour arriver à nos fins*

*Malgré les obstacles qui s'opposent*

*En dépit des difficultés qui s'interposent*

*Les études sont avant tout*

*Je dédie ce mémoire à ...*

*A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné  
un magnifique modèle de labeur et de persévérance.*

*A mes sœurs, mes frères, et tous les membres de ma famille, en témoignage  
de mon profond attachement.*

*A tous mes amis.*

*Imane.*

# Dédicaces

*Je dédie cette mémoire*

*A mes chers parents ma mère et mon père*

*Pour leurs patience, leurs amour, leurs soutien et leurs*

*Encouragements.*

*A mes soeurs : malika et leila*

*A mes frères : hicham , ali , hocine et mohamed*

*A mes poussins : kossay et mouad*

*A la famille Benmahia et Rabhi*

*A mes amis : amina et meriem*

*Bouchra.*

## ***Table des matières***

Remerciement	
Dédicace	
Liste des Abréviations	I
Liste des Figures	II
Liste des Photos	III
Liste des tableaux	IV
Résumé	V
Abstract	VI
ملخص	VII
Introduction	01

### ***Première partie : Revue bibliographique***

I. Revue générale sur les Actinomycètes	03
I.1 Les Actinomycètes	03
I.1.1 Propriétés générales des actinomycètes	03
I.1.2 Morphologie	04
I.1.3 Physiologie de développement	04
a _L'oxygène	04
b _Le pH	05
c _La température	05
d _L'activité de l'eau (Aw)	05
e _ Tolérance en NaCl	05
I.1.4 Milieux de culture des actinomycètes	06
I.2. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature	06
1.2.1 Les actinomycètes de sol	06
1.2.2 Actinomycètes dans les sols de rhizosphères	07
1.2.3 Les actinomycètes du compost et matériel relatif	07
1.2.4 Les actinomycètes de l'air	08
1.2.5 Les actinomycètes des eaux douces	08
1.2.6 Les actinomycètes marins	08
I.3. Classification des actinomycètes	09
I.3.1 La classe <i>Actinobacteria</i>	09
I.4 Importance des actinomycètes	10
I.4.1 Dans les domaines médical, vétérinaire et industriel	10
I.4.2 Dans domaine agronomique	11
I.5 Métabolisme	11
I.6 Activités des Actinomycètes	12
I.6.1 Production des antibiotiques	12
I.6.2 Immunosuppresseurs	12
I.6.3 Antitumoraux	13
I.6.4 Antifongiques et antiparasitaires	13
I.6.5 Production des enzymes	15
I.7 Les Actinomycètes pathogènes	15
I.7.1 <i>Nocardia</i>	15
I.7.2 <i>Actinomadura</i>	16
I.7.3 <i>Streptomyces</i>	16

I.8 Actinomycètes rares	16
I.8.1 <i>Nonomuria</i>	17
I.8.2 <i>Kribbella</i>	17
I.8.3 <i>Saccharothrix</i>	17
I.9 Principaux caractéristiques de certaines espèces d'Actinomycètes isolée des sols algériens	18
I.9.1 <i>Prauserella isguenensis</i>	18
I.9.2 <i>Saccharopolyspora ghardaiensis</i>	18
I.9.3 <i>Actinopolyspora mzabensis</i>	19

## *Deuxième partie : Etude Expérimentale*

<b>II. Matériel et méthodes</b>	<b>20</b>
II.1 Échantillonnage	20
II.2. Isolement des Actinomycètes	20
II.2.1 Prétraitement des échantillons	20
II.2.2 Les milieux de cultures	21
II.2.3 Préparation de la suspension de dilution et ensemencement	21
II.3. Purification des isolats	22
II.4. Conservation des isolats	22
II.5. Identification moléculaire des souches d'actinomycètes isolées	22
II.6. Production et extraction des métabolites secondaire	22
II. 7. Souches fongiques testés	23
II.7.1. Vérification de la pureté des souches	24
a- Identification des genres par la technique de micro-culture	24
II. 7.2. Etude de l'Activité antifongique des extraits par la méthode des puits	24
a- Préparation de l'inoculum fongique	24
b- Mise en évidence des Activités antifongiques	25
<b>III. Résultats et discussions</b>	<b>26</b>
III.1. Isolement, purification et identification des actinobactéries	26
1.1 Diversité des actinomycètes isolés	27
2. vérification de la pureté des souches fongiques	27
3. Résultats de l'activité antifongique des extraits obtenus des souches d'actinobactéries	29
3.1. Extraits des souches isolées de la région de Skhouna	29
3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>001</sub>	29
3.1.2. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>002</sub>	30
3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>004</sub>	31
3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>005</sub>	32
3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>006</sub>	32
3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>007</sub>	33
3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>008</sub>	34
3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>009</sub>	35
3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>010</sub>	35
3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>011</sub>	36
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>41</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>42</b>
<b>Annexe</b>	<b>52</b>



## La liste des abréviations

<b>A</b>	: <i>Aspergillus</i>
<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	: Acide ribonucléique
<b>ADNr</b>	: Acide désoxyribonucléique ribosomal
<b>ARNr</b>	: Acide ribonucléique ribosomal
<b>Aw</b>	: Activité of water (Activité de l'eau).
<b>C°</b>	: degré Celsius
<b>CSA</b>	: Milieu Starch Casein Agar.
<b>DO</b>	: Densité optique
<b>DSMZ</b>	: Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH.
<b>F</b>	: <i>Fusarium</i>
<b>g</b>	: Gramme
<b>G+C</b>	: Coefficient de Chargaff.
<b>GYM</b>	: Glucose Yeast extract Malt extract
<b>K</b>	: <i>Kribbella</i>
<b>m</b>	: Mètre
<b>Mbar</b>	: Milibar
<b>ml</b>	: Millilitre
<b>N</b>	: <i>Nonomuria</i>
<b>NaCl</b>	: Chlorure de Sodium
<b>P</b>	: <i>Penicillium</i>
<b>Pb</b>	: Paire de base
<b>PCR</b>	: Polymerase chain reaction
<b>PDA</b>	: Potato Dextrose Agar
<b>pH</b>	: potentiel d'hydrogène
<b>P/V</b>	: Poids/volume
<b>rpm</b>	: Rotations par minute.
<b>S</b>	: Streptomyces
<b>Topt</b>	: Température optimale
<b>UFC</b>	: Unité Formant Colonie
<b>µl</b>	: Microlitre
<b>µm</b>	: Micromètre

## Listes de figures

<b>Figure 01.</b>	Microscopie électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes.	<b>04</b>
<b>Figure 02.</b>	La classification hiérarchique de la classe <i>Actinobacteria</i> basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr / ARNr 16S.	<b>10</b>
<b>Figure 03.</b>	Situation des différentes stations de prélèvements des échantillons.	<b>20</b>
<b>Figure 04.</b>	Production et extraction des métabolites secondaire	<b>23</b>
<b>Figure 05.</b>	Technique d'identification microscopique des moisissures par micro-culture.	<b>24</b>
<b>Figure 06.</b>	Evaluation de l'activité antifongique par la méthode des puits.	<b>25</b>
<b>Figure 07.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>001</sub> .	<b>29</b>
<b>Figure 08.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>002</sub> .	<b>30</b>
<b>Figure 09.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>004</sub> .	<b>31</b>
<b>Figure 10.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>005</sub> .	<b>32</b>
<b>Figure 11.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>006</sub> .	<b>32</b>
<b>Figure 12.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>007</sub> .	<b>33</b>
<b>Figure 13.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>008</sub> .	<b>34</b>
<b>Figure 14.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>009</sub> .	<b>35</b>
<b>Figure 15.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>010</sub> .	<b>35</b>
<b>Figure16.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>011</sub> .	<b>36</b>

## Liste des photos

<b>Photo 01.</b>	Isolement des Actinobactérie sur milieu CSA.	<b>26</b>
<b>Photo 02.</b>	Résultats de purification des Actinobactérie.	<b>27</b>
<b>Photo 03.</b>	Aspect microscopique des souches d' <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> et <i>Fusarium</i>	<b>29</b>
<b>Photo 04.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>001</sub> .	<b>30</b>
<b>Photo 05.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>002</sub> .	<b>31</b>
<b>Photo 06.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>004</sub> .	<b>31</b>
<b>Photo 07.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>005</sub> .	<b>32</b>
<b>Photo 08.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>006</sub> .	<b>33</b>
<b>Photo 09.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>007</sub> .	<b>34</b>
<b>Photo 10.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>008</sub> .	<b>34</b>
<b>Photo 11.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>009</sub> .	<b>35</b>
<b>Photo 12.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>010</sub> .	<b>36</b>
<b>Photo 13.</b>	Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S <sub>011</sub> .	<b>37</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°01.</b>	Pourcentage des divers genres d'actinomycètes dans le sol.	<b>07</b>
<b>Tableau N°02.</b>	Habitats de certains actinomycètes.	<b>09</b>
<b>Tableau N°03.</b>	Quelques exemples d'antibiotiques produits par les actinomycètes.	<b>14</b>
<b>Tableau N°04.</b>	Quelques exemples des enzymes produites par les actinomycètes.	<b>15</b>
<b>Tableau N°05.</b>	Souches bactériennes utilisées pour tester l'activité biologique des extraits.	<b>23</b>
<b>Tableau N°06.</b>	Criblage initial des souches d'actinomycètes.	<b>26</b>
<b>Tableau N°07.</b>	Nom de souches bactériennes après identification moléculaire.	<b>27</b>
<b>Tableau N°08.</b>	Qualité de l'activité antifongique des extraits S.	<b>38</b>

## Résumé

### Évaluation de l'activité antifongique de quelques souches bactériennes du genre *Streptomyces* isolées de la région de Skhouna, Commune de Saida.

Les actinomycètes sont des bactéries responsables de la production de la plupart des molécules bioactives, elles présentent un intérêt très important pour la lutte contre les mycètes et les bactéries pathogènes, elles sont surtout réputées pour leur grande capacité à produire naturellement des antibiotiques, avec des possibilités à produire des métabolites bioactives unique contre chaque souche. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antifongique de quelques souches d'Actinobactéries isolées de la région de Skhouna, Commune de Saida contre cinq moisissures réputées toxigènes. Les métabolites secondaires des Actinobactéries, antérieurement identifiées par ARNr 16S, sont obtenus après cultures de ces derniers sur milieu 5294. L'activité antifongique est exprimé en pourcentage après calcul des zones d'inhibitions sur milieu PDA. Les résultats obtenus durant cette étude ont démontré que les extraits obtenus possèdent une activité antifongique moyenne sur la plupart des moisissures. *Streptomyces aureus* NBRC 100912 a présenté sa capacité à exercer un pouvoir antifongique sur la totalité des moisissures. *Streptomyces cyaneus* H-112 et *Streptomyces glomeroaurantiacus* NRRL B-3375 n'ont pas enregistré d'activité antifongique contre toutes les moisissures sauf *Aspergillus ochraceus* qui a dévoilé une sensibilité très faible à 30µl. A la lumière des résultats intéressantes obtenus, cette étude doit être complétée par une HPLC-MS afin d'identifier les substances bioactives responsables de cette activité antifongique.

**Mot clés :** actinomycètes, métabolite secondaire, activité antifongique, *Streptomyces*.

## Abstract

### Evaluation of the antifungal activity of some streptomyces bacterial strains isolated from the Skhouna region, commune of Saida

Actinomycetes are bacteria responsible for the production of most bioactive molecules, they are of great interest for the control of pathogenic fungi and bacteria, they are especially known for their great ability to produce antibiotics naturally, to produce unique bioactive metabolites against each strain. The objective of this study is to evaluate the antifungal activity of some strains of Actinobacteria isolated from the region of Skhouna, commune of Saida against five molds known as toxinogenes. The secondary metabolites of Actinobacteria, previously identified by 16S rRNA, are obtained after culturing the latter on medium 5294. The antifungal activity is expressed in percentage after calculating zones of inhibitions on PDA medium. The results obtained during this study demonstrated that the extracts obtained have an average antifungal activity on most molds. *Streptomyces aureus* NBRC 100912 demonstrated its ability to exert antifungal power over all molds. *Streptomyces cyaneus* H-112 and *Streptomyces glomeroaurantiacus* NRRL B-3375 showed no antifungal activity against all fungi except *Aspergillus ochraceus*, which revealed a very low sensitivity at 30 µl. In the light of the interesting results obtained, this study must be supplemented by HPLC-MS in order to identify the bioactive substances responsible for this antifungal activity.

**Key words:** actinomycetes, secondary metabolite, antifungal activity, Streptomyces.

## ملخص

تقييم النشاط المضاد للفطريات لبعض السلالات البكتيرية من جنس *ستربتوميس* معزولة من منطقة سخونة بلدية سعيدة.

الأكتينومييسات هي البكتيريا المسؤولة عن إنتاج معظم الجزيئات النشطة بيولوجيا، لديهم القدرة على مكافحة الفطريات والبكتيريا المسببة للأمراض، ومن المعروف خصوصا أنها لديها قدرة كبيرة على إنتاج طبيعي للمضادات الحيوية، مع إمكانية لإنتاج نواتج الأيض الحيوية النشطة الفريدة ضد كل سلالة. والهدف من هذه الدراسة هو تقييم نشاط مضاد للفطريات لبعض سلالات الأكتينوبكتيريا معزولة من منطقة سخونة، بلدية سعيدة ضد خمسة فطريات مسببة للأمراض. النواتج الأيضية الثانوية للأكتينوبكتيريا التي سبق تحديدها من قبل الحمض النووي الريبوزي 16S تم الحصول عليها بعد زرع هذا الأخير في وسط 5294. النشاط ضد الفطريات حدد بنسب مئوية بعد حساب مناطق التثبيط في وسط PDA. أظهرت النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة أن المستخلصات المتحصل عليها تمتلك نشاطا متوسطا على معظم الفطريات.

السلالة من نوع *Streptomyces aureus NBRC 100912* أظهرت قدرتها في مكافحة على جميع الفطريات المختبرة.

ضد جميع الفطريات الا *Aspergillus ochraceus* الذي سجل حساسية ضعيفة عند تركيز 30مل. على ضوء النتائج المحصل عليها، يجب أن تكتمل هذه الدراسة بواسطة HPLC-MS. لتحديد المواد النشطة بيولوجيا المسؤولة عن هذا النشاط المضاد للفطريات.

**الكلمات المفتاحية:** الأكتينومييسات، النواتج الأيضية الثانوية، النشاط المضاد للفطريات, *ستربتوميس*

## **Introduction**

Les infections fongiques ont augmenté de façon dramatique durant les deux dernières décennies. Elles occupent le quatrième rang des infections nosocomiales (**Yashuda, 2001**). Ceci est essentiellement dû à l'augmentation du nombre des patients immunodéprimés, comme les cancéreux, les personnes infectées par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV). Près de 90% des mycoses humaines sont provoquées par des espèces appartenant au genre *Candida*, et *Aspergillus* dont les espèces *A. fumigatus*, *A. flavus*, et *A. niger* sont responsables de la majorité des mycoses invasives (**Couturaud, 2004**).

La lutte contre ces maladies et ces infections est basée sur l'utilisation des molécules bioactives, certains de ces produits naturels bioactifs sont essentiellement bio-synthétisés par des microorganismes filamenteux (**Tamura et al., 1997**). Parmi ces derniers, une famille de bactéries filamenteuse s'est particulièrement illustrée par la richesse de son métabolisme secondaire et par la remarquable diversité des métabolites produits (**Overbye et Barrett, 2005**). Le genre *Streptomyces* produit plus des tiers des antibiotiques utilisés dans la médecine moderne (**Kieser et al., 2000**). L'histoire des antibiotiques issus de ce genre débute en 1940 avec la découverte de l'Actinomycine par WaKsman et Woodruff, suivie en 1944 par la streptomycine, premier agent antituberculeux (**Omura, 1986**). Entre 1955 et 1962, près de 80% des antibiotiques découverts proviennent des actinomycètes, avec une large contribution du genre *Streptomyces* (**Watve et al., 2001**).

D'autre part, la recherche de nouveaux antifongiques naturels a généré plusieurs centaines de nouvelles molécules. Cependant leur utilisation en thérapie humaine se limite surtout à l'amphotéricine B, à la nystatine, et à la griséofulvine. La raison majeure de la limite d'utilisation réside dans la toxicité de ces molécules notamment les antifongiques polyéniques. C'est pourquoi l'industrie pharmaceutique et les chercheurs se sont orientés vers la recherche de nouveaux agents antifongiques plus performants et moins agressifs pour l'organisme (**Medoff et al., 1983**).

La grande majorité de ces antifongiques naturels est synthétisée par les actinomycètes, qui sont des bactéries filamenteuses à Gram+, très répandues dans l'environnement. Elles constituent une part importante de la microflore tellurique (**Doumergue et Mangenot, 1970**). Ces bactéries sont aussi abondantes en milieu hydrique, dans les eaux des lacs. C'est essentiellement dans les sédiments des fonds fluviaux ou lacustres que celles-ci sont présentes où elles jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique et les

équilibres entre espèces, du fait de leur possibilité d'émission d'antibiotiques, et de lyse bactérienne (**Haslay et al., 1993**).

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antifongique des métabolites secondaires bruts extraits des cultures liquides d'Actinobactérie isolées des sols de la région Skhouna contre des moisissures réputées toxigènes. Pour se faire, une étude bibliographique représente les principaux caractères des Actinobactérie, leur importance, leur métabolite secondaire et leur effet toxique.

Dans la seconde partie de ce travail, une étude expérimentale regroupe les principales techniques permettant l'isolement et la purification des Actinobactérie, l'étude des caractères microscopiques des moisissures sélectionnées et l'évaluation des tests antifongiques suivie des principaux résultats et leurs discussions.

L'étude est achevée par une conclusion générales et des perspectives.

## **I. Revue générale sur les Actinomycètes**

### **I.1 Les Actinomycètes**

Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positifs, elles se caractérisent par la formation d'hyphes filamenteux qui ne subissent normalement pas de fragmentation et qui produisent des spores asexuées. Par leur morphologie générale, ils rassemblent fortement aux mycètes. Cette ressemblance résulte en partie d'une adaptation aux mêmes habitats (**Rastogi et Kishore, 1997**).

#### **I.1.1 Propriétés générales des actinomycètes**

Les actinomycètes ont souvent été confondus avec les champignons (**Lefebvre, 2008**). Mais actuellement ils sont classés définitivement parmi les bactéries (procaryote), du fait que leurs matériels génétiques et dépourvus de noyau, contrairement aux eucaryotes. Les principales différences entre les champignons et les actinomycètes peuvent être résumées dans les points suivants :

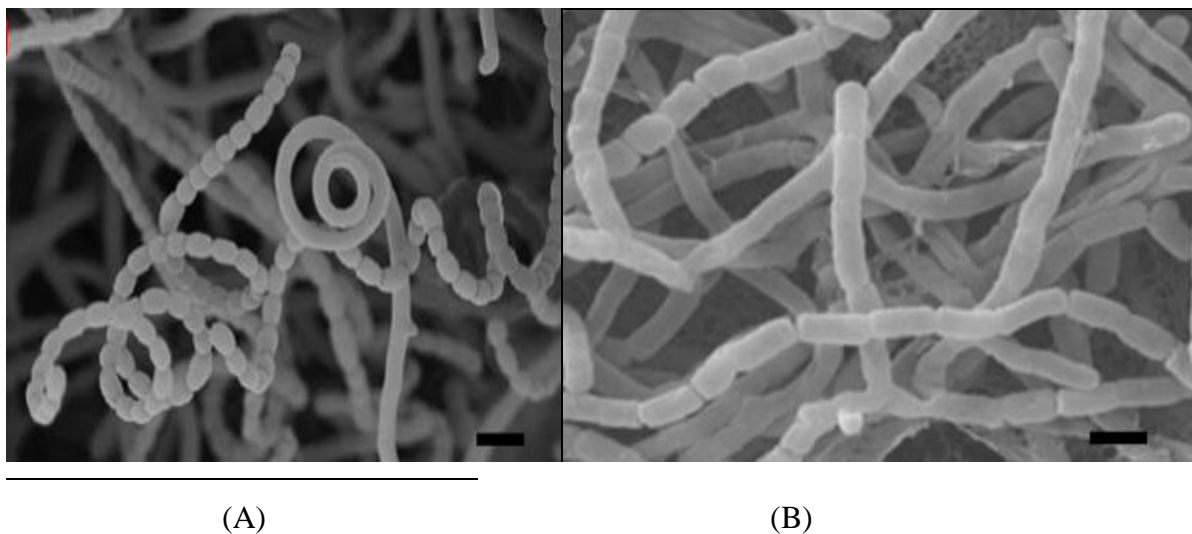
- Leurs parois qui ne renferment ni cellulose ni chitine, se retrouvent respectivement chez les plantes et les champignons (**Shukla, 2010**).
- Le diamètre de leurs mycéliums est approximativement l'un dixième de celui de la plupart des hyphes fongiques (généralement 0.7 à 0.8  $\mu\text{m}$ ),
- Leurs sensibilités aux antibiotiques antibactériens (**Rangaswami et al, 2004**).

Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positifs à taux élevés de (G+C) compris entre 60-70 %, ils se caractérisent par la formation d'hyphes filamenteux qui ne subissent normalement pas de fragmentation et qui produisent des spores asexuées. Par leur morphologie générale, ils rassemblent fortement aux mycètes. Cette ressemblance résulte en partie d'une adaptation aux mêmes habitats. La plupart des actinomycètes ne sont pas mobiles. Lorsqu'il y a une mobilité, elle est confinée aux spores flagellées (**Pelmont, 2005**).

Les actinomycètes ont une importance pratique considérable. Ce sont, essentiellement, des habitants du sol et ils sont très largement distribués. Ils peuvent dégrader un nombre et une variété énormes de composés organiques et ils sont extrêmement efficaces pour la minéralisation de la matière organique. Les actinomycètes produisent des antibiotiques naturels utilisés en médecine. Bien que beaucoup d'actinomycètes soient des micro-organismes vivant librement, quelques-uns sont pathogènes chez l'homme, les animaux et certains végétaux.

### I.1.2 Morphologie :

La morphologie des actinomycètes ressemble fortement à celle des mycètes (**Prescott et al., 2003**). Toutefois, le diamètre des hyphes, habituellement de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$ , est deux à dix fois plus petit que celui des champignons (de 2 à 5  $\mu\text{m}$ ). Le mycélium des actinomycètes présente une grande diversité de morphologies. On rencontre des espèces dont le mycélium est rudimentaire au point d'être inexistant (la plupart des *Mycobacterium*), d'autres au mycélium fugace, qui se fragmente (certaines *Nocardia*), et enfin des espèces au mycélium développé et persistant comme dans le genre *Streptomyces*. Les mycéliums fragmentaire et permanent sont illustrés sur la **Figure 01**.



**Figure 01.** Micrographie à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre *Streptomyces* en sporulation, (B) Bactéries du genre *Nocardia* qui se fragmentent. Barre d'échelle : 1  $\mu\text{m}$  (**Belyagoubi, 2014**).

### I.1.3 Physiologie de développement :

La croissance des actinomycètes est influencée par plusieurs paramètres physiologiques en particulier : l'oxygène, le pH, la température...etc.

#### a \_L'oxygène

On peut classer 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 et al., 1992**).

- Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces*, sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol (Avril et al., 1992).

#### **b \_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), telle est le cas pour les souches acidophile comme le genre *Streptacidiphilus* (Wang et al., 2006).

#### **c \_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).

#### **d \_L'activité de l'eau (Aw)**

La germination des spores de la pluparts des actinomycètes, peut-être observée à des valeurs d'activité d'eaux 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).

#### **e \_ Tolérance en NaCl**

Selon leurs exigences en NaCl, les microorganismes sont divisés en deux groupes :

- Les halophiles : ont besoin de sel (NaCl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (P/V) pour les faiblement halophiles, jusque 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes.
- Les halotolérants acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolère de 6 à 8 % de NaCl (P/V)) ; les modérément tolérants (tolère de 18 à 20 % de NaCl (P/V)) ; et les extrêmement tolérants (se développe de 0 % jusqu'à saturation en NaCl) (Nanjani, 2011). Différentes stratégies sont suivies par les microorganismes halophiliques pour assurer l'osmo-régulation de leurs cytoplasmes tout en gardant une concentration faible en ions de sodium (Na<sup>+</sup>).
  - La première consiste à l'accumulation des ions de K<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> dans leur cytoplasme sous forme de KCL (Sandhya et al., 2011), à des concentrations plus élevées que la concentration de NaCl présente tout autour du milieu. Ce mode d'adaptation est énergétiquement moins coûteux (Oren, 2006).

- La seconde agit par exclusion des différents ions présents dans le cytoplasme, par des pompes, tout en accumulant des solutés organiques pour maintenir l'équilibre osmotique. Les différents solutés organiques utilisés sont : glycérol, betaine, ectoine, les sucres comme le saccharose et tréhalose. Ce mode est énergétiquement coûteux à cause du coût de la synthèse des molécules organiques (**Oren, 1999**).

#### **I.1.4 Milieux de culture des actinomycètes**

La composition d'un milieu de culture doit permettre la croissance bactérienne et doit donc tenir compte des besoins nutritifs des bactéries. Les sources de carbone telles que l'amidon de maïs, le glucose, le fructose, le saccharose et la mélasse qui sont rapidement assimilés sont couramment utilisés comme substrats de croissance pour produire des métabolites secondaires par fermentation (**Papagianni, 2004**). Le glucose est généralement la meilleure source de Carbone et d'énergie pour la croissance de nombreux microorganismes producteurs d'antibiotique (**Park et al ., 1994**). La source d'azote influence également sur la production des antibiotiques. Il est introduit dans les milieux de cultures sous formes de sels d'ammonium, de nitrate ou de composés organiques tels que les acides aminés, peptones...etc.

Pour l'isolement des actinomycètes, les antibiotiques sont ajoutés dans les milieux sélectifs pour inhiber la croissance de certains germes indésirables. Les molécules les plus utilisées sont : la nystatine, le cycloheximide (Actidione), la pimarcine, l'amphotéricine B pour l'inhibition des champignons. La polymyxine, la novobiocine, l'acide nalidixique, la colistine pour stopper les bactéries gram négatives (**Takizawa et al ., 1993**). L'incubation se fait, généralement, à une température de 28°C ou 30°C qui favorise le développement des actinomycètes (**Burman, 1973**).

### **I.2. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature**

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

#### **1.2.1 Les actinomycètes de sol**

Le sol héberge de divers genres de micro-organismes. Les actinomycètes sont moins dominants que des bactéries et plus importants que des champignons. Les actinomycètes composent habituellement à 10-50% de la communauté microbienne totale. Leur nombre

varie considérablement dans différents types de sol s'étendant de  $10^5$  à  $10^6$  dans des zones tempérées. Les actinomycètes les plus abondants dans le sol sont les espèces de *Streptomyces* qui peuvent former plus de 2/3 des colonies sur des plaques de dilution, les *Nocardia.sp* représentent jusqu'à un tiers. (Lechevalier et Lechevalier, 1967) ont isolé 5000 actinomycètes issus de 16 sols différents. Plus de 95% étaient des *Streptomyces*.

**Tableau N°01.** Pourcentage des divers genres d'actinomycètes dans le sol (Lechevalier et Lechevalier, 1967).

Genre	Pourcentage
<i>Streptomyces</i>	95,34 %
<i>Nocardia</i>	1,98 %
<i>Micromonospora</i>	1,4 %
<i>Actinoplanes</i>	0,20 %
<i>Microbispora</i>	0,18 %
<i>Mycobacterium</i>	0,14 %

### 1.2.2 Actinomycètes dans les sols de rhizosphères

La majorité des actinomycètes sont trouvés dans divers types de sols tels que les champs agricoles, les forêts tropicales et les grottes naturelles (Gomes et al., 2000; Nakaew et al., 2009). Certains des actinomycètes sont distribués dans les parties rhizosphériques du sol. La densité de ces derniers est plus élevée dans cette zone que dans les sols dépourvus de racines. Cette différence est liée à la sécrétion des petits composés organiques par les racines sous forme d'exsudats qui fournissent la nutrition et les sources d'énergie pour la croissance microbienne (Soderberg et Baath, 1998). Cette flore microbienne de la rhizosphère comprend principalement les bactéries, les champignons et les actinomycètes. Les interactions entre les microorganismes procaryotes et les racines des plantes peuvent avoir des effets bénéfiques, nuisibles ou neutres sur la plante en fonction du type d'interaction symbiote et les conditions de sol (Smith et Read, 1997).

### **1.2.3 Les actinomycètes du compost et matériel relatif**

Les microbes mésophiles y compris les actinomycètes effectuent la décomposition des substrats riches en nutriments et créent une température plus élevée qui fournissent des conditions idéales pour la croissance rapide des actinomycètes thermophiles. *Thermoactinomyces*, *Saccharomonospora*, *Micropolyspora*, *Pseudonocardia* et *Streptomyces* sp, *Thermonospora* ont été isolés à partir de tels substrats auto-chauffée. Les espèces de *Thermomonospora* se développent particulièrement bien pendant la deuxième phase de préparation d'engrais pour la culture de champignon tandis que les *Streptomyces diastaticus* et *Thermoactinomyces vulgaris* prédominent dans le compost cuit à la vapeur et sa poussière. (Kumar et al. ,2003).

### **1.2.4 Les actinomycètes de l'air**

Les actinomycètes peuvent être démontrés dans l'air par l'utilisation de méthodes de piégeage et d'échantillonnage appropriés. La diffusion aéroportée est principalement liée à la quantité de la poussière à laquelle les spores et le fragment mycélien s'accrochent. N'importe quelle action qui touche le sol sec de la terre jachère, telle que les premières gouttes de pluie, lance des particules de sol dans l'air, produit une augmentation du nombre de *Streptomyces* aéroportés. (Kumar et al., 2003).

### **1.2.5 Les actinomycètes des eaux douces**

Les actinomycètes sont largement distribués dans un environnement aquatique. Les genres des actinomycètes qui sont fréquents dans l'eau douce incluent *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *streptomyces* de *Rhodococcus* et *Thermoactinomyces* (Goodfellow et Williams ,1983).

Les actinomycètes sont généralement plus nombreux dans les courants et les rivières que dans les lacs et les réservoirs. *Streptomyces* et *Micromonospora* sont généralement plus en mousse dans l'eau de la rivière et c'est peut-être à cause de la concentration de spores hydrophobes et les hyphes de l'interface de l'eau et l'air.

### **1.2.6 Les actinomycètes marins**

Certaines souches d'actinomycètes ont été retrouvées dans des environnements marins (Singh et al., 2006 et Imada et al., 2007), dans des sédiments situés à plus de 4000 m de profondeur (Khatabi et al., 2002). La colonisation normale du milieu marin est un point controversé, selon les uns, il existerait une flore d'actinomycètes spécifique aux sédiments

marins caractérisée par sa barotolérance, son halophilie et une température optimale faible ; selon d'autres, les actinomycètes isolés de ces milieux correspondraient à des souches terricoles adaptées à la salinité marine (Larpent et Sanglier, 1989).

Tableau N°02. Habitats de certains actinomycètes (Grigorova et Norris, 1990).

Actinomycètes	Habitats
<i>Nocardia amarae</i>	Les boues activées.
<i>Frankia</i>	Les nodules racinaires des non légumineux.
<i>Streptomyces</i>	Le sol, la litière végétale, l'eau.
<i>Actinoplanes</i>	L'eau douce, la litière végétale, le sol.
<i>Micromonospora</i>	L'eau douce, les sédiments, les sols humides.

### I.3. Classification des actinomycètes

Les actinomycètes constituent une proportion importante de la microflore tellurique ( $10^4$ - $10^6$ UFC/ml) (Shrivastava et al., 2008) et ( $10^7$ - $10^8$  UFC/ml) (Hoorman et Islam, 2010). Une grande difficulté de la classification des actinomycètes existe, elle est généralement basée sur les caractères morphologiques et la couleur du mycélium aérien et végétatif.

Selon la classification du "Taxonomic Outline of The Procaryotes, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", seconde édition 2004 (Garrity et al., 2004), Le **Phylum Actinobacteria** (bactéries à Gram positif et G +C % élevé) est constitué d'une seule classe dénommée également "Actinobacteria". Celle-ci a été décrite par Stackebrandt et al. (1997).

#### I.3.1 La classe Actinobacteria

La classe des *Actinobacteria* est divisée en 5 sous-classes (figure 02) : *Acidimicrobidae*, *Rubrobacteridae*, *Coriobacteridae*, *Sphaerobacteridae* et *Actinobacteridae*. Chacune de ces sous classes est constituée d'un ou de plusieurs ordres eux-mêmes constitués d'une ou de plusieurs familles. Dans la sous-classe des *Actinobacteridae*, l'ordre des *Actinomycétales* est subdivisé en 10 sous-ordres : *Actinomycineae*, *Micrococcineae*, *Corynebacterineae*, *Micromonosporineae*, *Propionibacterineae*, *Psuedonocardineae*, *Streptomycineae*, *Streptosporangineae*, *Frankinea* et *Glycomycineae* (Kroppenstedt, 2000).

**Classe Actinobacteria**

<b>S/CI</b>	<i>Actinobacteridae</i>	<i>Rubrobacteridae</i>	<i>Coriobacteridae</i>	<i>Sphaerobacteridae</i>	<i>Acidimicrobidae</i>
	<b><i>Actinobacteridae</i></b>				
<b>Ordre</b>	<i>Bifidobacteriales</i>		<i>Actinomycetales</i>		
	<b><i>Actinomycetales</i></b>				
<b>S/O</b>	<i>Actinomycineae</i>	<i>Corynebacterineae</i>		<i>Streptomycineae</i>	
<b>Famille</b>	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Nocardiaceae</i>	<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Streptomycetaceae</i>	
		<i>Corynebacteriaceae</i>			

**Figure 02.** la classification hiérarchique de la classe *Actinobacteria* basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr / ARNr 16S (**Garrity et al ., 2004**).

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

#### **I.4 Importance des actinomycètes**

La principale raison derrière l'engouement pour les actinomycètes vient du fait qu'ils possèdent des rôles importants dans le sol et dans les interactions avec les plantes, (**Conn, 2005**), mais également pour la synthèse de nombreux métabolites d'intérêt biotechnologique. Il a été estimé que sur 16500 antibiotiques connus, 8700 (53%) sont produits par les actinomycètes dont 6550 (40%) par des espèces de *Streptomyces* (**Choulet, 2006**). En plus de la production d'antibiotiques, les actinomycètes produisent un grand nombre d'autres métabolites secondaires dotés d'une large gamme d'activités, tels que des inhibiteurs d'enzymes, immunosuppresseurs, toxines et pesticides (**Dairi, 2005 ; Pizzul, 2006**).

#### **I.4.1 Dans les domaines médical, vétérinaire et industriel**

Les actinomycètes ont fourni un nombre considérable de composés bioactifs de haute valeur commerciale, et sont recherchés de façon routinière dans le but de découvrir de nouvelles substances bioactives (**VijayaKumar et al ., 2007**).

Les antibiotiques ont aussi trouvé une application dans les élevages industriels d'animaux. Ils sont utilisés non seulement pour combattre les maladies des animaux et des plantes, mais aussi dans l'alimentation pour augmenter les rendements zootechniques (**Khachatourians, 1998**).

#### **I.4.2 Dans le domaine agronomique**

En plus de la production d'un grand nombre de métabolites d'importance commerciale, Les actinomycètes possèdent d'autres potentiels intéressants tels que leur implication dans le processus de recyclage. En effet, ils sont vitaux pour le recyclage des nutriments et comptent parmi un nombre réduit d'organismes utilisés en bio remédiation, capable de dégrader des composés organiques complexes tels que la chitine (**Zaitlin et Watson, 2006**) et grâce à un potentiel enzymatique riche ainsi que des spores résistantes à la dessiccation (**PiZZUL, 2006**).

Ils ont la possibilité de s'adhérer aux interfaces non miscibles à l'eau en raison de l'hydrocarbure chloré ainsi que des composés organiques complexes (**El-Shatoury et al ,2004**). Le genre *Frankia* est également très important pour un bon nombre de plantes, provoquant des nodulation aux racines permettant ainsi la fixation de l'azote par la plante hôte (**Zaitlin et Wastson, 2006**).

#### **I.5 Métabolisme**

La croissance des actinomycètes est plus lente que celle des autres bactéries ; le temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures (**Ottow et Glathe, 1968**). Les Actinomycètes se séparent en deux groupes physiologiques. Le plus important est composé de germes ayant un métabolisme oxydatif et habitant surtout le sol. Le second rassemble des bactéries fermentatives, hôtes des cavités naturelles de l'homme et des animaux. Les formes oxydatives, aérobies, sont localisées principalement dans le sol à partir duquel elles sont disséminées. L'archétype de cette catégorie est le genre *Streptomyces* (**Reponen et al ., 1998**).

Les formes fermentatives, anaérobies strictes ou facultatives, sont illustrées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs et ils ne sont jamais retrouvés dans le sol (**Mariat et Sebald, 1990**).

En général, les actinomycètes sont des bactéries chimoorganotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les biopolymères complexes (chitine, cellulose, lignine). Mais, plusieurs espèces sont capables aussi de croissance, chimioautotrophe utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**).

## **I.6 Activités des Actinomycètes**

Les métabolites secondaire produits par les actinomycètes présentent un grand nombre d'effets biologiques diverses, d'abord des activités antimicrobiennes. L'ordre des actinomycétales sont célèbre producteur de métabolites bioactifs avec une expérience professionnelle de plus de 10 000 agents antimicrobiens à usage clinique (**Demain, 2009**). Les métabolites secondaires produits par les actinomycètes révèlent des activités biologiques variées tel qu'antibactériennes, antifongique, antiviral, anticancéreux, anti parasitaires. Ce groupe de composés forme un assemblage hétérogène des molécules biologiquement puissantes avec diverses structures et mécanismes d'action.

### **I.6.1 Production des antibiotiques**

Les actinomycètes sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que producteurs d'antibiotiques. On estime que les deux tiers des quelque six mille antibiotiques isolés jusqu'ici sont produits par les actinomycètes (**Berdy, 2005**). Parmi les espèces *Actinomycétales*, les *Streptomyces* sont les plus importants producteurs d'antibiotiques et autres métabolites secondaires, 75% des antibiotiques sont produits par les espèces de streptomycètes (**Ravel et al., 2000**). De nombreuses familles d'antibiotiques ont été identifiées. On peut citer les  $\beta$ -lactames, les cyclines, les macrolides ou encore les aminoglycosides. La plupart de ces composés agissent sur une des trois cibles suivantes : la synthèse du peptidoglycane, la réplication de l'ADN ou la synthèse des protéines.

### **I.6.2 Immunosupresseurs**

Certains métabolites sont capables d'agir sur le système immunitaire de façon à inhiber celui-ci. Une telle activité se révèle très utile pour le traitement de maladies auto-immunes ou pour empêcher le rejet d'organes greffés. Par exemple, la rapamycine issue de

*Streptomyces hygroscopicus* est utilisée pour ses propriétés immunosuppressives et antiprolifératives lors de transplantations de reins.

Le tacrolimus (FK506 ou fujimycine) isolé chez *S. tsukubaensis*, est utilisé à très faible dose pour la transplantation de foies depuis 1994 (**Demain et Sanchez, 2009**).

### **I.6.3 Antitumoraux**

Le cancer constitue l'une des pathologies humaines responsables d'un grand nombre de décès chaque année. Parmi les métabolites secondaires, certaines molécules se révèlent capables d'inhiber la multiplication des cellules cancéreuses. On peut citer l'actinomycine D, les anthracyclines (daunorubicine, doxorubicine), la bléomycine ou encore la mitomycine C. Ces composés agissent en se fixant sur l'ADN. L'actinomycine D, par exemple, se fixe au niveau du complexe d'initiation de la transcription et empêche l'élongation par l'ARN polymérase (**Sobell, 1985**).

### **I.6.4 Antifongiques et antiparasitaires**

De nombreux antifongiques sont utilisés en médecine. La nystatine produite par *Streptomyces noursei* est par exemple utilisée pour le traitement de différentes infections par des levures, notamment des *Candida* (**Fjaervik et Zotchev, 2005**). Le terme antiparasitaire désigne plus globalement un composé permettant de lutter contre différents types d'organismes eucaryotes (protistes, insectes, helminthes). Ces métabolites présentent des utilités en médecine humaine et vétérinaire, mais aussi en agriculture. L'usage de métabolites insecticides en agriculture permet de diminuer fortement les pertes de rendement. Ils sont aussi moins toxiques que les insecticides de synthèse. Par exemple les spinosynes, produites par *Saccharopolyspora spinosa*, sont très spécifiques et ne présentent aucun risque pour les animaux (**Kirst, 2010**). L'ivermectine produite par *Streptomyces avermitilis* est active contre certaines espèces d'arthropodes et de nématodes. Ce composé est en revanche non toxique pour les mammifères (**Burg et al., 1979**).

Tableau ci-dessous illustre quelques métabolites produits par les Actinomycètes.

**Tableau N°03.** quelques exemples d'antibiotiques produites par les actinomycètes (**Kieser et al ., 2000 ; Madigan et Martinko, 2007**).

<b>Producteur</b>	<b>Antibiotiques</b>	<b>Cible</b>
<b>1/ Les agents antibactériens</b>		
<i>Streptomyces. griseus</i>	<b>Streptomycine</b>	<b>R</b>
<i>Streptomyce. albus</i>	<b>Salinomycine</b>	<b>Membrane</b>
<i>Streptomyces .rimosus</i>	<b>Oxytétracycline</b>	<b>R</b>
<b>2/ Les agents antifongiques</b>		
<i>Streptomyces.noursei</i>	<b>Nystatine</b>	<b>Membrane</b>
<i>Streptomyces.tendae</i>	<b>Nikkomycine</b>	<b>Biosynthèse de chitine</b>
<i>Streptomyces.nataensis</i>	<b>Natamycine</b>	<b>Membrane</b>
<b>3/ les agents antiparasitaire</b>		
<i>Streptomyces.rimosus</i>	<b>Paromomycine</b>	<b>R</b>
<i>Streptomyces.hygroscopicus</i>	<b>Milbemycine</b>	<b>Chaine d'ions chloride</b>
<b>4/les Agents antiviraux</b>		
<i>Streptomyces antibioticus</i>	<b>9-β-Darabinofuranosyladénine</b>	<b>/</b>
<i>Streptomyces sp</i>	<b>Panosialine</b>	<b>/</b>
<b>4/Les agents anti tumorale</b>		
<i>Streptomyces. verticillus</i>	<b>Bléomycine</b>	<b>ADN</b>
<i>Streptomyces. peucetius</i>	<b>Daunorubicine</b>	<b>Intercalaire d'ADN</b>
<b>5/ immunosuppresseurs</b>		
<i>S.hygroscopicus</i>	<b>Rapamycine</b>	<b>Liaison des proteines FK</b>

**R :** l'antibiotique se lie au ribosome bloquant ainsi la synthèse protéique.

### I.6.5 Production des enzymes

Dans leur environnement naturel, les actinomycètes sont des bactéries saprophytes, ils participent à la dégradation, par la production d'enzymes extra-cellulaires, de la matière organique, donc au recyclage des biopolymères complexes comme la cellulose, la lignine, la lignocellulose, la kératine, la chitine, la pectine et le xylane. De ce fait ces enzymes ont été Exploités dans l'industrie, tel que les amylases, les protéases, les ligninases, les cellulases et les lipases (Mason et al., 2001; Rivas et al., 2003). Quelques exemples d'enzymes produites par les actinomycètes sont résumés dans le **tableau N°04**.

**Tableau N° 04** .Quelques exemples des enzymes produites par les actinomycètes

Actinomycètes	Enzymes	Topt	pHopt
<i>Streptomyces sp</i>	Cellulase	60 °C	8
<i>Streptomyces sp</i>	Kératinase	50 °C	8.5
<i>Streptomyces anulatus</i>	Dextranase	50 °C	8

### I.7 Les Actinomycètes pathogènes

Les actinomycètes sont rarement rencontrés en clinique, dans la plupart des cas ils sont considérés comme des pathogènes opportunistes, bien qu'ils peuvent causés des infections potentiellement importantes et sérieuses chez l'homme et l'animal (McNeil et Brown, 1994).

Les genres d'actinomycètes aérobies les plus souvent rencontrés en clinique et plus largement étudiés est le genre *Nocardia*, suivi par le genre *Actinomadura*. D'autres genres Sont aussi rencontrés qui sont : *Streptomyces*, *Nocardiosis*, *Dermatophilus*, *Gordona*, *Rhodococcus*, *Amycolata*, *Oerskovia*, *Rhotia*, *Tsukamurella*, *Corynebacterium*. (McNeil et Brown, 1994 ; Yaccin et al., 1997).

#### I.7.1 *Nocardia*

La moitié des espèces connues de *Nocardia* sont des pathogènes de l'homme et des animaux (Leger et al., 2009). Les infections à *Nocardia* sp sont observées chez de nombreux animaux, elles sont décrites chez une variété d'espèces de vertébrés et invertébrés, ainsi que chez les mammifères. Le taux de mortalité chez les animaux est plus élevé que chez l'être

humain (50 % de mortalité). Chez l'homme, les espèces de *Nocardia* peuvent causer des infections appelées « nocardiose », qui peuvent être considérées comme des infections opportunistes, mais qui peuvent être invasives dans les unités de transplantations et oncologiques (Lai et al., 2009; Sullivan et Chapman, 2010).

### **I.7.2 Actinomadura**

Les *Actinomadura* sp. sont les mieux connues comme agents causant des infections appelées « actinomycétomes » (Yassin et al., 2010). Ce sont des infections granulomateuses cutanées et sous cutanées, chroniques et destructives, réalisant des pseudo-tumeurs inflammatoires. Les *Actinomadura*.sp. Peuvent aussi être aussi des agents causatifs d'infections non mycétomiques dans des cas de pneumonies et de bronchites. Les actinomycétomes peuvent être aussi causés par d'autres genres d'actinomycètes aérobie comme *Nocardia* et *Streptomyces* (Le Roes et Meyers, 2007 ; Cascio et al., 2011). La majorité des infections à *Actinomadura* sont causées par *A. madurae*, *A. pelletieri*, *A. sputi* et *A. meyeri* (Bonnet et al., 2011).

### **I.7.3 Streptomyces**

Malgré le nombre important des espèces de *Streptomyces*, seulement *S.griseus* et *S.somaliensis* ont été confirmées comme pathogènes. Les cas d'infections rapportés sont principalement des actinomycétomes (nodules fistulisés cutanés et locaux). Par contre, des cas rares d'infections non-mycétomiques invasives à *Streptomyces* sp. (Kapadia et al., 2007 ; Rose et al., 2008).

D'autres espèces de *Streptomyces* sont phytopathogènes, les exemples les plus cités sont ceux des espèces *S. scabiei*, *S. caviscabiei*, *S. acidiscabiei*, *S. setonii*, *S. tendae* et *S.ipomoeae* qui provoquent la gale de la pomme de terre qui se manifeste par des lésions superficielles, relevées ou profondément trouées et la virole de la pomme de terre douce provoquée par la thaxtomine (toxine) ( Goyer et al., 1996; Bramwell et al., 1998).

## **I.8 Actinomycètes rares**

Les actinomycètes dis « rares » comprennent les genres d'actinomycètes filamenteux autre que le genre *Streptomyces* (Marccone et al., 2010). La présence relativement basse de ces genres, contrairement au genre *Streptomyces*, résulte du fait qu'ils sont difficilement isolés, cultivés, maintenus et manipulés (Berdy, 2005).

### **I.8.1 *Nonomuria***

Ce genre regroupe des espèces qui ont des caractères communs appartenant au début au genre *Actinomadura* puis au genre *Microtetraspora* (Quintana et al ., 2003). Le genre *Nonomureae* appartient à la famille des *Streptosporangiaceae*. Il contient 32 ; *N. Pusilla* représente l'espèce type de ce genre (Euzéby, 2012).

Les espèces du genre *Nonomureae* sont largement distribuées dans les sols, elles ont été isolées de sols arides en Algérie (Badji et al ., 2007). Les espèces du genre *Nonomureae* produisent plusieurs métabolites de natures différentes, à titre d'exemples : la souche *Nonomureae* sp. ATCC 39727T produit la teicoplanin qui est un antibiotique de nature glycopeptidique (Marcone et al ., 2010).

### **I.8.2 *Kribbella***

Le genre *Kribbella* est très rare, ses espèces sont isolées, dans la plupart des cas, à partir du sol : *K. flavida*, *K. sandramycini*, *K. yunanensis*, *K. alba* et *K. amoyensi* isolées à partir des échantillons de sol prélevés en Chine (Pukall et al ., 2010; Xu et al., 2012). Ces bactéries ont montré une activité contre une variété de souches pathogènes, à titre d'exemples : *K. karoonsensis* et *K. swartbergensis* contre *Citrobacter braaki*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium aurum*.

### **I.8.3 *Saccharothrix***

Ce genre a montré qu'il est une source de substances actives, à titre d'exemple : *S. australiensis* ATCC 31947T produit un complexe d'antibiotiques de nature aminoglycoside (Labeda, 2001) ; *S. albidocapillata* DSM 44073T sont actives contre des bactéries pathogènes à coloration de Gram positive et contre des champignons (Lee et al ., 2000). D'autres activités biologiques sont présentes chez ce genre, par exemple l'espèce *S.xinjiangensis* PYX-6T dégrade des composés poly-aromatiques comme le pyrène, l'anthracène et le phénanthrène, et les utilisent comme seuls sources de carbone et d'énergie (Hu et al ., 2004).

## **I. 9. Principaux caractéristiques de certaines espèces d'Actinomycètes isolée des sols algériens**

### ***I.9.1 Prauserella isguenensis***

L'espèce *P. isguenensis* sont des bactéries qu'ont été isolé à partir des sols de la région Béni Isguen, commune de Ghardaïa (Sud de l'Algérie). Les analyses phylogénétiques basées sur les séquences de gène 16S, indiqué que le genre *Prauserella* appartient de classe *Actinobacteria*. Cette bactérie est de coloration Gram positif, aérobie, immobile, elle possède de l'acide méso diaminopimélique, l'arabinose et le galactose comme principaux sucres cellulaires (**Saker R et al ., 2015**).

La couleur du substrat mycélien est jaune pâle brunâtre sur milieu ISP2. Les fragments de substrat mycélien sont irréguliers sous forme de tige ; Le mycélium aérien est blanc, sous forme de longues chaînes de spores, celui qui sont non mobile .La température et les intervalles de pH pour la croissance sont 20 à 45 °C (optimal de 30 à 37 ° C). Et pH de 5 à 9 (optimal à pH 7). Les intervalles de concentration en NaCl pour la croissance est de 5 à 25% (p/v), avec une croissance optimale se produisant de 7 à 15% (p / v) (**Saker R et al ., 2015**).

### ***I.9.2 Saccharopolyspora ghardaiensis***

L'origine de *S. ghardaiensis* est de sol saharien recueilli à partir de Chaabet Ntissa, Béni Isguen, Ghardaia (Sud de l'Algérie). La souche filamenteuse produit un mycélium aérien de couleur blanche sur milieu ISP2. La couleur du substrat mycélien est rouge foncé orangé sur ISP2. Le substrat mycélien est bien développé et fragmenté en cocci non mobile. Les mycéliums aériens forment de longues chaînes de spores non mobiles, la croissance optimale de 30 à 35 ° C, le pH de 6 à 7 et en présence de 15 à 25% (p/v) de NaCl. L'organisme a une bonne activité antibactérienne et antifongique et qui est résistant à la kanamycine, l'érythromycine la streptomycine, la pénicilline, Mais il sensible à Chloramphenicol (25µg ml<sup>-1</sup>) (**Meklat A et al ., 2014**).

### **I.9.3 *Actinopolyspora mzabensis***

*A. mzabensis* a été isolée à partir d'échantillons de sol saharien dans la région de Mzab (Ghardaïa, Sud de l'Algérie), ce sont des Actinomycète filamenteux à gram positive, aérobie, strictement halophile. Le mycélium aérien est blanc jaunâtre sur les milieux (ISP 2, gélose nutritive et gélose CM), irrégulièrement ramifiée. La couleur du substrat mycélienne est jaune claire à orangé sur les milieux (ISP2, gélose nutritive, ISP4, gélose CM). Il est bien développé et fragmentés en bâtonnets non mobiles, il utilise L-arabinose, cellobiose, D-fructose, D-galactose, glycérol, lactose, D-xylose et citrate comme sources de carbone. Les mélanoides et les autres pigments ne diffusent plus dans ces milieux. La température optimale de la croissance est de 30 °C. Par un pH optimal de 7. La croissance se produit sur l'agar nutritif en présence de 7 à 32% (p / v) de NaCl , l'optimale de croissance de NaCl est de 10 à 28% (Meklat A et *al.*, 2013).

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de « Mycologie » Département de Biologie-Faculté des Sciences-Université Ammar Tlidji-Laghouat.

## II. Matériel et méthodes

### II.1 Échantillonnage

Trois échantillons du sol ont été prélevés à partir de différents endroits de la région Skhouna (commune de Saida) par technique de **Pochon et Tardieux (1962)**. Cette technique consiste à écarter les cinq premiers centimètres du sol à l'aide d'une grande spatule et une quantité de 100 à 150 grammes du sol sont prélevés par une petite spatule puis placée sur une feuille d'aluminium stérile. À partir du mélange ,50 grammes du sol sont prélevés puis placés dans un flacon stérile (**Figure 03**).



**Figure 03.** Localisation géographique de la zone de prélèvements des échantillons

### II.2. Isolement des Actinomycètes

#### II.2.1 Prétraitement des échantillons

Avant l'isolement, les échantillons du sol subissent un prétraitement pour améliorer le nombre des actinomycètes, pour cela deux prétraitements ont été appliqués :

➤ **Le séchage**

Les échantillons du sol sont séchés à la température ambiante pendant sept jours ; ce prétraitement a comme effet la réduction de la flore bactérienne dans les échantillons du sol (Suwan *et al*, 2012).

➤ **L'enrichissement des échantillons par le bicarbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>)**

Nous avons utilisé la méthode décrite par (Cavalla et Eberlin, 1994). Un gramme de chaque échantillon du sol a été mélangé avec 0,1 g de CaCO<sub>3</sub>, le tout est incubé pendant 7 à 9 jours à la température ambiante dans une atmosphère saturée d'humidité. Ce prétraitement a pour effet la réduction de la flore fongique ainsi que l'augmentation du nombre d'actinomycètes contenue dans chaque échantillon (Arshad *et al*, 2012).

### **II.2.2 Les milieux de cultures**

Trois milieux de cultures recommandées ont été utilisés pour l'isolement des actinomycètes, qui sont :

- Milieu Bennett.
- Milieu CSA (Starch Casein Agar).
- Milieu GYM (Glucose Yeast extract Malt extract).

La composition de chaque milieu de culture est donnée dans l'annexe. Le pH de chaque milieu de culture est ajusté à 7 avant la stérilisation. Pour favoriser l'isolement des actinomycètes.

### **II.2.3 Préparation de la suspension de dilution et ensemencement**

La préparation des dilutions consiste tout d'abord à ajouter un gramme de sol broyé à 9 ml d'eau physiologique stérile. La suspension subit une agitation pendant 30 minutes par un vortex, ce qui constitue la dilution 10<sup>-1</sup>. À partir de cette suspension mère on prépare les dilutions 10<sup>-2</sup> et 10<sup>-3</sup>.

Un volume de 0.1 ml de chaque dilution est ensemencé par inondation à la surface de milieu de culture coulé sur des boîtes pétries, avec trois répétitions pour chaque dilution. Les boîtes sont mises dans un incubateur réglé à la température de 28°C. Les boîtes sont observées après une semaine d'incubation.

A l'aide d'une loupe, les colonies actinomycétales sont repérées d'après leur aspect macroscopique caractéristique.

### **II.3. Purification des isolats**

Les colonies qui se rapprochent par leurs aspects macroscopiques et microscopiques, sont purifiées pour obtenir des cultures pures.

À l'aide d'une pipette pasteur stérile on prélève un inoculum à partir des colonies de milieu d'isolement, qui sera ensuite ensemencé par épuisement sur les deux milieux (CSA, GYM) sous forme des stries. Cette dernière opération est répétée jusqu'à l'obtention des cultures pures. La pureté des isolats est contrôlée par des examens microscopiques directs, après chaque repiquage.

### **II.4. Conservation des isolats**

Les isolats obtenus sont conservés pour être utilisés dans des tests ultérieurs. La conservation est réalisée par :

- l'ensemencement sur gélose incliné puis incubé pendant 7 jours à 28 °C. Les tubes sont ensuite conservés à -4°C.
- l'ensemencement sur milieu gélose, puis incubés jusqu'à sporulation. Les spores des isolats sont raclées puis conservés avec 50% de glycérol à -20°C

### **II.5. Identification moléculaire des souches d'actinomycètes isolées**

Les 10 souches purifiées ont été envoyées au centre du DSMZ en Allemagne afin d'être identifié génétiquement par ARNr 16S. L'identification est faite par PCR avec les deux amorces universelles (F27, R1525) suivi d'un séquençage par l'utilisation de trois amorces (F27, R518 et R1525).

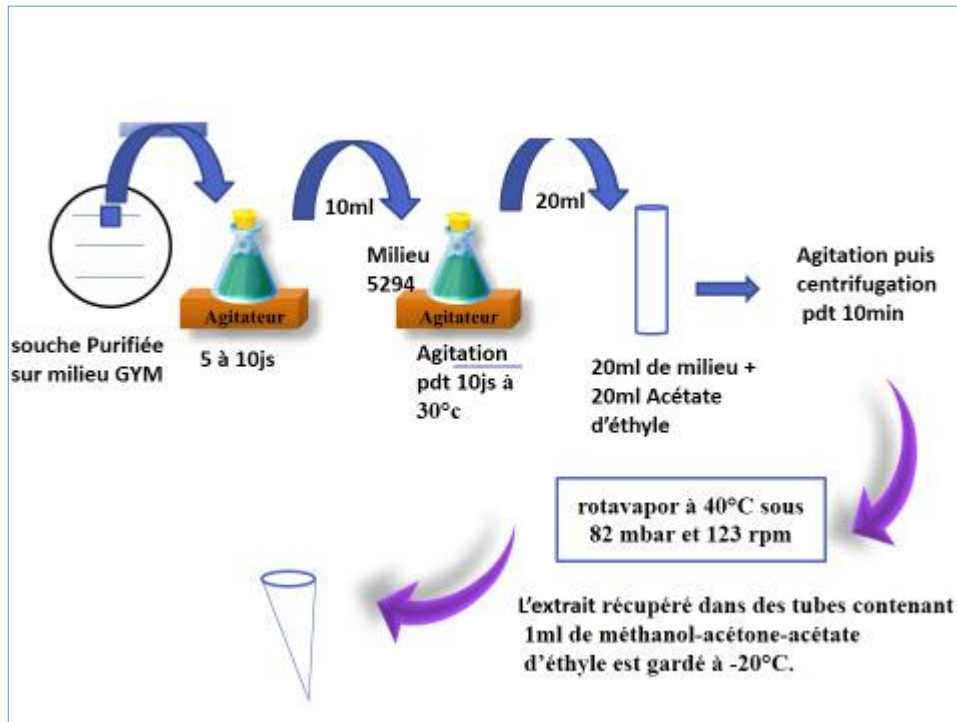
### **II.6. Production et extraction des métabolites secondaire**

Pour optimiser la production des métabolites secondaire, deux milieux de culture préconisés pour la production : (GYM et 5294).

Des flacons contenant 100 ml du milieu GYM sont inoculés par des isolats purifiés. Les flacons sont incubés sous agitation pendant 10 jours. 10ml de chaque culture a été transféré dans d'autre flacons contenant 100ml de milieu 5294, la culture subit une agitation (160-180) pendant 5 à 10 jours à 30°C.

Un volume de 20 ml de surnageant est mélangé avec le même volume d'acétate d'éthyle dans des tubes gradué. Les tubes sont ensuite centrifugés à 9000 rpm pendant 10 minutes. Les surnageant sont évaporé à 40°C à l'aide d'une rotavapor. . L'extrait est

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



**Figure 04.** Production et extraction des métabolites secondaire.

## II. 7. Souches fongiques testés

Les souches fongiques utilisées pour tester l'activité antifongique des extraits sont des champignons microscopiques réputés toxigènes. Elles sont à l'origine d'importantes maladies. Ces souches sont regroupées dans le **Tableau N° 05**.

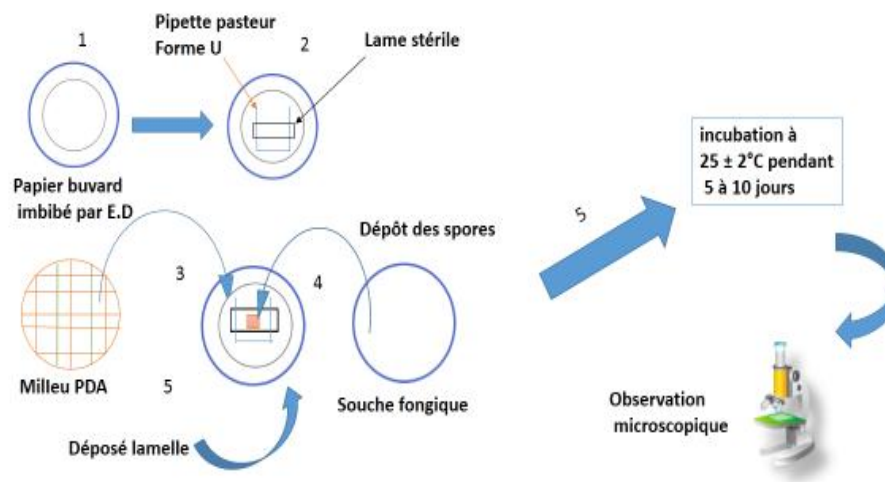
**Tableau N°05.** Souches bactériennes utilisées pour tester l'activité biologique des extraits

Souches fongiques	Origine
<i>Aspergillus flavus</i>	Laboratoire de Département d'Agronomie. Faculté des sciences –Université de Laghouat
<i>Aspergillus parasiticus</i>	
<i>Fusarium graminearum</i>	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	
<i>Penicillium expansum</i>	

## II.7.1. Vérification de la pureté des souches

### a- Identification des genres par la technique de micro-culture

Décrite par (Haris, 1989), la technique de micro-culture consiste à inoculer les spores des moisissures sur une lame menée de petits carrés, de milieu PDA acidifié et les recouvrir par une lamelle. Les spores sont ensemencées sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène élevé afin qu'elles puissent germer. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubé à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 5 à 10 jours (Figure 04).



**Figure 05.** Technique d'identification microscopique des moisissures par micro-culture.

## II. 7.2. Etude de l'Activité antifongique des extraits par la méthode des puits

### a- Préparation de l'inoculum fongique

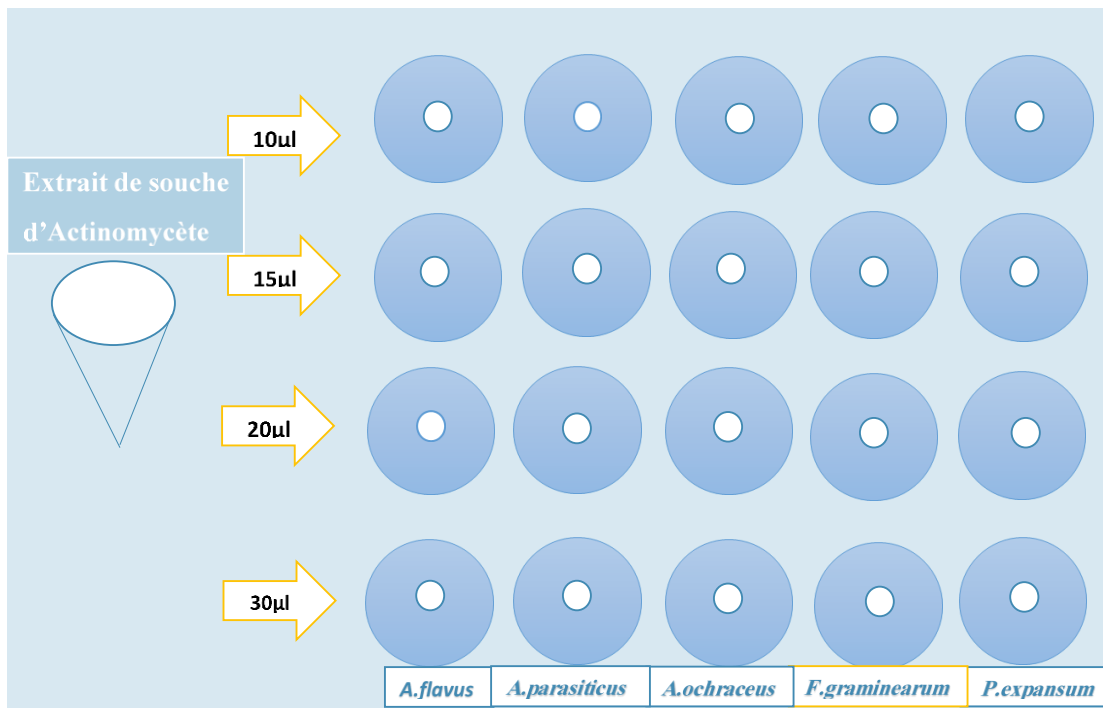
Les champignons filamenteux sont repiqués sur milieu PDA et incubés à  $25^\circ\text{C}$  pendant 7 jours. Une suspension dense de spores est obtenue par un écouvillon imbibé du Tween 80 additionné avec 3ml de l'eau physiologique. Les suspensions sont diluées de manière à obtenir une densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à 530 nm comprise entre  $0.4-5 \times 10^6$  spores/ml. Les suspensions fongiques sont ensuite ensemencées par inondation d'un volume de  $100\mu\text{l}$  pour chaque souche sur les milieux PDA solidifié sur les boîtes.

### b- Mise en évidence des Activités antifongiques

L'activité antifongique est testée par la méthode des puits en utilisant le milieu PDA qui, une fois coulé dans des boîtes de Pétri, est ensemencé avec les germes cibles. Des puits de 3 mm de diamètre sont réalisés à l'aide d'un emporte-pièce. Un volume de 30, 20, 15, 10 µl d'extrait est déposé dans chaque puits. Les boîtes sont laissées à température ambiante pendant 30 minutes, puis incubées à 27°C pendant 48 heures. Les diamètres d'inhibitions sont mesurés et notés. (**Figure 05**).

Le résultat obtenu est évalué comme suit :

- 0.1-3% : Faible activité antifongique
- 3- 8% : Activité antifongique moyenne
- Supérieur à 8% : Bonne activité antifongique.



**Figure 06.** Evaluation de l'activité antifongique par la méthode des puits.

### III. Résultats et discussion

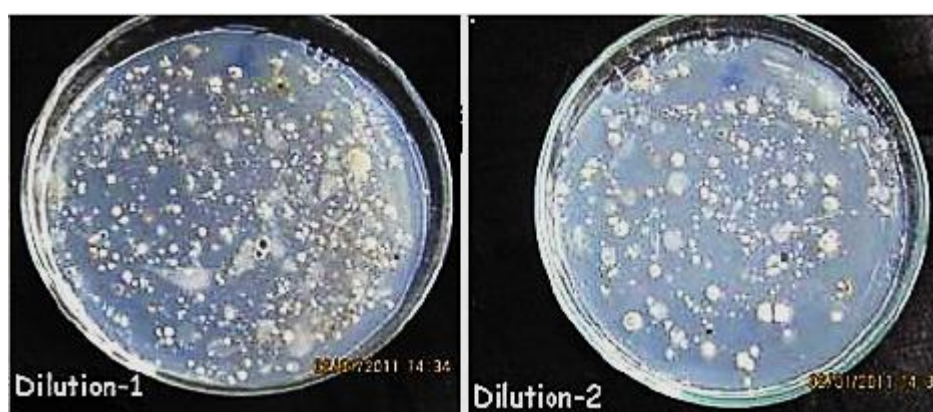
#### III.1. Isolement, purification et identification des actinobactéries

Au bout de 7 jours d'incubation à 30° C, les actinomycètes apparaissent, et se développent lentement. Elles sont repérées d'après leur aspect macroscopique caractéristique, dénombrées et purifiées afin d'obtenir des cultures pures pour la conservation et la synthèse de métabolites secondaires. L'isolement des bactéries actinomycétales à partir des échantillons sur le milieu CSA non complétés en antibiotiques a conduit aux résultats rassemblés dans le **tableau 06**.

**Tableau N°06.** Criblage initial des souches d'actinomycètes

Echantillon	Lieu de prélèvement	Nombre de souches d'actinomycètes dénombré	Nombre de souches d'actinomycètes purifiées
3	Ain Skhoua (Saida)	0,04 10 <sup>3</sup> - 1,05 10 <sup>3</sup> UFC /g	10

Les résultats présentés dans ce tableau font apparaître que le nombre total de colonies actinomycétales dénombrées varie entre 0,04 10<sup>3</sup> et 1,05 10<sup>3</sup> UFC par gramme de sol. Le plus grand nombre d'actinomycètes est isolé à partir des échantillons cultivés sur milieu CSA. D'après ces résultats, il apparaît que le milieu de culture (CSA) permet l'isolement d'un nombre considérable d'actinomycètes par rapport au milieu Bennett et GYM (Absence de culture). La purification des actinomycètes est faite par ensemencement sur milieu GYM et CSA non complétés en Amphotéricine B et en polymixine.



**Photo 01.** Isolement des Actinobactérie sur milieu CSA.

### 1.1 Diversité des actinomycètes isolés

La PCR et le séquençage a été réalisée sur 10 isolats au centre DSMZ en Allemagne en utilisant les amorces universelles qui servent à amplifier la zone conservée du gène codant pour l'ARNr 16S. L'amplification était positive et des fragments de 1450 pb ont été obtenus et séquencés. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau et la photo suivants.

**Tableau N°07.** Nom de souches bactériennes après identification moléculaire

Code de la souche	Espèce bactérienne après identification par le ADNr16S
S 001	<i>Streptomyces thinghirensis</i> strain S10
S 002	<i>Streptomyces aureus</i> strain NBRC 100912 16S
S 004	<i>Streptomyces cyaneus</i> strain H-112
S 005	<i>Streptomyces scopiformis</i> strain A25
S 006	<i>Streptomyces galilaeus</i> strain JCM 4757
S 007	<i>Streptomyces cylabdanicus</i> strain K04-0144
S 008	<i>Streptomyces prunicolor</i> strain NBRC 13075
S 009	<i>Streptomyces bobili</i> strain NBRC 13199
S 010	<i>Streptomyces glomeroaurantiacus</i> strain NRRL B-3375
S 011	<i>Streptomyces chartreusis</i> strain NBRC 12753



**Photo 02.** Résultats de purification des Actinobactérie.

### 2. verification de la purté des souches fongiques

La pureté des souches fongiques est vérifiée par la méthode de micro culture, en se basant sur des caractères macroscopiques (couleur, aspect de colonie et le revers des boites ...) et microscopiques (forme de thalle et des spores...) des souches fongiques sélectionnées.

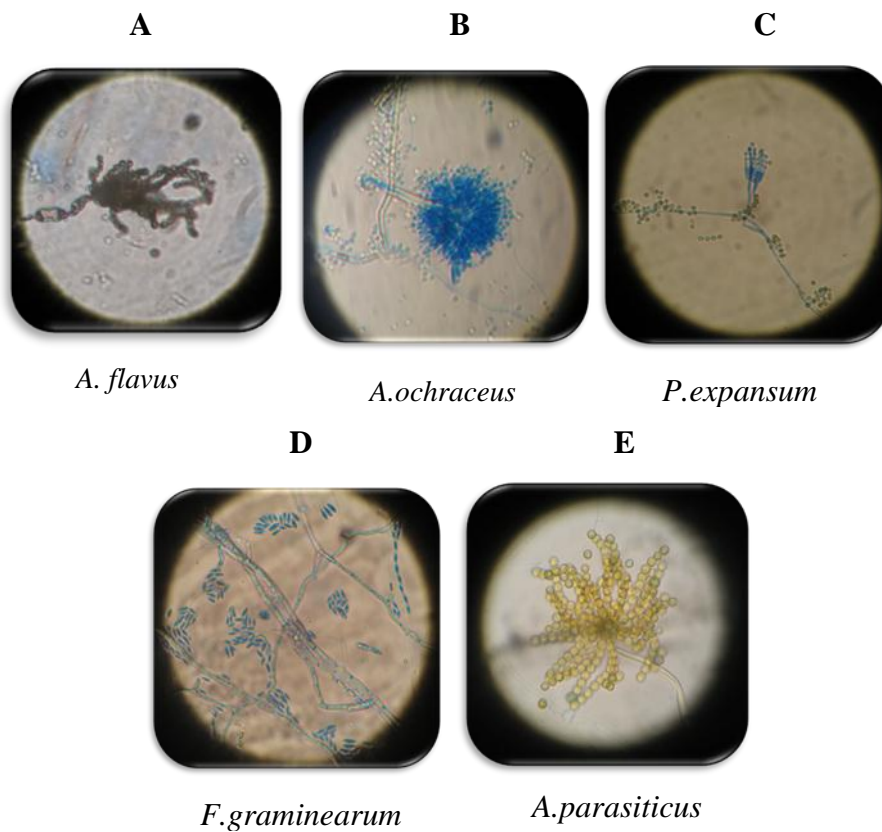
Sur la base de l'observation microscopique de la souche fongique A sous microscope, mettant en évidence les têtes conidiennes, unisériées, Les conidiophores sont verruqueux. Les vésicules sont sub-globuleuses. Les phialides sont insérées directement sur la vésicule ou portées par des métules. Les conidies sont globuleuses à sub globuleuses, de couleur verte pâle, verruqueuses. Nous pouvons déduire qu'il s'agit d'*Aspergillus flavus*. Ce dernier apparut sur milieu PDA sous forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaune, puis vert-jaune. **(Photo 04)**.

Concernant la souche fongique B, les têtes conidiennes sont bisériées, les conidiophores sont rugueux, les vésicules sont globuleuses, les phialides sont portées par des métules, de dimensions variables. Les conidies sont sub-globuleuses à globuleuses. Donc il s'agit d'*Aspergillus ochraceus*. Leur colonies sont poudreuses ou granuleuses, blanches au début, puis jaunes sur le milieu PDA **(Photo 04)**.

L'observation microscopique de la souche fongique C permet de distinguer des organisations en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches. Nous pouvons déduire qu'il s'agit du *Penicillium expansum*. Ce dernier se développe rapidement sur le milieu PDA sous forme des petites colonies plates, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune **(Photo 04)**.

Selon à l'observation microscopique de la souche fongique D mettant en évidence les macro conidies sont fusiformes, courbées. Les chlamydospores, intercalaires, formées par le mycélium rarement dans les conidies, sont globuleuses, hyalines à brun pâle. Il s'agit de *Fusarium graminearum*. Ce champignon se développe vite sur les géloses PDA. Les colonies, floconneuses, sont au début roses grisâtres ou rouges à pourpres, puis deviennent brun vineux **(photo 04)**.

L'observation sous le microscope de la souche fongique E permet de distinguer Les conidiophore de couleur marron pâle à paroi échinulée, les têtes aspergillaires sont majoritairement unisériées caractérisées par des vésicules sphériques recouverte au trois quart, donnant des phialides verdâtres portant des conidies sphériques à disposition radiaire. Nous pouvons déduire qu'il s'agit d'*Aspergillus parasiticus*. Ce dernier est caractérisé par un thalle vert jaune sombre, floconneux et des colonies granuleuses et denses sur milieu PDA, au revers incolore à beige clair. **(Photo 04)**.

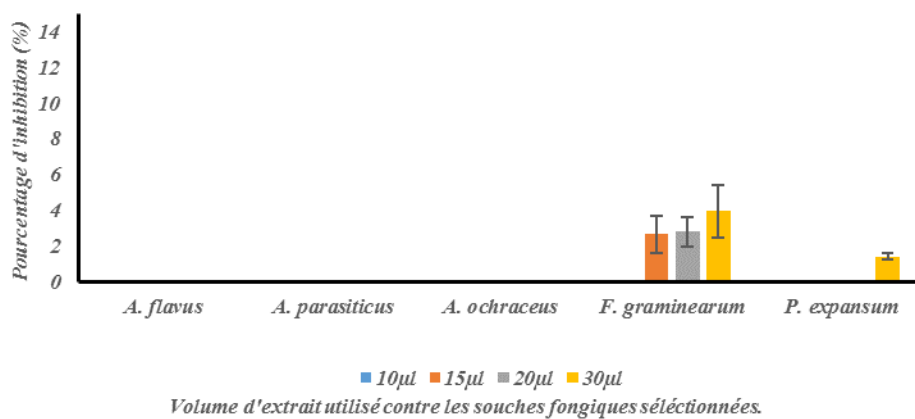


**Photo 03.**Aspect microscopique des souches d’*Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*.

### 3. Résultats de l’activité antifongique des extraits obtenus des souches d’actionobactéries

#### 3.1. Extraits des souches isolées de la région de Skhouna

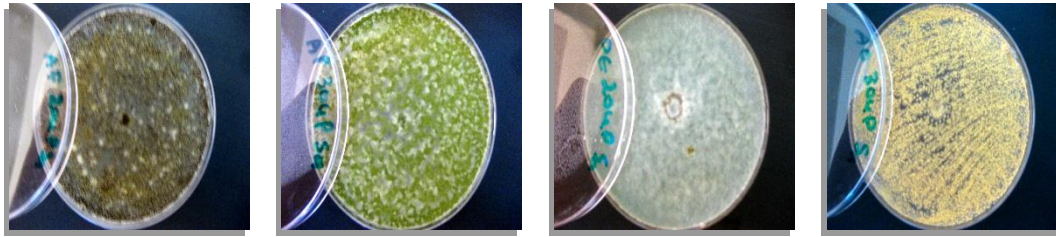
##### 3.1.1. Résultat de l’activité antifongique de l’extrait S<sub>001</sub>



**Figure 07.** Résultat de l’activité antifongique de l’extrait S<sub>001</sub>.

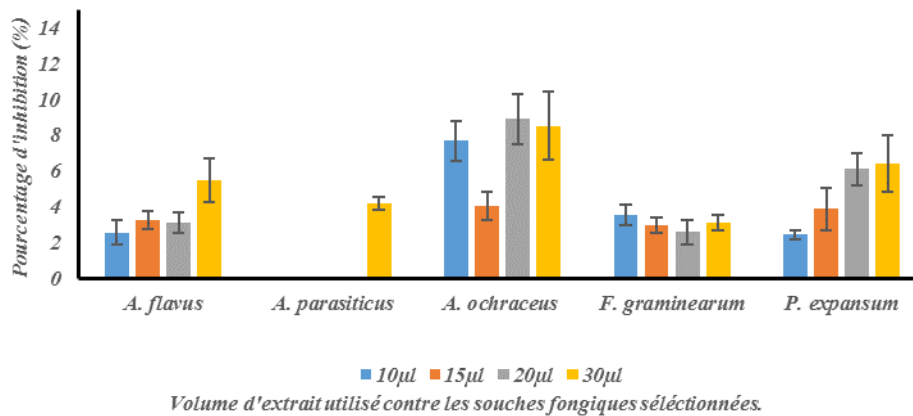
Selon les résultats affichés sur la figure, l’extrait S<sub>001</sub> a dévoilé une faible activité antifongique contre les moisissures sélectionnées et aucune pourcentage d’inhibition n’est enregistré pour *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus* et *P. expansum*. *F. graminearum* a

dévoilé une faible sensibilité vis-à-vis cet extrait avec un pourcentage d'inhibition de 3.96% ce qui reflète une activité antifongique moyenne selon le tableau.



**Photo 04.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>001</sub>.

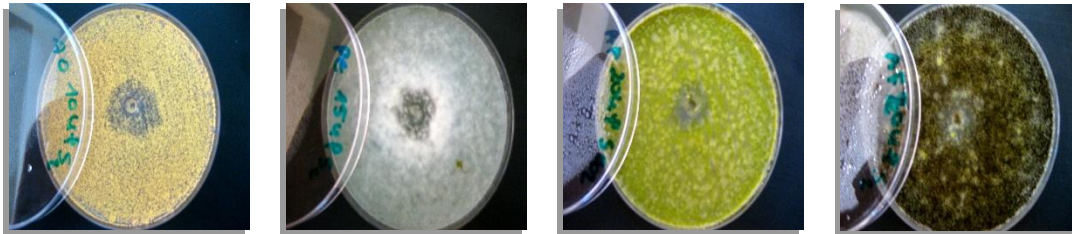
### 3.1.2. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>002</sub>



**Figure 08.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>002</sub>.

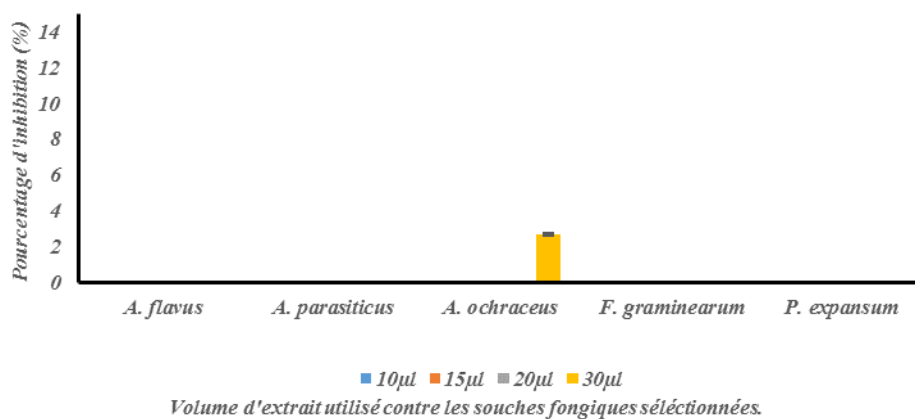
La figure démontre que toutes les souches fongiques dévoile une sensibilité variable vis-à-vis l'extrait testé, cette sensibilité dépend de la moisissure elle-même et de la concentration de l'extrait. L'extrait S<sub>002</sub> a enregistré une bonne activité antifongique contre *A. ochraceus* avec un pourcentage d'inhibition de 8.54% à 30µl ce qui reflète selon le tableau une bonne activité antifongique, cette activité diminue avec la diminution de la concentration de l'extrait dans le milieu PDA mais avec l'enregistrement d'activités antifongiques moyennes.

*P. expansum*, *A. flavus*, *A. parasiticus* et *F. graminearum* ont dévoilé une sensibilité faible et différentes dépendant principalement des souches fongique. Avec 30µl d'extrait, *P. expansum* enregistre le taux d'inhibition le plus élevé avec 6.44% suivie d'*A. flavus* et *A. parasiticus* avec 5.51% et 4.18% respectivement et enfin, *F. graminearum* 3.10%.



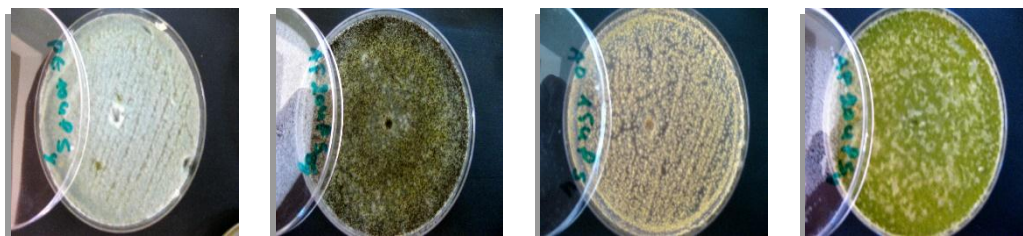
**Photo 05.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>002</sub>.

### 3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>004</sub>



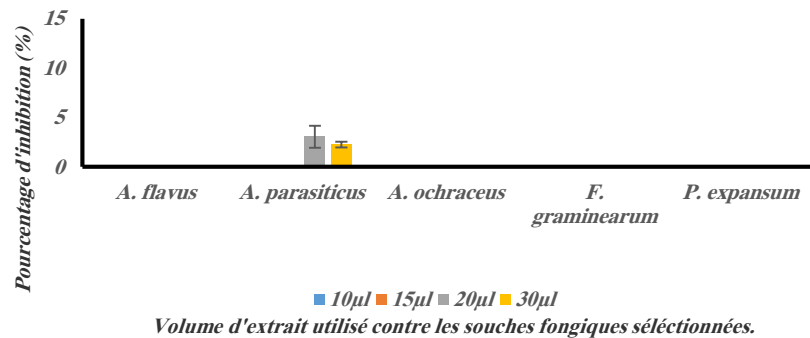
**Figure 09.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>004</sub>.

Selon les résultats affichés sur la figure, l'extrait S<sub>004</sub> a dévoilé une très faible activité antifongique contre toutes les souches fongique sélectionnées et aucune activité n'a été enregistré pour les quatre moisissures à savoir *A. flavus*, *A. parasiticus*, *F. graminearum* et *P. expansum*. *A. ochraceus* a dévoilé une sensibilité très faible à 30µl avec un pourcentage d'inhibition de 2.65%.



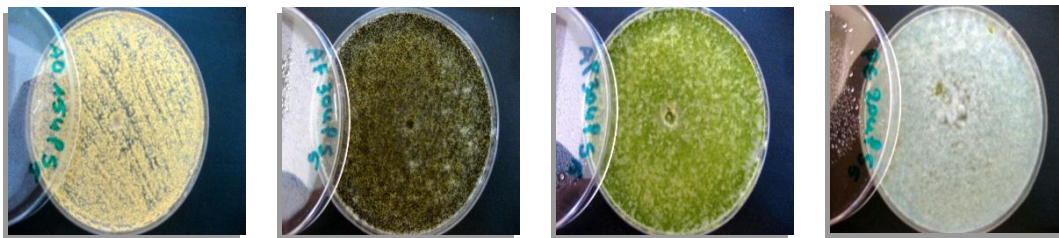
**Photo 06.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>004</sub>.

### 3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S005



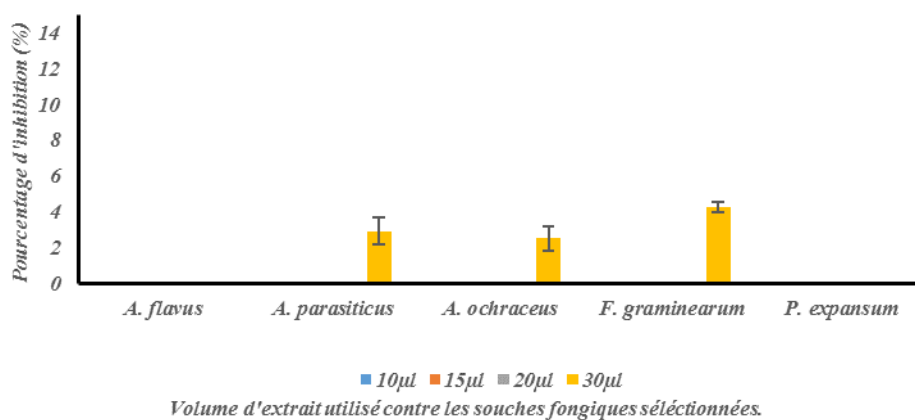
**Figure 10.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S005.

Selon les résultats affichés sur la figure, l'extrait S005 a dévoilé une très faible activité antifongique contre toutes les souches fongique sélectionnées et aucune activité n'a été enregistré pour les quatre moisissures à savoir *A. flavus*, *A. ochraceus*, *F. graminearum* et *P. expansum*. *A. parasiticus* a dévoilé une sensibilité très faible à 30 et 20 µl avec un pourcentage d'inhibition de 2.25 et 3.05% respectivement.



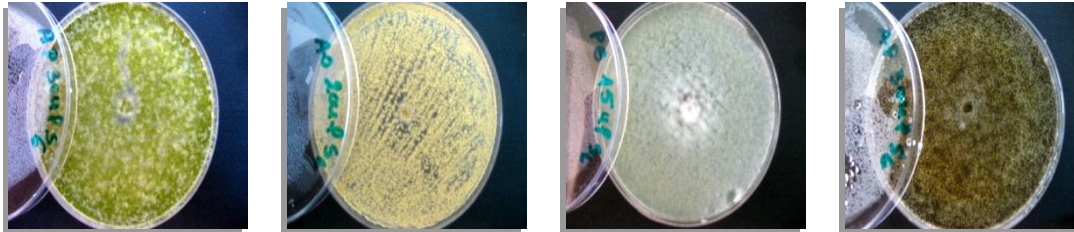
**Photo 07.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S005.

### 3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S006



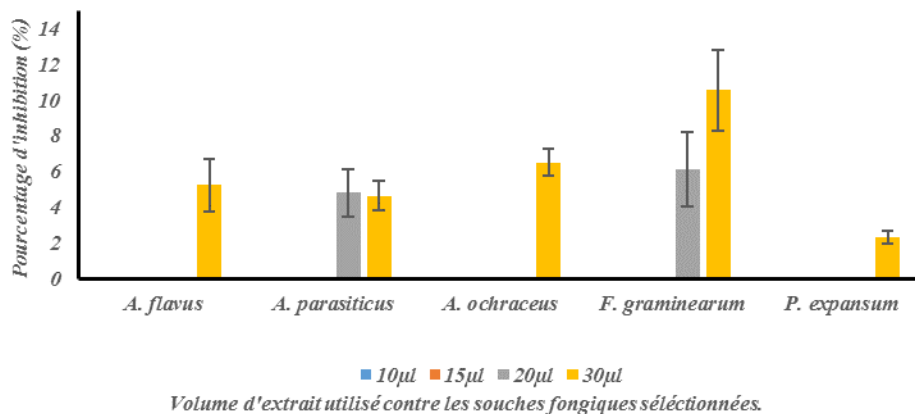
**Figure 11.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S006.

Selon la figure l'extrait S<sub>006</sub> exerce une très faible activité antifongique à 30µl contre *F. graminearum*, *A. ochraceus* et *A. parasiticus* avec des taux d'inhibitions de 4.23, 2.52 et 2.92% respectivement. Un pourcentage d'inhibition nul est enregistré pour les deux moisissures *A. flavus* et *P. expansum*.



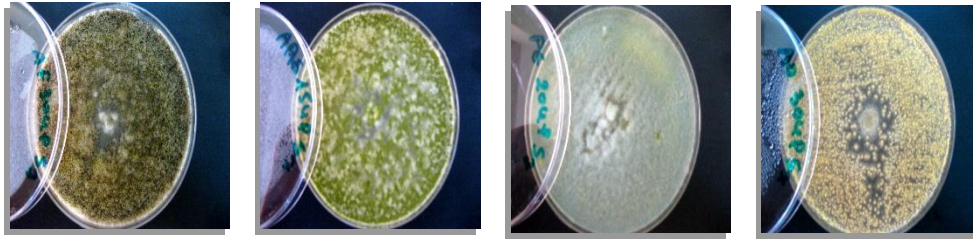
**Photo 08.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>006</sub>.

### 3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>007</sub>



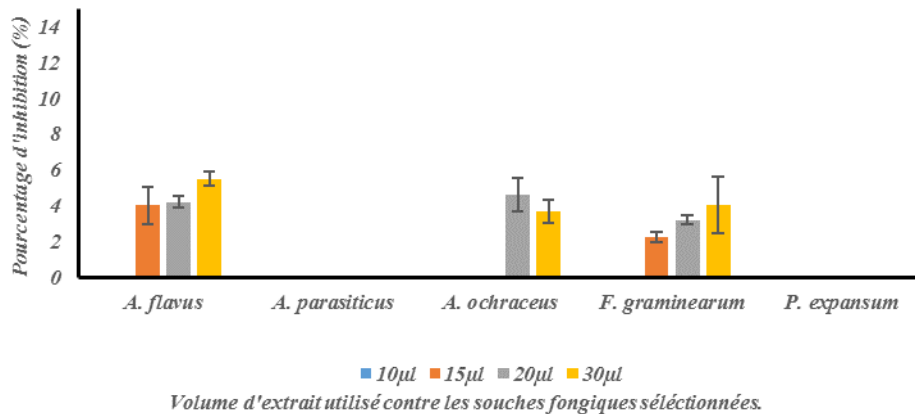
**Figure 12.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>007</sub>.

La figure démontre que toutes les souches fongiques dévoile une sensibilité changeante vis-à-vis 30µl de l'extrait testé, cette sensibilité dépend toujours de la moisissure elle-même et de la concentration de l'extrait. L'extrait S<sub>007</sub> a enregistré une bonne activité antifongique contre *F. graminearum* avec un pourcentage d'inhibition de 10.58% à 30µl ce qui reflète selon le tableau une très bonne activité antifongique, cette activité diminue avec la diminution de la concentration de l'extrait dans le milieu PDA. A 30µl toujours, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus* et *P. expansum* ont dévoilé une activité antifongique moyenne avec des pourcentages d'inhibitions de 5.23, 4.64, 6.52 et 2.30%.



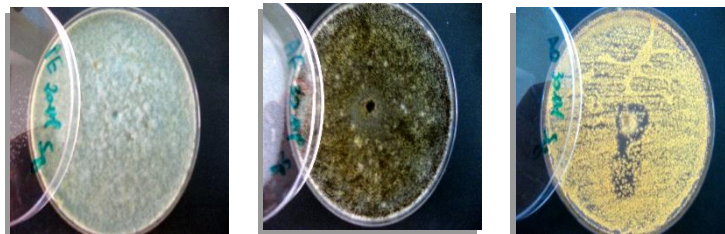
**Photo 09.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>007</sub>.

### 3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>008</sub>



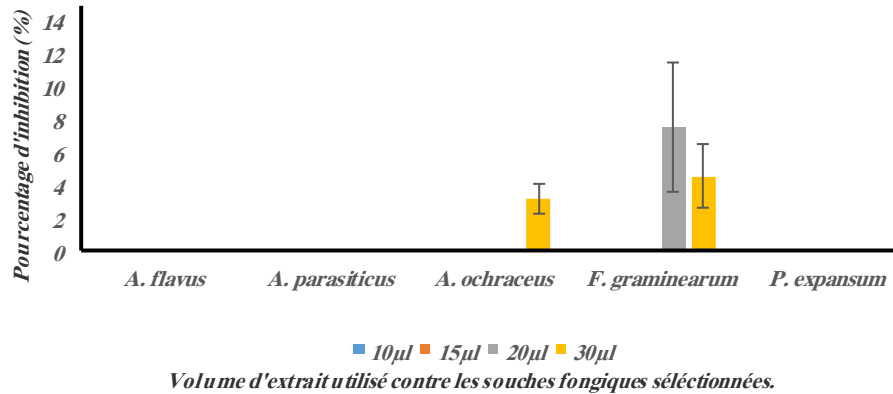
**Figure 13.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>008</sub>.

Suivant les résultats de la figure *A. parasiticus* et *P. expansum* ont dévoilé une résistance importante devant l'extrait testé avec un taux d'inhibition négatif. Les trois moisissures à savoir : *A. flavus*, *F. graminearum* et *A. ochraceus* ont démontré une sensibilité antifongique moyenne avec des taux d'inhibitions moyennement proches correspondant à 5.49, 4.05 et 3.67% respectivement.



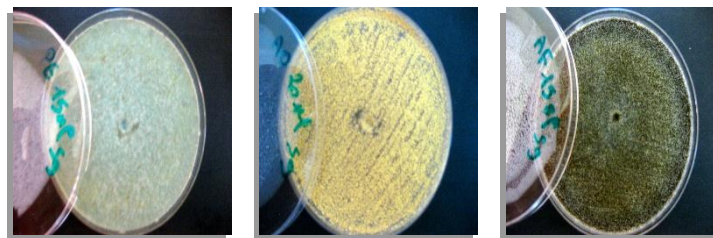
**Photo 10.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>008</sub>.

### 3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>009</sub>



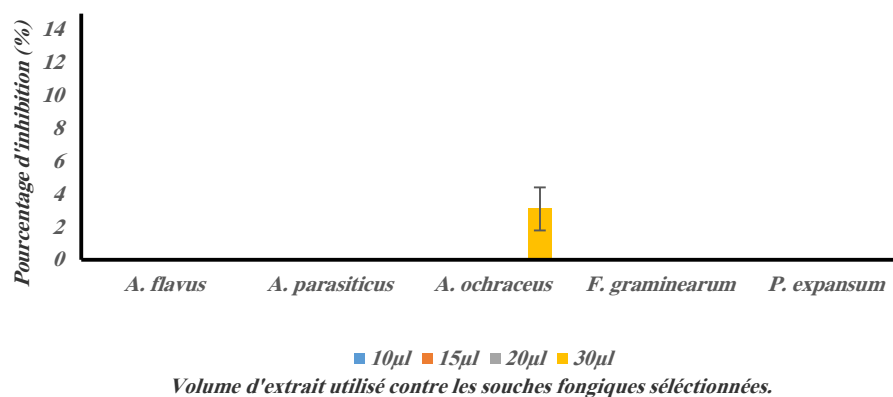
**Figure 14.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>009</sub>.

Selon les résultats affichés sur la figure, l'extrait S<sub>009</sub> a dévoilé une activité antifongique nul contre les trois souches fongiques *A. flavus*, *A. parasiticus* et *P. expansum*. *A. ochraceus* et *F. graminearum* ont dévoilé une sensibilité très faible à 30 µl avec des pourcentages d'inhibitions de 3.17 et 4.56%.



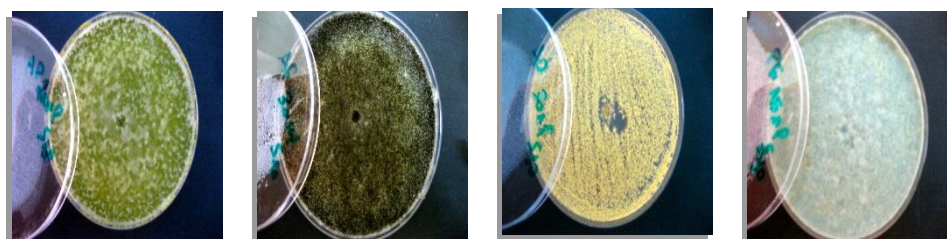
**Photo 11.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>009</sub>.

### 3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>010</sub>



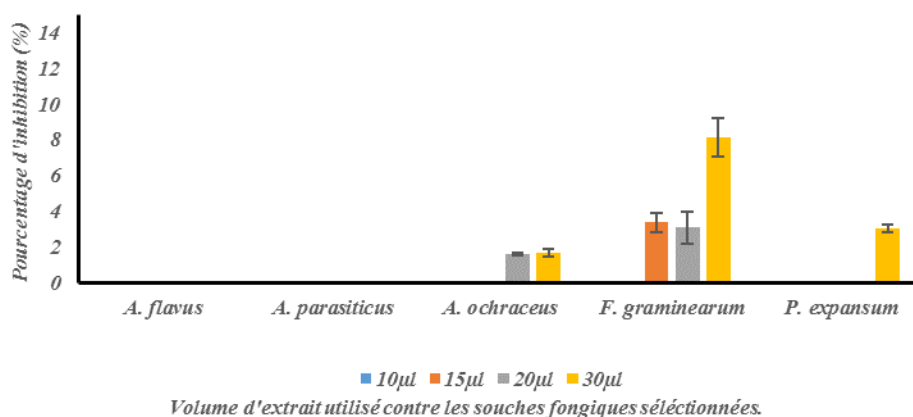
**Figure 15.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>010</sub>.

Selon les résultats affichés sur la figure, l'extrait S<sub>010</sub> a dévoilé une très faible activité antifongique contre toutes les souches fongique sélectionnées et aucune activité n'a été enregistré pour les quatre moisissures à savoir *A. flavus*, *A. parasiticus*, *F. graminearum* et *P. expansum*. *A. ochraceus* a dévoilé une sensibilité très faible à 30µl avec un pourcentage d'inhibition de 3.09%.



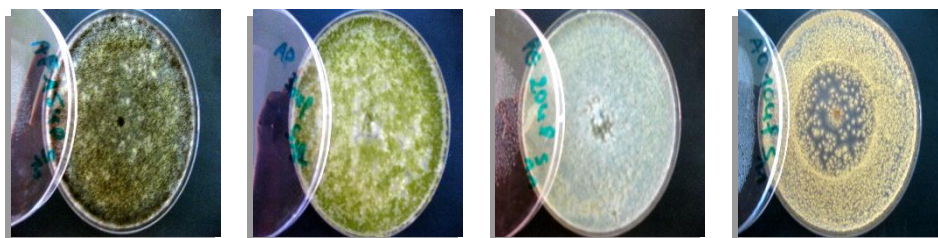
**Photo 12.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>010</sub>.

### 3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>011</sub>



**Figure 16.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>011</sub>.

Suivant les résultats de la figure *A. parasiticus* et *A. flavus* ont dévoilé une résistante importante devant l'extrait testé avec un taux d'inhibition négatif. Une activité antifongique remarquable est enregistrée avec cet extrait contre *F. graminearum* démontrant un taux d'inhibition de 8.14% à 30µl et selon le tableau cette activité est jugé très bonne. Les deux moisissures à savoir : *A. ochraceus* et *P. expansum* ont démontré une sensibilité antifongique moyenne avec des taux d'inhibitions moyennement proches correspondant à 1.67 et 3.07% respectivement.



**Photo13.** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait S<sub>011</sub>.

**Tableau N°08.** Qualité de l'activité antifongique des extraits S.

Concentration d'extrait	Souches fongiques sélectionnées																				
	<i>A. flavus</i>			<i>A. parasiticus</i>			<i>A. ochraceus</i>			<i>F. graminearum</i>			<i>P. expansum</i>								
	10µL	15µL	20µL	30µL	10µL	15µL	20µL	30µL	10µL	15µL	20µL	30µL	10µL	15µL	20µL	30µL					
S 001	% <i>Imb</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,66	2,80	3,96	0	0	1,40	
	<i>Q Imb</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	++	-	-	+	
S 002	% <i>Imb</i>	3,55	3,26	3,12	5,51	0	0	0	4,18	7,70	4,02	8,93	8,54	3,53	2,95	2,57	3,10	2,44	3,86	6,11	6,44
	<i>Q Imb</i>	++	++	++	++	-	-	-	++	++	++	+++	+++	++	+	+	++	+	++	++	++
S 004	% <i>Imb</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,65	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Q Imb</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
S 005	% <i>Imb</i>	0	0	0	0	0	0	3,05	2,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Q Imb</i>	-	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 006	% <i>Imb</i>	0	0	0	0	0	0	2,92	0	0	0	0	2,52	0	0	0	4,23	0	0	0	0
	<i>Q Imb</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	++	-	-	-	-
S 007	% <i>Imb</i>	0	0	0	5,23	0	0	4,81	4,64	0	0	0	6,52	0	0	6,15	10,58	0	0	0	2,30
	<i>Q Imb</i>	-	-	-	++	-	-	++	++	-	-	-	++	-	-	++	+++	-	-	-	+
S 008	% <i>Imb</i>	0	4,02	4,22	5,49	0	0	0	0	0	0	4,65	3,67	0	2,25	3,21	4,05	0	0	0	0
	<i>Q Imb</i>	-	++	++	++	-	-	-	-	-	-	++	++	-	+	++	++	-	-	-	-
S 009	% <i>Imb</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,17	0	0	7,53	4,56	0	0	0	0
	<i>Q Imb</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	++	++	-	-	-	-
S 010	% <i>Imb</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,09	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Q Imb</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-
S 011	% <i>Imb</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,56	1,67	0	3,38	3,10	8,14	0	0	0	3,05
	<i>Q Imb</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	++	++	+++	-	-	-	++

- Absence d'activité, + faible activité ; ++ activité moyenne, +++ bonne activité.

---

## Discussion

Les métabolites secondaires produits par les microorganismes représentent une large source de composés avec des diversités structurales très variables et des milliers d'entre eux sont doués d'une potentielle activité biologique. La capacité à produire de tels produits est limitée à certains groupes de microorganismes en particulier les actinomycètes (**Donadio et al., 2002**). Ces dernières sont à l'origine de 70% des antibiotiques naturels connus dans le monde, principalement celles appartenant au genre *Streptomyces* considéré jusqu'à maintenant le genre le plus important (**da Silva Sousa et al., 2008**). L'activité antagoniste de *Streptomyces* vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires et des enzymes hydrolytiques (**Kumar et al., 2010**). La méthode des puits fournit une idée sur les souches ayant un effet inhibiteur contre les souches fongiques testées.

Parmi les 10 souches actinomycètes isolées de la région de Skhouna, 04 souches montraient une activité antifongique. La sensibilité antifongique des souches fongiques est marqué avec *Streptomyces aureus strain NBRC 100912*, cette dernière à dévoilé une forte activité antifongique (8.93%) contre *A. ochraceus*. Nos résultats confirme aussi que la souche *F. graminearum* a enregistré une sensibilité important (10.58%) avec l'extrait obtenu de *Streptomyces cyslabdanicus strain K04-0144b*.

Les deux souches *Streptomyces cyaneus strain H-112* et *Streptomyces glomeroaurantiacus strain NRRL B-3375* n'ont démontré aucune activité antifogique contre toutes les souches fongiques sélectionnées, à l'expection, une faible et moyenne activité contre *A. ochraceus*. La résistance des souches fongiques suggère que les deux extraits n'ont pas d'effet.

Cette étude a démontré la capacité de *Streptomyces sp.* isolé du sol à produire des substances antifongiques. Le faible pourcentage de l'activité antifongique remarquée, s'accorde avec les travaux de **Hacène et al., 1994**, qui montrent que 11,18 % de l'ensemble des actinomycètes isolés du Sahara algérien ont une activité antifongique faible. Les travaux de **Hilali et al., 2002** montrent également lors d'un criblage initial de 85 souches d'actinomycètes isolés de plusieurs milieux naturels (sol, eaux et sédiments marins) 18 souches seulement ont présenté une activité antifongique contre *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum*.

Il est possible que les exsudats des racines et la composition du sol d'où les échantillons ont été prélevés pourraient favoriser la croissance des *Streptomyces* qui synthétisent ensuite des composés antimicrobiens. De nombreuses espèces d'actinomycètes ont la capacité d'inhiber les champignons pathogènes (**Dahiya et al., 2006**). Bien que le mécanisme précis par lequel les extraits des actinomycètes isolées réduisent la maladie n'a pas été élucidé, la seule possibilité est l'effet inhibiteur des métabolites contenus dans les extraits sur la croissance des hyphes et la structure des champignons (**Zaitlin et al., 2004; Zakalyukina et al., 2007; Loqman et al., 2009**).

Il a été rapporté que les besoins nutritionnels des *Streptomyces* jouent un rôle important au cours de la synthèse des métabolites secondaires (**Dahiya et al., 2006**). Parmi les diverses exigences nutritionnelles, la production de substance antifongique a été connue être influencée par les composantes des milieux de culture tels que l'aération, l'agitation, le pH, la température et la source de carbone, (**Asha Devi et al., 2008; Yu et al., 2008**).

## **Conclusion générale et perspectives**

Au cours des dernières années, les champignons pathogènes sont contrôlés principalement par l'utilisation des fongicides synthétiques chimique ou végétal qui permettent de lutter contre ces organismes nuisibles, bien que leur emploi pourrait faire courir des risques aux consommateurs d'une part, et d'autre part, déstabiliser les écosystèmes.

Les microorganismes sont actuellement considérés comme des agents très prometteurs pour assurer une protection performante. L'usage des antifongiques microbiologiques en font des alternatives viables à la lutte chimique. En effet, plus d'une centaine de bactéries, notamment les actinomycètes, ont été identifiés comme ayant un potentiel d'utilisation dans la lutte biologique.

L'objectif de cette étude a été l'évaluation de l'activité antifongique des métabolismes secondaires produits par des actinomycètes isolés des sols de la région de Skhouna, Commune de Saïda contre des moisissures toxigènes. Les extraits des actinomycètes ont montré une activité inhibitrice, moyenne sur la plupart des souches fongiques. Une activité antifongique importante est enregistrée pour la souche *Streptomyces aureus NBRC 100912* qui s'est révélée la plus efficace et présente une intense activité antifongique sur la totalité des moisissures, ce qui signifie que les souches isolées sont une importante source d'agents antifongiques.

La comparaison des résultats de cette étude avec d'autre travaux permis de dire que ces résultats sont important, afin de lutter contre les moisissures toxigènes et résistantes aux fongicides.

Comme perspectives pour cette étude :

- Identification morphologiques et microscopiques, physiologiques et chimio taxonomiques des souches d'actinomycètes.
- Identification de la nature et de la structure des molécules bioactives par HPLC-MS.
- Etude toxicologique pour déterminer la toxicité des extraits.
- Etude *in vivo* des molécules bioactives contre certaines maladies fongiques humaines.

## Références bibliographiques

### A

1. **Avril, J. L., 1992.** Bactériologie clinique. 2<sup>e</sup> éd. Paris : ellipses. Pp. 511.

2. **Asha Devi NK, Balakrishnan K, Gopal R, Padmavathy S 2008.** *Bacillus clausii* MB9 from the east coast regions of India: Isolation, biochemical characterization and antimicrobial potentials. *Curr. Sci.* 95(5): 5-10.

### B

3. **Badji B. Mostefaoui A., Sabaou N., Lebrihi A., Mathieu F., Seguin E. and Tillequin F. 2007.** Isolation and partial characterization of antimicrobial compounds from a new strain *Nonomurea* sp. NM94. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 34: 403–412.

4. **Barakate M., Ouhdouch Y., Oufdou Kh and Beaulieu C. 2002 :** Characterization of rhizospheric soil streptomycetes from Moroccan habitats and their antimicrobial activities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* Vol : 18. Pp : 49 54.

5. **BELYAGOUBI Larbi. 2014.** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, P 143.

6. **Berdy, J. 2005.** Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot (Tokyo)* 58. Pp : 1-26.

7. **Bonnet E., Flecher X., Paratt S., Argenson J.-N., Raoult D. and Fournier P.-E. 2011.** *Actinomyces meyeri* osteitis following wound contamination with hay in a woman in France : a case report. *J. Medical Case Reports*, 5: 32–35.

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

9. **Bramwell P.A., Wiener P., Akkermans A.D.L. and Wellington E.M.H. 1998.** Phenotypic, genotypic and pathogenic variation among streptomycetes implicated in common scab disease. *Lett. Appl. Microbiol.* 27: 255–260.

10. **Burg RW, Miller BM, Baker EE, Birnbaum J, Currie SA, Hartman R, Kong YL, Monaghan RL, Olson G, Putter I, Tunac JB, Wallick H, Stapley EO, Oiwa R,**

**Omura S.1979.** Avermectins, new family of potent anthelmintic agents : producing organism and fermentation. *Antimicrob Agents Chemother.* **15(3)** :361-7.

**11. Burman N.P., 1973.** The occurrence and significance of actinomycetes .In : *Actinomycetales.Characteristics and paratical importance.* ACADEMIC press (Ed).219-230.

## C

**12. Cascio A., Mandraffino G., Cinquegrani M., Delfino D., Mandraffino R., Romeo O., Criseo G. and Saitta A. 2011.** Actinomadura pelletieri mycetoma—an atypical case with spine and abdominal wall involvement. *J. Med. Microbiol.* 60: 673-676.

**13. CHABASSE, D., 2002.** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, pp. 25-27.

**14. Choulet .F. 2006.** Evolution du génome des Streptomyces : transfert horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré,Nancy 1, pp210 .

## D

**15 .Da Silva Sousa, C., A. C. Fermino Soares et M. da Silva Garrido. 2008.** Characterization of streptomycetes with potential to promote plant growth and biocontrol. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* 65 (1) : 50-55.

**16. Dahiya N, Tewari R, Hoondal GS 2006.** Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 71(6): 773-782. Direction of the protection of the flora and fauna (2002). Atlas of the 26 Algerian wetlands of international importance. Head office of the forests, Algeria.

**17. Dairi .T . 2005.** Studies on Biosynthetic Genes and Enzymes of Isoprenoids Produced by Actinomycetes. *J. Antibio,* 58(4), 227-243.

**18. Demain A.L. and Solomon N.A.1985.** Biology of industrial microorganisms. Edition : The Benjamin/ Commings Publishing Company, London, p. 291–357.

**19. Demain AL, Sanchez S. 2009.** Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot* (Tokyo). **62(1)** :5-16.

**20. Donadio, S., L. Carrano, L. Brandi, S. Serina, A. Soffientiti, E. Raimondi, N. Montanini, M. Sosio et C. O. Gualerzi. 2002.** Targets and assays for discovering novel antibacterial agents. *J. Biotech.* **99**: 175-185.

### E

**21. El-Shatoury. S ; Mitchell.J ; Bahgat.M ; and Dewedar .A .2004.** Biodiversity of Actinomycetes in a Constructed Wetland for Industrial Effluent Treatment .*Actinomycetologica*,18 (1) , 1-7.

**22. ENCARTA ., 1998.** Digital multimedia encyclopedia published by Microsoft Corporation

**23. Euzeby J. 2012.** List of prokaryotic names with standing in nomenclature. Disponible sur les sites :

<http://www.bacterio.cict.fr/m/micromonospora.html>

<http://www.bacterio.cict.fr/a/actinomycetales.html>

### F

**24. Fjaervik E, Zotchev SB. 2005.** Biosynthesis of the polyene macrolide antibiotic nystatin in *Streptomyces noursei*. *Appl Microbiol Biotechnol.* **67(4)**:436-43.

### G

**25. Garrity G.M., Bell J.A. and Lilburn T.G. 2004.** Taxonomic Outline of the Procaryotes, *Bergey's Manual of Systemetic Bacteriology*, Second Edition .Release 5.0, Springer-Verlag, New York. <http://dx.doi.org/10.1007/bergeysoutline200310>.

**26. Goodfellows M., Williams S.T., 1983.** Ecology of Actinomycètes.*Ann.Rev.Microbiol.* **37**, 189-216.

**27. Gomes, RC, Semêdo LTAS, Soares RMA, Alviano CS, Linhares LF and Coelho RR 2000.** Chitinolytic actinomycetes from a Brazilian tropical soil active.

**28. Goyer C., Faucher E. and Beaulieu C. 1996.** *Streptomyces caviscabies* sp. Nov ., from Deep-Pitted Lesions in Potatoes in Qukbec, Canada. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **46(3)** : 635–639.

**29. Grigorova, R., Norris, J.R. (Editors) 1990.** Techniques in microbial ecology. *Methods in Microbiology*, Vol. 22. Academic Press, London, pp. 627.

## H

- 30. Hacene H., and Lefebvre G. 1994:** HM17, a new antifungal antibiotic produced by a strain of *Spirillospora*. *Journal of Applied Bacteriology*, Volume 77, pp : 484–489.
- 31. HARIS, C., 1989.** Introduction to modern microbiology. blackwell scientific publication, pp. 179.
- 32. Hilali L, Khattabi A, Nssarlah N, Malki A, Finance C., 2002.** Isolement des nouvelles souches d'actinomycétales productrices de substances antifongiques à partir du milieu naturel Marocain. *Rev Biol Biotech.* 2:49-53.
- 33. Hoorman, J. J. et R. Islam. 2010.** Understanding soil microbes and nutrient recycling. FACT SHEET. Agriculture and Natural Resources. The Ohio State University, pp.1-5.
- 34. Hu Y.-T., Zhou P.-J., Zhou Y.-G., Liu Z.-H. And Liu S.-J. 2004.** *Saccharothrix xinjiangensis* sp. nov. a pyrene-degrading actinomycete isolated from Tianchi Lake, Xinjiang, China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 2091–2094.

## K

- 35. Kapadia M., Rolston K. and Han X.Y. 2007.** Invasive *Streptomyces* infections : six cases and literature review. *Am. J. Clin. Pathol.* 127: 619–624.
- 36. Kieser T., Bibb M. J., Buttner M. J., Chater K F. et Hopwood D. A. 2000.** Practical *Streptomyces* Genetics. The John Innes Foundation, Norwich, UK : 613.
- 37. Kirst HA. 2010.** The spinosyn family of insecticides : realizing the potential of natural products research. *J Antibiot (Tokyo).* 63(3) :101-11.
- 38. Kumar.A, Bohra.C, Singh.C.K.2003.** Environment pollution and management. India : New delhi-110035(Ed), Pp532-534.
- 39. Kumar, S., Kannabiran, k. 2010.** Antifungal activity of *Streptomyces* VITSVK5 spp. against drug resistant *Aspergillus* clinical isolates from pulmonary tuberculosis patient. Biomolecules and Genetics Division, School of biosciences and Technology, VIT University, Vellore 632014, Tamil Nadu, India.
- 40. Khachatourians . G.G. 1998.** Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *Can.Med.Assoc. (CMAJ)* 159 (9 ), 1129 -1136.

41. **Khattabi A, Hilali L, Dari K, Assobhei O, Gavini F. 2002.** Isolement de microorganismes d'origine marine (Maroc) antagonistes de *Yersinia ruckeri* et *Yersinia pseudotuberculosis*. Rev. Biol. Biotech.;2:28–32.

### L

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

43. **Labeda D.P., Hatano K., Kroppenstedt R.M. and Tamura T. 2001.** Revival of the genus *Lentzea* and proposal for *Lechevalieria* gen. nov. Int. J. Syst. Microbiol. 51: 1045–1050

44. **Lai C.-C., Tan C.-K., Lin S.H., Liao C.-H., Chou C.-H., Hsu H.-L., Huang Y.-T. and Hsueh P.-R. 2009.** Comparative in vitro activities of nemonoxacin, doripenem, tigecycline and 16 other antimicrobials against *Nocardia brasiliensis*, *Nocardia asteroides* and unusual *Nocardia* species. J. Anti. Chemo. 64 :73-78. (a)

45. **Larpent JP, Sanglier JJ. 1989.** In : Biotechnologie des antibiotiques. Paris : Ed. Masson. p.481

46. **Lee S.D., Kim E.S., Roe J.-H., Kim J.-H., Kang S.-O. and Hah Y.C. 2000.** *Saccharothrix violacea* sp. nov. isolated from a gold mine cave, and *Saccharothrix albidocapillata* comb. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 1315–1323.

47. **Lechevalier, H.A., Lechevalier, M.P. 1967.** Biologie of actinomycetes. Ann Rev Microbiol, 21: 71–100.

48. **Lefebvre. T. 2008.** Associations biologiques entre les termites du genre *Nasutitermes* et leur microflore actinomycétale : spécificité et évolution. Thèse doc : Ecole doctorale Science de la Vie et de la Santé : Paris. Pp : 168.

49. **Leger J.A.S.T., Begeman L., Fleetwood M., Frasca J.R.S., Garner M.M., Lair S., Trembley S., Linn M.J. and Terio K.A. 2009.** Comparative pathology of nocardiosis in marine mammals. Vet. Pathol. 46: 299–308.

50. **Le Roes M. and Meyers P.R. 2007.** *Actinomadura rudentiformis* sp. Nov. isolated from soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 57: 45–50.

51. **Lopes A., Coelho R.R, Meirelles M.N.I., Branquinha M.H., and Vermalhi A.B., 1999.** Extracellular serine proteinases isolated from *Streptomyces alboniger*. Partial characterization and effect of aprotinin on cellular structure. Men. Inst. Oswaldo. Cruz, Rio de Janeiro. 94, 763\_770.

**52. Loqman. S. 2009.** La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. Thèse doc : Université De Reims Champagne-Ardenne Ecole Doctorale Sciences Exactes et Biologie. Pp : 253.

## M

**53. Madigan M. T et Martinko J.M. 2007.** Biologie des microorganismes. Pearson Education France, 11e edition : 331-423, 686-718.

**54. Meklat A1, Bouras N2, Zitouni A2, Sabaou N2, Mathieu F3, Schumann P4, Spröer C4, Klenk HP4.2014.** Saccharopolyspora ghardaiensis sp. nov., an extremely halophilic actinomycete isolated from Algerian Saharan soil.

**55. Meklat A1, Bouras N, Zitouni A, Mathieu F, Lebrihi A, Schumann P, Spröer C, Klenk HP, Sabaou N. ,2013.** Actinopolyspora mzabensis sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from an Algerian Saharan soil.

**56. Marcone G.L., Beltrametti F., Binda E., Carrano L., Foulston L., Hesketh A., Bibb M. and Marinelli F. 2010.** Methods for the genetic manipulation of *Nonomuraea* sp. ATCC 39727. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 37(10) : 1097–1103. (a)

**57. Mariat, F., Sebald M. 1990.** Les actinomycètes. Dans : Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.

**58. Mason M.J., Ishizawa K., Silkstone G., Nicholls P. and Wilson M.T. 2001.** Extracellular heme peroxidases in actinomycetes : a case of mistaken identity. Appl. Env. Microbiol. 67(10) : 4512–4519.

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

**60. McNeil M.M. and Brown J.M. 1994.** The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology. Clin. Microbiol. Rev. 7 (3) : 357–417.

## N

**61. Nanjani. S. G & Soni. H. P. 2011.** Isolation and characterization of extremely halotolerant and halophilic organisms from dwarka and veraval. Bioinformatica .Vol: 1. N°: 1. Pp: 1-15.

**62. Nonomura H., Hayakawa M., 1988.** New methods for selective isolation of soil actinomycetes, dans <<biology of actinomycetes>>. Japon Scientific Societies Press. Tokoyo .(Ed).88-100.

## Q

**63. Oren A. 1999 .** Bioenergetic aspects of halophilism. *Microbiol Mol Biol Rev.* Vol: 63. Pp : 334–348.

**64. Oren A. 2006.** Life at high salt concentrations. In: Dworkin M, S Falkow, E Rosenberg, K-H Schleifer and E Stackebrandt ( Eds. ). *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications.* 3rd ed. Springer –Verlag: New York. Saline Systems. Pp: 262-283.

**65. Ottow, J.C.G., Glathe, H. 1968.** Rose Bengal-malt extract-agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Appl Microbiol*, 16(1) : 170–171.

## P

**66. Papagianni M, 2004 .**Fungal morphology and metabolit production in submerged mycelial processes biotechnology *Advances.*Vol 22(3) :189-259.

**67. Park Y.S., momose I., Tsunoda K. and Okabe M, 1994 .**Enhancement of cephamcyn C production using Soybean oil as the sol carbon source.*Appl. Microbial biotechnol.* Vol 40 : 773-779.

**68. Pelmont. J. 2005.** Biodégradations et métabolismes : les bactéries pour les technologies de l'environnement. EDP Sciences : Grenoble. Pp : 798 pages.

**69. Pizzel.L. (2006).** Degradation of Polycyclic Aromatic H ydrocarbons by Actinomycetes .Thèse de Doctorat . Université d'Uppsala ( Suède).pp 39.

**70. Prescott L. M., Harley J.P., Klein .D.A. 2003.** *Microbiologie.* De Boeck & Larcier. France

**71. Pukall R., Lapidus A., Del Rio T.G., Copeland A., Tice H., Cheng J.-F., Lucas S., Chen F., Nolan M., LaButti K., Pati A., Ivanova N., Mavromatis K., Mikhailova N., Pitluck S., Bruce D., Goodwin L., Land M., Hauser L., Chang Y.-J., Jeffries C.D., Chen A., Palaniappan K., Chain P., Rohde M., Göker M., Bristow J., Eisen J.A., Markowitz V., Hugenholtz P., Kyrpides N.C., Klenk H.-P. and Brettin T. 2010.** Complete genome

sequence of *Kribbella flavida* type strain (IFO 14399T). *Standards in Genomic Sciences*, 2: 186–193.

## Q

**72. Quintana E., Maldonado L. and Goodfellow M. 2003.** *Nonomuraea terrinata* sp. nov., a novel soil actinomycetes. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 84: 1–6.

## R

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

**74 . Rastogi. B. V, Kishore. B. 1997.** *A Complete Course in ISC Biology*. Pitambar Publishing: New Delhi. Pp: 592.

**75. Ravel, J., E. M. H. Willington et R. T. Hill. 2000.** Interspecific transfer of *Streptomyces* giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 529–534.

**76. Reponen, T.A., Gizenko, S.V., Grinshpun, S.A., Willeke, K., Cole, E.C. 1998.** Characteristics of Airborne Actinomycete Spores. *Appl Environ Microbiol*, 64 (10) : 3807–3812.

**77. Rivas R., Sanchez M., Trujillo M.E., Zurdo-Pineiro J.L., Mateos P.F., Martinez-Molina E. and Valazquez E. 2003.** *Xylanimonas cellulosityca* gen. nov. sp. nov. à xylanolytic bacterium isolated from a decayed tree (*Ulmus nigra*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53: 99–103.

**78. Rose III C.E., Brown J.M. and Fisher J.F. 2008.** Brain abscess caused by *Streptomyces* infection following penetration trauma : case report and results of susceptibility analysis of 92 isolates of *Streptomyces* species submitted to the CDC from 2000 to 2004. *J. Clin. Microbiol.* 46(2): 821–823.

## S

**79. Saker R1, Bouras N2, Meklat A3, Zitouni A1, Schumann P4, Spröer C4, Sabaou N5, Klenk HP6., Author information;2015.** *Prauserella isguenensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from desert soil.

- 80. Salehghamari, E., Soleimani, M., Tafacori, V. 2015** Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from soils of Alborz province, Iran. *Prog. Biol. Sci.*, **5**, 159-167
- 81. Singh. S.L ; Baruah. I ; and Bora. T.C. 2006.** Actinomycetes of Lake Loktat Habitat : Isolation and screening for Antimicrobial Activities. *Biotechnol.*, **5** (2), 217- 221.
- 82. Smith SE, Read DJ 1997.** Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London, etc.
- 83. Shrivastava, S., S. F. D'Souza et P. D. Desai. 2008.** Production of indole-3-acetic acid by immobilized actinomycete (*Kitasatospora* sp.) for soil applications. *Current Sci.* **94** (25): 1595-1604.
- 84. Shukla . G. 2010.** Soil Enzymology. Springer : Berlin. Pp : 384.
- 85. Sobell HM. 1985.** Actinomycin and DNA transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **82(16)** :5328-31
- 86. Soderberg KH, Baath E 1998.** Bacterial activity along a young barley root measured by the thymidine and leucine incorporation techniques. *Soil Biology and Biochemistry*, **30**(10-11) : 1259–1268.
- 87. Stackebrandt E. Rainey F.A. endWard-Rainey N.L., 1997.** Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **47** 479-491.
- 88. Sullivan D.C. and Chapman S.W. 2010.** Bacteria that masquerade as fungi: actinomycosis and nocardiosis. *Proc. Am. Thorac. Soc.* **7**: 216–221.

### T

- 89. Takizawa M., Colwell R.R., Hill R.T. , 1993.** Isolation and diversity of Actinomycetes in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology* ,997-1002.

### V

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

### W

- 91. Wang L; Huang. Y; Liu. Z; Goodfellow. M & Rodriguez. C. 2006.** *Sreptacidiphilus oryzae* sp. Nov. an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. *In. J. Sys. Ev. Microbiol.* Vol 56. Pp: 1257-1261.

**X**

**92. Xu Z., Xu Q., Zheng Z. and Huang Y. 2012.** *Kribbella amoyensis* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of a pharmaceutical plant, *Typhonium giganteum* Engl. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62: 1081–1085.

**Y**

**93. Yassin A.F., Spröer C., Siering C. and Klenk H.-P. 2010.** *Actinomadura sputi* sp. Nov. isolated from the sputum of a patient with pulmonary infection. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 149–153.

**94. Yu J, Liu Q, Liu X, Sun Q, Yan J, Qi X, Fan S 2008.** Effect of liquid culture requirements on antifungal antibiotic production by *Streptomyces rimosus* MY02. *Bioresour. Technol.* 99: 2087-2091.

**Z**

**95. Zaitlin B, Turkington K, Parkinson D, Clayton G 2004.** Effects of tillage and inorganic fertilizers on culturable soil actinomycete communities and inhibition of fungi by specific actinomycetes. *Appl. Soil Ecol.*26(1): 53-62.

**96. Zaitlin .B ; and Watson .S. B 2006.** Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking Water : Myths , tenets and truths . 40 (9) , 1741-1753.

**97. Zakalyukina YV, Zenova GM 2007.** Antagonistic Activity of Soil Acidophilic Actinomycetes. *Biol. Bull.* 34: 329-332.

**98. Zvyagintsev. D. G; Zenova. G. M; Sudnizin. I. I; Doroshenko. E. A. 2005.** The Ability of Soil Actinomycetes to Develop at an Extremely Low Humidity. Vol : 405. Pp 461-463.

---

## Composition des milieux de culture

### **Starch Casein Agar (S.C.A) :**

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 dextrosée à la pomme de terre (PDA) :**

Pomme de terre	200 g
Dextrose	15.0 g
Agar - agar	20.0 g
Eau distillée	1 000 ml

### **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

## Évaluation de l'activité antifongique de quelques souches bactériennes du genre *Streptomyces* isolées de la région de Skhouna, Commune de Saida.

Les actinomycètes sont des bactéries responsables de la production de la plupart des molécules bioactives, elles présentent un intérêt très important pour la lutte contre les mycètes et les bactéries pathogènes, elles sont surtout réputées pour leur grande capacité à produire naturellement des antibiotiques, avec des possibilités à produire des métabolites bioactives unique contre chaque souche. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antifongique de quelques souches d'Actinobactéries isolées de la région de Skhouna, Commune de Saida contre cinq moisissures réputées toxigènes. Les métabolites secondaires des Actinobactéries, antérieurement identifiées par ARNr 16S, sont obtenus après cultures de ces derniers sur milieu 5294. L'activité antifongique est exprimé en pourcentage après calcul des zones d'inhibitions sur milieu PDA. Les résultats obtenus durant cette étude ont démontré que les extraits obtenus possèdent une activité antifongique moyenne sur la plupart des moisissures. *Streptomyces aureus* NBRC 100912 a présenté sa capacité à exercer un pouvoir antifongique sur la totalité des moisissures. *Streptomyces cyaneus* H-112 et *Streptomyces glomeroaurantiacus* NRRL B-3375 n'ont pas enregistré d'activité antifongique contre toutes les moisissures sauf *Aspergillus ochraceus* qui a dévoilé une sensibilité très faible à 30µl. A la lumière des résultats intéressantes obtenus, cette étude doit être complétée par une HPLC-MS afin d'identifier les substances bioactives responsables de cette activité antifongique.

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

### Abstract

#### Evaluation of the antifungal activity of some streptomyces bacterial strains isolated from the Skhouna region, commune of Saida

Actinomycetes are bacteria responsible for the production of most bioactive molecules, they are of great interest for the control of pathogenic fungi and bacteria, they are especially known for their great ability to produce antibiotics naturally, to produce unique bioactive metabolites against each strain. The objective of this study is to evaluate the antifungal activity of some strains of Actinobacteria isolated from the region of Skhouna, commune of Saida against five molds known as toxinogenes. The secondary metabolites of Actinobacteria, previously identified by 16S rRNA, are obtained after culturing the latter on medium 5294. The antifungal activity is expressed in percentage after calculating zones of inhibitions on PDA medium. The results obtained during this study demonstrated that the extracts obtained have an average antifungal activity on most molds. *Streptomyces aureus* NBRC 100912 demonstrated its ability to exert antifungal power over all molds. *Streptomyces cyaneus* H-112 and *Streptomyces glomeroaurantiacus* NRRL B-3375 showed no antifungal activity against all fungi except *Aspergillus ochraceus*, which revealed a very low sensitivity at 30 µl. In the light of the interesting results obtained, this study must be supplemented by HPLC-MS in order to identify the bioactive substances responsible for this antifungal activity.

**Key words:** actinomycetes, secondary metabolite, antifungal activity ,Streptomyces.

### ملخص

تقييم النشاط المضاد للفطريات لبعض السلالات البكتيرية من جنس ستربتومييس معزولة من منطقة سخونة بلدية سعيدة الأكتينوميستات هي البكتيريا المسؤولة عن إنتاج معظم الجزيئات النشطة بيولوجيا، لديهم القدرة على مكافحة الفطريات والبكتيريا المسببة للأمراض، ومن المعروف خصوصا أنها لديها قدرة كبيرة على إنتاج طبيعي للمضادات الحيوية، مع إمكانية لإنتاج نواتج الأيض الحيوية النشطة الفريدة ضد كل سلالة. والهدف من هذه الدراسة هو تقييم نشاط مضاد للفطريات لبعض سلالات الأكتينوبكتيريا معزولة من منطقة سخونة، بلدية سعيدة ضد خمسة فطريات مسببة للأمراض. النواتج الأيضية الثانوية للأكتينوبكتيريا التي سبق تحديدها من قبل الحمض 16S النووي الريبوزي تم الحصول عليها بعد زرع هذا الأخير في وسط 5294 النشاط ضد الفطريات حدد بنسب مئوية بعد حساب مناطق التثبيط في وسط. أن المستخلصات المتحصل PDA أظهرت النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة عليها تمتلك نشاطا متوسطا على معظم الفطريات السلالة من نوع *Streptomyces aureus* NBRC 100912 أظهرت قدرتها في مكافحة على جميع الفطريات المختبرة. الذي سجل حساسية *Streptomyces cyaneus* H-112 و *Streptomyces glomeroaurantiacus* NRRL B-3375 لم تكن سجلت أي نشاط ضد جميع الفطريات الا *Aspergillus ochraceus*. أضعيفة عند تركيز 30µل. على ضوء النتائج المحصل عليها، يجب أن تكتمل هذه الدراسة بواسطة HPLC-MS لتحديد المواد النشطة بيولوجيا المسؤولة عن هذا النشاط المضاد للفطريات

**الكلمات المفتاحية:** الأكتينوميستات، النواتج الأيضية الثانوية، النشاط المضاد للفطريات , سترمتومييس.