

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي 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 appliquée***

### **THEME**

---

Évaluation des activités antioxydante et antifongique des métabolites secondaires bruts extraits de quelques bactéries du genre *Streptomyces* isolées des sources thermales de la région de hammam rabi wilaya de saïda.

---

**Présenté par :**

BEN MAIZA FATNA AFFAF

GUEDOUAR BOUCHRA

**Devant le jury :**

**Président(e) :** Krantar Kamel

Université Amar Telidji-Laghouat

**Rapporteur :** Gacem Mohammed Amine

Université Amar Telidji-Laghouat

**Co-Rapporteur :** Boudjemaa Badreddine

Université Amar Telidji-Laghouat

**Examineur :** Zerouki Hocine

Université Amar Telidji-Laghouat

**Soutenu publiquement le 13 /06/2019.**

## *Remerciements*

*Nous tenons d'abord à remercier Dieu tout puissant qui nous a donné  
La force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons en premier lieu à exprimer nos sincères remerciements à  
notre encadreur Mr Gacem Mohammed Amine pour avoir dirigé ce  
travail, pour son aide, ses précieux conseils, sa compréhension et son  
soutien moral lors de la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent à Mr Krantar Kamel d'avoir accepté  
de présider le jury et Mr Zerrouki Hocine pour avoir acceptée  
d'examiner notre travail.  
sans oublier Mr Boudjema Bader eddin, pour son aide.*

*Ainsi nous adressons nos sincères remerciements à tous les enseignants  
du département de biologie de l'Université de Laghouat pour tous ceux  
qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire d'une manière directe  
ou indirecte.*

*Enfin nous remercions nos familles : nos parents pour leurs soutiens  
sans faille, parfois inquiets mais toujours compréhensifs, tout au long  
de ces années.*

*Nous remercions l'ensemble du personnel du laboratoire pour nous  
avoir permis d'effectuer les différents tests et analyses et pour avoir  
mis à notre disposition le matériel et les moyens nécessaires à la  
réalisation de notre travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à  
la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me  
combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue  
vie.*

*Mes frères et soeurs qui n'ont cessé d'être pour moi  
des exemples de persévérance, de courage et de  
générosité.*

*A toute ma famille Guedouar et Belkaïbate*

*A mon binôme AFFAF*

*À mes amis et mes collègues.*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin  
pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : Linani Salima , Et A  
MON TRÈS CHER PÈRE : Benmaïza Ali qui m'ont  
soutenue et encouragée tout au long de ma vie*

*A mon mari Cherif qui a toujours cru en moi*

*A ma sœur Ikram , et mes Frères Hamza , Abdallah  
, Omar , Djilali et Mohammed .*

*A ma Belle-famille Bensalah je cite en particulier  
Mes belles sœurs Amira , Aïcha Et Fatima . A mon  
cher binôme Bouchra.*

*À mes amis et mes collègues.*

*A toute personne qui a contribué de près ou de loï a  
la réalisation de ce travail de recherche .*

## Sommaire

<b>Remerciements</b>
<b>Dédicaces</b>
<b>Liste des abréviations</b>
<b>Liste des figures</b>
<b>Liste des photos</b>
<b>Liste des tableaux</b>
<b>Résumé</b>
<b>Abstract</b>
<b>ملخص</b>
<b>Introduction</b>

<b>PREMIERE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>04</b>
<b>I. Génitalité sur les Actinobactéries</b>	<b>06</b>
I.1 Définition des Actinobactéries	<b>06</b>
I.2 Caractères généraux	<b>08</b>
I.3 Cycle de développement des Actinobactéries	<b>09</b>
I.4 Ecologie et distribution des Actinobactéries dans la nature	<b>10</b>
I.5 Taxonomie	<b>12</b>
I.6 Importance des Actinobactéries	<b>12</b>
I. 6.1 Dans le domaine agronomique	<b>12</b>
I.7 Rôle des Actinobactéries dans l'environnement et la bioremediation	<b>13</b>
I.8 Production des métabolites secondaires	<b>13</b>
I.9 Applications biotechnologiques des Actinobactéries	<b>13</b>
I.9.1 Antibiotiques	<b>14</b>
I.9.2 Nouveaux métabolites	<b>15</b>
I.9.3 Mélanines	<b>15</b>
I.9.4 Enzymes	<b>16</b>
I.9.5 Vitamine	<b>17</b>
I.9.6 Inhibiteurs enzymatiques	<b>17</b>
I.9.7 Bioherbicides	<b>18</b>
I.9.8 Probiotiques	<b>18</b>
I.9.9 Biosurfactants	<b>18</b>
<b>II. Le genre <i>Streptomyces</i></b>	<b>18</b>
II.1 Définition et caractéristiques principales	<b>18</b>
II.2 Cycle de développement	<b>19</b>
II.3 Production de biomolécules d'intérêt thérapeutique et biotechnologie	<b>20</b>
<b>III. Les molécules antioxydantes</b>	<b>21</b>

<b>PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE</b>	<b>22</b>
<b>I. Matériel et méthodes</b>	<b>23</b>
I.1 Prélèvement des échantillons	24
I.1.2 Traitement des échantillons	24
I.1.3 Préparation des sols pour isolement des actinomycètes	24
I.1.4 Isolement et purification des actinomycètes	25
I.1.5 Purification et conservation des actinomycètes	25
I.2 Screening de l'activité antifongique	26
I.2.1 Choix des souches fongiques	26
I.2.2 Préparation et extraction des métabolites secondaire	27
a. Extraction des métabolites secondaires	27
I. 2.3.Evaluation du pouvoir antifongique des actinomycètes par la méthode des puis	27
I.3. Mesure de l'activité antioxydante	29
I.3.1. Mesure de l'activité antioxydant par DPPH	29
I.3.2. Mesure de l'activité antioxydant par ABTS	29
<b>II. Résultats et discussion</b>	<b>31</b>
II.1. Isolement, purification et identification des Actinobactéries	32
II.2. Diversité des souches d'Actinobactéries isolée	33
II.3. L'activité antifongique	34
II.3.1. Résultats de l'activité antifongiques	34
II.4. L'activité antioxydant	34
II.4.1. Résultats de l'activité antioxydant	39
<b>II.5 Discussion</b>	<b>39</b>
Conclusion et perspectives	41
Références bibliographiques	
Annexes	

## Liste des abréviations.

<b>ADN.</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ARNr.</b>	Acide ribonucléique ribosomique
<b>DO.</b>	Densité Optique
<b>rpm.</b>	Tour par minute
<b>DPPH.</b>	2,2-diphényl- 1 –picrylhydrazyl
<b>ABTS.</b>	sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
<b>GYM.</b>	Glucose -Levure –Malt
<b>CSA.</b>	Starch Casein Agar
<b>Milieu PDA</b>	Milieu Potatoes Dextrose Agar
<b>RL.</b>	Les radicaux libres
<b>RPM.</b>	Rupture prématurée des membranes
<b>%GC.</b>	Coefficient de Chargaff

## Liste des figures.

	<b>Page</b>
<b>Figure 01</b> : Apparition d'isolats d'actinobactéria.	<b>07</b>
<b>Figure 02</b> : Différents sporanges d'actinomycètes.	<b>08</b>
<b>Figure 03</b> : cycle de vie des actinobactéries.	<b>09</b>
<b>Figure 04</b> : Cycle biologique du genre <i>Streptomyces</i> .	<b>20</b>
<b>Figure05</b> : Site de prélèvement du sol de la forêt de la ville de Saïda(34.932974, 0.178802).	<b>23</b>
<b>Figure 06</b> : Isolement et purification des actinomycètes.	<b>24</b>
<b>Figure 07</b> : Extraction des métabolites secondaires	<b>26</b>
<b>Figure 08</b> : Screening de l'activité antifongique.	<b>27</b>
<b>Figure 09</b> : Mesure de l'activité antioxydant par DPPH.	<b>30</b>
<b>Figure 10</b> : Mesure de l'activité antioxydant par ABTS.	<b>31</b>
<b>Figure 11</b> : Résultat de l'activité antifongique de l'extrait <b>F2</b>	<b>34</b>
<b>Figure 12</b> : Résultat de l'activité antifongique de l'extrait <b>Fx</b> .	<b>35</b>
<b>Figure 13</b> : Résultat de l'activité antifongique de l'extrait <b>M4</b> .	<b>35</b>
<b>Figure 14</b> : Résultat de l'activité antifongique de l'extrait <b>M5</b> .	<b>36</b>
<b>Figure 15</b> : Résultats de l'activité antioxydant des métabolites secondaire obtenus des souches <b>F2 FX M4 M5</b> contre le radicale ABTS	<b>37</b>
<b>Figure 16</b> : Résultats de l'activité antioxydant des métabolites secondaire obtenus des souches <b>F2 FX M4 M5</b> contre le radicale_DPPH	<b>38</b>

## Liste des photos.

	<b>Page</b>
<b>Photo 01</b> : Les souches des Actinomycètes isolé à partir du sol(Saida).	<b>31</b>
<b>Photo 02</b> : Aspect des colonies d'Actinobactéries après purification sur milieu CSA	<b>32</b>
<b>Photo 03</b> : Résultat de l'activité antifongique de la souche F2, FX , M4, M5 contre les souches fongiques sélectionnées.	<b>33</b>

# Liste des tableaux

	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b> : Habitats de certains Actinomycètes.	<b>10</b>
<b>Tableau 02</b> : Classes, ordres et familles du phylum des Actinobactéries .	<b>11</b>
<b>Tableau 03</b> : Les principaux antibiotiques produits par les Actinobactéries	
<b>14</b>	
<b>Tableau 04</b> : Nouveau composé des métabolites secondaires isolés des actinomycètes.	<b>15</b>
<b>Tableau 05</b> : Les principaux enzymes produits par les Actinobactéries.	<b>16</b>
<b>Tableau 06</b> : Exemples de molécules antioxydantes produites par des quelques espèces d'actinobactéries.	<b>21</b>
<b>Tableau 07</b> : Souches fongiques utilisées pour tester l'activité biologique des extraits.	<b>25</b>

## Résumé :

### **Évaluation des activités antioxydante et antifongique des métabolites secondaires bruts extraits de quelques bactéries du genre *Streptomyces* isolées des sources thermales de la région de hammam rabi wilaya de saida.**

Au cours de notre travail nous nous sommes intéressés à la recherche des souches productrices de molécules bioactives à partir des échantillons du sol de la région de Saida, les prélèvements du sol ont été suivis par des isolements sélectifs des Actinomycètes. Neuf souches ont été isolées et seulement quatre d'entre elles ont été identifiées génétiquement par séquençage d'ADNr 16S. Les résultats obtenus montrent que l'extrait F2 possède une bonne activité antifongique à la concentration 40µl contre *Aspergillus parasiticus* 25,01% et une activité moyenne contre *Aspergillus ochraceus* 12,56 % , par contre l'extrait FX avec la même concentration a démontré une activité antifongique contre toutes les souches fongiques testées *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* et *Fusarium graminearum*, avec les pourcentages d'inhibitions respectives 18,54%,12,51% et 14,18%. Cependant les souches *Aspergillus ochraceus* et *Fusarium graminearum* ont montrées une grande résistance à l'extrait M4 et M5. Les résultats du test d'activité antioxydante ont indiqués que tous les extraits des souches du genre *Streptomyces* sont dotés d'une bonne activité antioxydante vis-à-vis de la DPPH et l'ABTS où la concentration 100 µl de l'extrait F2 a enregistré les pourcentages d'inhibitions suivants 98,07% et 59,21% avec l'ABTS et la DPPH respectivement.

**Les mots clés :** Actinomycète , *Streptomyces*, Activité antifongique, Activité antioxydante, DPPH, ABTS

## Abstract

### **Evaluation of the antioxidant and antifungal activities of crude secondary metabolites extracted from some *Streptomyces* bacteria isolated from the thermal springs of the hamam rabi area (wilaya of Saida).**

In the course of our work, we were interested in finding strains producing bioactive molecules from soil samples from the Saida region, soil samples were followed by selective isolations of Actinomycetes. Nine strains were isolated and only four of them were genetically identified by 16Sr DNA sequencing method. The results obtained show that the F2 extract has a good antifungal activity at a concentration of 40 µl against *Aspergillus parasiticus* 25.01% and a mean activity against *Aspergillus ochraceus* 12.56%, whereas the FX extract with the same concentration showed a antifungal activity against all fungal strains tested *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* and *Fusarium graminearum*, with the percentages of respective inhibitions 18.54%, 12.51% and 14.18%. However *Aspergillus ochraceus* and *Fusarium graminearum* showed a high resistance to extract M4 and M5. The results of the antioxidant activity test indicated that all the extracts of strains of the genus *Streptomyces* are endowed with a good antioxidant activity with regard to DPPH and ABTS where the concentration 100 µl of the extract F2 has the following inhibition percentages 98.07% and 59.21% were recorded with ABTS and DPPH, respectively.

**Key words:** Actinomycète, *Streptomyces*, Antifungal activity, Antioxidant activity, DPPH, ABTS.

## ملخص :

تقييم النشاطات المضادة للاكسدة والفطريات في المستقلبات الثانوية الخام المستخرجة من بعض البكتيريا *Streptomyce* المعزولة من الينابيع الحارة في منطقة حمام ربي بولاية سعيدة.

خلال عملنا كنا مهتمين بالبحث عن سلالات تنتج الجزيئات النشطة البيولوجيا من عينات التربة من منطقة سعيدة . وتم عزل تسعة سلالات من جنس أكتينومييسات أربعة فقط منهم تم تحديد تصنيفهم وراثيا عن طريق الحمض النووي الريبي S 16 أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص F2 له نشاط مضاد للفطريات جيد بتركيز 40 µl وذلك بالنسب التالية P 25,01% و *Aspergillus parasiticus* و 12,56% *Aspergillus ochraceus* بينما أظهر مستخلص FX بنفس التركيز نشاط مضاد ضد جميع الفطريات المختبرة , *Aspergillus ochraceus* , *Aspergillus parasiticus* , *Fusarium graminearum* G مع النسب التثبيط التالية 18,54% على التوالي ومع ذلك أظهرت السلالات *Aspergillus ochraceus* و *Fusarium graminearum* مقاومة عالية لمستخلصات M4 و M5 كما أن النتائج النتائج قد أظهرت نشاطا مضادا للاكسدة لجميع المستخلصات سلالات *Streptomyce* حيث أظهرت تركيز 100 µl من المستخلص F2 بنسب تثبيط تتراوح من 59,21% ضد ( DPPH ) و 98,07% ضد ( ABTS )

الكلمات المفتاحية: أكتينومييسات ، *Streptomyce* ، النشاط المضاد للفطريات ، النشاط المضاد للاكسدة ، المستقلبات الثانوية ، DPPH , ABTS

# *Introduction*

## Introduction

Depuis des milliers d'années, les êtres humains utilisent des microorganismes (bactéries, levures et moisissures) pour fabriquer des produits comme le pain, la bière, le fromage, etc.

Ces microorganismes, omniprésents dans notre environnement et dans certains aliments que nous consommons ne cessent d'occuper une place importante dans notre vie et sont actuellement à l'origine de l'essor du domaine de la biotechnologie (**Smaoui , 2010**). Parmi les microorganismes présentant un intérêt biotechnologique, les actinomycètes ou bien les actinobactéries . (**Harir M , 2018**).

Ce sont considérées comme des sources potentielles de composés bioactifs, et le travail effectué plus tôt démontra que ces microbes sont les sources les plus riches de métabolites secondaires. Ils occupent une place prépondérante comme objectifs dans les programmes de dépistage en raison de leur diversité et de leur capacité prouvée à produire de nouveaux métabolites et d'autres molécules d'importance pharmaceutique (**Ellaiah et al., 2004**).

les Actinobactéries produisaient de nombreux composés antimicrobiens et agents anti-tumoraux bioactifs, en plus, des enzymes d'intérêt industriel (**Tanaka et Omura, 1990**). Environ deux tiers des milliers d'antibiotiques naturels ont été isolés de ces organismes (**Takizawa et al., 1993**). Parmi eux, beaucoup ont été obtenus auprès de *Streptomyces* (**Goodfellow et O'Donnell, 1994**), et ces produits naturels sont une source extraordinaire pour le développement de nouveaux médicaments (**Sivakumar et al., 2007**).

Les Actinobactéries représentent une source biologique utile d'antimicrobiens contre les mycètes et les bactéries pathogènes. Ils sont surtout réputés pour leur grande capacité à produire naturellement des antibiotiques : environ 70% des molécules actives d'origine microbienne (**Okami et Hotta, 1988**), avec des possibilités génétiquement intéressantes pour la production de 10 à 20 métabolites pour chaque souche (**Islam et al., 2009**). Les bactéries du genre *Streptomyces* est celui qui prédomine le plus au sein des actinobactérie. En effet, environ 80% des antibiotiques d'origine actinomycétale sont produits par les espèces de ce genre (**Demain, 2006; Jose et al., 2011**).

Dans cette étude, nous évaluons l'activité antifongique et antioxydant des métabolites secondaires produits par quelques souches d'actinobactéries isolées des sols des sources thermales de la région de hammam Rabi wilaya de Saida. Pour se faire, une synthèse

bibliographique représentant la première partie de notre travail est établie, dans laquelle, nous évaluons l'état actuel de la recherche sur la biologie et biotechnologie et les notions de base concernant l'abondance, la diversité, la distribution, et l'importance des actinobactéries.

Dans la partie expérimentale, Représente la seconde partie de notre travail, la méthodologie est représentée par les techniques utilisées pour la réalisation de cette étude. Cette partie est accomplie par les résultats obtenus et interprétation et leurs discussions. L'étude est achevée par une conclusion générale et des perspectives.

*Première partie :*  
*Etude bibliographique.*

## *Généralité sur les actinobactéries*

## I. Généralité sur les Actinobactéries

### I.1. Définition des Actinobactéries

Les actinobactéries sont des bactéries à Gram positif à forte teneur en ADN en G + C qui constituent l'un des plus grands phylum bactérien (**williams et al., 1993**) . Les actinomycètes constituent l'ordre des actinomycétales. Ce sont des bactéries filamenteuses, septées, ramifiées, prenant généralement le Gram ; le mot «Actinomycètes» provient de deux substantifs grecs « Actino » et « Mycète » et signifie «champignons à rayon» ou «champignons rayonnants», expression utilisée pour désigner en anglais (Ray fungi) et aussi en allemand et en russe (**James et al., 2006**) . Les actinobactéries présentent une grande variété de morphologies, allant des coccoïdes (*Micrococcus*) aux bâtonnets coccoïdes (p. Ex. *Arthrobacter*) aux formes hyphales fragmentées (p. Ex. *Nocardia* spp.) , En passant par le mycélium ramifié permanent (p. Ex. *Streptomyces* spp.) (**Ventura et al., 2007**) .

### I.2. Caractères généraux :

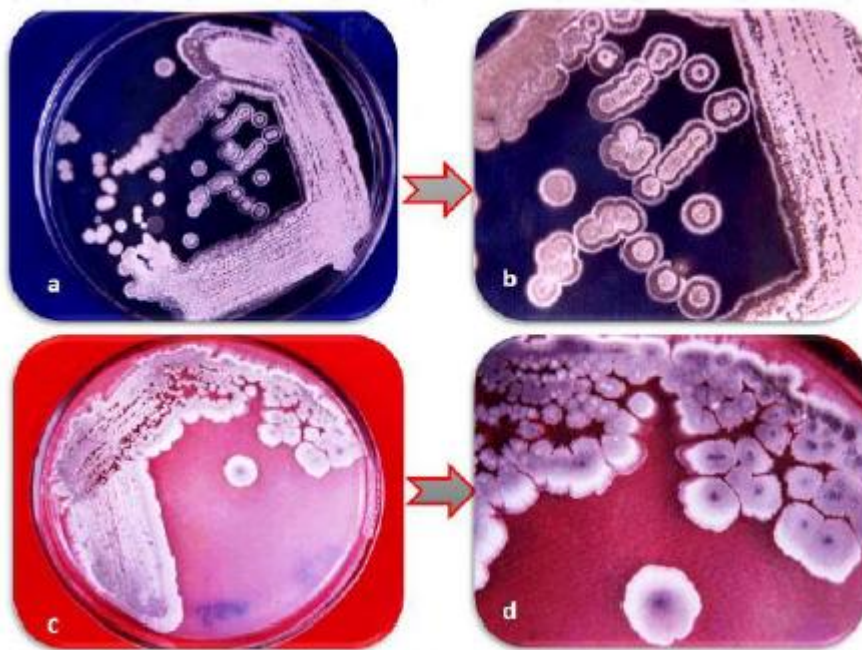
Les Actinomycètes sont des Bactéries filamenteuses dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes, qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance. Morphologiquement on peut rencontrer et en plus des filaments ramifiés, des bacilles et aussi des coccobacilles comme *Rhodococcus* et *Mycobactérium*. (**Ounadjela., 2016**).

Les mycologistes considèrent les actinomycètes comme des champignons. Il existe trois points qui rapprochent les actinomycètes des champignons :

- Structure mycélienne présentant des ramifications chez les actinomycètes typiques, avec toutefois cette différence que les filaments ont un diamètre deux fois plus faible (0,5 à 1,2  $\mu$ ) que ceux des champignons, d'où le terme de pseudo-mycélium parfois employé pour désigner cette structure ;
- Formation fréquente d'un mycélium aérien et de conidies ;
- En culture, absence de la turbidité caractéristique des bactéries unicellulaires et apparition des amas de cellules.

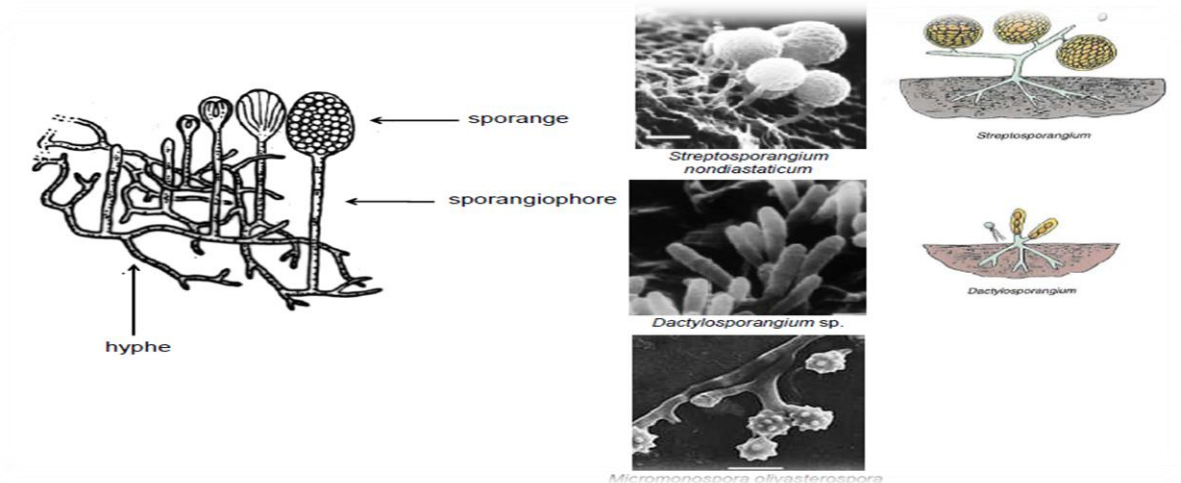
Les analogies entre les actinomycètes et les champignons sont en fait superficielles ; il s'agit d'une convergence de forme plutôt que d'une parenté génétique, car une différence fondamentale les sépare: les actinomycètes sont procaryotes alors que les champignons sont eucaryotes (**Merizig., 2015**).

La famille des Actinobactéries comprend un groupe de microorganismes unicellulaires, leur croissance est lente avec un temps de génération de 2 à 3 heures, ils croissent en l'espace de quelques jours à quelques semaines et plus lente que celles des autres bactéries . sur les milieux solide les actinobactéries forment en une semaine environ des colonies souvent pigmentées (jaunes, rouge, vert, marron et surtout gris..) (**Kitouni., 2007** ). L'aspect morphologique des Actinobactéries est compact, souvent coriace, donnant un aspect conique avec une surface sèche sur milieu de culture et sont fréquemment recouverts de mycélium aérien (**Ranjani et al., 2016**)



**Figure 01** : apparition d'isolats d'actinobactéries sur une gélose à la caséine et à l'amidon (a et b) plaque des isolats d'actinobactéries (**Ranjani et al., 2016**) .

La plupart des actinomycètes sont immobiles. D'autres genres d'actinomycètes sporulent en produisant des sporanges : compartiment qui se développe à l'extrémité d'un hyphe spécial appelé sporangiophore ( **Belyagoubi, 2014**)

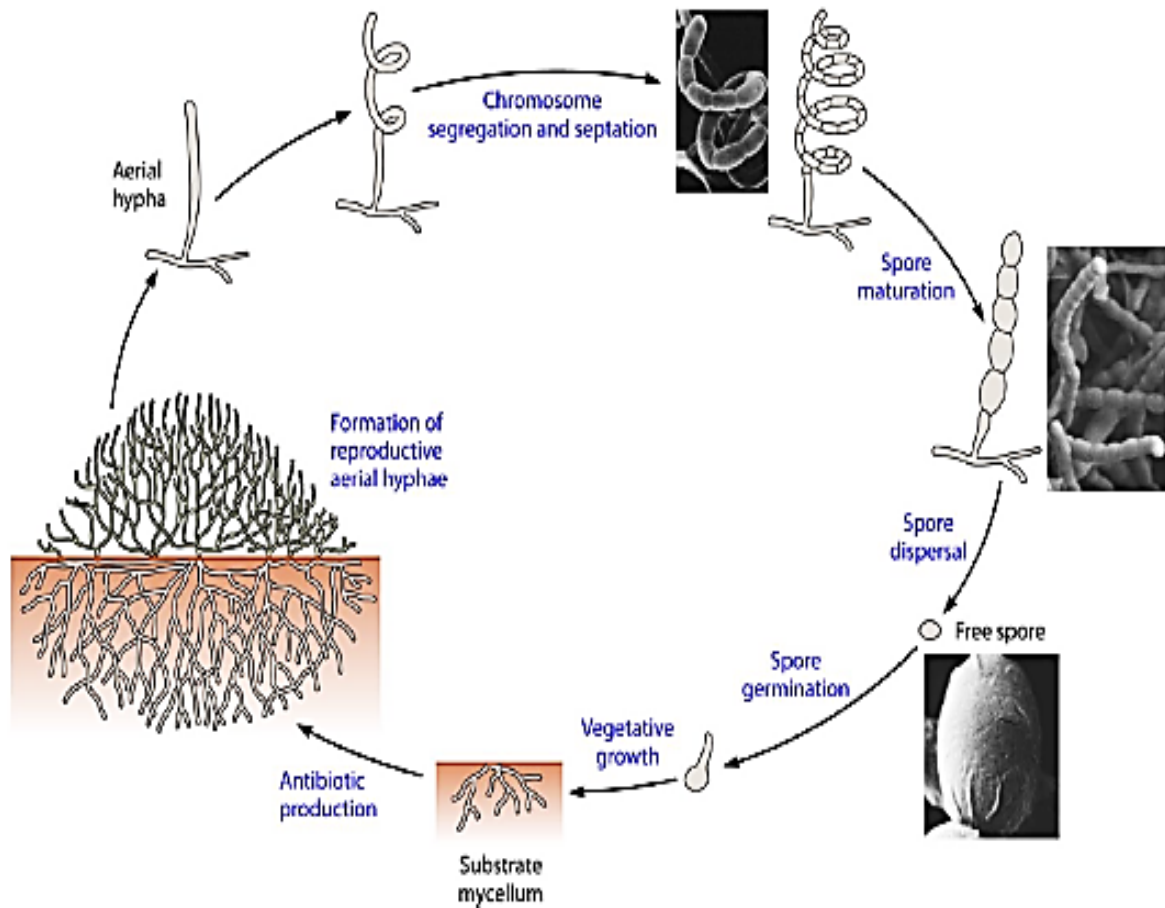


**Figure 02 :** Observation au microscope électronique à balayage et représentation schématique de différents sporanges d'actinomycètes (Belyagoubi., 2014).

En plus les actinobactéries sont isolées des composts, il s'agit de genres thermophiles tels que *Thermoactinomyces*, *Sacharomonospora* et d'autres thermotolérants tels que *Microbispora*, *Micropolyspora*, *Pseudonocardia* (Harir., 2018).

### I.3. Cycle de développement des Actinobactéries :

Le cycle de développement des actinomycètes est très similaire à celui des champignons, à la différence essentielle que ces bactéries demeurent haploïdes durant tout le cycle. Leur cycle de vie est caractérisé par différents stades de croissance dont les caractéristiques sont propres à chaque espèce, ce qui amène une grande diversité morphologique. Sur milieu solide, il y aura d'abord la germination d'une spore. Le tube germinatif en croissance se subdivisera en mycélium branché pour former un mycélium végétatif basal (mycélium du substrat) formé d'hyphes non septés, ramifiés et ancrés dans le milieu solide. Chez beaucoup d'actinomycètes, à partir de ce mycélium primaire s'élève par croissance apicale un mycélium secondaire aérien, ce mycélium prend naissance après autolyse du mycélium de substrat (Hocinat, 2018)



**Figure 03 :** Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries incluant un schéma d'une coupe transversale d'actinobactérie avec des hyphes vivants (Barka et al. 2016).

#### I.4. Ecologie et distribution des Actinobactéries dans la nature :

Les actinomycètes sont répandus presque dans tous les sols à l'exception des sites exposés à des conditions extrêmes. Ils sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol et jusqu'à 2 m de profondeur. Les actinomycètes jouent un rôle écologique important. Ils possèdent la capacité de dégrader des molécules complexes non dégradées par les champignons ou les autres bactéries, contribuant ainsi à la fertilisation des sols. Les enzymes sont, après les antibiotiques, les produits les plus importants sécrétés par les actinomycètes (Hocinat, 2018)

**Tableau 01.** Habitats de certains Actinomycètes (Grigorova et Norris, 1990).

Actinomycètes	Habitats
Actinoplanes	L'eau douce, la litière végétale, le sol
Frankia	Les nodules racinaires des non légumineux
Micromonospora	L'eau douce, les sédiments, les sols humides
Nocardia amarae	Les boues activées.
Rhodococcus coprophilus	Les déjections animales, l'eau, le sol.
Saccharopolyspora	Moisi du foin.
Rectivirgula	Le sol, la litière végétale, l'eau

### I.5. Taxonomie :

Les actinobactéries constituent l'une des plus importantes unités taxonomiques parmi les 18 lignées majeures actuellement reconnues dans le domaine des *bactéries*, comprenant 5 sous-classes, 6 ordres et 14 sous-ordres ; Une taxonomie mise à jour du phylum Actinobacteria basée sur des arbres ARNr 16S a été récemment rapportée ; Les genres de ce phylum présentent une diversité énorme en termes de morphologie, de physiologie et de capacités métaboliques. La taxonomie des Actinobactéries a considérablement évolué au fil du temps avec l'accumulation de connaissances. L'ordre Actinomycetales, créé par Buchanan en 1917, appartient à ce groupe d'organismes procaryotes. (Ventura *et al.*, 2007).

L'ensemble des caractéristiques de chaque taxon bactérien est répertorié dans le Manuel de Bergey's

**Tableau 02.** Classes, ordres et familles du phylum des Actinobactéries (Goodfellow *et al.*,

2012)

Classes	Ordres	Familles
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Actinomycetaceae</i>
	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>
	<i>Catenulisporales</i>	<i>Catenulisporaceae, Actinospicaceae</i>
	<i>Corynebacteriales</i>	
	<i>Corynebacteriales</i>	<i>Corynebacteriaceae, Dietziaceae, Mycobacteriaceae, Nocardiaceae, Segniliparaceae, Tsukamerullaceae</i>
	<i>Frankiales</i>	<i>Frankiaceae, Acidothermaceae, Cryptosporangiaceae, Geodermatophilaceae, Nokamurellaceae</i>
	<i>Glycomycetales</i>	<i>Glycomycetaceae</i>
	<i>Jiangellales</i>	<i>Jiangellaceae</i>
	<i>Kineosporales</i>	<i>Kineosporaceae</i>
	<i>Micrococcales</i>	<i>Micrococcaceae, Beutenbergiaceae, Bogoriellaceae, Brevibacteriaceae, Cellulomonadaceae, Dermabacteriaceae, Dermacoccaceae, Dermatophilaceae, Intrasporangiaceae, Jonesiaceae, Micobacteriaceae, Promicomonosporaceae, Rarobacteriaceae, Ruaniaceae</i>
	<i>Micromonosporales</i>	<i>Micromonosporaceae</i>
	<i>Propionibacteriales</i>	<i>Propionibacteriaceae, Nocardioidaceae</i>
	<i>Pseudonocardiales</i>	<i>Pseudonocardiaceae</i>
	<i>Streptomycetales</i>	<i>Streptomycetaceae</i>
<i>Streptosporangiales</i>	<i>Streptosporangiaceae, Nocardiopeceae, Thermomonosporaceae</i>	
<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	<i>Actinomicrobiaceae</i>
	<i>Nitriliruptorales</i>	<i>Nitriliruptoraceae</i>
<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Euzebyales</i>	<i>Euzebyaceae</i>
<i>Rubrobacteria</i>	<i>Rubrobacterales</i>	<i>Rubrobacteraceae</i>
	<i>Thermophilales</i>	<i>Thermophilaceae</i>
<i>Thermophilia</i>	<i>Solirubrobacterales</i>	<i>Solirubrobacteraceae, Conexibacteraceae, Patulibacteraceae</i>

## I.6. Importance technologique des Actinobactéries :

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.6.2. Dans le domaine agronomique :**

Les actinobactéries jouent un rôle important dans l'agriculture car ils possèdent de nombreuses propriétés qui pourraient bénéficier à la croissance des plantes comme les auxines, les cytokinines et les gibbérellines, ou produire des sidérophores afin de lier les ions  $Fe^{3+}$  et aider à améliorer l'absorption des nutriments. Au sein des actinobactéries, les streptomycètes ont un intérêt particulier dans le sol en raison de leur métabolisme qui comprend la dégradation des polymères et complexes insolubles, tels que la lignocellulose et la chitine, qui sont les plus abondants dans la nature (**Mokhtari et Moulai, 2018**).

Le genre *Frankia* est également très important pour un bon nombre de plantes, provoquant des nodulations aux racines permettant ainsi la fixation de l'azote par la plante hôte.

### **I.7. Rôle des Actinobactéries dans l'environnement et la bioremediation**

Les actinobactéries possèdent de nombreuses propriétés qui en font de bons candidats pour une application dans la bioremédiation des sols contaminés par des polluants organiques. Dans certains sites contaminés, les Actinobactéries représentent le groupe dominant parmi les agents dégradants (**Johnsen et al., 2002**). Ils jouent un rôle important dans le recyclage du carbone organique et peuvent dégrader les polymères complexes. Sanscartier et al (**Sanscartier et al., 2009**) ont signalé que la plus grande utilisation d'hydrocarbures pétroliers est largement utilisée dans notre vie quotidienne, en tant que composés chimiques et combustibles, est devenue l'un des contaminants les plus courants des grandes surfaces du sol et est finalement considéré comme un problème environnemental majeur.

De nombreuses souches d'Actinobactéries ont la capacité de solubiliser la lignine et de dégrader les composés liés à la lignine en produisant des enzymes dégradant la cellulose et l'hémicellulose et la peroxydase extracellulaire. Des espèces d'Actinobactérie ont la capacité de vivre dans un environnement huileux et peuvent donc être utilisées dans la Bioremédiation

pour réduire les polluants pétrolières. *Nocradiopsis* sp. SD5 a dégradé les déchets de plumes en produisant de l'enzyme kératinase (**Saha et al., 2013**).

### **I.8. Production des métabolites secondaires**

Le métabolisme des actinomycètes peut être divisé en deux parties : le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire. Ces bactéries filamenteuses sont connues pour la richesse de leur métabolisme secondaire.

Le métabolisme primaire regroupe les réactions cataboliques et anaboliques qui permettent la formation de biomasse. Le pouvoir réducteur et l'énergie produits par ces réactions sont utilisés pour former et assembler les monomères (ex : acides aminés) en macromolécules (ex : protéine). (**Strub, 2008**)

### **I.9. Applications biotechnologiques des Actinobactéries**

#### **I.9.1. Antibiotiques**

la recherche de nouveaux antibiotiques qui sont plus efficaces et qui ne comporte aucun effet secondaire toxique est en cours. l'un des principaux problèmes de santé est la résistance aux antibiotiques. Une approche pour résoudre ce problème est de rechercher de nouveaux antibiotiques avec de nouveaux mécanismes d'action.

La majorité d'antibiotiques proviennent de microorganismes, en particulier des espèces Actinobactérie (tableau 03). Près de 80% des antibiotiques (**Jensen et al., 1991; Hassan et al., 2011**). Parmi ces composés Actinobactéries 75% proviennent de *Streptomyces* et 25% proviennent d'actinomycètes rares (**Berdy, 2005**).

**Tableau 03.** Les principaux antibiotiques produits par les Actinobactéries (**Berdy, 2005**).

Antibiotique	Effet d'antibiotique	Bactérie productrice	Référence
<b>Macrolides</b>	sont des inhibiteurs de synthèse de protéines	<i>Streptomyces ambofaciens</i>	<b>(Fujiwara et al., 1985)</b>
<b>Anthracyclines</b>	utilisés dans la chimiothérapie du cancer	<i>Streptomyces peuceetius</i>	<b>(Fujiwara et al., 1985)</b>
<b>Glycopeptides</b>	utilisé dans la prophylaxie et le traitement de l'infection causée par des bactéries Gram-positives	<i>actinobacterium Amycolatopsis orientalis</i>	<b>(Griffith, 1981)</b>
<b>Polyènes</b>	est un médicament antifongique comme moisissures et infections à levures	certaines espèces de <i>Streptomyces</i>	<b>(Holz et Finkelstein, 1970)</b>
<b>Actinomycines</b>	médicaments de chimiothérapie	bactéries du sol du genre <i>Streptomyces</i>	<b>(Hollstein, 1974)</b>
<b>Polyesters</b>	montré une activité antimicrobienne contre les bactéries	<i>Streptomyces sp</i>	<b>(Schumacher et al., 2003)</b>

### I.9.2. Nouveaux métabolites

Les actinobactéries possèdent des aspects biologiques caractéristiques tels que des formes de croissance mycéliennes ainsi qu'une capacité de production d'une large variété de métabolites secondaires incluant la majorité des antibiotiques. de nombreux métabolites nouveaux ont été isolés au cours des dernières années (Alharbi, 2016)

**Tableau 04:** Nouveau composé des métabolites secondaires isolés des actinomycètes

Activité Biologique	Substance	Espèce	Autres activités pharmacologiques	Références
Antibactérien	N-acetyl-Ndemethylmayamycin	<i>Streptomyces sp.</i>	Antitumorale	Liang et al., (2016)
Antibactérien	Curvularin-7-O- a-d-Glucopyranoside	<i>Pseudonocardia sp.</i>	Anticancéreux	Ye et al., (2015)
Antifongique	Saadamycin	<i>Streptomyces sp.</i>	-	El-Gendy et El-Bondkly, (2010)
Antiviral	Butenolides 1a, 1b, 2, 3, 4	<i>Streptomyces sp.</i>	Cytotoxique	Strand et al., (2014)
Antipaludique	Cyclomarin A	<i>Streptomyces sp.</i>	Anti-Tuberculose	Bürstner et al., (2015)
Antibactérien	2-Allyloxyphenol	<i>Streptomyces sp.</i>	Désinfectant oral	Arumugam et al., (2009)
Antipaludique	Salinosporamide A	<i>Salinispora tropica</i>	Anticancéreux	Prudhomme et al., (2008)

### I.9.3. Mélanines

La mise en évidence de la production des mélanine ou des mélanoïdes, (pigment brun diffusible) est réalisée sur milieu gélosé ISP7 (tyrosine agar) et MPPM (Marillize le Rose , 2015).

### I.9.4. Enzymes

les enzymes sont les produits industriels les plus importants des *actinomycètes* (Theilleux, 1993). En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telle que des protéases, des chitinases (Tanaka et Omura, 1990 et Vonothini et al., 2008), des amylases, des cellulases, des xylanases et des lipases (Park et al., 2002).

**Tableau 05:** Les principaux enzymes produits par les Actinobactéries

Enzyme	Caractères généraux	Mécanisme	L'utilisation	Les organismes producteurs
<b>Amylases</b>	- Ceci a été suivi de plusieurs rapports d'amylases digestives et d'amylases de malt sous forme de $\alpha$ et $\beta$ -amylases. - Les amylases peuvent être divisées en deux catégories endoamylases et exoamylases	Hydrolysent les molécules d'amidon pour donner divers produits, y compris les dextrans et des polymères progressivement plus petits composés d'unités de glucose ( <b>Windish et Mhatre, 1965</b> )	Grande importance dans la biotechnologie actuelle avec des applications allant de l'alimentation, de la fermentation, ( <b>Pandey et al., 2005</b> )	Le genre <i>Streptomyces</i> est considéré Comme source potentielle d'enzymes amylolytiques ( <b>Stamford et al., 2001</b> )
<b>Chitinase</b>	Un polymère linéaire insoluble en B-1,4 de N-acétylglucosamine (GlcNAc) est le second polymère le plus abondant de la nature Ce polysaccharide se trouve dans les parois cellulaires des champignons et de l'exosquelette des insectes et des coquilles des crustacés	Les chitinases hydrolysent les liaisons $\beta$ -1,4 dans la chitine, ce qui donne principalement la N-N 'La-diacétylchitobiose, qui est en outre dégradée par les N-acétylglucosaminidases au monomère GlcNAc ( <b>Tsujibo et al., 2003</b> )	Impliquée dans le processus de production de mono-et d'oligosaccharides à partir de la chitine. -Est un agent antifongique potentiel grâce à son activité de dégradation de la chitine ( <b>Kunz et al. 1992 ; Mathivanan et al., 1998</b> )	Sont produites par de nombreux organismes, tels que des virus, des bactéries, des actinobactéries, des plantes et des animaux plus élevés

### I.9.5. Vitamines

La vitamine B12, telle qu'elle existe dans la nature, peut être produite par des bactéries ou des Actinobactéries. L'isolement de la vitamine B12 provenant des fermentations d'Actinobactéries (**Rickes et al., 1948; Lichtman et al., 1949**). L'addition de sels de cobalt aux milieux apparemment agit comme un précurseur pour toutes les Actinobactéries pour produire de la vitamine. Les fermentations produisant l'antibiotique *Streptomycine*, *l'auréomycine*, la griseine et la néomycine produiront aussi de la vitamine B12 si le milieu est complété par du cobalt sans affecter de manière apparente les rendements des substances antibiotiques. Plusieurs autres études ont suggéré que certaines Actinobactéries qui ne

produisent pas d'antibiotiques, produisent plus de cette vitamine que celles qui produisent des antibiotiques. On a montré que les Actinobactéries produisaient d'autres vitamines solubles dans l'eau, avec des études spéciales sur la production de thiamine et le dérivé d'acide pteroylglutamique qui favorise la croissance de certaines souches de *Leuconostoc citrovorum* et de la coenzyme A (Anandan et al., 2016).

### **I.9.6. Inhibiteurs enzymatiques**

Les Actinobactéries sont une source potentielle de production d'inhibiteurs enzymatiques, (Imada, 2005) a signalé différents types d'inhibiteurs d'enzymes, à savoir.  $\beta$ -glucosides, Nacétyl- $\beta$ -D-glucosaminidase, pyroglutamyl peptidase, inhibiteurs de  $\alpha$ -amylase utiles pour le traitement du cancer et les immunomodifiants qui améliorent la réponse immunitaire. Ils ont la capacité de dégrader une large gamme d'hydrocarbures, de pesticides et de composés aromatiques et aliphatiques. (Imada, 2005)

### **I.9.7. Bioherbicides**

Une autre application intéressante de l'Actinobactéries est l'utilisation de leurs métabolites secondaires comme herbicides contre les herbes indésirables et les mauvaises herbes. *Streptomyces saganonensis* produit des herbicidines et des herbimycines qui contrôlent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones. *L'anisomycine*, produite par *Streptomyces* sp, est un type d'inhibiteur de croissance pour les mauvaises herbes herbues annuelles telles que le gazons de crabe et les mauvaises herbes à feuilles larges; L'anisomycine peut détruire la capacité des plantes à synthétiser la chlorophylle de même, le bialaphos, un métabolite de *Streptomyces viridochromogenes*, Sa synthetase peut accumuler de l'ammoniac et contrôler la phosphorylation photosynthétique, provoquant la mort de la plante (Xiliang , 1994) . *S. hygrosopicus* produit la coformycine carbocyclique et l'hydantocidine, ce qui peut réduire la synthetase de l'aclenylosuccinate en augmentant la teneur en ATP et en retenant la synthèse (Pillmoor, 1998). De plus, la phthoxazoline, l'hydantocidine et l'homoalanosine de *Streptomyces* sp. peut contrôler plusieurs mauvaises herbes (Yan, 1993).

### **I.9.8. Probiotiques**

Le terme “probiotique” est un mot relativement nouveau qui signifie “en faveur de la vie” et qui est actuellement utilisé pour désigner des bactéries associées à des effets bénéfiques chez l’homme et les animaux (**You et al., (2007)** ).ont décrit le potentiel de *Streptomyces* contre le pathogène des crevettes *Vibrio spp.* et ont recommandé que les souches *Streptomyces* marines ont un potentiel probiotique en raison de leur capacité à dégrader les macromolécules comme l'amidon et des protéines en culture d’eau de l’étang, pour produire des agents antimicrobiens et à former des spores qui résistent à la chaleur et dessiccation.

### **I.9.9. Biosurfactants**

Les Biosurfactants sont les composés dérivés de microbien qui partagent des fragments hydrophiles et hydrophobes qui sont actifs en surface. Par rapport aux surfactants chimiquement dérivés, les Biosurfactants sont indépendants de l’huile minérale comme matière première ; Ils sont facilement biodégradables et peuvent être produits à basse température. Les Biosurfactants peuvent être appliqués dans diverses en tant qu’industrie nutritive, cosmétique, textile, vernis, pharmaceutique, minière et pétrole (**Henkel et al., 2012; Marchant et Banat, 2012**).

## **II. Le genre *Streptomyces***

### **II.1. Définition et caractéristiques principales**

Le genre *Streptomyces* , c’est le genre d’actinomycètes qui comprend plus de 500 espèces présentes dans le sol et dans l’eau .ce sont le plus abondant et surtout le plus performant dans la production de métabolites secondaires importants . Les *Streptomyces* sont donc des organismes procaryotes qui possèdent une structure filamenteuse. Cela explique leur dénomination : Du Grec *Streptomyces* : Streptos : tordu ou courbé et myces : champignons (**Williams et al., 1989**).

Les *Streptomyces* se caractérisent sont des organismes aérobies, à coloration de Gram positive, chimioorganotrophes, catalase positive qui appartiennent à l’ordre Actinomycetales de la classe Actinobacteria (**Stackebrandt et al., 1997**). Ils possèdent un métabolisme oxydatif et un taux G+C% compris entre 69 et 78% (**Korn-Wendisch et Kutzner, 1992 ; Hodgson, 2000 ; Stackebrandt et Schumann, 2006**). La présence de l’acide LLdiaminopimélique et de glycine et l’absence de sucres caractéristiques est typique pour ce type de paroi cellulaire (**Uchida et Seino, 1997 ; Stackebrandt et Schumann, 2006**).

Ils tendent à croître lentement en formant des filaments ramifiés de 0,5 à 2µm de diamètre qui fragmentent rarement c'est le mycélium végétatif ou mycélium de substrat. Le mycélium aérien forme par contre à sa maturité des chaînes de spores non mobiles. Leur croissance donne naissance à des colonies assez lisses au début qui deviennent poudreuses, floconneuses ou compacts après développement du mycélium aérien. Les *Streptomyces* produisent un grand nombre de pigments responsables des différentes couleurs du mycélium en plus des pigments diffusibles. Leur température optimale est située entre 25°C et 35°C (à l'exception des espèces thermophiles ou psychrophiles) et leur pH optimum entre 6,5 et 8 (**Stackebrandt et Schumann, 2006**).

## II.2. Cycle de développement

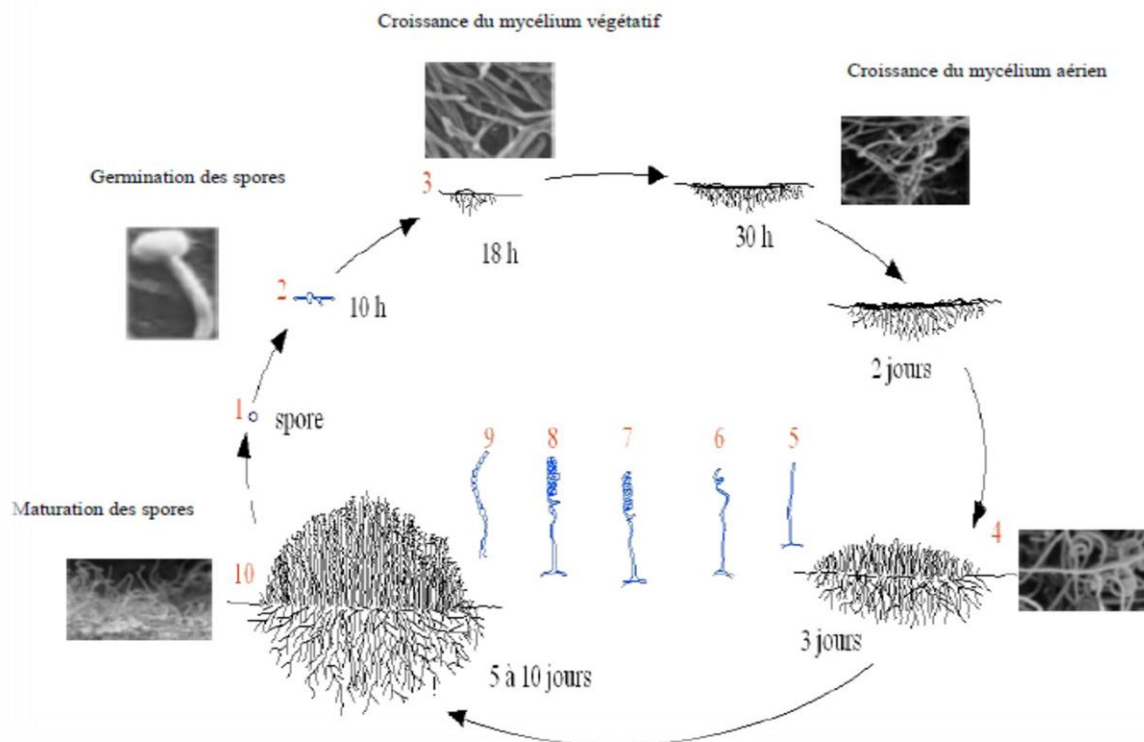
Le genre *Streptomyces* possède un cycle de développement complexe sur milieu solide : il débute par la germination d'une spore qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes non septés et plurinucléés, ramifié et ancré dans le milieu solide (**Hodgson, 1992**).

La germination de spores comprend quatre étapes : l'activation, l'initiation, l'émergence du tube germinatif et sa croissance, pour lesquelles le degré hygrométrique joue un rôle important.

La formation du mycélium aérien est influencée par plusieurs facteurs, notamment : la composition du milieu de croissance, la température d'incubation et la présence de composés stimulant spécifiquement le mycélium aérien (**Pine, 1970 ; Madigan et Martinko, 2007**).

Généralement, le mycélium aérien est plus épais et moins ramifié que le mycélium de substrat (**Silvey et Roach, 1975**), hydrophobe et contenant des pigments qu'on ne retrouve pas dans le mycélium végétatif.

En milieu liquide, les cellules se développent uniquement sous forme de mycélium primaire, même si certaines souches peuvent sporuler dans cet environnement (**Madigan et Martinko, 2007**). En milieu solide, une différenciation morphologique est donc observée tandis qu'en milieu liquide la différenciation est généralement physiologique (activation d'un métabolisme secondaire dans le cas d'un stress nutritionnel ou environnemental ralentissant significativement la croissance) (**Hodgson, 2000**).



**Figure 04 :** Cycle biologique du genre *Streptomyces* (Hopwood et al., 2007)

### II.3. Production de biomolécules d'intérêt thérapeutique et biotechnologique :

*Streptomyces* a révélé un potentiel biotechnologique intéressant pour la production d'enzymes (par exemple la xylose isomérase issue d'un *Streptomyces* thermophile (Hodgson, 2000) ou la biodégradation de bio polymères (par exemple le chitosane (Fukamizo et Brzezinski, 1997) ou de polluants organiques (par exemple l'acide phénylacétique (Niraula et al., 2010)). les *Streptomyces* sont les meilleurs candidats pour la production des métabolites secondaires biologiquement actifs en effet ce genre bactérien est à l'origine environ 70% des molécules antibiotiques utilisées en médecine et 60% des antifongiques utilisés en agriculture (Sujatha et al., 2005). Il a été prouvé que 50% des *Streptomyces* sont actifs contre les bactéries Gram positif (Dworkin et al., 2006).

plusieurs molécules antibactériennes (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol) , les *Streptomyces* produisent des immunosuppresseurs (rapamycine), anti tumorale (actinomycine, mitomycine C, anthracyclines) , antivirale (tunicamycine), antifongique (nystatine) , antiparasitaire (ivermectine), inhibiteur d'enzyme (acide clavulanique) (Demain, 2000). En particulier, ce genre est remarquable pour le nombre et la diversité chimique des antibiotiques qu'il produit (Watve et al., 2001).

### III Les molécules antioxydantes :

Les antioxydants sont des substances qui sont présentes à de faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable, capables d'inhiber ou de prévenir son oxydation en éliminant

Les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif. (Leong *et al.*, 2002)

Les actinobactéries produisent un grand nombre de composés bioactifs uniques comme

Les molécules antioxydantes naturelles (Tableau 6) (Hassan *et al.*, 2017).

**Tableau 06:** Exemples de molécules antioxydantes produites par des quelques espèces d'actinobactéries.

Molécules	Espèces	Références
Ageloline A	<i>Streptomyces sp.</i>	Cheng <i>et al.</i> (2016)
5-(2,4-diméthylbenzyl) pyrrolidin-2-one	<i>Streptomyces spp.</i>	Sauvar <i>et Kannabiran</i> , (2011)
2-allyoxyphenol	<i>Streptomyces sp</i>	Arumugam <i>et al.</i> (2010)
Protocatechualdehyde	<i>Streptomyces lincolnensis</i>	Ja kim <i>et al.</i> , (2008)
Streptopyrrolidine	<i>Streptomyces sp</i>	Shin <i>et al.</i> (2008)
JBIR-94 et JBIR-125	<i>Streptomyces sp</i>	Kawahara <i>et al.</i> (2012)
5-(2,4-diméthylbenzyl)-2-one (DMBPO)	<i>Streptomyces sp</i>	Saurvar <i>et Kannabiran et al.</i> (2012)

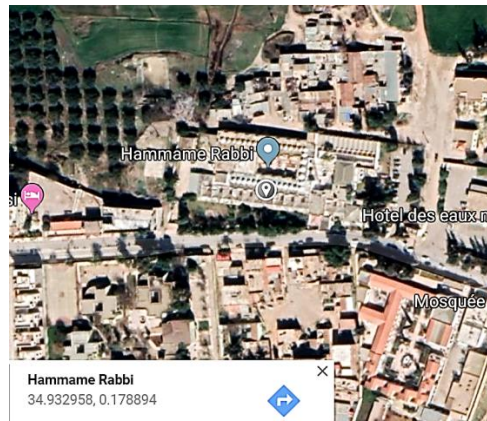
*Deuxième partie :  
étude expérimental.*

## *Matériel et méthodes*

## I. Matériels et méthodes

### I.1. Prélèvement des échantillons

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



**Figure 05** : Site de prélèvement du sol de la station thermale Hammam-Rabi de la wilaya de Saïda (34.932974, 0.178802).

### I.1.2. Traitement des échantillons

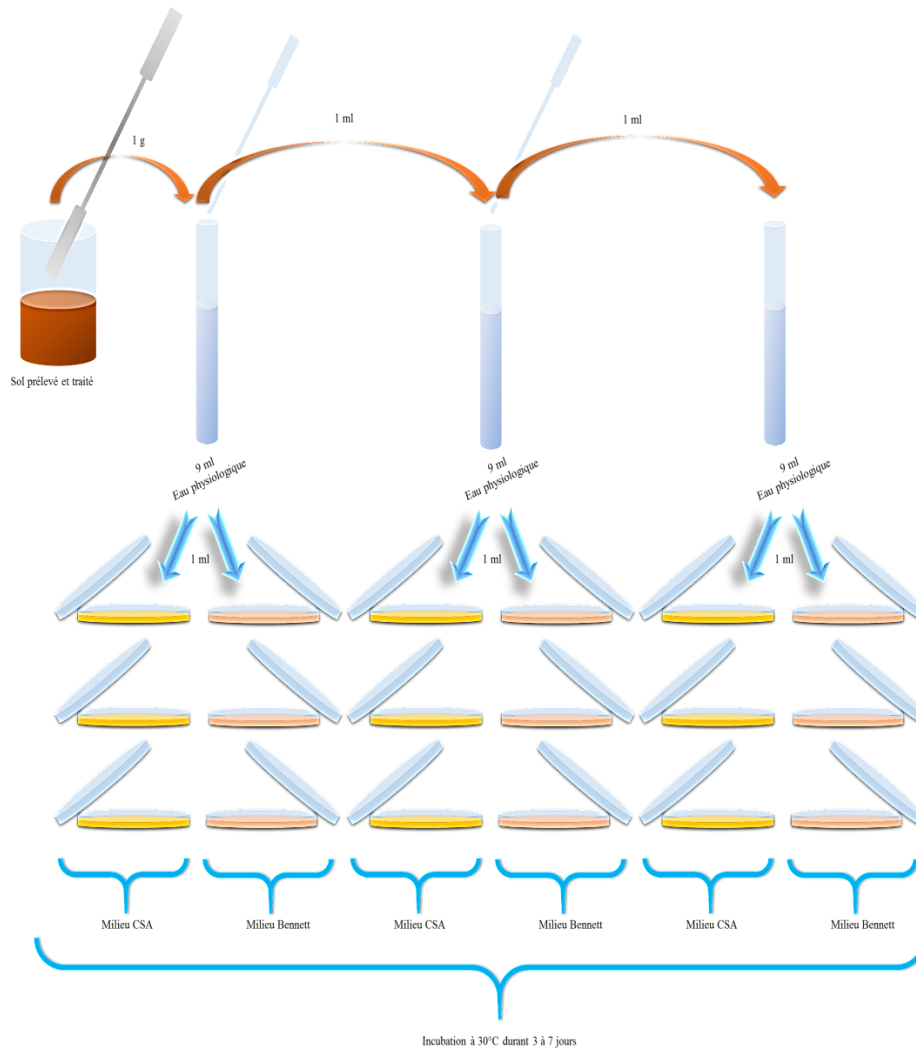
Les échantillons du sol prélevés ont été séchés à l'air libre dans une chambre d'incubation afin de limiter la contamination par les moisissures durant les manipulations. Un gramme de chaque sol séché à l'air est mélangé avec 0,1 gramme de  $\text{CaCO}_3$  puis incubé à  $28^\circ\text{C}$  pendant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

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

Une fois le sol est prêt, la dilution mère est préparé dans un tube a essaie à partir d'un gramme de sols pour chaque échantillon dans 9 ml d'eau physiologique, le mélange doit être homogénéisé à l'aide du vortex pendant 10 minutes. Des dilutions décimales sont ensuite réalisées (1 :10, 1 :100 et 1 :1000).

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

A partir de chaque dilution préparée précédemment, 100 µl de suspension est inoculé par inondation sur la surface du milieu CSA et Bennett. Les boîtes de pétries sont ensuite incubées à 30°C pendant trois à sept jours (Figure 06).



**Figure 06** : Isolement et purification des actinomycètes

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

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

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

### I.2.1 Choix des souches fongiques

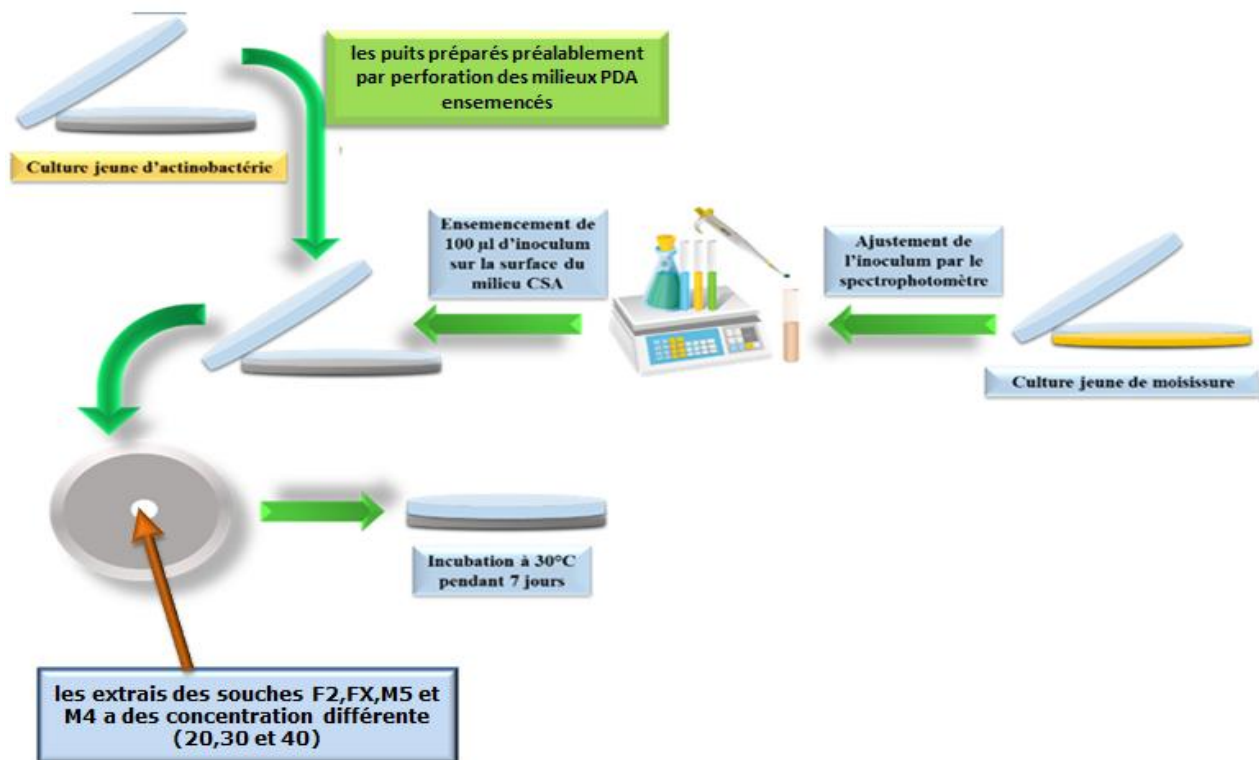
Les souches fongiques utilisées pour tester l'activité antifongique des actinomycètes sont des champignons microscopiques réputés toxigènes. Elles sont à l'origine d'importantes maladies. Ces souches sont regroupées dans le tableau.

**Tableau 07** : Souches fongiques utilisées pour tester l'activité biologique des extraits

Souches fongiques	Abréviation	Origine
<i>Aspergillus ochraceus</i>	<b>AO</b>	Département De biologie. Faculté des sciences –Université de Laghouat
<i>Aspergillus parasiticus</i>	<b>AP</b>	
<i>Fusarium graminearum</i>	<b>FG</b>	

Les trois souches fongiques ont été choisies soigneusement pour :

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



**Figure 07.** Screening de l'activité antifongique.

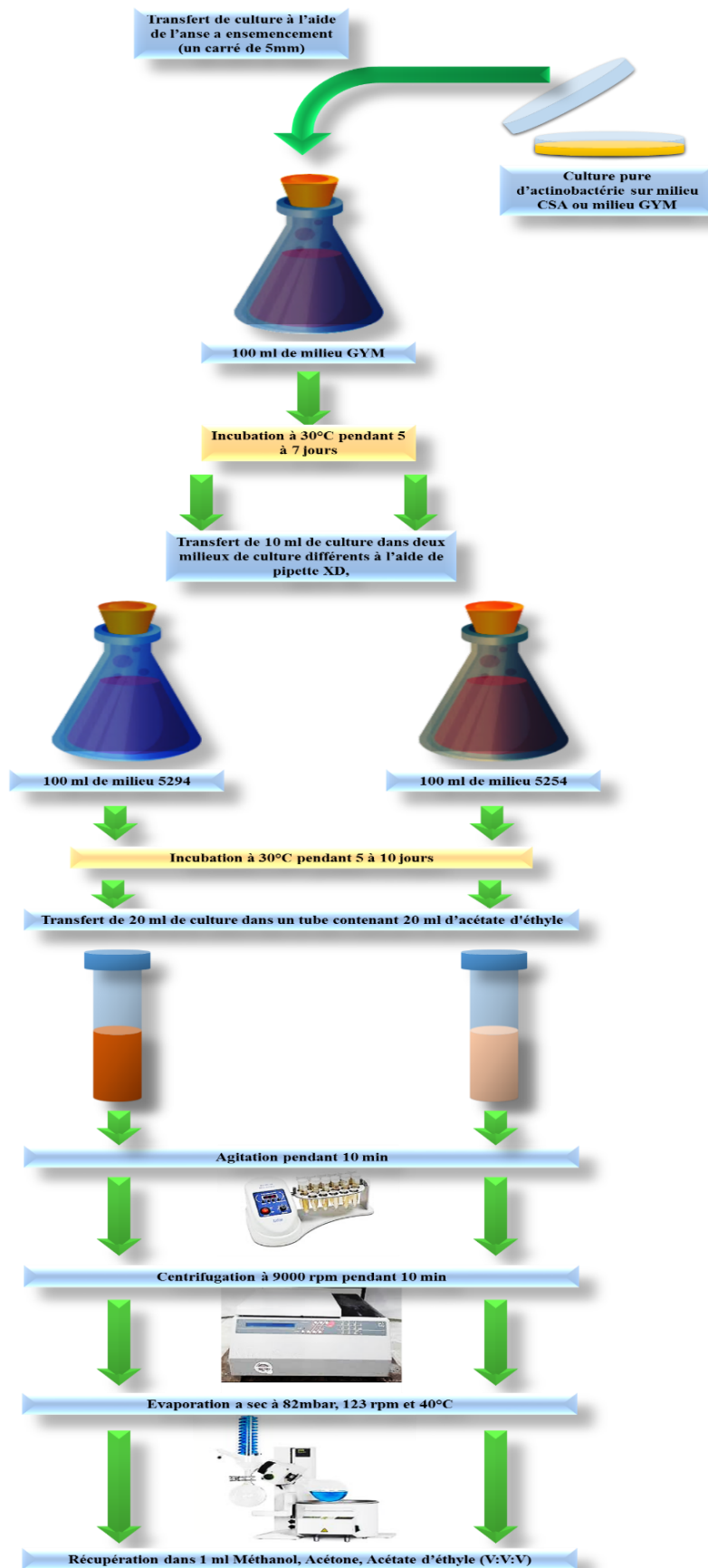
#### I.2.4. Préparation et extraction des métabolites secondaire

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

##### a. Extraction des métabolites secondaires

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

20 ml de chaque culture est porté dans des tube en plastique gradué à l'aide de pipetes sur lequel 20 ml d'acétate d'éthyle est ajouté, chaque mélange est bien mixé puis porté dans dans agitateur a rotation pendant 10 à 12 minutes. Les tubes sont ensuite centrifugés à 9000 rpm pendant 10 minutes. Les surnageant sont enfin récupérés dans des boules en verre puis évaporé à l'aide du rotavapor à 40°C et 123 rpm jusqu'à l'évaporation à sec. L'extrait est ensuite récupéré dans des tubes contenant 1ml de méthanol-acétone-acétate d'éthyle est gardé à -20°C jusqu'à leur utilisation (Figure07).



**Figure 08.** Extraction des métabolites secondaires

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

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

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

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

## I.3.Mesure de l'activité antioxydant

### I.3.1. Mesure de l'activité antioxydant par DPPH

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

#### **Principe :**

C'est une méthode largement utilisée dans l'étude de l'activité antioxydant. Le DPPH (2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl) se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la

solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution.

### **Mode opératoire**

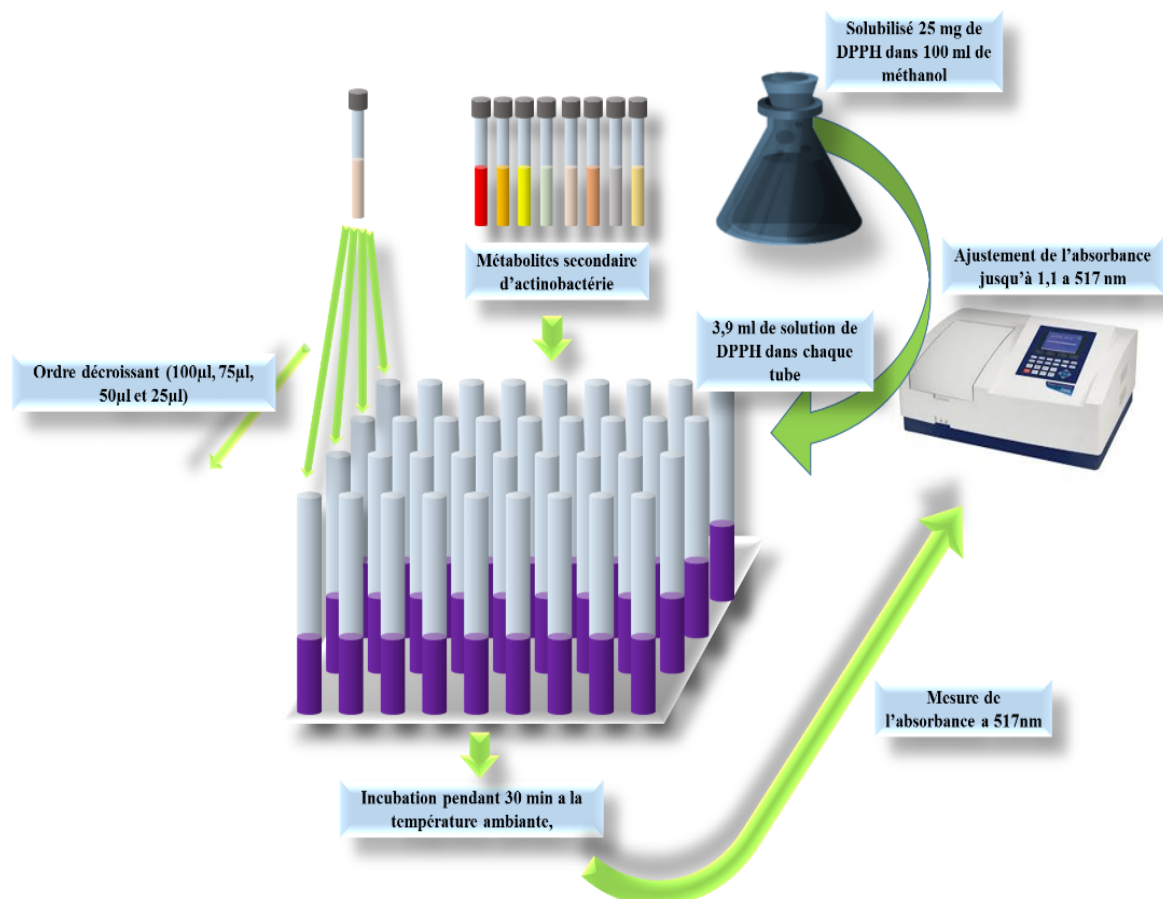
A 3.9 ml de la solution du DPPH ayant une absorbance de 1.1 (0.0025g DPPH dans 100ml méthanol) on ajoute 100, 75, 50, 25µl de chaque extrait, pour le contrôle négatif, on mélangeant 100 µl du méthanol avec 3.9ml de DPPH. Le blanc de l'appareil est le méthanol. L'incubation est durant 30 minutes à température ambiante. La lecture se fait à 517 nm, (Figure 09)

### **Calcul des pourcentages d'inhibition :**

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

$$\% \text{ PR du DPPH} = \frac{((\text{DO cont à } t_0) - (\text{DO éch à } t \text{ 30 min}))}{(\text{DO cont à } t_0)} \times 100$$

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



**Figure 09.** Mesure de l'activité antioxydant par DPPH.

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

#### Principe

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

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

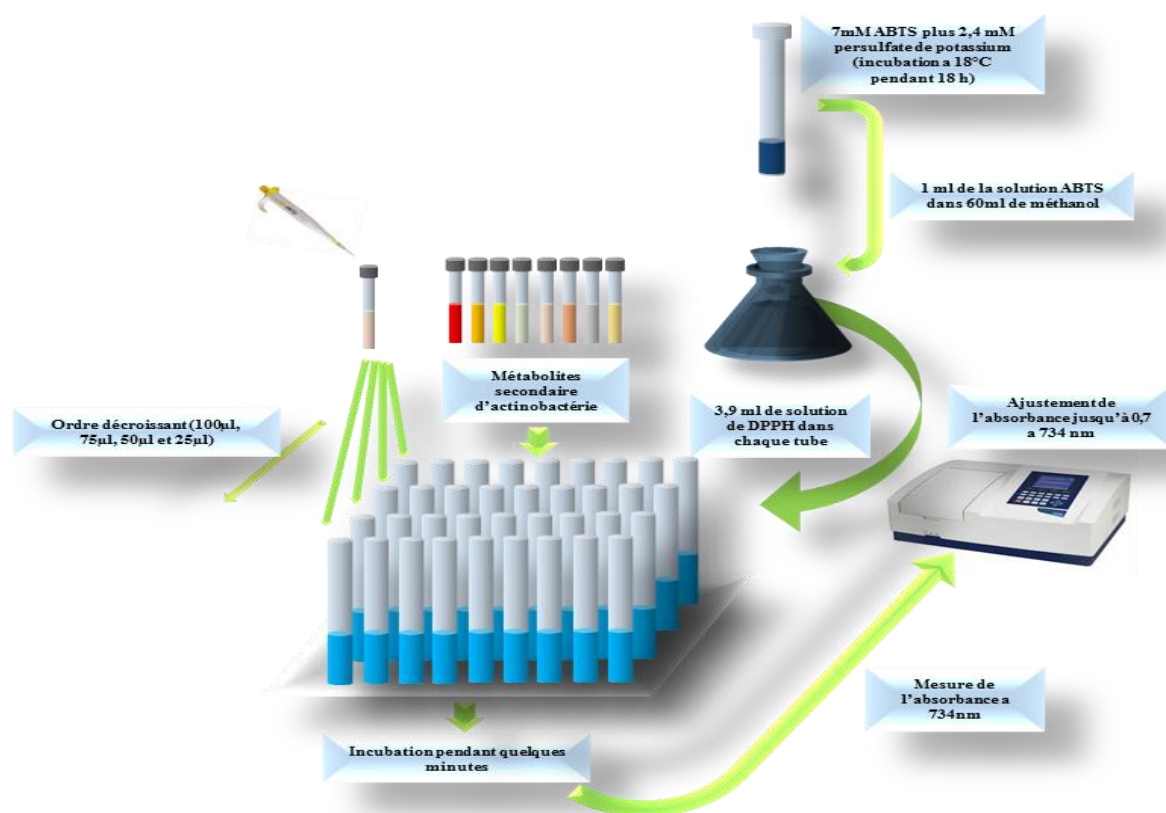
## Mode opératoire

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup> est évalué par la méthode de **Ramful et al. (2010)**. La solution d'ABTS<sup>+</sup> préparé par mélange de 7 mM d'ABTS et de 2,45mM de persulfate de potassium incubé pendant 12-16h à l'abri de la lumière et à température ambiante avant l'utilisation. La solution d'ABTS est diluée avec le méthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0,7( ± 0,02) à 734 nm. 3.9 ml de la solution d'ABTS est additionné à 100, 75, 50 et 25 µl de l'extrait. (Figure 10)

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

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

- % PR du ABTS : pourcentage de réduction ou d'inhibition du ABTS.
- DO cont à t<sub>0</sub> : densité optique du ABTS à t<sub>0</sub>.
- DO cont à t<sub>7</sub> : densité optique à 7 min après avoir ajouté l'extrait.



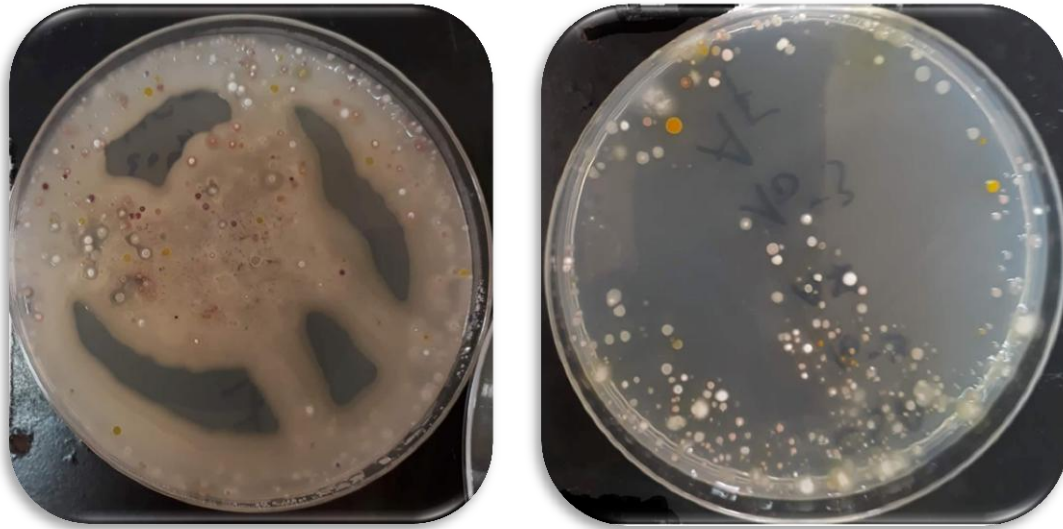
**Figure 10.** Mesure de l'activité antioxydant par ABTS.

## II. Résultats et discussion

Dans cette partie les résultats obtenus la pour la mise en évidence de l'activité Antifongique et antioxydant des quatre souches.

### II.1. Isolement, purification et identification des Actinobactéries

Les colonies d'Actinobactéries apparaissent après 3 à 5 jours d'incubation à 30°C, sur les milieux d'isolements utilisés (Bennett, CSA et GYM). Ces colonies sont reconnues par leurs aspects macroscopiques (colonies dures incrustées dans la gélose). Les résultats de l'isolement des colonies d'actinomycètes à partir des échantillons du sol sont présentés dans la photo 1



Aspect des colonies  
des souche  
Actinomycètes

**Photo 01 :** Les souches des Actinomycètes isolé à partir du sol (Saida). (**Photo de ce travail, 2019**).

A partir de 30 souches isolées à partir des sols de la région de Saïda sur milieu CSA, un totale de 9 colonies d'Actinobactéries sont choisis et isolées, les résultats obtenus sont présentés dans la **photo 2**



**Photo 02 :** Aspect de colonies d'Actinobactéries après purification sur milieu CSA (**Photo ce travail, 2019**).





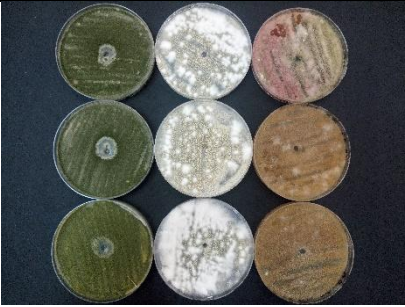

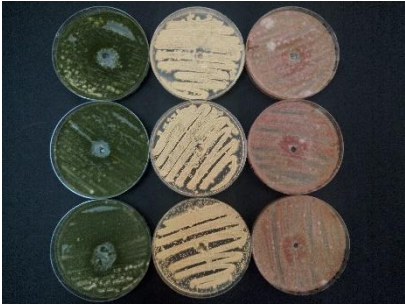

## II.2. Diversité des souches d'Actinobactéries isolée

L'identification moléculaire (par ARNr 16S) des souches purifiées était réalisée au sein du centre DSMZ (Allemagne). Par l'utilisation de quatre amorces universelles a s'avoir : F2, FX, M4, M5.

## II.3. L'activité antifongique

### II.3.1. Résultats de l'activité antifongiques

D'après les résultats affichés sur la photo 03 , Les souches F2, FX, M4 et M5 ont démontrées une bonne activité contre *A.parasiticus*, *A.ochraceus* et *F.graminirum* avec les pourcentages d'inhibition

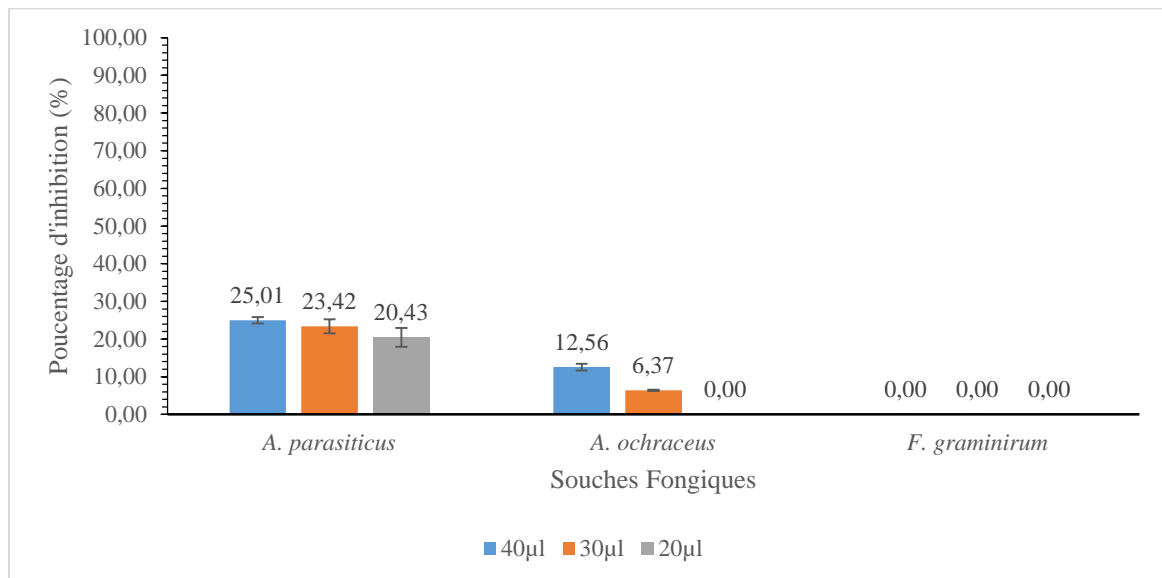
F2	
 <p>AP AO FG</p>	 <p>AP AO FG</p>
FX	
	
M4	
	
M5	
	

**Photo 03** : Résultat de l'activité antifongique de la souche F2, FX , M4, M5 contre les souches fongiques sélectionnées. . (**Photo de ce travail, 2019**).

L'activité antifongique est mesurée par le rapport entre la surface de l'inhibition créée par la souche bactérienne et la surface de la boîte entière multipliée par 100. Le résultat obtenu est évalué comme suit:

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

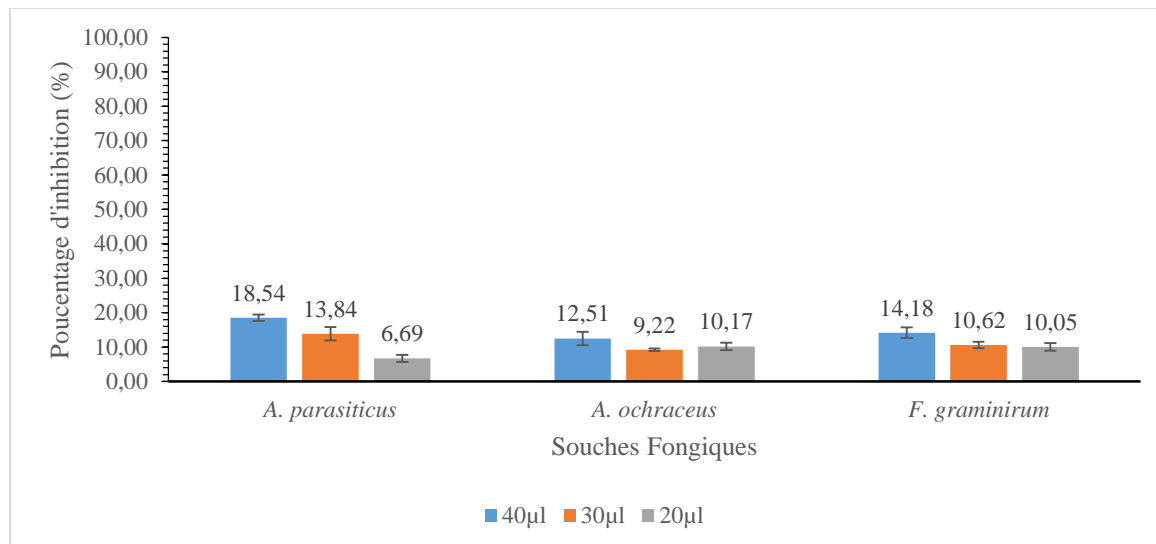
### II. 3.1.1. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait F2



**Figure 11** : Résultat de l'activité antifongique de l'extrait F2

Selon les résultats affichés sur la figure 11, l'extrait F2 a démontré une activité antifongique moyenne à la concentration 40µl contre *A. parasiticus* et *A. ochraceus* avec un pourcentage d'inhibition de 25.01%, 12.56 % Cette activité diminue avec la diminution de la concentration de l'extrait dans le milieu PDA, Un pourcentage d'inhibition nul est enregistré pour *F. graminirum*.2

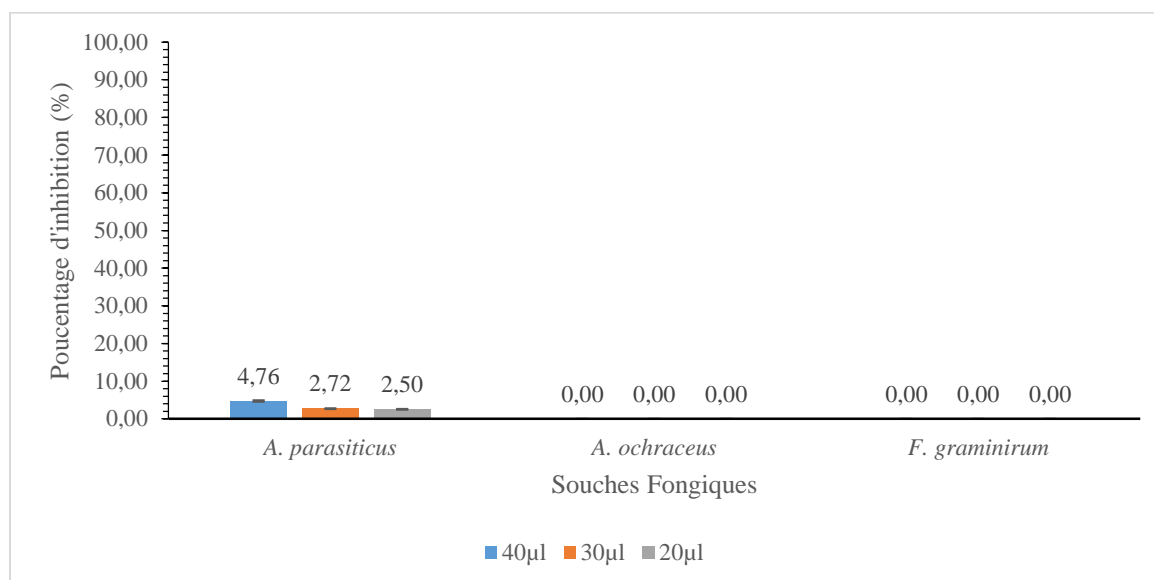
### II. 3.1.2. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait FX



**Figure 12 :** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait FX

Selon les résultats affichés sur la figure12 , la gamme de concentration réalisée pour l'extrait FX a démontré une activité antifongique contre toutes les moisissures sélectionnées. Les souches *A. parasiticus* , *A. ochraceus* et *F.graminirum* sont apparues plus sensibles à la concentration 40µl avec des pourcentages d'inhibition de 18.54 , 12.51% ,14.18% respectivement, ces activités sont considérées très bonnes. Cette activité diminue avec la diminution de la concentration de l'extrait dans le milieu PDA jusqu'à son diminution chez *A. ochraceus* a 30µl.

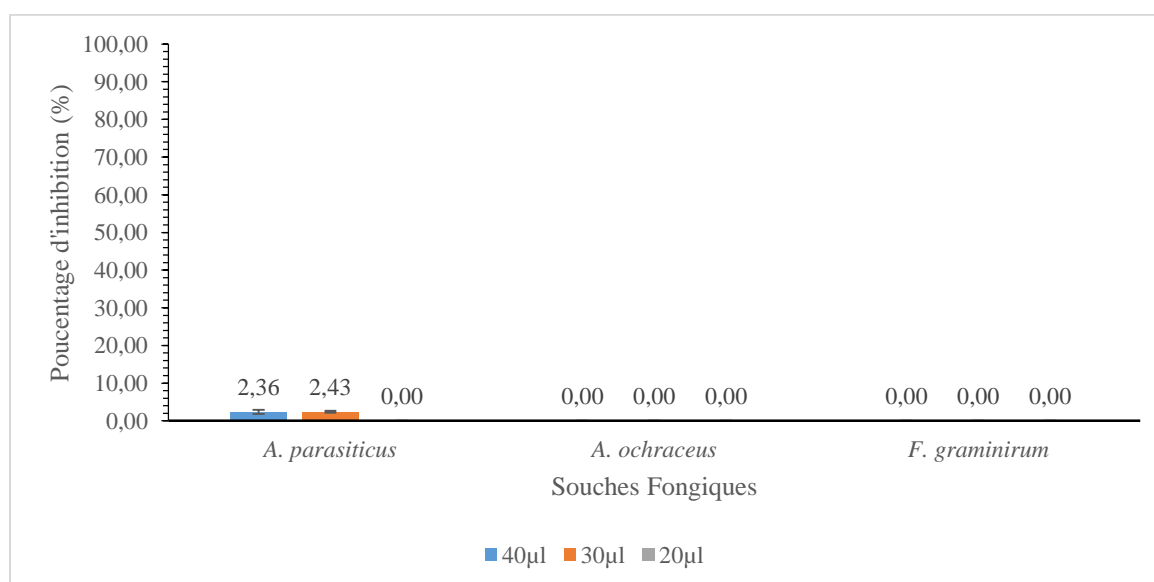
### II. 3.1.3. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait M



**Figure 13 :** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait **M4**

Selon les résultats affichés sur la figure 13 dévoile que les deux souches fongiques à savoir *A. parasiticus*, *F. graminearum* sont très résistantes à l'extrait M4 avec un pourcentage d'inhibition nul *A. ochraceus*, cette activité est désormais faible avec un pourcentage d'inhibition de 4.76% à la concentration 40µl.

#### II. 3.1.4. Résultat de l'activité antifongique de l'extrait M5



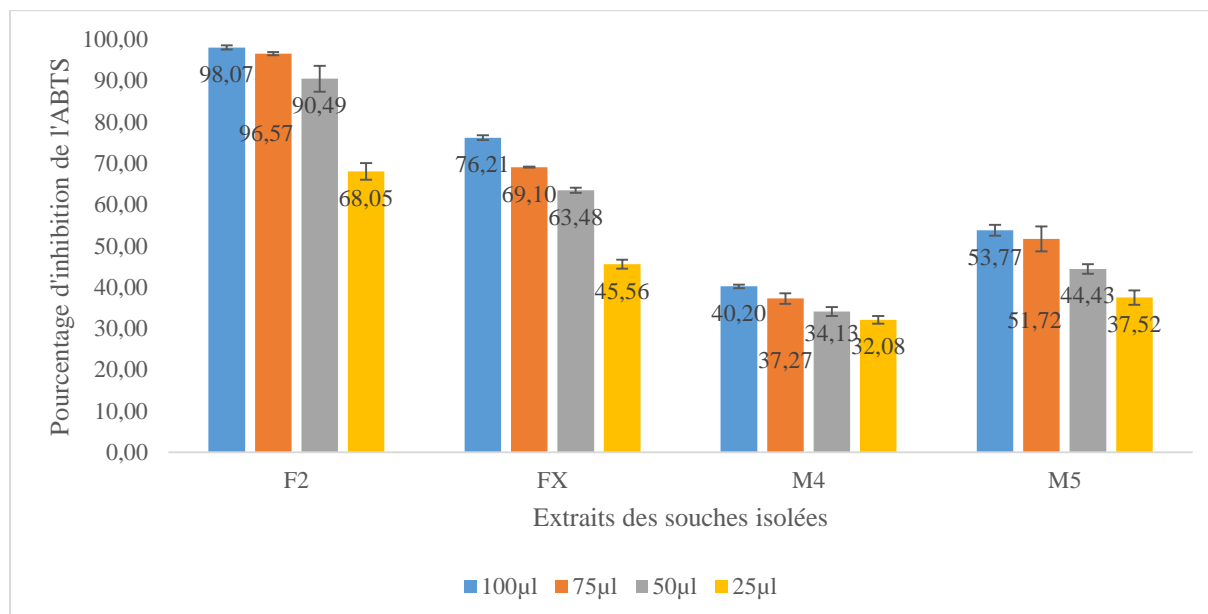
**Figure 14 :** Résultat de l'activité antifongique de l'extrait **M5**

Selon les résultats affichés sur la figure 14 dévoile que les deux souches fongiques à savoir *A. ochraceus*, *F. graminearum* sont très résistantes à l'extrait M5 avec un pourcentage d'inhibition nul *A. parasiticus*, cette activité est désormais très faible avec un pourcentage d'inhibition de 2.43% à la concentration 30µl et il est absent à une concentration de 20 µl

## II.4. L'activité antioxydant.

### II.4.1. Résultats de l'activité antioxydant

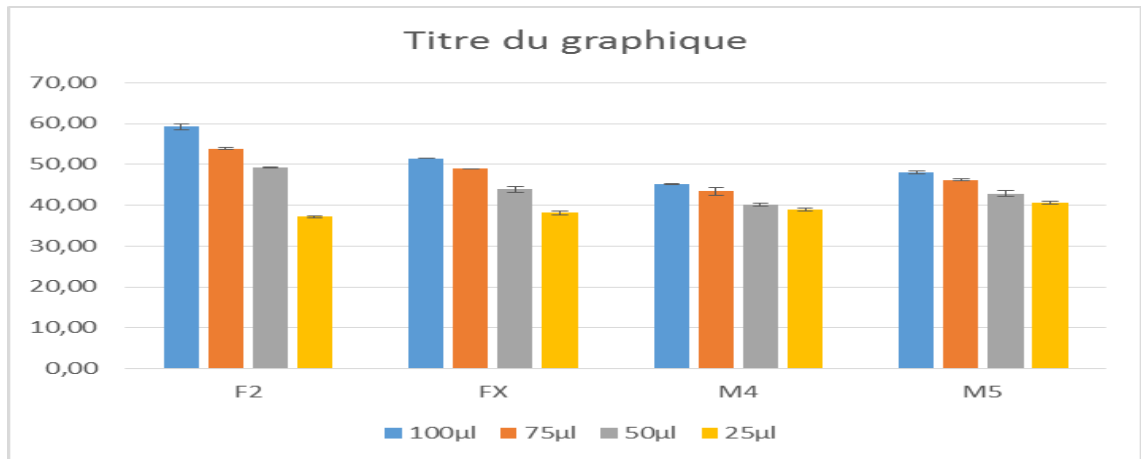
#### II.4.1.1. Résultats de l'activité antioxydant(ABTS)



**Figure 15 :** Résultats de l'activité antioxydant des métabolites secondaire obtenus de les souches **F2 FX M4 M5** contre le radicale ABTS

- ✓ l'extrait de la souche **F2** résulte une très bonne activité contre le radicale ABTS de 98.07%\_et cette valeur reste élevé tous le long de volume de l'extrait .
- ✓ l'extrait de la souche **FX** est montré une bonne activité contre le radical ABTS de 76.21 % et diminue avec la diminution du volume de l'extrait.
- ✓ l'extrait de la souche **M4** est montré une faible activité de pourcentage 40.20% qui diminue avec la diminution de volume de l'extrait.
- ✓ l'extrait de la souche **M5** on prouve une activité antioxydante de 53.77% contre l'ABTS, cette activité diminue avec la diminution de volume de l'extrait.

### II.4.1.2. Résultats de l'activité antioxydante(DPPH)



**Figure 16 :** Résultats de l'activité antioxydant des métabolites secondaire obtenus de les souches **F2 FX M4 M5** contre le radicale\_DPPH

- ✓ l'extrait de la souche **F2** résulte une bonne activité antioxydante contre le DPPH de 59.21%.
- ✓ l'extrait de la souche **FX** est prouver une activité antioxydant élevé contre le DPPH de 51.49% .
- ✓ l'extrait de la souche **M4** montre une faible activité avec le radicale DPPH qui ne dépassé pas la valeur 45.27% .
- ✓ l'extrait de la souche **M5** est montré une activité de pourcentage 48.05 %

## II.5 Discussion

De nombreuses espèces actinomycètes, en particulier celles appartenant au genre *Streptomyces*, sont bien connus comme agents de lutte biologique inhibant plusieurs champignons pathogènes (Errakhi et al., 2007; Khamna et al., 2009). L'analyse des séquences du gène de l'ARNr 16S a montré que toutes les souches isolées possèdent une similarité complète (100% de similitude) avec la base de données NCBI, ce qui signifie que toutes les souches isolées dans les deux forêts ont été déjà identifiées.

Nos résultats indiquent que parmi les 9 souches d'actinomycètes isolées des sources thermales (Commune de Saïda), certaines ont montré une nette performance à produire des molécules douées d'une activité antifongique.

Nous constatons que les deux souches F2, FX, ont montré une bonne activité contre la totalité des souches fongiques testées (*Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium graminearum*).

Par contre, les autres souches présentent une faible activité antifongique contre les souches fongiques sélectionnées.

Certaines études publiées ont déjà démontré l'activité antifongique des deux souches à savoir : F2, FX isolés à partir du sol ont présenté une activité antifongique. (Chang H, et al., 2008) sont actives sur les trois champignons (*Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium graminearum*), alors que *Aspergillus ochraceus* est le plus sensible.

Nos résultats indiquent que parmi les 9 extraits d'actinomycètes isolées à partir du sol (Wilaya de Saïda), certains ont montrés une bonne activité antioxydante pour le test DPPH et le test ABTS. Nous constatons que les extraits des souches (F2, FX, M4, M5), possèdent un pourcentage d'inhibition très élevé entre (98.07% et 40.20%) pour le radical ABTS par rapport aux autres souches, et pour le test DPPH, l'extrait de la souche ayant un pourcentage d'inhibition de (59.21% et 45.27%).

D'après l'étude de 4 souches d'actinomycètes isolées à partir du sol (Wilaya de Tlemcen), et d'après les résultats obtenus du test DPPH, la souche *Satureja calamintha* présente un pourcentage d'inhibition très élevé avec 90%.

Et pour le test ABTS la souche présente aussi un pourcentage d'inhibition très élevé avec 85.36%

*Conclusion générale  
et perspectives.*

## Conclusion :

De nombreux composés bioactifs à diverses activités biologique ont été isolés à partir des actinobactéries comme des molécules dotées de diverses activités telles qu'antibiotiques, Antifongiques, anticancéreux, anti tumoraux, anti-inflammatoires, antioxydants .

Dans le cadre de recherche de métabolites secondaires bioactifs des actinomycètes, le présent travail vise la production et l'extraction des molécules bioactives synthétisé par quatre souches d'actinomycètes ainsi que la mise en évidence de leurs activités antifongique et antioxydante.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antifongique et antioxydant des métabolismes secondaires produits par des actinomycètes isolés des sources thermales de la région de hammam rabi wilaya de saida .

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test d'antagonisme vis-à-vis de trois souches fongiques (*Aspergillus parasiticus*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus ochraceus*)

Selon les résultats dévoilés précédemment, nous concluons que l'extrait résultant des souches FX et F2 possède une importante activité contre les souches fongiques sélectionnées du a la présence de substance bioactive. L'extrait provenant des souches M5 et M4 ne possèdent aucune activité antifongique contre les trois souches *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium graminearum*, et pour *Aspergillus parasiticus* il y'a une très faible activité presque inexistante du a la résistance des souches fongiques ou l'absence de substances bioactives contre ces moisissures.

L'étude de l'activité antioxydante des quatre extraits bruts par la méthode du piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS, a révélé une meilleurs activité antioxydante pour les quatre extraits résultant des souches FX, F2, M4 et M5 évaluée avec les deux paramètres étudiée.

- ✓ Comme perspectives, cette étude doit être complétée par les points manquants suivants la purification et la caractérisation des extraits bruts dont le but d'identifier les molécules à l'origine de l'activité antioxydante et antifongique .
- ✓ Etude de l'activité antibactérienne des extraits sur des bactéries pathogènes.
- ✓ Etude de la toxicité *in vitro* et *in vivo* des substances bioactives.

*Références  
bibliographiques.*

## A

**Alharbi, N. S.** (2016). Novel Bioactive Molecules from Marine Actinomycetes. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 13(4), 1905-1927.

**Al-Zarban SS, Al-Musallam AA, Abbas IH, Fasasi YA.** 2002 Noteworthy salt-loving actinomycètes from Kuwait. *Kuwait JSci Eng* ; 29:99–109.

**Anandan, R., Dharumadurai, D., & Manogaran, G. P.** (2016). An Introduction to Actinobacteria.

**Andriambololona T.,** 2010 - Etude bibliographiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d'ANKAFOBE. Mémoire de recherche pour l'obtention du Diplôme d'études approfondies de biochimie. Université d'ANTANANARIVO, Madagascar : 5p.

**Aour L.,**2006-Mise en évidence des actinomycètes aérobies pathogènes impliqués dans les infections traitées au service des maladies infectieuses du CHU de Constantine. Etude des caractéristiques culturelles des souches isolées et purifiées. Diplôme de Magister, Université Mentouri Constantine : 101p.

**Arai T, Mikami Y.** **Chromogenicity of Streptomyces.** *Appl Microbiol* 1972 ; 23:402–6.

**Asolkar, R.N., Kirkland, T.N., Jensen, P.R., Fenical, W.** 2010 Arenimycin, an antibiotic effective against rifampin- and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from the marine actinomycete *Salinispora arenicola*. *J. Antibiot.*, (Tokyo), ; 63:37–9.

## B

**Barabas G, Vargha G, Szabo IM, Penyige A, Damjanovich S, Szollosi J, MatkoJ, Hirano T, Matyus A, Szabo I.** 2001 n-Alkane uptake and utilisation by *Streptomyces* strains. *A Van Leeuw.*; 79(3-4):269-276.

**Belyagoubi Larbi.** (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. Pp 9-10.

**Berdy J.** 2005. Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotics*, 58: 1-26.

**Berdy J.** 1980 Recent advances in and prospects of antibiotic research. *Process Biochem* ; 15:28.

**Bharti A, Kumar V, Gusain O, Bisht GS** (2010). Antifungal Activity of Actinomycetes isolated from Garhwal Region. *J. Sci. Eng. Technol. Manag.*, 2(2): 3-9.

## C

**Cavalla, M., & Eberlin, T.** (1994). Isolement des streptomycètes du sol. L'opéron, 19, 137.

**Chabasse, D.** (2002). Les phaeohyphomycètes agents de phaeohyphomycoses : Des champignons émergents. Journal de mycologie médicale, 12(2), 65-85.

**Chaudhary H.S, Yadav J, Shrivastava A.R, Singh S, Singh A.K, Gopalan N.** 2013 Antibacterial activity of actinomycetes isolated from different soil samples of Sheopur (A city of central India). Journal of advanced Pharmaceutical Technology and research. ; 4 (2): 118-123.

**Chen CC, Adolphson R, Dean JFD, Eriksson KEL, Adams MWW, Westpheling J.** 1997 Release of lignin from kraft pulp by a hyperthermophilic xylanase from *Thermotoga maritima*. Enzyme Microbiol Technol; 20(1):39-45.

**Cho JY, Kwon HC, Williams PG, Kauffman CA, Jensen PR, Fenical W.** 2006 Actinofuranones A and B, polyketides from a marine-derived bacterium related to the genus *Streptomyces* (Actinomycetales). J Nat Prod ; 69(3) :425-8.

**Choulet. F.** (2006). Evolution du génome des *Streptomyces* : transfert horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy 1, pp 210.

**Conn H, Leevy C, Vlahcevic Z, Rodgers J, Maddrey W, Seeff L,** 1977 Comparison of lactulose and neomycin in the treatment of chronic portal-systemic encephalopathy. A double blind controlled trial. Gastroenterology ; 72(4Pt 1) :573.

## D

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

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

**Demain, A.L.** (2000). Small bugs, big business: the economic power of the microbe. Biotechnol Adv. 18(6) : 499-514.

**Diraviyam T, Radhakrishnan M, Balagurunathan R.** 2011 Antioxidant activity of melanin pigment from *Streptomyces* species D5 isolated from Desert soil, Rajasthan, India. Drug Invention Today.; 3 :12-3.

**Donia M, Hamann MT.** 2003 Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. Lancet Infect Dis ; 3(6) :338-48.

## E

**Ellaiah P, Ramana T, Raju K, Sujatha P, Sankar A.** 2004 Investigations on marine actinomycetes from bay of Bengal near Kakinada coast of Andhra Pradesh. *Asian J Microbiol Biotechnol Environ Sci* ; 6:53–6.

**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

**Encarta**, 1998.- Digital multimedia encyclopedia published by Microsoft Corporation.

**Errakhi R, Bouteau F, Lebrihi A, Barakate M** (2007). Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *World J. Microb. Biot.* 23: 1503-1509.

**Eunice J. A. and Prosser J. I.**, (1983). Mycelial growth and branching of *Streptomyces coelicolor*. A3(2) on solid medium. *J. gen. Microbiol.* 129, 2029 –2036.

## F

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

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

**Fukamizo, T., Brzezinski, R.** (1997). Chitosanase from *Streptomyces* sp. strain N174 : a comparative review of its structure and function. *Biochem Cell Biol*, 75(6) :687–696.

## G

**Ghanem, N.B., Sabry, S.A, El-Sherif, Z.M., Abu El-Elal, G.A.** (2000). Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *J Gen Appl Microbiol*, 46 (3) : 105–111.

**Goodfellow M, Williams S.** 1983 Ecology of actinomycetes. *Ann Rev Microbiol* ; 37(1) :189–216.

**Goodfellow M, Haynes JA.** 1984 Actinomycetes in marine sediments. In : Ortiz-Ortiz L, Bojalil LF, Yakoleff V, editors. Biological, biochemical, and biomedical aspects of Actinomycetes. London–New York : Academic Press ;. p. 453–72

**Goodfellow M, Stainsby FM, Davenport R, Chun J, Curtis T.** 1998 Activated sludge foaming : the true extent of actinomycete diversity. Water Sci Technol. ; 37 : 511.

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

**Goodfellow M, O'Donnell AG.** 1994 Roots of bacterial systematic. In : The handbook of new bacterial systematic. London : Academic Press ;. Pp. 3–54.

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

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

## H

**Harir mohamed** 2018. Caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d'actinobactériés isolée des sols arides d'Algérie . Université Ahmed benbella Oran 1 .p21 \_31

**Henkel M, Muller MM, Kugler JH, Lovaglio RB, Contiero J, Syldatk C, Hausmann R.** 2012 Rhamnolipids as biosurfactants from renewable resources : concepts for next generation rhamnolipid production. Process Biochem.; 47(8) :1207-1219.

**Hodgson D.A.** (2000) Primary metabolism and its control in Streptomyces: a most unusual group of bacteria. Adv Microb Physiol. 42 :47-238.

**Hollstein U.** Actinomycines. Chemistry and mechanism of action. Chem Rev 1974 ; 74(6) :625–52.

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

**Haris C.,** 1989. - Introduction to modern microbiology. Blackwell scientific publication, 179 p.

## I

**Imada C.** 2004 Enzyme inhibitors of marine microbial origin with pharmaceutical importance. *Mar Biotech* 2004 ; 6(3) :193–8.

**Imada C.** 2005 Enzyme inhibitors and other bioactive compounds from marine actinomycetes. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2005 ; 87(1) :59–63

**Islam, M.R., Jeong, Y.T., Ryu, Y.J., Song, C.H., Lee, Y.S.** (2009). Isolation, Identification and Optimal Culture Conditions of *Streptomyces albidoflavus* C247 Producing Antifungal Agents against *Rhizoctonia solani* AG2-2. *Mycobiology*. 37(2) : 11420..

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

## J

**Jae Ho Lee, Ki Hyeon Choi, Sung Won Choi, Ji Tae Kim, Ki Suk Doh, Jae Seong Yang.** (2001). New actinomycetes strain compositions and their use for the prevention and/or the control of micro organism inducing plant diseases. (Universite De Reims ChampagneArdenne). Brevet citant : WO 2010115802 A1

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

**Jensen PR, Williams PG, Oh DC, Zeigler L, Fenical W.** 2007 Species-specific secondary metabolite production in marine actinomycetes of the genus *Salinispora*. *Appl Environ Microbiol* 2007 ; 73(4) : 1146–52.

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

## K

**Kanini, G. S., Katsifas, E. A., Savvides, A. L., Hatzinikolaou, D. G., & Karagouni, A. D.** (2013). Greek indigenous streptomycetes as biocontrol agents against the soil-borne fungal plant pathogen *Rhizoctonia solani*. *Journal of applied microbiology*, 114(5), 14681479.

**Khamna S, Yokota A, Peberdy JF, Lumyong S** (2009). Antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from rhizosphere of Thai medicinal plants. *Int. J. Integr. Biol.*, 6(3): 143-147.

**Kieser, T., Bibb M.J., Buttner M.J., Chater K.F., Hopwood D.A.** (2000). Practical *Streptomyces* genetics. John Innes Centre, Norwich Research Park.

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

**Korn-Wendisch F. et Kutzner H. J.** (1992) The family Streptomycetaceae, dans: Balows A., Truper H. G., Dworkin M., Harder W et Schleifer K. H. *The Prokaryotes*. Springer Edition New York : 921-995.

**Kunz C, Ludwig A, Bertheau Y, Boller T.** 1992 Evaluation of the antifungal activity of the Purified chitinase 1 from the filamentous fungus *Aphanocladium album*. *FEMS Microbiol Lett* 1992 ; 90(2) :105–9.

## L

**Lacey, J.** (1973). Actinomycetes in soils, composts and fodders. In : *Actinomycetales : characteristics and practical importance*. Eds. : G. Sykes, F.A. Skinner. Academic press, London, New York. 231–251.

**Larpent, J.-P., Larpent-Gourgaud, M.** (1985). *Éléments de Microbiologie*. Hermann. Paris. 264 p.

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

**Lichtman H, Watson J, Ginsberg V, Pierce JV, Stokstad EL, Jukes TH.** 1949 Vitamin B12b some properties and its therapeutic use. *Exp Biol Med*. 1949; 72(3):643-645.

## M

**Magnusson J, Ström K, Roos S, Sjogren J, Schnürer J.,** 2003, Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 219, 129-135.

**Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K., & Kim, S. K.** (2013). Marine actinobacterial metabolites : current status and future perspectives. *Microbiological Research*, 168(6), 311-332.

**Marchant R,** 2012 Banat IM. Microbial biosurfactants : challenges and opportunities for future exploitation. *Trends Biotechnol.* 2012 ; 30(11) :558-565.

**Mathivanan N, Kabilan V, Murugesan K.** 1998 Purification, characterization, and antifungal activity of chitinase from *Fusarium chlamydosporum*, a mycoparasite to groundnut rust, *Puccinia arachidis*. *Can J Microbiol* 1998 ; 44(7) :646–51.

**Miller ED, Kauffman CA, Jensen PR, Fenical W.** 2007 Piperazimycins cytotoxic hexadepsipeptides from a marine derived bacterium of the genus *Streptomyces*. *J Org Chem* 2007 ; 72 : 323–30.

**Mokhtari Abdelmoumen et Molai Arbi Fatima** (2018), Evaluation et optimisation du potentiel antioxydant d'une souche d'actinobactérie ,Pp 4\_5

## N

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

**Niehaus F, Bertoldo C, Kähler M, Antranikian G.** Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. *Appl Microbiol Biotechnol* 1999 ; 51(6) :711–29.

**Niraula, N.P., Shrestha, P., Oh, T.J., Sohng, J.K.** (2010). Identification and characterization of a NADH oxidoreductase involved in phenylacetic acid degradation pathway from *Streptomyces peucetius*. *Microbiol Res*, 165(8) : 649–56.

## O

**Okami Y., Hott A., K.,** (1988). Search and discovery of new antibiotics. In "Goodfellow M., Williams S.T., Mordarski M. (eds.) *Actinomycetes in biotechnology*. Academic Press. London. Pp 33-67.

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

## P

**Pandey A, Shukla A, Majumdar S.** 2005 Utilization of carbon and nitrogen sources by *Streptomyces kanamyceticus* M 27 for the production of an Anti bacterial antibiotic. *Afr J Biotech* 2005 ; 4(9) : 909–10.

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

**Pillmoor JB.** Carbocyclic coformycin : a case study of the opportunities and pitfalls in the industrial search for new agrochemicals from nature. *Pestic Sci.* 1998 ; 52(1) :75 80.

**Pizzul.L.** (2006). *Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Actinomycetes*. Thèse de Doctorat. Université d'Uppsala (Suède). Ou. X ; Zhang. B ; Zhang. L ; Dong. K ; Liu. C ; Zhao. G ; and Ding. X. (2008). SarA influences the

sporulation and secondary metabolism in *Streptomyces coelicolor* M145. *Acta. Biochim. Biophys Sin*, 40 (10) 877

**Pochon, J., & Tardieux, P.** (1962). *Techniques d'analyse en microbiologie du sol.*

**Prapagdee B, Kuekulvong C, Mongkolsuk S** (2008). Antifungal Potential of Extracellular Metabolites Produced by *Streptomyces hygrosopicus* against Phytopathogenic Fungi. *Int. J. Boil. Sci.*, 4(5): 330-337. 2842 *Afr. J. Agric. Res.*

**Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A.** 2010. *Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp : 1088.*

## R

**Raja S, Ganesan S, Sivakumar K, Thangaradjou T.** Screening of marine actinobacteria for amylase enzymes inhibitors. *Ind J Microbiol* 2010 ; 50 (2) : 233–7.

**Rickes EL, Brink NG, Koniuszy FR, Wood TR, Folkers K.** Crystalline vitamin B12. *Sci.* 1948 ; 107(2781) : 396-397.

## S

**Sabaou. N.** 1988. Contribution à l'étude des actinomycètes des sols des palmeraies algériennes : systématique et ecologie. Thèse doc : USTHB. Pp : 192.

**Sanchez S, Demain AL.** 2002 Metabolic regulation of fermentation processes. *Enzyme Microbial Technol* ; 31(7) :895–906.

**Schumacher RW, Talmage SC, Miller SA, Sarris KE, Davidson BS, Goldberg A.** Isolation and structure determination of an antimicrobial ester from a marine sediment-derived bacterium. *J Nat Prod* 2003 ; 66(9) :1291–3.

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

**Shinji Kawasaki.** (2004). (Rice blast : interaction with rice and control : proceedings of the 3rd International Rice Blast Conference). Dordrecht, NE ; Boston : Kluwer Academic Publishers,

**Sivakumar K, Sahu MK, Thangaradjou T, Kannan L.** 2007 Research on marine actinobacteria in India. *Ind J Microbiol*; 47(3) :186–96.

**Smaoui. S.** 2010. Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse doc : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). Pp : 207.

**Souhila, K.** (2012). Les actinomycètes d'un sol salé : rôle des osmoprotecteurs naturels (Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas de Sétif 1).

**Stackebrandt E., Rainey F. A. et Ward-Rainey N. L.** (1997) Proposal for a new hierarchic classification system Actinobacteria classis nov. *Int J Syst Bacteriol.* 47: 479-491.

**Stackebrandt E. et Schumann P.**(2006) Introduction to the Taxonomy of Actinobacteria, dans: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K., Stackebrandt E. *Prokaryotes*. Springer Science, Business Media, LLC edition New York, USA : 297-321.

## T

**Tanaka Y, Omura S.** Metabolism and products of actinomycetes. An introduction *.Actinomycetologica* 1990 ; 4(1) :13-4.

**Techapun C, Poosaran N, Watanabe M, Sasaki K.** Thermostable and alkaline-tolerant microbial cellulase free xylanases produced from agricultural wastes and the properties required for use in pulp bleaching bioprocess : a review. *Process Biochem* 2003 ; 38(1) :1327-40.

**Tsujibo H Kubota T, Yamamoto M, Miyamoto K, Inamori Y.** Characterization of chitinase genes from an alkaliphilic actinomycete. *Nocardiosis prasina* OPC-131. *Appl Environ Microbiol* 2003 ; 69(2) :894-900.

## U

**Uchida A. et Seino A.** (1997) Intra and inter generic relationships of various actinomycete strains based on the acyl types of the muramyl residue in cell wall peptidoglycane examined in glycolate test. *Int J Syst Bacteriol.* 47: 182-190.

## V

**Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G.F., Chater, K.F., van Sinderen, D.** (2007). Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol Mol Biol Rev*, 71(3): 495-548.

**Van Wyk J, Mogale A, Seseng T.** Bioconversion of wastepaper to sugars by cellulase from *Aspergillus niger*. *Trichoderma viride* and *Penicillium funiculosum*. *J Solid*

**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 *Waste Technol Manage* 2001 ; 27(2) :82-6.

## W

**Waksman SA. On the Classification of Actinomycetes. J Bacteriol.** 1940 ; 39 : 549-58. Chaudhary et al. / Journal of Applied Pharmaceutical Science 3 (8 Suppl 1) ; 2013 : S83S94.

**Williams, s. T., m. Goodfellow, g. Anderson, e. M. H. Wellington,p. H. A. Sneath, m. J. Sackin.** 1983-Numerical classification of Streptomyces and related genera. J. Gen. Microbiol : 1743-1813.

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

**Williams S.T., Goodfellow M. et Alderson G.** (1989) Genus Streptomyces.

**Windish WW, Mhatre NS.** Microbial amylases. In : Wayne WU, editor. Advances in Applied microbiology, 7. New York : Academic Press ; 1965. p. 273–304 (3).

## Y

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

**You JL, Xue XL, Cao LX, Lu X, Wang J, Zhang LX** Inhibition of Vibrio biofilm formation by a marine actinomycete strain A66. Appl Microbiol Biotechnol 2007 ; 76(5) :1137–1144.

## Z

**Zaitlin, B., Watson, S.b., Ridal, J., Satchwill, T., Parkinson, D.** (2003). Actinomycetes in lake Ontario : Habitats and geosmin and MIB production. Res J Can, 95 (2) : 113-118.

**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.

**Zenova G.** Melanoid pigments of Actinomycetes. Mikrobiologia 1965 ; 34(2) :278.

**Zhi, X.Y., Li, W.J., Stackebrandt E.** (2009). An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. Int J Syst Evol Microbiol,59 (Pt 3): 589–608.

**Zouaghi A.,** 2007 Optimisation de la production de l'Oxytétracycline par Streptomyces rimosus. Diplôme National d'Ingénieur. Université 7 Novembre de Carthage : 12p

## *Annexes*

### 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>	4 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