

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
Université Amar thelidji Laghouat
كلية العلوم
Faculté des sciences
قسم البيولوجيا
Département de biologie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Science Biologique

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

*Etude de l'activité antifongique et insecticide d'une bactérie
du genre Streptomyces sur quelques phytopathogènes (étude
In Vivo)*

Présenté par :

Boudjemaa Moufida

Soutenue publiquement le 04 Juillet 2022

Devant le jury :

Mohamed Amine Gacem	Promoteur	M.C.B	Université Amar Telidji –Laghouat
Badreddinne Boudjemaa	Co –promoteur		Université Amar Telidji –Laghouat
Kamel Krantar	Président	M.A.A	Université Amar Telidji –Laghouat
Mohamed Houcine Zerrouki	Examineur	M.A.A	Université Amar Telidji –Laghouat

Remerciement

Avant tous, nous remercions Allah, le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tous d'abord, notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadreur Mr. Gacem Mouhamed Amine de nous avoir encadré et d'accepter de diriger ce travail, pour ses conseils et ses précieuses orientations.

Nous sincères remerciements s'adressent également à Mt. Boudjemaa Baderedine pour son aide durant la réalisation de ce travail

Un grand merci à Melle. Rouari Linda pour sa gentillesse et pour son aide durant la réalisation de ce travail

Nous tenons à remercier les membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos sincères remerciements aux ingénieurs de laboratoire

Grands et respectueux remerciements s'adressent à tous les enseignants du Département de Biologie pour leurs aides et leurs dévouements à leurs missions académiques

Un grand merci à toutes personnes qui nous ont aidé de proche ou loin lors de la réalisation de ce travail.

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 Notre unique et seul atout Je dédie ce mémoire à...

Mes très chers parents et mon frère Tahar, mes sœurs.

À mon frère et prof Badreddinne Pour leur patience, leur présence à mes côtés et leur
contribution à l'élaboration de ce manuscrit

A Dr Gacem Mohamed amine maitre-assistant Un remerciement particulier et sincère pour
tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présent. Que ce travail soit un témoignage
de ma gratitude et mon profond respect.

A tous mes collègues de master 2 promotion 2022 En témoignage de l'amitié qui nous unit
et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.

MOUFIDA

Table des matières

	pages
Remercîments	
Dédicace	
Liste des abréviations	I
Liste des figures	II
Liste des photos	II
Liste des tableaux	IV
Résumé	V
Abstract	VI
ملخص	VII
Introduction	1
Partie I : Etude bibliographique	
I	Généralité sur les Actinobactéries 5
I. 1	Définition des Actinomycètes 5
I. 2	Habitat des actinobactéries 5
I. 2 .1	Les actinobactéries dans l’environnement terrestre 5
I. 2. 2	Les actinobactéries dans les écosystèmes aquatiques 6
I. 2. 3	Les actinobactéries endophytes 6
I. 3	Cycle de développement 7
I.4	Taxonomie et critères de classification des actinobactéries 8
I .4 . 1	Systématique des actinobactéries 8
I. 4 .2	Critères et outils de classification 8
I. 4. 2. a	Caractéristiques morphologiques 8
I. 4. 2 .b	Morphologie des spores. 9
I. 4. 2 .c	Caractères physiologiques 10

I. 4. 2 .d	Classification moléculaire	11
I. 5	Taxonomie des actinobactéries	12
I. 6	Métabolisme des actinomycètes	14
I. 7	Potentiels biotechnologiques des actinobactères	16
I. 8	Activité insecticide des actinobactéries	16
I. 9	Activité antibactérienne et antifongique des actinobactéries	16
I. 10	Caractéristiques antimycotoxinogène des actinobactéries	17
I. 10 .1	Mycotoxines	17
I. 11	Actinobactéries comme agents de détoxification des mycotoxines	17
I. 12	Composés anticancéreux et anti oxydants	19
I. 13	Actinobactéries pathogènes et phytopathogènes	19

Partie II : étude expérimentale

II. Matériel et méthodes

II	Matériel et méthodes	22
II.1	Matériel biologique	22
II. 1. 1	Souches fongique mycotoxinogènes et les souches d'actinomycètes	22
II. 2	Vérification de la pureté des souches fongique par la technique de micro culture	22
II. 3	Evaluation du pouvoir antifongique de l'isolat d'actinomycète par la technique des cylindres	23
II. 3. 1	Préparation de suspension fongique	23
II. 4	Détermination de l'activité antifongique des extraits par la méthode de puits	24
II. 5	Evaluation de l'activité insecticide des extraits bruts	25
II. 6	Evaluation In Vivo de l'activité antifongique de la souche	27
II. 6. 1	Propriétés du sol	27

II. 6. 2	Préparation de suspensions microbiennes	27
II. 6. 3	Enrobage de graines de tomates	27
II. 6. 4	Préparation des sols infectés	27
II. 6. 5	Tests de bio contrôle	28

Partie III : Résultats et discussions

III	Résultats et discussions	30
III. 1	Vérification de la pureté des moisissures par la méthode de micro-culture	30
III. 1. 1	Résultats obtenus par la méthode de micro-culture	30
III. 2	Résultat de l'activité antifongique obtenue par la méthode directe (test par les cylindres)	32
III. 3	Résultats de l'activité antifongique évaluée par la technique des puits	34
III. 4	Résultat de l'activité insecticide	34
III. 5	Résultat de l'activité antifongique <i>In vivo</i>	37
III. 6	Discussion	42
	Conclusion et perspectives	44
	Annexes	46
	Références bibliographiques	

Liste des abréviations

ADN.	Acide désoxyribonucléique
ARNr.	Acide ribonucléique ribosomique
ATP.	Adénosine tri phosphate
CaCO₃C.	Carbonate de Calcium
CSA.	Starch Casein Agar
DO.	Densité Optique
DPPH.	Diphénylpicrylhydrazyle
G + C.	Guanine + cytosine
GYM.	Glucose -Levure –Malt
NRPS.	Polypeptide synthase non ribosomique
OTA.	Ochratoxine A
PDA.	Dextrose à la Pomme de Terre
PKS.	Polykétides synthase
QInb.	Qualité zone inhibitrice
UFC.	Unité formant colonie
µl.	Microlitre

Lise des figures

Figure 1	Ecosystèmes et niches écologiques considérés comme habitat d'actinobactéries	7
Figure 2	Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes sporulantes	8
Figure 3	Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète	9
Figure 4	Les différents types de chaînes de spores produites par certains genres d'actinomycètes.	10
Figure 5	Techniques d'identification des genres fongiques.	17
Figure 6	Préparation des suspensions fongiques (inoculum) par la méthode de micro-dilution en milieu liquide	18
Figure 7	Evaluation de l'activité antifongique par la méthode des puits	25
Figure 8	Résultat de l'activité insecticides de l'extrais brute X contre les pucerons obtenus à partir de culture d'haricot	36
Figure 9	Germination des graines de tomates non traitées par les actinomycètes dans le sol stérile.	40
Figure 10	Germination des graines de tomates traitées par les actinomycètes dans le sol stérile.	40
Figure 11	Germination des graines de tomates non traitées par les actinomycètes dans le sol non stérile.	41
Figure 12	Germination des graines de tomate traitées par les actinomycètes dans le sol stérile.	41

Liste des photos

Photo 1.	Evaluation de l'activité insecticide des extraits bruts d'actinomycète.	26
Photo 2.	Aspect de la souche actinobactéries X 2 sur milieu GYM.	30
Photo 3	Aspect microscopique des souches fongiques.	32

Liste des tableaux

Tableau 1	Habitat de certains actinobactéries	6
Tableau 2	Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries	12
Tableau 3	Métabolites secondaires isolés des Actinomycètes	15
Tableau 4	Activité antimycotoxinogène des Streptomyces contre quelques mycotoxines	18
Tableau 5	Souches fongique utilisées pour tester l'activité biologique des actinomycètes	22
Tableau 6	La densité optique des moisissures utilisée	24
Tableau 7	Résultat de l'activité antifongique de souche X2 évaluée par la méthode directe (test des cylindres).	33
Tableau 8	Résultats de l'activité antifongique de l'extrait X2	34
Tableau 9	Résultats <i>in vivo</i> de l'activité antifongique	38

Résumé

Etude de l'activité antifongique d'une bactérie du genre *Streptomyces* sur quelques moisissures phytopathogènes (étude In Vivo).

Les métabolites secondaires issus des actinobactéries et leurs dérivés ont une longue histoire comme agents antimicrobiens. Cependant, leur utilisation comme préservateurs contre les phytopathogènes a été rarement rapportée. Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique et insecticide des extraits brutes d'un isolat d'actinomycète obtenu de la collection microbienne du Dr Gacem MA.

L'étude de l'activité antifongique in vitro a montré une bonne activité inhibitrice contre *d'Apergilus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium lycopersici*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus* et *Fusarium avenaceum*. A 30µl d'extrait, une excellente activité antifongique est enregistrée contre *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum* et *Aspergillus flavus* et avec des pourcentages d'inhibitions de 15, 13 et 12%, respectivement.

L'analyse de l'activité insecticide des extraits brutes de l'isolat X2 a montré une extinction totale des pucerons noirs après 33h de traitement à 25µl d'extrait.

L'activité antifongique testé in vivo a affirmé que l'isolat X2 possède un pouvoir stimulant la germination des graines de tomates, il est également capable de protéger les graines germées contre les infections fongiques provoquées. Les résultats de cette étude montrent que l'isolat X2 pourrait avoir un potentiel important pour le contrôle biologique des champignons dans les cultures agricoles.

Mots clé : l'activité antifongique, genre *Streptomyces*, moisissures phytopathogènes, études in vivo

Abstract

Study of the antifungal activity of a bacterium of the genus *Streptomyces* on some phytopathogenic molds (In Vivo study).

Secondary metabolites from actinobacteria and their derivatives have a long history as antimicrobial agents. However, their use as preservatives against plant pathogens has been rarely reported. This work focuses on the study of the antifungal and insecticidal activity of crude extracts of an actinomycete isolate obtained from the microbial collection of Dr Gacem MA.

The study of antifungal activity in vitro showed good inhibitory activity against *Apergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium lycopersici*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus* and *Fusarium avenaceum*. At 30µl of extract, excellent antifungal activity is recorded against *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum* and *Aspergillus flavus* and with inhibition percentages of 15, 13 and 12%, respectively.

The analysis of the insecticidal activity of the raw extracts of isolate X2 showed total extinction of black aphids after 33 hours of treatment with 25 µl of extract. The antifungal activity tested in vivo affirmed that isolate X2 possesses stimulating power of tomato seeds germination, it is also able to protect germinated seeds against caused fungal infections. The results of this study show that the X2 isolate could have significant potential for the biological control of fungi in agricultural crops.

Key words: antifungal activity, genus *Streptomyces*, phytopathogenic moulds, in vivo studies.

ملخص

دراسة النشاط المضاد للفطريات لبكتيريا من جنس المتسلسلات على بعض القوالب الممرضة للنبات (دراسات في الجسم الحي)

المستقبلات الثانوية من البكتيريا الشعاعية ومشتقاتها لها تاريخ طويل كعوامل مضادة للميكروبات. ومع ذلك ، نادرًا ما تم الإبلاغ عن استخدامها كمواد حافظة ضد مسببات الأمراض النباتية. يركز هذا العمل على دراسة الفعالية المضادة للفطريات والمبيدات الحشرية للمستخلصات الخام لعزل الشيعيات المتحصل عليها من المجموعة الميكروبية للدكتور قاسم م.ا.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للفطريات في المختبر نشاط مثبط جيد ضد *Penicillium*، *Apergilus flavus*، *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus ochraceus*، *Fusarium lycopersici*، *expansum*، *Fusarium avenaceum*. عند 30 مايكرو لتر من المستخلص، تم تسجيل نشاط مضاد للفطريات ممتاز ضد *Fusarium oxysporum* و *Fusarium avenaceum* و *Aspergilus flavus* وبنسب تثبيط 15 و 13 و 12٪ على التوالي.

أظهر تحليل الفعالية المبيدات الحشرية للمستخلصات الخام للعزلة X2 الانقراض التام لحشرات المن الأسود بعد 33 ساعة من المعاملة مع 25 ميكرو لتر من المستخلص. أكد النشاط المضاد للفطريات الذي تم اختباره في الجسم الحي أن العزلة X2 تمتلك قوة تحفيز إنبات بذور الطماطم ، كما أنها قادرة على حماية البذور النابتة من الالتهابات الفطرية المسببة. أظهرت نتائج هذه الدراسة أن العزلة X2 يمكن أن يكون لها إمكانات كبيرة في مكافحة البيولوجية للفطريات في المحاصيل الزراعية

. **الكلمات المفتاحية:** نشاط مضاد للفطريات، جنس المتسلسلات، قوالب ممرضة للنبات، دراسات في الجسم الحي

Introduction

Il y a quelques décennies, le monde croyait que la science avait triomphé des maladies infectieuses et que tout était sous contrôle. Les vaccins et les antibiotiques ont effectivement permis de vaincre ou contrôler certains fléaux comme la variole ou la tuberculose. On a même cru, un bref instant, que les menaces bactériennes et virales appartenaient au passé. Mais certains événements nous rappellent que nous devrions toujours faire face à de nouveaux défis infectieux : 8400 patients dans plus de 30 pays ont été atteints du syndrome respiratoire aigu (SARS) en 2003, la grippe aviaire s'est transmise aux humains, le SIDA (grand fléau du siècle passé) continue de faire des victimes, les épidémies de fièvres hémorragiques font des ravages en Afrique et de nombreuses questions restent ouvertes sur la maladie. **(Neil et al., 2017)**

L'émergence de nouveaux microbes et la transmission de ceux-ci ont été favorisées, entre autres, par la mobilité croissante des gens, l'exportation d'animaux et de nourriture, une population plus âgée avec des comorbidités plus importantes (HIV, patients transplantés, patients immunodéprimés) ainsi que par des attitudes thérapeutiques parfois plus agressives, en particulier dans le contexte des soins intensifs. L'apparition de nouvelles maladies et la réémergence d'anciennes ne sont finalement que des signes d'une impressionnante adaptabilité des microorganismes à notre environnement et à nos moyens de défense. **(Anwaret et al., 2015)**

Depuis l'introduction des antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique des maladies infectieuses, les microorganismes ont développé des moyens de défense leur conférant une insensibilité aux antibactériens. Ces résistances aux antibiotiques aux doses thérapeutiques apparaissent plus ou moins rapidement selon la complexité chimique des antibiotiques et du patrimoine génétique de la bactérie. Le mécanisme de résistance peut avoir comme support génétique un gène d'origine plasmidique ou chromosomique. La réponse de la bactérie est souvent complexe, il peut s'agir d'empêcher l'antibiotique de pénétrer à l'intérieur de la cellule bactérienne, d'inactiver le xénobiotique par des enzymes ou modifier le site d'action de l'antibiotique, voire de synthétiser des systèmes additionnels qui permettent de contourner l'action de l'antibiotique, voire de le refouler activement à l'extérieur (efflux) **(Reggani et al., 2021)**.

Toutes les microorganismes sont concernés par le phénomène de la résistance aux antibactériens. La résistance aux antimicrobiens est un phénomène universel, qui semble plus aigu dans certains pays en voie de développement. Dans les pays industrialisés, le même phénomène peut être décrit **(Ixchel, 2021)**.

Devant cette émergence de l'antibiorésistance, la découverte de nouvelles molécules représente donc un besoin qui ne peut être comblé que soit par :

- l'extraction de nouveaux dérivés chez des mutants de souches répertoriés,
- la synthèse de nouvelles molécules semi synthétiques à partir de structures connues ou la synthèse de nouveaux dérivés,
- l'analyse des produits de fermentation de nouvelles espèces bactérienne ou fongiques isolées à partir des écosystèmes inexploités.

Les actinobactéries sont des bactéries du sol qui ont un grand potentiel biotechnologique en raison de leur capacité à produire une grande variété de métabolites secondaires. Ils appliquent une série de mécanismes antagonistes qui leurs confèrent la capacité de combattre les champignons pathogènes ; de plus, ces bactéries ont des effets bénéfiques sur les plantes. En effet, ils sont capables de stimuler la croissance et la défense des plantes. En outre, leur capacité à produire des enzymes leur confère un potentiel comme outils de détoxification des mycotoxines. Pour ces raisons principales, les actinobactéries constituent une stratégie prometteuse pour gérer les contaminations fongiques et les risques de mycotoxine **(Ixchel, 2021)**

Malgré les recherches avancées dans le domaine agricole et la conservation des aliments, les champignons phytopathogènes et les insectes nuisibles continuent à persister avec plus de difficultés lors de l'éradication, ceci constitue une barrière infranchissable en raison des phénomènes de biorésistances aux agents chimiques. Afin de contourner ces problèmes et d'éliminer ces pathogènes avec moins de nocivité sur l'Homme et son environnement, les méthodes de lutttes biologiques constituent la solution idéale face aux problèmes de résistance

Pour se faire, une synthèse bibliographique représentant la première partie de notre étude est réalisée afin de regrouper les informations essentielles sur la biologie et biotechnologie des actinobactéries. Les titres abordés comprennent l'abondance, la diversité, la distribution biogéographique, et l'importance biotechnologique des actinobactéries.

Dans la seconde partie de notre étude, la méthodologie est représentée par les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail suivie des principaux résultats et leurs discussions.

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

*Partie I : Etude
Bibliographique*

Généralités Sur Acétobacters

I Généralité sur les Actinobacteres

I.1 Définition des Actinomycètes

Le phylum des actinobactéries est l'un des plus grands phylums **(Reggani et al.,2021)** Le nom « Actinomycètes » est dérivé du grec «Aktis» (un rayon) et «mykes» (champignon), Les actinomycètes sont des bactéries aérobies à Gram positif formant des spores, elles appartiennent à aux bactéries caractérisées par un mycélium aérien et celui du substrat. Elles ont un pourcentage élevé en G+C **(Pasindu, 2016)**. La majorité des actinobactéries sont des micro-organismes ubiquitaires en milieu terrestre et dans les habitats aquatiques, dans le sol, ils représentent environ 10 à 33% de la microflore totale **(Bafghi, 2018)**, ils sont aussi présents dans les environnements extrêmes tels que les grottes, les eaux profondes, et les environnements désertiques **(Feiyang, 2021)**

Les actinobactéries ont un rôle primordial dans les écosystèmes environnementaux, en revanche, leur présence est largement influencée par de nombreux facteurs biotiques et abiotiques tels que l'humidité, la température, la composition du sol, le pH et la diversité végétale **(Bafghi, 2018)**. Vu leurs omniprésences dans de nombreux environnements, les souches actinobactéries sont principalement mésophiles, cependant, des espèces thermophiles sont aussi identifiées, elles sont capables de croître dans des températures comprises entre 50 °C et 60 °C **(Reggani et al., 2021)**. Dans leur environnement, les actinomycètes ont la capacité de synthétiser plusieurs substances bioactives comme par exemple : des antibiotiques, des herbicides, des pesticides, des antiparasitaires, et des enzymes. **(Selvamohan, 2016)**.

I. 2 Habitat des actinobactéries

Les actinobactéries sont abondantes dans la nature, sur terre et dans l'eau. Elles sont présentes dans les sols glaciers de l'Arctique, dans les sources chaudes, dans les eaux et les sédiments des mers salées. Certaines actinobactéries se développent dans des environnements qui maintiennent une température stable entre 10 et 15°C et avec une humidité relativement élevée. **(Klamath., et al 2019)**

I. 2. 1 Les actinobactéries dans l'environnement terrestre

Dans de nombreux écosystèmes terrestres, les actinomycètes constituent une grande partie de la population microbienne du sol, de plus, le sol est également la source la plus productive de ségrégas. Les actinobactéries abondantes fournissent des antibiotiques et d'autres métabolites précieux. Dans de nombreux sols, les streptomycètes sont les plus abondantes. Cependant, dans les écosystèmes terrestres extrêmes, les espèces rares prennent le contrôle de la population microbienne **(Bawazir et shantaram, 2018)**

I. 2. 2 Les actinobactéries dans les écosystèmes aquatiques

L'environnement aquatique se diffère fortement de l'environnement terrestre, et par conséquence, les caractéristiques biologiques des actinomycètes aquatiques se diffère des actinobactéries présentes dans les sols terrestres. Les actinomycètes se développent également dans les réservoirs d'eau potable, ce qui influe sur la qualité de l'eau en causant des odeurs de sol dues à leur production de métabolites secondaires volatils (**Bawazir et Shantaram, 2018**)

I. 2. 3 Les actinobactéries endophytes

Chez de nombreuses plantes, les actinomycètes sont présents dans la rhizosphère et le rhizoplan, l'exemple le plus connu est celui du genre *Frankia*, ces actinobactéries sont endophytes, elles sont capables de fixer l'azote au niveau des nodules racinaires dans de nombreuses plantes et arbres (**Bawazir et shantaram, 2018**). Le tableau 1 et la figure 1 présentent des exemples d'écosystèmes considérés comme réservoir pour de nombreuses espèces d'actinobactéries.

Tableau 1. Habitat de certains actinobactéries (**Bawazir et Shantaram, 2018 ; Ranjar et al., 2016**)

Actinomycètes	Habitat
<i>Actinoplanes</i>	Eau douce, les sols, les rivières et les lacs
<i>Micromonospora</i>	Eau douce, les rivières et les sédiments fluviaux
<i>Rhodococcus marinonascene</i>	Eau douce, profondeur de mer,
<i>Streptomyces</i>	Eau douce, le sol
<i>Thermoactinomyces</i>	Eau douce
<i>Streptomyces noursei</i>	Sol salin
<i>Streptosporangium sp</i>	Océans, marine
<i>Frankia</i>	Nodules racinaires
<i>Actinoplanes, Micromonospora</i>	Eau

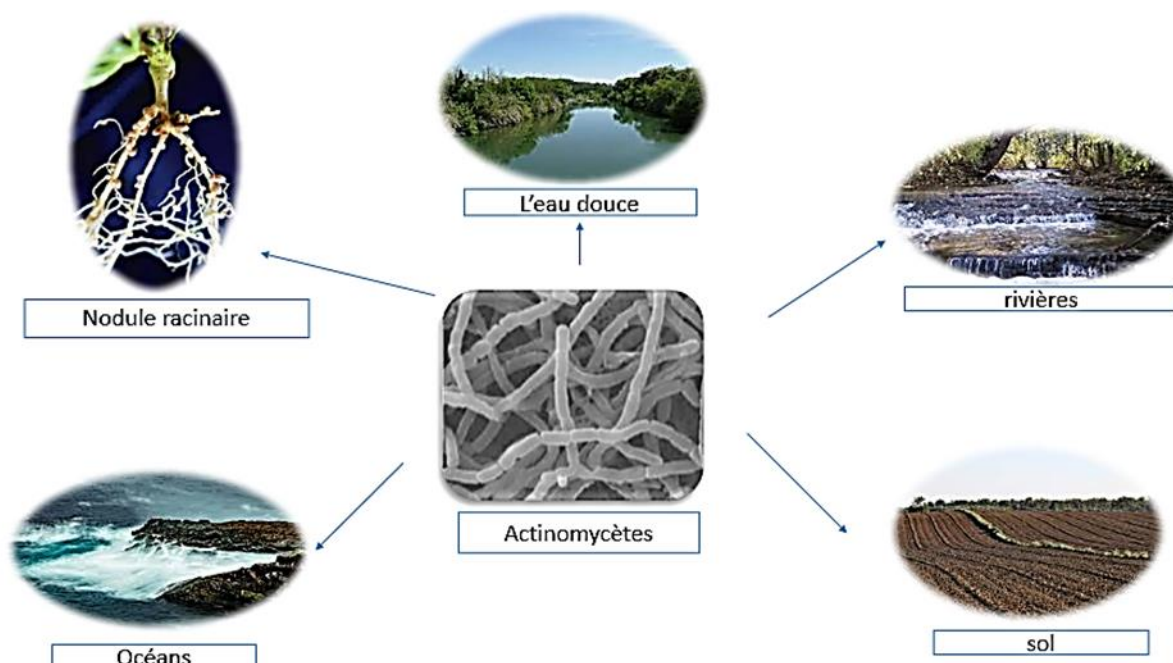


Figure 1. Ecosystèmes et niches écologiques considérés comme habitat d'actinobactéries

I. 3 Cycle de développement

Le cycle de vie des actinobactéries est guidé par les spores semi-dormantes. Tout d'abord, le cycle de vie de la forme végétative (mycélium multicellulaire) commence par la germination d'une spore, ce dernier se développe pour former des hyphes, puis un processus de croissance et de ramification des hyphes aboutit à la formation d'un mycélium ramifié.

Le développement des hyphes se fait par extension des extrémités, de plus, la croissance exponentielle des hyphes végétatifs est obtenue par une combinaison de croissance et de ramification des hyphes. Dans Les conditions défavorables comme par exemple la déplétion en nutriments, le mycélium se différencie et forme des structures sporogènes érigées appelées hyphes aériens (**Barka et al., 2016**), il est a noté que durant cette carence en nutriments les métabolites secondaires sont synthétisés en exponentiel (**Messaoudi et al., 2016**) (**Figure 2**).

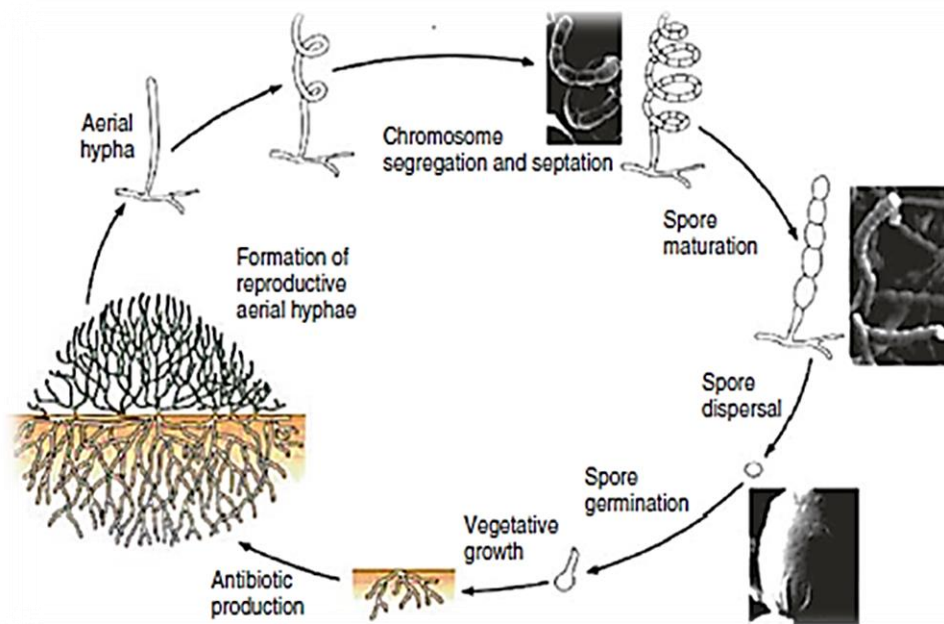


Figure 2. Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes sporulantes (Barka et al., 2016)

I. 4 Taxonomie et critères de classification des actinobactéries

I. 4.1 Systématique des actinobactéries

Les actinomycètes sont classés dans le domaine *Bacteria*. Dans le Manuel de Bergey's, tous les actinomycètes sont inclus dans l'ordre des *Actinomycetales*, ce dernier est divisée en quatre familles à savoir : *Streptomycetaceae*, *Actinomycetaceae*, *Actinoplanaceae*, et *Mycobacteriaceae*. (Pasindu, 2016)

I. 4.2 Critères et outils de classification

I. 4.2.a Caractéristiques morphologiques

Les actinobactéries sont des bactéries à Gram positive, elles forment un mycélium de substrat dans les cultures solides, sur ces cultures, les cellules se différencient et forment un mycélium aériens contenant les spores reproductrices. Le mycélium du substrat se développe à partir de la germination d'une spore. Durant la croissance, le mycélium du substrat se ramifie souvent monopodique, cependant dans le cas des *Thermoactinomyces*, des ramifications dichotomiques sont identifiées. En outre, les *Micromonosporaceae* produisent un mycélium de substrat étendu avec absence de mycélium aérien.

Sous le microscope, les actinobactéries présentent une grande variété morphologique, elles apparaissent en coccoïde (*Micrococcus*), en hyphes fragmentant (*Nocardia*) et aussi sous forme de mycélium ramifié très différencié (*Streptomyces*). Les actinobactéries appartenant au genre *Oerskovia* se caractérisent par un mycélium de substrat ramifié qui se divisent en éléments mobiles

flagellés. Les rhodocoques forment des filaments allongés sur le substrat et ne produisent pas de véritable mycélium. Encore, les *corynébactéries* ne produisent pas de mycélium (**Barka et al., 2016**)

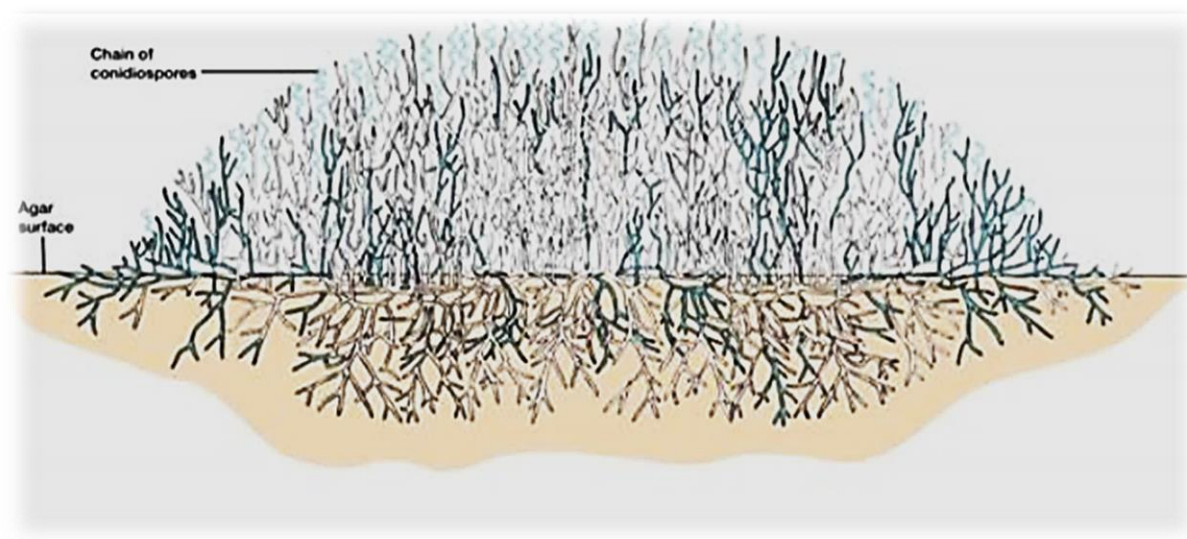


Figure 3. Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète (**Ram et Devang, 2018**)

I. 4. 2. b Morphologie des spores.

Les actinobactéries produisent une variété de spores libres ou encapsulées dans sporanges, ces spores sont utiles dans l'identification et la classification des actinobactéries. Ces spores peuvent être trouvées seules ou en chaînes de différentes longueurs. La structure des spores elles-mêmes peut également être utilisée pour distinguer les différentes espèces. Sous le microscope électronique à balayage, les spores peuvent apparaître lisses, verruqueuses, épineuses, ou poilues. Certains genres d'actinobactéries ont des sporanges avec des spores mobiles, en d'autre terme, ce sont des spores avec flagelles. Le nombre et la forme de spores est un facteur critique pour différencier les genres (Figure 4) (**Ipanha et Dehhaghi, 2017**)

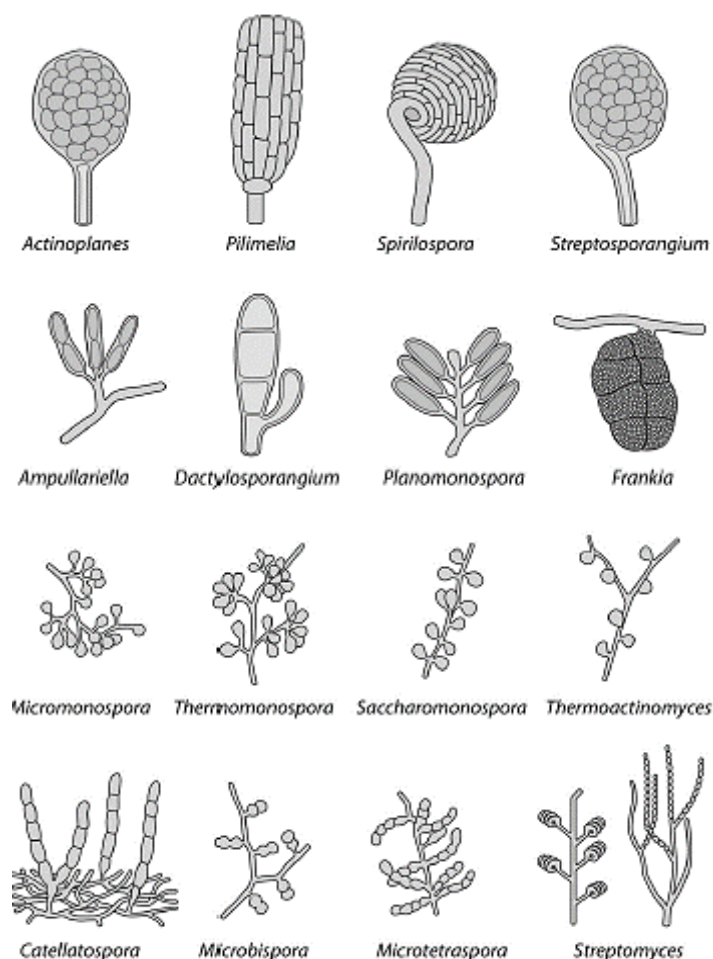


Figure 4. Les différents types de chaînes de spores produites par certains genres d'actinomycètes. (Barka et al., 2016).

I. 4. 2. c Caractères physiologiques

Les caractéristiques physiologiques sont utilisées pour l'identification des espèces d'actinobactéries. Ces microorganismes sont capables d'utiliser les macromolécules telles que les protéines, la lignine, la cellulose, et la chitine. Ils sont capables de croître sur divers substrats. La plupart des genres sont mésophiles, mais il existe certaines espèces qui poussent à des températures élevées et/ou basses. Certains sont aussi capables de croître dans milieux acides ou alcalins, pour d'autre ; ils préfèrent des milieux neutres (Ipanha et Dehhaghi, 2017).

- **Température :** La réponse des espèces aux variations de température est une approche précieuse de la différenciation de souches. La température optimale pour la plupart des espèces d'actinobactéries est comprise entre 25 à 35°C bien que plusieurs espèces thermophiles et psychrophiles sont décrites (Ipanha et Dehhaghi, 2017)
- **pH :** La plupart des actinobactéries se développent dans des conditions neutrophiles, cependant, plusieurs espèces sont capables de croître à des pH allant de 5,0 à 9,0. Certaines actinobactéries acidophiles se développent d'une manière optimale entre à des pH comprise

entre 1,8 à 4, elles appartiennent aux genres *Acidimicrobium*, *Ferrimicrobium*, *Ferrithrix*, *Aciditerrimonas*, *Acidothermus*, *Catenulispora*, *Streptacidiphilus* et *Streptomyces*. Les actinobactéries alcalophiles sont classées en trois catégories : alcalophilique (croissance optimale à des pH comprises entre 10 et 11), alali-neutre (croissance optimale à des pH comprises entre 7 et 10), et des actinobactéries alcali-tolérantes (croissance optimale à des pH comprises entre 6 et 11) **(Ipanha et Dehghani, 2017)**

- Tolérance au NaCl : Plus de 66 genres appartenant à 28 familles sont répertoriés comme actinobactéries ayant des caractéristiques halotolérantes ou halophiles. Le pourcentage le plus élevé des espèces halophiles ou halotolérantes se réunit dans le genre *Nocardiopsis* avec 16 espèces halophiles. Chez les espèces identifiées en Algérie, la tolérance au sel la plus élevée est observée chez *Actinopolyspora algeriensis* et *Actinopolyspora mzabensis*, avec une capacité de croître en présence de 32 % de NaCl **(Ipanah et Dehghani, 2017)**
- La composition du milieu et besoins nutritifs : Les actinomycètes sont, en général, des chimioorganotrophes, en revanche, plusieurs autres espèces sont des chimio-autotrophes, et utilisent l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone. Afin de fournir les besoins nutritifs à ces bactéries, la composition du milieu est un point crucial pour leur croissance. En effet, la croissance des actinobactéries doit contenir de l'amidon, du glycérol et/ou de la chitine comme source de carbone. La caséine, l'asparagine et/ou l'arginine sont considérées comme source d'azote organique. Ces milieux de culture peuvent contenir des antibiotiques ou des antifongiques pour faciliter l'isolement des actinobactéries **(Messaoudi, 2020)**.
- L'oxygène : Selon le type respiratoire, les actinomycètes peuvent être regroupés en deux groupes : les groupes oxydatifs aérobies, qui se trouvent essentiellement dans le sol, et les groupes fermentatifs anaérobies strictes ou facultatifs, qui vivent dans les cavités naturelles de l'Homme et des animaux **(Silini, 2012)**

I. 4. 2. d Classification moléculaire

Plus récemment, la classification morphologique et chimique des actinomycètes a été remise en question par des données taxonomiques moléculaires, dont une grande partie a été obtenue grâce aux progrès rapides du séquençage du génome. Notamment, certains organismes placés de manière inappropriée dans certains groupes taxonomiques ont récemment été reclassés sur la base d'analyses moléculaires. Un exemple récent est la définition finale de *Kitasatospora* en tant que genre distinct au sein des *Streptomycetaceae* ; le séquençage du génome a résolu un débat de longue date sur la relation de ce groupe avec le genre *Streptomyces* et a démontré de manière concluante qu'il s'agit en fait d'un genre distinct. A l'heure actuelle, une nouvelle espèce ne peut

être revendiquée sans une analyse génétique basée sur le séquençage du gène de l'ARNr 16S et l'hybridation ADN-ADN, et même le séquençage du génome devient une routine.

Des critères de composition moléculaire et chimique ont été utilisés pour regrouper l'ordre des *Actinomycetales* en 14 sous-ordres : *Actinomycineae*, *Actinopolysporineae*, *Catenulisporineae*, *Corynebacterineae*, *Frankineae*, *Glycomycineae*, *Jiangellineae*, *Kineosporineae*, *Micrococcineae*, *Micromonosporineae*, *Propionibacterineae*, *Pseudonocardineae*, *Streptomycineae* et *Streptosporangineae*. De plus, le séquençage des gènes de l'ARNr 16S a conduit à la reconnaissance de 39 familles et 130 genres. Tous les groupes précédemment affectés au rang taxonomique d'ordre ont été récupérés comme étant strictement monophylétiques sur la base de ces critères moléculaires et chimiques, mais certains groupes paraphylétiques ont été trouvés dans le rang "sous-ordre". Cela pourrait être dû au fait que la classification était principalement basée sur des arbres génétiques d'ARNr 16S qui ont été générés sans support bootstrap et peuvent donc inclure des résultats trompeurs. (Barka et al., 2016)

I. 5 Taxonomie des actinobactéries

La classification des actinobactéries est actuellement basée sur les caractères phénotypiques, génotypiques et chimiotaxonomique des constituants de leur paroi cellulaire (Ipanha et Dehhaghi., 2020). Le tableau 2 présente les différentes classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries.

Tableau 2. Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries (Goudfellow et al., 2012)

Classes	Ordres	Famille
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i> <i>Actinopolysporales</i> <i>Bifidobacteriales</i> <i>Catenulisporales</i> <i>Corynebacteriales</i>	<i>Actinomycetaceae</i> <i>Actinopolysporaceae</i> <i>Bifidobacteriaceae</i> <i>Catenulisporaceae</i> , <i>Actinospicaceae</i> <i>Corynebacteriaceae</i> , <i>Dietziaceae</i> ,
	<i>Frankiales</i>	<i>Mycobacteriaceae</i> , <i>Nocardiaceae</i> , <i>Segniliparaceae</i> , <i>Tsukamerullaceae</i> <i>Frankiaceae</i> , <i>Acidothermaceae</i>

	<i>Glycomycetales</i>	<i>Cryptosporangiaceae</i> , <i>Geodermatophilaceae</i> , <i>Nokamurellaceae</i> <i>Glycomycetaceae</i>
	<i>Jiangellales</i>	<i>Jiangellaceae</i>
	<i>Kineosporales</i>	<i>Kineosporaceae</i>
	<i>Micrococcales</i>	<i>Micrococcaceae</i> , <i>Beutenbergiaceae</i> , <i>Bogoriellaceae</i> , <i>Brevibacteriaceae</i> , <i>Cellulomonadaceae</i> , <i>Dermabacteriaceae</i> , <i>Dermacoccaceae</i> , <i>Dermatophilaceae</i> , <i>Intrasporangiaceae</i> , <i>Jonesiaceae</i> , <i>Micobacteriaceae</i> , <i>Promicomonosporaceae</i> , <i>Rarobacteriaceae</i> , <i>Ruaniaceae</i> , <i>Sanguibacteraceae</i>
	<i>Micromonosporales</i>	<i>Micromonosporaceae</i> <i>Propionibacteriaceae</i> , <i>Nocardidoidaceae</i> <i>Pseudonocardiaceae</i> <i>Streptomycetaceae</i> <i>Streptosporangiaceae</i> , <i>Nocardiopticaceae</i> , <i>Thermomonosporaceae</i>
	<i>Propionibacteriales</i> <i>Pseudonocardiales</i>	<i>Propionibacteriaceae</i> , <i>Nocardidoidaceae</i> <i>Pseudonocardiaceae</i>
	<i>Streptomycetales</i>	<i>Streptomycetaceae</i>

	<i>Streptosporangiales</i>	<i>Streptosporangiaceae</i> , <i>Nocardiopceaceae</i> , <i>Thermomonosporaceae</i>
<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	<i>Actinomicrobiaceae</i> , <i>Lamiaceae</i>
<i>Coriobacteriia</i>	<i>Coriobacteriales</i>	<i>Coriobacteriaceae</i>
<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Nitriliruptorales Euzebyales</i>	<i>Nitriliruptoraceae Euzebyaceae</i>
<i>Rubrobacteria</i>	<i>Rubrobacterales</i>	<i>Rubrobacteraceae</i>
<i>Thermoleophilia</i>	<i>Thermoleophilales</i> <i>Solirubrobacterales</i>	<i>Thermophilaceae</i> <i>Solirubrobacteraces</i> , <i>Conexibacteraceae</i> , <i>Patulibacteracea</i>

I. 6 Métabolisme des actinomycètes

Les actinobactéries synthétisent diverses molécules, ces métabolites secondaires formés jouent un rôle clé dans leurs microenvironnements hétérogènes et complexes. Ces produits naturels ne sont pas nécessaires pour le développement cellulaire des microorganismes, en revanche, ils apportent des avantages aux cellules vivantes. Certains composés pourraient jouer un rôle dans l'inhibition d'une autre microflore adjacente, dans la communication inter-microbienne, et dans l'établissement des interactions entre les organismes vivants. Les métabolites secondaires se forment à l'intérieur de la cellule microbienne comme ils peuvent être déversés dans le milieu extérieur, ils sont synthétisés durant le dernier stade du développement de la croissance des microorganismes (Al-shaibani et al., 2021)

Chez les actinobactéries, il existe de nombreuses variétés de métabolites secondaires, ces composés sont formés par six voies de biosynthèse différentes à savoir : la voie peptidique, la voie de la polykétide synthase (PKS), la voie du polypeptide synthase non ribosomique (NRPS), la voie hybride, la voie des shikimates, la voie des polylactamines synthétiques, et la voie glucidique (Harir et al., 2018).

Les espèces appartenant au genre *Streptomyces* sont considérés comme des producteurs potentiels de métabolites secondaires dotés d'activités biologiques bénéfiques pour l'Homme. Le tableau 3 montre quelques métabolites secondaires identifiés chez les actinobactéries

Tableau 3. Métabolites secondaires isolés des actinomycètes.

Composé bioactive	Activité	Microorganismes	Références
Spirotétrionate.	Antibactérien Cytotoxicité modérée pour les cellules cancéreuses	<i>Micromonospora sp.</i> (endophyte)	(Jakubiec et al., 2018)
Chartreusin	Activité contre les cellules cancéreuses de la peau	<i>Streptomyces sp.</i> Strain M518	(Ajitha et al., 2016)
Daryamides	Activité antifongique	<i>Streptomyces sp.</i>	(Anandan, 2016)
Rapamycin	Immunosuppressive	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	(Anandan, 2016)
Enzymes (protéase)	Détergents	<i>Thermoactinomyces sp.</i>	(Anandan, 2016)
Enzyme (cellulase)	Lamination	<i>Streptomyces sp.</i> , <i>Thermobifida sp</i>	(Anandan, 2016)
Monocotylédones, dicotylédones, et anisomycine	Bio-herbicides	<i>Streptomyces sp</i>	(Anandan, 2016)
Actinomycètes marine	Probiotique contre le biofilm de vibrio spp	<i>Streptomyces sp</i>	(Anandan, 2016)
streptomycine	Production vitamines B12	<i>Streptomyces sp</i>	(Anandan, 2016)
Argent	Synthétisée les nanoparticules	<i>Streptomyces sp.</i> , <i>Thermoactinomyces sp.</i> , <i>Nocardiopsis sp</i>	(Anandan, 2016)
Avermectin	Antiparasite	<i>Streptomyces avermitilis</i>	(Harir et al ., 2018)
Bactériocines défensine (Actifensines)	Antimicrobiennes pour les infections animales et humaines	<i>Actinomyces ruminico</i>	(Sugrue et al ., 2019)

Glucosylmannosyl-glycerolipid	anti tumoral	<i>Microbacter ium sp.</i>	(Kumar et al ., 2015)
Neomar inone	Anti tumaral	<i>Streptomyces sp.</i>	(Kumar et al ., 2015)

I. 7 Potentiels biotechnologiques des actinobactéries

Les microorganismes, y compris les actinomycètes, les archées, les bactéries, les champignons, les levures et les micros algues, sont une source propice de composés bioactifs vitaux. Les actinomycètes peuvent synthétiser des composés antibactériens, antifongiques, antiviraux, anti tumoraux, anti-inflammatoires, antioxydants, immunosuppresseurs, et des bio pesticides (Alka et al., 2021).

I.8 Activité insecticide des actinobactéries

Afin de protéger les cultures agricoles contre les insectes ravageurs, les recherches scientifiques visent aujourd'hui les bioproduits naturels comme source de composés insecticides, de plus, les bio-composés sont moins dangereux pour l'Homme et l'environnement (Ganesan et al., 2018 ; Anwaret et al., 2015). Les macrotétrolides issues d'actinobactéries sont actifs contre les acariens, les insectes, les coccidies, et les helminthes. Le Tétranactine est un autre insecticide utilisé contre les acariens carmin des fruits et du thé. (Barka et al., 2016)

I. 9 Activité antibactérienne et antifongique des actinobactéries

Les *Streptomyces* sont considérées depuis longtemps comme une source potentiel de produit naturels et d'antibiotiques. La streptomycine est parmi les premiers antibiotiques isolée à partir de de *Streptomyces griseus*. La streptomycine est un inhibiteur de la synthèse des protéines, il se lie à la ARN 16s de la sous-unité 30s et empêcher l'interaction de l'ARNt ce qui conduit à des erreurs de lecture. En effet, l'inhibition de la synthèse des protéines conduit à la mort de la cellule bactérienne (Sheikh et al., 2020).

Plusieurs nouveaux antibiotiques sont identifiés et caractérisés par la suite doté d'une importante activité antibactérienne et antifongique (Nouioua, 2021). *Jiangella gansuensis* YIM 002T, une actinobactéries halotolérante, isolée d'un échantillon de sol du désert du Gansu, l'analyse du génome a permis d'identifier 60 groupes de gènes fonctionnels pouvant produire la pristinamycine, cet antibiotique est efficace contre les infections staphylococciques (Nouioua, 2021). La brasiliquinone E est une nouvelle anthraquinone produite par *Nocardia sp.* XJ31 isolée du désert du Xinjiang, brasiliquinone E est une antituberculeuse et elle peut être utilisée comme traitement potentiel durant la tuberculose multirésistante (Nouioua, 2021). *Saccharothrix* SA198 est capable de produire deux antibiotiques à savoir : A4 et A5, ces derniers sont capable d'inhiber les *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*

pneumoniae et *Pseudomonas aeruginosa*). A4 et A5 ont également montré une capacité antifongique modeste contre les champignons filamenteux tels que *Ascochyta fabae*, *Aspergillus carbonarius*, *F. culmorum*, *Fusarium equiseti*, *M. ramannianus*, et *Penicillium expansum* (Nouioua, 2021).

La capacité des actinomycètes à inhiber la croissance des champignons est liée d'une part à la production des substances antifongiques et d'autre part à la production des enzymes (Hery Rado et al., 2017). L'ergostérol est un stérol unique présent dans les membranes cellulaires fongiques, il remplace le cholestérol présent dans les membranes cellulaires des mammifères, ce composé présent dans la paroi fongique est une cible pour les agents antifongique (Neil et al., 2017)

I. 10 Caractéristiques antimycotoxinogène des actinobactéries

I. 10. 1 Mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire produites principalement par des champignons filamenteux, principalement des genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*. Ils sont toxiques pour l'Homme et pou les animaux, car ils provoquent une gamme de troubles allant de la gastro-entérite jusqu'au cancer. Les principales mycotoxines présentes dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux sont les aflatoxines, les ochratoxines, le déoxynivalénol, la fumonisine et la patuline (Ixchel ,2021)

I.11 Actinobactéries comme agents de détoxification des mycotoxines

Les actinobactéries renferment un potentiel énorme non seulement dans la réduction de la germination, la croissance et la colonisation fongiques, mais aussi une capacité à inhiber et/ou à réduire le taux des mycotoxines soit par décomposition, soit par inhibition de la grappe des gènes responsable de la biosynthèse (Ixchel, 2021). Selon Mohd, la plupart des isolats d'actinobactéries sont capables d'inhiber la croissance fongique et la synthèse des mycotoxines (Mohd., et al .2020). Le tableau 4 représente l'activité antimycotoxinogène des *Streptomyces* contre quelques mycotoxines.

Tableau 4. Activité antimycotoxinogène des *Streptomyces* contre quelques mycotoxines

Mycotoxine	Champignons Producteurs	La souche	L'effet Résultat	Référence
Fumonisin B1, B2, B3	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Streptomyces</i> AS1	51% d'inhibition	(Mohd et al., 2020)
Ochratoxin A	<i>Penicillium verrucosum</i> (OTA11)	<i>Streptomyces</i> AS1	90% d'inhibition	
gliotoxine (GLI)	<i>Aspergillus fumigatus</i> (souche Mi538)	<i>Streptomyces</i> AS1	59% d'inhibition	
L'ochratoxine A (OTA)	<i>Aspergillus</i> and <i>Penicillium</i>	<i>Streptomyces</i> AT10	51.94% d'inhibition	(El Kkhoury et al., 2017)
	<i>Aspergillus</i> and <i>Penicillium</i>	<i>Streptomyces</i> AT8	42.13% d'inhibition	
	<i>Aspergillus</i> and <i>Penicillium</i>	<i>Streptomyces</i> SN7	52.68% d'inhibition	
	<i>Aspergillus</i> and <i>Penicillium</i>	<i>Streptomyces</i> MS1	22.83% d'inhibition	
	<i>Aspergillus</i> and <i>Penicillium</i>	<i>Streptomyces</i> ML5	33.24% d'inhibition	
	<i>Aspergillus</i> and <i>Penicillium</i>	<i>Streptomyces</i> G10	37.65% d'inhibition	
	<i>Aspergillus</i> and <i>Penicillium</i>	<i>Streptomyces</i> PT1	44.97% d'inhibition	
L'aflatoxine B1	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Streptomyces</i> Myc	Inhibe la la croissance d' <i>Aspergillus flavus</i> et diminuer la production d'aflatoxine	(Ixchel et al., 2021)
		<i>Streptomyces</i> IX20	43 % d'inhibition	(Ixchel et al., 2021)
		<i>Streptomyces</i> l'IX09	69%	

I.12 Composés anticancéreux et anti oxydants

Les actinobactéries secrètent plusieurs substances anticancéreuses et antioxydantes comme par exemple :

- Chaxamycines A-D dérivées de *Streptomyces leeuwenhoekii* C34T est utilisés comme médicaments anticancéreux en fonction de leur capacité à inhiber l'activité ATPase intrinsèque de la protéine de choc thermique 90 (Hsp90) (Nouioua, 2021).
- La chaxapeptine dérivées de *Streptomyces leeuwenhoekii* C38 est un peptide avec un effet inhibiteur sur la lignée cellulaire A549 du cancer du poumon humain (Nouioua, 2021)
- *Streptomyces* sp. D25 a montré un potentiel antioxydant basé sur le piégeage des radicaux libres utilisant le DPPH et l'oxyde nitrique (Nouioua, 2021)

I. 13 Actinobactéries pathogènes et phytopathogènes

Les maladies humaines les plus sérieuses causées par les actinomycètes sont la tuberculose causée par *Mycobacterium tuberculosis*, cette espèce appartient à la classe des Actinobacteria, l'ordre des Actinomycetales, la famille des Mycobacteriaceae et au genre *Mycobacterium*. C'est un bacille intracellulaire facultatif, de métabolisme aérobie strict et de croissance lente. L'homme est le réservoir habituel de des *Mycobacterium tuberculosis*. La transmission est aérienne par les les résidus de condensation de sécrétions respiratoires émises par un patient contagieux. En cas d'infection pérenne, celle-ci est d'abord latente puis évolue facultativement vers une tuberculose après quelques mois à quelques années (Maillet et al., 2020)..

Chez les plantes, la gale de la pomme de terre (potato scab) causée par *Streptomyces scabies* est la maladie la plus connue. Ce dernier est un agent phytopathogène transmis par le sol. Plusieurs autres espèces du genre *Streptomyces* est responsable de la gale à savoir : *Streptomyces acidiscabies*, *Streptomyces europaeiscabiei*, *Streptomyces luridiscabiei*, *Streptomyces niveiscabiei*, *Streptomyces puniscabiei*, *Streptomyces reticuliscabiei*, *Streptomyces stelliscabiei*, *Streptomyces turgidiscabies*, et *Streptomyces ipomoeae* (Sohaib et al., 2020).

PARTIE II : Étude Expérimentale

Matériels Et Méthodes

II. Matériel et méthodes

Ce travail est réalisé au sein du laboratoire pédagogique de microbiologie, Département de Biologie, Faculté des Sciences. Université Ammar Telidji – Laghouat.

II. 1 Matériel biologique

II. 1.1 Souches microbiennes utilisées

L'actinomycète utilisées dans cette étude est désignée X2, elle fait partie de la collection personnelle du Dr Gacem MA, Université de Laghouat. Les souches fongiques utilisées pour tester l'activité antifongique de l'actinomycète provient du laboratoire pédagogique de microbiologie, Université de Laghouat (Tableau 5).

Tableau 5. Souches fongiques utilisées pour tester l'activité biologique des actinomycètes

Souches fongiques	Origine
<i>Aspergillus flavus</i>	Laboratoire pédagogique de microbiologie, Département de biologie, Faculté des Sciences. Université de Laghouat
<i>Aspergillus ochraceus</i>	
<i>Aspergillus parasiticus</i>	
<i>Fusarium lycopersici</i>	
<i>Fusarium avenaceum</i>	
<i>Fusarium oxysporum .sp. pisi</i>	
<i>Penicillium expansum</i>	

II .2. Vérification de la pureté des souches fongique 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 sontensemencées 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 $27^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ pendant 5 jours.

Après incubation, les lamelles auxquelles s'adhèrent le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant une goutte de bleu de lactophénol. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$ (**Figure 5**). Les genres sont

déterminés par les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de **BARNETT et HUNTER (1972)**.

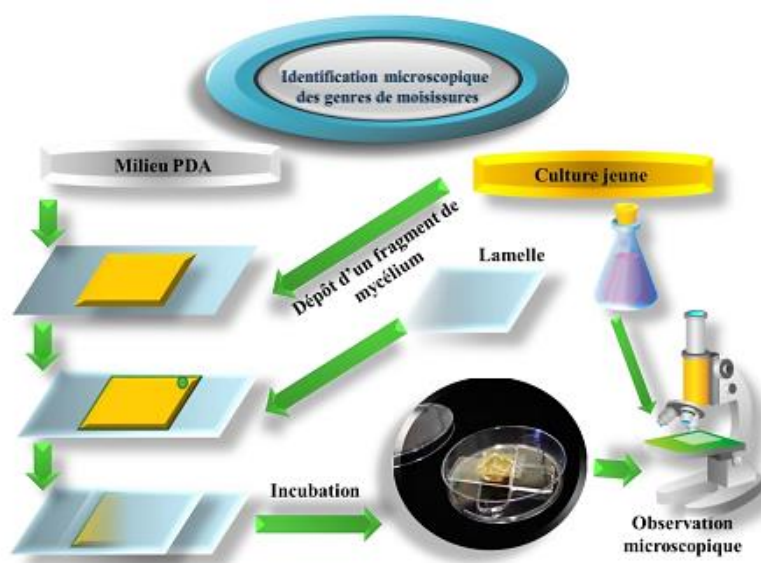


Figure 5 . Techniques d'identification des genres fongiques. (**Haris, 1989**).

II.3. Evaluation du pouvoir antifongique de l'isolat d'actinomycète par la technique des cylindres

II. 3. 1 Préparation de suspension fongique

Pour chaque moisissure, l'inoculum doit être préparé à partir d'une culture jeune de 7 jours préparée sur milieu PDA. La récupération des spores est effectuée par un écouvillon stérile imbibé dans le Tween 20, les spores sont par la suite transférées dans 3ml d'eau physiologique stérile. A l'aide d'un vortex, la suspension des spores préparée est mélangé vigoureusement pendant 15-20 secondes afin d'empêcher l'agglutination des spores

La solution est ajustée à 10^6 spores/ml à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 530 nm (Figure 6). La densité optique à laquelle l'inoculum est ajusté varie en fonction de l'espèce fongique et la taille des spores (Tableau 6). Les suspensions fongiques sont enfinensemencées sur la surface des milieux GYM déjà coulé et solidifié dans les boîtes de Pétrie.

L'effet antagoniste de la souche X2 n'est possible qu'après leur inoculation sur les surfaces des milieux GYM déjàensemencés par les spores fongiques. Pour se faire, des disques bactériens de 1 cm de diamètre sont découpés des cultures X2 préparés précédemment (culture de 10 jours sur milieu GYM) puis déposés au centre des boîtes de Pétrie préalablement préparés. L'incubation se fait à 30°C pendant 7 jours.

Les boîtes de Pétrie présentant des zones d'inhibitions au tour des disques bactériens déposés au centre des boîtes sont considérées comme des résultats positifs (présence d'activité antifongique).

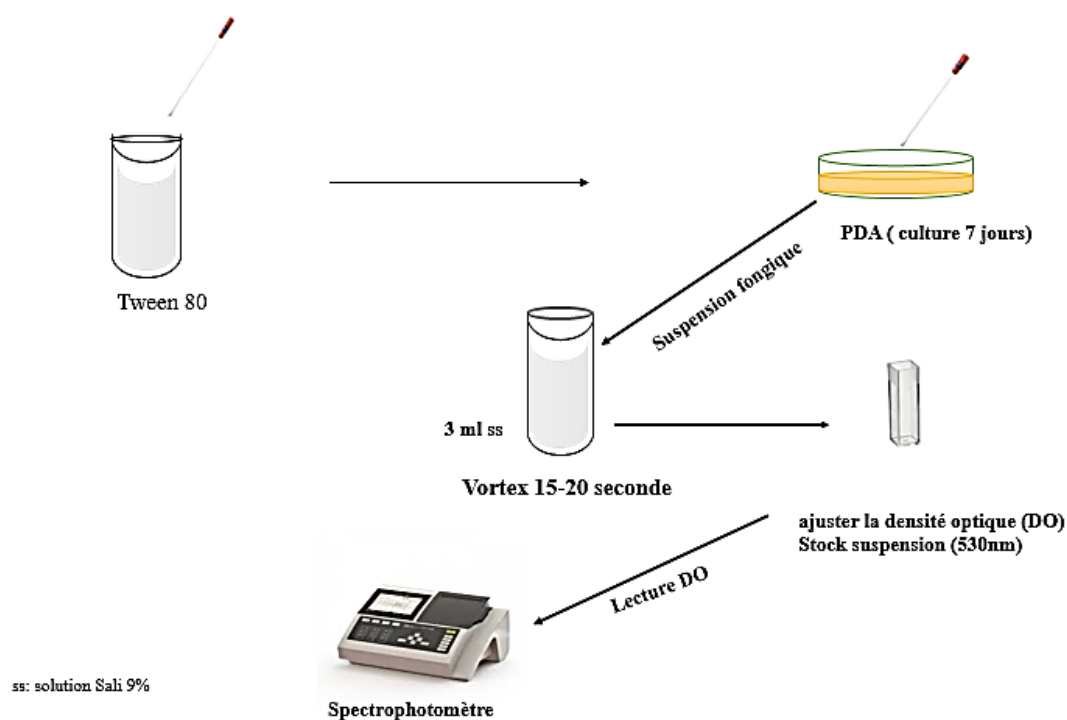


Figure 6. Préparation des suspensions fongiques (inoculum) par la méthode de micro-dilution en milieu liquide (**espine-ingoffet canton, 2007**)

Tableau 6 . La densité optique des moisissures utilisée (**espine-ingoffet canton, 2007**)

espèce	DO
<i>Aspergillus flavus</i>	0.09-0.011
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0.09-0.011
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0.09-0.011
<i>Fusarium lycopersici</i>	0.15-0.17
<i>Fusarium avenaceum</i>	0.15-0.17
<i>Fusarium oxysporum .sp. pisi</i>	0.15-0.17
<i>penicillium expansum</i>	0.09-0.011

II. 4 Détermination de l'activité antifongique des extraits par la méthode de puits

Les inocula fongiques sont préparés de la même façon que pour l'évaluation directe de l'activité antifongique de la souche X2.

Pour chaque souche fongique, les suspensions fongiques sont ensemencées à l'aide d'écouvillon sur les surfaces des milieux PDA solidifié dans les boîtes de Pétrie. Le milieu PDA est par la suite perforé au centre de la boîte à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur stérile. L'extrait bute de la souche X2 est injectés dans les puits à raison de 20 et 30 μ l par puits. Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 5 à 7 jours (Figure 7).

L'activité antifongique est mesurée par le rapport entre la surface de la zone d'inhibition créée par l'extrait 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
- Supérieure à 8% : bonne activité antifongique (Limonciel et al ., 2014)

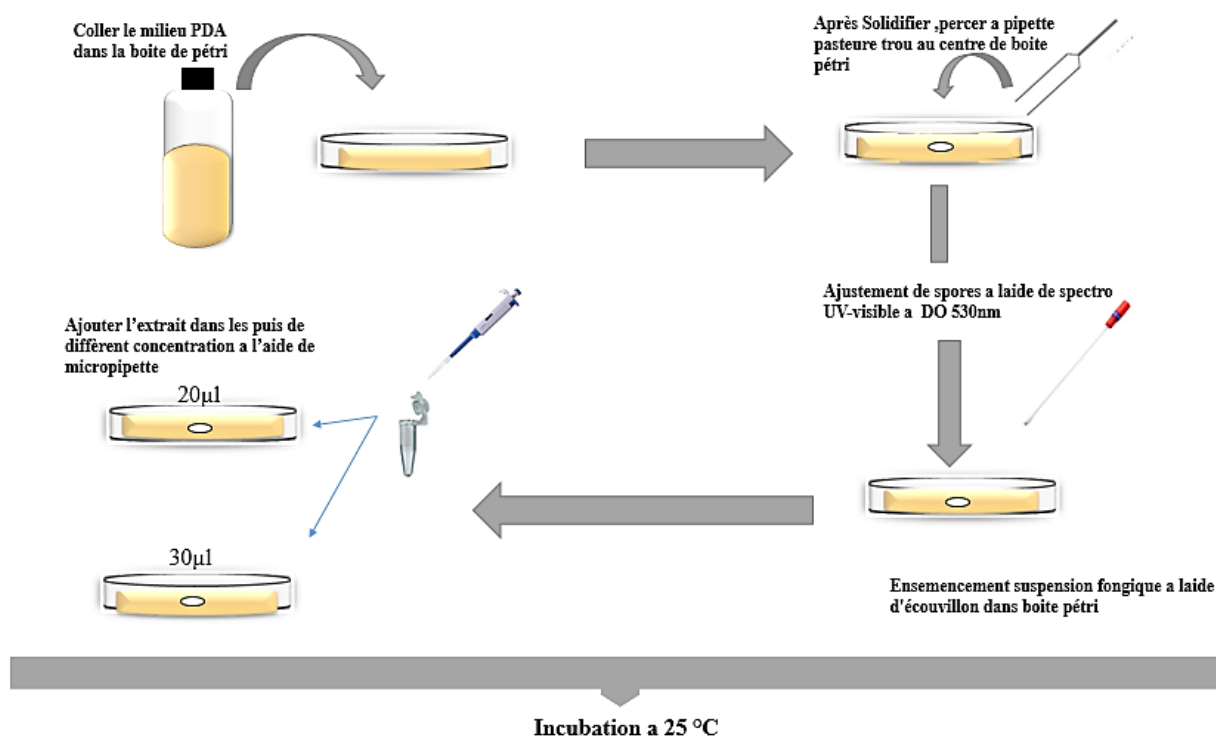


Figure 7. Evaluation de l'activité antifongique par la méthode des puits (Magusson et al., 2003)

II. 5 Evaluation de l'activité insecticide des extraits bruts

L'activité insecticide de l'extrait brute d'actinobactères est réalisée selon la méthode décrite par **Chen** et ses collaborateurs (2018) avec quelque modification. Les expériences sont réalisées en présence et en absences des feuilles d'haricot obtenues des cultures d'haricot envahies de pucerons. Tout d'abord, les feuilles sont lavées 3 fois à l'aide d'eau distillé stérile puis laissées séchées à la température ambiante, elles sont par la suite placées dans des boîtes de Pétri (90 x 14

mm) tapissées de papiers filtres humidifiés. Différentes concentrations d'extraits brutes sont préparés en diluant les extraits dans du méthanol. En parallèle, le méthanol est utilisé comme témoin négatif. Par la suite, Les boîtes de Pétri préparées sont pulvérisées avec 1 ml de chaque solution d'extrait préparé, cependant, le contrôle est pulvérisé avec 1 ml de méthanol pur.

Les boîtes sont laissées ouvertes pendant 10 minute à 24°C afin d'évaporer le solvant. Après, les pucerons sont placés dans les boîtes de Pétri déjà préparées à raison de 10 pucerons par boîte.

Les boîtes de Pétri sont enfin recouvertes d'un film de scellement pour réduire l'évaporation et incubées à $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Le nombre de pucerons morts est enregistré chaque 3heures jusqu'à l'extinction totales des insectes. La mort des pucerons est confirmée par immobilité des pucerons après avoir touché leurs pieds et leur antenne avec un pinceau (Yan chen et al., 2018)

.Les expériences sont réalisées en trois répétitions. La mortalité et la mortalité corrigée sont calculées comme suit :

$$\text{La mortalité (\%)} = (\text{Nombre d'insectes mortes} / \text{Nombre d'insectes testées}) \times 100$$

$$\text{La mortalité corrigée} = (\text{Mortalité liée au traitement} - \text{Mortalité du control}) / (100 - \text{Mortalité du control}) \times 100$$

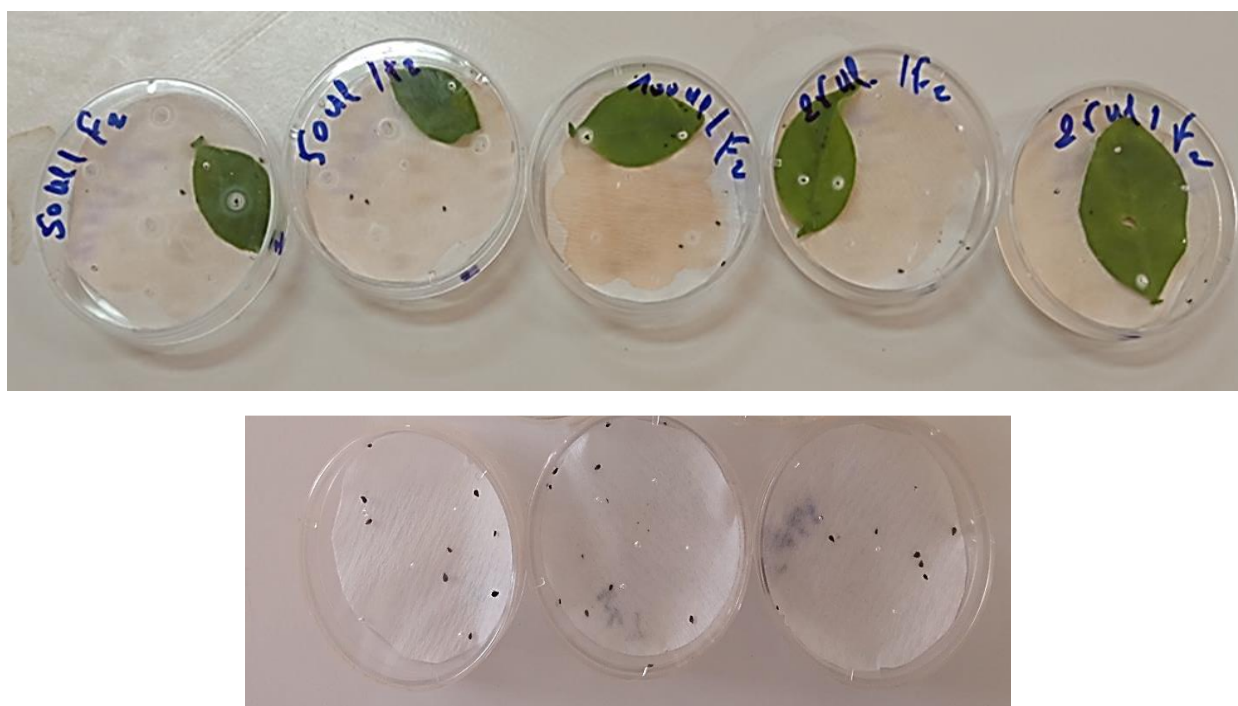


Photo 1. Evaluation de l'activité insecticide des extraits bruts d'actinomycète (photo original)

II. 6 Evaluation In Vivo de l'activité antifongique de la souche

II. 6. 1 Propriétés du sol

Le sol utilisé pour tester l'efficacité de la souche X2 *in vivo* contre les moisissures toxigènes provient d'un champ agricole de tomates dans la région de Laghouat. Ses caractéristiques physico-chimiques et biologiques étaient :

- pH 7,6
- Matière organique totale (1,6%)
- C/N(9,0)
- Phosphate (0,07‰)
- Potasse (0,3‰)
- CaCO₃ (1,2%)
- Numération bactérienne aérobie totale $1,54 \times 10^8$ UFC g⁻¹
- Numération fongique totale $3,9 \times 10^4$ UFC g⁻¹.

Le sol est stérilisé trois fois dans un autoclave à 120°C pendant 60 min sur trois jours consécutifs.

II. 6. 2 Préparation de suspensions microbiennes

Les suspensions d'actinomycètes sont préparées comme décrit dans le protocole de **Goudjal et ses collaborateurs (2014)**. Une solution de Tween-80 (0,05%) est utilisée pour récupérer les spores, la solution est par la suite ajustée à 10^6 UFC ml⁻¹ à l'aide de la cellule Thomas. Les suspensions fongiques testées sont préparées de la même façon que pour les tests antifongique *In Vitro*.

II. 6. 3 Enrobage de graines de tomates

Les graines de tomates sont stérilisées en surface en utilisant la méthode de **Coa et al. (2004)**. Les graines stérilisées ont été enrobées par trempage pendant 30 min dans les suspensions de spores d'actinomycètes puis séchées.

II. 6. 4 Préparation des sols infectés

Les sols stérilisés et non stérilisés sont infestés selon une méthode similaire à celle utilisée par **Dhanasekaran et al. (2005)**. Les sols sont conditionnés dans des pots en plastique (12 cm de haut × 10 cm de diamètre) et infestés avec 10 ml de suspension d'agents pathogènes. Les pots ont été recouverts d'un en film plastique et incubés pendant une semaine à température ambiante pour favoriser la croissance des agents pathogènes.

II. 6. 5 Tests de bio contrôle

La sélection des moisissures pour le contrôle biologique *in vivo* est basée sur leurs sensibilités antifongiques *in vitro*. Les expériences sont menées dans des sols stérilisés et non stérilisés.

Quatre traitements sont effectués :

- Contrôle négatif : en semant des graines de tomates non enrobées dans des sols non infestés.
- Contrôle positif : en semant des graines de tomates enrobées dans des sols non infestés pour évaluer la sensibilité variétale
- Semer des graines de tomates non enrobées dans des sols infestés pour évaluer la capacité dévastatrice des moisissures sur les graines
- Semer des graines de tomates enrobées dans des sols infestés pour évaluer la capacité de lutte biologique de la souche X2 contre les moisissures.

Pour chaque traitement, 10 graines de tomates sont semées par pot, elles sont déposées à 5 mm de la surface du sol avec 3 répétitions par traitement en utilisant un bloc complet entièrement randomisé. Les cultures de tomates sont cultivées dans des conditions standard dans une salle de culture de plantes (22-26 °C, 16 h de lumière/8 h d'obscurité).

Les pots sont arrosés quotidiennement avec 10 ml d'eau distillé stérile pour maintenir un niveau d'humidité favorable à la germination des graines.

Après 30 jours, les semis sont soigneusement retirés du sol et lavés à l'eau du robinet. La gravité de la maladie a été évaluée à l'aide d'une échelle telle que décrite par **Altier et Thies (1995)**.

Résultats Et Discussion

III. Résultat et discussion

La actinomycète utilisée dans cette étude pour évaluer leur activité biologique fait partie de la collection personnelle du Dr Gacem MA, Département de Biologie. Université de Laghouat.



Photo 2. Aspect de la souche d'actinobactérie X 2 sur milieu GYM (Photo original)

III. 1 Vérification de la pureté des moisissures par la méthode de micro-culture

III. 1. 1 Résultats obtenus par la méthode de micro-culture

Sur la base de l'observation microscopique de la souche fongique **A** mettant en évidence les têtes conidiennes, unisériées ou bisériées, d'abord radiées, puis reparties en plusieurs colonnes de spores individualisées, jaunâtres au début, puis vert-jaune foncé. 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. Les sclérotés, fréquents dans les isolats récents, sont globuleux à sub-globuleux, d'abord blanc puis virant au brunrouge foncé et au noir. Nous confirmons qu'il s'agit d'*Aspergillus flavus* (Photo 3)

L'observation microscopique de la souche fongique **B** permet de distinguer les têtes conidiennes bisériées, d'abord globuleuses puis se séparent en 2 ou 3 colonnes divergentes, bien individualisées, de couleur jaune, ocre-jaune ou chamois. Les conidiophores sont rugueux, jaunes à brun pâle et longs. Les vésicules sont globuleuses, et hyalines. Les phialides sont portées par des métules, de dimensions variables. Les conidies sont sub-globuleuses à globuleuses. Elles sont finement échinulées ou lisses. Les sclérotés, souvent présents, de couleur lavande à pourpre, sont globuleux, ovales ou cylindriques. Nous pouvons déduire qu'il s'agit d'*Aspergillus ochraceus*. (Photo 3)

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, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés. Nous pouvons déduire qu'il s'agit de *Penicillium expansum*. (Photo 3)

Souche fongique **D** : cette espèce se caractérise par un thalle vert jaune sombre, floconneux et des colonies granuleuses. Le conidiophore de couleur marron pâle à paroi échinulée. Les têtes unisériées par des vésicules sphériques recouvertes au trois quart, donnant des phialides verdâtres portant des conidies sphériques à disposition radiaire. Les sclérotas occasionnellement sphériques sont souvent blanches au début et deviennent noires avec le temps, c'est *Aspergillus parasiticus*. (Photo 3)

Sur la base de l'observation microscopique de la souche fongique **E** mettant en évidence les phialides peuvent s'agréger en sporodochies. Les microconidies sont fusiformes, courbées. La cellule terminale est longue et pointue. Les chlamydospores, intercalaires, formées par le mycélium rarement dans les conidies, sont globuleuses, hyalines à brun pâle. Nous pouvons déduire qu'il s'agit *Fusarium oxysporum .sp. pisi*. (Photo 3)

Sur la base de l'observation microscopique de la souche fongique **F** mettant en évidence les microconidies en fusiformes, et courbées. La cellule terminale est longue et pointue. Les chlamydospores, intercalaires, formées par le mycélium rarement dans les conidies, sont globuleuses, hyalines à brun pâle. Nous pouvons déduire qu'il s'agit de *Fusarium avenaceum*. (Photo 3)

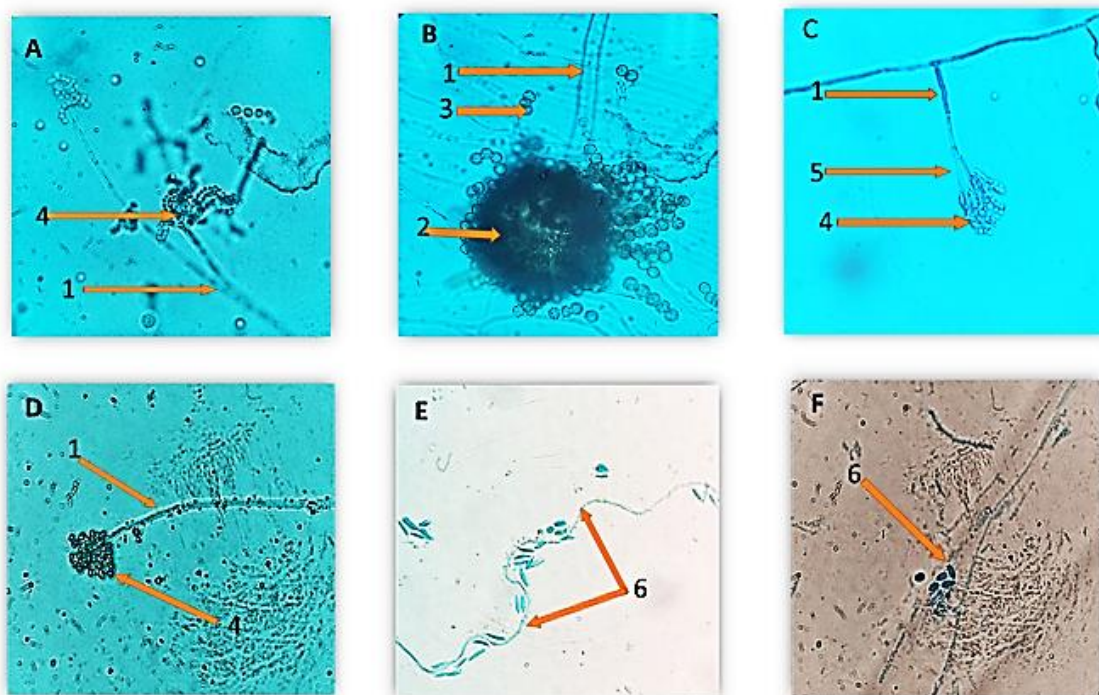


Photo 3 Aspect microscopique des souches fongiques (**Photo originale**).

A : *Aspergillus flavus* ; B : *Aspergillus ochraceus* ; C : *Penicillium expansum* ; D : *Aspergillus parasiticus* ; E : *Fusarium oxysporum .sp. Pisi* ; F : *Fusarium avenaceum*.

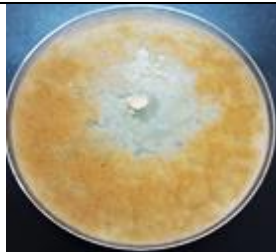
(1) Conodiophore ; (2) Vésicule ; (3) Métule ; (4) conidies ; (5) Phialide ; (6) micro conidie

III. 2 Résultat de l'activité antifongique obtenue par la méthode directe (test par les cylindres)

Selon les résultats affichés sur le tableau 7, la souche X2 a démontré une forte activité antifongique contre la majorité des moisissures sélectionnées. Sur les deux milieux de cultures utilisées (CSA et GYM), des zones d'inhibitions remarquables sont obtenues sur les culture fongiques d'*Apergilus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium lycopersici*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus* et *Fusarium avenaceum*. Aucune zone d'inhibition n'est enregistrée pour *Fusarium oxysporum .sp pisi* sur milieu CSA.

Ces résultats confirment que la souche X₂ renferme un bon potentiel antifongique contre les moisissures sélectionnées.

Tableau 7 : Résultat de l'activité antifongique de souche X2 évaluée par la méthode directe (test des cylindres).

Souche fongique	Milieu de culture	L'activité	Qualité d'inhibition
<i>Apergilus flavus</i>	CSA		Présence d'une activité antifongique
<i>Aspergillus ochraceus</i>	GYM		Présence d'une activité antifongique
<i>Aspergillus parasiticus</i>	GYM		Présence d'une activité antifongique
<i>Fusarium avenaceum</i>	GYM		Présence d'une activité antifongique
<i>Fusarium oxysporum .sp pisi</i>	CSA		Absence d'une activité antifongique
<i>Fusarium lycopersici</i>	CSA		Présence d'une activité antifongique

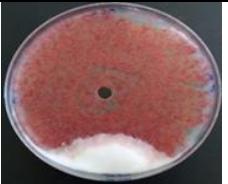
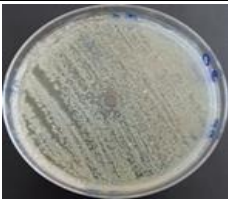
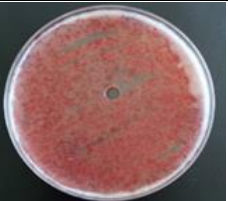
<i>Penicillium expansum</i>	CSA		Présence d'une activité antifongique
-----------------------------	-----	--	--------------------------------------

III. 3 Résultats de l'activité antifongique évaluée par la technique des puits

Selon les résultats affichés sur le tableau 8, à 30 μ l l'extrait brute de la souche X₂ a démontré une remarquable activité antifongique en comparaison à celle obtenue à 20 μ l. *Fusarium oxysporum .sp pisi* était la moisissure la plus sensible avec un pourcentage d'inhibition de 15% à 30 μ l suivi par *Fusarium avenaceum* et *Aspergillus flavus* avec un pourcentage d'inhibition de 13 et 12%, respectivement. *Penicillium expansum* était la souche la plus résistante avec une absence totale de toute activité antifongique.

Les résultats affichés dans le tableau 8 affirment clairement que l'activité antifongique est en relation proportionnel avec le volume d'extrait injecté dans les puits

Tableau 8. Résultats de l'activité antifongique de l'extrait X2

Souche fongique	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Fusarium avenaceum</i>	<i>Fusarium oxysporum .sp pisi</i>	<i>Penicillium expansum</i>
20 μL				
L'activité				
%Inb	11.3%	6%	5%	0%
30 μL				
L'activité				
%Inb	12%	13%	15%	3,6%

III. 4 Résultat de l'activité insecticide

Selon les résultats affichés dans la figure 8, l'extrait brute de la souche X₂ renferme un excellent potentiel insecticide contre les pucerons noir *Aphis fabae*. Le même tableau affirme que

l'activité insecticide est en relation proportionnel avec le volume de l'extrait brute utilisé durant les tests *In vitro*.

A 100µl, un pourcentage de mortalité de 23.33% est enregistré après 9h de traitement, en revanche, 0% de mortalité est enregistré pour le témoin durant la même durée de traitement. Une mortalité de 100% et de 0% sont enregistrés après 30h de traitement pour 100µl d'extrait et pour le témoin, respectivement. Le volume le faible d'extrait brute (25µl) utilisé durant ce test a enregistré une mortalité totale après 33h de traitement.

Après 48 heures de traitement, tous les volumes réalisés ont enregistré une mortalité de 100%, en revanche, seulement 36.67% est enregistré pour le témoin ce qui témoigne la potentialité insecticide de cette extrait brute contre le puceron noir.

Il est à noter que durant ces expériences, les pucerons migrent vers le couvercle de boîte Pétri et s'éloignent progressivement des extraits. Durant les dernières heures qui précèdent l'extinction complète des pucerons, ces derniers ralentissent leur mouvement avant qu'ils ne soient complètement immobilisés, un changement dans leur morphologie et aussi enregistré, en particulier la transformation de leur forme normale en forme sphérique.

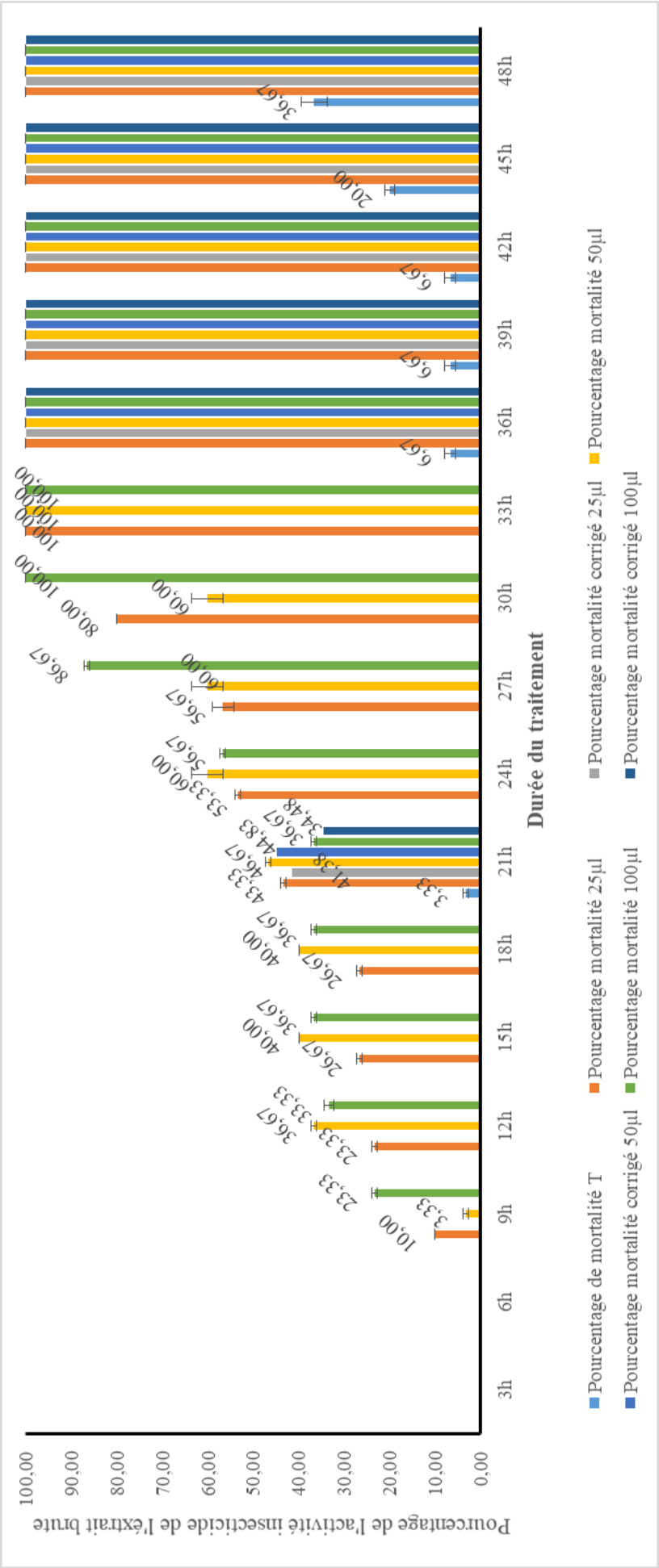


Figure 8 . Résultat de l'activité insecticide de l'extrait brute X contre les puceron obtenus à partir des cultures d'haricot

III. 5 Résultat de l'activité antifongique *In vivo*

Selon les résultats affichés dans le tableau 9 et les figures 9,10, 11 et 12 l'activité *In vivo* a démontré que la souche X2 renferme une bonne activité antifongique contre les moisissures inoculées dans sol stérile que dans le sol non stérile :

- dans sol stérile infecté par les actinomycètes plus les 07 souches fongiques, le résultat démontre une faible germination des graines de tomate (après moyennement 7jours), par contre dans sol non stérile une bonne germination de graines de tomates est enregistrée (après 06 jours).
- dans le sol stérile non infecté par une germination du graines de tomates est enregistré après 6 jours, par contre, dans le sol non stérile une bonne germination des graines de tomates est enregistrée. Ces résultats démontre que dans le sol stérile, une bonne activité antifongique est enregistrée car sa microflore est éliminée.

L'aspect des feuilles et des racines après 15 son normal mais la longueur de plantes Sont déférente, C'est ce que l'on remarque dan sol stérile plus tomates infectés par actinomycètes la plante de la tomate plus longe que dans sol non stérile par exemple avec *Fusarium oxysporum .sp pisi* plus longue que dans sol non stérile. Par une autre remarque dans sol stérile qui infecté par les moisissures seules la longueur des plantes de la tomate Sont petite que dans sole non stérile par exemple *Fusarium lycopersici*.

La durée moyenne de la vie des plantes dans sole stérile et non stérile qui infectè par actinomycètes une bonne moyenne de vie par contre les sols qui infectè par moisissure seul sont faible moyenne, car les moisissures inhibée la germination des graines par contre les actinomycètes a un effet contre les moisissures.

		Sol stérile						Sol non stérile					
		Nombre moyen des graines germées	Durée moyenne de la germination des graines	Longueur moyenne des tiges (après 15 jours)	Aspects des feuilles	Aspects Des racines	Durée moyenne de la vie de la plante	Nombre moyen des graines germées	Durée moyenne de la germination des graines	Longueur moyenne des tiges (après 15 jours)	Aspects des feuilles	Aspects des racines	Durée moyenne de la vie de la plante
Témoïn négatif		0,13	7 jours	7.7 cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	7 jours	0,17	7,5jours	7,7cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	8jours
Témoïn positif		0,38	6.5 jours	11 cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	8jour	0,13	6jours	10,5cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	8jours
Tomate traitée par les moisissures	<i>Aspergillus flavus</i>	0,1	6.5 jours	9 cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	8jours	0,1	8jours	11,3cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	7jours
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,26	8jours	8.76cm	Petit feuille jaune	racine douce (soft)	8jours	0,13	8,5jours	12,3cm	Petit feuille vejaunes	racine douce (soft)	5jours
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,13	6,5 jours	9.53cm	Petit feuille jaune	racine douce (soft)	15jours	0,1	12jours	11,7cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	7jours
	<i>Fusarium avenaceum</i>	0,06	8jours	9,2cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	7jours	0,06	10jours	12,2cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	7jours
	<i>Fusarium oxysporum .sp pisi</i>	0,03	8jours	9,2cm	Petit feuille rouge	racine douce (soft)	6jours	0,06	12jours	11cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	6jours
	<i>Fusarium lycopersici</i>	0,06	5,3jours	9,6cm	Petit feuille rouge	racine douce (soft)	7jours	0,13	10jours	12,8cm	Petit feuille vert	racine douce (soft)	5jours

	<i>Penicillium expansum</i>	0	9,5jours	9,5cm	Petit feuille rouge	racine douce (soft	5jours	0,13	9,5jours	12cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	6jours
Tomate traitée par les actinomycètes plus les moisissures	<i>Aspergillus flavus</i>	0,06	6 jours	9.05 cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	7jours	0,06	8,5jours	11,5cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	5jours
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	0	5,5 jours	8.16	Petit feuille vert	racine douce (soft	5jours	0,06	6,5jours	11cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	7jours
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,03	78jours	9.7	Petit feuille vert	racine douce (soft	7jours	0,06	8,5jours	11,2cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	5jours
	<i>Fusarium avenaceum</i>	0,06	9,5jours	11,5cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	8jours	0,03	9jours	9,8cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	6jours
	<i>Fusarium oxysporum .sp pisi</i>	0,03	9jours	13,5cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	7jours	0,06	8,5jours	11,5cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	5jours
	<i>Fusarium lycopersici</i>	0,06	6 ,5jours	11,5cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	7jours	0,03	9,5jours	9,5cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	5jours
	<i>Penicillium expansum</i>	0,06	10jours	11,8cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	5jours	0,06	6,5jours	8,8cm	Petit feuille vert	racine douce (soft	4jours

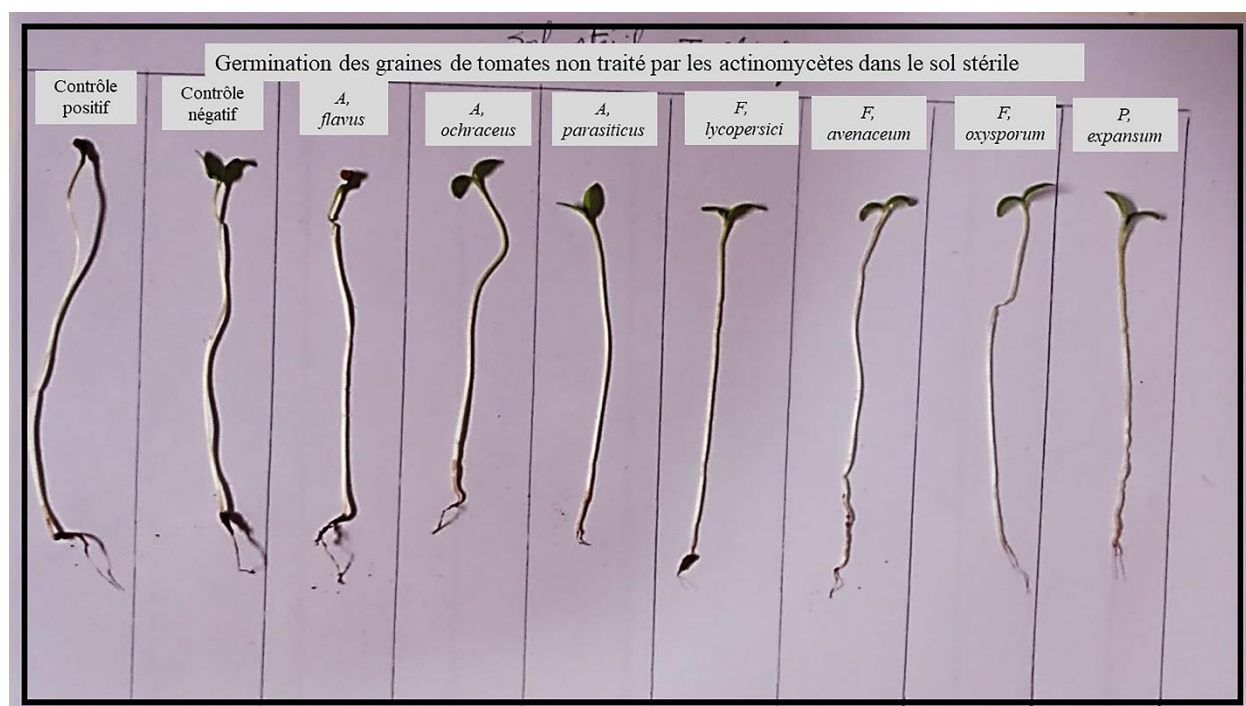


Figure 9. Germination des graines de tomates non traitées par les actinomycètes dans le sol stérile.

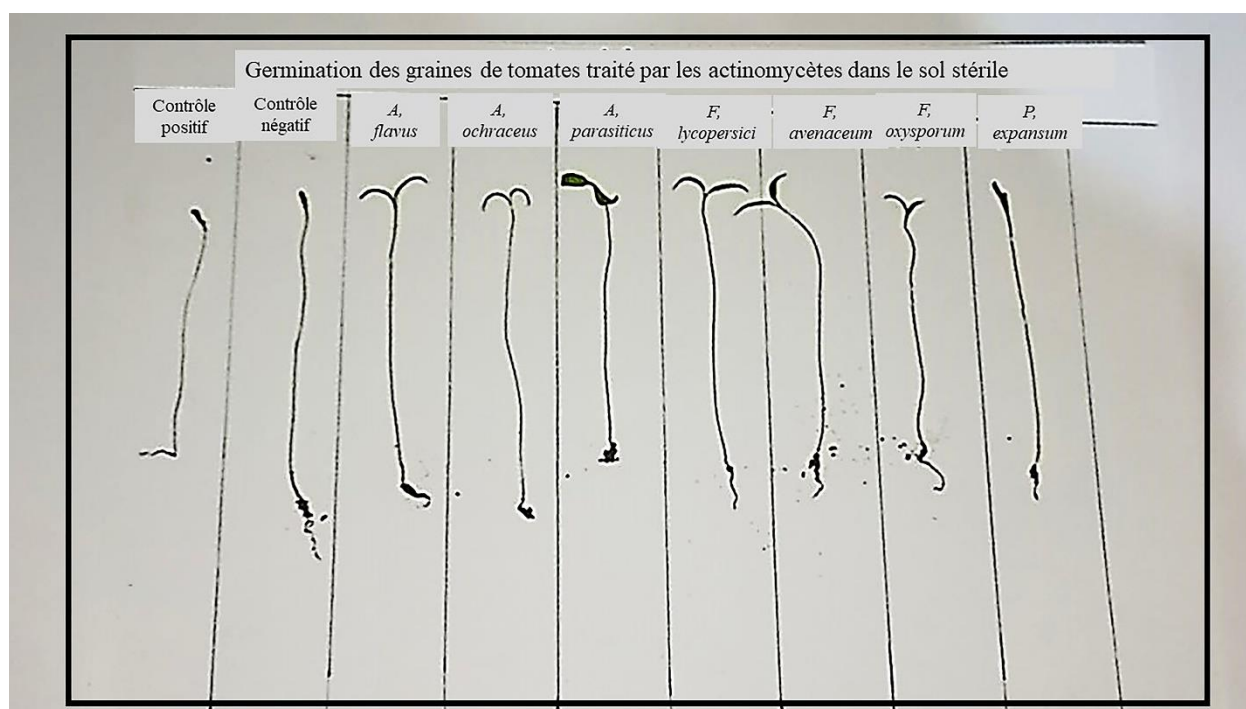


Figure 10. Germination des graines de tomates traitées par les actinomycètes dans le sol stérile.

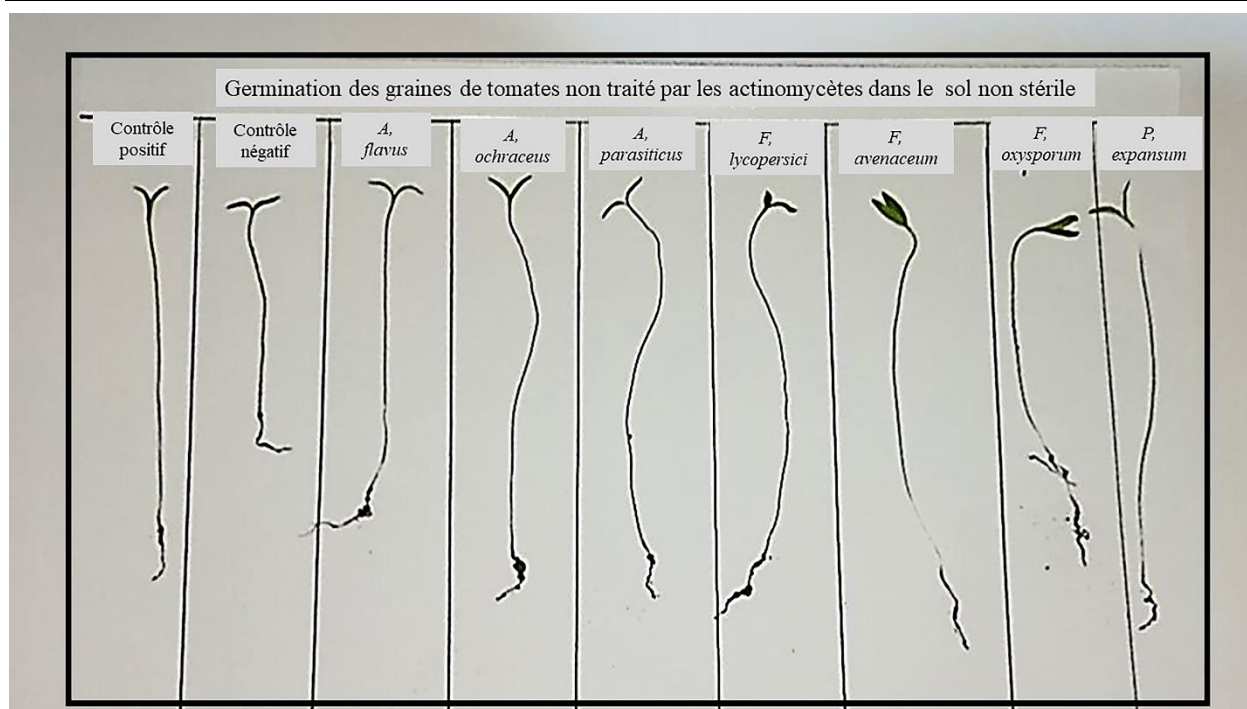


Figure 11. Germination des graines de tomates non traitées par les actinomycètes dans le sol non stérile.

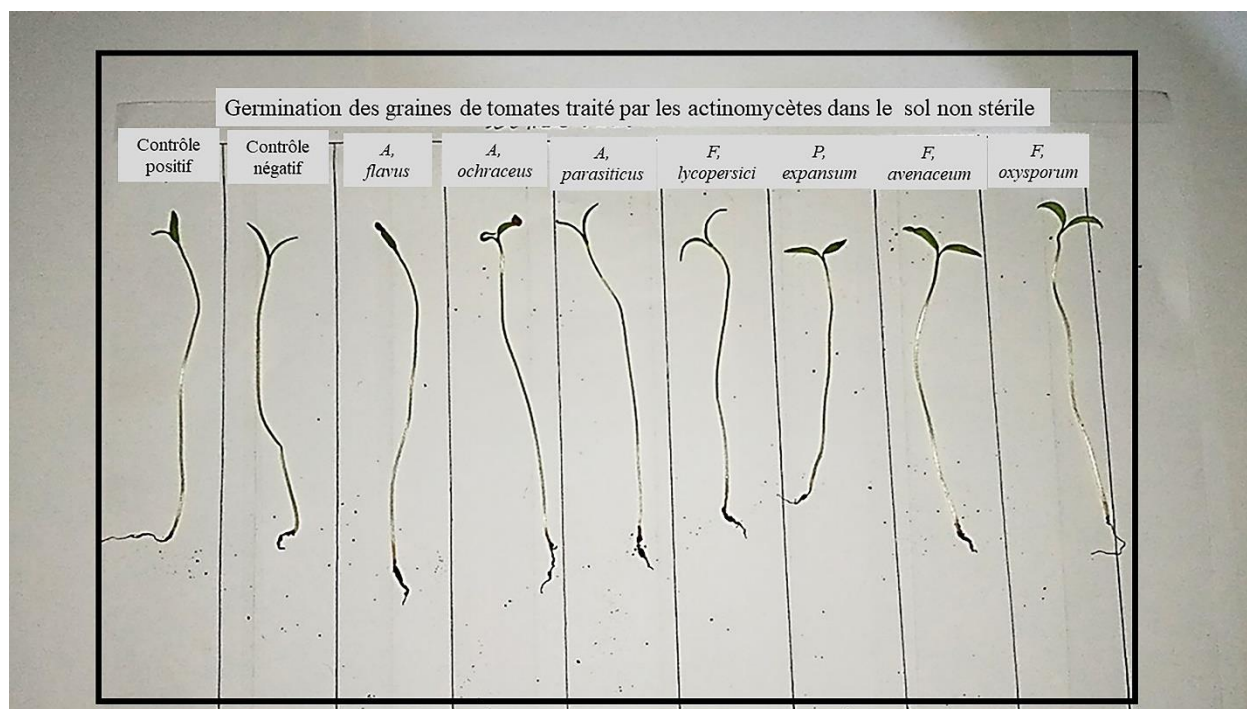


Figure 12. Germination des graines de tomate traitées par les actinomycètes dans le sol stérile.

III. 6 Discussion

Plusieurs espèces d'actinomycètes, en particulier celles appartenant au genre *Streptomyces*, sont connus comme agents de lutte biologique inhibant plusieurs micro-organismes pathogènes en particulier les bactéries et les champignons (**Wink et al., 2020**)

Nos résultats indiquent que la souche X2 renferme un bon potentiel à produire des molécules dotées d'une activité antifongique. Nous constatons que la souche *Streptomyces* a montré une bonne activité contre la totalité des souches fongiques testées (7 souches), Par contre une activité moyenne est enregistré contre *Aspergillus flavus*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium oxysporum .sp pisi* et *Penicillium expansum*. Et une faible activité contre les souches *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus* et *Fusarium lycopersici*. Dans une autre étude menée sur l'activité antifongique réalisée par **Gacem** et ces collaborateurs en **2019**, ils montrent une activité antifongique moyenne contre genre *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*.

L'extrait de la souche *Streptomyces* X 2 a montré une bonne activité insecticide contre les pucerons noir suite à la mortalité totale enregistrée avant 48heures, une étude similaire menée par **Yan Chen** et ces collaborateurs en **2018** démontre que la mortalité est enregistré après 48 heures ce qui affirme que l'extrait de la souche X2 a des molécules bioactifs dotées d'une forte activité insecticide.

Les résultats de l'activité *In vivo* ont montré que la souche X2 testées réduisaient l'incidence de la maladie dans les graines germées, cette souche contribue au contrôle de la maladie induite par les champignons phytopathogenes et pourrait avoir un effet synergique avec les actinomycètes (Goudjal et al., 2013).

Conclusion Et Perspectives

Conclusion et perspectives

Les actinomycètes sont les micro-organismes les plus abondants dans le sol, ils ont une grande capacité à produire des métabolites secondaires, y compris les anti-tumoraux, des agents immunosuppresseurs, des antibactériens, des antifongiques, des antiviraux et des bioinsecticides.

Au cours de notre étude, menée sur l'activité antifongique et insecticide des extraits brutes obtenus après extraction des métabolites secondaire d'une souche d'actinomycète désigné X₂, le premier objectif identifié fut l'étude de l'activité antifongique *in vitro* sur quelques moisissures toxigènes sélectionnées.

Pour répondre à cet objectif, des tests antifongiques sont réalisés par la technique des puits et par la technique directe en utilisant des cylindres chargés de culture de X₂.

Selon les analyses effectuées, l'actinomycète X₂ et ses extraits bruts renferment une bonne activité antifongique contre *Apergilus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium lycopersici*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus* et *Fusarium avenaceum*.

Pour répondre au second objectif évaluant l'activité insecticide des extraits de l'isolat X₂, des examens insecticides *in vitro* ont été effectués. Ils démontrent que l'extrait bruts est une source privilégiée de molécules biologiquement actives dotées d'une forte activité insecticide.

Pour répondre au troisième objectif évaluant d'une manière *In vivo* l'activité antifongique de l'isolat X₂, des expériences sont réalisées dans des lots contenant des sols stériles et non stériles. Les résultats obtenus affirment clairement que la souche X₂ possède un pouvoir stimulant la germination des graines de tomates et également capable de protéger les graines germées contre les infections fongiques provoquées.

A l'issue de cette étude et afin d'élucider certains points restés peu claires, il apparaît nécessaire d'effectuer d'autres études approfondies qui se résument dans les points suivants :

- ✓ Identification et caractérisation des structures des substances bioactive des extraits.
- ✓ Etude de l'activité antibactérienne des extraits sur des bactéries et d'autres insectes phytopathogènes.
- ✓ Etude de la toxicité de l'isolat X₂ et de leurs substances bioactives.

Reference
Bibliographique

A

-Alka Rani ., Khem Chand Saini .,Felix Bast ., Sunita Varjani ., Sanjeet Mehariya .,Shashi Kant Bhatia . (2021). Article. Microbial Products and Their Perspective Application as Antimicrobial Agents.

-Al -shaibani Muhanna Mohammed., Radin Maya Saphira Radin Mohamed., Nik Marzuki Sidik., Hesham El Enshasy.(2021). Article. Biodiversity of Secondary Metabolites Compounds Isolated from Phylum Actinobacteria and Its Therapeutic Applications. P20; 21; 22 .

-Anandan Ranjani., Dhanasekaran Dharumadurai et Gopinath Ponnusamy Manogaran . (2016). Book. An Introduction to Actinobacteria.

B

-Barka Essaid .,Parul Vatsa., Lisa Sanchez., Nathalie Gaveau-Vaillant., Cedric Jacquard., Hans-Peter Klenk., Christophe Clément., Yder Ouhdouch ., Gilles P., van Wezeld.(2016). Article . Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteri . p4; p6.

-Bafghi1 ., Masoumeh Rasouli-nasab ., Somayeh Yasliani-Fard3 ., Shads Habibnia., mehdiFatemeh Gharehbaghi ., Seyyed Saeed Eshraghi ., Kouroush Kabir., Parvin Heidarieh. (2018). Article. Diversity and Antimicrobial Activity of Actinomycetes Isolated from Lut Desert.

-Bashir A Sheikh.,Basharat Ahmad Bhat ., Umar Mehraj Wajahat R Mir. (2017) .article. Development of New Therapeutics to Meet the Current Challenge of Drug Resistant .p 2; 3.

- Bawazir ali Mohammed. Manjula Shantaram.(2018). article. Ecology and Distribution of Actinomycetes in Nature. P 3.

D

-Dhanasekaran1, N. Thajuddin1 and A. Panneerselvam2. (2017). books Fungicides for Plant and Animal Diseases chap 06 Applications of Actinobacterial Fungicides in Agriculture and Medicine. .p 30.31.

E

-El Khoury Rachelle ., Florence Mathieu ., Ali Atoui ., Hiba Kawtharani .,Anthony El Khoury., Charbel Afif ., Richard G. Maroun ID et André El Khoury . (2017). Article. Ability of Soil Isolated Actinobacterial Strains to Prevent, Bind and Biodegrade Ochratoxin A. p4; 11.

F

- **Fatemeh Mohammadipanah ET Mona Dehghani.** (2017). Article. Classification and Taxonomy of Actinobacteria.
- . **Feiyang Xie et Wasu Pathom-aree** (2021). Article. Actinobacteria from Desert: Diversity and Biotechnological Applications.

G

- **Gacem Mohamed amine. Khelil aminata. Boudjemaa badredine. , Joachim Wink.** (2020). Article .Antimicrobial and Antioxidant Effects of a Forest Actinobacterium V002 as New Producer of Spectinabilin. P 1.2.
- **Gacem Mohamed Amine ., Alia Telli1 ., Hiba Gacem., Aminata Ould-El-Hadj-Khelil** (2019). Article Phytochemical screening, antifungal and antioxidant activities of three medicinal plants from Algerian steppe and Sahara(preliminary screening studies).
- **Goudjala Yacine ., Omrane Toumatiaa, Amine Yekkoura., Nasserline Sabaoua,Florence Mathieuc, Abdelghani Zitounia,(2013).** Article . Biocontrol of Rhizoctonia solani damping-off and promotion of tomatoplant growth by endophytic actinomycetes isolated from nativeplants of Algerian Sahara.
- **Gomes., Léo Ruben L. Diasand Rita de Cássia M. de Miranda.** (2018). Article .Actinomycetes bioactive compounds.
- **Good fellows M., Williams S.T.,** (2012). Ecology of Actinomycètes. Review.Annual Review of Microbiology

H

- **Hadjer Aouissi1 ., Nadhir Gourine.,Hong Wang.,Xiaochun Chen.,Isabelle Bombarda3 .,Messaoud Boudjeniba., Mohamed Yousfi1**Chemical composition,

antioxidative, antimicrobial and anti-cancer .(2018). Article. activities of *Asteriscus graveolens* (Forssk) essential oil.

-Harir Mohammed., Hamdi Bendif., Miloud Bellahcene., Zohra Fortas et Rebecca Pogni. (2017). article. *Streptomyces* Secondary Metabolites p101.102.

- Hery Rado rakotomalali., Vincent Emile rasamison , Sylvain ramananivo ., Romaine ramananivo et Rado rasolomampianina. (2017). Article. Propriétés biologiques de *Streptomyces* isolé à partir du sol rhizosphérique d'une espèce de baobab (*Adansonia*) endémique de Madagascar P9. 10.

I

-Ivan Sugrue,a,b,c Paula M. O'Connor,b,c Colin Hill,a,c Catherine Stanton,b,c R. Paul Rossa. (2020). Article. *Actinomyces* Produces Defensin-Like Bacteriocins (Actifensins) with a Highly Degenerate Structure and Broad Antimicrobial Activity.

- Ixchel Campos Avelar . (2021). These. Actinobacteria for the control of phytopathogenic and/or mycotoxinogenic fungi of cereals

J

- Joachim Wink .,Fateme Mohammadipana ., Javad Hamed Editors (2017). Article .Biology and biotechnology of actinobacterie p 54.

K

-Klamath Inventory and Monitoring Network and Lind E. (2019). Article. Actinobacteria Natural history article about actinobacteria.p1.

L

- Limonciel A, Jennings P (2014) A review of the evidence that ochratoxin A is an Nrf2 inhibitor: implications for nephrotoxicity and renal carcinogenicity. *Toxins* 6(1):371–379

M

-.M. Maillet ., C. Janssena, P. Fraisse .(2020). Article. *Mycobacterium tuberculosis*. Article Elsevier.abstract.

- Mohd Danial. , A. Medina1. , M. Sulyok. , N. Magan (2020). Article. Efficacy of metabolites of a *Streptomyces* strain (AS1) to control growth and mycotoxin production by

Penicillium verrucosum, Fusarium verticillioides and Aspergillus fumigatus in culture. P 226,229.

- **Messaoudi omar., mourad ben dahou ., benamar Ibrahim. (2016).** Livre .Les zones extrêmes Algériennes comme sources de nouveaux antibiotiques. p 7.

N

-**Nouioui iman. (2021),** article. Actinobacteria from Desert: Diversity and Biotechnological Applications. P .6, 16, 17.

P

-**Pasindu Chamikara. (2016).** Actinomycetes

R

-**Reggani khaoula, Drici Habibaet et ghallal Lotfi1. (2021).** Article. Morphological characterization and preliminary screening for antibacterial activity of actinobacteria strains isolated from tamanrasset soil as a hyper arid region in southern Algeria p 4;2

- **Ram Darshit1 et Devang Pandya. (2018).** Article. Isolation and Screening of Antimicrobial Actinomycetes from the Soil Surrounding Different Medicinal Plants of Saurashtra with Future Scope to Produce Antimicrobial Compounds therefrom

S

-**Sohaib Ismail ., Bo Jiang ., Zohreh Nasimi ., M. Inam-ul-H ., Naoki Yamamoto . , Andrews Danso Ofori ., Nawab Khan ., Muhammad Arshad Kumail Abbas ., and Aiping Zheng .(2020).** Article. Investigation of Streptomyces scabies Causing Potato Scab by Various Detect Techniques, Its Pathogenicity and Determination of Host-Disease Resistance in Potato Germplasm .

- **Silini S., (2012).** Contribution à l'étude de la biodégradation de la méthyléthylcétone en réacteur batch par les actinomycètes isolés à partir des boues activées de la station d'épuration d'El- Atmania. Thèse de Magister en écologie option : Gestion des déchets : évaluation et solution environnementales.Université des frères Mentouri Constantine. 101p.

-**T.Selvamohan.N.K.Parameswaran. S. Abisha Felcy (2014).** Article.Isolation of Actinomycetes from different soils for analysing the antagonistic activity against pathogens p5; 8.

Y

-Yan Chen., Jamil Shafi¹., Maohai Li., Danni Fu¹ and Mingshan Ji¹. (2018).

article. Insecticidal activity of endophytic actinomycetes isolated from *Azadirachta indica* against *Myzus persicae*.

Annexes

Composition des milieux de culture**Starch Casein Agar (S.C.A) :**

Amidon	10.0 g
KNO ₃	2.0 g
K ₂ HPO ₄	4 2.0 g
NaCl	2.0 g
Caséine	0, 3 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05 g
CaCO ₃	0,02 g
FeSO ₄ .7H ₂ 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 ₃	2.0g
Glucose	4.0g
Eau distillée	1 000 ml
PH	7.2