

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mustapha Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي

معسكر

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Laboratoire de Géo Environnement et Développement des Espaces

THESE de DOCTORAT

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Intitulé :

Recherche de substances antimicrobiennes à intérêt
médicinale à partir de plusieurs biotopes environnementaux

Présentée par : Mr. Khirennas Omar

Le 18/03/2024

Devant le jury :

Président	Meliani Amina	Prof.	Université de Mascara
Examineur	Djadouni Fatima	Prof.	Université de Mascara
Examineur	Chelli Nadia	MCA	Université de Mascara
Examineur	Ziar Hasnia	Prof.	Université de Mostaganem
Examineur	Bellil Yahia	MCA	Université de Saida
Encadreur	Mokrani Slimane	MCA	Université de Mascara

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier « ALLAH » le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je remercie sincèrement mon encadreur de thèse Dr. Mokrani S. pour sa précieuse direction et son soutien tout au long de la réalisation de ma thèse de doctorat. Son expertise, son engagement et son mentorat ont été essentiels pour mener à bien cette thèse de doctorat. Ses conseils éclairants et son constant encouragement ont été une source d'inspiration pour moi.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude au Dr. Behira B, mon ancien encadreur qui a proposé le présent sujet de thèse et qui m'a fait bénéficier de ces précieux conseils et directives. Ces contributions significatives à mes travaux de recherche ont été inestimables.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au Pr. Melliani A. pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse, ainsi que pour ses conseils et directives précieux en tant que responsable de la formation doctorale. Je lui suis profondément reconnaissant et je souhaite qu'elle trouve ici l'expression de toute ma profonde gratitude.

Mes remerciements vont également aux membres du jury, Pr Djadouni F, Pr. Ziar H, Dr. Chelli N et Dr Bellil Y d'avoir accepté de juger ce travail. Je suis reconnaissant pour l'opportunité d'avoir bénéficié de votre expertise et de votre évaluation rigoureuse.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Pr. Benyoucef M. Pour m'avoir accueillie dans son laboratoire.

J'exprime toute ma gratitude et mes remerciements à Monsieur N. Bouras, Professeur à l'université de Ghardaïa pour sa participation active à ce travail.

J'adresse tous mes remerciements au Dr. Cruseman M. Chef du groupe à l'Institut de Biologie Pharmaceutique de l'Université de Bonn en Allemagne de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et m'avoir permis de travailler dans de bonnes conditions.

Je remercie également tous les chercheurs de l'Institut de Biologie Pharmaceutique de l'Université de Bonn, en particulier : Torres D, Yang J et Padva L pour leur aide à l'identification moléculaire des isolats, les tests de bio activité et la caractérisation des substances bioactives.

Je tiens à remercier monsieur Hadj Aissa B. pour avoir réalisé les analyses de sol au sein du laboratoire des travaux publics du Sud de Ouargla.

Je remercie Dr Drici Amine CEO de laboratoire Gene Life Sciences de Sidi Bel Abbes, pour avoir réalisé l'identification moléculaire de mes isolats.

Merci à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail : Dr Driche EH, Dr Zaaba O, Guedha Y, Benhassan A, Djililet M, Berkat S, Dr Makhoulouf K, Dr Akrich A, Dr. Kouadri M, Rahdoun A, Aliane S, Hazel A. Mechrouf A, Noura, Leila, Fadila, Faiza, Amel, Fatima, Hafid, Wahid, Riad Barghouti et Youcef Salah.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à la communauté Ibadith de Mascara qui m'a apporté une grande aide tout au long de mon séjour à Mascara.

Enfin, J'exprime également mes remerciements à toute personne que j'ai oubliée de citer et qui aurait aidé ou contribué à la réalisation de ce travail.

Khirennas Omar

Dédicaces

Je rends grâce à ALLAH le Généreux pour m'avoir guidé vers la lumière de la recherche, du savoir et de la science.

Du plus profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents, raison de mon existence, dont le plus grand souhait était de me voir réussir. Leur soutien inconditionnel, leur amour, leurs prières et leurs encouragements m'ont porté tout au long de mes études. Ma gratitude envers eux est infinie.

À la mémoire de mes deux grands-parents Aissa, ainsi que de mes grands-mères « Mamma Chika » et « Mama Aicha ». Que ALLAH ait pitié de leurs âmes et leur accorde son vaste Paradis.

À ma femme Ada, pour son aide, son soutien et sa compréhension. Je lui exprime tout mon amour, mes sentiments affectueux et ma reconnaissance pour sa patience pendant la réalisation de cette thèse.

À mes chers frères et sœurs Asma, Salah, Abderrahman, Hanna, Sara, Soumia et Slimane, qui représentent tout ce que j'ai de plus cher au monde.

À mes beaux-frères Salahddine, Aissa, Rostom et Aissa.

À mes très chers enfants Abdessalam, Khadidja et Aissa Aymen. Que Dieu veille sur vous et vous accorde une longue vie remplie de bonheur, de joie et de succès.

À toute ma famille et ma belle-famille.

À tous mes proches, mes collègues et tous mes amis.

À mes professeurs, pour le savoir qu'ils m'ont transmis, leur générosité et leur confiance.

Je vous souhaite à tous le bonheur du monde et un avenir radieux.

Résumé

La préoccupation croissante de la santé publique mondiale concernant la résistance aux antimicrobiens (RAM) nécessite l'exploration d'agents antimicrobiens naturels en tant qu'alternatives potentielles. Cette étude vise l'étude des quatre biotopes de sols Sahariens, l'isolement et l'identification d'actinobactéries, l'évaluation de leur activité antimicrobienne à l'égard des microorganismes pathogènes, et la caractérisation des substances antimicrobiennes produites. Dans ce contexte, des analyses granulométrique et physicochimique des quatre sols ont montré une texture sablo-limoneuse, un pH alcalin, une faible teneur en matière organique avec un maximum de 0,26 %, et une forte teneur en sels typiques des régions arides. 32 actinobactéries ont été isolées à partir de ces quatre échantillons de sol de la région d'El Atteuf (Ghardaïa), en Algérie. L'étude taxonomique par une approche polyphasique (basée sur la morphologie, la chimiotaxonomie, la physiologie, l'analyse moléculaire de la séquence de l'ADNr 16S et les analyses phylogénétiques), avec une classification par la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) des isolats d'actinomycètes, a permis de rattacher les souches à cinq genres, dont *Streptomyces* 21 (65,63 %), *Nocardia* 3 (9,38 %), *Streptosporangium* 3 (9,38 %), *Nocardiopsis* 3 (9,38 %), et *Actinomadura* 2 (6,25 %). L'UPGMA a classé les isolats en quatre phénotypes selon leurs caractéristiques biochimiques et physiologiques. La méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne par stries croisées a révélé des résultats meilleurs que celle des cylindres d'agar, dont 24 isolats (75,00 %) étaient actifs contre les bactéries à Gram positif, 21 isolats (65,63 %) étaient efficaces contre les bactéries à Gram négatif, et 25 isolats (78,13 %) ont inhibé *Candida albicans*. La souche criblée, *Streptomyces fimbriatus* AC31, a montré la plus haute activité antagoniste caractérisée par des zones d'inhibition de 41, 38, 41, 42 et 44 mm contre *B. subtilis* (ATCC 6633), *E. coli* (ATCC 8739), *S. typhimurium* (ATCC 13331), *S. aureus* (ATCC 6538) et *C. albicans* (ATCC 10231), respectivement. L'identification phylogénétique des isolats les plus actifs, AC10 et AC31, en utilisant la séquence du gène 16S rRNA, a montré une similarité de 100 % avec *Streptomyces fimbriatus* NBRC 15411^T et *Streptomyces pactum* MH542148.1^T, respectivement. Des cinétiques de production des antibiotiques de ces deux souches ont été réalisées sur milieu ISP2. Les résultats ont montré qu'au 5^{ème} et 6^{ème} jour de fermentation, le maximum d'activité des souches AC10 et AC31 respectivement a été atteint. Les extraits butanoliques des filtrats de culture soumis à une analyse par chromatographie sur couche mince, chromatographie flash et à des études spectroscopiques UV-visible ont révélé deux fractions actives pour chacune des deux souches les plus actives, dont la souche AC10 produit un antibiotique de nature aminée, tandis que la souche AC31 produit aussi un antibiotique de nature aminée comportant au moins un noyau aromatique.

Mots-clés : Actinobactéries, activité antimicrobienne, sols Sahariens, *Streptomyces*, microorganismes pathogène.

Abstract

The increasing global public health concern regarding antimicrobial resistance (AMR) necessitates exploring natural antimicrobial agents as potential alternatives. This study aims to investigate the four Saharan soil biotopes, isolate and identify actinobacteria, evaluate their antimicrobial activity against pathogenic microorganisms, and characterize the produced antimicrobial substances. In this context, granulometric and physicochemical analyses of the four soils showed a *sandy-loamy* texture, *alkaline* pH, low organic matter content with a maximum of 0.26%, and a high salt content typical of arid regions. 32 actinobacteria were isolated from these four soil samples from the El Atteuf region (Ghardaïa), Algeria. Taxonomic study using a polyphasic approach (morphology-based, chemotaxonomy, physiology, molecular analysis of 16S rRNA sequence, and phylogenetic analyses), with classification by the UPGMA method (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) of actinomycete isolates, linked the strains to five genera, including *Streptomyces* 21 (65.63%), *Nocardia* 3 (9.38%), *Streptosporangium* 3 (9.38%), *Nocardiopsis* 3 (9.38%), and *Actinomadura* 2 (6.25%). UPGMA classified the isolates into four phenotypes based on their biochemical and physiological characteristics. The antimicrobial activity evaluation method by cross-streaking revealed better results than agar cylinders, with 24 isolates (75.00%) active against Gram-positive bacteria, 21 isolates (65.63%) effective against Gram-negative bacteria, and 25 isolates (78.13%) inhibiting *Candida albicans*. The screened strain, *Streptomyces fimbriatus* AC31, exhibited the highest antagonistic activity characterized by inhibition zones of 41, 38, 41, 42, and 44 mm against *B. subtilis* (ATCC 6633), *E. coli* (ATCC 8739), *S. typhimurium* (ATCC 13331), *S. aureus* (ATCC 6538), and *C. albicans* (ATCC 10231), respectively. Phylogenetic identification of the most active isolates, AC10 and AC31, using the 16S rRNA gene sequence, showed 100% similarity with *Streptomyces fimbriatus* NBRC 15411^T and *Streptomyces pactum* MH542148.1^T, respectively. Kinetics of antibiotic production from these two strains were performed on ISP2 medium. Results showed that on the 5th and 6th days of fermentation, the maximum activity of strains AC10 and AC31, respectively, was reached. Butanol extracts of culture filtrates subjected to analysis by thin-layer chromatography, flash chromatography, and UV-visible spectroscopic studies revealed two active fractions for each of the two most active strains, with strain AC10 producing an amino acid antibiotic, while strain AC31 also produced an amino acid antibiotic containing at least one aromatic nucleus.

Keywords: *Actinobacteria*, antimicrobial activity, Saharan soils, *Streptomyces*, pathogenic microorganisms.

ملخص

يتطلب الاهتمام المتزايد بالصحة العامة العالمية بشأن المقاومة المضادة للميكروبات (RAM) استكشاف وكلاء مضادة للميكروبات الطبيعية كبديل محتمل. تهدف هذه الدراسة إلى دراسة أربع بيئات حيوية لترب الصحراء، وعزل وتحديد البكتيريا الهيفية، وتقييم نشاطها المضاد للميكروبات ضد الكائنات الدقيقة الممرضة، وتوصيف المواد المضادة للميكروبات المنتجة. في هذا السياق، أظهرت التحاليل الحبيبية والفيزيائية والكيميائية للتربة الأربعة تربة رملية طينية، وقيمة pH قلوية، ومحتوى منخفض من المواد العضوية مع حد أقصى يبلغ 0.26٪، ومحتوى عالٍ من الملح النموذجي للمناطق الجافة. تم عزل 32 بكتيريا من البكتيريا الهيفية من هذه العينات الأربعة من التربة في منطقة العطف (غرداية) بالجزائر. أظهرت الدراسة التصنيفية باستخدام نهج متعدد الطور (المبني على المظهر الخارجي، والتصنيف الكيميائي، والفسولوجيا، والتحليل الجزيئي لتسلسل 16S rDNA، والتحليل الفيلوجينية)، مع تصنيف باستخدام طريقة UPGMA طريقة التجميع المقابلة بالأوزان) لعزلات البكتيريا الهيفية، تعلق السلالات بخمسة أجناس، بما في ذلك *Streptomyces* (65.63٪)، و *Nocardia* (9.38٪)، و *Streptosporangium* (9.38٪)، و *Nocardiosis* (9.38٪)، و *Actinomadura* (6.25٪). صنفت UPGMA العزلات إلى أربعة أنماط استناداً إلى خصائصها الكيميائية الحيوية والفيزيولوجية. أعطت طريقة التقييم المضادة للميكروبات بواسطة خطوط التقاطع نتائج أفضل من ذلك الحصة من الأجرى، حيث كانت 24 عينة (75.00٪) نشطة ضد البكتيريا الإيجابية الغرام، و 21 عينة (65.63٪) كانت فعالة ضد البكتيريا السالبة للغرام، و 25 عينة (78.13٪) كانت قادرة على تثبيط *Candida albicans*. أظهرت السلالة المختارة، *Streptomyces fimbriatus* AC31، أكبر نشاط مضاد وأظهرت مناطق تثبيط بقطر 41، 38، 41، 42، و 44 ملم ضد كل من *S. aureus*، *S. typhimurium* (ATCC 13331)، *E. coli* (ATCC 8739)، *B. subtilis* (ATCC 6633) و *C. albicans* (ATCC 10231)، على التوالي. أظهر التحديد الفيلوجيني للعزلات الأكثر نشاطاً، AC10 و AC31، باستخدام تسلسل الجين 16S rRNA تشابهاً بنسبة 100٪ مع *Streptomyces pactum* MH542148.1T و NBRC 15411^T على التوالي. تم إجراء حركيات إنتاج المضادات الحيوية لهاتين السلالتين على وسط ISP2. أظهرت النتائج أنه في اليوم الخامس والسادس من التخمر، تم الوصول إلى أقصى نشاط للسلالات AC10 و AC31 على التوالي. تم إجراء حركيات إنتاج المضادات الحيوية لهذين السلالتين على متوسط ISP2. أظهرت النتائج أن النشاط الأقصى للسلالات AC10 و AC31 تم الوصول إليه في اليوم الخامس والسادس من التخمر، على التوالي. كشفت مستخلصات البوتانول التي خضعت لتحليل بواسطة طبقة رقيقة كروماتوغرافية، وكروماتوغرافية سريعة، ودراسات طيفية مرئية فوق البنفسجية عن وجود فرعين نشطين لكل من السلالتين الأكثر فعالية، حيث تنتج السلالة AC10 مضاد حيوي من الطبيعة الأمينية، بينما تنتج السلالة AC31 أيضاً مضاد حيوي من الطبيعة الأمينية يحتوي على الأقل نواة عطرية.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الهيفية، نشاط مضاد للميكروبات، تربة الصحراء، *Streptomyces*، كائنات دقيقة ممرضة.

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction Générale 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I. Actinomycètes 4

1 Définition et caractéristiques principales..... 4

2 Ecologie et distribution des actinobactéries..... 4

3 Taxonomie et critères d'identification des actinomycètes 6

3.1 Les critères morphologiques 6

3.1.1 Macromorphologique..... 7

3.1.2 Micromorphologique 7

3.2 Critères physiologiques et taxonomie numérique 9

3.3 Taxonomie moléculaire..... 9

3.3.1 Séquençage de l'ADN ribosomique 16S 9

3.3.2 Hybridation ADN-ADN 10

3.3.3 Pourcentage de guanine-cytosine (G+C) 11

4 Genre *Streptomyces* 11

4.1 Caractéristiques et position taxonomique..... 11

4.2 *Streptomyces* et les genres apparentés..... 12

4.3 Caractères culturels..... 13

4.3.1 Croissance en milieu solide..... 13

4.3.2 Croissance en milieu liquide..... 13

Chapitre II. Métabolisme des actinomycètes..... 15

1 Métabolisme des actinobactéries..... 15

1.1 Métabolisme primaire 15

1.2 Métabolisme secondaire. 15

2 Importance biotechnologique des actinomycètes 16

2.1 Production de composés à intérêt médical, vétérinaire et industriel..... 16

2.1.1 Production de composés anticancéreux..... 16

2.2 Production d'enzymes 17

2.2.1 Amylase 17

2.2.2 Protéase 18

2.2.3 Lipases 18

2.2.4	Chitinases	19
2.2.5	Cellulases.....	19
2.3	Production de biosurfactants.....	20
2.4	Utilisation des actinomycètes dans la bioremédiation.....	21
2.5	Production de bioplastics et d'exopolysaccharides.....	21
2.6	Utilisation des actinomycètes dans le domaine agronomique.....	22
3	Antibactérien de nature antibiotiques produits par les actinobactéries	23
4	Classification des antibiotiques	24
4.1	Classification selon la structure.....	24
4.2	Classification selon le spectre d'action	26
4.3	Classification selon l'activité.....	26
4.3.1	Antibiotiques.....	26
4.3.2	Antifongiques.....	27
5	Mécanisme d'action des antibiotiques.....	27
5.1	Antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane.....	27
5.2	Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines.....	28
5.3	Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques	29
Chapitre III. Biotopes environnementaux.....		30
1	Introduction aux biotopes environnementaux des zones arides	30
1.1	Définition des sols Saharian.....	30
1.2	Caractéristiques des sols Saharien	30
1.3	Sols sahariens en Algérie.....	31
2	Microorganismes du sol	32
2.1.1	Bactéries	32
2.1.2	Champignons	33
2.1.3	Actinomycètes	33
2.1.4	Algues	34
3	Écologie et distribution des actinobactéries dans les différents biotopes environnementaux.....	34
3.1	Sol.....	35
3.2	Air	36
3.3	Eaux douces et milieux marins	36
4	Facteurs environnementaux influençant la densité et la distribution des actinomycètes.....	37
4.1	Facteurs physiques	37
4.1.1	Texture du sol	37

4.1.2	Structure du sol	38
4.2	Facteurs chimiques	39
4.2.1	pH.....	39
4.2.2	Teneur en sels	39
4.2.3	Azote de sol	40
4.3	Facteurs climatiques.....	40
4.3.1	Température	40
4.3.2	Humidité.....	41
4.3.3	Vent.....	41
4.3.4	Influence des saisons	41

Matériel et Méthodes

1	Isolement des actinomycètes des sols Sahariens	43
1.1	Origine et analyse des sols.....	43
1.1.1	Sites de l'étude	43
1.1.2	Echantillonnage	44
1.1.3	Analyses du sol.....	46
1.2	Origine et isolement des souches d'actinobactéries.....	49
1.2.1	Isolement des actinobactéries	49
2	Identification polyphasique des actinomycètes.....	51
2.1	Caractérisation morphologique.....	51
2.1.1	Etude macromorphologiques	51
2.1.2	Etude micromorphologiques et types de chaînes de spores.....	52
2.2	Analyse physiologique et biochimique	52
2.2.1	Production de pigments mélanoides	52
2.2.2	Utilisation des composés glucidiques comme seules sources de carbone	52
2.2.3	Utilisation des acides aminés	52
2.2.4	Hydrolyse de l'amidon	53
2.2.5	Dégradation de la caséine du lait	53
2.2.6	Dégradation du Tween 80	53
2.2.7	Dégradation de l'esculine.....	53
2.2.8	Catalase	53
2.2.9	Tests de sensibilité à divers agents physiques et chimiques	54
2.3	Etude moléculaire pour les deux souches les plus performantes AC31 et AC10	54
2.3.1	Extraction de l'ADN génomique	54
2.3.2	Amplification de l'ADN ribosomique 16S.....	54

2.3.3	Electrophorèse sur gel d'agarose	54
2.3.4	Séquençage de l'ADN	55
2.3.5	Analyse des données et construction de l'arbre phylogénétique.....	55
3	Screening de l'activité antimicrobienne des actinobacteries	55
3.1	Microorganismes-cibles.....	55
3.1.1	Origine.....	55
3.1.2	Antibiogramme des souches cibles.....	55
3.2	Test d'antagonisme.....	56
3.2.1	Technique des stries croisées	56
3.2.2	Méthode des disques d'agar	57
3.3	Cinétiques de production des antibiotiques en milieu liquide.....	58
3.3.1	Préparation des pré-cultures.....	58
3.3.2	Ensemencement en fioles agitées.....	58
3.3.3	Cinétiques de production.....	58
4	Étude des substances antimicrobienne des souches d'actinomycetes.....	59
4.1	Extraction des substances antimicrobienne	59
4.1.1	Extraction à partir du filtrat de culture.....	59
4.1.2	Extraction à partir du mycélium	60
4.1.3	Antibiographies et choix du meilleure solvant d'extraction.....	60
4.2	Etudes spectroscopiques des extraits bruts	60
4.2.1	Spectre UV-visible	60
4.3	Chromatographie sur couche mince CCM	61
4.3.1	Révélations des groupements chimiques des antibiotiques	61
4.4	Flash chromatographie	61
4.4.1	Préparation des extraits.....	61
4.4.2	Préparation de la colonne d'élution	62
4.4.3	Chromatographie flash	62
4.4.4	Antibiographies des fractions collectées.....	62

Résultats et discussion

1	Isolement des actinomycetes des sols sahariens.....	63
1.1	Origine et analyse des sols.....	63
1.1.1	Analyses du sol.....	63
1.2	Origine et isolement des souches d'actinobacteries.....	68
1.2.1	Isolement des actinobactéries.....	68
1.3	Discussion	70
1.4	Conclusion	72

2	Identification polyphasique des actinomycètes.....	72
2.1	Caractérisation morphologique	72
2.1.1	Etude macromorphologiques	72
2.1.2	Etude micromorphologiques et types de chaînes de spores.....	76
2.2	Analyse physiologique et biochimique	77
2.3	Distribution des genres d'isolats d'actinomycètes	78
2.4	Etude moléculaire pour les deux souches les plus performantes AC31 et AC10	82
2.4.1	Isolat AC31.....	82
2.4.2	Isolat AC10.....	83
2.5	Discussion	83
2.6	Conclusion	86
3	Screening de l'activité antimicrobienne des actinobacteries	87
3.1	Microorganismes-cibles.....	87
3.1.1	Antibiogramme des souches cibles.....	87
3.2	Test d'antagonisme.....	87
3.2.1	Méthode des cylindres d'agar	87
3.2.2	Technique des stries croisées	89
3.3	Cinétiques de production des antibiotiques en milieu liquide.....	92
3.3.1	Cinétiques de production.....	92
3.3.2	Cinétique de production de la souche AC10	93
3.3.3	Cinétique de production de la souche AC31	94
3.4	Dicussion.....	95
3.5	Conclusion	98
4	Étude des substances antimicrobienne des souches d'actinomycetes.....	98
4.5	Extraction des substances antimicrobienne et choix du meilleure solvant	
	d'extraction	98
4.1.1	Extraction à partir du filtrat de culture.....	98
4.1.2	Extraction à partir du mycélium	99
4.6	Etudes spectroscopiques des extraits bruts	100
4.1.3	Détection des polyènes par spectroscopie UV-visible.....	100
4.7	Chromatographie sur couche mince CCM	100
4.1.4	Révélation des groupements chimiques des antibiotiques	101
4.8	Chromatographie flash	102
4.1.5	Souche AC10.....	103
4.1.6	Souche AC31	104

4.9 Discussion	105
4.10 Conclusion	107
Conclusion Générale et perspectives	108
Références bibliographiques	111
Annexes	132
Publications	

Liste des figures

Figure 1: Micromorphologie des principaux genres d'actinobactéries (Sabaou et al., 1998)...	8
Figure 2: Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide (Almaris, 2007).	14
Figure 3 : Écologie et distribution des actinomycètes dans la nature (van der Meij et al., 2017).....	35
Figure 4 : Carte indiquant les sites d'échantillonnage à El Atteuf (Ghardaïa, Algérie).	44
Figure 5: Sites de prélèvement des échantillons de sol de d'El Atteuf à Ghardaia.....	45
Figure 6 : Méthode de préparation d'une suspension dilution du sol et d'isolement des actinomycètes sur milieu chitine vitamine (Ch-V) et purification sur milieu ISP2	51
Figure 7 : Illustration schématique de la technique des stries croisées	57
Figure 8 : Détermination de la teneur en MO.	63
Figure 9 : Colonies d'actinomycètes isolées sur milieu Ch-VB à partir des échantillons de sol de Tammou El Maleh (Les flèches indiquent quelques colonies d'actinomycètes après deux semaines d'incubation à 30 °C).....	69
Figure 10 : Trois types de textures des colonies des isolats d'actinomycètes observé à la loupe binoculaire.	73
Figure 11 : Morphologie des chaînes de spores de Streptomyces (Microscopie optique, 1000 x).....	76
Figure 12 : Caractérisation morphologique et observation microscopique des genres d'actinomycètes	77
Figure 13 : Distribution des genres d'isolats d'actinomycètes	78
Figure 14 : Dendrogramme obtenu en comparant les caractéristiques physiologiques et biochimiques des 32 actinomycètes isolés.	81
Figure 15 : Arbre phylogénétique et caractérisation morphologique de la souche Streptomyces fimbriatus AC31	82
Figure 16 : Arbre phylogénétique et caractérisation morphologique de la souche Streptomyces pactum AC10.....	83
Figure 17 : Activité antimicrobienne de la souche AC31 par technique des cylindres d'agar	89
Figure 18 : Activité antimicrobienne des deux souches AC10 et AC31 par technique des stries croisé	90
Figure 19 : Diagramme de criblage des isolats d'actinomycètes provenant des quatre biotopes étudiés, réalisé selon les deux méthodes de stries croisées et de cylindres d'agar.	92
Figure 20 Activité antimicrobienne du filtrat de culture de la souche AC10 contre <i>S. aureus</i> (ATCC 6538) cultivé sur milieu ISP2 le 5 ^{ème} jour de cinétique.....	93
Figure 21 Cinétique de l'activité antimicrobienne, de la biomasse et de pH et de la souche AC10 contre <i>S. aureus</i> (ATCC 6538) sur milieu ISP2.	94
Figure 22 : Activité antimicrobienne du filtrat de culture de la souche AC31 contre <i>S. aureus</i> (ATCC 6538) cultivé sur milieu ISP2 le 6 ^{ème} jour de cinétique.	94
Figure 23 : Cinétique de l'activité antimicrobienne, de la biomasse et de pH et de la souche AC31 contre <i>S. aureus</i> (ATCC 6538) sur milieu ISP2.	95
Figure 24: Activité antimicrobienne des extraits organiques de la souche AC10 et AC31 contre <i>S. aureus</i> (ATCC 6538) (Le diamètre du disque (6 mm) est compris dans les mesures:	99
Figure 25 : Spectre d'absorption dans l'UV-visible des extraits butanolique des souches AC10 et AC31.....	100

Figure 26 : Localisation, par chromatographie sur couche mince (CCM), des fractions de l'extrait butanolique du filtrat de culture de la souche AC10 et AC31 cultivée sur bouillon ISP2	102
Figure 27 : Chromatographie flash de l'extrait butanolique de la souche AC10.....	104
Figure 28 : Chromatographie flash de l'extrait butanolique de la souche AC31.....	105
Figure 29 : Révélation par antibiographie des activités antibiotiques des fractions des extraits butanolique du filtrat de culture des deux souches AC10 et AC31	105
Figure 30 Analyses granulométrique de l'échantillon du sol de la région de Tammou El Maleh.....	135
Figure 31 Analyses granulométrique de l'échantillon du sol de la région de la vallée de Mzab	135
Figure 32 Analyses granulométrique de l'échantillon du sol de la région d'El Jaoua.....	136
Figure 33 Analyses granulométrique de l'échantillon du sol de la région d'Aoulaoual.....	136

Liste des tableaux

Tableau 1 : Répartition des actinobactéries dans la nature (Goodfellow & Williams, 1983)...	6
Tableau 2 : Principales différences entre les métabolites primaires et secondaire (Delaunay et al., 2003).....	15
Tableau 3 : Classification des antibiotiques selon leur structure chimique (Bérdy, 1987).....	25
Tableau 4 : Trois domaines d'aridité en fonction de la pluviométrie annuelle Emberger (1955).	31
Tableau 5 : Répartition de quelques genres d'actinobactéries par type d'habitat (Goodfellow, 1983).	35
Tableau 6 : Distribution des actinomycètes isolés totaux provenant de différentes localités d'El Atteuf (Ghardaïa, Algérie).	45
Tableau 7 : Dénomination d'un sol selon sa granularité (Arvor Géotechnique).....	48
Tableau 8 : Différents antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme	56
Tableau 9 : Analyses physicochimique des échantillons de sol.	64
Tableau 10 : Analyses granulométrique de l'échantillon de sol de Tammou El Maleh.....	65
Tableau 11 Analyses granulométrique de l'échantillon de sol de Oued Mzab.....	66
Tableau 12 Analyses granulométrique de l'échantillon de sol d'El Jaoua	67
Tableau 13 : Analyses granulométrique de l'échantillon de sol d'Aoulaoual	67
Tableau 14 : Dénombrement des actinomycètes dans les échantillons de sols	69
Tableau 15 : Caractéristiques morphologiques des isolats d'actinomycètes.	74
Tableau 16 : Caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats d'actinomycètes. .	79
Tableau 17 : Profile de résistance des souches test.....	87
Tableau 18 : Activité antagoniste d'isolats d'actinomycètes contre des micro-organismes pathogènes par la méthode des cylindres d'agar.	88
Tableau 19 : Activité antagoniste d'isolats d'actinomycètes contre des micro-organismes pathogènes par la méthode des stries croisées.	91
Tableau 20 : Fractions obtenues par chromatographie flash de l'extrait butanolique de la souche AC10 et leur activité vis-à-vis <i>B.subtilis</i> JH642	103
Tableau 21 : Fractions obtenues par chromatographie flash de l'extrait butanolique de la souche AC31 et leur activité vis-à-vis <i>B.subtilis</i> JH642	104

Liste des abréviations

ADN: acide désoxyribonucléique
AM : acétate d'éthyle-méthanol
AMR : Antimicrobial resistance
ANOVA: analyse de variance
ARN: acide ribonucléique
ARNr 16S: acide ribonucléique codant pour la sous unité ribosomique 16S
BAE: n-butanol-acide acétique-eau
BLAST: The Basic Local Alignment Search Tool
CCM Chromatographie sur Couche Mince
Ch-V: milieu chitine-vitamines agar
cm : Centimètre
CMI: concentrations minimales inhibitrices
Dendro UPGMA: Dendrogram Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
dNTP: désoxynucléoside triphosphate
DO: densité optique
ELSD: Evaporative Light Scattering Detector
G+C: guanine et cytosine
HPLC: Chromatographie Liquide à Haute Performance
ISP: International *Streptomyces* Project
iTOL: Interactive Tree Of Life
L: Litre
MA: mycélium aérien
MDR : multidrug-resistant
MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
min: minute
MS: mycélium du substrat
NCBI: National Center for Biotechnology Information
PCR: polymerase chain reaction
q.s.p: quantité suffisante pour
RA: Retinaculum Apertum
Rf: rapport frontal
RF: Rectus Flexibilis
Rpm: rotation par minute
S: Seconde
S: Spira
UFC gss-1: unité formant colonie par gramme de sol sec
UV: Ultraviolet
WHO: World Health Organization
°C: degrés Celsius.
%: Pourcentage

Introduction générale

Introduction Générale

Au cours des deux dernières décennies, les bactéries multirésistantes (MDR) se propagent à travers le monde, constituant une grave menace pour la santé publique (Strathdee *et al.*, 2020). Selon l'évaluation de l'Organisation mondiale de la santé, l'une des plus grandes préoccupations pour la santé publique au XXI^e siècle est la résistance aux antibiotiques (Organization, 2014).

Actuellement, plusieurs études ont rapporté l'augmentation des bactéries résistantes aux antibiotiques les plus couramment rencontrées, telles que *Staphylococcus aureus* (Dumitrescu *et al.*, 2010), *Salmonella typhi* (Mutai *et al.*, 2018), *Bacillus subtilis* (Takada *et al.*, 2022), *Escherichia coli* (Lopatkin *et al.*, 2021), et la levure *Candida albicans* (Mayer *et al.*, 2013).

Il s'agit d'un défi majeur qui nécessite le développement de médicaments antimicrobiens innovants, sûrs et efficaces (Anguzu et Olila, 2007). Consciemment, des antibiotiques sont encore en cours de développement par des chercheurs du monde entier dans le but de mettre au point de nouveaux médicaments efficaces pour lutter contre les MDR (Aslam *et al.*, 2018).

Les produits naturels jouent un rôle significatif dans le contrôle et la prévention des maladies humaines (Luca *et al.*, 2020). Ils sont une source majeure de nouvelles molécules thérapeutiques provenant de microorganismes prokaryotes et eucaryotes, de plantes et d'autres animaux. Les principaux composés antimicrobiens découverts proviennent de sources microbiennes et végétales (Berdy, 2005).

Particulièrement, les actinomycètes peuvent produire différents métabolites secondaires avec une large gamme de structures chimiques, ce sont des bactéries Gram-positif avec un taux de GC élevé et la plupart d'entre eux produisent du mycélium (Arasu *et al.*, 2008). Ils peuvent générer des spores, des arthrospores, des conidies et des sporanges, tous essentiels dans la classification de ce groupe de micro-organismes (Barka *et al.*, 2016). Ils produisent des composés commercialement précieux dans le domaine de la biotechnologie, tels que des agents antiparasitaires, des herbicides, des immunosuppresseurs, des pigments, des larvicides, des phytohormones, des surfactants, etc. De plus, des substances utiles dans l'industrie alimentaire, telles que des enzymes et des vitamines, pourraient être produites (Manivasagan *et al.*, 2013).

Les médicaments antibactériens et antifongiques figurent parmi leurs produits les plus connus (Solanki *et al.*, 2008). Les actinomycètes fournissent la majorité des antibiotiques naturels, et ils sont les plus largement distribués dans la nature, habitant principalement les sols (Goodfellow *et al.*, 2012). Environ deux tiers de tous les antibiotiques naturels sont estimés provenir des actinomycètes (Solanki *et al.*, 2008). Ils représentent environ 45% des 22 500 substances physiologiquement actives obtenues à partir de micro-organismes (Berdy, 2005). Le genre *Streptomyces* est notamment le principal genre produisant le plus grand nombre, estimé à environ 80%, des antibiotiques produits par les actinomycètes (Demain, 2006).

Ainsi, en raison de leur métabolisme secondaire particulièrement complexe, sont considérés comme le genre de bactéries le mieux étudié. Leur capacité à biosynthétiser une extraordinaire diversité de composés présentant différentes structures et activités biologiques en fait des acteurs clés dans la production d'antibiotiques d'origine naturelle. Cette activité biologique est intensément exploitée dans divers domaines. Les antibiotiques produits par les *Streptomyces* agissent sur plusieurs cibles, y compris la synthèse de la paroi bactérienne, des protéines, des acides nucléiques, ainsi que sur la perméabilité membranaire, entre autres (Procópio *et al.*, 2012; Solecka *et al.*, 2012).

De nombreuses recherches se concentrent actuellement sur des environnements inexplorés afin d'en apprendre davantage sur la synthèse d'agents antimicrobiens (Oskay *et al.*, 2004).

L'exploration des écosystèmes dans des conditions environnementales extrêmes est une stratégie intéressante pour découvrir de nouveaux producteurs de substances bioactives (Mohamed *et al.*, 2017). En particulier, le sol saharien algérien a été signalé comme étant riche en actinomycètes producteurs d'antibiotiques (Sabaou *et al.*, 1998). Ces investigations ont révélé une grande richesse et biodiversité en actinobactéries, allant des espèces les plus communes comme *Streptomyces*, aux plus rares à l'échelle mondiale telles que *Actinomadura*, *Catellatosopra*, *Couchioplanes*, *Herbidospora*, *Nocardiosis*, *Nonomurea*, *Planobispora*, *Planomonospora*, *Saccharothrix*, *Spirillospora*, *Streptosporangium*, et autres (Sabaou *et al.*, 1998; Mokrane *et al.*, 2013). Plusieurs de ces souches sont des espèces nouvellement découvertes, et elles produisent un grand nombre de molécules antimicrobiennes, dont beaucoup sont inédites (Aouiche *et al.*, 2015; Belghit *et al.*, 2016; Bouras *et al.*, 2015; Driche *et al.*, 2017, 2015; Merrouche *et al.*, 2017).

Dans ce contexte, notre travail de recherche a fixé comme objectifs: le prélèvement et les analyses des échantillons de sols des quatre biotopes environnementaux; dénombrement, isolement, identification polyphasique des isolats d'actinomycètes; criblage de leurs activités antimicrobiennes à l'égard de cinq microorganismes pathogènes: *B. subtilis* (ATCC 6633), *E. coli* (ATCC 8739), *S. typhimurium* (ATCC 13331), *S. aureus* (ATCC 6538) et *C. albicans* (ATCC 10231). Les deux souches les plus performantes du point de vue production de composés antimicrobiens seront sélectionnées pour une étude détaillée des principaux : cinétique de production, extraction et caractérisation des substances antimicrobiennes de nature antibiotique.

Synthèse bibliographique

Chapitre I Actinomycètes

Chapitre I. Actinomycètes

1 Définition et caractéristiques principales

Les actinomycètes sont des bactéries à Gram positif, démontrent la capacité de former des spores asexuées (conidiospores ou sporangiospores) ainsi que des hyphes ramifiés. Ces hyphes, généralement non fragmentés, donnent lieu à des colonies circulaires constituées de filaments qui rayonnent de manière centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance. C'est de là que provient leur dénomination «Actinomycètes», tirée des termes grecs «*aktino*» «*mycètes*» se traduisant par «champignons à rayons» ou «champignons rayonnants» (Allan and Prosser, 1983; Lechevalier, 1981).

Les actinobactéries étaient classées au sein de l'ordre des *Actinomycetales* (Mariat and Sebald, 1990). Certains membres de ces microorganismes, principalement les formes aérobies, ont été autrefois exclus du royaume bactérien en raison de leur morphologie rappelant celle des champignons, caractérisée par des filaments ramifiés et des structures de sporulation (Becker *et al.*, 1965). De plus, les maladies qu'ils causaient, présentant des symptômes similaires à des infections fongiques, contribuaient à la confusion (Gazenko *et al.*, 1998). Cette problématique a été résolue, et ce groupe de microorganismes est maintenant solidement classé parmi les bactéries (Becker *et al.*, 1965; Lechevalier, 1981). Le phylum Actinobacteria est composé de 6 classes (*Acidimicrobiia*, *Actinobacteria*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubroacteria* et *Thermophilia*), 18 ordres, 63 familles et 367 genres (Euzéby, 2017; Ludwig *et al.*, 2012).

Sur le plan physiologique, les actinomycètes sont majoritairement des bactéries aérobies, bien que certaines soient facultativement aérobies, voire anaérobies. Chimio-hétérotrophes, ces bactéries sont très diversifiées dans leur capacité à utiliser différentes sources d'énergie, incluant les polymères complexes (Lechevalier, 1988; Zimmermann, 1990).

2 Ecologie et distribution des actinobactéries

La plupart des actinomycètes sont saprophytes, cependant il existe des espèces symbiotiques ou qui sont pathogènes pour les plantes, les animaux et les êtres humains (Lacey, 1997; Locci, 1994; Peltola *et al.*, 2001).

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires qui peuvent être trouvés dans la plupart des niches écologiques, y compris les sols (cultivés, désertiques, salés ou non, forêts, champs, pollués par le pétrole ou les métaux lourds etc.), les moraines, les coulées

volcaniques, les glaciers, les cavernes, les sédiments et les eaux (douces et salées) (Cross, 1981; Goodfellow and Williams, 1983; Kurtböke, 2017).

La majorité des actinobactéries sont d'origine tellurique et peuvent coloniser les autres milieux à partir du sol qui est le plus grand réservoir d'actinobactéries, qui représente 10 à 20 % de la microflore tellurique. Même si leur nombre est généralement moins élevé que celui des autres bactéries, leur densité de propagules est supérieure à celle des champignons, avec une densité de 10^6 à 10^9 propagules par gramme de sol (Dommergues and Mangenet, 1970; Goodfellow and Williams, 1983).

Dans les sols sahariens d'Algérie, les actinomycètes représentent une part comprise entre 15 et 60 % de l'ensemble des microorganismes, pouvant même atteindre plus de 85 % dans les couches profondes des sols des palmeraies (Sabaou *et al.*, 1992).

Particulièrement, le genre *Streptomyces* est prédominant dans les sols ainsi que dans divers autres substrats, constituant entre 80 et 95% du nombre total d'actinomycètes (Elwan *et al.*, 1985), en deuxième position, on retrouve fréquemment les genres *Nocardia* et *Micromonospora* (Ishizawa and Araragi, 1976).

Plusieurs facteurs physico-chimiques, tels que la nature et la richesse en matières organiques, la température, le pH, la profondeur, l'aération et le taux d'humidité, exercent une influence sur l'abondance des actinobactéries dans le sol. Ces microorganismes se répartissent verticalement depuis la surface jusqu'à plus de 2 mètres de profondeur, atteignant leur niveau optimal entre 2 et 15 cm (Breton *et al.*, 1989) et préfèrent un pH compris entre 7 et 8 et une humidité réduite de l'ordre de 5 à 25%. Tout comme les autres bactéries présentes dans le sol, la majorité des actinobactéries sont basophile, mésophile ou neutrophile. Certaines espèces sont acidophiles ou halophiles (Hagedorn, 1976; Meklat *et al.*, 2012, 2011)

Les actinobactéries ont également été isolées à partir de nombreux environnements aquatiques tels que l'eau douce (Kitouni *et al.*, 2005), l'eau de mer et les sédiments marins (Bull and Stach, 2007; Ghanem *et al.*, 2000; Jensen *et al.*, 1991; Ward and Bora, 2006), et l'eau issue de marécages salés (Al-Zarban *et al.*, 2002).

Les Actinomycètes dans l'air sont retrouvés sous forme de spores. Plutôt que de servir d'habitat, ils exploitent l'air comme un moyen de déplacement (Gazenko *et al.*, 1998; Reponen *et al.*, 1998). Le tableau 1 représente la répartition des actinobactéries dans la nature.

Tableau 1 : Répartition des actinobactéries dans la nature (Goodfellow & Williams, 1983)

Genres/Espèces	Habitats
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière
<i>Actionomadura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau, litière
<i>Frankia</i>	Nodule de racines des non légumineuses
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, eau, sédiments, les sols humides
<i>Nocardia</i>	Sol, eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier, litière
<i>Saccharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Streptosporangium</i>	Sol
<i>Thermomonospora</i>	Matière en décomposition et fermentation
<i>Nocardia amarae</i>	Les boues activées

3 Taxonomie et critères d'identification des actinomycètes

La classification précise des actinobactéries mycéliennes repose sur des critères morphologiques et chimiques, validés ultérieurement par des éléments moléculaires, adoptant ainsi une approche taxonomique mixte et consensuelle introduite par Colwell en 1970.

Cette méthode exhaustive intègre une gamme diversifiée de données, allant des caractéristiques phénotypiques et chimiotauxonomiques aux éléments génétiques. Elle englobe une variété de paramètres tels que la morphologie, la physiologie, la chimiotauxonomie et la génomique, participant à la détermination de la taxonomie des actinobactéries. Néanmoins, cette classification se révèle complexe et sujette à controverse du fait de la multiplicité des critères employés.

Selon l'approche de Lechevalier et Lechevalier en (1965), l'établissement des espèces repose sur des caractères morphologiques et chimiques, mais en raison de la diversité intrinsèque des actinobactéries, l'intégration d'approches physiologiques, numériques et moléculaires s'avère désormais indispensable pour opérer des distinctions précises entre ces organismes.

3.1 Les critères morphologiques

Les critères morphologiques des actinomycètes englobent l'étude détaillée de leur macro et micromorphologie. Ces caractéristiques morphologiques spécifiques sont énoncées dans différentes éditions des "Bergey's Manual", notamment celles de 1989, 1994 et 2010.

Pour une référence exhaustive sur la taxonomie bactérienne, le Manuel de Bergey joue un rôle essentiel, répertoriant l'ensemble des traits distinctifs de chaque taxon bactérien. L'édition la plus récente de cet ouvrage, dirigée par (Goodfellow *et al.*, 2012), a consacré un volume en deux parties à l'étude détaillée des *Actinobacteria*.

3.1.1 Macromorphologique

Les caractères macromorphologiques des actinomycètes reposent sur une observation à l'œil nu et qui contribuent parfois à différencier les groupes d'actinomycètes entre eux. Il s'agit de noter : La production ou non du mycélium aérien (MA), la présence ou non du mycélium du substrat (MS), La détermination de la couleur du MA, du MS ainsi que pigments diffusibles dans le milieu de culture. Les couleurs sont fréquemment déterminées grâce à l'utilisation de chartes de couleurs, tels que la charte de (Kelly and Judd, 1976) ou «Color Name Chart Illustrated with Centroid Color ISCC –NBS ».

3.1.2 Micromorphologique

Pour la micromorphologie, il s'agit d'observer au microscope optique et parfois même au microscope électronique des colonies poussant sur milieux gélosés, afin de noter: La fragmentation ou non du mycélium du substrat (MS), la présence de sporanges sur le MA (*Streptosporangium*, *Spirillospora*, etc.) ou sur le MS (*Actinoplanes*, *Dactylosporangium*, etc.), la forme et la taille des sporanges, le nombre de spores par sporange ainsi que la longueur des sporangiophores, la présence ou non de spores : rondes, ovales ou en bâtonnets, l'agencement des spores : isolées, par deux, par quatre ou en courtes ou longues chaînes, la morphologie des chaînes de spores : droites à flexueuses (RF-*Rectus-Flexibilis*), incurvées ou en boucles (RA-*Retinaculum-Apertum*) ou en spirales (S-*Spira*). La figure 1 illustre la micromorphologie des principaux genres d'actinobactéries.

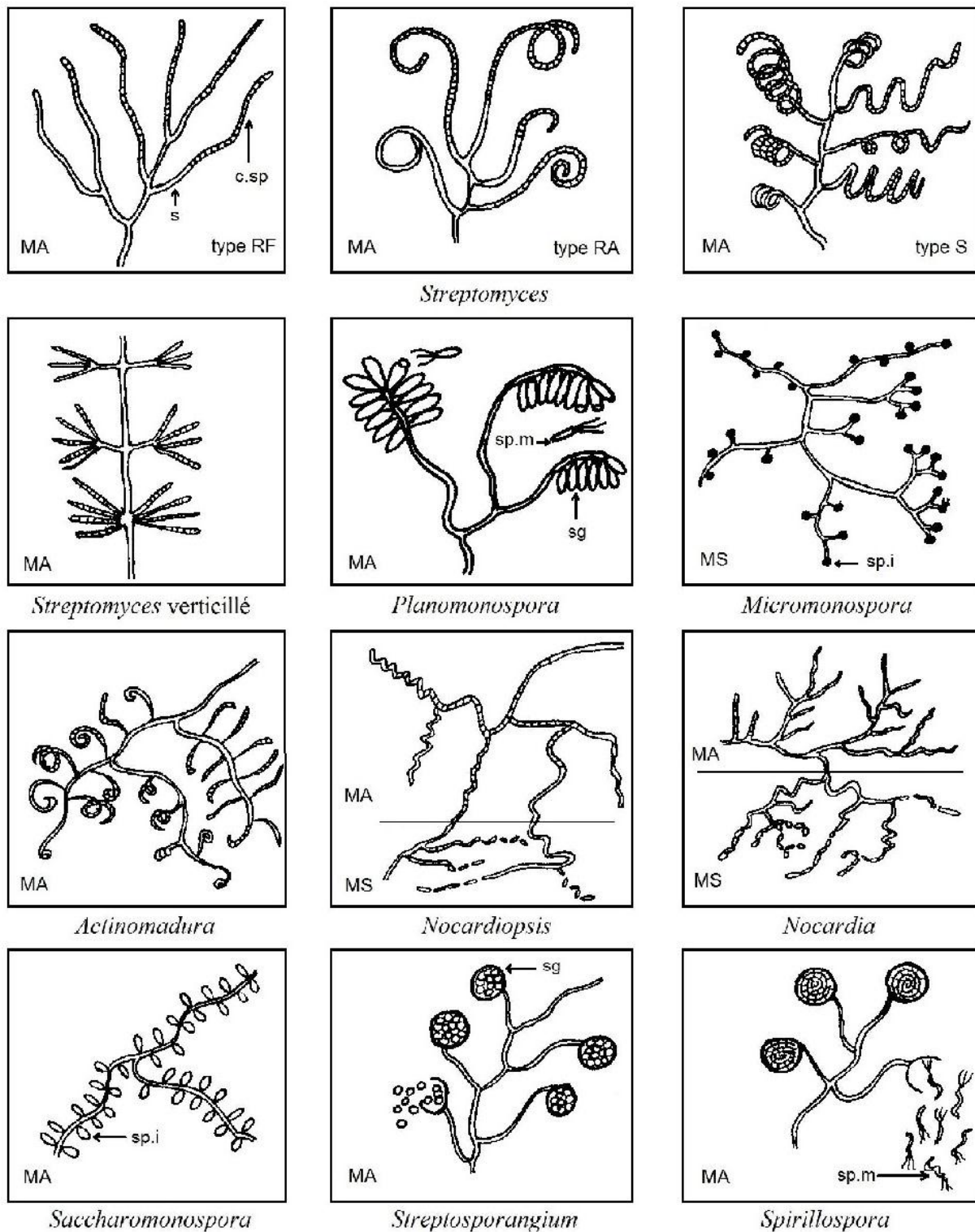


Figure 1: Micromorphologie des principaux genres d'actinobactéries (Sabaou *et al.*, 1998).

MA: mycélium aérien; MS: mycélium du substrat. *RF*: *Rectus-Flexibilis* (chaînes de spores droites à flexueuses). *RA*: *Retinaculum-Apertum* (chaînes en crochets ou en boucles). *S*: *Spira* (chaînes spiralées). *s*: sporophore. *c.sp.*: chaînes de spores. *sp.i.*: spores isolées. *sp.m.* spores mobiles. *sg*: sporanges.

3.2 Critères physiologiques et taxonomie numérique

L'identification des espèces appartenant aux genres d'actinomycètes, nécessite en plus des caractères morphologiques et chimiques, des caractères physiologiques (l'utilisation des sources carbonées et azotées, la tolérance au pH, à la température, à la salinité, etc), des caractères biochimiques tests de dégradation de différents composés (comme l'amidon, la caséine, lipides, protéines, polymères complexes, stéroïdes, etc.), tests de résistance aux différents agents chimiques et antimicrobiens (antibiotiques, divers autres agents chimiques).

Une multitude de tests physiologiques associés à l'outil informatique ont été employés dans les années 70 pour discriminer les diverses espèces au sein de chaque genre. C'est ainsi qu'a vu le jour la taxonomie numérique, marquée par l'établissement de dendrogrammes qui ont considérablement éclairci la composition en espèces de genres tels que *Streptomyces* (Williams *et al.*, 1983), *Actinomadura* (Athalye *et al.*, 1985), *Nocardiosis* (Grund and Kroppenstedt, 1990) et *Actinophanes* (Goodfellow *et al.*, 1990).

3.3 Taxonomie moléculaire

Au fil des dernières décennies, la biologie moléculaire s'est affirmée comme un outil puissant et incontournable dans le domaine de la taxonomie. À présent, toute proposition de nouvelle espèce doit impérativement reposer sur des analyses génétiques. Les principales analyses moléculaires utilisées pour la détermination des espèces sont l'hybridation ADN-ADN (Wayne, 1987).

Le séquençage de l'ADN ribosomique 16S par la méthode de (Stackebrandt *et al.*, 1997) et le pourcentage GC % qui n'est obligatoirement demandé que lors d'une proposition de nouveaux genres. La fiabilité et la rapidité d'exécution de ces techniques ont ainsi permis de réviser la phylogénie des actinobactéries (Goodfellow *et al.*, 2012; Ventura *et al.*, 2007).

3.3.1 Séquençage de l'ADN ribosomique 16S

Le processus de séquençage du gène qui code pour l'ARN ribosomique 16S (d'une longueur d'environ 1500 paires de bases) débute par l'extraction de l'ADN génomique, suivi de l'amplification du gène via la réaction de polymérase en chaîne (PCR) en utilisant des amorces spécifiques. Par la suite, le produit de la PCR est utilisé pour effectuer le séquençage de la région correspondant au gène de l'ARNr 16S.

Les séquences obtenues après cette amplification sont ensuite analysées par comparaison, notamment en utilisant des méthodes de phylogénie, soit en les confrontant entre elles, soit en les mettant en correspondance avec des espèces de référence répertoriées dans des bases de données génomiques telles que Ez Taxon et GenBank qui regroupent les séquences de toutes les souches-types validées des bactéries.

Après le séquençage et la reconstitution de la séquence complète (ou presque complète) de l'ADNr 16S, un traitement préalable des séquences nucléotidiques partielles est nécessaire pour cette comparaison. Ce traitement utilise des outils d'alignement de séquences comme "Clustal W et Muscle" et de comparaison de banques génomiques comme "Blast". Par conséquent, le séquençage de l'ADNr 16S est un moyen très rapide dans l'identification des taxons.

D'autres programmes sont également disponibles pour les études phylogéniques. Ils comprennent les méthodes de calcul des matrices de distances d'évolution (tels que Jukes & Cantor, 1969; Kimura, 1980, etc.), celles des algorithmes de construction de topologies d'arbres phylogénétiques telles que les méthodes de "Parsimony" (Fitch, 1971), du "Maximum Likelihood" (Felsenstein, 1981) et du "Neighbor-Joining" (Saitou and Nei, 1987), de plus, les approches de confirmation statistique des relations phylogénétiques, telles que le procédé du "Bootstrap" (Felsenstein, 1985), sont également incluses.

Il est consensuel que des niveaux d'homologie inférieurs à 94% et 97% permettent de différencier deux genres ou deux espèces, respectivement (Devereux *et al.*, 1990; Stackebrandt and Goebel, 1994).

Toutefois, il convient de noter qu'un taux d'homologie situé entre 97% et 100% ne garantit pas automatiquement l'identité des espèces, en particulier lorsqu'elles font partie d'un genre comprenant un grand nombre d'espèces, tel que le genre *Streptomyces*.

Par conséquent, le recours à l'hybridation ADN-ADN devient indispensable pour trancher de tels cas. Dans ce contexte Meier-Kolthoff *et al.* (2013) ainsi que Kim *et al.* (2014) ont suggéré respectivement des seuils de 98,2% et 98,65% comme critères de distinction entre les espèces, sans recourir à l'hybridation ADN-ADN.

3.3.2 Hybridation ADN-ADN

L'application de l'hybridation moléculaire ADN-ADN s'avère incontestable pour l'identification d'espèces par comparaison avec celles déjà répertoriées. Cette méthode a pu être mise en œuvre seulement après la compréhension des phénomènes de renaturation de l'ADN (Chargaff *et al.*, 1949) (Marmur et Doty, 1962).

En vertu de cette approche, deux espèces sont considérées distinctes lorsque leur degré de similitude (exprimé par le taux de réassociation de leurs brins d'ADN) est inférieur à 70% (Wayne, 1987).

3.3.3 Pourcentage de guanine-cytosine (G+C)

En 1949, les travaux de Chargaff et son équipe ont mis en évidence que la composition en bases puriques et pyrimidiques de l'ADN pouvait présenter des variations d'un individu à l'autre, tout en demeurant constante au sein d'une même espèce. L'expression de cette composition en bases est évaluée par le pourcentage de guanine-cytosine (% GC) qu'elle renferme.

Dans le cas des bactéries, la fourchette de pourcentage en guanine et cytosine (G+C) varie entre 25% et 78%. Cette détermination précise s'applique à l'espèce-type d'un nouveau genre, mais peut être omise si l'espèce nouvellement découverte appartient à un genre déjà répertorié (Euzéby, 2003; Stackebrandt *et al.*, 1997).

L'information tirée du pourcentage GC a eu une incidence significative sur la redéfinition des actinomycètes (caractérisés par un G+C supérieur à 55%), ce qui a permis de les distinguer nettement de la lignée des Bacillaceae, Lactobacillaceae et d'autres bactéries Gram+ (ayant un G+C inférieur à 55%). Par conséquent, des bactéries non mycéliennes comme *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter*, et même *Micrococcus*, ont été réattribuées à la lignée phylogénétique des actinomycètes (Locci *et al.*, 1989).

4 Genre *Streptomyces*

4.1 Caractéristiques et position taxonomique

La dénomination du genre *Streptomyces* issu de « *Streptos* », signifiant courbé ou tordu en grec, et « *Myces* », signifiant moisissure, désigne des bactéries un contenu élevé en G+C (entre 69 et 78 %) et formant des colonies dotées d'une morphologie complexe, comme le décrit (Hodgson, 2000).

Le genre *Streptomyces*, inscrit dans le groupe des Actinomycètes et plus spécifiquement dans le sous-groupe des *Streptomycètes*, a longtemps été classé au sein de l'Ordre des *Actinomycetales*, selon le Bergey's Manual de 2004 (Garrity *et al.*, 2004).

Cependant, une restructuration récente de la classification, présentée dans le Manuel de Bergey de 2012, Goodfellow *et al.* (2012) ont subdivisé l'Ordre des *Actinomycetales* en plusieurs nouveaux Ordres donc le genre *Streptomyces* est rattaché à l'Ordre des *Streptomycetales* et à la Famille des *Streptomycetaceae*.

La classification et l'identification des diverses espèces de *Streptomyces* reposent principalement sur une approche taxonomique numérique, se basant sur des caractères phénotypiques. Cette méthode est privilégiée en raison de l'instabilité génétique de ces micro-organismes, qui rendrait complexe la mise en place d'une classification basée sur leur génome et sa structure. Les espèces appartenant au genre *Streptomyces* constituent la grande majorité de la famille des *Streptomycetaceae*, constituant environ 95,34 % de ce groupe. Ces bactéries filamenteuses du sol présentent des hyphes de longueurs variables, sont aérobies strictes et à Gram positif avec un diamètre situé entre 0,5 et 2,0 μm . Bien que la majorité des espèces ne soient pas pathogènes, certaines d'entre elles peuvent causer des maladies chez l'homme et les animaux, tandis que d'autres sont phytopathogènes (Guyonvarch *et al.*, 2006)

4.2 *Streptomyces* et les genres apparentés

Le nombre d'espèces au sein du genre *Streptomyces* est en constante augmentation. En 1997, 464 espèces et 45 sous-espèces validées ont été répertoriés (Hain *et al.*, 1997).

En 2012, la collection allemande de microorganismes (DSMZ) conservait 665 espèces.

En 2018, cette même collection enregistrait 823 espèces avec des noms validés et 38 sous-espèces.

Récemment, en 2023, le nombre a grimpé à 1179 espèces et 73 sous-espèces, comme indique l'Institut de Leibniz DSMZ-Collection allemande de micro-organismes et de cultures cellulaires sur le site. Ce chiffre valide que le genre *Streptomyces* demeure le plus vaste parmi les genres de l'ordre des *Actinomycetales* au sein de la classe des *Actinobacteria*, comme établi par Stackebrandt et ses collègues en 1997 (Stackebrandt *et al.*, 1997).

Les défis techniques liés à la classification du genre *Streptomyces* au niveau sub-générique ont été abordés grâce aux avancées dans les méthodes génotypiques et phénotypiques (Rong and Huang, 2010; Ventura *et al.*, 2007).

Ces progrès ont conduit à la reclassification de nombreuses espèces mal classées au sein du genre *Streptomyces*. Cela s'est illustré par exemple avec plusieurs souches de *Streptomyces hygroscopicus*, qui ont été ultérieurement proposées comme de nouvelles espèces: *Streptomyces aldersoniae*, *Streptomyces angustmyceticus*, *Streptomyces ascomycinicus*, *Streptomyces decoyicus*, *Streptomyces milbemycinicus* et *Streptomyces wellingtoniae* (Kumar and Goodfellow, 2010).

4.3 Caractères culturels

Les *Streptomyces* présentent la capacité d'utiliser une vaste gamme de composés organiques en tant que sources de carbone et d'énergie. La température optimale de croissance se situe entre 25 et 35 °C. Bien que la majorité des souches soient mésophiles, on recense également quelques souches psychrophiles ou thermophiles. La plage de pH idéale pour la croissance se situe entre 6,5 et 8,0. Bien que la croissance puisse se produire à la fois en milieu liquide et solide, l'étude approfondie d'un cycle complet de différenciation est préférablement menée dans un milieu solide (Guyonvarch *et al.*, 2006).

4.3.1 Croissance en milieu solide

Les *Streptomyces* suivent un cycle cellulaire complexe qui se caractérise par une différenciation morphologique et biochimique poussée. Lorsqu'ils sont placés dans des conditions favorables, les spores initient la croissance d'un tube germinatif qui se développe (étape 1) pour former des hyphes non septés et plurinucléés. Ces hyphes se ramifient et s'ancrèrent dans le substrat solide, donnant ainsi naissance au mycélium primaire, également connu sous le nom de mycélium végétatif ou de substrat. Ce stade devient visible à l'œil nu après 2 à 3 jours (Hodgson, 1992).

Par la suite, un mycélium secondaire aérien se forme au-dessus de la colonie (étape 2). Ces hyphes, peu ramifiés et dotés d'une enveloppe hydrophobe, peuvent être colorés (Hodgson, 1992).

Le mycélium aérien s'enroule en spirales à ses extrémités (étape 3) et, grâce à la formation et à l'épaississement de cloisons, des spores se forment (étapes 4 à 7). Ces spores jouent un rôle de dispersion (Hodgson, 1992).

Il est important de noter qu'en temps normal, chaque spore contient un unique exemplaire du chromosome, alors que de multiples nucléoïdes coexistent dans le mycélium (Chater, 1993).

Le développement du mycélium secondaire porteur de spores peut prendre entre une à deux semaines. Pour encourager la production de spores, il est recommandé de cultiver la souche dans un milieu pauvre, car les spores représentent une forme de résistance aux conditions défavorables (Parish, 1979).

4.3.2 Croissance en milieu liquide.

La croissance en milieu liquide exige une aération du milieu via l'agitation et/ou l'injection d'air ou d'oxygène, étant donné que ces bactéries sont strictement aérobies.

Dans de telles conditions, les *Streptomyces* se développent par élongation de leurs filaments et peuvent ensuite présenter trois morphologies distinctes (figure 2).

Des hyphes, qu'ils soient ramifiés ou non, qui se présentent sous forme de mycélium dispersé; un mycélium plus ramifié formant des enchevêtrements; ou encore des pelotes denses dont la taille peut varier de 0,1 μm à plusieurs millimètres (Amanullah *et al.*, 2000; Bushell, 1988; Hobbs *et al.*, 1989).

Ces pelotes peuvent occasionner des contraintes au niveau de la diffusion d'oxygène et/ou de nutriments entre le milieu de culture et les bactéries situées à l'intérieur de la pelote (Papagianni, 2004).

Les pelotes se forment soit par l'agrégation des spores, qui, lorsqu'elles germent, donnent naissance à une pelote, soit par l'enchevêtrement des hyphes pendant leur croissance et leur ramification. La sporulation en milieu liquide est rare, mais possible. Les spores produites dans ces conditions sont similaires à celles obtenues en milieu solide, cependant, dans le cas de *S. antibioticus* ETHZ 7451, elles présentent une moins bonne thermorésistance (Daza *et al.*, 1989; Novella *et al.*, 1992).

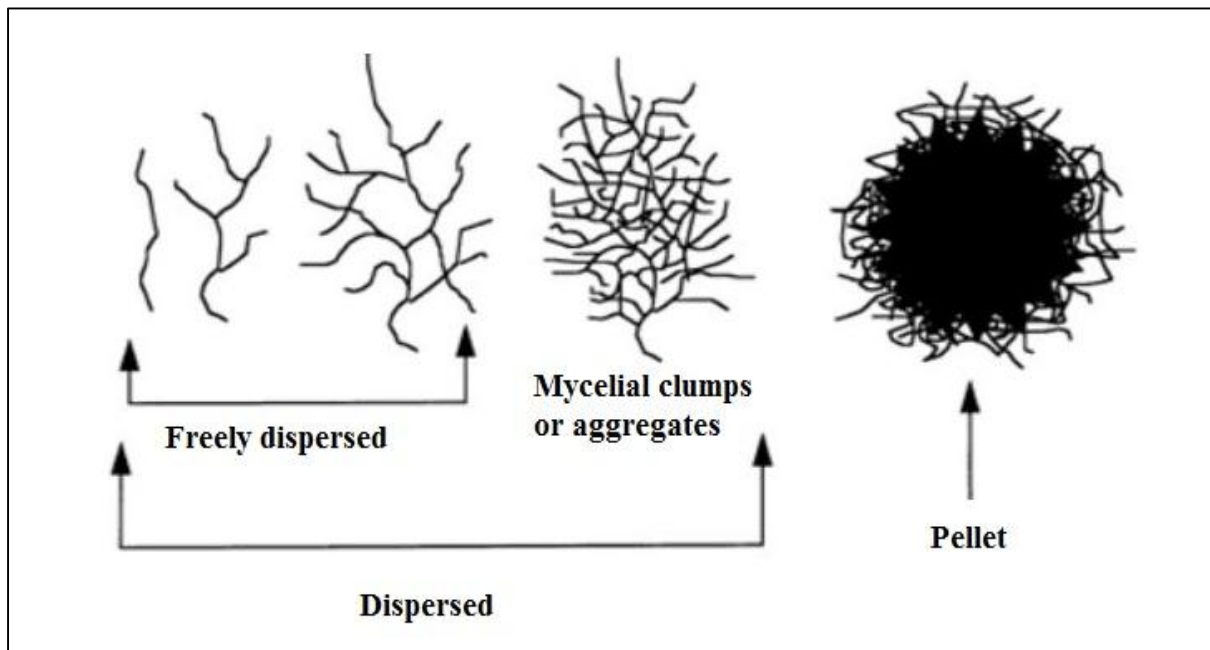


Figure 2: Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide (Almaris, 2007).

Chapitre II Métabolisme des actinomycètes

Chapitre II. Métabolisme des actinomycètes

1 Métabolisme des actinobactéries

La différenciation morphologique s'accompagne d'une différenciation métabolique, pendant leur croissance, les actinomycètes ont la capacité de passer d'un métabolisme primaire à un métabolisme secondaire. Au cours de ces deux phases, ils produisent des métabolites dont les caractéristiques varient selon la phase de synthèse de croissance (Delaunay *et al.*, 2003).

1.1 Métabolisme primaire

Le métabolisme primaire des actinomycètes ressemble à celui observé chez d'autres organismes, durant la trophophase le métabolisme primaire forment la structure cellulaire et contribuent au fonctionnement du métabolisme général (Theilleux *et al.*, 1993).

1.2 Métabolisme secondaire.

Le métabolisme secondaire est produit au cours de l'idiophase et se distingue du métabolisme primaire du fait qu'il englobe des métabolites qui ne sont pas directement liés à la croissance et à la vitalité de l'organisme. En règle générale, le métabolisme secondaire regroupe l'ensemble des voies de synthèse de composés qui n'ont pas de fonctions immédiates dans le métabolisme cellulaire (Theilleux *et al.*, 1993; Colombié, 2005).

Le tableau 2 montre les principales différences entre les métabolites primaires et secondaires.

Tableau 2: Principales différences entre les métabolites primaires et secondaire (Delaunay *et al.*, 2003).

Métabolite primaire	Métabolite secondaire
Synthétisé pendant la trophophase	Synthétisé pendant l'idiophase
Présent tout au long du cycle cellulaire	Apparition à un moment du cycle cellulaire
Nécessaire à la croissance	Inutile pour la croissance
Rôle physiologique connu	Rôle physiologique mal connu
"turn-over" élevé	"turn-over" pratiquement nul
Produit dans des conditions de culture diverses	Produit dans des conditions de culture bien définies
Ubiquitaire	Spécifique
Enzymes à spécificité étroite	Enzymes à spécificité large
Voies de synthèse simple et courte	Synthèse longue et complexe
Synthèse d'un produit parfaitement défini	Synthèse d'un mélange de produits
Structure chimique généralement simple	Structure chimique souvent complexe
Concentration élevée	Concentration faible

2 Importance biotechnologique des actinomycètes

Les actinomycètes jouent un rôle majeur dans les domaines biotechnologiques en raison de leur aptitude à générer une variété considérable des métabolites secondaires biologiquement actifs à intérêt industriel, médical et environnemental comme les antibiotiques, les enzymes, les herbicides (phénitricine), les pesticides (antimycine A), les insecticides (mikkomycine) et les antiparasites. Les actinomycètes sont aussi une grande source de molécules possédant des activités biologiques variées telles que des agents antitumoraux, des antiviraux, des immunosuppresseurs ou des inhibiteurs d'enzymes (Boudjelal-Bencheikh, 2012)

2.1 Production de composés à intérêt médical, vétérinaire et industriel

Les actinobactéries ont largement contribué à la production de nombreux composés bioactifs précieux sur le marché, et leur exploration est régulièrement entreprise pour la découverte de nouvelles substances bénéfiques (Vijayakumar *et al.*, 2007).

La recherche de nouveaux actinomycètes revêt une importance cruciale pour la découverte de médicaments à base de produits naturels, caractérisés par un large spectre d'activités biologiques. Ces produits incluent des antibiotiques antibactériens, antifongiques ainsi que des substances présentant des propriétés toxiques, cytotoxiques, neurotoxiques, antimitotiques, antivirales et anticancéreuses (Chen *et al.*, 2010; Newman et Cragg, 2007; Williams, 2009).

Par exemple, les antibiotiques sont utilisés dans les élevages industriels pour prévenir et traiter les maladies animales et végétales, ainsi que pour améliorer les performances zootechniques grâce à leur inclusion dans l'alimentation (Khachatourians, 1998).

2.1.1 Production de composés anticancéreux

Parmi les composés à activité antitumorale extraits de souches d'actinomycètes, on retrouve la montanastatine produite par *Streptomyces anulatus*, la mitomycine provenant de *Streptomyces lavendulae* et les bléomycines issues de *Streptomyces verticillus*. Il y a aussi la valinomycine qui se manifeste en tant qu'antibiotique à propriétés antinéoplasiques (Pettit *et al.*, 1999).

Un exemple supplémentaire concerne les rifampycines, des produits issus de la fermentation de *Streptomyces mediterranei*, qui ont démontré leur efficacité antivirale à l'encontre de bactériophages ainsi que de virus mammifères (Wehrli and Staehelin, 1971).

L'actinohivine illustre également la catégorie des substances bioactives produites par les actinomycètes. Il s'agit d'une nouvelle protéine anti-VIH isolée de la souche K97-0003, qui présente la capacité d'inhiber la formation de syncytium (Chiba *et al.*, 2001).

2.2 Production d'enzymes

Après les antibiotiques, les actinomycètes se positionnent comme d'importants acteurs de l'industrie en produisant des enzymes, ce qui en fait l'un des produits industriels les plus significatifs issus de ces micro-organismes (Theilleux, 1993).

En effet, ces actinomycètes se distinguent par leur capacité à être d'excellents fabricants d'enzymes à usage industriel, notamment des protéases, des chitinases (Tanaka et Omura, 1990 ; Vonothini *et al.*, 2008), des amylases, des cellulases, des xylanases, et des lipases (Park *et al.*, 2002).

2.2.1 Amylase

Les amylases sont des hydrolases qui décomposent les molécules d'amidon en dextrines et de plus petits polymères d'unités de glucose (Windish and Mhatre, 1965).

Il existe différents type d'amylases qui peuvent être catégoriser en alpha-amylases produites par les *Nocardiopsis* sp, en béta-amylases sécrétées par les *Streptomyces* sp, ainsi qu'en pullulanases et amylo-glucosidases (Whitman *et al.*, 2012).

A savoir *Nocardiopsis* sp., génère des amylases thermostables qui présentent également de nombreuses applications dans l'industrie de la boulangerie et du papier (Stamford *et al.*, 2001).

Les amylases produites par *Streptomyces erumpens* trouvent une large application dans les secteurs de la boulangerie, de la brasserie et de la production d'alcool (Kar and Ray, 2008).

Du point de vue industriel, les amylases revêtent une importance primordiale en raison de leur capacité à convertir l'amidon en sirops de fructose élevé (Ammar *et al.*, 2002).

De plus, il convient de noter que les amylases ont une valeur nutritionnelle (Yang ChaoHsun and Liu WenHsiung, 2004). Les industries des détergents et de la production de bioéthanol font un usage intensif des α -amylases à activité à froid produites par les Actinobactéries (Kuddus *et al.*, 2011).

2.2.2 Protéase

Pendant des décennies, la recherche de nouvelles protéases en vue de leur utilisation industrielle a été en cours. Certaines souches de *Streptomyces* produisent des protéases, tandis que d'autres genres ont été signalés pour produire des protéases tolérantes au sel (Horikoshi, 1999).

Les industries du cuir utilisent les protéases de *Nocardiopsis* sp. pour la dégradation des peaux et des cuirs, les employant également comme additifs dans les détergents (Moreira, Albuquerque, Teixeira, Porto et Lima Filho, 2002).

De plus, les protéases de *Streptomyces* sp. sont utilisées pour enlever la peau de chèvre, une méthode économiquement et écologiquement viable (Mitra et Chakrabartty, 2005), et elles possèdent une activité kératolytique, les rendant utiles dans les processus agro-industriels de dégradation des plumes, des poils, des ongles et des cornes (Brandelli, 2008). Le genre *Microbispora* est également connu pour produire des protéases C.

2.2.3 Lipases

Diverses souches d'actinomycètes démontrent une capacité remarquable pour l'hydrolyse des huiles et des graisses. Les lipases et les estérases, regroupées en une catégorie d'enzymes hydrolytiques diversifiée, sont cruciales pour la décomposition des lipides, notamment les triglycérides (Aly *et al.*, 2012).

Parmi les actinomycètes, des exemples tels que *Streptomyces exfoliates* et *Nocardiopsis alba* produisent des lipases capables de rompre les liaisons ester des triglycérides, les transformant ainsi en glycérol et en acides gras (Gandhimathi *et al.*, 2009).

De ce fait, les lipases démontrent un potentiel considérable d'utilisation dans un éventail d'applications, incluant le traitement des huiles et des graisses, l'industrie cosmétique, le diagnostic, ainsi que la production de détergents (Ninawe *et al.*, 2006).

Les lipases, également désignées comme enzymes de fractionnement des graisses, exercent un rôle critique en rompant les liaisons ester présentes au sein des triglycérides composés d'acides gras à longue chaîne, favorisant ainsi l'absorption et l'assimilation des lipides. Ces enzymes possèdent une polyvalence notable et trouvent une variété d'applications, notamment dans la bioremédiation, la fabrication de détergents, le processus de dépulpage biologique du bois, ainsi que dans la synthèse d'arômes (Ninawe *et al.*, 2006).

2.2.4 Chitinases

Les chitinases ont suscité un vif intérêt pour leur capacité à agir en tant qu'agents de lutte biologique contre les champignons pathogènes des plantes, les nématodes, et autres pathogènes (Conn, 2005).

Les chitinases produites par les actinomycètes se distinguent par leur thermostabilité élevée et leur capacité à fonctionner sur une plage de pH variée, ce qui les rend adaptées à diverses applications industrielles (Horikoshi, 1999).

Par exemple, le chitobiose produit par *Microbispora* sp. possède des propriétés antioxydantes et est utilisé comme additif alimentaire ainsi que dans des applications biomédicales (Jaouadi *et al.*, 2010).

Un certain nombre de souches d'actinomycètes, telles que *Streptomyces thermoviolaceus* et *Microbispora* sp., sont connues pour leur production de chitinases. Les chitinases produites par ces souches sont utilisées pour extraire le chitobiose, un antioxydant potentiellement utilisé dans l'industrie alimentaire et biomédicale (Bhattacharya *et al.*, 2007).

De plus, les chitinases provenant d'actinomycètes autres que *Streptomyces*, comme *Nocardiopsis prasina*, sont utiles dans la dégradation des oligosaccharides de chitine, offrant des perspectives d'utilisation en tant qu'agents antioxydants, antimicrobiens, anticancéreux, anticoagulants et antitumoraux (Horikoshi, 1999).

2.2.5 Cellulases

Les cellulases sont des enzymes industrielles essentielles pour la production durable de biocarburants, car elles convertissent la cellulose en sucres fermentescibles. Les cellulases issues des *Streptomyces* spp., telles que *S. ruber*, *S. lividans* et *S. rutgersensis*, se caractérisent par leur grande thermostabilité (Kar and Ray, 2008).

Ces enzymes sont principalement utilisées en complément dans les détergents, l'industrie textile, les additifs pour animaux, ainsi que dans l'industrie du papier et de la pâte (Azzeddine *et al.*, 2013; Jang and Chang, 2005).

Certaines souches des genres *Thermobifida* et *Micromonospora* produisent également des cellulases ayant un potentiel industriel pour une utilisation commerciale (Yang ChaoHsun and Liu WenHsiung, 2004).

Les cellulases issues d'extrêmophiles, telles que celles de *Thermobifida*, conservent leur stabilité à des températures et des pH élevés, ce qui les rend adaptées à la dégradation du coton et de l'avicel. De plus, elles sont capables d'utiliser du riz, du blé et d'autres cultures comme substrats (George *et al.*, 2001; Shweta, 2012).

2.2.6. Xylanases

Les xylanases, une autre enzyme essentielle, sont produites par les actinomycètes et ont une utilisation commerciale. Les xylanases extraites de deux espèces d'actinomycètes, à savoir *Actinomadura* sp. FC7 et *Nonomurae aflexuosa*, se distinguent par leur thermorésistance élevée et leur activité spécifique, ce qui les rend très précieuses dans l'industrie (Brzezinski, Dery, & Beaulieu, 1999).

On a également observé la production de xylanase chez *Thermomonospora fusca* (McCarthy, Peace, & Broda, 1985).

Cependant, Fagerstrom *et al.* (2008) ont noté que les industries du papier et de la pâte à papier préfèrent largement les xylanases fusionnées provenant de champignons et d'actinomycètes en raison de leur remarquable résistance à la chaleur et de leur stabilité au pH (Fagerstrom *et al.*, 2008).

Compte tenu du coût élevé de la xylane pure, les actinomycètes offrent une alternative intéressante en tant que producteurs de xylanase pour des applications industrielles, notamment les xylanases produites par les *Streptomyces* spp., qui se révèlent d'excellents agents de bio-lixiviation lorsqu'ils sont utilisés en conjonction avec de la paille de riz (Rifaat, Nagieb, & Ahmed, 2006).

2.3 Production de biosurfactants

Les biosurfactants (BS) sont des composés amphiphiles produits à la surface d'organismes vivants, principalement au niveau des cellules microbiennes ou excrétés dans leur environnement extracellulaire. Ils renferment à la fois des parties hydrophobes et hydrophiles qui ont pour effet de réduire la tension de surface (ST) ainsi que les tensions interfaciales entre les molécules individuelles présentes à la surface et à l'interface. Du fait que les biosurfactants et les bioémulsifiants partagent des propriétés d'émulsification, il arrive fréquemment que les bioémulsifiants soient classés comme des biosurfactants, même si ces derniers ne sont pas forcément responsables de la réduction de la tension de surface. Les biosurfactants peuvent être de diverses natures, tels que l'acide mycolique, les glycolipides, les complexes lipides-polysaccharides, les lipoprotéines ou lipopeptides,

les phospholipides, voire même la propre surface cellulaire des micro-organismes (Sri *et al.*, 2023).

Des microorganismes du groupe des actinomycètes sont confirmés comme étant des producteurs de biosurfactants, parmi lesquels on compte *Nocardiosis alba* MSA (Gandhimathi *et al.*, 2009), *Nocardiosis dassonvillei* MAD08 (Kiran *et al.*, 2009), *Nocardiosis lucentensis* MSA04 (Kiran *et al.*, 2010), *Streptomyces* sp. S1 (Kokare *et al.*, 2007), ainsi que *Streptomyces orientalis* DKDVIT1 et *S. aureomonopodiales* DKDVIT2 (Lakshmiathy Deepika and Krishnan Kannabiran, 2010).

De fait, plusieurs importances thérapeutiques et biomédicales, telles que des activités antibactériennes, antifongiques, antimycoplasmiques et antitumorales, ont été signalées (Arifiyanto *et al.*, 2020; Rodrigues *et al.*, 2006)

2.4 Utilisation des actinomycètes dans la bioremédiation

À l'heure actuelle, la pollution des environnements par des composés organiques et inorganiques est un problème mondial préoccupant. La bioremédiation est devenue l'une des méthodes les plus populaires pour restaurer les environnements, en raison de sa durabilité et de son coût relativement faible (Kuyukina and Ivshina, 2010).

Les actinomycètes se distinguent par leur grande utilité dans les processus de bioremédiation (Alvarez *et al.*, 2017)

Parmi les genres d'actinomycètes, *Rhodococcus* se révèle particulièrement prometteur dans le traitement de divers types de polluants, notamment les composés organiques et inorganiques (Rathore *et al.*, 2021), les composés phénoliques (Barik *et al.*, 2021), les produits pharmaceutiques (Ivshina *et al.*, 2019), les colorants (Maniyam *et al.*, 2020a) et les métaux lourds (Goswami *et al.*, 2017).

Les actinomycètes halophiles ont également été étudiés pour leur capacité à décontaminer les sols contaminés par des hydrocarbures pétroliers tels que l'hexane, le benzène, le naphthalène et le pétrole brut, avec des résultats positifs (Margesin and Schinner, 2001). Parmi les actinomycètes utilisés à cette fin, on compte *Nocardiosis* sp. NCIM 5124 (Dixit and Pant, 2000), *Streptomyces streptomycini* 295H et *Streptomyces* sp. 278H (Gurielidze *et al.*, 2009)

2.5 Production de bioplastics et d'exopolysaccharides

Les bactéries qui prospèrent dans des environnements salins représentent une précieuse source de matériaux plastiques biodégradables, offrant des rendements élevés pour la

fabrication de thermoplastiques, communément appelés "polyesters biologiques". Ces thermoplastiques présentent des caractéristiques remarquables, telles qu'une résistance élevée et une faible température de fusion, les rapprochant du polypropylène (Oren, 2002; Singh, 2006).

De plus, les bactéries halophiles se révèlent être une source importante de phtalates de dibutyle, des additifs utilisés dans diverses applications de matières plastiques en tant que plastifiants. Par exemple, les espèces du genre *Streptomyces* sont connues pour leur production de phtalates (AL BARI *et al.*, 2006; El-Naggar, 1997; Lee, 2000; Smaoui *et al.*, 2011).

Les actinomycètes sont également capables de générer des exopolysaccharides aux multiples applications, notamment en tant que stabilisants, épaississants, gélifiants et émulsifiants. Ces polymères ont des usages variés dans l'industrie pharmaceutique, alimentaire, de la peinture, de la récupération d'huile, du papier et des textiles (Singh, 2006).

2.6 Utilisation des actinomycètes dans le domaine agronomique

2.6.1. Production de biofertilisants

Les actinomycètes jouent un rôle clé dans la biodégradation de la matière organique, notamment des substances complexes comme les polymères, les polysaccharides, la chitine et la lignocellulose (Goodfellow and Williams, 1983; Lechevalier, 1981; McCarthy and Williams, 1992)

De plus, le genre *Frankia* est réputé en foresterie pour sa capacité à fixer l'azote atmosphérique en symbiose avec les racines d'arbustes dicotylédones tels que le Casuarina, l'aulne et l'orme (Becking, 1974; Lechevalier, 1981; Sarma *et al.*, 2003). En contribuant à la production d'odeurs caractéristiques du sol, les actinomycètes participent également à l'écosystème (Gerber and Lechevalier, 1965; Gottlieb, 1973).

En outre, ces microorganismes présentent un potentiel biotechnologique prometteur, notamment dans le clonage de gènes responsables de la synthèse de solutés osmorégulateurs pour renforcer la résistance des plantes aux sols salés dans les régions arides. Les premiers essais de clonage de ces gènes ont montré des résultats positifs, permettant aux plantes de croître en milieu fortement salin (Singh *et al.*, 2008).

2.6.2. Production des biopesticides

Les pesticides, responsables de la pollution environnementale (Alvarez *et al.*, 2017), causent des dommages considérables, notamment économiques et environnementaux, ainsi que des menaces pour la biodiversité (Sánchez-García *et al.*, 2019). Particulièrement, les fongicides sont fréquemment utilisés pour lutter contre les maladies fongiques, qui représentent 80 % des infections des plantes (Someya, 2008).

La découverte de pesticides sûrs et peu coûteux permettrait de réduire la dépendance aux pesticides synthétiques. De plus, les actinomycètes nouvellement découverts se révèlent prometteurs pour traiter diverses souches fongiques pathogènes. Ils ont montré un fort potentiel inhibiteur contre des champignons phytopathogènes tels que *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum*, améliorant la croissance des plantes telles que le piment (Sánchez-García *et al.*, 2019).

Des métabolites antifongiques dérivés des actinomycètes, tels que la kasugamycine (Umezawa *et al.*, 1965), la mildiomycine (Feduchi *et al.*, 1985), la polyoxine B, la polyoxine D (Endo and Misato, 1969), et la validamycine A (Barka *et al.*, 2016), sont particulièrement efficaces contre les champignons. Par exemple, la kasugamycine se présente comme un traitement efficace contre la pyriculaire du riz (Umezawa *et al.*, 1965).

Dans une autre étude, des isolats d'Actinobacteria provenant d'*Odontotermes formosanus* ont démontré une inhibition efficace de champignons concurrents (Yin CaiPing *et al.*, 2019).nsi, les actinomycètes constituent une source prometteuse de remèdes antifongiques.

3 Antibactérien de nature antibiotiques produits par les actinobactéries

L'histoire des antibiotiques a débuté en 1929 avec la découverte de la pénicilline par le Dr. Alexander Fleming au St. Mary's Hospital de Londres. Cette avancée a marqué le début de la compréhension des composés chimiques capables de cibler spécifiquement et efficacement les microorganismes. Au cours des années suivantes, des recherches approfondies ont enrichi l'arsenal antibactérien, avec des isolations d'antibiotiques comme la streptomycine à partir de *Streptomyces griseus* en 1943, le chloramphénicol à partir de *Streptomyces venezuelae* en 1947, la chlortétracycline à partir de *Streptomyces aureofaciens* en 1948, et l'érythromycine à partir de *Streptomyces erythreus* en 1952.

Les antibiotiques occupent une position prépondérante en termes de quantité et d'importance tant sur le plan thérapeutique que commercial (Oskay *et al.*, 2004).

En effet, les actinomycètes filamenteux sont à l'origine de 70 % des antibiotiques naturels identifiés à travers le monde (Zerizer *et al.*, 2006).

Les actinobactéries constituent une source essentielle d'antibiotiques et d'autres composés secondaires d'intérêt industriel (Hayakawa *et al.* 2004, Takahashi et Omura 2003). Ce groupe bactérien vaste est responsable de plus de 70 % des antibiotiques dérivés de microorganismes (Cundliffe, 2006).

Parmi les espèces appartenant aux différents genres d'actinomycètes, les *Streptomyces* se distinguent en tant que principaux producteurs d'antibiotiques et d'autres métabolites secondaires d'intérêt (Anderson and Wellington, 2001; Sanglier *et al.*, 1993).

Il est estimé que les Streptomycètes contribuent à la production de 75 à 80 % des antibiotiques isolés à partir d'actinomycètes (Boudemagh *et al.*, 2005; Thakur *et al.*, 2007).

Les actinobactéries produisent une variété impressionnante d'antibiotiques aux structures chimiques diverses comme les aminoglycosides, anthracyclines, glycopeptides, bêta-lactamines, tétracyclines, macrolides, nucléosides, etc., ayant des applications thérapeutiques diverses (Okami and Hotta, 1988).

4 Classification des antibiotiques

Les antibiotiques représentent un ensemble varié de molécules bioactives, pouvant être regroupées selon différents critères tels que leur composition chimique, leur origine, leur mode d'action et leur spectre d'action. La classification la plus fréquemment utilisée est celle qui repose sur leur structure chimique (Bérdy, 1987; Bycroft and Payne, 2013)

4.1 Classification selon la structure

La classification la plus commonly utilisée dans la recherche fondamentale est celle élaborée par Bérdy et ses collègues (1987) ainsi que par Bérdy lui-même (2005), laquelle se fonde sur la composition chimique inhérente aux antibiotiques (tableau 3).

Près de 7000 molécules ont ainsi été rangées en 9 catégories majeures, chacune comportant de multiples sous-groupes de composition. Ces auteurs ont compilé ces informations sous forme de 'Manuels', renfermant une classification des antibiotiques, accompagnée des données physicochimiques ainsi que des microorganismes producteurs.

Tableau 3: Classification des antibiotiques selon leur structure chimique (Bérdy, 1987).

Familles d'antibiotiques	Sous-familles	Exemples
Glucides et apparentés	Glucides purs	Nojirimycine. Streptomycine, gentamicine,
	Aminoglycosides	kanamycine B.
	Glycosides	C-glycosides : vancomycine.
	Glycolipides	N-glycosides : streptothricine.
Lactones macrocycliques	Macrolides	Spiramycine, érythromycine A.
	Polyènes	Amphotéricine B, nystatine, candicidine.
	Macrotétrolidés	Tétranactine, nonactine.
	Macrolactames	Rifamycine SV.
Quinones et apparentés	Polycycliques condensés linéairement	Tétracyclines.
	Dérivés naphtoquinoniques	Anthracyclines.
	Dérivés benzoquinoniques	Mitomycine.
	Dérivés d'acides aminés	Cyclosérine, pénicilline G, nocardicine.
Acides aminés et peptides	Homopeptides	Bacitracine, cyclosporine.
	Hétéropeptides	Aculéacine.
Hétérocycles à azote	Peptolides	
	Hétérocycles non condensés	Valinomycine. Caerulomycine A, mildiomycine. Phénazines, herbicidine
	Hétérocycles condensés	
Hétérocycles à oxygène	Polyéthers	Monensine, nigéricine.

4.2 Classification selon le spectre d'action

Les antibiotiques présentent une activité potentielle à l'encontre des bactéries Gram positif et/ou des bactéries Gram négatif et/ou des champignons. Parfois, leur effet peut s'étendre aux virus, aux protozoaires, aux helminthes, aux acariens, aux insectes ainsi de suite.

Ainsi, on peut classer les antibiotiques en différentes catégories selon leur spectre d'action: spectre très large regroupant les tétracyclines, gentamicine, chloramphénicol, céphalosporine, etc.; spectre large incluant la streptomycine, rifampicine, aminosides, etc., spectre moyen qui sont principalement actif contre les bactéries Gram positif come la pénicilline G, lincomycine, etc. et le spectre étroit incluant la vancomycine, novobiocine, etc. (pour les bactéries Gram positif); polymyxines, etc. (pour les bactéries Gram négatif); cycloheximide (actidione), amphotéricine B, nystatine, etc. (pour les champignons).

4.3 Classification selon l'activité

Environ 14 000 composés dérivés de microorganismes présentent une action antimicrobienne (contre les bactéries, les champignons et les protozoaires). Parmi ceux-ci, 66 % sont efficaces contre les bactéries à Gram positif, 30 % contre les bactéries à Gram négatif, 5 % contre les mycobactéries et 34 % contre les champignons (Solecka *et al.*, 2012b). Ces composés actifs proviennent de sources naturelles, synthétiques ou semi-synthétiques."

4.3.1 Antibiotiques

Diverses variétés d'actinobactéries sont responsables de la production de nombreuses molécules naturelles dotées de propriétés antibactériennes. Ces composés comprennent des noms bien connus tels que le chloramphénicol, la tétracycline, l'érythromycine, la vancomycine et la kanamycine, lesquels sont élaborés par différentes espèces de *Streptomyces* (Singh *et al.*, 2017; Yassour *et al.*, 2016).

En plus de ces antibiotiques naturels, d'autres composés antibactériens ont été synthétisé tels que les 5-nitrohétérocycles, l'éthionamide, le triméthoprime, le métronidazole, l'acide nalidixique, les pénèmes et les fluoroquinolones.

De plus, une autre approche pour obtenir des antibiotiques a été mise en œuvre, à savoir la semi-synthèse, qui implique la modification chimique ou enzymatique des molécules naturelles. Par exemple, la méthicilline et l'oxacilline ont été dérivées de la

pénicilline G, tandis que la télithromycine a été fabriquée à partir de l'érythromycine A. (Kennedy, 2008; Velvadapu *et al.*, 2011).

4.3.2 Antifongiques

Selon les conclusions de l'étude menée par Berdy et son équipe en 1987, environ 40% des antibiotiques produits par divers microorganismes possèdent des propriétés antifongiques. Ces composés sont principalement synthétisés par des actinobactéries ou des champignons (Breton *et al.*, 1989).

De plus, il est à noter que plus de la moitié de ces agents antifongiques présentent également des activités antibactériens, (Bérdy, 1987).

L'obtenir des molécules antifongiques prometteuses présentes des défis plus complexes que la recherche de molécules antibactériennes, en raison de la cible qu'ils visent, possédant une structure eucaryote similaire à celle des cellules humaines. Ces composés, qu'ils soient d'origine naturelle ou synthétique, sont regroupés en antifongiques. Les antifongiques naturels sont divisés en deux catégories principales en fonction de leur structure: les macrolides polyéniques (actifs principalement contre les champignons) et les molécules non polyéniques (ayant souvent une activité antibactérienne en plus) (Berdy, 2005).

5 Mécanisme d'action des antibiotiques

Le mécanisme d'action d'un antibiotique varie en fonction de ce dernier. Certains d'entre eux bloquent la synthèse de la paroi cellulaire, tandis que d'autres affectent l'intégrité de la membrane cytoplasmique, la fabrication des protéines ou encore la production des acides nucléiques.

5.1 Antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane

Plusieurs antibiotiques ont la capacité d'entraver la création du peptidoglycane, élément vital de la structure de la paroi cellulaire chez les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Trois catégories majeures de ces antibiotiques sont identifiables : les β -lactamines, les glycopeptides et la fosfomycine.

La vancomycine, le tout premier glycopeptide découvert en 1956, provient d'échantillons de sols collectés en Inde et en Indonésie, contenant la bactérie *Streptomyces orientalis* (*Nocardia orientalis*) (McCormick *et al.*, 1955).

Les glycopeptides sont des composés complexes fabriqués par diverses espèces de *Streptomyces* et *Actinoplanes* (Reynolds, 1989). Ces molécules de grande taille agissent spécifiquement sur les bactéries à coloration Gram positive, et tout comme les antibiotiques β -lactames, ils inhibent la synthèse du peptidoglycane dans la paroi bactérienne (Jordan, 1961; Reynolds, 1961).

La fosfomycine, quant à elle, a été isolée en 1969 à partir de cultures de *Streptomyces fradiae* et d'autres bactéries du genre *Streptomyces* (Hendlin *et al.*, 1969). Dotée d'un spectre d'activité étendu, elle cible de nombreuses bactéries pathogènes et opportunistes à coloration Gram positive telles que *Staphylococcus aureus* et certaines souches de *Streptococcus*, ainsi que des bactéries à coloration Gram négative comme *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Salmonella typhi*, et diverses espèces de *Proteus* et *Enterobacter* (Bogdanovich *et al.*, 2005; Falagas *et al.*, 2009). Son mécanisme d'action consiste à entraver la synthèse de la paroi cellulaire en inhibant les premières étapes de la formation du peptidoglycane (Kahan *et al.*, 1974; Superti *et al.*, 2009).

5.2 Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines

Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique, représentés par différentes classes d'antibiotiques, interfèrent avec la synthèse protéique bactérienne au niveau des différentes étapes de la traduction, notamment l'initiation, l'élongation et la terminaison. Ces antibiotiques ciblent diverses sous-unités, tels que la sous-unité 50S (incluant les macrolides, lincosamides, streptogramines, phénicolés et oxazolidinones), la sous-unité 30S (comme les tétracyclines et les aminoglycosides), ainsi que l'enzyme isoleucyl ARNt synthétase, que mupirocine inhibe. En outre, l'acide fusidique entrave la fixation des amino-acyl-ARNt en se liant au facteur d'élongation de la traduction (Chopra *et al.*, 2002; Procópio *et al.*, 2012).

Ces antibiotiques agissent au niveau du cycle des ribosomes et de la synthèse des protéines bactériennes, influençant l'une des trois étapes principales de la traduction : l'initiation, l'élongation et la terminaison. Parmi les antibiotiques les plus significatifs dans le domaine médical, on compte les aminosides, les macrolides, les tétracyclines, les phénicolés et l'acide fusidique. La synthèse des protéines se déroule dans le cytoplasme, au niveau du ribosome bactérien, nécessitant ainsi la traversée du peptidoglycane et des diverses membranes pour atteindre la cible, à savoir le ribosome.

5.3 Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléiques

La synthèse des acides nucléiques est un processus vital pour les bactéries, mais certains antibiotiques ont la capacité d'inhiber ce métabolisme essentiel. Ces antibiotiques agissent en ciblant différentes étapes du processus. Par exemple, les inhibiteurs de l'ARN polymérase, tels que les ansamycines, entravent la transcription des acides nucléiques (Chopra *et al.*, 2002).

D'un autre côté, les inhibiteurs de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase IV, tels que les quinolones et les fluoroquinolones, affectent la réplication de l'ADN (Procópio *et al.*, 2012)

Enfin, les inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique, comme les sulfamides et les triméthoprime diaminopyridines, perturbent la production des précurseurs nécessaires à la synthèse des acides nucléiques.

Chapitre III

Biotopes environnementaux

Chapitre III. Biotopes environnementaux

1 Introduction aux biotopes environnementaux des zones arides

1.1 Définition des sols Saharian

Les sols des régions arides se développent principalement sous l'effet du vent qui agit sur la roche mère. Cependant, cette influence peut être altérée par la topographie locale. Ainsi, les sols résultent souvent de l'interaction complexe entre le vent et la roche mère, ou entre le vent et la topographie (Durand, 1954).

Les sols arides, parmi les ordres de sols les plus communs à l'échelle mondiale, se distinguent principalement par leur faible disponibilité en eau. La plupart d'entre eux contiennent juste assez d'eau pour permettre la croissance des plantes pendant une période maximale de 90 jours consécutifs (Mathieu et Pieltain, 2009).

1.2 Caractéristiques des sols Saharien

Les sols sahariens sont des sols squelettiques où la production d'argile est très faible, la fraction grossière est dominante. Ils sont sableux et truffés de cailloux (Damangeot, 1981 in Dehnoun, 1998).

Dans les régions arides, les sols présentent généralement un ensemble de caractéristiques constantes: les sols du Sahara sont principalement minéraux, avec une fraction organique très faible voire nulle, à l'exception des oasis. Sur les terrains élevés, les sols sont généralement rocailleux ou sableux (Hamadas, regs, ergs), tandis que dans les dépressions, la texture peut être fine mais les sols sont souvent salés (Sebkha et Chotts). Leur évolution est lente, avec une faible teneur en matière organique, souvent inférieure à 0,1 % (Daoud and Halitim, 1994) due à la rareté de la végétation et à la faible biomasse. Leur structure est peu définie, avec souvent la présence de croûtes calcaires, gypseuses et d'autres salines (Aubert, 1960).

La qualité physique, chimique et biologique des sols sahariens pose à la fois des problèmes agronomiques (faible aptitude culturale) et environnementaux (érosion et ruissellement de surface). Ils se caractérisent par un lessivage significatif des nutriments et une érosion intensive des minéraux. Le pH des sols sahariens se rapproche de la neutralité (Hatimi et Tahrouch, 2007), exerce un impact indirect sur les microorganismes en influençant les propriétés physico-chimiques du sol, ce qui altère la biodisponibilité des éléments nutritifs (Calvet, 2013).

Dans les zones arides et semi-arides, la productivité des sols dépend de leur capacité de rétention d'eau, qui tend à augmenter avec la profondeur et le contenu organique. Les sols sableux ont une capacité de rétention d'eau inférieure à celle des sols argileux. Les zones arides sont définies comme des régions où les précipitations sont inférieures à l'évapotranspiration, au moins pendant une période plus ou moins longue de l'année (Robert, 1996).

Près de 95 % du territoire national en Algérie est classé comme zone aride, dont 80% correspondent au domaine hyperaride Halitim (1988).

Le tableau 4 présente les trois domaines d'aridité en fonction de la pluviométrie annuelle (Emberger, 1955).

Tableau 4 : Trois domaines d'aridité en fonction de la pluviométrie annuelle Emberger (1955).

Domaine d'aridité	Pluviométrie annuelle
Hyperaride	$P < 100$ mm
Arde	$100 < P < 300-400$ mm
Semi-aride	$300-400 < P < 600$ mm

P: pluviométrie

1.3 Sols sahariens en Algérie

L'Algérie est largement caractérisée comme une zone semi-aride à aride en raison de l'importance de l'évapotranspiration par rapport aux précipitations. Selon Halitim (2011), près de 95% du territoire national est classé comme zone aride, dont 89,5% relève du domaine hyper-aride ou saharien (Nedjraoui, 2003).

Les sols du Sahara algérien sont principalement constitués de sols minéraux, où la fraction organique est très faible voire inexistante, à l'exception des oasis. Sur les reliefs élevés, on trouve des sols rocailleux ou sableux (hamadas, regs, ergs), tandis que dans les dépressions, la texture peut être fine, mais les sols sont souvent salés (Sebkha et Chotts). Ces sols se caractérisent par un lessivage significatif des nutriments et une érosion intensive des minéraux (Robert, 1996).

D'après la classification de Halitim (1988), les principaux types de sols identifiés dans les zones arides d'Algérie, en fonction du niveau de sels, sont au nombre de cinq: les sols sans accumulations de sels, les sols calcaires, les sols gypseux, les sols calcaires et gypseux, et les sols salés.

2 Microorganismes du sol

Les sols sont des habitats complexes, regorgeant de biodiversité, et agissant comme d'immenses réservoirs de vie, essentiels à la régulation des cycles biogéochimiques du carbone et de l'azote (Beare *et al.*, 1995; Jones et Hinsinger, 2008, in Cros, 2019).

Cette diversité est notamment soutenue par la présence de microorganismes, invisibles à l'œil nu et majoritairement unicellulaires, qui prospèrent dans la rhizosphère, une région étroitement liée aux racines des plantes (Baumann *et al.*, 2013; Falkowski *et al.*, 2008, in Abis, 2019).

Malgré leur faible proportion en termes de masse dans le sol, représentant moins de 0,5 %, ces microorganismes, incluant bactéries, archées, champignons, protozoaires et virus, jouent un rôle central dans les propriétés du sol et dans ses cycles biogéochimiques (Tate, 2000, in Yan *et al.*, 2015).

Le sol, bien que peu exploré en termes de biodiversité, constitue l'un des milieux les plus diversifiés sur terre, abritant des milliers d'espèces d'animaux et de microorganismes, dont les actinomycètes, les bactéries, les champignons et les algues unicellulaires (Henri *et al.*, 1969).

Ces microorganismes représentent une part substantielle de la vie dans le sol, pouvant atteindre jusqu'à 90% de la biomasse totale. Leur rôle est primordial dans la plupart des fonctions essentielles du système tellurique.

2.1.1 Bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires prokaryotes, très diversifiés en termes de taille et de forme, qui peuplent une variété de sols, y compris les environnements arides et sahariens. Leur taille peut varier entre 1 et 2 μm (Xavier et Laurence, 1997; Jaune, 2011).

Malgré les conditions rigoureuses des sols arides et sahariens, ces bactéries présentent une adaptabilité remarquable grâce à leur extraordinaire variabilité biochimique, leur permettant de transformer diverses substances du sol pour les intégrer dans le cycle biologique (Bourguignon et Bourguignon, 2015).

Dans ces milieux hostiles, les communautés bactériennes jouent un rôle crucial en se reproduisant par fission binaire et en maintenant une abondance considérable malgré les conditions extrêmes. Leur contribution est essentielle dans les processus de décomposition de la biomasse végétale morte, dans la fixation de l'azote, la mobilisation des nutriments, et dans la production de substances bioactives (Lladó *et al.*, 2017; Gonzalo, 2022).

Certaines bactéries présentes dans les sols arides et sahariens interagissent de manière bénéfique avec les plantes, formant des symbioses, colonisant les tissus internes sans être pathogènes, ou en s'implantant dans la rhizosphère et la rhizoplane (Gonzalo, 2022).

Ce rôle crucial des bactéries dans les écosystèmes arides et sahariens témoigne de leur importance dans le maintien de la biodiversité et de la résilience de ces environnements uniques.

2.1.2 Champignons

Les champignons du sol se présentent sous différentes formes, comprenant des champignons supérieurs tels que les basidiomycètes et les ascomycètes, des levures, ainsi que des champignons inférieurs classés comme moisissures, tels que *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor*, etc. Leur mode de nutrition hétérotrophe entraîne une variation du nombre de 10^5 à 10^6 cellules/g de sol (Maier *et al.*, 2000).

Leur rôle dans la fertilité des sols est largement reconnu, même s'ils ne sont pas les microorganismes les plus abondants du sol. En effet, ils représentent néanmoins les deux tiers de la biomasse microbienne (Bourguignon et Bourguignon, 2015).

2.1.3 Actinomycètes

Les Actinomycètes, classés dans le règne bactérien bien qu'ils partagent des caractéristiques avec les champignons, sont des organismes unicellulaires, aérobies, et filamenteux (Das *et al.*, 2008; Bhatti *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2022). Ils forment un réseau ramifié de filaments et produisent des spores, étant les habitants les plus nombreux de la rhizosphère, avec *Streptomyces* comme genre dominant (Mara et Horan, 2003; Gentry *et al.*, 2021; Fatmawati *et al.*, 2018).

Ces bactéries filamenteuses, intermédiaires entre les champignons et les bactéries, possèdent une capacité notable à sécréter des antibiotiques et à réaliser de nombreuses réactions biochimiques (Bourguignon et Bourguignon, 2015).

Récents études montrent une plus grande abondance d'actinobactéries dans les sols arides, comparativement à ceux non arides, tandis que d'autres groupes microbiens comme les protéobactéries, les cyanobactéries et les planctomycètes sont moins abondants dans ces milieux (Javiera *et al.*, 2020).

2.1.4 Algues

Les algues microscopiques constituent un ensemble varié d'organismes, présentant des différences de taille, d'habitat et de modes de reproduction. Bien qu'elles soient généralement abondantes dans le sol, elles tendent à se localiser en surface ou dans de larges fissures en raison de leur capacité à effectuer la photosynthèse, utilisant la lumière du soleil comme source d'énergie (Henri, 1969; Xavier et Laurence, 1997).

Ces algues se répartissent en trois principaux groupes taxonomiques eucaryotes: les algues vertes (chlorophycées), les algues jaunes-vertes (xanthophycées) et les diatomées (bacillario-phyccées) (Gobat *et al.*, 2010).

Les cyanobactéries, ou algues bleu-vert, se distinguent en tant que bactéries photosynthétiques, utilisant l'énergie solaire pour synthétiser des molécules organiques de la même manière que les plantes. Contrairement aux autres bactéries photosynthétiques qui utilisent le soufre à la place de l'eau, leur photosynthèse produit de l'oxygène moléculaire (Blais, 2002).

Ce groupe microbien, diversifié sur le plan physiologique et écologique, a survécu et s'est adapté à une série de changements géochimiques tout au long de l'évolution de la biosphère terrestre (Boutray, 2017).

3 **Écologie et distribution des actinobactéries dans les différents biotopes environnementaux.**

Les actinobactéries, autrefois considérées comme des habitants exclusifs du sol, sont maintenant reconnues comme étant omniprésentes, colonisant une variété d'écosystèmes (figure 3).

Leur présence s'étend du sol à des environnements aussi divers que l'eau de mer, la peau humaine, ainsi que les voies pulmonaires et gastro-intestinales (Lewin *et al.*, 2016; Demoura *et al.*, 2021)

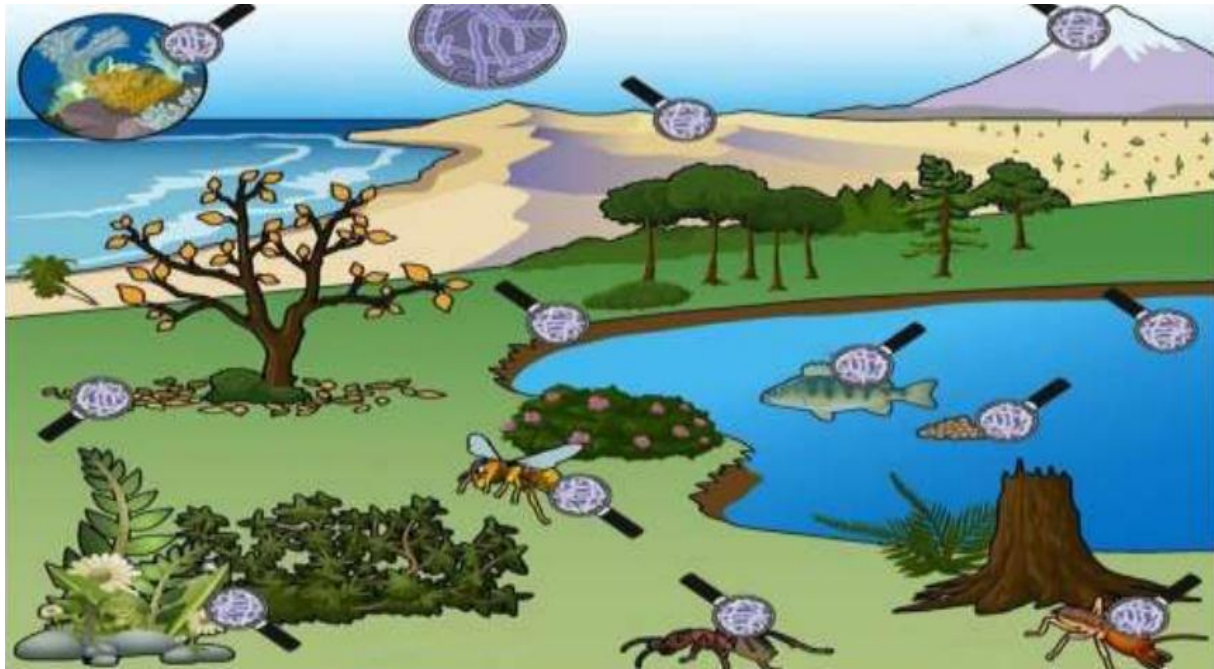


Figure 3 : Écologie et distribution des actinomycètes dans la nature (van der Meij *et al.*, 2017).

Ce groupe de bactéries, les actinobactéries, est présent dans une multitude d'environnements naturels et synthétiques (tableau 5). Elles se retrouvent dans différentes niches telles que le sol, l'air, l'eau douce, les océans, et colonisent également divers matériaux tels que l'engrais, les résidus végétaux de compost et les produits alimentaires (Kumar *et al.*, 2003)

Tableau 5 : Répartition de quelques genres d'actinobactéries par type d'habitat (Goodfellow, 1983).

Genre	Habitats
<i>Streptomyces</i>	Sol et Eau
<i>Actinomadura</i>	Sol
<i>Actinoplana</i>	Sol, Eau, Litière
<i>Frankia</i>	Nodules des racines
<i>Microbiospora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, Eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, Eau, Fumier, Litière, Matière en décomposition
<i>Saccharomonospora</i>	Sol, Eau, Litière
<i>Streptosporangium</i>	matière en décomposition et en fermentation

3.1 Sol

Le sol héberge de divers genres de micro-organismes. Les actinobactéries sont moins dominants que des bactéries et plus importants que des champignons.

Les actinobactéries composent habituellement à 10-50% de la communauté microbienne totale déterminée par la méthode d'électrodéposition dans la terre vierge et cultivée. Leur nombre varie considérablement dans différents types de sol s'étendant de 10^5 à 10^6 g dans des zones tempérées. Un nombre peu élevé d'actinobactéries a été enregistré dans la région de l'Antarctique, dans les tourbes acides et les sédiments des différentes eaux. Leurs présences est maximum dans les couches supérieures du sol, il diminue avec la profondeur. Dans le sol sec alcalin leur abondance relative est haute. Les actinomycètes les plus abondants dans le sol sont les espèces de *Streptomyces* qui peuvent former plus de 2/3 des colonies sur des plaques de dilution, les *Nocardia* sp représentent jusqu'à un tiers et les *Micromonospora* atteignent les 5% (Alexander, 1961).

Lechevalier et Lechevalier (1967) ont isolé 5000 actinobactéries issus de 16 sols différents. Plus de 95% étaient des *Streptomyces*.

3.2 Air

La présence d'Actinomycètes dans l'air, sous forme de propagules, est étroitement liée à la dispersion des poussières par le vent. Contrairement à leur habitat naturel, l'air agit comme un moyen de transport pour les actinomycètes plutôt que comme un environnement de croissance (Gazenko *et al.*, 1989; Reponen *et al.*, 1989).

Cependant, les actinomycètes peuvent se développer et libérer leurs spores dans l'air, ce qui peut entraîner des maladies respiratoires lorsqu'elles sont inhalées (Gazeno *et al.*, 1985; Suntari *et al.*, 2002).

Ainsi, bien que l'air ne soit pas un habitat conventionnel pour les actinomycètes, leur présence et leurs activités dans cet environnement peuvent avoir des implications significatives pour la santé humaine.

3.3 Eaux douces et milieux marins

Les milieux aquatiques, tels que les fonds fluviaux ou lacustres, abritent une diversité significative d'Actinomycètes, parmi lesquels il est facile d'isoler des souches de *Microspora*, d'*Actinoplanes* et de *Streptosporangium*. Ces microorganismes jouent un rôle crucial dans la décomposition des débris végétaux présents dans ces milieux, contribuant ainsi à la transformation de la matière organique et à la production d'odeurs caractéristiques de terre et de saveurs particulières dans l'eau.

Une revue de l'écologie des actinomycètes marins par Goodfellow et Williams, (1983) a révélé que bien que présents dans les mers, les actinomycètes constituent une petite proportion de la flore totale, leur nombre étant nettement inférieur à celui observé dans les eaux douces ou les sols.

Des études antérieures, telles que celle menée par Zobell (1946), ont mis en évidence la présence de souches d'Actinomycètes marins telles que *Mycobacterium*, *Actinomyces*, *Nocardia* et *Micromonospora* à partir d'échantillons marins, mais ont noté l'absence de *streptomycètes*. Cependant, d'autres recherches menées par Humm et Shepard (1946) ont réussi à isoler des streptomycètes parmi d'autres microorganismes marins. De même, dans une étude ultérieure, Freitas et Blat (1954) ont identifié des streptomycètes cellulolytiques sur des filets de pêche dégradés, soulignant ainsi la diversité et la capacité métabolique des actinomycètes dans les milieux marins.

4 Facteurs environnementaux influençant la densité et la distribution des actinomycètes

La densité et la distribution des actinomycètes sont étroitement liées à divers facteurs environnementaux. Ces facteurs comprennent un large éventail de paramètres physico-chimiques et biologiques qui agissent directement ou indirectement sur les êtres vivants au cours de leur cycle de développement (Leveque, 2003; Faurie, 2011).

Les facteurs abiotiques, notamment les caractéristiques géologiques, pédologiques et hydrographiques, jouent un rôle prépondérant dans la régulation de la biocénose (Leveque, 2003 ; Hasnaoui, 2013 ; Dajoz, 1982 ; Ramade, 1984) et influencent ainsi la distribution des actinomycètes dans leur habitat naturel

4.1 Facteurs physiques

4.1.1 Texture du sol

La texture du sol fait référence à la répartition granulométrique des particules élémentaires du sol, à la fois qualitativement (en termes de rugosité et de finesse des matériaux) et quantitativement (en fonction de la proportion des différentes tailles de particules) (Gobat *et al.*, 2003; Girard *et al.*, 2005).

Cette caractéristique est cruciale dans la détermination de la structure et de la fertilité du sol, ainsi que dans de nombreux processus écologiques. Les sols à texture fine se

composent de particules plus petites ($< 2 \mu\text{m}$), tandis que les sols à texture grossière ont des particules plus grandes (entre 2 et $50 \mu\text{m}$) (Bousnina et Ghedeir, 2020).

Cette distinction est importante car elle influence la capacité du sol à retenir l'eau, les nutriments et les éléments minéraux nécessaires à la croissance des plantes. En outre, la texture du sol peut également influencer la densité et la distribution des actinobactéries, car elle affecte les conditions physico-chimiques du sol qui leur sont favorables. Par exemple, les sols argileux peuvent offrir un habitat plus stable et protégé pour les actinobactéries par rapport aux sols sableux, ce qui peut influencer leur densité et leur répartition.

Les matériaux du sol peuvent également être classés selon leur origine organique ou minérale, ainsi que selon le type d'altération qu'ils ont subi (Gobat *et al.*, 2003).

Cette classification repose souvent sur la proportion relative de trois fractions principales: le sable, le limon et l'argile. Chaque fraction joue un rôle spécifique dans les propriétés physiques et chimiques du sol. Par exemple, les sols riches en argile ont tendance à être plus fertiles et à retenir plus d'eau que les sols sableux, en raison de la plus grande surface spécifique et de la capacité de rétention d'eau de l'argile. De ce fait, la composition minérale du sol peut également influencer la densité et la distribution des actinobactéries, car elle affecte les conditions de croissance et la disponibilité des nutriments pour ces microorganismes.

4.1.2 Structure du sol

La structure du sol se réfère à son état physique, lequel évolue au fil du temps en fonction de divers facteurs tels que la texture, le taux d'humidité, l'état des colloïdes et la présence de matière organique (Gobat *et al.*, 1998).

Cette caractéristique joue un rôle crucial dans la distribution et la densité des actinobactéries. En effet, la structure du sol influence directement les conditions environnementales dans lesquelles ces microorganismes évoluent. Par exemple, une structure de sol bien agrégée et aérée peut offrir des niches microscopiques propices à la colonisation et à la croissance des actinobactéries, favorisant ainsi leur densité et leur distribution. À l'inverse, une structure de sol compacte ou trop dense peut limiter la mobilité et l'accès aux nutriments essentiels, ce qui peut réduire la population d'actinobactéries.

Par conséquent, comprendre la structure du sol est essentiel pour évaluer et prédire la présence et l'abondance des actinobactéries dans un environnement donné. Les méthodes d'analyse de la structure du sol, souvent basées sur des critères géométriques et

utilisant des méthodes non destructives (Musy *et al.*, 1991), permettent d'appréhender ces variations et d'étudier leur impact sur les communautés microbiennes du sol.

4.2 Facteurs chimiques

4.2.1 pH

Il est considéré que le pH exerce une influence sur la composition de la microflore du sol. Chaque espèce microbienne montre une activité optimale dans des plages de pH spécifiques qui lui sont propres. Par exemple, les bactéries se développent préférentiellement dans des conditions de pH comprises entre 6 et 8, tandis que les actinomycètes, qui jouent un rôle antagoniste envers les champignons, sont particulièrement sensibles à l'acidité et prospèrent mieux dans des pH allant de 6 à 7,5 (Soltner, 2003).

En ce qui concerne les sols, leur acidité constitue un paramètre essentiel régulant la croissance et la multiplication des microorganismes. Les actinomycètes, sont extrêmement sensibles aux variations de pH. Ces microorganismes prospèrent particulièrement dans des environnements où le pH se situe près de la neutralité, contrairement aux champignons qui montrent une préférence pour les sols acides, comme mentionné par Boullard et ses collaborateurs en 1962. Ainsi, le pH du sol joue un rôle significatif dans la régulation de la diversité et de l'activité microbiennes, influençant ainsi les écosystèmes terrestres dans leur ensemble.

4.2.2 Teneur en sels

L'évolution de la microflore du sol subit des variations en fonction du taux de salinité présent. Cette variation est due en partie au transport des sels par capillarité depuis une nappe d'eau chargée en sels vers la surface du sol, où ils s'accumulent à cause de l'évaporation. Cette accumulation de sels impacte directement la composition microbienne du sol. Des recherches antérieures ont souligné que l'augmentation des taux de sels entraîne une diminution du nombre de micro-organismes présents (Maameri, 2007).

En conséquence, l'augmentation de la salinité du sol peut conduire à une détérioration des sols et de la végétation environnante. Les sels les plus fréquemment rencontrés sont des combinaisons de cations tels que le sodium, le calcium, le magnésium et le potassium, associés à des anions comme le chlorure, le sulfate et le carbonate. Cette composition chimique complexe joue un rôle crucial dans l'interaction entre les sels et la microflore du sol. Des études antérieures ont également révélé que certains sels ont la capacité

d'inhiber l'activité biologique du sol, ce qui entraîne des niveaux élevés de composés solubles dans l'eau, facilement mobiles dans l'environnement du sol (Boullard *et al.*, 1962).

Cette inhibition de l'activité biologique peut avoir des répercussions significatives sur les processus écologiques et agricoles qui dépendent de la santé et de la diversité de la microflore du sol.

4.2.3 Azote de sol

Contrairement à la plupart des autres composants du sol, l'azote n'est généralement pas issu de l'altération des roches qui constituent le substrat du sol au fil du temps. Bien qu'il soit rarement absent du sol, il se présente généralement sous forme de matière organique brute qui ne peut être directement utilisée. L'azote est souvent le nutriment limitant dans le sol, étant crucial pour la croissance des plantes, qui peuvent l'assimiler sous forme de cations ammonium (NH_4^+) ou d'anions nitrate (NO_3^-). Lorsqu'il est ajouté au sol, l'azote est principalement destiné aux microorganismes plutôt qu'aux plantes, et ce, en quantités relativement modestes (10-20 U/ha) (Mirsal, 2004).

Les actinobactéries du sol jouent un rôle crucial dans le cycle de l'azote, en participant à sa minéralisation et à sa transformation en formes accessibles pour les plantes. Elles contribuent ainsi à la disponibilité de cet élément essentiel pour la croissance végétale, ce qui souligne leur importance dans la fertilité et la productivité des sols.

4.3 Facteurs climatiques

Les régions arides ou semi-arides se distinguent par leur faible pluviométrie, leurs températures élevées et les vents qui favorisent une évaporation intense (Berkal, 2006).

L'aridité, une caractéristique fondamentale du désert, découle à la fois de la rareté et de l'irrégularité des précipitations, ainsi que de l'intensité de l'évaporation. Ces deux facteurs, dont les valeurs peuvent être évaluées, permettent de définir et de délimiter les zones désertiques (Pierre, 1958).

Conformément à Ramade (1984), les conditions climatiques ne se limitent pas à être des éléments déterminants du milieu physique, mais elles exercent également des influences profondes sur la faune et la flore.

4.3.1 Température

La température est un élément climatique fondamental, régulant l'activité de toutes les formes de vie dans la biosphère (Dreux, 1980; Ramade, 1984).

La variation thermique quotidienne, entre températures maximales et minimales, est également cruciale sur le plan écologique (Leveque, 2003).

Dans les régions arides, les températures diurnes peuvent atteindre des niveaux extrêmement élevés, dépassant parfois les 50 °C voire les 65 °C, avec des chutes significatives la nuit. Cette fluctuation thermique influe considérablement sur la température du sol, jouant ainsi un rôle déterminant dans la multiplication et l'activité des microorganismes, notamment des actinobactéries (Bousnina et Ghedeir, 2020).

Il est bien établi que la distribution et la densité des actinobactéries sont étroitement liées aux variations de température. Les températures extrêmes, typiques des régions arides, peuvent modifier considérablement l'habitat des actinobactéries, impactant ainsi leur répartition géographique et leur abondance (Dajoz, 1970).

4.3.2 Humidité

L'humidité est un facteur crucial qui influe sur l'activité microbienne des sols, avec une augmentation de l'activité des microorganismes lorsque l'humidité augmente jusqu'à un maximum, suivi d'une diminution (Morel, 1989).

Cette relation entre l'humidité et l'activité microbienne est étroitement liée à l'aération du sol, comme l'explique Soltner (2005), qui souligne que l'excès d'eau entraîne une aération déficiente et sélectionne certains germes. L'eau, comme le souligne Dajoz (1983), est un constituant essentiel de la vie, et son humidité relative, combinée à la température, influence de manière déterminante la répartition et le comportement des organismes vivants.

L'humidité, qu'elle soit relative ou absolue, est donc un facteur essentiel qui influence l'activité des microorganismes dans le sol, ainsi que la répartition et le comportement des organismes vivants, en particulier dans les régions arides comme le Sahara septentrional, où elle varie considérablement au cours de l'année (Vial et Vial, 1974).

4.3.3 Vent

Le vent, en tant que facteur principal de la topographie désertique, contribue à son aridité en provoquant une évaporation intense (Moulais, 1927).

Il devient limitant lorsque trop fort ou trop froid. En outre, il influence la distribution des pluies, accélère l'évaporation et réduit les températures (White, 1986).

Cependant, le vent peut également être préjudiciable pour certaines cultures irriguées dans les régions arides, principalement en emportant des particules de terre (Dabin, 1970).

4.3.4 Influence des saisons

La dynamique saisonnière exerce une influence significative sur la composition microbienne des sols, notamment en modifiant la densité et la distribution des actinobactéries.

Cette influence est largement déterminée par deux facteurs primordiaux : l'humidité et la température, dont la combinaison régule l'activité microbienne tout au long de l'année (Morel, 1989).

Les variations saisonnières observées dans la microflore sont principalement attribuables à des changements qualitatifs et quantitatifs dans les apports nutritifs provenant de matières organiques en décomposition telles que les feuilles et les branches mortes. De plus, les besoins en eau des microorganismes et la durée des périodes sèches constituent des éléments cruciaux pour l'adaptation des cultures (Dabin, 1970).

Ainsi, la succession des saisons, en influençant ces paramètres environnementaux, façonne la composition et l'activité des actinobactéries dans les sols, jouant ainsi un rôle essentiel dans la santé et la fertilité des écosystèmes terrestres.

Matériel et méthodes

Matériel et Méthodes

Objectif :

Dans le cadre du chapitre consacré aux matériaux et méthodes de notre étude, plusieurs objectifs sont définis. Tout d'abord, nous nous intéressons à l'origine et à l'analyse détaillée des sols, visant à comprendre leur composition ainsi que leurs caractéristiques physicochimiques et granulométriques. Ensuite, notre travail implique le dénombrement et l'isolement des actinomycètes, une classe particulière de microorganismes d'intérêt. Nous nous engageons également dans une démarche d'identification polyphasique des isolats. Par la suite, nous entreprenons un screening systématique de l'activité antimicrobienne des actinomycètes, cherchant à évaluer leur potentiel dans ce domaine. Enfin, nous nous penchons sur l'étude des substances antimicrobiennes produites par ces microorganismes, afin de mieux comprendre leur mécanisme d'action et leur éventuelle application en tant qu'agents thérapeutiques.

1 Isolement des actinomycetes des sols Sahariens

1.1 Origine et analyse des sols

1.1.1 Sites de l'étude

La région d'étude, El Atteuf, est localisée dans le département de Ghardaïa, au sud de l'Algérie. Elle se trouve à environ 600 kilomètres de la côte et présente une altitude de 450 mètres au-dessus du niveau de la mer, comme illustré dans la Figure 4. La commune d'El Atteuf couvre une étendue considérable de 750 kilomètres carrés. Cette zone est caractérisée par un climat aride avec des précipitations annuelles limitées, ne dépassant pas 48,9 millimètres, et elle connaît des températures extrêmes (figure 4).

Pendant les étés brûlants, les températures grimpent, avec des valeurs oscillant entre 29 °C et un pic de 53,2 °C. En revanche, la saison hivernale apporte des contrastes marqués en termes de températures, allant d'un froid glacial de 0 °C à des valeurs plus clémentes de 16,9 °C. Dans l'ensemble, la température moyenne mensuelle tout au long de l'année à El Atteuf se maintient à 23 °C, créant un climat distinctif et exigeant à la fois pour les habitants de la région et les écosystèmes qui y résident.

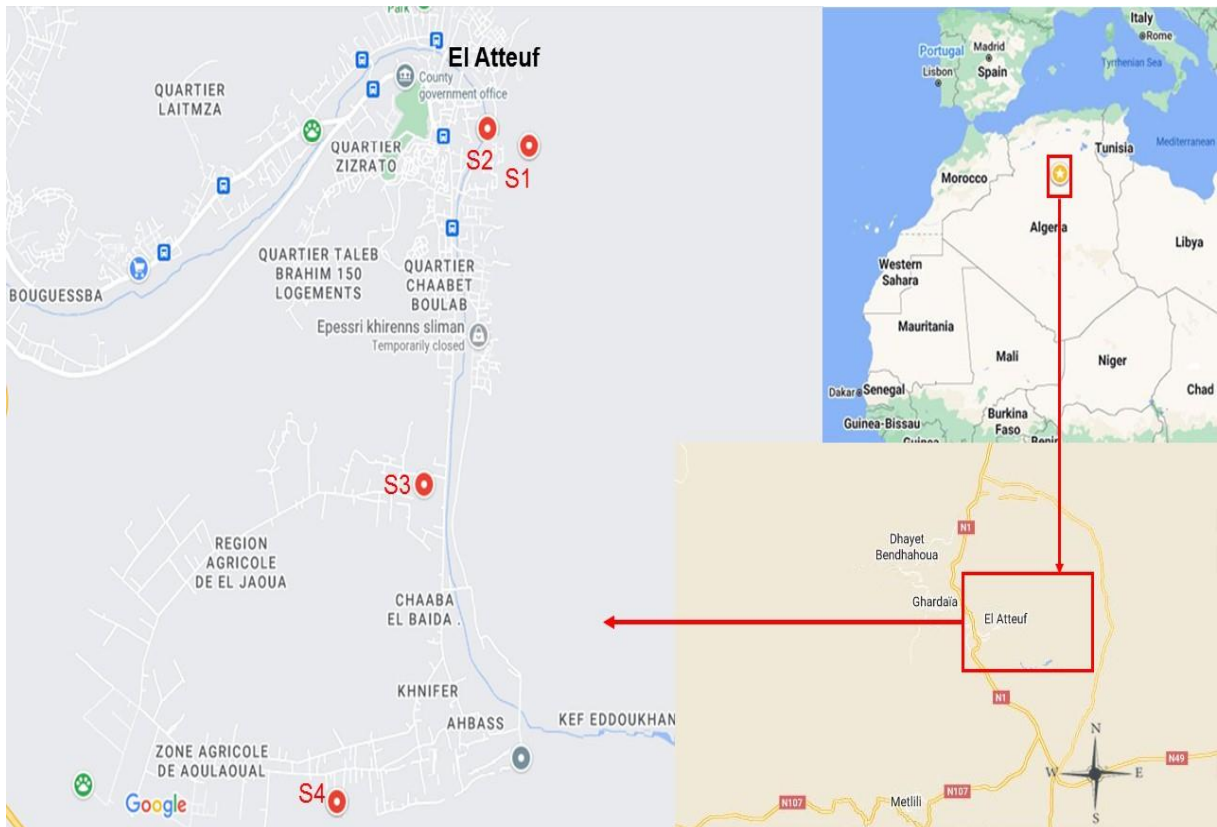


Figure 4 : Carte indiquant les sites d'échantillonnage à El Atteuf (Ghardaïa, Algérie).
S1: Tammou El Maleh, S2: Vallée du Mzab, S3: El Jaoua ; S4: Aoulaoual
(disponible sur: <https://www.google.dz/maps/> consulté le 10 décembre 2022).

1.1.2 Echantillonnage

Quatre échantillons de sol saharien ont été prélevés à El Atteuf, Ghardaïa (figure 5) caractérisée par un climat saharien. Les points de collecte (S1, S2, S3 et S4) ont été soigneusement sélectionnés, notamment pour varier les types et les conditions des biotopes de prélèvement, de manière à garantir une diversité de caractéristiques telles que le type du sol (différents états de surface oued, montagne et oasis), sols non cultivés et sols cultivés (palmeraie), la teneur en matière organique, la conductivité, la taille des particules, tout en évitant la contamination.

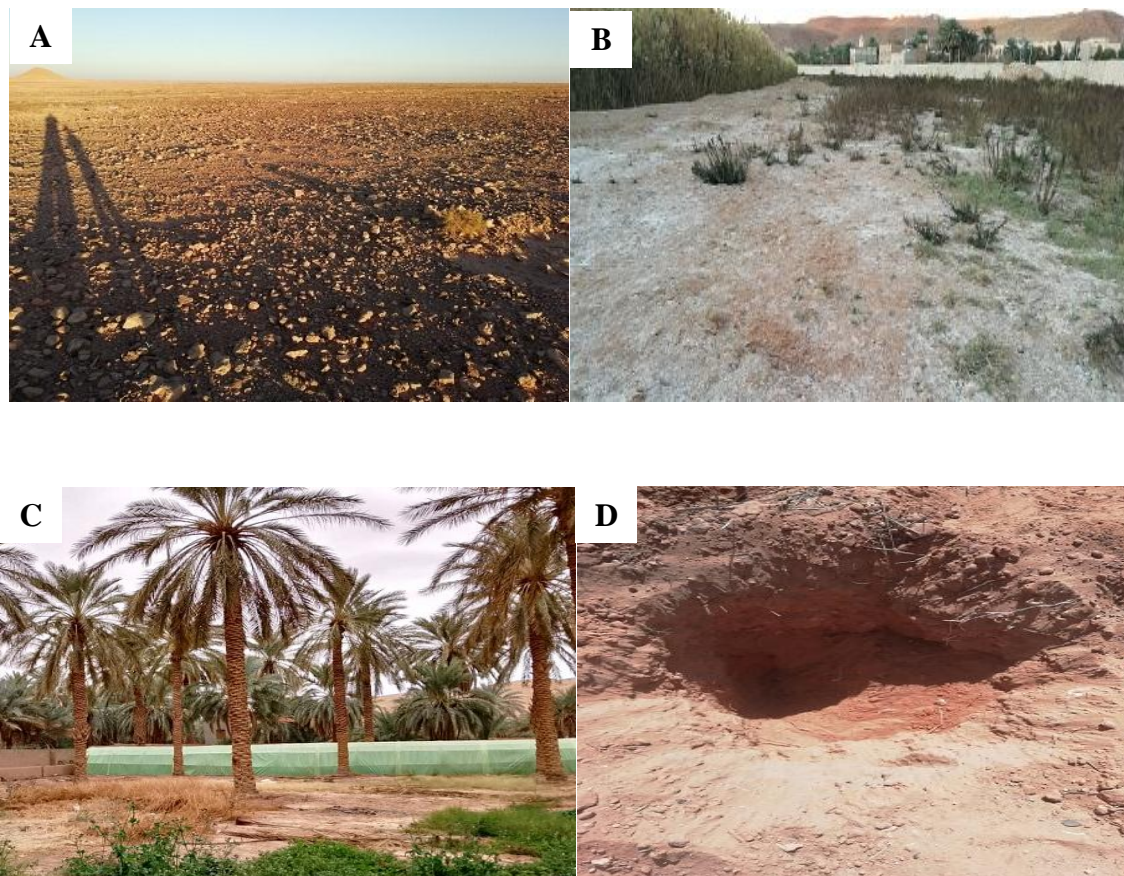


Figure 5: Sites de prélèvement des échantillons de sol de d'El Atteuf à Ghardaia
(A: Tammou El Maleh B: Vallée de Mzab C: El Jaoua D: Aoulaoual)

Les échantillons illustrés dans le tableau 6 ont été prélevés, durant le mois de février 2020, par une spatule stérile à une profondeur de 3 à 15 cm sous la surface du sol. Ils ont ensuite été recueillis dans des contenants en polypropylène propres, secs, et stériles, puis conservés à une température de 4 °C jusqu'à l'analyse.

Tableau 6 : Distribution des actinomycètes isolés totaux provenant de différentes localités d'El Atteuf (Ghardaïa, Algérie).

Sites de prélèvement	Localisations géographiques	Nombres et codes des bactéries isolées	Type de sol
S1 Tammou El Maleh	32°28'34.9"N, 3°45'16.1"E	AC1-AC3	Montagne
S2 Vallée de Mzab	32°28'38.6"N, 3°45'03.1"E	AC4-AC9	Vallée
S3 El Jaoua	32°27'25.9"N, 3°44'43.5"E	AC10-AC17	Oasis
S4 Aoulaoual	32°26'21.2"N, 3°44'16.2"E	AC18-AC32	Oasis

1.1.3 Analyses du sol

1.1.3.1 Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques des sols ont été effectuées le 15/06/2022 par le laboratoire des travaux publics du sud (Ouargla).

Les analyses de sol sont essentielles pour comprendre la composition chimique et les caractéristiques physiques d'un sol donné. Parmi les analyses couramment effectuées, on retrouve:

a) pH

Le pH est une mesure cruciale qui indique l'acidité ou la basicité du sol, ce qui peut avoir un impact significatif sur la disponibilité des nutriments. Une suspension de terre dans de l'eau distillée est préparée puis mesurée à l'aide d'un pH-mètre de laboratoire préalablement calibré, en utilisant la méthode électrométrique.

b) Détermination des insolubles

La détermination des Insolubles, conforme à la norme **NFP 15-461**, permet de mesurer la quantité de matières non solubles présentes dans le sol, fournissant ainsi des indications sur la pureté du sol.

Les composants insolubles du matériau comprennent du quartz, des argiles, d'autres silicates, ainsi que des hydroxydes de fer et d'aluminium. La quantité d'insolubles est déterminée en exposant l'échantillon à une attaque thermique avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) dilué à 10%. Cette procédure implique le chauffage de l'échantillon sur une plaque pendant 10 minutes. Une fois cette étape terminée, le contenu du bécher est filtré dans une fiole, et le papier filtre avec son contenu est placé dans un creuset en vue d'une calcination dans un four à 900 °C.

c) Sulfates

L'analyse des sulfates dans les échantillons de sol a été entreprise pour évaluer leur concentration, en mettant en lumière leur possible incidence sur la stabilité du sol. Conformément aux exigences de la norme **BS 1377 de décembre 1990**, la détermination du taux de sulfate dans le sol a été réalisée par la méthode gravimétrique. Cette procédure impliquait l'addition de chlorure de baryum à l'eau ou à l'extrait acide du sol, suivie de la dessiccation et de la pesée du précipité de sulfate de baryum.

d) Carbonates

L'évaluation des carbonates revêt une importance particulière pour déterminer la concentration de ces composés dans le sol, ce qui s'avère essentiel pour appréhender le potentiel calcaire du terrain. La méthode de détermination du taux de carbonate, conforme à la norme **NF P 15-461 datant de mai 1964**, implique l'application d'un excès d'acide chlorhydrique sur l'échantillon de sol. Par la suite, l'excès d'acide est titré en utilisant une solution d'hydroxyde de sodium, permettant ainsi de déterminer de manière précise la quantité de carbonate présente dans le sol.

e) Chlorures

La mesure des chlorures revêt une importance cruciale pour évaluer la concentration de ces ions dans le sol, ce qui est essentiel pour déterminer leur éventuel impact sur la qualité de l'eau et la croissance des cultures. La méthode de Mohr, ainsi nommée en l'honneur du pharmacien Allemand Karl Friedrich Mohr, constitue une technique de titrage spécifiquement conçue pour quantifier les chlorures. Elle se fonde sur un dosage argentimétrique des ions chlorures, utilisant le nitrate d'argent en présence de chromate de sodium. Ce dernier, agissant comme un indicateur coloré, réagit à la fin du titrage en formant le chromate d'argent, qui se présente sous la forme d'un précipité rouge brique¹.

f) Conductivité électrique

La conductivité électrique définit la quantité totale en sels soluble correspondant à la salinité globale du sol, elle dépend de la teneur et la nature des sels présents dans ce sol (Guessoum, 2001).

Cette approche implique de mélanger l'échantillon de sol avec une quantité suffisante d'eau pour obtenir des dilutions importantes. Le rapport habituel entre le sol et l'eau est généralement de 1/5 ou de 2/5 (**Wade, 1998**).

La conductivité électrique reflète la concentration totale de sels dissous (Van Hoorn and Van Alphen, 1998). Elle est mesurée à l'aide d'un conductimètre à 25 °C sur des extraits de sol dilués à 1/5 (sol/eau).

g) Détermination des teneurs en matière organique (ou C organique)

Selon la norme **XP P 94-047** la méthode par Perte Au Feu (PAF) sans décarbonation est une approche précise pour évaluer la teneur en carbone des sols en se basant sur la quantification de la matière organique. Cette méthode utilise des creusets préalablement pesés pour contenir des échantillons de terre broyée, lesquels sont chauffés à 105 °C pendant 24

heures pour éliminer l'humidité. Ensuite, les échantillons sont calcinés à 450 °C pendant 4 heures, suivis d'un refroidissement dans un dessiccateur pendant 30 minutes. La nouvelle masse du creuset et des cendres est ensuite mesurée pour déterminer la teneur en matière organique.

La teneur en matière organique par calcination est calculée selon l'équation ci-dessous :

$$C_{MOC} = \frac{1}{n} \sum \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \right)$$

n: nombre de creusets

m₀ : masse creuset vide

m₁ : masse creuset + échantillon avant calcination

m₂ : masse creuset + échantillon calcinés

1.1.3.2 Analyse granulométriques

La granularité se réfère à la distribution en masse des dimensions des particules solides, exprimée en pourcentage de la masse totale du matériau. Les limites des dimensions des grains, qui déterminent les fractions granulaires des échantillons de sol, sont établies conformément à l'échelle conventionnelle présentée dans le tableau 7.

Tableau 7: Dénomination d'un sol selon sa granularité (**Arvor Géotechnique**)

Nom	Sol à matrice fine			Sol à matrice grossière						cailloux	blocs
	argile	limon		sable			grave				
		fin	moyen	grossier	fin	moyen	grossier	fin	moyen		
Dimension des particules (mm)	0,002	0,006	0,02	0,06	0,2	0,6	2	6	20	60	200

L'analyse granulométrique de nos échantillons ont été effectué par technique de tamisage pour les grains d'un diamètre supérieur à 80 µm jusqu'à 100 mm (**NF P94-065**).

Enfin, Ces différentes analyses de sol fournissent des informations précieuses pour les agriculteurs, les chercheurs et les professionnels de l'environnement, contribuant ainsi à des décisions éclairées en matière de gestion des sols et de culture.

1.2 Origine et isolement des souches d'actinobactéries

1.2.1 Isolement des actinobactéries

1.2.1.1 Prétraitement des échantillons

Les échantillons de sol ont été séchés pendant sept jours afin de réduire les populations bactériennes et fongiques. Ensuite, pour faciliter l'isolement des actinomycètes, les échantillons de sol ont été soumis à d'autres méthodes de prétraitement physiques et chimiques (Hong *et al.*, 2009).

Le premier prétraitement consistait à chauffer 10 g de chaque échantillon à 50 °C pendant 60 minutes afin de réduire la majorité des bactéries indésirables à Gram négatif (Vijayakumar *et al.*, 2007).

Le deuxième prétraitement consistait à traiter 1 g de chaque échantillon de sol avec 0,1 g de CaCO₃, et le mélange formé a été placé dans une enceinte stérile saturée d'humidité à 30 °C pendant 7 jours, constituant ainsi des échantillons de sol secs (El-Nakeeb et Lechevalier, 1963).

1.2.1.2 Isolement des actinobactéries

Les ensemencements sont réalisés selon la méthode des suspensions-dilutions (figure 6). Un gramme de sol est suspendu dans 10 ml d'eau physiologique stérile (9 g.L⁻¹ de NaCl), suivi d'une agitation vigoureuse pendant 10 minutes à l'aide d'un vortex. La suspension-mère ainsi obtenue est ensuite diluée par facteur de 10 successivement dans de l'eau distillée stérile, jusqu'à atteindre la dilution 10⁻⁴. Des aliquotes de 0,1 mL de chaque dilution ont été étalés sur des boîtes de Petri contenant un milieu de culture agar chitine-vitamine (Hayakawa et Nonomura, 1987).

Trois répétitions sont effectuées pour chacune des dilutions. Pour inhiber la croissance des champignons et des bactéries persistantes, le milieu a été enrichi en cycloheximide (80 mg.L⁻¹), pénicilline (25 µg.mL⁻¹) et streptomycine (10 µg.mL⁻¹) respectivement. Les boîtes de Petri ont été incubées à 30 °C pendant 7 à 14 jours et observées périodiquement pour la croissance des actinomycètes. Les colonies pures ont été sélectionnées en observant les filaments fins entourant les actinomycètes sous un microscope optique (Shirling et Gottlieb, 1966).

1.2.1.3 Reconnaissance et dénombrement des actinobactéries

Pendant la période d'incubation, les boîtes de Pétri préalablement ensemencées sont régulièrement inspectées à l'œil nu et au microscope optique (Motic B1-253SP) avec des grossissements de x10 et x40. Cette observation vise à examiner la morphologie des colonies d'actinobactéries émergentes à la surface du milieu d'isolement. Les colonies présentant des caractéristiques morphologiques typiques des actinobactéries mycéliennes, telles que la présence de mycélium du substrat et souvent de mycélium aérien, sont comptées par boîte et par dilution (3 répétitions par dilution). La moyenne du nombre de colonies est calculée pour obtenir le nombre de UFC (unités formant colonie) par gramme de sol sec.

1.2.1.4 Purification et conservation des isolats

Les colonies sélectionnées sont délicatement prélevées à l'aide d'une pointe stérile, puis soumises à un processus de purification en les étalant sur du milieu ISP2 (Shirling et Gottlieb, 1966).

Les isolats purifiés sont ensuite numérotés et codés avant d'être ensemencés sur le même milieu sous forme de pente dans des tubes à vis. Ces tubes sont incubés pendant une à trois semaines avant d'être conservés à 4 °C. Le choix du milieu ISP2, qui contient du glucose, de l'extrait de malt et de l'extrait de levure, s'explique par sa capacité à favoriser une croissance et une sporulation satisfaisantes des isolats d'actinomycètes.

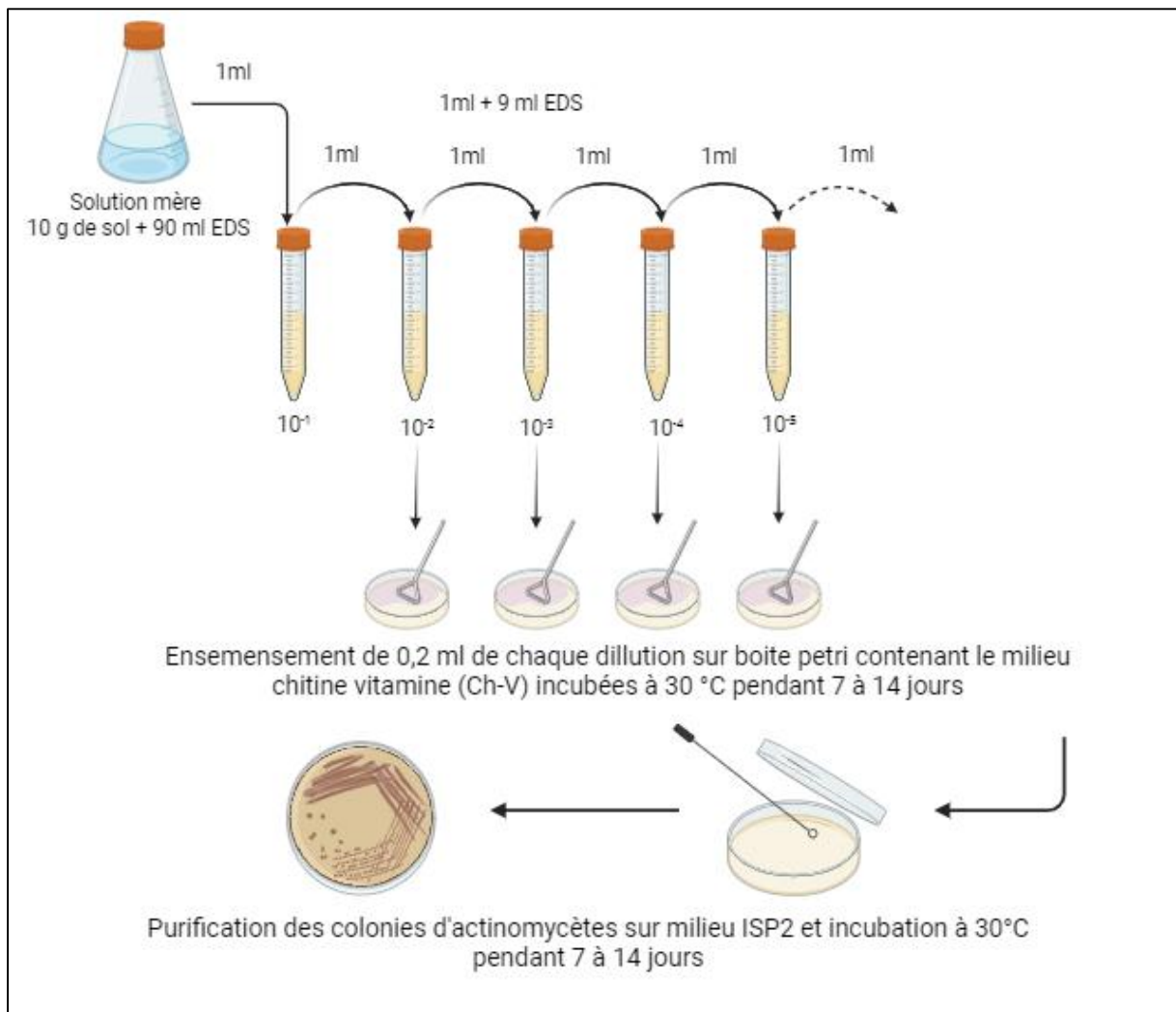


Figure 6 : Méthode de préparation d'une suspension dilution du sol et d'isolement des actinomycètes sur milieu chitine vitamine (Ch-V) et purification sur milieu ISP2

2 Identification polyphasique des actinomycètes

2.1 Caractérisation morphologique

Les caractéristiques morphologiques des isolats d'actinomycètes ont été étudiées en les ensemençant dans deux milieux de culture sélectifs ISP (ISP2 et ISP7). Les milieux de culture ont été stérilisés et versés dans des boîtes de Pétri. Après solidification, les isolats purs ont été ensemencés de manière aseptique et incubés à 30 °C pendant 14 jours.

2.1.1 Etude macromorphologiques

La caractérisation macromorphologique des actinomycètes faisait référence à l'étude des mycéliums aériens et de substrat, de leur forme, de leur structure, ainsi que de leurs couleurs (y compris la production de pigments) aux 7^e, 14^e et 21^e jours d'incubation à 30 °C.

La couleur de mycélium a été déterminée en utilisant les cartes de couleurs ISCC-NBS (Conseil inter-sociétés de la couleur - Bureau national des normes) (Kelly and Judd, 1976).

2.1.2 Etude micromorphologiques et types de chaînes de spores

Les caractéristiques micromorphologiques des isolats d'actinomycètes sont examinées au microscope optique (Motic B1-253SP) avec des grossissements x10 et x40 après incubation à 30 °C pendant 14 jours sur le milieu ISP2. Les observations portent sur la sporulation des mycéliums, la forme des spores, la morphologie des chaînes de spores, ainsi que la fragmentation éventuelle du mycélium du substrat. Ces observations sont effectuées directement sur les boîtes de Pétri afin d'étudier les mycéliums en place sans altérer leur structure.

Le type de chaînes de spores formées des isolats d'actinomycètes appartenant au genre *Streptomyces* a été déterminé, notamment: *S* (en *Spira*), *RF* (*rectus flexibilis*) ou *RA* (*retinaculum apertum*), conformément à Sabaou, (1988).

2.2 Analyse physiologique et biochimique

2.2.1 Production de pigments mélanoides

La mise en évidence des pigments mélanoides est réalisée sur le milieu gélosé ISP7 recommandé à cet effet par Shirling et Gottlieb (1966).

2.2.2 Utilisation des composés glucidiques comme seules sources de carbone

Ce test consiste à apprécier la croissance des actinomycètes sur le milieu de base ISP9 contenant un carbohydrate (10 g.L⁻¹), comme seule source de carbone. Le résultat du test est considéré positif par une croissance supérieure à celle du témoin (sans source de carbone). Les glucides et dérivés testés sont les suivants : D-Fructose, D-glucose, mannose, maltose, dextrose, lactose, D-galactose, D-arabinose, D-mannitol, sorbitol et ribose. L'ensemencement des souches se fait par stries et les lectures sont effectuées après une à deux semaines d'incubation à 30 °C (Shirling et Gottlieb, 1966).

2.2.3 Utilisation des acides aminés

Le test consiste à noter la croissance des isolats d'actinomycètes en présence de 0,1% de L-alanine, asparagine, histidine, tryptophane et tyrosine comme seules sources d'azote par rapport à la croissance dans un milieu de base ISP9 sans source d'azote (témoin négatif) (Goodfellow, 1971).

Les solutions des acides aminés sont désinfectées par ultrafiltration (micro-filtre de 0,22 µm de diamètre) et ajoutées aseptiquement au milieu de culture.

Les isolats d'actinomycètes sont ensemencés par stries et incubés à 30 °C pendant 7 et 14 jours. Les lectures consistent à comparer la croissance qui doit être supérieure à celle du témoin négatif (sans source d'azote).

2.2.4 Hydrolyse de l'amidon

Le test de dégradation de l'amidon par les souches d'actinomycètes est effectué selon la méthode préconisée par (Marchal, 1973).

Une solution de lugol permet de mettre en évidence l'hydrolyse de l'amidon par l'absence de coloration autour des colonies. Les zones contenant de l'amidon se colorent en brun.

2.2.5 Dégradation de la caséine du lait

10 g de lait en poudre écrémé sont dissous dans 100 mL d'eau distillée (pH = 7,5), puis stérilisés à l'autoclave. 100 mL d'eau distillée (pH = 7,5) contenant 3,6 g d'agar sont parallèlement autoclavés. Ces deux solutions sont mélangées aseptiquement puis coulées en boîtes de Pétri stériles. L'apparition d'une zone claire autour des colonies après 7 à 14 jours d'incubation à 28 °C, indique l'hydrolyse de la caséine (Gordon *et al.*, 1974).

2.2.6 Dégradation du Tween 80

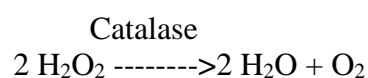
10 gouttes de tween 80 (ou polyoxyéthylène sorbitanmonooléate) autoclavées sont ajoutées à 25 mL de milieu composé de : peptone bactériologique : 10 g, chlorure de sodium: 5 g, chlorure de calcium: 0,1 g, agar: 25 g, eau distillé: 1000 mL. Il se forme un halo opaque, autour des colonies hydrolysant le tween 80, dû à la précipitation des acides gras (Marchal, 1973).

2.2.7 Dégradation de l'esculine

Esculine (ou arbutine): 1 g; citrate de fer ammoniacal: 1 g; peptone: 10 g; agar: 18 g; eau distillée q.s.p. 1000 mL. pH 7. La dégradation de ces 2 hétérosides se manifeste par l'apparition d'un pigment brun à noir autour des colonies (Marchal, 1973).

2.2.8 Catalase

Les bactéries qui ont un métabolisme oxydatif possèdent un système respiratoire qui comprend, entre autres enzymes, une catalase. Cette enzyme décompose l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



Pour détecter la présence de la catalase, Prenez une lame propre et déposez-y une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes. À l'aide d'une pipette Pasteur, mélangez un peu de la colonie d'actinomycètes avec l'eau oxygénée. La formation de bulles de gaz indique la présence d'une catalase (Camille, 2007).

2.2.9 Tests de sensibilité à divers agents physiques et chimiques

Afin d'évaluer la sensibilité des souches face à certains agents physiques et chimiques, des tests recommandés dans la taxonomie des actinomycètes (Athalye *et al.*, 1985)

2.2.9.1 Croissance à différentes températures

Le milieu de ISP2 (voir annexe 01) est employé pour établir la température optimale de croissance. Les boîtes ensemencées sont incubées à diverses températures, à savoir 5, 20, 30 et 50 °C, pendant une période de 2 semaines.

2.2.9.2 Croissance à différents pH

Ce test est effectué sur le même milieu ISP 2, avec l'évaluation de la croissance à des pH de 4, 7 et 11. Après l'ensemencement, les boîtes sont incubées à 30 °C pendant une semaine.

2.3 Étude moléculaire pour les deux souches les plus performantes AC31 et AC10

2.3.1 Extraction de l'ADN génomique

Le kit d'extraction d'acide nucléique GF-1, fourni par Vivantis Technologies SdnBhd à Selangor, DE, Malaisie, a été utilisé pour extraire l'ADN génomique de la souche examinée, en suivant les instructions du fabricant. L'ADN extrait a ensuite été conservé à 4 °C.

2.3.2 Amplification de l'ADN ribosomique 16S

Les amplifications PCR ont été réalisées en utilisant les amorces suivantes : l'amorce 27F (forward) (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') et l'amorce 1492R (Reverse) (5'-CCGTCAATTCCTTTGAGTTT-3') pour le gène de l'ARNr 16S (31). Un thermocycleur (iCycler Bio-Rad, États-Unis) a été utilisé pour l'amplification, en suivant ce profil de température: dénaturation initiale à 94 °C pendant 12 minutes, dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, hybridation à 55 °C pendant 30 secondes et élongation à 72 °C pendant 1 minute et 40 secondes. Un total de 30 cycles a été appliqué pendant 4h, suivis d'une étape finale d'élongation à 72 °C pendant 7 min.

2.3.3 Electrophorèse sur gel d'agarose

Les produits PCR ont été vérifiés à l'aide d'un gel d'agarose à 1,5 % de Sigma-Aldrich, États-Unis. Un échelle d'ADN de 100 paires de bases (Solis Biodyne, Estonie)

a servi d'indicateur de poids moléculaire. L'électrophorèse a été réalisée à 80 volts pendant 1 heure et 30 minutes. Le gel a ensuite été coloré avec du Midori Green Advance (Nippon Genetics, Japon) et examiné sous une lumière UV.

2.3.4 Séquençage de l'ADN

Les produits PCR isolés et purifiés ont été séquencés par la technique de Sanger (1977) en utilisant le kit BigDye v3.1 d'Applied Biosystems et en utilisant les amorces qui ont servi pour l'amplification PCR. Cette technique de séquençage a permis d'obtenir la séquence nucléotidique complète de l'ADN. Les données de séquençage ont été analysées à l'aide de logiciels appropriés.

2.3.5 Analyse des données et construction de l'arbre phylogénétique

Les séquences générées ont été comparées en utilisant BLASTn sur le site web du NCBI (disponible à l'adresse: <http://blast.ncbi.nlm.gov>). Enfin, un arbre phylogénétique a été construit en utilisant le logiciel d'Analyse de l'Évolution Moléculaire Génétique (MEGA) version 10.2.2 (Kumar *et al.*, 2018) et la méthode de la liaison de voisinage (Saitou et Nei, 1987) avec le modèle de Kimura 2-paramètres (Kimura, 1980).

L'alignement des séquences a été réalisé en utilisant l'algorithme Clustal W (Larkin *et al.*, 2007).

3 Screening de l'activité antimicrobienne des actinobacteries

3.1 Microorganismes-cibles

3.1.1 Origine

Les micro-organismes cibles utilisés dans la présente étude comprennent : *Candida albicans* (ATCC 10231), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 8739) et *Salmonella typhimurium* (ATCC 13331), qui ont été obtenus de l'Institut Pasteur situé à Alger (Algérie). Il s'agissait principalement de micro-organismes pathogènes pour l'homme et résistants aux antibiotiques.

3.1.2 Antibiogramme des souches cibles

Les souches bactériennes cibles ont été testées, selon Guy et Jean (2006), pour leur sensibilité à quatre antibiotiques, illustrés dans le tableau 8, par antibiogramme par diffusion en disque. Les inocula ont été préparés en cultivant les bactéries sur gélose nutritive, puis normalisés pour atteindre une turbidité standard de McFarland de 0,5. Chaque inoculum a été réparti uniformément sur une boîte de Pétri avec de l'agar Müller-Hinton, et des disques

de papier filtre contenant les antibiotiques ont été placés sur l'agar (Bauer *et al.*, 1966; Jorgensen and Turnidge, 2015) normes cliniques, 2009).

Après incubation, les zones d'inhibition ont été mesurées, et les résultats ont été interprétés selon les normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Jehl and Cattoen, 2016).

Tableau 8 : Différents antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme

N°	Antibiotique	Concentration (μg)
1	Gentamicine	10
2	Amoxicilline	30
3	Ampicilline	10
4	Céphalexine	30

3.2 Test d'antagonisme

3.2.1 Technique des stries croisées

La technique des stries croisées est utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes (comme illustré dans la figure 7) sur un milieu solide ISP2 (Shirling and Gottlieb, 1966). Cette méthode implique l'ensemencement d'une souche d'actinobactérie en une seule ligne à la surface du milieu, le long du bord de la boîte de Pétri (diamètre = 9 mm).

Après une incubation à 30°C pendant 10 jours, les souches cibles sont ensemencées perpendiculairement à la souche d'actinobactérie. L'effet de cette dernière se traduit par une inhibition partielle ou totale de la croissance des micro-organismes cibles. Les résultats sont interprétés en mesurant la distance d'inhibition entre le bord de la souche cible et celui de l'actinobactérie, après 24 heures d'incubation à 30 °C pour les bactéries et les levures, et 48 heures pour les champignons filamenteux.

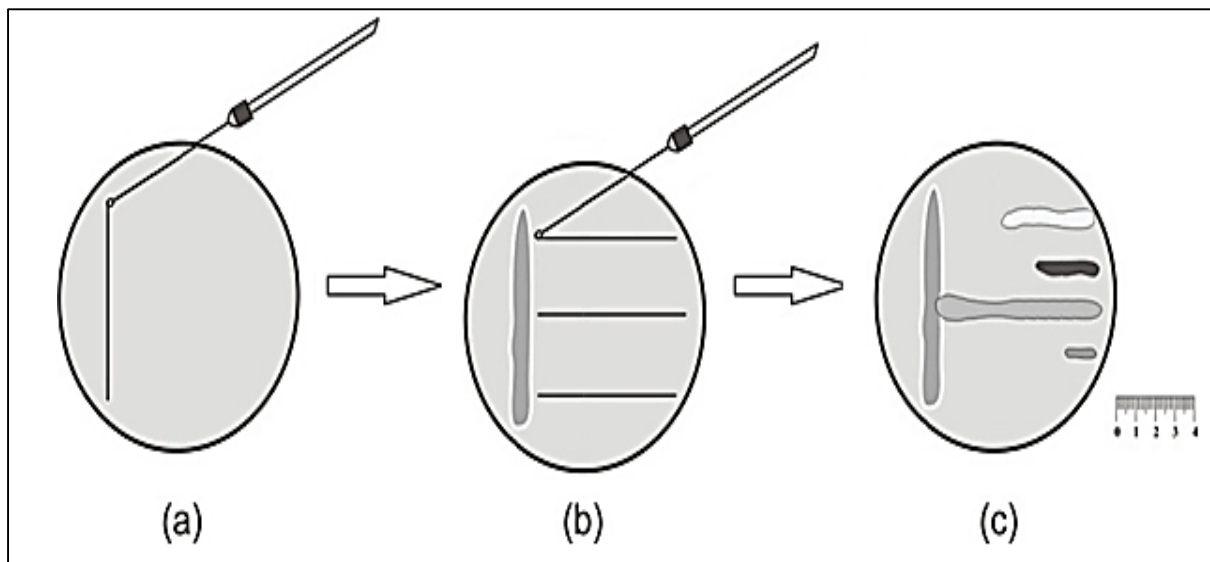


Figure 7 : Illustration schématique de la technique des stries croisées

- a: Ensemencement de l'actinobactérie en un seul trait en bordure de boîte de Pétri.
- b: Ensemencement des souches-cibles perpendiculairement à l'actinobactérie.
- c: Mesure de la distance d'inhibition après la période d'incubation.

3.2.2 Méthode des disques d'agar

La mise en évidence des activités antimicrobiennes des 32 isolats a été réalisée selon la méthode des cylindres d'agar préconisée par Patel et Brown (1969). Le processus implique l'ensemencement de l'actinomycète en stries très serrées à la surface du milieu ISP2, coulé dans une boîte de Pétri. Après une croissance à 30 °C pendant 10 à 12 jours, des disques d'agar de 6 mm de diamètre, contenant l'actinomycète, sont découpés à l'aide d'un emporte-pièce, puis testés contre les germes cibles.

Dans le cas des bactéries et des levures, les disques d'agar sont déposés à la surface du milieu Mueller-Hinton (contenant 7 g/L d'agar) préalablement ensemencé en nappe avec la souche cible. Des disques de milieu non ensemencé par les actinomycètes servent de témoin.

Les boîtes ensemencées sont incubées une nuit à 4 °C pour permettre la diffusion des antibiotiques des disques d'agar tout en empêchant momentanément la croissance des microorganismes cibles. Ensuite, les boîtes sont retirées et incubées à 30 °C. La lecture est réalisée après 18 à 24 heures en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des disques, en excluant le diamètre du disque lui-même.

3.3 Cinétiques de production des antibiotiques en milieu liquide

Les cinétiques de production des antibiotiques, ainsi que l'évolution de la biomasse et du pH, ont été effectuées sur le milieu de culture ISP2 (voir Annexe 2). Cette surveillance visait à déterminer le meilleur jour de production optimal.

3.3.1 Préparation des pré-cultures

Pour obtenir les pré-cultures, les spores ont été prélevées à partir de cultures en boîte de Pétri de la souche d'actinobactérie âgée de 8 jours. Elles ont été ensuite inoculées dans des fioles Erlenmeyer de 250 mL, chacune contenant 50 mL du milieu de culture ISP2. Après d'incubation à 30 °C/48 heures dans un shaker (250 rpm), les pré-cultures ont été utilisées pour ensemercer les milieux de production.

3.3.2 Ensemencement en fioles agitées

Des Erlenmeyer de 500 mL, contenant chacun 100 mL de milieu liquide ISP2, ont été ensemencés avec un inoculum en phase exponentielle de croissance (âgé de 48 heures). Le volume d'inoculation était de 3 mL (soit 3% du volume total). Cette concentration visait à obtenir une biomasse initiale d'environ 0,1 à 0,2 g L⁻¹. Les cultures ont été incubées à 30°C, agitées à 250 rpm dans un shaker pendant 10 jours.

3.3.3 Cinétiques de production

Les cinétiques de production des antibiotiques ont été réalisées pour déterminer le moment optimal de production dans des conditions spécifiques.

L'évolution de la production des antibiotiques, de la croissance et du pH a été surveillée pendant 10 jours avec un pH initial de 7,2. Des échantillons ponctuels ont été prélevés en cours de fermentation toutes les 24 heures, dans des conditions aseptiques, à partir des fioles agitées. Le volume prélevé dépendait du type d'analyses à effectuer, généralement autour de 4 mL.

L'activité antibiotique a été évaluée à l'aide de la méthode disques de diffusion contre *Candida albicans* (ATCC 10231), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 8739) et *Salmonella typhimurium* (ATCC 13331).

Dans cette méthode, des disques de papier stériles de 6 mm de diamètre sont imprégnés de 80 µL du surnageant de culture à tester et placés à la surface du milieu ISP2 contenant uniquement 10 g.L⁻¹ d'agar (pour faciliter la diffusion de l'antibiotique) préalablement ensemencé en masse avec le micro-organisme cible, et coulé dans des boîtes de Pétri. Ces boîtes sont placées à 4 °C pendant 2 heures pour permettre aux substances actives

de diffuser tout en arrêtant temporairement la croissance des micro-organismes, puis elles ont été incubées à 30°C. Les résultats ont été interprétés en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des puits après 18 à 24 heures d'incubation.

L'évolution de la biomasse pendant la fermentation a été estimée selon la méthode de (Pfefferle *et al.*, 2000). Brièvement, 2 mL de culture ont été prélevés toutes les 24 heures, puis centrifugés à 5000 g dans des tubes Eppendorf préalablement tarés. Le surnageant a été récupéré pour mesurer l'évolution du pH. Le culot constituant la biomasse, a été lavé par centrifugation à trois reprises avec de l'eau distillée. Les tubes contenant le culot (sans eau) ont ensuite été incubés à 100 °C pendant 24 heures, puis pesés pour déterminer le poids de la matière sèche en soustrayant la tare du tube vide."

4 Étude des substances antimicrobienne des souches d'actinomycetes

Les souches d'actinomycètes AC10 et AC31, qui ont présentés la plus grande activité antimicrobienne, ont été choisie pour une analyse de ses antibiotiques.

4.1 Extraction des substances antimicrobienne

L'extraction des antibiotiques est effectuée en utilisant divers solvants organiques, après une période prédéterminée déterminée au cours d'expériences antérieures, qui correspond à la production optimale de ces substances. Cette opération est réalisée à la fois à partir des filtrats de culture, pris au jour optimal de production, et à partir de la biomasse mycélienne.

4.1.1 Extraction à partir du filtrat de culture

L'extraction des antibiotiques à partir du filtrat de culture nécessite le choix d'un solvant non miscible avec l'eau, correspondant au mieux à la polarité des antibiotiques à extraire. Ainsi, quatre solvants de polarité croissante, à savoir le n-hexane, le dichlorométhane, le n-butanol et l'acétate d'éthyle, sont testés. Sur le milieu de culture optimal et au jour de production optimal, quatre lots de 50 mL de filtrat de culture sont vigoureusement mélangés, chacun avec un volume équivalent de l'un des quatre solvants mentionnés, dans une ampoule à décanter. Cette étape vise à déterminer quel solvant extrait le plus d'antibiotiques.

Les phases organiques et aqueuses sont récupérées, la phase organique est déshydratée pour éliminer les traces d'eau résiduelles, et les extraits sont concentrés puis conservés à -20 °C.

Enfin, les fractions organiques et aqueuses sont reprises dans 500 μL de méthanol ou d'eau distillée, respectivement, avant d'être soumises à des tests d'antagonisme par la méthode des disques de papier (antibiographie).

4.1.2 Extraction à partir du mycélium

Le mycélium, collecté après filtration et soumis à trois lavages à l'eau distillée par centrifugation (5000 g), est récupéré dans une fiole, puis immergé dans du méthanol (50 mL) et agité magnétiquement pendant 2 heures à température ambiante (Mechlinski, 1978).

Après une filtration avec un papier filtre, l'extrait méthanolique est évaporé à sec à 40 °C à l'aide d'un rotavapeur, puis récupéré dans 1 mL de méthanol. Enfin, l'activité des antibiotiques est évaluée par la méthode des disques de papier.

4.1.3 Antibiographies et choix du meilleur solvant d'extraction

Les extraits dérivés des filtrats de culture et du mycélium sont soumis à des tests d'antibiographie vis-à-vis *S. aureus* (ATCC 6538). Dans cette procédure, la technique des disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre, est employée. Ces disques sont imprégnés de 50 μL d'extrait organique et de la phase aqueuse résiduelle. Ils sont ensuite séchés à 37 °C pendant 45 min, stérilisés sous UV à 254 nm.

Les disques ainsi préparés sont déposés stérilement à la surface du milieu ISP2 (12 g/L d'agar) déjà ensemencé par le germe-test. Les boîtes sont placées à 4 °C pendant 2 heures (selon la méthode des puits) avant d'être incubées à 30 °C.

La lecture des résultats s'effectue après 24 à 36 heures et implique la détermination du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque, tant pour l'extrait organique que pour la phase aqueuse.

4.2 Etudes spectroscopiques des extraits bruts

4.2.1 Spectre UV-visible

Le spectre UV-visible est déterminé sur les extraits bruts, pour noter la présence ou non de polyènes, les composés aromatiques et les systèmes insaturés. Les spectres UV-visible ont été enregistrés sur HPLC (Shimadzu), par un balayage spectral entre les longueurs d'onde 190 et 800 nm. Un blanc (témoin) a été réalisé, en utilisant le méthanol pur. La spectroscopie UV-visible permet, pour de faibles quantités d'antibiotiques, de détecter les composés aromatiques et les systèmes insaturés et conjugués.

4.3 Chromatographie sur couche mince CCM

À l'aide d'une microseringue, les échantillons sont déposés sous forme de spots en bas de la plaque de gel de silice (GF254, épaisseur 0,25 mm, Merck, Allemagne), située à 2 cm du bord inférieur. Ces plaques sont ensuite placées dans des cuves de chromatographie, dont l'atmosphère a été préalablement saturée avec le solvant de migration.

Les systèmes de solvants utilisés sont les suivants : n-butanol-acide acétique-eau BAE (3:1:1) et l'acétate d'éthyle-méthanol AM: (100/15). Après le développement, les plaques sont laissées à sécher sous une hotte toute la nuit. Les chromatogrammes obtenus sont ensuite observés à l'œil nu sous lumière ultraviolette afin de repérer les taches présentant une absorbance à 254 nm ou une fluorescence à 365 nm.

4.3.1 Révélations des groupements chimiques des antibiotiques

Afin d'obtenir des informations sur la nature chimique des antibiotiques, des révélations chimiques sont effectuées sur les plaques de gel de silice. Les révélateurs utilisés (Merck, 1975) sont les suivants :

- La ninhydrine : révélateur des fonctions amines.
- Le chlorure de fer ferrique : révélateur des phénols et des acides hydroxamiques.
- Le formaldéhyde-H₂SO₄ : révélateur des composés aromatiques polycycliques.
- Le réactif de Dragendorff : révélateur des composés hétérocycliques alcaloïdes.

Les colorations peuvent apparaître à température ambiante et/ou après chauffage (100 °C pendant 5 min) dont les procédures spécifiques sont fournies en annexe.

4.4 Flash chromatographie

4.4.1 Préparation des extraits

Dans cette étape expérimentale, 1 g de Celite 545 a été mélangé avec l'extrait brut butanolique des deux souches AC10 et AC31. Une colonne contenant 12 g de résine C18 de 40 µm (Büchi, PN 145152103), avec une capacité de 15 mg à 600 mg d'échantillon, a été utilisée. L'échantillon solubilisé a été introduit dans un ballon rond avec du Celite à l'aide d'une pipette Pasteur, puis agité pour homogénéiser. Il est important de noter que tout le sable a été préalablement mouillé, agité et ensuite placé dans l'évaporateur rotatif sous une pression de 50 mbar, avec un adaptateur long contenant du coton de verre.

Avant de retirer le ballon de l'évaporateur rotatif, le ballon collecteur du solvant distillé a été retiré pour éviter l'expulsion de poussière du ballon contenant l'échantillon. Ensuite, le ballon a été retiré de l'évaporateur rotatif. Il a été souligné l'importance d'ajouter un peu plus de méthanol au ballon contenant l'échantillon solubilisé pour récupérer tout ce qui a

été extrait. Enfin, cette solution a été ajoutée au sable déjà sec et a été séchée à nouveau avec l'évaporateur rotatif.

4.4.2 Préparation de la colonne d'élution

Le mélange homogène sec obtenu a été transféré dans un tube de chargement solide Grace (3 g) (Grace Discovery Sciences, Epping, Victoria, Australie), bien tassé et scellé avec des frittes (supérieur et inférieur). Le chargeur d'échantillons sec a été connecté à l'entrée d'un système de chromatographie flash Reveleris X2 (Grace Discovery Sciences, Deerfield, IL, États-Unis). Une cartouche de Silice Reveleris HP de 20 µm, 24 g (Grace Discovery Sciences, Epping, Victoria, Australie) a été utilisée comme colonne d'élution.

4.4.3 Chromatographie flash

Pour cette chromatographie, deux solvants ont été utilisés pour l'élution des fractions des extraits : l'eau distillée et le méthanol. Le débit et la pression du système de solvant ont été maintenus aux valeurs par défaut détectées par le chromatographe flash. Le temps d'équilibrage a été réglé à 4,8 minutes. Trois longueurs d'onde UV différentes (254 nm, 265 nm, 280 nm) ont été utilisées pour la détection, ainsi que la détection par diffusion de lumière évaporative (ELSD, Evaporative Light Scattering Detector). Le gradient de solvant a été initialement réglé à 100% d'eau pendant au moins 1 min, puis le pourcentage du deuxième solvant (méthanol) a été progressivement augmenté de 0 à 100% sur une période de 27,7 min. Le gradient a été maintenu pour permettre l'élution isocratique lorsque des pics d'absorption étaient observés, augmentant ainsi le temps total d'exécution. Les fractions ont été collectées dans des ballons, puis le solvant a été évaporé à sec sur un évaporateur rotatif.

4.4.4 Antibioographies des fractions collectées

Les fractions récupérées du chromatogramme sont soumises à des tests d'antibiographie contre *B. subtilis* JH642. Dans cette méthode, des disques de papier Whatman de 10 mm de diamètre sont utilisés. Ces disques sont imprégnés de 50 µL d'extrait organique des fractions récupérées, puis séchés à 37°C pendant 45 minutes et stérilisés sous UV à 254 nm. Les disques ainsi préparés sont déposés stérilement à la surface du milieu ISP2 (12 g/L d'agar) déjà ensemencé avec la souche-test. Les boîtes sont ensuite placées à 4 °C pendant 2 heures selon la méthode des puits, avant d'être incubées à 30 °C. La lecture des résultats s'effectue après 24 à 36 heures et consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1 Isolement des actinomycètes des sols sahariens

1.1 Origine et analyse des sols

1.1.1 Analyses du sol

1.1.1.1 Analyses physico-chimiques

Les échantillons de sol ont été prélevés dans diverses régions d'El Atteuf, wilaya de Ghardaïa, dans le sud de l'Algérie (tableau 9).

Les résultats des analyses physico-chimiques (tableau 9) montrent que les quatre échantillons des sols étudiés sont caractérisés par un pH alcalin (8,18-8,37).

Les éléments présents dans ces échantillons de sol sont insolubles dans une proportion allant de 71,1% à 88,1%, la valeur la plus élevée étant enregistrée dans l'échantillon de sol d'Aoulaoual (88,1%).

La teneur en CaCO_3 des sols était variable; la teneur maximale (20%) se trouvait dans le sol de Tammou El Maleh, tandis que le pourcentage le plus bas (5,5%) était dans l'échantillon prélevé d'Aoulaoual.

Le pourcentage de NaCl dans l'échantillon de la vallée de Mzab représente la valeur maximale parmi les 4 échantillons de sol, tandis que les échantillons de Tammou El Malehe et d'Aoulaoual contiennent les pourcentages les plus bas de 0,012% et 0,019%, respectivement, de même pour l'atome de chlore Cl^- : Tammou El Malehe (07%), d'Aoulaoual (0,011%), El Jaoua (0,163%) et vallée de Mzab (0,795%).

La richesse de l'échantillon de la vallée de Mzab en différents éléments de sulfate (SO_4^{2-} , SO_3^{2-} et $\text{CaSO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) est remarquable par rapport aux restes des échantillons, alors que l'échantillon de Tammou El Malehe contient la faible teneur en sulfates.

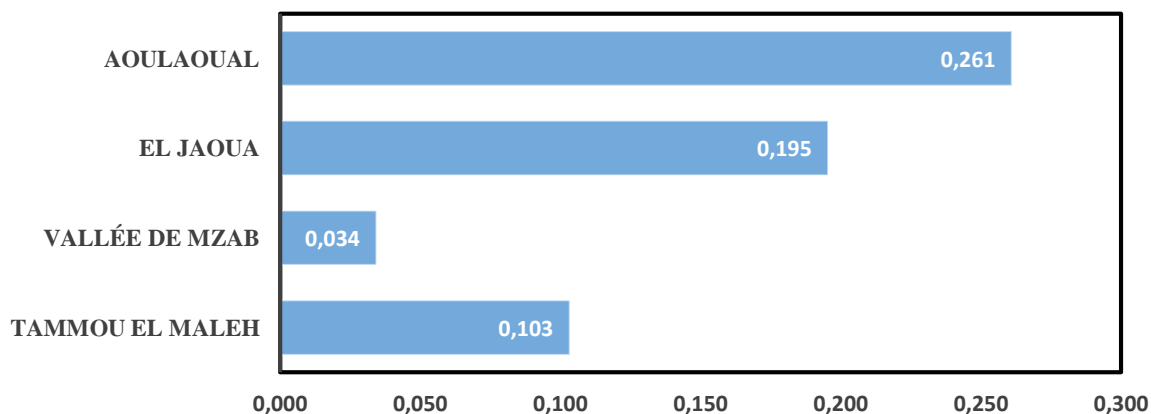


Figure 8 : Détermination de la teneur en MO.

Tableau 9 :Analyses physicochimique des échantillons de sol.

Caracteristiques chimiques	Composants	Pourcentage (%)			
		Tammou El Maleh	Vallée de Mzab	El Jaoua	Aoulaoual
pH	/	8,25	8,20	8,18	8,37
Insoluble	% Insoluble	71,1	73,1	77,8	88,1
Sulfate	% SO ₃ ⁻²	0,03	2,98	0,30	0,06
	% SO ₄ ⁻²	0,04	3,58	0,37	0,08
	% CaSO ₃ .2H ₂ O	0,07	6,41	0,66	0,14
Carbonates	% CaCO ₃	20	11	12	5,5
Chlorides	% Cl ⁻	07	0,795	0,163	0,011
	% NaCl	0,012	1,305	0,276	0,019
Matière organique	MO %	0,103	0,034	0,195	0,261
Conductivité électrique (CE)	dS/m	3,4	38,4	4,8	5,2

La méthode de perte au feu est une technique utilisée pour estimer la teneur en matière organique dans les échantillons de sol. Elle repose sur la combustion contrôlée de l'échantillon à haute température, ce qui permet de brûler la matière organique tandis que la matière minérale reste inchangée. La différence de poids avant et après la combustion est utilisée pour calculer la teneur en matière organique.

Les résultats de la teneur en matière organique des sols dans divers biotopes révèlent des variations significatives. Dans le sol montagneux de Tammou El Maleh, la teneur en matière organique de 0,10% indique une présence modérée, suggérant une activité biologique suffisante pour maintenir une certaine fertilité. En revanche, dans la vallée de Mzab, la teneur en matière organique est considérablement plus faible, mesurée à seulement 03%, ce qui souligne un déficit en matière organique potentiellement lié à des conditions environnementales particulières ou à des pratiques agricoles défavorables.

Les sols des oasis, comme El Jaoua et Aoulaoual, présentent des teneurs les plus élevés en matière organique 0,19% et 0,26% respectivement parmi les quatre échantillons de sol (figure 8), mettant en évidence les effets bénéfiques de l'irrigation et de la végétation sur la fertilité du sol. Ces résultats soulignent l'importance des conditions environnementales locales

sur la qualité des sols et la nécessité de pratiques agricoles durables pour maintenir la fertilité des terres dans ces régions diverses.

Les résultats de conductivité électrique (CE) dans les échantillons de sol révèlent des niveaux variables de salinité, offrant des insights précieux sur la qualité du sol dans différentes régions.

Le sol de Tammou El Maleh présente une CE de 3,4 dS/m, suggérant une faible concentration de sels dissous dans le sol et une salinité relativement basse. Cela indique un environnement potentiellement propice à la croissance des plantes sans les défis associés à une salinité excessive.

En revanche, la Vallée de Mzab affiche une CE significativement plus élevée de 38,4 dS/m, pointant vers une concentration élevée de sels dissous et une salinité sévère dans le sol. Cette condition peut présenter des défis majeurs pour la santé du sol et la productivité agricole, nécessitant des mesures d'atténuation et de gestion.

El Jaoua et Aoulaoual montrent des valeurs intermédiaires de CE, avec respectivement 4,8 dS/m et 5,2 dS/m. Ces résultats suggèrent une concentration modérée de sels dissous, indiquant une salinité légèrement élevée mais moins sévère que celle observée dans la Vallée de Mzab.

1.1.1.2 Analyse granulométriques

Tableau 10 : Analyses granulométrique de l'échantillon de sol de Tammou El Maleh

Poids de l'échantillon (g)	Tami (mm)	Poids refus cumulés (g)	Poids refus cumulés (%)	Complément à 100	Tamisats (%)
1000	80	/	/	/	/
	50	0	0	100	100%
	31,5	97,38	9,73	90,27	90%
	20	136,96	13,69	86,31	86%
	10	211,81	21,18	78,82	79%
	5	275,69	27,56	72,44	72%
	2	306,2	30,62	69,38	69%
	1	314,63	31,46	68,54	69%
	0,4	325,77	32,57	67,43	67%
	0,2	361,82	36,18	63,82	64%
	0,1	646,25	64,62	35,38	35%
0,08	659,5	65,95	34,05	34%	

L'échantillon de sol N°1 de Tammou El Maleh est principalement constitué de sable, avec environ 70% de sable fin et 20% de sable grossier (tableau 10). Les particules fines, composées de seulement 10% de limon et d'argile, sont peu abondantes. La courbe granulométrique présente une concavité vers le haut, confirmant une distribution continue des particules (figure1 Annexe 3).

Cette caractéristique atteste que le sol est bien classé, sans discontinuité notable dans sa composition. Le diamètre moyen des particules est d'environ 0,2 mm, correspondant à la classe des sables fins. L'analyse granulométrique indique que le sol est de type sable limoneux, caractérisé par une texture sableuse et une capacité de rétention d'eau relativement faible. En général, ces sols sont moins fertiles que les limons et les argiles.

Tableau 11 Analyses granulométrique de l'échantillon de sol de Oued Mzab

Poids de l'échantillon (g)	Tami (mm)	Poids refus cumulés (g)	Poids refus cumulés (%)	Complément à 100	Tamisats (%)
1000	80	/	/	/	/
	50	0	/	100	100%
	31,5	83,22	8,322	91,68	92%
	20	173,21	17,321	82,68	83%
	10	313,38	31,338	68,67	69%
	5	368,8	36,88	63,12	63%
	2	409,36	40,936	59,07	59%
	1	431,74	43,174	56,83	57%
	0,4	530,73	53,073	46,93	47%
	0,2	627,12	62,712	37,29	37%
	0,1	822,68	82,268	17,74	18%
	0,08	845,58	84,558	15,45	15%

L'échantillon de sol prélevé à Oued Mzab est majoritairement composé de sable, avec environ 55% de sable fin et 35% de sable grossier (tableau 11). Une quantité significative de fines particules, soit environ 10% de limon et d'argile, est observée. La courbe granulométrique présente une distribution continue des particules (figure 2 Annexe 3). Cela confirme que le sol est bien classé sans discontinuité notable dans sa composition. Le diamètre moyen des particules est d'environ 0,3 mm, correspondant à la classe de taille des sables fins. Selon l'analyse granulométrique, le sol est qualifié de sable limoneux.

Tableau 12 Analyses granulométrique de l'échantillon de sol d'El Jaoua

Poids de l'échantillon (g)	Tami (mm)	Poids refus cumulés (g)	Poids refus cumulés (%)	Complément à 100	Tamisats (%)
500	80	/	/	/	/
	50	/	/	/	/
	31,5	/	/	/	/
	20	/	/	/	/
	10	0	0	100	100%
	5	3,95	0,79	99,21	99%
	2	7,01	1,4	98,59	99%
	1	9,35	1,87	98,13	98%
	0,4	19,85	3,97	96,03	96%
	0,2	75,05	15,01	84,99	85%
	0,1	271,52	54,3	45,69	46%
	0,08	294,55	58,91	41,09	41%

Le sol d'El Jaoua est majoritairement constitué de sable, avec environ 45% de sable fin et 40% de sable grossier (tableau 12). Une quantité importante de fines particules, soit environ 15% de limon et d'argile, est présente. La courbe granulométrique indiquant une distribution continue des particules et le sol ne présente pas de discontinuité dans sa composition (figure 3 Annexe 3). Le diamètre moyen des particules est d'environ 0,35 mm, correspondant à la classe de taille des sables fins. L'analyse granulométrique souligne que ce sol est un sable limoneux.

Tableau 13 : Analyses granulométrique de l'échantillon de sol d'Aoulaoual

Poids de l'échantillon (g)	Tami (mm)	Poids refus cumulés (g)	Poids refus cumulés (%)	Complément à 100	Tamisats (%)
500	80	/	/	/	/
	50	/	/	/	/
	31,5	0	0	100	100%
	20	50,44	10,08	89,91	90%
	10	80,73	16,14	83,85	84%
	5	96,19	19,23	80,76	81%
	2	109,89	21,97	78,02	78%
	1	114,51	22,9	77,09	77%
	0,4	135,87	27,17	72,82	73%
	0,2	233,15	46,63	53,37	53%
	0,1	423	84,6	15,4	15%
	0,08	439,62	87,92	12,07	12%

Le sol de la région d'Aoulaoual est principalement composé de sable, avec environ 65% de sable fin et 30% de sable grossier. La présence de fines particules est limitée, ne représentant que 5% de limon et d'argile (tableau 13). La courbe granulométrique présente une concavité vers le haut, indiquant une distribution continue des particules. (figure 4 Annexe 3)

Cette caractéristique suggère que le sol est bien classé et ne présente pas de discontinuité dans sa composition. Le diamètre moyen des particules est d'environ 0,25 mm, correspondant à la classe de taille des sables fins. Cependant, l'analyse granulométrique classe le sol comme un sable grossier. Les sables grossiers se distinguent par leur texture sableuse et leur capacité de rétention d'eau très faible. En général, ils sont moins fertiles que les limons et les argiles.

1.2 Origine et isolement des souches d'actinobactéries

1.2.1 Isolement des actinobactéries

1.2.1.1 Isolement des actinobactéries

1.2.1.2 Reconnaissance et dénombrement des actinobactéries

Les colonies d'actinomycètes se développent après 2 à 3 semaines d'incubation à 30 °C, sur le milieu d'isolement chitine-vitamines agar (Ch-V) enrichi d'un antifongique et d'antibiotiques pour inhiber les populations microbiennes indésirables, ce milieu s'est avéré très propice à l'isolement et à la sélection des actinobactéries. Les colonies identifiées à l'œil nu et sous microscope optique, présentant les caractéristiques morphologiques typiques des actinobactéries mycéliennes, telles que la présence fréquente de mycélium aérien et de mycélium de substrat caractérisés par des filaments fins et ramifiés, sont considérées comme des actinomycètes (figure 9).

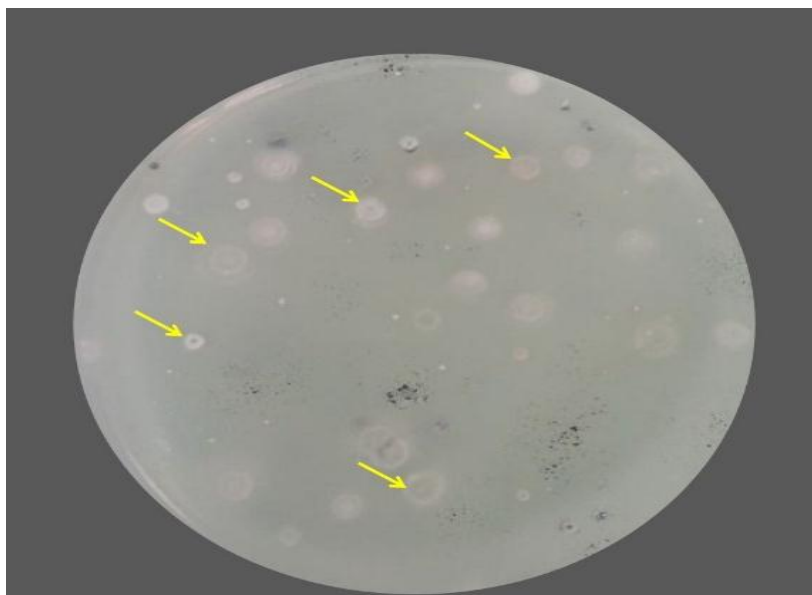


Figure 9 : Colonies d'actinomycètes isolées sur milieu Ch-VB à partir des échantillons de sol de Tammou El Maleh (Les flèches indiquent quelques colonies d'actinomycètes après deux semaines d'incubation à 30 °C).

Les résultats de la densité en unités formant des colonies par gramme de sol sec (UFC/gss) des actinomycètes isolés à partir de quatre sites dans la région d'El Atteuf sont présentés dans le Tableau 14. Les densités d'actinomycètes varient considérablement entre les sites échantillonnés. Cette variation est attribuable à divers facteurs environnementaux locaux tels que la composition du sol, le pH, la salinité, la présence de matière organique, ainsi que d'autres variables géographiques et climatiques spécifiques à chaque site. Cette diversité de densités d'actinomycètes souligne l'importance des caractéristiques géographiques et environnementales locales dans leur distribution et leur abondance.

La densité la plus élevée est observée à Aoulaoual, avec près de 93×10^2 UFC/gss, suivie par l'échantillon de la Vallée de Mzab avec environ $56,44 \times 10^2$ UFC/gss. Tammou El Maleh affiche une densité intermédiaire d'environ 40×10^2 UFC/gss, tandis que le sol d'El Jaoua présente la densité la plus basse, d'environ $29,33 \times 10^2$ UFC/gss.

Tableau 14 : Dénombrement des actinomycètes dans les échantillons de sols

Sites	Nombre des souches (UFC/gss)	Codes	Nombre des souches sélectionnés
Tammou El Maleh	$40,22 \times 10^2$ UFC/gss	AC1-AC3	03
Vallée de Mzab	$56,44 \times 10^2$ UFC/gss	AC4-AC9	06
El Jaoua	$29,33 \times 10^2$ UFC/gss	AC10-AC17	08
Aoulaoual	$92,89 \times 10^2$ UFC/gss	AC18-AC32	15

1.3 Discussion

Dans notre étude, trois types de sol sahariens d'un milieu aride ont été sélectionnés. Le premier échantillon de sol de Tammou El Maleh a été prélevé dans une région montagneuse, le deuxième échantillon a été prélevé au sein de la vallée de Mzab. Le troisième et quatrième échantillon sont issus respectivement d'El Djaoua et d'Aoulaoual, qui sont des régions d'oasis.

Le choix des milieux arides repose sur les résultats de plusieurs études mettant en évidence l'abondance et la diversité des actinobactéries dans les sols du Sahara, qui peuvent parfois dépasser en densité les autres groupes de microorganismes présents (Meklat *et al.*, 2012; Sabaou *et al.*, 1998, 1992; Zitouni *et al.*, 2005)

Selon les données bibliographiques, aucune recherche n'a été menée sur l'isolement et l'étude des actinobactéries dans les sols de la région d'El Atteuf. Par conséquent, cette étude constitue la première tentative d'isoler ces actinobactéries et d'envisager leur valorisation éventuelle.

Des recherches menées dans les sols sahariens ont également abouti à l'identification de nouvelles espèces et de nouveaux antibiotiques (Boubetra *et al.*, 2013; Boudjella *et al.*, 2010; Merrouche *et al.*, 2010)

La densité la plus élevée en nombre d'unité formant colonies par gram de sol sec (UFC/gss) des actinobactéries ($92,0 \times 10^2$ UFC/gss) a été obtenues à Aoulaoual, une densité plus élevée à celles obtenue par Saker *et al.*, 2014 ($50,0 \times 10^2$ UFC/gss) et celle obtenue par Meklat (2012a) $18,6 \times 10^2$ UFC/gss. La deuxième densité est enregistré dans le sol de la Vallée de Mzab ($56,44 \times 10^2$ UFC/gss) suivi de Tammou El Maleh ($40,22 \times 10^2$ UFC/gss) et en fin El Jaoua ($29,33 \times 10^2$ UFC/gss). Une diversité est observée dans la répartition des actinomycètes dans chaque échantillon de sol. Cette observation peut être attribuée, selon notre analyse, aux variations des facteurs physico-chimiques entre les quatre types de sol, lesquelles exercent une influence sur la composition et la typologie des actinomycètes présents dans le sol (Hop *et al.*, 2012 ; Adegboye & Babalola, 2012)

D'après (Lee and Hwang, 2002), le taux de matière organique dans un sol est généralement classé en trois catégories : faible (4.0-7.0 %), modéré (7.1-9.0 %) et élevé (9.1-11.0 %). Nos échantillons présentent des niveaux extrêmement bas de matière organique, variant de 0.03 à 0.26 %. Cette constatation suggère que la matière organique dans ces échantillons est présente uniquement sous forme de traces, mettant en évidence la pauvreté de ces sols en matière organique, typique des régions arides. Le sol d'Aoulaoual présente la teneur la plus élevée en matière organique, avec un pH moyennement alcalin de 8,4. Ces deux

facteurs sont, selon Lee et Hwang (2002), parmi les déterminants écologiques les plus importants qui influent sur la diversité des actinomycètes dans le sol.

Le pH du sol et la disponibilité des éléments nutritifs constituent les principaux facteurs influençant la diversité microbienne dans les différentes strates du sol, comme l'ont souligné Zhang *et al.* (2021). Selon la classification d'Ollier & Poirée, (1983), les quatre sols étudiés affichent un pH moyennement alcalin, se situant entre 8,2 et 8,4. Ces niveaux de pH résultent de l'accumulation significative de calcaire (CaCO_3) dans les quatre sols étudiés. De plus, l'aridité du climat est un autre facteur contribuant à l'augmentation du pH. Cette caractéristique est importante car elle favorise la croissance des actinomycètes alcalophiles ou alcalotolérants, capables de se développer dans des conditions de pH variant de 6 à 12, comme l'ont démontré les travaux de Jiang *et al.* (2006). Ainsi, le pH du sol, conforme à la classification d'Ollier et Poiree, crée un environnement propice au développement de ces microorganismes spécifiques, influençant ainsi la diversité microbienne dans les différentes couches du sol.

D'autres facteurs à considérer sont le type de sol, sa température, la végétation, l'emplacement géographique, etc., comme mentionné par Adegboye *et al.* (2012). Le sol d'Aoulaoual, caractérisé par sa texture de sable grossier, présente un niveau élevé d'actinomycètes, ce qui semble être une conséquence de sa composition spécifique. Les trois autres sols sont majoritairement de type limoneux et affichent des concentrations moindres d'actinomycètes en comparaison.

Dans cette étude, nous avons considéré cinq classes de salinité pour le sol (Durand 1983) selon la conductivité électrique (CE) : C1, non salé (CE = 0 – 0,6 dS/m) ; C2, légèrement salé (CE = 0,6 – 1 dS/m) ; C3, modérément salé (CE = 1 – 2 dS/m) ; C4, très salé (CE = 2 – 4 dS/m) ; C5, extrêmement salé (CE > 4 dS/m). La conductivité électrique la plus élevée du sol est celle la vallée de Mzab est de l'ordre de 38,4 dS/m suivi de sol d'Aoulaoual 5,2 dS/m et d'El Jaoua 4,8 dS/m, Cela nous a conduits de les classer comme sols extrêmement salé selon Durand (1983). Et le sol de Tammou El Maleh comme sol très salé avec une conductivité de 3,4 dS/m. La forte teneur en sels s'explique par les fortes évaporations dues aux températures élevées de la région, ainsi qu'aux eaux d'irrigation qui sont fortement chargées en sels pouvant atteindre des valeurs de conductivité électrique trop élevées, et d'autre part aux faibles précipitations qui caractérisent le climat des régions arides (karabi, 2017).

L'isolement et le dénombrement des actinobactéries ont été réalisés sur le milieu Ch-V, constitué de sels minéraux et de chitine comme seule source de carbone et d'azote. Ce milieu est préconisé par plusieurs auteurs pour l'isolement des actinobactéries mycéliennes, en excluant les bactéries non mycéliennes. Ce milieu renferme également des vitamines du groupe B en tant que facteurs de croissance, ce qui favorise la croissance des genres relativement rares, souvent auxotrophes pour ces vitamines (Boudjella, 1994; Hayakawa and Nonomura, 1984; Pathom-Aree *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2010).

L'échantillonnage effectué sur les quatre sols provenant des régions d'El Atteuf nous a permis de sélectionner 32 souches présentant les caractéristiques culturelles et morphologiques des actinobactéries. Parmi celles-ci, 3 isolats ont été sélectionnés du sol de Tammou El Maleh, 6 isolats du sol de la Vallée de Mzab, 8 isolats du sol d'El Jaoua, et 15 isolats d'Aoulaoual.

1.4 Conclusion

Notre étude a examiné l'isolement et le dénombrement des actinobactéries dans les sols de différentes régions d'El Atteuf, notamment Tammou El Maleh, la Vallée de Mzab, El Jaoua et Aoulaoual, caractérisées par des environnements variés, allant de montagneux à des oasis et une vallée. Nous avons observé une densité variable d'actinobactéries dans chaque échantillon, avec une densité plus élevée dans le sol d'Aoulaoual, probablement influencée par les différences physico-chimiques telles que le pH, la teneur en matière organique, la salinité et la granulométrie des sols. De plus, nos résultats ont révélé des niveaux très bas de matière organique, typiques des régions arides. En utilisant un milieu sélectif, nous avons pu isoler 32 souches d'actinobactéries pour des analyses ultérieures, offrant ainsi une base pour des recherches futures sur la diversité et le potentiel biotechnologique des actinobactéries dans les sols sahariens.

2 Identification polyphasique des actinomycètes

2.1 Caractérisation morphologique

2.1.1 Etude macromorphologiques

Les caractéristiques morphologiques des isolats d'actinomycètes sur le milieu ISP2 ont été présentées dans le Tableau 15. L'examen des mycéliums aériens et de substrat a montré que leur couleur variait d'un isolat à l'autre. La couleur du mycélium aérien pour la plupart des isolats était blanche (15 isolats représentant 46,88%) ou gris clair (9 isolats représentant 28,13%).

Pour les 8 isolats restants (25,00%), on pouvait observer des couleurs variées, notamment le rose, le brun jaunâtre clair, le beige, le bleu clair et le gris foncé. Les couleurs du mycélium de substrat étaient d'un jaune-orange profond pour 12 isolats (37,50%) et d'un jaune-orange clair pour 11 isolats (34,38%) de l'ensemble des actinomycètes isolés. Pour les isolats restants, la couleur variait entre le jaune, le brun le noir et le vert foncé.

Quinze isolats (46,88%) ont montré une très bonne croissance et 8 isolats (25,00%) ont montré une croissance excellente sur le milieu ISP2. De plus, 9 isolats (28,13%) ont révélé une bonne croissance. Les surfaces de colonies observées pour 30 isolats (93,75%) étaient rugueuses et 2 isolats (6,25%) étaient lisses. Les textures des colonies formées étaient filamenteuses pour 15 isolats (46,88%), poudreuses pour 13 isolats (40,63%) et rhizoïdes pour 4 isolats (12,50%) la figure 10 montre les trois types de texture des colonies d'actinomycètes isolés.

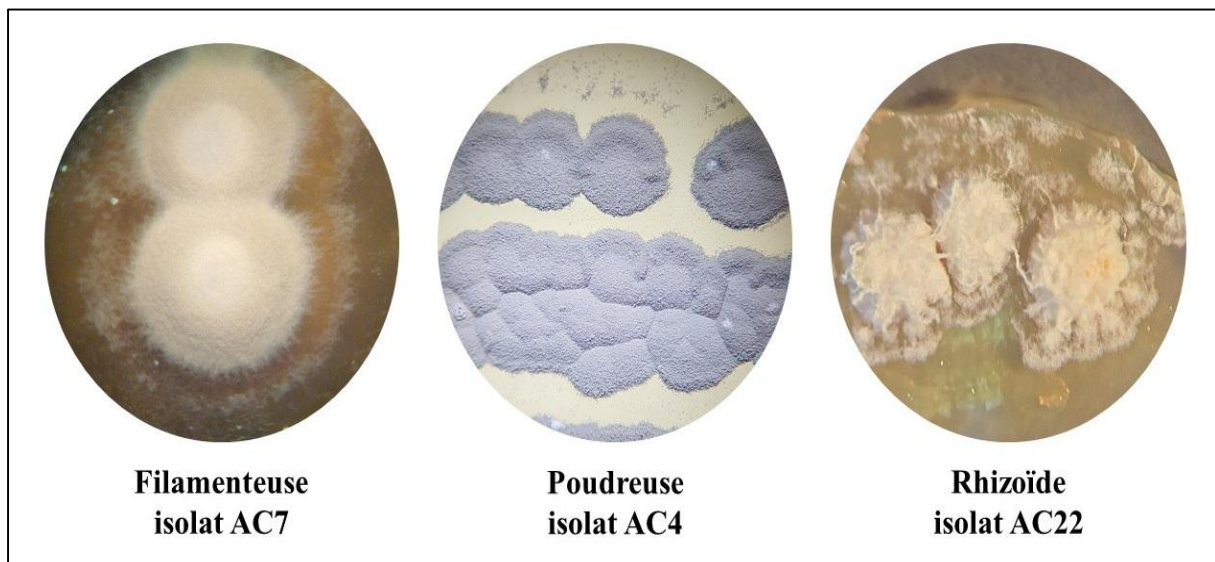


Figure 10 : Trois types de textures des colonies des isolats d'actinomycètes observé à la loupe binoculaire.

Tableau 15 : Caractéristiques morphologiques des isolats d'actinomycètes.

Isolats	CS	Croissance	Texture	AM	SM	Pigm	TSC	Gram
AC1	Rugueux	Très bon	Filamenteux	Blanc	Noir	-	nd	+
AC2	Rugueux	Très bon	Rhizoïdes	Blanc	Jaune orange profond	-	nd	+
AC3	Rugueux	Excellent	Poudreux	Blanc	Jaune orange clair	+	S	+
AC4	Rugueux	Très bon	Poudreux	Gris clair	Jaune orange profond	-	S	+
AC5	Rugueux	Très bon	Filamenteux	Gris clair	Brun	-	S	+
AC6	Rugueux	Très bon	Filamenteux	Blanc	Jaune orange profond	-	RA	+
AC7	Rugueux	Très bon	Filamenteux	Blanc	Jaune orange clair	+	S	+
AC8	Rugueux	Très bon	Poudreux	Blanc	Jaune orange clair	+	RA	+
AC9	Rugueux	Excellent	Poudreux	Gris clair	Jaune orange profond	-	S	+
AC10	Rugueux	Excellent	Poudreux	Rose	Jaune orange clair	-	RF	+
AC11	Rugueux	Bon	Poudreux	Rose	Jaune	-	RF	+
AC12	Rugueux	Très bon	Poudreux	Gris clair	Jaune orange profond	-	RF	+
AC13	Rugueux	Bon	Rhizoïdes	Gris clair	Jaune orange profond	+	RA	+
AC14	Rugueux	Excellent	Filamenteux	Brun jaunâtre clair	Brun	-	S	+
AC15	Rugueux	Excellent	Poudreux	Gris clair	Vert profond	-	S	+
AC16	Rugueux	Très bon	Filamenteux	Blanc	Jaune orange clair	-	RA	+
AC17	Rugueux	Très bon	Poudreux	Gris foncé	Brun	-	S	+
AC18	Rugueux	Bon	Poudreux	Blanc	Jaune	-	nd	+
AC19	Lisse	Excellent	Poudreux	Blanc	Jaune orange profond	+	nd	+
AC20	Rugueux	Très bon	Poudreux	Gris clair	Jaune orange profond	-	nd	+
AC21	Rugueux	Bon	Filamenteux	Blanc	Jaune orange clair	-	nd	+
AC22	Rugueux	Excellent	Rhizoïdes	Gris clair	Jaune orange profond	-	RA	+
AC23	Rugueux	Bon	Poudreux	Blanc	Jaune orange clair	-	nd	+
AC24	Rugueux	Très bon	Filamenteux	Blanc	Jaune	-	RF	+

Résultats et discussion

AC25	Lisse	Bon	Filamenteux	Blanc	Jaune orange clair	-	S	+
AC26	Rugueux	Bon	Filamenteux	Blanc	Jaune orange clair	-	nd	+
AC27	Rugueux	Bon	Filamenteux	Brun clair	Jaune orange clair	-	nd	+
AC28	Rugueux	Très bon	Rhizoïdes	Gris clair	Jaune orange profond	-	RA	+
AC29	Rugueux	Très bon	Filamenteux	Blanchâtre	Jaune orange profond	+	nd	+
AC30	Rugueux	Très bon	Filamenteux	Brun jaunâtre clair	Jaune orange clair	-	S	+
AC31	Rugueux	Excellent	Filamenteux	Blanc	Jaune	+	RF	+
AC32	Rugueux	Bon	Filamenteux	Brun clair	Jaune orange profond	-	nd	+

CS: Surface de la colonie; AM: Mycélium aérien; SM: Mycélium du substrat; Pigm: Pigmentation sur milieu ISP7; TSC: Type de chaînes de spores; *S* : *Spira* ; *RF*: *Rectus Flexibilis* ; *RA*: *Retinaculum Apertum* ; - : Réaction négative; + : Réaction positive; nd : non déterminé.

2.1.2 Etude micromorphologiques et types de chaînes de spores

L'observation microscopique a révélé que tous les isolats formaient des structures filamenteuses et appartenaient à des bactéries Gram-positives (Tableau 15). Les mycéliums aériens de 21 isolats (65,63%) (présumés appartenir au genre *Streptomyces*) ont produit différents types de chaînes de spores, notamment : 10 isolats (47,62%) ont une forme *S* (*Spira*), 5 isolats (23,81%) ont révélé une chaîne de spores de type *RF* (*Rectus Flexibilis*) et 6 isolats (28,57%) avec type *RA* (*Retinaculum Apertum*) les trois types de spores sont illustrés dans la Figure 11.

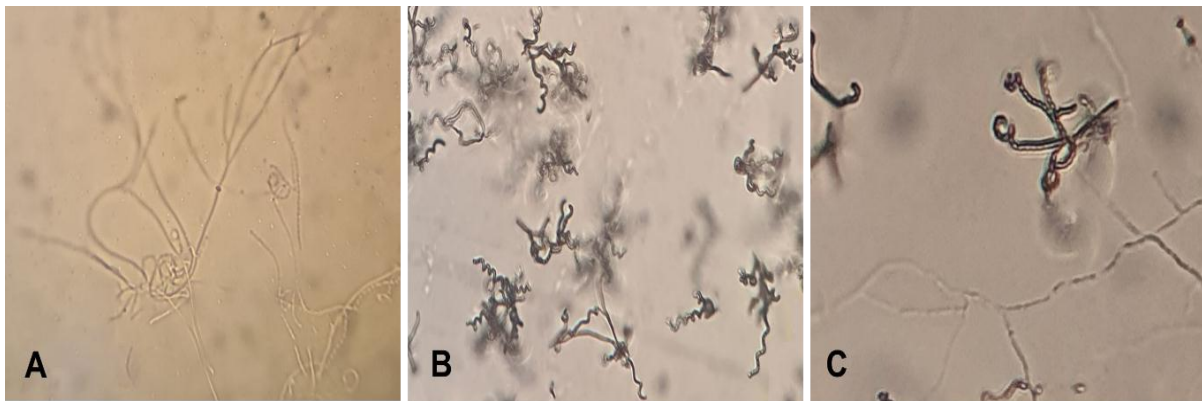


Figure 11 : Morphologie des chaînes de spores de *Streptomyces* (Microscopie optique, 1000 x).

A : Type *Rectus Flexibilis* ; B : Type *Spira* ; C : Type *Retinaculum Apertum*.

L'identification des 32 isolats au total provenant des sites d'échantillonnage du sol a révélé 5 genres d'actinomycètes : 21 *Streptomyces* (65,63%), 3 *Nocardia* (9,38%), 3 *Streptosporangium* (9,38%), 3 *Nocardiopsis* (9,38%) et 2 *Actinomadura* (6,25%) (Tableau 16).

La caractérisation morphologique et l'observation microscopique des 5 principaux genres d'actinomycètes sont résumées dans la **Figure 12**

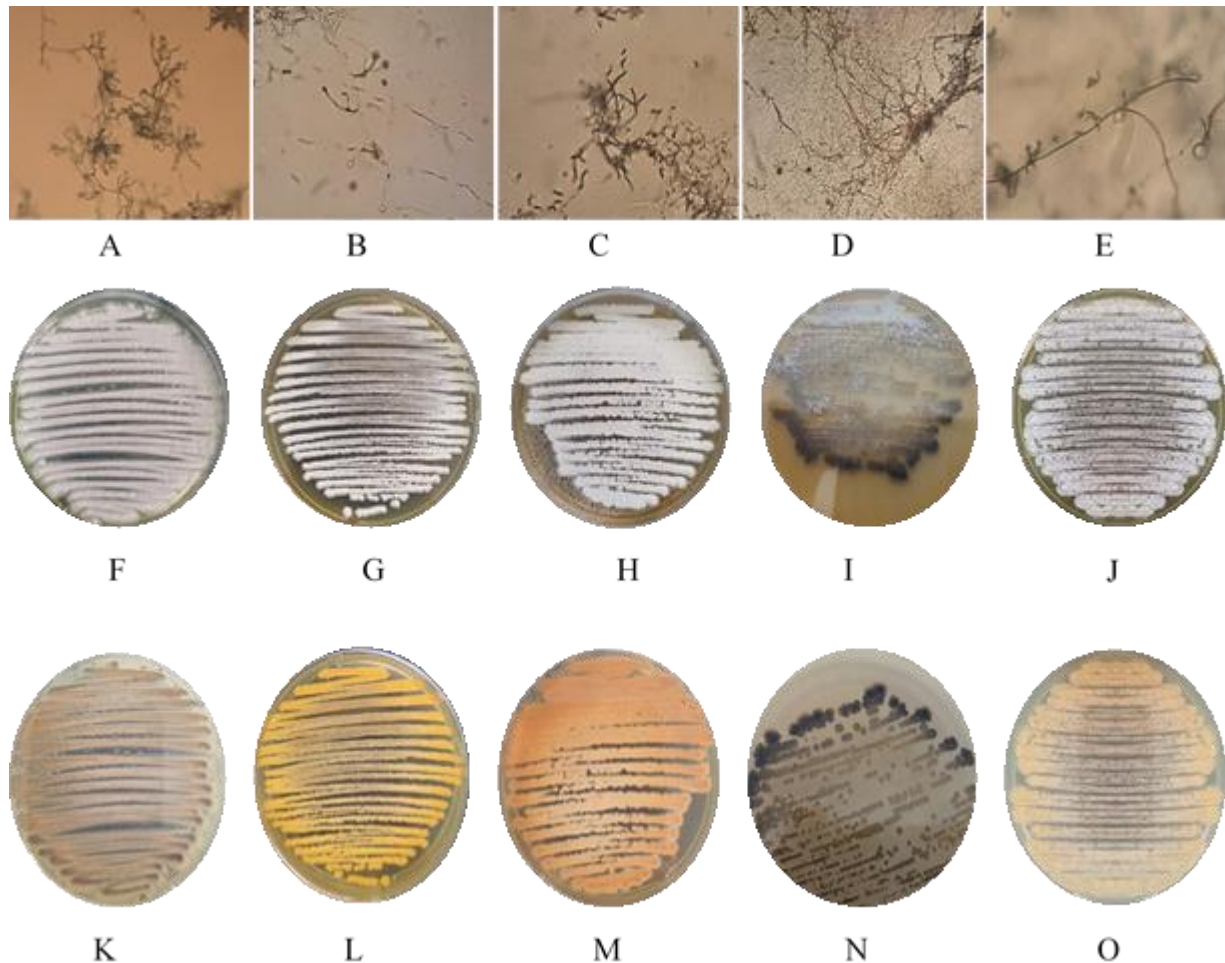


Figure 12 : Caractérisation morphologique et observation microscopique des genres d'actinomycètes

(Les images A-E présentent une observation microscopique des isolats d'actinomycètes ; les images F-J montrent la morphologie du mycélium aérien sur milieu ISP2 ; les images K-O présentent la morphologie du mycélium de substrat sur milieu ISP2. De gauche à droite : l'isolat *Streptomyces* AC14, l'isolat *Streptosporangium* AC2, l'isolat *Nocardia* AC19, l'isolat *Nocardiosis* AC1, l'isolat *Actinomadura* AC29, respectivement.

2.2 Analyse physiologique et biochimique

L'identification biochimique et physiologique des 32 isolats d'actinomycètes a révélé une grande diversité métabolique (Tableau 11). Tout d'abord, la majorité des isolats (96,88%) étaient positifs pour la catalase. La réaction d'hydrolyse de l'amidon a donné un résultat positif pour 28 isolats (87,50%), car ils ont produit une zone opaque autour de la croissance, et un résultat négatif pour seulement 4 isolats (12,50%).

Sur un total de 32 isolats, 26 isolats (81,25%) se sont révélés positifs pour l'hydrolyse de la caséine. Deuxièmement, 30 isolats (93,75%) ont pu utiliser les trois acides aminés testés

Résultats et discussion

(L-alanine, asparagine et histidine). Troisièmement, ils ont également utilisé divers sucres testés : 27 isolats (84,38%) ont pu assimiler le D-glucose, 26 isolats (81,25%) ont utilisé le D-fructose, le D-mannitol et le maltose comme sources de carbone uniques. Quatrièmement, seuls 7 isolats (21,88%) ont produit un pigment de mélanine sur le milieu ISP7, dont 5 étaient présumés appartenir au genre *Streptomyces*.

La croissance à différentes températures révèle que la plupart des isolats sont mésophiles peuvent se développer à des températures de 20°C et 30°C, mais pas à 5°C et 50°C, à l'exception de 13 isolats (40,63%) (AC1, AC3, AC4, AC8, AC10, AC11, AC13, AC19, AC20, AC21, AC23, AC24, AC26) qui n'ont pas poussés à 20°C.

Tous les isolats d'actinomycètes sont neutrophiles à alcaliphiles. Cela signifie qu'ils se développent de manière optimale à des pH neutres (7) et modérément alcalins (11). Cependant, ils ne se développent pas à pH acide (4), à l'exception de l'isolat AC25.

2.3 Distribution des genres d'isolats d'actinomycètes

La figure 13 représente une analyse des genres microbiens isolés à partir d'échantillons provenant de quatre sols différents, révélant une diversité notable de genres d'actinobactéries. Le genre *Streptomyces* domine avec 65,63% de tous les isolats, suivi de près par *Streptosporangium*, *Nocardia* et *Nocardio*, chacun contribuant à environ 9,38% des isolats. Le genre *Actinomadura* représente quant à lui 6,25% des isolats. Ces genres sont fréquemment retrouvés dans le sol et d'autres environnements naturels.

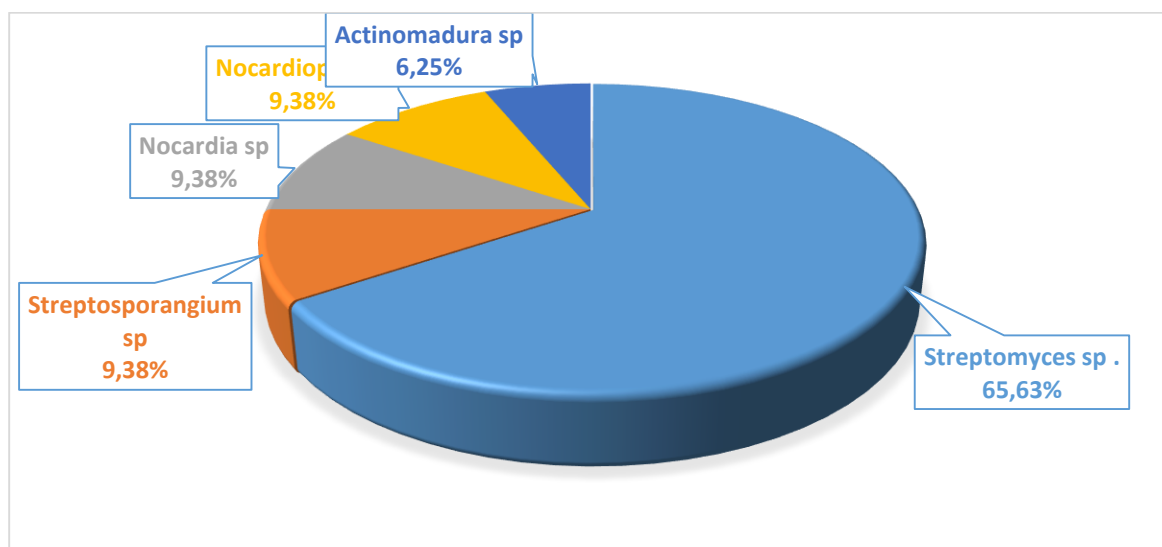


Figure 13 : Distribution des genres d'isolats d'actinomycètes

Résultats et discussion

Tableau 16 : Caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats d'actinomycètes.

Isolats	Cat	Cas	Esc	Sta	Twe	Ala	Asp	His	Try	Tyr	Fru	Glu	Lac	Gal	Ara	Mal	Ma	Sor	Man	Rib	pH			Température				
																					4	7	11	5°	20°	30°	50°	
AC1	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	
AC2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC3	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
AC4	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
AC5	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC6	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-
AC7	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC8	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
AC9	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC10	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
AC11	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
AC12	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC13	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
AC14	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC15	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC17	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC18	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC19	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	

Résultats et discussion

Isolat s	Cat	Cas	Esc	Sta	Twe	Ala	Asp	His	Try	Tyr	Fru	Glu	Lac	Gal	Ara	Mal	Ma	Sor	Man	Rib	pH			Température					
																					4	7	11	5°	20°	30°	50°		
AC20	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-		
AC21	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	
AC22	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
AC23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	
AC24	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	
AC25	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
AC26	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	
AC27	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
AC28	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
AC29	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
AC30	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	
AC31	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	
AC32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	

Cat : Catalase ; Cas : Caseine ; Esc : Esculine ; Sta : Amidon ; Twe : Tween 80 ; Ala : L-Alanine ; Asp : Asparagine ; His : Histidine ; Try : Tryptophane ; Tyr : Tyrosine ; Fru : D-Fructose ; Glu : D-Glucose ; Lac : Lactose ; Gal : D-Galactose ; Ara : D-Arabinose ; Mal : Maltose ; Ma : D-Mannitol ; Sor : Sorbitol ; Man : Mannose ; Rib : Ribose ; - : reaction negative ; + : reaction positive.

L'analyse numérique des caractéristiques phénotypiques a révélé un polymorphisme élevé parmi les isolats d'actinomycètes. Quatre phénons majeurs ont été identifiés parmi les 32 isolats (Figure 14). Les nombres et pourcentages d'isolats, y compris les phénons 1, 2, 3 et 4, étaient respectivement de 3 (9,00%), 11 (34,00%), 8 (25,00%) et 10 (31,00%). Les deux phénons les plus prévalent et diversifiés étaient 2 et 4.

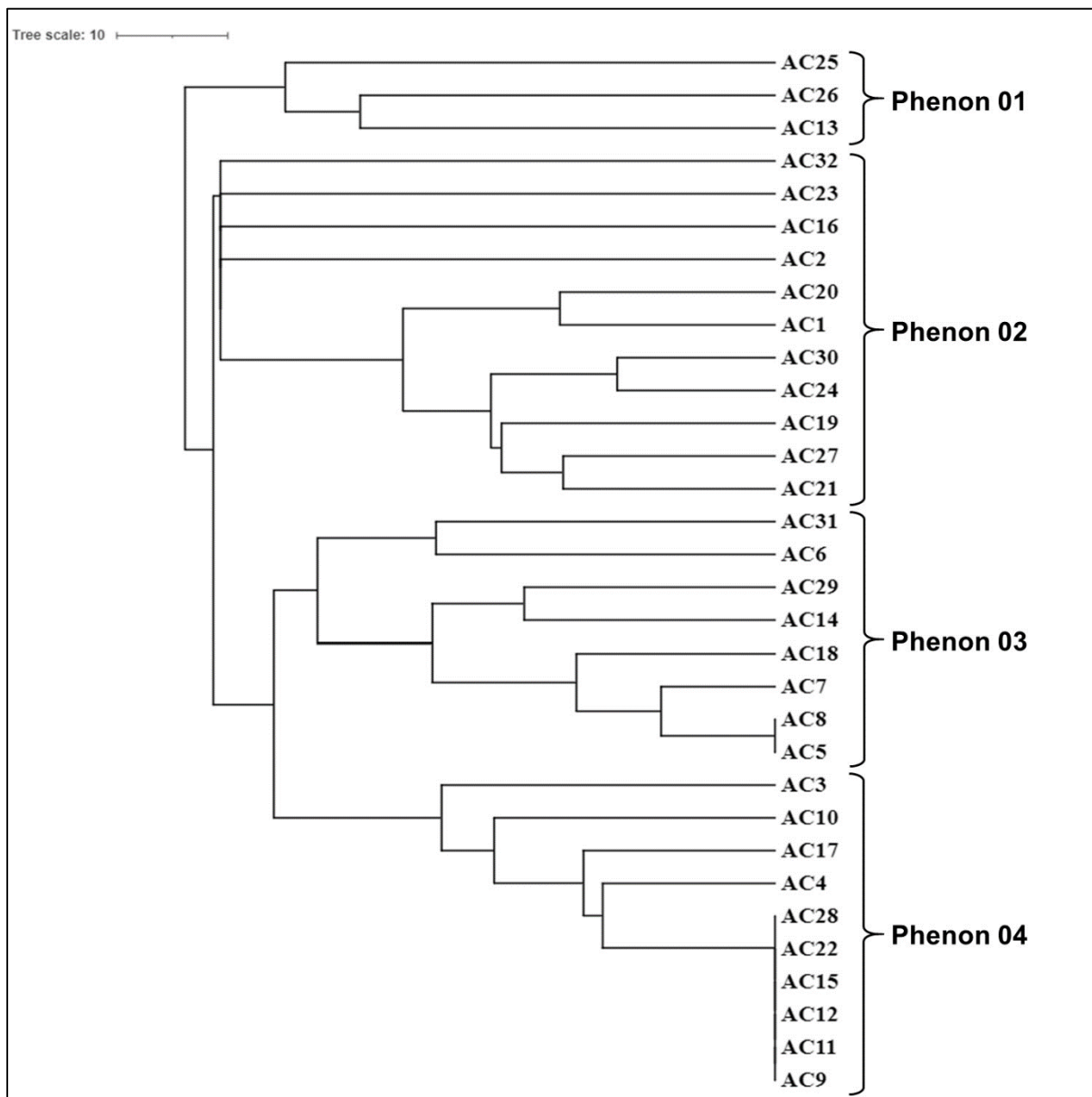


Figure 14 : Dendrogramme obtenu en comparant les caractéristiques physiologiques et biochimiques des 32 actinomycètes isolés.

2.4 Etude moléculaire pour les deux souches les plus performantes AC31 et AC10

2.4.1 Isolat AC31

Le résultat du BLAST effectué aux séquences du gène 16S ARNr de la souche AC 31 indique une concordance de 100 % avec la séquence partielle du gène 16S ARNr de l'espèce *Streptomyces fimbriatus* NBRC 15411^T (AB184659), identifiée comme étant la plus étroitement liée. De plus, l'analyse phylogénétique utilisant la méthode du "neighbor-joining" positionne l'isolat et met en évidence sa relation avec les souches-types des espèces les plus proches de *Streptomyces* (Figure 15).

La séquence du gène 16S ARNr de la souche AC31 a été attribuée au numéro d'accès GenBank OP647314

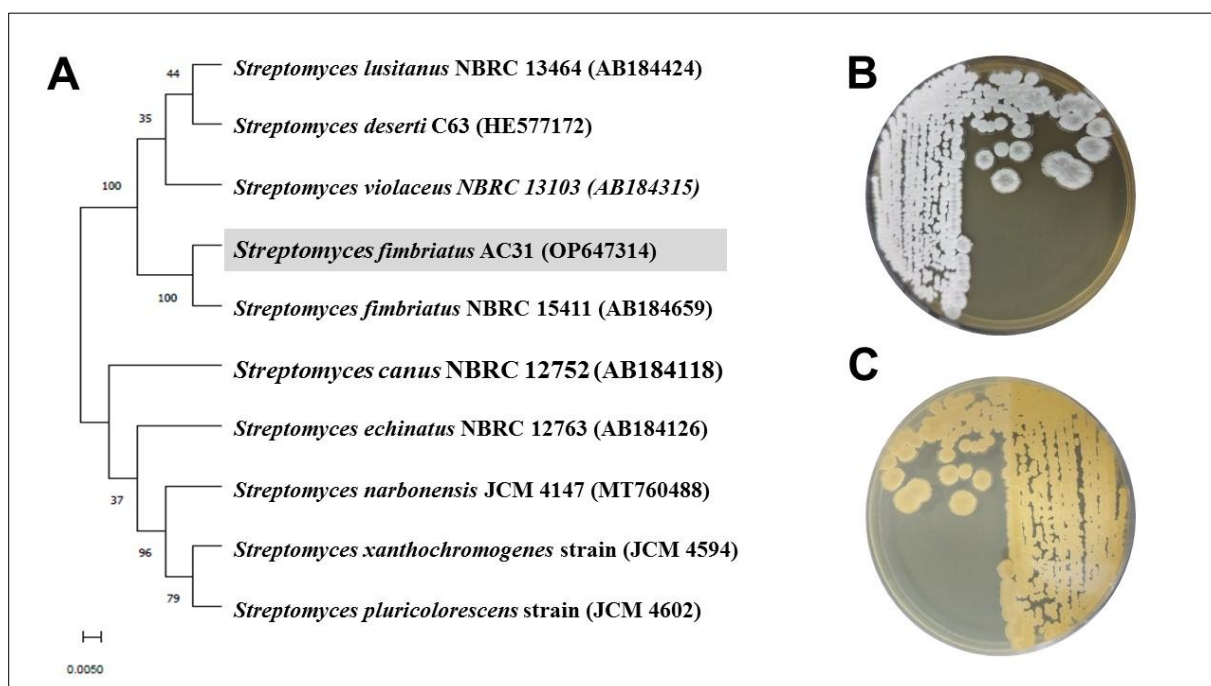


Figure 15 : Arbre phylogénétique et caractérisation morphologique de la souche *Streptomyces fimbriatus* AC31

(A: Arbre phylogénétique basé sur les séquences du gène 16S ARNr, établissant les relations entre la souche AC31 et les espèces apparentées du genre *Streptomyces* ; B : morphologie du mycélium aérien de la souche AC31 sur milieu ISP2; C: morphologie du mycélium de substrat de la souche AC31 sur milieu ISP2).

2.4.2 Isolat AC10

L'analyse BLAST effectuée pour AC10 révèle une correspondance de 100 % avec l'espèce *Streptomyces pactum* (MH542148.1), identifiée comme étant la plus similaire. En outre, l'analyse phylogénétique, réalisée selon la méthode du "neighbor-joining", positionne l'isolat et révèle sa relation avec les souches-types des espèces les plus proches de *Streptomyces* (Figure 16).

La séquence du gène 16S ARNr de la souche AC10 a été attribuée au numéro d'accès GenBank (OR346380).

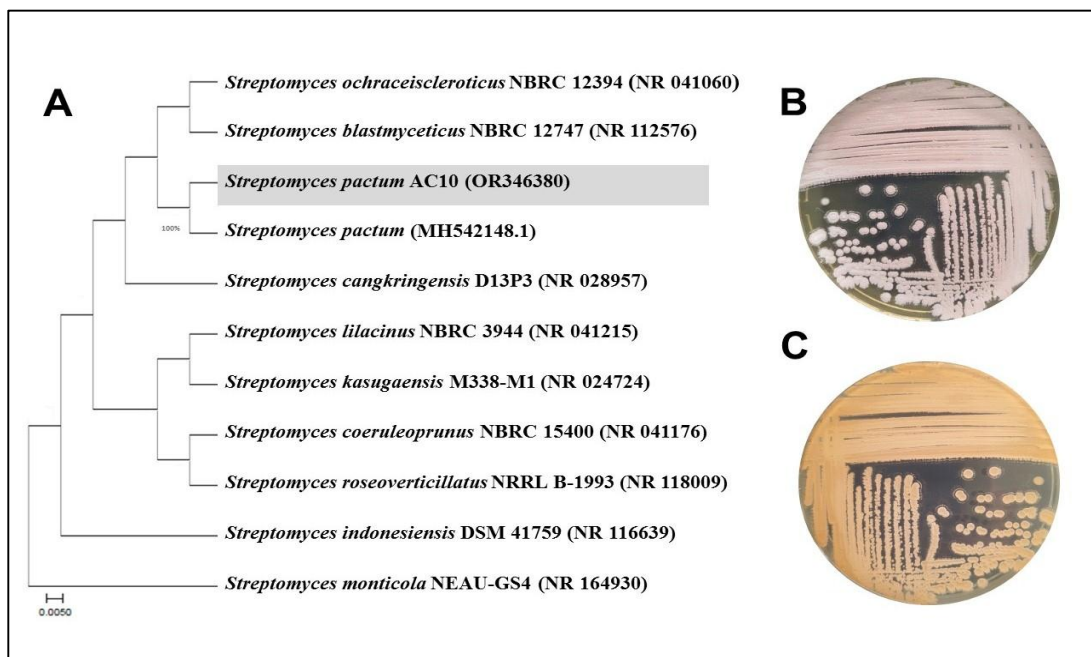


Figure 16 : Arbre phylogénétique et caractérisation morphologique de la souche *Streptomyces pactum* AC10

(A : Arbre phylogénétique basé sur les séquences du gène 16S ARNr, établissant les relations entre la souche AC10 et les espèces apparentées du genre *Streptomyces* ; B : morphologie du mycélium aérien de la souche AC10 sur milieu ISP2 ; C : morphologie du mycélium de substrat de la souche AC10 sur milieu ISP2).

2.5 Discussion

Les actinomycètes semblent être une alternative très prometteuse en tant que source d'agents antimicrobiens contre les microorganismes pathogènes. En particulier, les souches d'actinomycètes isolées du sol saharien de la région d'El Atteuf à Ghardaïa (Algérie), un environnement extrême et inattendu. Les actinomycètes sont des bactéries à Gram positif, ressemblant à des champignons, qui sont les producteurs naturels les plus prolifiques d'agents antimicrobiens (Sapkota *et al.*, 2020). Les isolats d'actinomycètes caractérisés dans cette étude

ont montré une croissance de bonne à excellente et un mycélium abondant sur le milieu de culture ISP2 après incubation à 30 °C pendant 7 jours.

Tout d'abord, parmi les 32 isolats identifiés dans cette étude, la plupart, soit 21 isolats (65,63%), appartenaient au genre *Streptomyces*, comme cela a été rapporté dans plusieurs études (Sapkota *et al.*, 2020). Les espèces de ce genre sont généralement identifiables par la couleur de leur mycélium aérien et de leur mycélium substrat, le pigment soluble, ainsi que la forme et l'ornementation de leur surface sporale en raison de leur stabilité (Williams *et al.*, 1989). Les pigments mélanoides en question pourraient avoir des propriétés bioactives, comme le suggère Margalith (1992), qui a rapporté que la streptomycine produite par *Streptomyces griseus* est un pigment jaune. L'examen microscopique a également révélé que trois types de mycélium (S, RF, et RA) caractérisant le genre *Streptomyces* ont été observés (Sabaou, 1988).

Deuxièmement, les isolats AC2, AC23, et AC26, identifiés comme appartenant au genre *Streptosporangium*, ont été distingués par la couleur blanche de leur mycélium aérien. Le mycélium substrat pouvait prendre des couleurs orange-jaune profondes ou claires, avec présence des sporanges (Nonomura, 1989).

Troisièmement, les cultures des isolats AC19, AC21, et AC32 sur le milieu ISP2 appartenant au genre *Nocardia* étaient macroscopiquement abondantes avec des surfaces de colonies rugueuses ou lisses, la longueur des hyphes dans le mycélium aérien était variable, et le mycélium de substrat était septé (Holt *et al.*, 1994).

Quatrièmement, les isolats AC1, AC27, et AC20 partageaient les mêmes caractéristiques morphologiques du genre *Nocardiopsis*. Les colonies de ce genre sont nombreuses sur les milieux organiques, les mycéliums aérien et substrat sont bien développés, et les hyphes sont longs et densément ramifiés (Meyer, 1976).

Cinquièmement, les caractéristiques morphologiques des isolats AC29 et AC18 étaient compatibles avec la description du genre *Actinomadura*, qui est décrit comme non fragmenté et largement ramifié (Trujillo, 2012).

Les tests physiologiques et biochimiques sur les isolats de *Streptomyces* ont révélé des capacités métaboliques diverses. Des réactions positives ont été observées pour la catalase, l'alanine, l'asparagine, l'histidine, et la dégradation du tryptophane, et 65,63% des isolats dégradait le mannose. L'hydrolyse de l'esculine était moins courante (Li *et al.*, 2020). Certains isolats spécifiques, tels que AC3, AC7, AC8, et AC31, ont produit des pigments de

mélanine, suggérant leur utilisation potentielle comme critère taxonomique (El-Naggar & El-Ewasy, 2017).

Les tests physiologiques sur les isolats de *Streptosporangium* ont révélé une utilisation cohérente de diverses sources de carbone, y compris le D-fructose, le D-glucose, le lactose, le D-galactose, le D-arabinose, le maltose, le D-mannitol, le mannose, et le ribose, sauf pour AC26 qui n'utilisait pas le sorbitol. L'hydrolyse de l'amidon était positive pour les isolats AC2 et AC23, tandis que les tests de DL-alanine, d'asparagine, d'histidine, et de tryptophane ont donné un résultat négatif. L'hydrolyse de la tyrosine a été observée, bien que l'isolat AC26 ait été négatif pour l'hydrolyse du tryptophane et de la tyrosine (Inahashi *et al.*, 2011).

Les tests physiologiques pour les isolats de *Nocardiopsis* ont révélé des caractéristiques distinctes, notamment la réaction catalase positive et la capacité à hydrolyser la caséine et l'amidon. L'utilisation du fructose, du lactose, de l'arabinose, du maltose et du sorbitol comme sources de carbone a été observée. L'isolat AC20 a montré une activité lipolytique négative, en accord avec des recherches antérieures (Boudjelal *et al.*, 2023). De plus, les isolats AC20 et AC27 ont démontré une incapacité à dégrader la tyrosine, soutenant ainsi des résultats antérieurs (Kawashima *et al.*, 2022).

Les tests physiologiques ont montré des caractéristiques distinctes pour les isolats de *Nocardia* AC19, AC21, et AC32. La catalase était courante, mais des différences dans l'hydrolyse de l'amidon et du Tween ont été observées par rapport à l'étude de Yang *et al.* (Yang *et al.*, 2019). AC32 a montré des réactions positives pour le fructose et le mannose, tandis qu'AC21 a été positif pour le glucose. Cependant, AC19 et AC21 étaient négatifs pour plusieurs sucres, ce qui concorde avec les résultats de Ding *et al.* (2018). Ces similitudes et variations soulignent l'importance de comprendre la diversité et l'écologie de *Nocardia*, en tenant compte des conditions de culture et de l'isolement des actinomycètes.

Les isolats d'*Actinomadura* AC18 et AC29 ont montré la capacité de croître sur des sources de carbone spécifiques, notamment le D-fructose, le D-glucose, le lactose, l'arabinose et le mannitol. Des réactions positives pour l'hydrolyse de l'aesculine, de l'amidon et du Tween 80, ainsi que l'activité catalase, ont été observées. Cependant, l'isolat AC29 n'a pas montré d'hydrolyse de la caséine (Tarantini *et al.*, 2021).

Ces résultats combinés contribuent à une compréhension plus approfondie de la diversité des genres *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Actinomadura*, *Nocardiopsis*, et *Nocardia*, ainsi que de leurs rôles écologiques potentiels. La capacité des isolats à produire

des enzymes industrielles les rend d'une importance significative. Les espèces de *Streptomyces*, par exemple, ont été trouvées pour produire des enzymes importantes telles que l'amylase, la protéase et la cellulase, qui ont diverses applications commerciales dans diverses industries (Siupka *et al.*, 2020).

Les actinobactéries sont principalement mésophiles, montrant une croissance optimale à des températures situées entre 25 et 30°C, comprenant notamment les genres *Streptomyces*, *Nocardia*, *Micromonospora* et *Oerskovia spp.* (Olisaka et Ayanru, 2021). Contrairement à ce qui a été observé par (Barka *et al.*, 2016; Edwards, 1993), nos isolats ne sont pas thermophiles et ne se développent donc pas à des températures allant de 50°C à 60°C. Par ailleurs, il existe des actinomycètes psychrophiles capables de croître à des températures allant de 0 à 18°C, tels que le genre *Cryobacterium* (Liu *et al.*, 2019). Ce qui n'est pas le cas de nos isolats, qui ont montré des résultats négatifs lors de l'incubation à 5°C.

Les actinomycètes présentent une grande variabilité de propriétés biochimiques et physiques, révélant 4 phénotypes. Cela est probablement le résultat des caractéristiques des échantillons de sol à partir desquels ils ont été isolés.

Le séquençage de l'ARNr 16S de la souche AC31 a montré une homologie de 100% avec la séquence partielle du gène de l'ARNr 16S de *Streptomyces fimbriatus* souche NBRC 15411^T. Un pourcentage similaire a été rapporté par Ashraf *et al.* (Ashraf *et al.*, 2021), qui ont isolé des espèces étroitement apparentées à *Streptomyces fimbriatus*. Les résultats du séquençage du gène de l'ARNr 16S dans la base de données génétiques NCBI ont montré que l'isolat AC10 a une similitude de 100% à la souche de *Streptomyces pactum* (MH542148.1) un pourcentage similaire à ce qui trouvé par (Ali *et al.*, 2017) et supérieure à ce de (Mirsonbol *et al.*, 2022) (99 et 87 %).

2.6 Conclusion

En conclusion, cette étude exhaustive sur les actinomycètes isolés du sol saharien de la région d'El Atteuf à Ghardaïa, Algérie, a révélé une diversité morphologique, physiologique et moléculaire remarquable parmi les genres *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Actinomadura*, *Nocardiopsis* et *Nocardia*. Les observations morphologiques ont permis de distinguer plusieurs caractéristiques distinctives au sein de chaque genre, tandis que les tests physiologiques et biochimiques ont mis en évidence des capacités métaboliques variées. Les données sur les températures et le pH ont montré des adaptations spécifiques des actinomycètes à leur habitat, avec une préférence mésophile et un pH neutre à alcalin. En outre, les analyses moléculaires ont confirmé la parenté génétique avec des espèces connues,

renforçant ainsi la classification taxonomique des isolats. Ces résultats combinés soulignent l'importance écologique des actinomycètes dans des environnements extrêmes et leur potentiel pour des applications biotechnologiques et pharmaceutiques.

3 Screening de l'activité antimicrobienne des actinobactéries

3.1 Microorganismes-cibles

3.1.1 Antibiogramme des souches cibles

L'antibiogramme des souches bactériennes cibles a montré que *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* étaient résistants aux trois antibiotiques, Amoxicilline 30 µg, Ampicilline 10 µg et Céphalexine 30 µg, et que *Salmonella typhimurium* était résistant uniquement à l'Amoxicilline 30 µg. La Gentamicine 10 µg inhibait tous les germes pathogènes testés.

Tableau 17 : Profile de résistance des souches test

Microorganismes	ATCC code	Gentamicine (10 µg)	Amoxicilline (30 µg)	Ampicilline (10 µg)	Céphalexine (30 µg)
<i>S. typhimurium</i>	ATCC 13331	S	R	S	S
<i>E. coli</i>	ATCC 8739	S	R	R	R
<i>S. aureus</i>	ATCC 6538	S	R	R	R
<i>B. subtilis</i>	ATCC 6633	S	R	R	R

R : résistant, S : sensible.

3.2 Test d'antagonisme

3.2.1 Méthode des cylindres d'agar

Un criblage primaire de l'activité antimicrobienne des différents isolats d'actinomycètes a été mise en évidence par la technique des cylindres d'agar sur le milieu de culture Muller Hinton. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 18. Les résultats de ce criblage montrent que sur les 32 isolats, 27 (84,34 %) sont actifs sur au moins l'un des microorganismes tests. Cinq isolats (15,63 %) ont montré une activité antibactérienne contre les bactéries Gram-positives et 4 isolats (12,50 %) étaient actifs contre les bactéries Gram-négatives.

La levure pathogène *C. albicans* (ATCC 10231) a été inhibée par 10 isolats (31,25 %). Globalement, les diamètres des zones d'inhibition variaient de 4 à 22 mm (Tableau 18). Les résultats ont révélé que parmi les 32 actinomycètes, 22 isolats (68,75 %) étaient actifs contre au moins l'une des 5 souches cibles. Seize isolats (50,00 %) étaient actifs contre *S. typhimurium* (ATCC 13331), suivis de 12 isolats (37,50 %) contre *B. subtilis* (ATCC 6633),

Résultats et discussion

11 isolats (34,38 %) contre *S. aureus* (ATCC 6538), 10 isolats (31,25 %) contre *C. albicans* (ATCC 10231), et 7 isolats (21,88 %) contre *E. coli* (ATCC 8739).

Les deux isolats AC31 et AC10 ont un large spectre d'action puisqu'ils inhibent la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif testées et aussi celle de *C. albicans*. La souche AC31 de *Streptomyces fimbriatus* a présenté la plus grande activité contre toutes les souches cibles testées, avec des diamètres d'inhibition enregistrés de 22 mm, 16 mm, 21 mm, 21 mm et 22 mm contre les souches cibles : *C. albicans* (ATCC 10231), *S. aureus* (ATCC 6538), *B. subtilis* (ATCC 6633), *E. coli* (ATCC 8739) et *S. typhimurium* (ATCC 13331) respectivement. (Figure 17)

Tableau 18: Activité antagoniste d'isolats d'actinomycètes contre des micro-organismes pathogènes par la méthode des cylindres d'agar.

Isolats	Zone d'inhibition (mm)				
	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	<i>E. coli</i> (ATCC 8739)	<i>S. typhimurium</i> (ATCC 13331)
AC2	0	0	0	10	0
AC4	0	11	0	0	9
AC5	8	0	0	0	0
AC6	0	10	0	0	0
AC7	0	0	7	0	13
AC8	0	0	0	0	8
AC9	0	0	10	0	0
AC10	7	10	17	13	16
AC11	9	0	0	0	12
AC12	10	10	10	0	0
AC13	0	0	0	0	9
AC14	0	9	0	0	0
AC16	0	9	0	0	10
AC17	9	11	0	0	10
AC18	0	0	10	0	0
AC19	0	0	0	0	10
AC20	0	0	9	6	7
AC21	0	0	9	6	0
AC22	0	0	0	0	20
AC24	0	10	0	0	16
AC25	8	0	0	0	0
AC26	0	5	7	4	0
AC27	8	0	0	0	0
AC28	0	0	10	0	8
AC29	6	10	8	0	9
AC31	22	16	21	21	22
AC32	9	0	7	10	11

NB : les isolats AC1, AC3, AC15, AC23 et AC30 n'ont pas montrés aucune activité vis-à-vis les souches tests.

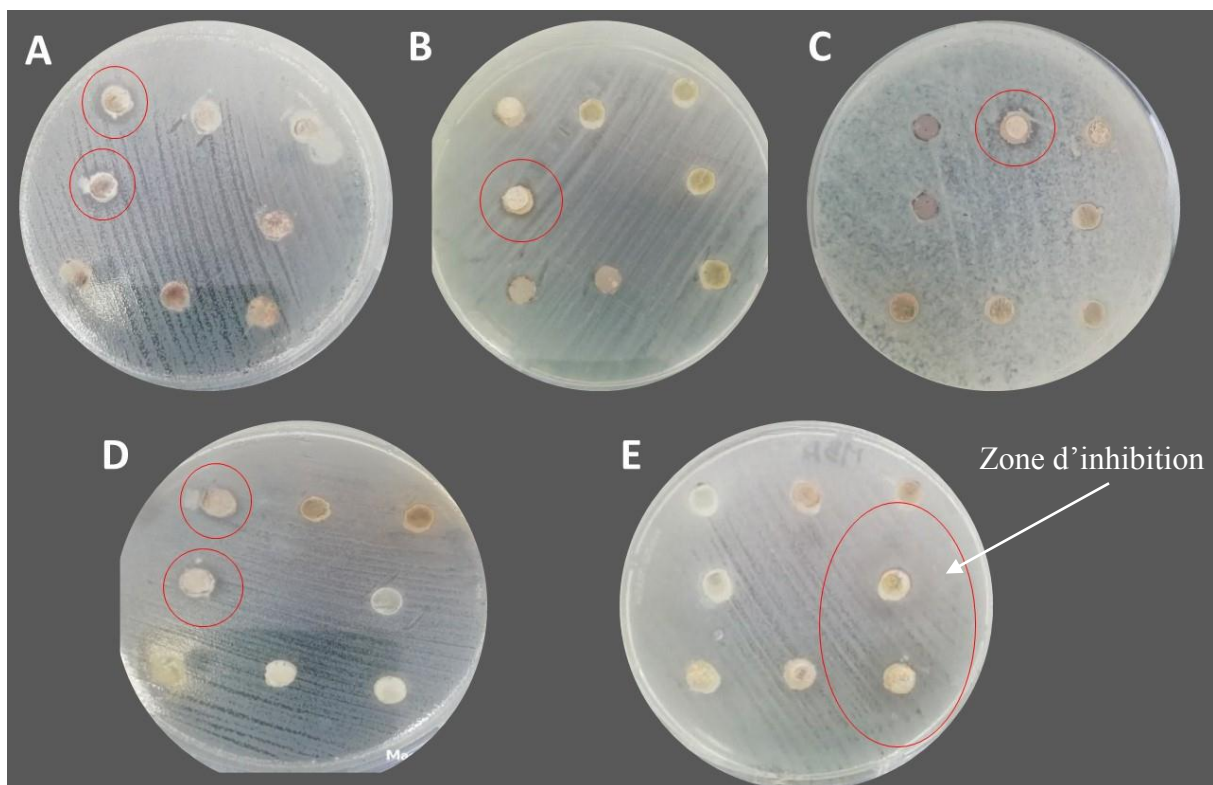


Figure 17 : Activité antimicrobienne de la souche AC31 par technique des cylindres d'agar

A : *Candida albicans* (ATCC 10231), B: *E. coli* (ATCC 8739), C: *S. aureus* (ATCC 6538), D : *S. typhimurium* (ATCC 13331), E: *Bacillus subtilis* (ATCC 6633).

3.2.2 Technique des stries croisées

La deuxième méthode de criblage utilisée pour le criblage des isolats d'actinomycètes était par stries croisées, les résultats de ce criblage montrent que la plupart des isolats d'actinomycètes étaient actifs contre les différentes souches cibles, y compris les levures et les bactéries : 24 isolats (75,00%) ont montré une activité antibactérienne contre les bactéries Gram-positives et 21 isolats (65,63%) étaient actifs contre les bactéries Gram-négatives. La levure pathogène *C. albicans* (ATCC 10231) a été inhibée par 25 isolats (78,13%). Globalement, les diamètres des zones d'inhibition variaient de 5 à 44 mm (Tableau 19).

Les résultats ont révélé que parmi les 32 actinomycètes, 29 isolats (90,63%) étaient actifs contre au moins l'une des 5 souches cibles. Les zones d'inhibition les plus élevées observées étaient de 41 mm pour AC9 et AC31, 41 mm pour AC10, 43 mm pour AC10 et AC5, et 44 mm pour AC31 contre les souches cibles : *B. subtilis* (ATCC 6633), *E. coli* (ATCC 8739), *S. typhimurium* (ATCC 13331), *S. aureus* (ATCC 6538) et *C. albicans* (ATCC 10231), respectivement. Vingt-sept isolats (84,00%) étaient actifs contre *B. subtilis*

(ATCC 6633), suivis de 25 isolats (78,00%) contre *C. albicans* (ATCC 10231), 25 isolats (78,00%) contre *S. aureus* (ATCC 6538), 24 isolats (75,00%) contre *E. coli* (ATCC 8739) et 23 isolats (72,00%) contre *S. typhimurium* (ATCC 13331).

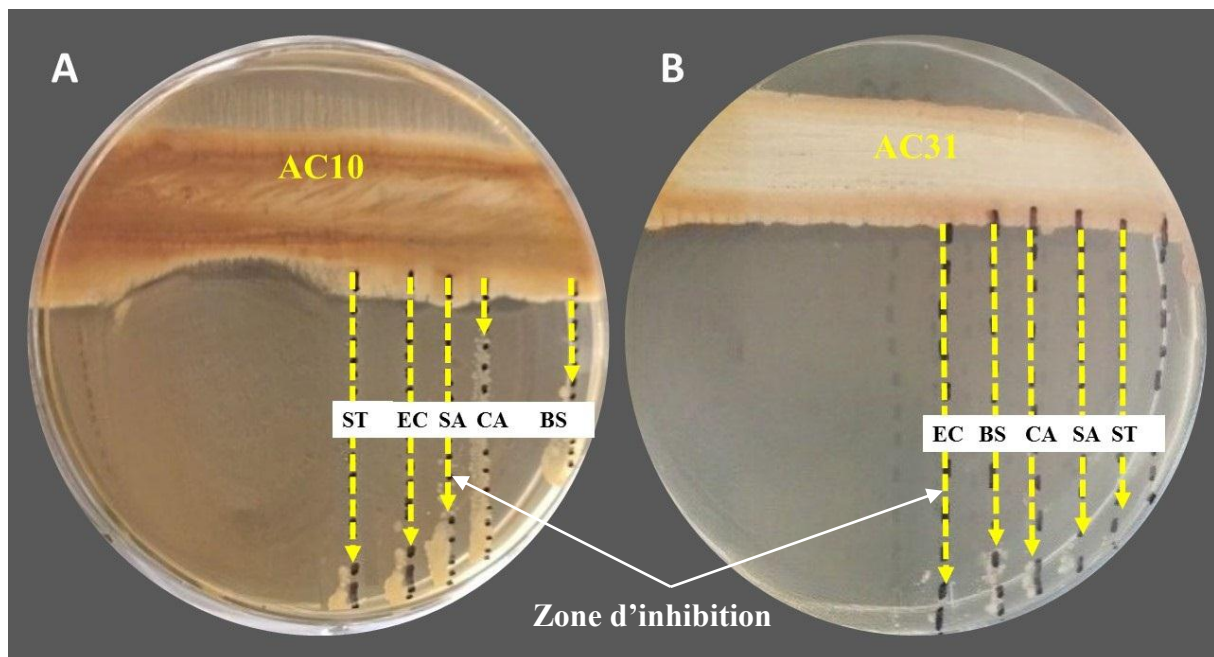


Figure 18 : Activité antimicrobienne des deux souches AC10 et AC31 par technique des stries croisé

(A : test d'activité antimicrobienne de la souche AC10, B : test d'activité antimicrobienne de la souche AC31, EC: *E. coli* (ATCC 8739), BS: *B. subtilis* (ATCC 6633), CA: *C. albicans* (ATCC 10231), SA: *S. aureus* (ATCC 6538), ST: *S. typhimurium* (ATCC 13331).

La figure 18 montre l'activité antimicrobienne des deux souches AC10 et AC31 par la technique des stries croisés ou la souche AC31 de *Streptomyces fimbriatus* a présenté la plus grande activité contre toutes les souches cibles testées, avec des diamètres d'inhibition enregistrés de 41, 38, 41, 42 et 44 mm contre les souches cibles *B. subtilis* (ATCC 6633), *E. coli* (ATCC 8739), *S. typhimurium* (ATCC 13331), *S. aureus* (ATCC 6538) et *C. albicans* (ATCC 10231), respectivement.

Ainsi la souche AC10 *Streptomyces pactum* présente un spectre d'action qui touche tous les microorganismes testés mais reste moins forte que celle de la souche AC31; l'activité la plus élevée était vis-à-vis de *S. typhimurium* (ATCC 13331) avec une zone d'inhibition de 43 mm, suivie de *E. coli* (ATCC 8739) avec 41 mm, *S. aureus* (ATCC 6538) avec 35 mm, *B. subtilis* (ATCC 6633) avec 32 mm et enfin *C. albicans* (ATCC 10231) avec 25 mm.

Tableau 19 : Activité antagoniste d'isolats d'actinomycètes contre des micro-organismes pathogènes par la méthode des stries croisées.

Isolats	Zone d'inhibition (mm)				
	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	<i>E. coli</i> (ATCC 8739)	<i>S. typhimurium</i> (ATCC 13331)
AC1	0	0	0	0	22
AC2	6	4	0	13	7
AC3	14	15	16	15	13
AC4	22	9	10	10	18
AC5	13	43	14	40	0
AC6	0	7	8	0	0
AC7	35	35	21	25	42
AC8	16	15	26	12	30
AC9	36	8	41	9	10
AC10	25	35	32	41	43
AC12	10	19	16	15	22
AC13	5	0	5	0	12
AC14	18	18	15	38	24
AC15	19	18	9	0	0
AC16	18	37	28	17	33
AC17	15	10	16	32	9
AC18	12	30	17	14	32
AC19	13	10	7	39	10
AC20	9	11	24	8	26
AC21	0	0	11	9	0
AC22	7	28	19	28	23
AC25	24	22	23	30	28
AC26	0	8	10	9	0
AC27	12	28	17	31	10
AC28	19	30	15	36	18
AC29	18	21	24	20	16
AC30	5	14	12	0	0
AC31	44	42	41	38	41
AC32	9	0	7	10	11

NB : les isolats AC11, AC23 et AC24 n'ont pas montrés aucune activité vis-à-vis les souches tests.

Les résultats du criblage des isolats d'actinomycètes provenant de chacun des quatre biotopes étudiés, illustrés dans le diagramme de la figure 19, indiquent que la méthode des stries croisées met en évidence de manière plus efficace l'activité antimicrobienne des isolats par rapport à la méthode des cylindres d'agar. Parmi les quatre biotopes étudiés, les isolats provenant de la zone d'Aoulaoual présentent la plus grande activité, avec 12 isolats actifs contre les Gram positif, tandis que les biotopes d'El Djaoua, Oued Mzab et Tammou El Maleh présentent respectivement 6, 6 et 1 isolat actif.

En ce qui concerne l'activité contre les Gram négatif, les isolats du sol d'Aoulaoual se distinguent avec 10 isolats actifs, suivis de près par la zone d'El Djaoua avec 5 isolats. La levure *C. albicans* (ATCC 10231) est inhibée par 11 isolats provenant de la zone

d'Aoulaoual, 7 isolats du sol d'El Djaoua, 5 d'Oued Mzab et seulement 2 de Tammou El Maleh ;13 isolats du biotope d'Aoulaoual ont montré une inhibition d'au moins l'une des cinq souches tests par les deux techniques de criblage, tandis que 8 isolats de la zone d'El Djaoua, 6 du sol d'Oued Mzab et 3 de Tammou El Maleh ont été observés par la méthode des stries croisées.

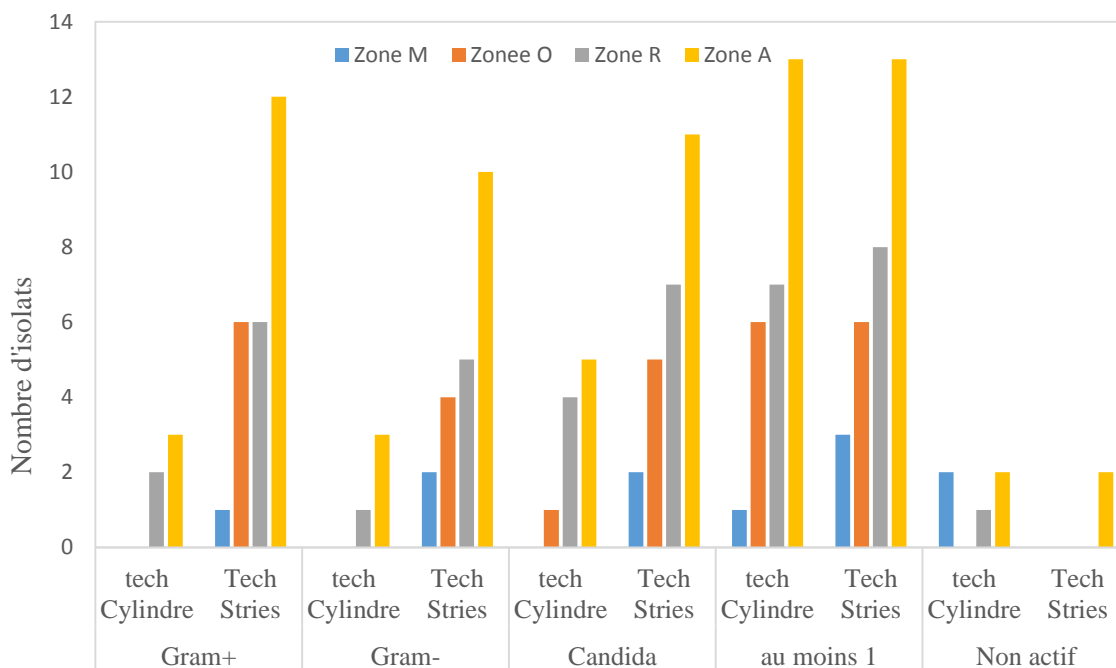


Figure 19 : Diagramme de criblage des isolats d'actinomycètes provenant des quatre biotopes étudiés, réalisé selon les deux méthodes de stries croisées et de cylindres d'agar.

3.3 Cinétiques de production des antibiotiques en milieu liquide

3.3.1 Cinétiques de production

La cinétique de croissance et de production des molécules antimicrobiennes sont étudiées dans un milieu ISP2, dans des flacons agités pour les deux meilleures souches antagonistes notées AC10 et AC31. Pendant une période de 12 jours de fermentation, le poids sec de la biomasse, l'activité antimicrobienne contre *S. aureus* (ATCC 6538) mesurée par la méthode des disques de diffusion et le pH sont quotidiennement surveillés pour déterminer le jour optimal de production. Les évolutions de ces paramètres au fil du temps sont illustrées dans les figure 20,21, 22 et 23.

3.3.2 Cinétique de production de la souche AC10

L'évolution au fil du temps de l'activité antimicrobienne, de la biomasse et du pH est présentée dans la figure 22. Le mycélium de l'isolat AC10 se présente sous forme de pelotes jaunâtres et de dimensions variables. Le filtrat de culture est de couleur jaune orangé.

L'activité contre *S. aureus* apparaît le 3^{ème} jour et atteint son maximum le 5^{ème} jour figure 20. Cette activité antibiotique évolue en corrélation avec la croissance.

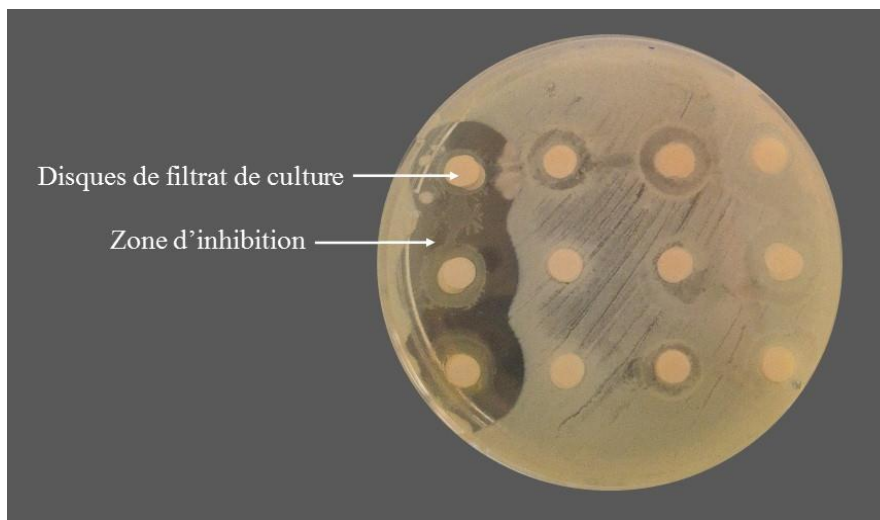


Figure 20 Activité antimicrobienne du filtrat de culture de la souche AC10 contre *S. aureus* (ATCC 6538) cultivé sur milieu ISP2 le 5^{ème} jour de cinétique.

Le pH, initialement de 7,2, diminue jusqu'au 4^{ème} jour, puis augmente progressivement pour atteindre son maximum (pH $9,35 \pm 0,1$) le 12^{ème} jour.

La croissance de la souche AC10 se caractérise par deux phases mettant en évidence un phénomène de diauxie. La première phase, s'étendant de l'inoculation jusqu'au 4^{ème} jour, se compose d'une phase exponentielle (du 1^{ier} au 2^{ème} jour), suivie d'une phase de ralentissement (du 2^{ème} au 3^{ème} jour) et enfin d'une phase stationnaire (du 3^{ème} au 4^{ème} jour). La seconde phase débute le 4^{ème} jour et se caractérise par une nouvelle phase exponentielle (du 4^{ème} au 5^{ème} jour), puis une phase de ralentissement (du 5^{ème} au 6^{ème} jour), et enfin une phase de déclin (du 6^{ème} au 12^{ème} jour). Entre le 10^{ème} et le 12^{ème} jour, nous observons soit une légère reprise de croissance, soit une stabilisation.

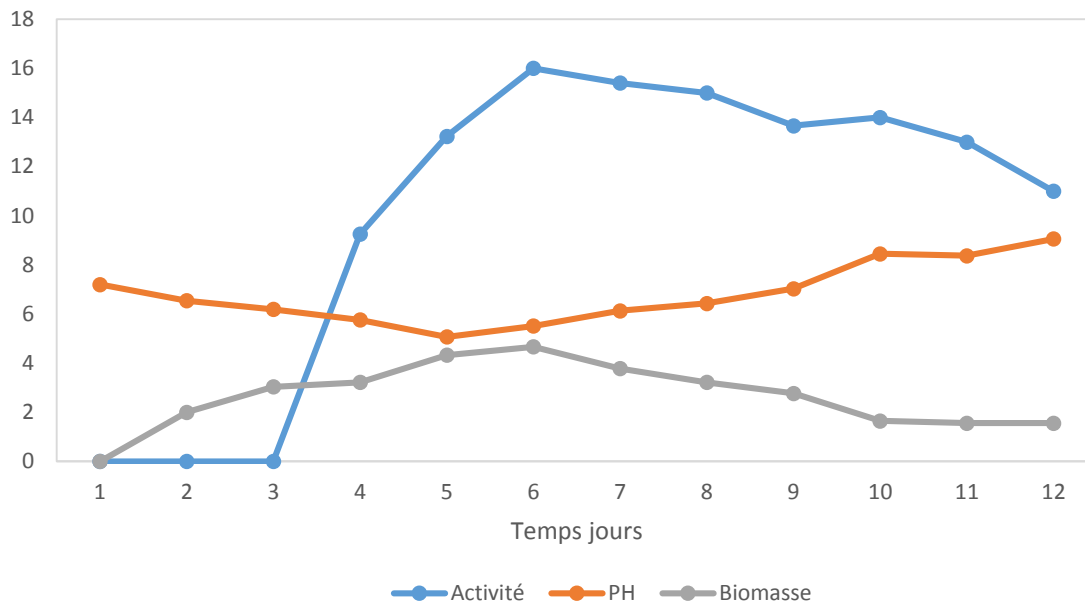


Figure 21 Cinétique de l'activité antimicrobienne, de la biomasse et de pH et de la souche AC10 contre *S. aureus* (ATCC 6538) sur milieu ISP2.

3.3.3 Cinétique de production de la souche AC31

La cinétique de production des substances bioactives, de la biomasse et du pH de la souche antagoniste AC31 est présentée dans la figure 24. Le mycélium se présente sous forme de pelotes blanchâtres et de dimensions variables, le plus souvent entre 2 et 3 mm de diamètre. Le filtrat de culture est de couleur orange-brunâtre.

L'activité antimicrobienne de la souche AC31 contre *S. aureus* apparaît dès le 1^{er} jour et atteint son maximum le 6^{ème} jour (figure 23). Cette activité antibiotique évolue en corrélation avec la croissance.



Figure 22 : Activité antimicrobienne du filtrat de culture de la souche AC31 contre *S. aureus* (ATCC 6538) cultivé sur milieu ISP2 le 6^{ème} jour de cinétique.

La croissance de la souche AC31 se déroule également en deux phases, révélant un phénomène de diauxie. La première phase, s'étendant de l'inoculation jusqu'au 3^{ème} jour, comprend une phase exponentielle (du 1^{ier} au 2^{ème} jour), suivie d'une phase de ralentissement (du 2^{ème} au 3^{ème} jour), et enfin une phase stationnaire (du 3^{ème} au 4^{ème} jour). La seconde phase débute au 4^{ème} jour et se caractérise par une nouvelle phase exponentielle (du 4^{ème} au 6^{ème} jour), puis une phase de ralentissement (du 6^{ème} au 7^{ème} jour), et enfin une phase de déclin (du 7^{ème} au 10^{ème} jour). Entre le 10^{ème} et le 12^{ème} jour, nous observons soit une légère reprise de croissance, soit une stabilisation. Le pH diminue jusqu'au 4^{ème} jour, puis augmente progressivement pour atteindre son maximum (pH 9,02 ± 0,1) le 12^{ème} jour.

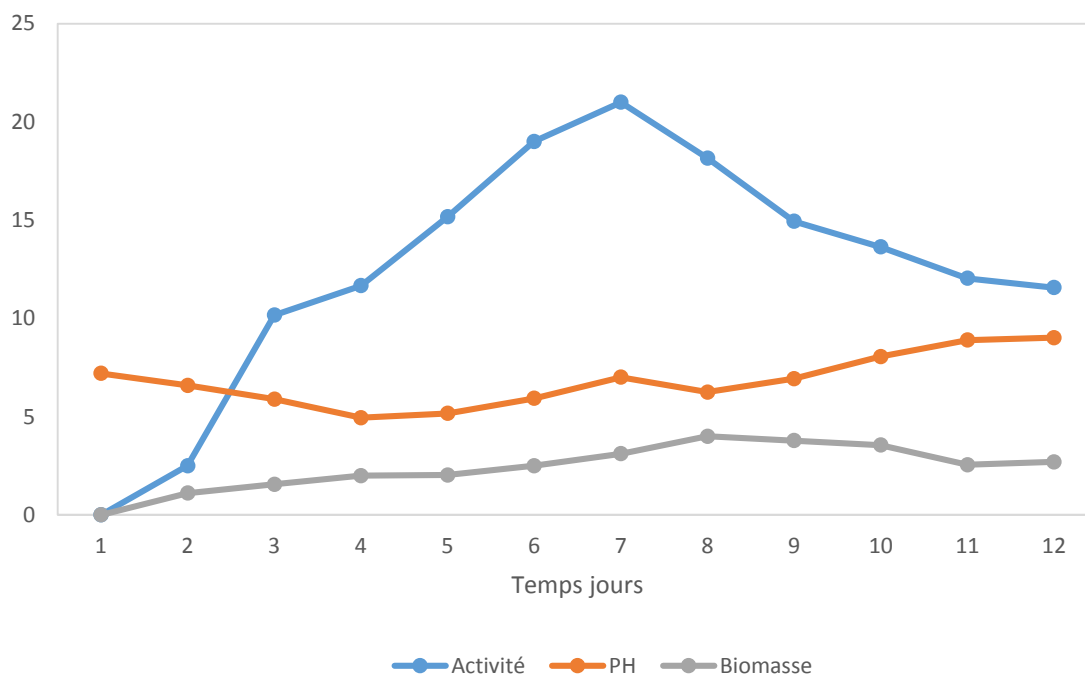


Figure 23 : Cinétique de l'activité antimicrobienne, de la biomasse et de pH et de la souche AC31 contre *S. aureus* (ATCC 6538) sur milieu ISP2.

3.4 Discussion

La sensibilité des bactéries testées aux quatre antibiotiques utilisés a donné les résultats présentés dans tableau 17. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et interprétés selon les normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Cette analyse a permis de classer les bactéries en deux groupes : celles sensibles aux antibiotiques et celles qui y sont résistantes.

Dans la présente étude, le criblage des isolats d'actinomycètes par la technique des stries croisées et celle des cylindres d'agar a révélé une activité antimicrobienne contre divers microorganismes cibles. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux 18 et 19. Les résultats de ce criblage indiquent que parmi les 32 isolats, 29 (90,63%) et 27 (84,38%) isolats présentent une activité sur au moins un des cinq microorganismes tests, selon la technique des stries croisées des cylindres d'agar respectivement. Les pourcentages d'inhibition étaient supérieurs aux valeurs rapportées par d'autres études. Par exemple, Jihani (2013) a rapporté un taux de 60 %, Lemriss *et al.* (2003) ont trouvé un taux supérieur à 40 %, le pourcentage d'inhibition était de 34 % selon (Ganesan *et al.*, 2017), tandis que Xu *et al.*, (1996) ont observé un taux inférieur à 10 %.

En outre, les deux souche *Streptomyces pactum* AC10 et *Streptomyces fimbriatus* AC31 ont démontrés une forte activité contre toutes les souches ciblées dans les deux techniques de criblage. Les propriétés antibactériennes de cette espèce de *Streptomyces* sont largement rapportées (Anukool *et al.*, 2004). Plusieurs études affirment que les actinomycètes, y compris *Streptomyces*, présentent généralement une bonne activité contre les bactéries à Gram positif, ce qui corrobore avec les résultats actuels. En revanche, ils exercent une faible activité contre les bactéries à Gram négatif (Cwala *et al.*, 2011). Cela peut s'expliquer par leur double membrane cellulaire qui sert de barrière protectrice aux antibiotiques (Gupta, 2011). D'autres recherches ont rapporté que les isolats d'actinomycètes présentent une activité antibactérienne plus importante contre les bactéries à Gram négatif que contre les bactéries à Gram positif (Daigham and Mahfouz, 2020), ce qui a été confirmé dans cette étude en mentionnant une bonne activité contre les bactéries à Gram négatif représentant 21 (65,63%) isolats. Cela renvoie aux parois cellulaires des bactéries à Gram négatif qui sont plus faciles à rompre que celles des bactéries à Gram positif (Jeffrey, 2008).

De plus, dans cette étude, 25 isolats (78,13%) ont inhibé la croissance de *C. albicans* (ATCC 10231). Selon Ibnouf *et al.* (2022), le dépistage de l'activité antifongique contre *Candida* a révélé un pourcentage d'inhibition plus élevé de 91%. Les composés protéolytiques font partie des mécanismes qui causent une activité antifongique contre *C. albicans* (Pavan Kumar *et al.*, 2018).

Les résultats de la cinétique de croissance et de production de composés antimicrobiens actifs contre *S. aureus* révèlent une croissance satisfaisante des souches *Streptomyces* AC10 et AC31 dans le milieu liquide ISP2. La production maximale de molécules actives est observée après cinq et six jours d'incubation respectivement. Il est à

noter que, comme précédemment signalé, les cultures agitées de *Streptomyces spp* dans le milieu liquide ISP2 favorisent grandement la croissance et la production d'antibiotiques (BOUDJELLA, 2007; Yekkour *et al.*, 2012; Zitouni *et al.*, 2005).

Le milieu ISP2 est composé de glucose, d'extrait de levure et d'extrait de malt, des nutriments contenant plusieurs précurseurs pouvant participer à la biosynthèse des métabolites secondaires. Dans ce cadre, le glucose est impliqué dans la biosynthèse d'antibiotiques, notamment d'aminoglycosides et de glycopeptides, comme le soulignent Palaniappan *et al.* (2009) pour l'hygromycine et Losey *et al.* (2002) pour la vancomycine.

La croissance des souches AC10 et AC31 se caractérise par une absence de phase de latence, attribuable au fait que les pré-cultures utilisées étaient en phase exponentielle et qu'elles étaient cultivées dans un milieu identique à celui des cultures, à savoir l'ISP2. Un phénomène de diauxie, caractérisé par la présence de deux phases exponentielles, est généralement observé dans les milieux contenant deux sources de carbone osidique telles que le glucose et le lactose, le galactose ou la xylose (Monod, 1942 ; Prescott *et al.*, 2002). Des croissances diauxiques ont également été rapportées chez certaines souches de *Streptomyces* (Aouiche, 2013; Driche, 2010; Toumatia, 2015). Il est possible que le phénomène de diauxie observé soit également dû à la consommation précoce des acides aminés de l'extrait de levure ajouté au milieu, le glucose ne servant de source de carbone qu'au cours de la seconde phase exponentielle (Toumatia, 2015).

La baisse du pH pendant la croissance exponentielle des deux souches est expliquée par la dégradation du glucose et la libération d'acides organiques. Ensuite, le milieu devient progressivement basique avec l'apparition des ions ammonium issus de la dégradation des sources azotées organiques comme les acides aminés présents dans l'extrait de levure (Strub, 2008 ; Lahoum, 2014).

Cette étude met en évidence l'activité antimicrobienne remarquable des souches *Streptomyces* AC10 et AC31, isolées respectivement des sols d'Aoulaoual et d'El Djaoua. Ces deux souches ont démontré un large spectre d'action, inhibant à la fois les bactéries à Gram positif et négatif, ainsi que la levure *C.albicans*. Cette capacité à cibler différents types de microorganismes renforce leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens polyvalents.

Il est également important de souligner la relation entre les résultats d'activité antimicrobienne et les biotopes d'origine des souches AC10 et AC31. Les sols d'Aoulaoual et d'El Djaoua, d'où proviennent respectivement ces souches, peuvent avoir joué un rôle crucial

dans le développement de leurs capacités antimicrobiennes. Les caractéristiques spécifiques de ces biotopes, telles que la texture, la composition chimique du sol, la présence d'autres facteurs environnementaux, pourraient avoir influencé la production de substances antimicrobiennes par ces souches.

3.5 Conclusion

En résumé, les souches *Streptomyces* AC10 et AC31 présentent un potentiel antimicrobien prometteur, offrant une activité contre un large éventail de pathogènes, y compris les bactéries à Gram positif et négatif ainsi que la levure *C.albicans*. Leur activité peut être liée aux biotopes spécifiques d'où elles ont été isolées, soulignant l'importance de comprendre les relations entre les microorganismes et leur environnement pour exploiter pleinement leur potentiel antimicrobien.

4 Étude des substances antimicrobienne des souches d'actinomycetes

4.5 Extraction des substances antimicrobienne et choix du meilleure solvant d'extraction

La méthode d'extraction à partir des filtrats de culture des deux souches AC10 et AC31 implique l'utilisation de quatre solvants organiques présentant des polarités différentes : le n-hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Une fois l'extraction effectuée, les phases organiques sont séparées des phases aqueuses, puis testées pour leur activité antagoniste à l'aide de la méthode des disques de papier (6 mm).

4.1.1 Extraction à partir du filtrat de culture

4.1.1.1 Souche AC10

Les résultats des tests d'antibiographies présentés dans la figures 24, indiquent que parmi les quatre solvants utilisés le n-butanol offre la meilleure extractibilité sur le plan qualitatif suivi de près par le dichlorométhane, puis le l'acétate d'éthyleet enfin le *n*-hexane.

4.1.1.2 Souche AC31

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de filtrats de la souche AC31, illustrés dans la figure 24, démontrent une forte inhibition contre *S. aureus* avec l'extrait de n-butanol, suivi par le dichlorométhane, puis par l'acétate d'éthyle et enfin par le n-hexane.

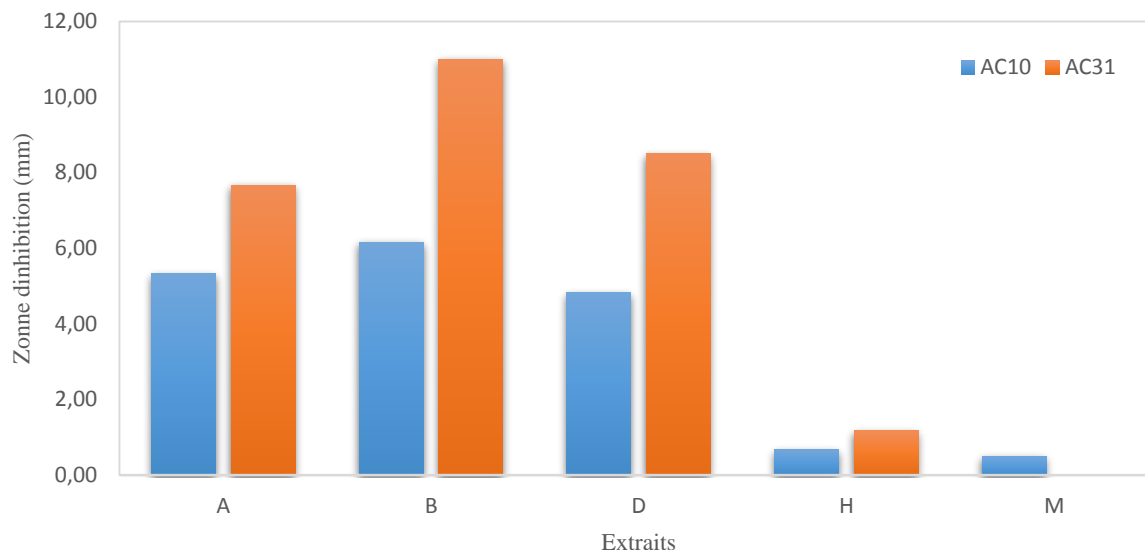


Figure 24: Activité antimicrobienne des extraits organiques de la souche AC10 et AC31 contre *S. aureus* (ATCC 6538) (Le diamètre du disque (6 mm) est compris dans les mesures: A: acétate d'éthyle; B :n-butanol; D: dichlorométhane ; H :n-hexane; M: extrait méthanolique du mycélium).

De plus, les phases aqueuses présentent une activité faible ou nulle pour les deux souches AC31 et AC10. Pour la continuation de notre étude, nous avons opté pour le n-butanol comme solvant d'extraction.

4.1.2 Extraction à partir du mycélium

4.1.2.1 Souches AC10

L'extraction des antibiotiques à partir du mycélium de la souche AC10 est effectuée en utilisant du méthanol. Les extraits obtenus, d'une teinte jaune orange clair similaire à celle du mycélium initial, sont ensuite soumis à une analyse par la méthode des disques de papier de 6 mm de diamètre. Les résultats de l'activité antibactérienne de cet extrait contre *S. aureus* (ATCC 6538) est très faible, avec un diamètre d'inhibition de seulement 6,5 mm, et compris le diamètre de disque de 6 mm.

4.1.2.2 Souches AC31

Concernant l'extrait obtenu à partir du mycélium de la souche AC31, qui conserve la couleur jaune caractéristique du mycélium initial, les résultats du test d'antibiogramme réalisé à l'aide de la méthode des disques de papier de 6 mm de diamètre ne présentent aucune activité contre la souche test *S. aureus* (ATCC 6538).

4.6 Etudes spectroscopiques des extraits bruts

4.1.3 Détection des polyènes par spectroscopie UV-visible

L'extrait butanolique des filtrats de culture des deux souches AC10 et AC31 sont analysés par spectroscopie UV-visible afin de détecter la présence éventuelle des polyènes. Les spectres obtenus (Figure 25) sont exempts des pics d'absorption caractéristiques des polyènes, ce qui indique que les antibiotiques des deux souches ne sont pas de nature polyénique. Les maxima d'absorption dans l'extraits de la souche AC31 sont notés à 203, 229 et 275 nm, et dans l'extraits de la souche AC10 à 201nm.

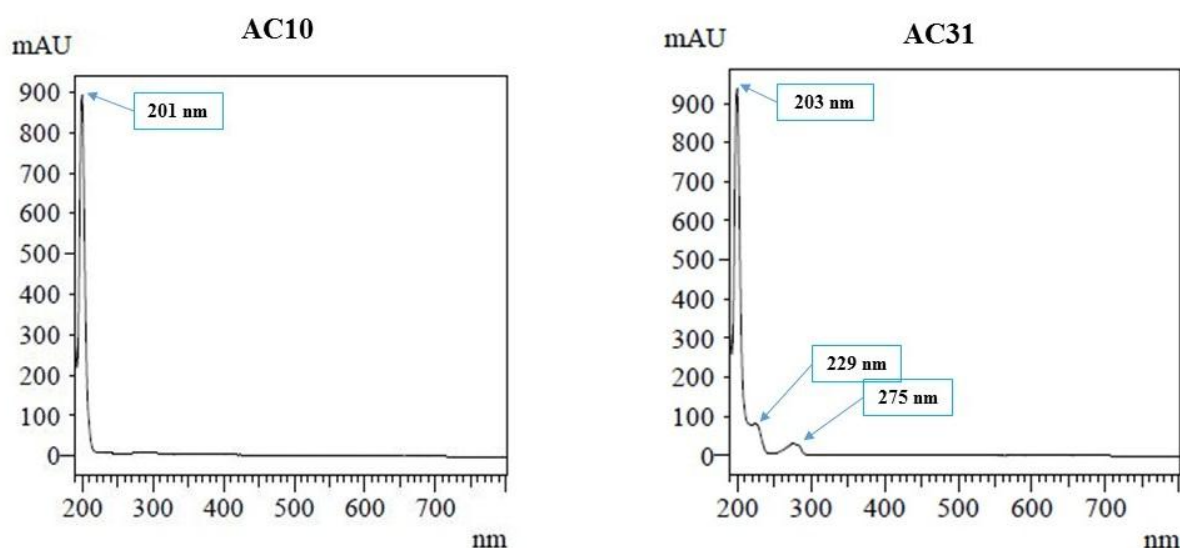


Figure 25 : Spectre d'absorption dans l'UV-visible des extraits butanolique des souches AC10 et AC31.

4.7 Chromatographie sur couche mince CCM

Deux systèmes de solvants de migration, à savoir AM (acétate d'éthyle-méthanol, 100:15, v/v) et BAE (n-butanol-acide acétique-eau, 3:1:1, v/v/v), ont été évalués pour l'éluion de l'extrait butanolique de la souche AC31 et AC10. Le système BAE a été sélectionné pour les analyses chimiques et les purifications en raison de sa capacité à offrir une meilleure séparation des taches, observables sous UV et à l'œil nu, par rapport au système AM.

4.1.3.1 Souches AC10

L'extrait butanolique du filtrat de culture de la souche AC10 est analysé par chromatographie sur couche mince de gel de silice en utilisant le système de solvant BAE. La figure 26 présente les résultats de cette chromatographie, mettant en évidence une tache visible sous UV à 365 nm. Cette tâche est nommée B1 et présente un Rf de 0,64.

4.1.3.2 Souches AC31

Les résultats de la séparation par chromatographie sur couche mince (CCM) des différentes fractions de l'extrait butanolique provenant du filtrat de culture de la souche AC31 sont présentés dans la figure 26, montrant les taches visibles sous UV à 254 nm et 365 nm après migration sur le système de solvants BAE. Quatre taches ont été identifiées : la tache A1 avec un Rf de 0,62, la tache A2 avec un Rf de 0,71, la tache A3 avec un Rf de 0,81, et la tache A4 avec un Rf de 0,92.

4.1.4 Révélations des groupements chimiques des antibiotiques

4.1.4.1 Souche AC10

Les plaques de chromatographie sur couche mince (CCM) de l'extrait butanolique de la souche AC10 ont été soumises à des révélations chimiques. Toutes les révélations chromogéniques, y compris l'utilisation des réactifs de Dragendorff, de la vanilline-H₂SO₄ et du FeCl₃, se sont avérées négatives pour la tache B1, à l'exception de la ninhydrine (révélateur des amines), où la tache a affiché une couleur violette en réaction avec ce réactif (Figure 19.1).

4.1.4.2 Souche AC31

Les révélations chromogéniques des plaques CCM de l'extrait butanolique de la souche AC31, avec les réactifs de Dragendorff, de la vanilline-H₂SO₄ et du FeCl₃, se sont également toutes révélées négatives pour les taches A1, A2, A3 et A4, à l'exception de la ninhydrine. La tache A2 a montré une couleur orange claire, tandis que les taches A3 et A4 ont affiché une couleur rose. Contrairement à la tache A1, qui n'a pas réagi avec ce réactif. (Figure 26.2,3).

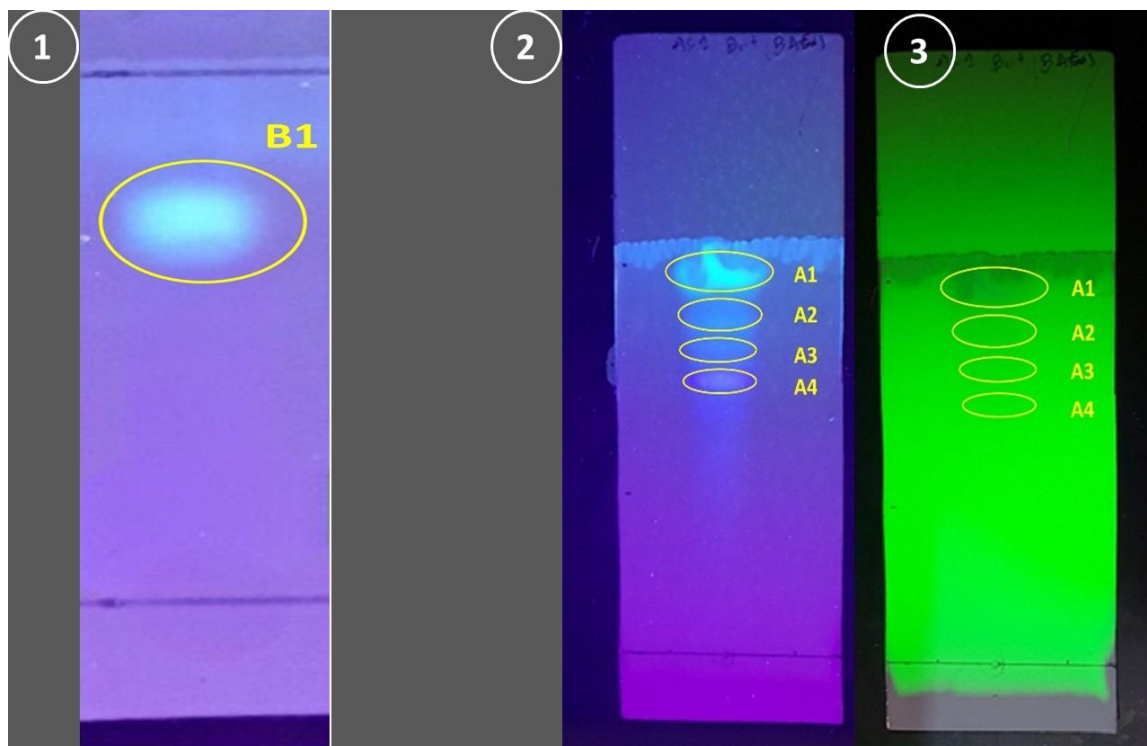


Figure 26 : Localisation, par chromatographie sur couche mince (CCM), des fractions de l'extrait butanolique du filtrat de culture de la souche AC10 et AC31 cultivée sur bouillon ISP2

(1: Chromatogramme de la souche AC10 sous UV 365 nm, 2 : chromatogramme de la souche AC31 sous UV 365 nm, 3 : chromatogramme de la souche AC10 sous UV 254 nm, A1, A2, A3, A4 : taches de l'extrait butanolique de la souche AC31, B1: tache de l'extrait butanolique de la souche AC10).

4.8 Chromatographie flash

La méthode de chromatographie flash, employée pour l'isolement des substances antimicrobienne, ne peut pas détecter les composés dépourvus de chromophores. Cependant, l'intégration de la détection par diffusion de lumière évaporée (ELSD), en complément de la détection UV, permet de détecter et d'isoler à la fois les composés chromophores et non chromophores (qui ne possèdent pas de chromophore absorbant les UV) en une seule course. Par la suite, les fractions collectées des pics dans les chromatogrammes (figure 27 et 28) ont été soumises à des tests d'antibiographie afin de repérer celles contenant des substances antibiotiques.

4.1.5 Souche AC10

L'extrait butanolique brut concentré de couleur jaune foncé de la souche AC10 est analysé par chromatographie flash Reveleris X2 (Grace Discovery Sciences, Deerfield, IL, États-Unis) en mode isocratique.

Tableau 20: Fractions obtenues par chromatographie flash de l'extrait butanolique de la souche AC10 et leur activité vis-à-vis *B.subtilis*JH642

Fraction	Temps de collecte (min)	Zone d'inhibition (mm) <i>B. subtilis</i> JH642
P1	3	0
P2	3,4	0
P3	5	0
P4	6	0
P5	8	0
P6	9	1
P7	11	0,5
P8	13	0
P9	14,4	0
P10	16,5	0
P11	18	0
P12	21	0

Le diamètre des disques (10 mm) n'est pas compris dans les zones d'inhibition.

Douze fractions sont récoltées (tableau 20) en fonction de leurs temps de collecte, puis testées par antibiographie vis-à-vis de *B.subtilis* JH642. Les tests ont révélé que les fractions P6 et P7 sont actives, avec une zone d'inhibition de 1 et 0,5 mm respectivement (Figure 29.A). Le diamètre du disque (10 mm) n'est pas compris dans les valeurs indiquées.

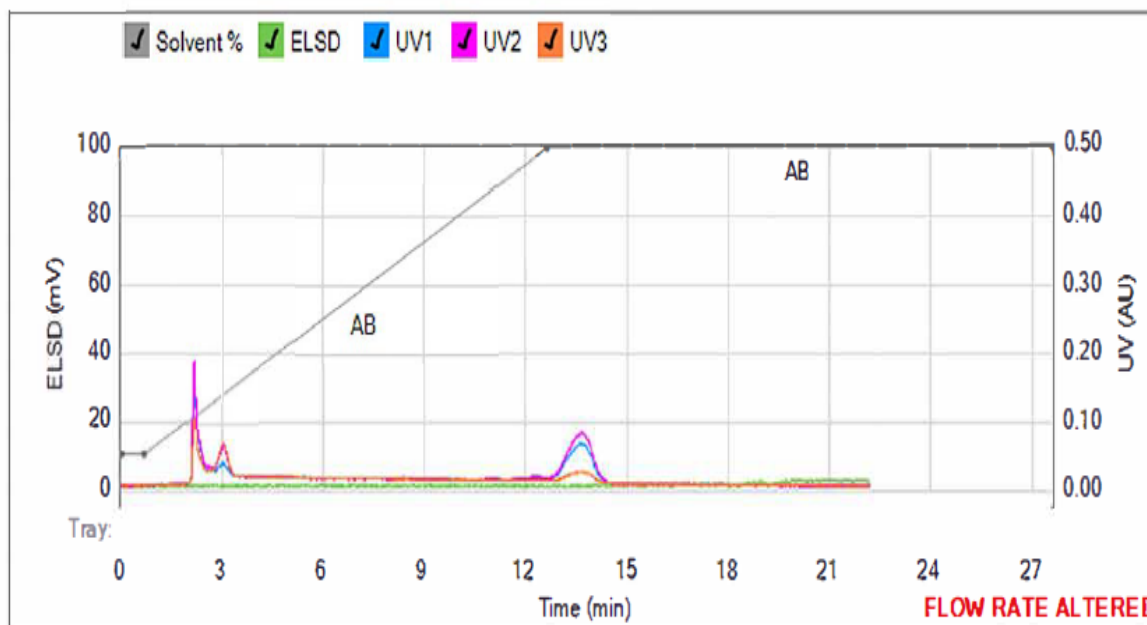


Figure 27 : Chromatographie flash de l'extrait butanolique de la souche AC10

4.1.6 Souche AC31

Pour l'extrait butanolique de la souche AC31 analysé dans les mêmes conditions par chromatographie flash Reveleris X2 (Grace Discovery Sciences, Deerfield, IL, États-Unis)

Tableau 21 : Fractions obtenues par chromatographie flash de l'extrait butanolique de la souche AC31 et leur activité vis-à-vis *B.subtilis*JH642

Fraction	Temps de collecte (min)	Zone d'inhibition (mm) <i>B. subtilis</i> JH642
F1	3	0
F2	6	0
F3	9	0
F4	11	4
F5	13	0,5
F6	15	0
F7	18	0
F8	24	0

Note : Le diamètre des disques (10 mm) n'est pas compris dans les zones d'inhibition.

Huit fractions sont collectées (tableau 21) et testées vis-à-vis de *B. subtilis* JH642, révélant deux fractions actives, F4 et F5, avec une zone d'inhibition de 4 et 0,5 mm respectivement (Figure 29.B). Le diamètre du disque (10 mm) n'est pas compris dans les valeurs indiquées.

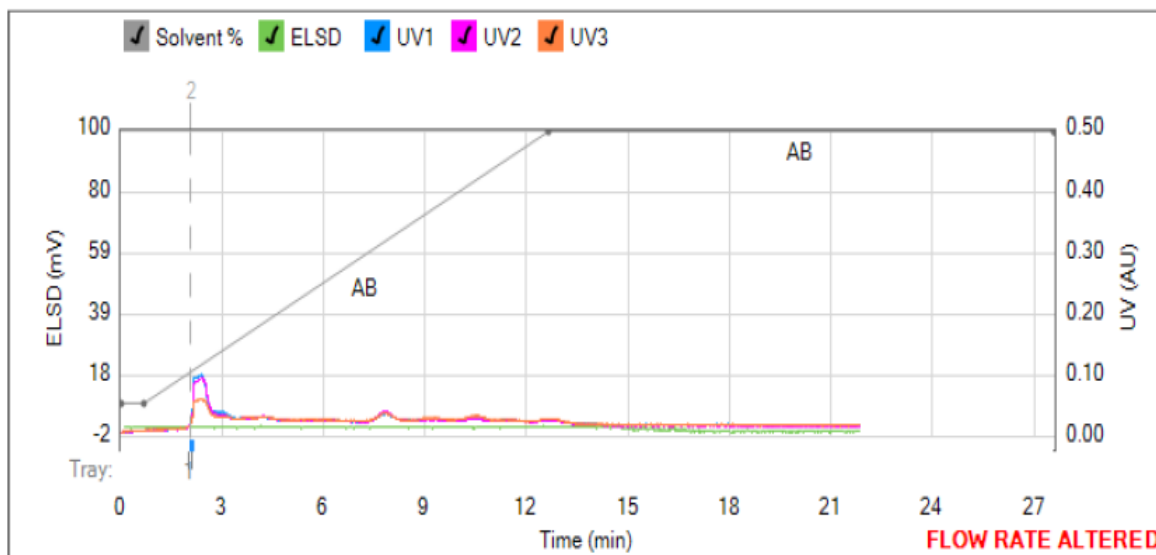


Figure 28 : Chromatographie flash de l'extrait butanolique de la souche AC31.

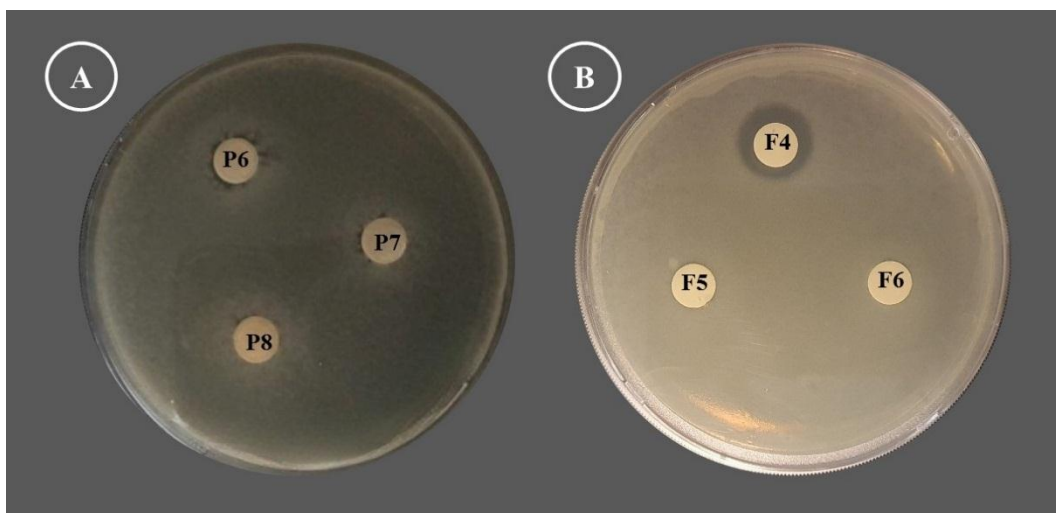


Figure 29: Révélation par antibiographie des activités antibiotiques des fractions des extraits butanolique du filtrat de culture des deux souches AC10 et AC31 (F4, F5et F6: fractions active de la souche AC31. P6 et P7 : fractions active de la souche AC10).

4.9 Discussion

L'extraction des produits actifs à partir des filtrats de culture des souches de *Streptomyces* AC10 et AC31 sur milieu ISP2 en utilisant le n-butanol, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane et l'hexane a donné des résultats presque similaires. Le n-butanol s'est révélé être le solvant d'extraction optimal en raison de son pouvoir d'extraction élevé, extrayant non seulement les antibiotiques mais aussi de nombreuses autres impuretés qui peuvent gêner les purifications par HPLC, le dichlorométhane a été choisi par (KHEBIZI, n.d.) pour l'extraction

des composés antifongiques, tandis que l'acétate d'éthyle a été privilégié pour l'extraction des composés antibactériens. Selon Boubetra *et al.*, 2013; Lamari *et al.*, 2002; Smaoui *et al.*, 2012 ces deux solvants, en particulier le dichlorométhane, ont toujours donné de bons résultats avec peu d'impuretés lors de l'extraction des antibiotiques.

Les spectres UV-visibles des extraits butanoliques bruts des souches AC10 et AC31 ne présentent pas de pics d'absorption caractéristiques des polyènes, ce qui suggère que les antibiotiques présents ne sont pas de nature polyénique. En effet, les polyènes se caractérisent généralement par trois maxima d'absorption qui varient en fonction du nombre de leurs doubles liaisons conjuguées. Ces trois maximas, dont les valeurs sont bien documentées, ne sont pas observés dans les extraits bruts des souches de *Streptomyces* examinées. Ce résultat est significatif étant donné que les polyènes sont réputés pour leur toxicité et leur instabilité, ce qui les écarte des programmes de recherche de nouveaux antibiotiques (Arendrup, 2014 ; Delarze & Sanglard, 2015). La présence d'un pic d'absorption à 275 nm confirme la présence d'au moins un noyau aromatique dans l'extrait butanolique de la souche AC31 (BOUDJELAL-BENCHEIKH, 2012).

L'analyse chromatographique sur couche mince a révélé que le système d'élution BAE (n-butanol-acide acétique-eau, 3:1:1, v/v/v) permet une meilleure séparation des taches des extraits butanoliques des souches AC10 et AC31. En revanche, dans le système de solvant A.M. (acétate d'éthyle-méthanol, 100:15; v/v), la séparation est moins satisfaisante ; de plus, les taches migrent très faiblement (Boudjelal-bencheikh, 2012), ce qui est en contradiction avec les résultats de (Aouiche, 2013 ; Toumatia, 2015) où le même système de solvant (AM) a permis de réaliser de bonnes séparations des molécules moyennement polaires. La révélation chimique des plaques de chromatographie sur couche mince (CCM) a révélé la présence de composés aminés dans l'extrait brut de la souche AC31, comme en témoigne la réaction positive des fractions A2, A3 et A4, ainsi que de la fraction B1 de la souche AC10, mise en évidence par une coloration rose et violet suite à l'exposition au ninhydrine, un réactif révélateur des amines. Cette observation souligne la présence significative de composés aminés dans les antibiotiques produits par les deux souches AC10 et AC31. Cette caractéristique chimique des amines présentes dans les antibiotiques a également été constatée chez le genre *Streptomyces* et d'autres genres d'actinobactéries, comme en témoignent diverses études antérieures (Meklat, 2012 ; Aouiche, 2013, Toumatia 2015).

La chromatographie flash a été initialement conçue pour une purification rapide et facile (Still *et al.*, 1978). Cette méthode procure des résultats rapides et de haute qualité, ainsi qu'une capacité de charge élevée, ce qui en fait un outil adapté à la séparation à grande échelle des produits (Kustrin *et al.*, 2022). Deux des douze fractions collectées de l'extrait butanolique de la souche AC10, à savoir P6 et P7, ont montré une activité contre *B. subtilis*. De plus, deux autres fractions, F4 et F5, de l'extrait butanolique de la souche AC31 ont également présenté une activité similaire. Ces résultats mettent en évidence le potentiel de cette méthode dans la recherche sur les produits naturels pour séparer des mélanges complexes, un potentiel qui n'a pas encore été pleinement exploité (Chen *et al.*, 2015).

4.10 Conclusion

En conclusion, l'extraction des produits actifs à partir des filtrats de culture des souches de *Streptomyces* AC10 et AC31 a été réalisée avec succès en utilisant différents solvants, notamment le n-butanol, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane et l'hexane. Le n-butanol s'est avéré être le solvant d'extraction optimal en raison de son efficacité à extraire les antibiotiques tout en minimisant la présence d'impuretés indésirables. Les résultats des spectres UV-visibles ont confirmé l'absence de pics d'absorption caractéristiques des polyènes, suggérant que les antibiotiques extraits ne sont pas de nature polyénique, ce qui est encourageant étant donné la toxicité associée à ces composés. De plus, la présence d'un pic d'absorption à 275 nm dans l'extrait butanolique de la souche AC31 indique la présence d'au moins un noyau aromatique. L'analyse chromatographique sur couche mince a révélé que le système d'élution BAE était plus efficace pour séparer les composés que le système A.M., soulignant ainsi l'importance du choix du solvant dans ce processus. De plus, la détection de composés aminés dans les antibiotiques extraits, confirmée par la réaction positive au ninhydrine, met en lumière une caractéristique chimique importante de ces produits. En outre, la chromatographie flash s'est avérée être une méthode efficace pour la séparation des produits, comme en témoignent les fractions actives identifiées.

En conclusion, ces résultats soulignent le potentiel de ces techniques dans la recherche sur les produits naturels et les antibiotiques, offrant des perspectives prometteuses pour la purification et l'identification de composés d'intérêt.

Conclusion générale

Conclusion Générale et perspectives

Les substances antimicrobiennes jouent un rôle crucial dans la lutte contre les maladies infectieuses, offrant une solution vitale pour lutter les agents pathogènes. Avec l'augmentation du phénomène de la résistance aux antibiotiques, il est impératif de développer de nouvelles molécules antimicrobiennes pour contrer cette menace croissante pour la santé publique.

Dans cette optique, plusieurs études ont démontré que l'exploration des biotopes naturels et d'autres biotopes similaires, tels que les sols sahariens, offre une perspective prometteuse. Les sols sahariens sont des biotopes caractérisés par des conditions environnementales extrêmes, faisant d'eux des sources inépuisables de substances antimicrobiennes uniques. En effet, les microorganismes présents dans ces environnements hostiles ont développé des mécanismes de défense particuliers, ce qui en fait deux des candidats idéaux pour la découverte de nouvelles substances antimicrobiennes et en particulier antibiotiques.

Notre étude a été menée à partir de quatre échantillons de sol provenant de différentes régions d'El Atteuf, notamment Tammou El Maleh, la Vallée de Mzab, El Jaoua et Aoulaoual, caractérisées par des types d'environnements variés, allant de montagneux à des oasis et une vallée. Les analyses physico-chimiques ont révélé un pH moyennement alcalin, une faible teneur en matière organique, avec une forte teneur en sels typiques des régions arides. La granulométrie des sols montre une texture sable limoneux, sauf pour le sol d'Aoulaoual qui présente une texture sable grossier.

Le dénombrement des bactéries actinobactéries dans chaque échantillon de sol a révélé une densité variable, avec une densité plus élevée dans le sol d'Aoulaoual influencée par les différences physico-chimiques telles que la teneur en matière organique, la salinité et la texture du sol.

L'isolement des actinobactéries sur milieu chitine-vitamines agar a permis d'obtenir 32 isolats d'actinobactéries avec une diversité morphologique, physiologique et moléculaire remarquable dont la majorité présentait les caractéristiques morphologiques du genre *Streptomyces*. Les genres les plus faiblement représentés, à des deux équitables, sont: *Streptosporangium*, *Nocardiopsis* *Nocardia* et *Actinomadura*.

En outre, les analyses moléculaires des deux souches AC10 et AC31 isolées des sols d'Aoulaoual et d'El Djaoua, respectivement ; ont montrés une homologie de

100% avec les séquences partielles du gène de l'ARNr 16S des espèces *Streptomyces fimbriatus* souche NBRC 15411^T et *Streptomyces pactum* MH542148, respectivement; confirmant ainsi la classification taxonomique des isolats obtenus.

Le criblage de l'activité antimicrobienne des 32 isolats d'actinobactéries vis-à-vis des cinq microorganismes pathogènes par la technique des stries croisées a montré des résultats meilleurs que celle des cylindres d'agar, dont 24 isolats ont montré une activité antibactérienne contre les bactéries Gram-positives, et 21 isolats étaient actifs contre les bactéries Gram-négatives. De plus, la levure pathogène *C. albicans* (ATCC 10231) a été inhibée par 25 isolats. Parmi les 32 actinomycètes testés, 29 isolats ont démontré une activité contre au moins l'une des 5 souches cibles, avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 44 mm pour AC31 contre *C. albicans* (ATCC 10231). 27 isolats étaient actifs contre *B. subtilis* (ATCC 6633), suivi de 25 isolats contre *C. albicans* (ATCC 10231), 25 isolats contre *S. aureus* (ATCC 6538), 24 isolats contre *E. coli* (ATCC 8739), et 23 isolats contre *S. typhimurium* (ATCC 13331).

L'étude a mis en évidence aussi l'activité antimicrobienne des souches *Streptomyces* criblées AC10 et AC31 qui ont démontrés un large spectre d'activité antimicrobienne, ce qui renforce leur potentiel comme agents antimicrobiens polyvalents dont les caractéristiques des sols d'origine et les facteurs environnementaux contribuaient au développement de leurs capacités antimicrobiennes.

La caractérisation des substances actives des souches de *Streptomyces* AC10 et AC31 a été accomplie en utilisant une variété de solvants, parmi lesquels le n-butanol s'est distingué comme étant le plus efficace pour l'extraction des antibiotiques.

Les analyses par spectrophotométrie UV-visible ont confirmé l'absence de caractéristiques d'absorption typiques des polyènes, mais ont révélé un pic d'absorption à 275 nm dont l'extrait butanolique de la souche AC31, suggérant la présence d'au moins un noyau aromatique. Les essais chromatographiques sur couche mince ont mis en évidence que le système d'élution BAE surpassait le système AM pour la séparation des composés, mettant ainsi en lumière l'importance du choix du solvant. En outre, la nature aminé des antibiotiques extraits, de la souche AC10 et AC 31 a été confirmée par une réaction positive au ninhydrine et la présence, en plus, d'un noyau aromatique dans l'antibiotique de la souche AC31.

Dans l'ensemble, ces résultats soulignent le potentiel de ces techniques dans l'étude des produits naturels et des antibiotiques, ouvrant la voie à la purification et à l'identification des

antibiotiques produits ainsi que leur utilisation comme traitement efficace pour lutter contre les microorganismes pathogènes résistant aux antibiotiques et le traitement des maladies infectieuses.

Les perspectives qui découlent de ce travail sont nombreuses qui encouragent à la poursuite des études selon les grandes lignes suivantes :

- L'identification moléculaire de tous les isolats d'actinobactéries
- L'optimisation des conditions de production antibiotiques en milieu liquide (sources de carbone et d'azote, éléments minéraux, aération, pH, etc.).
- Purification antibiotiques produits par HPLC, LCMS et déterminer la structure finale de l'antibiotique par les études spectroscopiques (UV, RMN ^1H et ^{13}C) et spectrométrie (masse).
- Etude de la stabilité de l'activité des antibiotiques aux agents physique et chimique.
- Réaliser des tests in vivo des antibiotiques produits.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Adegboye, M.F., Babalola, O.O., 2012. Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. *Afr J Agric Res* 7, 2255–2261.
- AL BARI, M.A.A., Sayeed, M.A., Rahman, M.S., Mossadik, M.A., 2006. Characterization and antimicrobial activities of a phenolic acid derivative produced by *Streptomyces bangladeshiensis* a novel specis collected in Bangladesh.
- Ali, A., Guo, D., Mahar, A., Ma, F., Li, R., Shen, F., Wang, P., Zhang, Z., 2017. *Streptomyces pactum* assisted phytoremediation in Zn/Pb smelter contaminated soil of Feng County and its impact on enzymatic activities. *Sci. Rep.* 7, 46087. <https://doi.org/10.1038/srep46087>
- Allan, E.J., Prosser, J.I., 1983. Mycelial growth and branching of *Streptomyces coelicolor* A3 (2) on solid medium. *Microbiology* 129, 2029–2036.
- Alvarez, A., Saez, J.M., Costa, J.S.D., Colin, V.L., Fuentes, M.S., Cuozzo, S.A., Benimeli, C.S., Polti, M.A., Amoroso, M.J., 2017. *Actinobacteria*: current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals. *Chemosphere* 166, 41–62.
- Aly, M.M., Tork, S., Al-Garni, S.M., Nawar, L., 2012. Production of lipase from genetically improved *Streptomyces exfoliates* LP10 isolated from oil-contaminated soil. *Afr J Microbiol Res* 6, 1125–1137.
- Al-Zarban, S.S., Al-Musallam, A.A., Abbas, I., Stackebrandt, E., Kroppenstedt, R.M., 2002. *Saccharomonospora halophila* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from marsh soil in Kuwait. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 555–558.
- Amanullah, A., Jüsten, P., Davies, A., Paul, G.C., Nienow, A.W., Thomas, C.R., 2000. Agitation induced mycelial fragmentation of *Aspergillus oryzae* and *Penicillium chrysogenum*. *Biochem. Eng. J.* 5, 109–114.
- Ammar, Y.B., Matsubara, T., Ito, K., Iizuka, M., Limpaseni, T., Pongsawasdi, P., Minamiura, N., 2002. New action pattern of a maltose-forming alpha-amylase from *Streptomyces* sp. and its possible application in bakery. *J. Biochem. Mol. Biol.* 35, 568–575.
- Anderson, A.S., Wellington, E.M., 2001. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 797–814. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-797>
- Anguzu, J.R., Olila, D., 2007. Drug sensitivity patterns of bacterial isolates from septic post-operative wounds in a regional referral hospital in Uganda. *Afr. Health Sci.* 7.

- Anukool, U., Gaze, W.H., Wellington, E.M., 2004. In situ monitoring of streptothricin production by *Streptomyces rochei* F20 in soil and rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 5222–5228.
- Aouiche, A., 2013. Taxonomie et antibiotiques de quelques souches de *Streptomyces* et de *Saccharothrix* des sols de Ghardaïa actives contre des microorganismes pathogènes et toxigène pour l'Homme (PhD Thesis). Thèse de Doctorat, Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger.
- Aouiche, A., Meklat, A., Bijani, C., Zitouni, A., Sabaou, N., Mathieu, F., 2015. Production of vineomycin A1 and chaetoglobosin A by *Streptomyces* sp. PAL114. *Ann. Microbiol.* 65, 1351–1359. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0973-1>
- Arasu, M.V., Duraipandiyar, V., Agastian, P., Ignacimuthu, S., 2008. Antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. ERI-26 recovered from Western Ghats of Tamil Nadu. *J. Mycol. Médicale* 18, 147–153.
- Arifiyanto, A., Surtiningsih, T., Agustina, D., Alami, N.H., 2020. Antimicrobial activity of biosurfactants produced by actinomycetes isolated from rhizosphere of Sidoarjo mud region. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 24, 101513.
- Ashraf, N., Bechthold, A., Anwar, M.A., Ghauri, M.A., Anjum, M.S., Khan, A.N., Akhtar, K., Khaliq, S., 2021. Production of a broad spectrum streptothricin like antibiotic from halotolerant *Streptomyces fimbriatus* isolate G1 associated with marine sediments. *Folia Microbiol. (Praha)* 66, 639–649.
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M.I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M.H., Nisar, M.A., Alvi, R.F., Aslam, M.A., Qamar, M.U., 2018. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect. Drug Resist.* 11, 1645.
- Athalye, M., Goodfellow, M., Lacey, J., White, R.P., 1985. Numerical Classification of *Actinomadura* and *Nocardiosis*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 35, 86–98. <https://doi.org/10.1099/00207713-35-1-86>
- Aubert, G., 1960. Les sols de la zone aride: étude de leur formation, de leurs caractères, de leur utilisation et de leur conservation. *Act Coll* 127–150.
- Azzeddine, B., Abdelaziz, M., Estelle, C., Mouloud, K., Nawel, B., Nabila, B., Francis, D., Said, B., 2013. Optimization and partial characterization of endoglucanase produced by *Streptomyces* sp. B-PNG23. *Arch. Biol. Sci.* 65, 549–558.
- Barka, E.A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., van Wezel, G.P., 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80, 1–43.

- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M., 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45, 493–496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493
- Becker, B., Lechevalier, M.P., Lechevalier, H.A., 1965. Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various form-genera of aerobic actinomycetes. *Appl. Microbiol.* 13, 236–243.
- Becking, J.H., 1974. Family III. Frankiaceae Becking 1970. *Bergeys Man. Determinative Bacteriol.* Buchanan RE Gibbon NE Eds 8th Ed Williams Wilkins Co Baltim. Pp 701-706.
- Belghit, S., Driche, E.H., Bijani, C., Zitouni, A., Sabaou, N., Badji, B., Mathieu, F., 2016. Activity of 2, 4-Di-tert-butylphenol produced by a strain of *Streptomyces mutabilis* isolated from a Saharan soil against *Candida albicans* and other pathogenic fungi. *J. Mycol. Medicale* 26, 160–169.
- Berdy, J., 2005. Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiot. (Tokyo)* 58, 1–26.
- Bérdy, J., 1987. Microbial metabolites. *CRC Handb. Antibiot. Compd.*
- Bhattacharya, D., Nagpure, A., Gupta, R.K., 2007. Bacterial Chitinases: Properties and Potential. *Crit. Rev. Biotechnol.* 27, 21–28. <https://doi.org/10.1080/07388550601168223>
- Bogdanovich, T., Ednie, L.M., Shapiro, S., Appelbaum, P.C., 2005. Antistaphylococcal Activity of Ceftobiprole, a New Broad-Spectrum Cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 4210–4219. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.10.4210-4219.2005>
- Boubetra, D., Zitouni, A., Bouras, N., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P., Sabaou, N., 2013. *Saccharothrix hoggarensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63, 549–553. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.039099-0>
- Boudemagh, A., Kitouni, M., Boughachiche, F., Hamdiken, H., Oulmi, L., Reghioua, S., Zerizer, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., 2005. Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra, EL-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *J. Mycol. Médicale* 15, 39–44.
- Boudjelal, F., Zitouni, A., Bouras, N., Spröer, C., Klenk, H.-P., Smaoui, S., Mathieu, F., 2023. Rare Halophilic *Nocardiosis* from Algerian Saharan Soils as Tools for Biotechnological Processes in Pharmaceutical Industry. *BioMed Res. Int.* 2023.

- BOUDJELAL-BENCHEIKH, F., 2012. Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97 (PhD Thesis).
- BOUDJELLA, H., 2007. Étude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens (PhD Thesis). INA.
- Boudjella, H., 1994. Influence des milieux de culture, des antibiotiques et du prétraitement des échantillons à la chaleur sur la sélection des genres et des espèces d'actinomycètes rares de quelques sols sahariens. Magister Microbiol. ENS Kouba Algér.
- Boudjella, H., Zitouni, A., Coppel, Y., Mathieu, F., Monje, M.-C., Sabaou, N., Lebrihi, A., 2010. Antibiotic R2, a new angucyclinone compound from *Streptosporangium* sp. Sg3. J. Antibiot. (Tokyo) 63, 709–711.
- Bouras, N., Meklat, A., Zitouni, A., Mathieu, F., Schumann, P., Spröer, C., Sabaou, N., Klenk, H.-P., 2015. *Nocardiopsis algeriensis* sp. nov., an alkalitolerant actinomycete isolated from Saharan soil. Antonie Van Leeuwenhoek 107, 313–320.
- Brandelli, A., 2008. Bacterial keratinases: useful enzymes for bioprocessing agroindustrial wastes and beyond. Food Bioprocess Technol. 1, 105–116.
- Breton, A., Theilleux, J., Sanglier, J.J., Viobis, G., 1989. Organismes producteurs: biologie, taxonomie et écologie. Larpent JP Sanglier JJ Eds Biotechnol. Antibiot. Masson Paris 33–70.
- Bull, A.T., Stach, J.E., 2007. Marine actinobacteria: new opportunities for natural product search and discovery. Trends Microbiol. 15, 491–499.
- Bushell, M.E., 1988. Growth, product formation and fermentation technology. Actinomycetes Biotechnol. 185–217.
- Bycroft, B.W., Payne, D.J., 2013. Dictionary of antibiotics and related substances: with CD-ROM. CRC Press.
- Camille, D., 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed. Lavoisier P 128, 129–269.
- Chargaff, E., Vischer, E., Doniger, R., Green, C., Misani, F., 1949. The composition of the desoxypentose nucleic acids of thymus and spleen. J. Biol. Chem. 177, 405–416.
- Chater, K.F., 1993. Genetics of differentiation in *Streptomyces*. Annu. Rev. Microbiol. 47, 685–711. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.47.100193.003345>
- Chen, C., Chen, T., Liu, Y., Zou, D., You, J., Li, Y., 2015. Rapid Screening, Identification, Separation, and Purification of Four Bioactive Compounds from *Swertia mussotii*

- Franch. Sep. Sci. Technol. 50, 604–610.
<https://doi.org/10.1080/01496395.2014.957316>
- Chen, L., Wang, G., Bu, T., Zhang, Y., Wang, Y., Liu, M., Lin, X., 2010. Phylogenetic analysis and screening of antimicrobial and cytotoxic activities of moderately halophilic bacteria isolated from the Weihai Solar Saltern (China). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 879–888.
- Chiba, H., Inokoshi, J., Okamoto, M., Asanuma, S., Matsuzaki, K., Iwama, M., Mizumoto, K., Tanaka, H., Oheda, M., Fujita, K., 2001. Actinohivin, a novel anti-HIV protein from an actinomycete that inhibits syncytium formation: isolation, characterization, and biological activities. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 282, 595–601.
- Chopra, I., Hesse, L., O'Neill, A.J., 2002. Exploiting current understanding of antibiotic action for discovery of new drugs. *J. Appl. Microbiol.* 92, 4S-15S.
- Colombié, V., 2005. Description de la production de spiramycine par *Streptomyces ambofaciens*. Modélisation métabolique, simulation et capteur logiciel. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.
- Colwell, R.R., 1970. Polyphasic taxonomy of the genus *Vibrio*: numerical taxonomy of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and related *Vibrio* species. *J. Bacteriol.* 104, 410–433.
- Conn, V.M., 2005. Molecular interactions of endophytic actinobacteria in wheat and arabidopsis. Flinders University, Department of Medical Biotechnology.
- Cross, T., 1981. Aquatic actinomycetes: a critical survey of the occurrence, growth and role of actinomycetes in aquatic habitats. *J. Appl. Bacteriol.* 50, 397–423.
- Cwala, Z., Igbinosa, E.O., Okoh, A.I., 2011. Assessment of antibiotics production potentials in four actinomycetes isolated from aquatic environments of the Eastern Cape Province of South Africa. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 5, 118–124.
- Daigham, G.E., Mahfouz, A.Y., 2020. Isolation, characterization, and screening of actinomycetes producing bioactive compounds from Egyptian soil. *Egypt. Pharm. J.* 19, 381.
- Daoud, Y., Halitim, A., 1994. Irrigation et salinisation au Sahara algérien. *Sci. Chang. Planétaires Sécheresse* 5, 151–160.
- Daza, A., Martín, J.F., Dominguez, A., Gil, J.A., 1989. Sporulation of several species of *Streptomyces* in submerged cultures after nutritional downshift. *Microbiology* 135, 2483–2491.

- DELAUNAY, S., RONDAGS, E., GERMAIN, P., 2003. Production d'antibiotiques par biotechnologies. Ed. Techniques Ingénieur.
- Demain, A.L., 2006. From natural products discovery to commercialization: a success story. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33, 486–495.
- Devereux, R., He, S.H., Doyle, C.L., Orkland, S., Stahl, D.A., LeGall, J., Whitman, W.B., 1990. Diversity and origin of *Desulfovibrio* species: phylogenetic definition of a family. *J. Bacteriol.* 172, 3609–3619. <https://doi.org/10.1128/jb.172.7.3609-3619.1990>
- Ding, P., Bai, J.-L., Wang, T.-T., Sun, Y., Cao, C.-L., Jiang, J.-H., Qin, S., 2018. *Nocardia rhizosphaerihabitans* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a coastal soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 68, 192–197.
- Dixit, V.S., Pant, A., 2000. Comparative characterization of two serine endopeptidases from *Nocardioopsis* sp. NCIM 5124. *Biochim. Biophys. Acta BBA-Gen. Subj.* 1523, 261–268.
- Dommergues, Y., Mangenot, F., 1970. *Ecologie microbienne du sol*. Masson Paris.
- Driche, E., 2010. Recherche des *Streptomyces* actifs contre quelques bactéries pathogènes multi-résistantes aux antibiotiques. Mém. Magister En Microbiol. ENS Kouba.
- Driche, E.H., Belghit, S., Bijani, C., Zitouni, A., Sabaou, N., Mathieu, F., Badji, B., 2015. A new *Streptomyces* strain isolated from Saharan soil produces di-(2-ethylhexyl) phthalate, a metabolite active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann. Microbiol.* 65, 1341–1350.
- Driche, E.H., Sabaou, N., Bijani, C., Zitouni, A., Pont, F., Mathieu, F., Badji, B., 2017. *Streptomyces* sp. AT37 isolated from a Saharan soil produces a furanone derivative active against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 33, 105. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2265-y>
- Dumitrescu, O., Dauwalder, O., Boisset, S., Reverdy, M.-É., Tristan, A., Vandenesch, F., 2010. Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*-Les points-clés en 2010. *médecine/sciences* 26, 943–949.
- Edwards, C., 1993. Isolation properties and potential applications of thermophilic actinomycetes. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 42, 161–179.
- El-Naggar, M.Y.M., 1997. Dibutyl phthalate and the antitumour agent F5A1, two metabolites produced by *Streptomyces nasri* submutant H35. *Biomed. Lett.* 125–131.
- El-Nakeeb, M.A., Lechevalier, H.A., 1963. Selective isolation of aerobic actinomycetes. *Appl. Microbiol.* 11, 75–77.

- Elwan, S.H., Diab, A., Al-Gounaim, M.Y., 1985. Ecology of the streptomycetes flora in the desert soil of Kuwait. *Syst. Appl. Microbiol.* 6, 99–104.
- Endo, A., Misato, T., 1969. Polyoxin D, a competitive inhibitor of UDP-N-acetylglucosamine: chitin N-acetylglucosaminyltransferase in *Neurospora crassa*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 37, 718–722.
- Euzeby, J.P., 2017. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature.(en-línea).
- Euzeby, J.P., 2003. Les taxons bactériens d'intérêt vétérinaire décrits en 2002. *Rev. Médecine Vét.* 154, 259–266.
- Falagas, M.E., Kastoris, A.C., Karageorgopoulos, D.E., Rafailidis, P.I., 2009. Fosfomycin for the treatment of infections caused by multidrug-resistant non-fermenting Gram-negative bacilli: a systematic review of microbiological, animal and clinical studies. *Int. J. Antimicrob. Agents* 34, 111–120.
- FEDUCHI, E., COSIN, M., CARRASCO, L., 1985. Mildiomycin: a nucleoside antibiotic that inhibits protein synthesis. *J. Antibiot. (Tokyo)* 38, 415–419.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *evolution* 39, 783–791.
- Felsenstein, J., 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J. Mol. Evol.* 17, 368–376.
- Fitch, W.M., 1971. Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Syst. Biol.* 20, 406–416.
- Gandhimathi, R., Seghal Kiran, G., Hema, T.A., Selvin, J., Rajeetha Raviji, T., Shanmughapriya, S., 2009. Production and characterization of lipopeptide biosurfactant by a sponge-associated marine actinomycetes *Nocardioopsis alba* MSA10. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 32, 825–835.
- Ganesan, P., Reegan, A.D., David, R.H.A., Gandhi, M.R., Paulraj, M.G., Al-Dhabi, N.A., Ignacimuthu, S., 2017. Antimicrobial activity of some actinomycetes from Western Ghats of Tamil Nadu, India. *Alex. J. Med.* 53, 101–110.
- Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G., 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer N. Y. Berl. Heidelb.
- Gazenko, S.V., Reponen, T.A., Grinshpun, S.A., Willeke, K., 1998. Analysis of airborne actinomycete spores with fluorogenic substrates. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4410–4415.
- George, S.P., Ahmad, A., Rao, M.B., 2001. Studies on carboxymethyl cellulase produced by an alkalothermophilic actinomycete. *Bioresour. Technol.* 77, 171–175.

- Gerber, N.N., Lechevalier, H.A., 1965. Geosmin, an Earthy-Smelling Substance Isolated from Actinomycetes. *Appl. Microbiol.* 13, 935–938. <https://doi.org/10.1128/am.13.6.935-938.1965>
- Ghanem, N.B., Sabry, S.A., El-Sherif, Z.M., El-Ela, G.A.A., 2000. Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 46, 105–111.
- Goodfellow, M., 1971. Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria. *Microbiology* 69, 33–80.
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M.E., Suzuki, K., Ludwig, W., Whitman, W.B., 2012. *Bergey's manual® of systematic bacteriology: Volume five the actinobacteria, part a.* Springer.
- Goodfellow, M., Stanton, L.J., Simpson, K.E., Minnikin, D.E., 1990. Numerical and chemical classification of Actinoplanes and some related actinomycetes. *J. Gen. Microbiol.* 136, 19–36. <https://doi.org/10.1099/00221287-136-1-19>
- Goodfellow, M., Williams, S.T., 1983. Ecology of actinomycetes. *Annu. Rev. Microbiol.* 37, 189–216.
- Gordon, R.E., Barnett, D.A., Handerhan, J.E., Pang, C.H.-N., 1974. *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica*, and the nocardin strain. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 24, 54–63.
- Gottlieb, D., 1973. General consideration and implications of the actinomycetales, in: *Society for Applied Bacteriology Symposium Series*. pp. 1–10.
- Grund, E., Kroppenstedt, R.M., 1990. Chemotaxonomy and Numerical Taxonomy of the Genus *Nocardiopsis* Meyer 1976. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 40, 5–11. <https://doi.org/10.1099/00207713-40-1-5>
- Guessoum, A., 2001. L'effet de l'irrigation sur la salinité du sol dans la région de Saada-Biskra. *Mém. Ing Agro Univ Batna Algér.* 50p.
- Gupta, R.S., 2011. Origin of diderm (Gram-negative) bacteria: antibiotic selection pressure rather than endosymbiosis likely led to the evolution of bacterial cells with two membranes. *Antonie Van Leeuwenhoek* 100, 171–182.
- Gurielidze, M., Berishvili, T., Cholokava, N., Pataraya, D., Nutsbidze, N., 2009. Oil destructing extremophilic Actinomycetes, isolated from various types of soil of Georgia. *Bull Georg Natl Acad Sci.* 3, 118–121.

- Guyonvarch, M.A., GOERGEN, M.J.-L., GERMAIN, M.P., 2006. Etude du métabolisme carboné chez *Streptomyces pristinaespiralis* (PhD Thesis). Institut National Polytechnique de Lorraine.
- Hagedorn, C., 1976. Influences of soil acidity on *Streptomyces* populations inhabiting forest soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 32, 368–375.
- Hain, T., Ward-Rainey, N., Kroppenstedt, R.M., Stackebrandt, E., Rainey, F.A., 1997. Discrimination of *Streptomyces albidoflavus* Strains Based on the Size and Number of 16S-23S Ribosomal DNA Intergenic Spacers. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 202–206. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-1-202>
- Hayakawa, M., Nonomura, H., 1987. Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *J. Ferment. Technol.* 65, 501–509.
- Hayakawa, M., Nonomura, H., 1984. HV agar, a new selective medium for isolation of soil actinomycetes, in: *Papers Presented at the Annual Meeting of the Actinomycetologists*. Osaka. Japan. p. 6.
- Hendlin, D., Stapley, E.O., Jackson, M., Wallick, H., Miller, A.K., Wolf, F.J., Miller, T.W., Chaiet, L., Kahan, F.M., Foltz, E.L., Woodruff, H.B., Mata, J.M., Hernandez, S., Mochales, S., 1969. Phosphonomycin, a New Antibiotic Produced by Strains of *Streptomyces*. *Science* 166, 122–123. <https://doi.org/10.1126/science.166.3901.122>
- Hobbs, G., Frazer, C.M., Gardner, D.C., Cullum, J.A., Oliver, S.G., 1989. Dispersed growth of *Streptomyces* in liquid culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 31, 272–277.
- Hodgson, D.A., 2000. Primary metabolism and its control in streptomycetes: a most unusual group of bacteria.
- Hodgson, D.A., 1992. Differentiation in actinomycetes, in: *SYMPOSIA-SOCIETY FOR GENERAL MICROBIOLOGY*. Cambridge University Press, pp. 407–407.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H., Staley, J.T., Williams, S.T., 1994. *Bergey's Manual of determinate bacteriology*.
- Hong, K., Gao, A.-H., Xie, Q.-Y., Gao, H., Zhuang, L., Lin, H.-P., Yu, H.-P., Li, J., Yao, X.-S., Goodfellow, M., 2009. Correction: Hong, K. et al. Actinomycetes for Marine Drug Discovery Isolated from Mangrove Soils and Plants in China. *Mar. Drugs* 2009, 7, 24–44. *Mar. Drugs* 7, 495–496.
- Horikoshi, K., 1999. Alkaliphiles: Some Applications of Their Products for Biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63, 735–750. <https://doi.org/10.1128/MMBR.63.4.735-750.1999>

- Ibnouf, E.O., Aldawsari, M.F., Waggiallah, H.A., 2022. Isolation and extraction of some compounds that act as antimicrobials from actinomycetes. *Saudi J. Biol. Sci.* 29, 103352.
- Inahashi, Y., Matsumoto, A., Ōmura, S., Takahashi, Y., 2011. *Streptosporangium oxazolinicum* sp. nov., a novel endophytic actinomycete producing new antitrypanosomal antibiotics, spoxazomicins. *J. Antibiot. (Tokyo)* 64, 297–302.
- Ishizawa, S., Araragi, M., 1976. Composition of actinomycete population in soil, in: *Actinomycetes: The Boundary Microorganisms*. University Park Press Baltimore, pp. 97–109.
- Jang, H.-D., Chang, K.-S., 2005. Thermostable cellulases from *Streptomyces* sp.: scale-up production in a 50-l fermenter. *Biotechnol. Lett.* 27, 239–242.
- Jaouadi, B., Abdelmalek, B., Fodil, D., Ferradji, F.Z., Rekik, H., Zeraï, N., Bejar, S., 2010. Purification and characterization of a thermostable keratinolytic serine alkaline proteinase from *Streptomyces* sp. strain AB1 with high stability in organic solvents. *Bioresour. Technol.* 101, 8361–8369.
- Jeffrey, L.S.H., 2008. Isolation, characterization and identification of actinomycetes from agriculture soils at Semongok, Sarawak. *Afr. J. Biotechnol.* 7.
- Jehl, F., Cattoen, C., 2016. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. *Recomm.* 2016 V1 0 Février 117.
- Jensen, P.R., Dwight, R., Fenical, W., 1991. Distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 1102–1108.
- Jiang, Y., Li, W.-J., Xu, P., Tang, S.-K., Xu, L.-H., 2006. Study on diversity of actinomycetes under salt and alkaline environments. *Wei Sheng Wu Xue Bao* 46, 191–195.
- Jordan, D.C., 1961. Effect of vancomycin on the synthesis of the cell wall mucopeptide of *Staphylococcus aureus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 6, 167–170.
- Jorgensen, J.H., Turnidge, J.D., 2015. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *Man. Clin. Microbiol.* 1253–1273.
- Jukes, T.H., Cantor, C.R., 1969. Evolution of protein molecules. *Mamm. Protein Metab.* 3, 21–132.
- Kahan, F.M., Kahan, J.S., Cassidy, P.J., Kropp, H., 1974. THE MECHANISM OF ACTION OF FOSFOMYCIN (PHOSPHONOMYCIN). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 235, 364–386. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1974.tb43277.x>

- Kar, S., Ray, R.C., 2008. Statistical optimization of α -amylase production by *Streptomyces erumpens* MTCC 7317 cells in calcium alginate beads using response surface methodology. *Pol. J. Microbiol.* 57, 49.
- Kawashima, N., Tokuda, J., Yagi, T., Takahashi, K., 2022. Isolation of a *Nocardioopsis chromatogenes* strain that degrades PLA (polylactic acid) in pig waste-based compost. *Arch. Microbiol.* 204, 599.
- Kelly, K.L., Judd, D.B., 1976. Color: universal language and dictionary of names. US Department of Commerce, National Bureau of Standards.
- Kennedy, J., 2008. Mutasythesis, chemobiosynthesis, and back to semi-synthesis: combining synthetic chemistry and biosynthetic engineering for diversifying natural products. *Nat. Prod. Rep.* 25, 25–34.
- Khachatourians, G.G., 1998. Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *Cmaj* 159, 1129–1136.
- KHEBIZI, N., n.d. Toxonimie et activités anti-microbiennes de souches d'actinomycètes d'origine saharienne. Ecole normale supérieure de Kouba-Mohamed Bachir El Ibrahimy-.
- Kim, M., Oh, H.-S., Park, S.-C., Chun, J., 2014. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64, 346–351. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.059774-0>
- Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16, 111–120.
- Kiran, G.S., Hema, T.A., Gandhimathi, R., Selvin, J., Thomas, T.A., Ravji, T.R., Natarajaseenivasan, K., 2009. Optimization and production of a biosurfactant from the sponge-associated marine fungus *Aspergillus ustus* MSF3. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 73, 250–256.
- Kiran, G.S., Thomas, T.A., Selvin, J., Sabarathnam, B., Lipton, A.P., 2010. Optimization and characterization of a new lipopeptide biosurfactant produced by marine *Brevibacterium aureum* MSA13 in solid state culture. *Bioresour. Technol.* 101, 2389–2396.
- Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Hamdiken, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., 2005. Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north-east of Algeria. *J. Mycol. Médicale* 15, 45–51.

- Kuddus, M., Arif, J.M., Ramteke, P.W., 2011. An overview of cold-active microbial α -amylase: adaptation strategies and biotechnological potentials. *Biotechnology* 10, 246–258.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K., 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35, 1547.
- Kumar, Y., Goodfellow, M., 2010. Reclassification of *Streptomyces hygrosopicus* strains as *Streptomyces aldersoniae* sp. nov., *Streptomyces angustmyceticus* sp. nov., comb. nov., *Streptomyces ascomycinicus* sp. nov., *Streptomyces decoyicus* sp. nov., comb. nov., *Streptomyces milbemycinicus* sp. nov. and *Streptomyces wellingtoniae* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, 769–775. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.012161-0>
- Kurtböke, D., 2017. Ecology and habitat distribution of actinobacteria. *Biol. Biotechnol. Actinobacteria* 123–149.
- Kustrin, S., Gegechkori, V., Mohammed, E., Ku, H., Morton, D., n.d. Isolation of Bioactive Pentacyclic Triterpenoid Acids from Olive Tree Leaves with Flash Chromatography.
- Kuyukina, M.S., Ivshina, I.B., 2010. Application of *Rhodococcus* in bioremediation of contaminated environments. *Biol. Rhodococcus* 231–262.
- Lacey, J., 1997. Actinomycetes in compost. *Ann. Agric. Environ. Med.* 4.
- Lakshmipathy Deepika, L.D., Krishnan Kannabiran, K.K., 2010. Isolation and characterization of antagonistic actinomycetes from marine soil.
- Lamari, L., Zitouni, A., Boudjella, H., Badji, B., Sabaou, N., Lebrihi, A., Lefebvre, G., Seguin, E., Tillequin, F., 2002. New Dithiopyrrolone Antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233 I. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Biological Activities. *J. Antibiot. (Tokyo)* 55, 696–701.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *bioinformatics* 23, 2947–2948.
- Lechevalier, H., Lechevalier, et M.P., 1965. Classification des actinomycètes aérobies basée sur leur morphologie et leur composition chimique, in: *Annales de l'Institut Pasteur. MASSON EDITEUR 21 STREET CAMILLE DESMOULINS, ISSY, 92789 MOULINEAUX CEDEX 9 ...*, pp. 662-+.
- Lechevalier, H.A., 1981. Introduction to the order Actinomycetales. *The prokaryotes* 1015–1922.
- Lechevalier, M.P., 1988. Actinomycetes in agriculture and forestry. *Actinomycetes Biotechnol.* 327–358.

- Lee, D.-S., 2000. Dibutyl phthalate, an α -glucosidase inhibitor from *Streptomyces melanosporofaciens*. J. Biosci. Bioeng. 89, 271–273.
- Lee, J.Y., Hwang, B.K., 2002. Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. Can. J. Microbiol. 48, 407–417. <https://doi.org/10.1139/w02-025>
- Li, K., Guo, Y., Wang, J., Wang, Z., Zhao, J., Gao, J., 2020. *Streptomyces aquilus* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a Chinese medicinal plant. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 70, 1912–1917.
- Locci, R., 1994. Actinomycetes as plant pathogens. Eur. J. Plant Pathol. 100, 179–200.
- Locci, R., Williams, S.T., Sharpe, M.E., Holt, J.G., 1989. Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams Wilkins Co. Baltim.
- Lopatkin, A.J., Bening, S.C., Manson, A.L., Stokes, J.M., Kohanski, M.A., Badran, A.H., Earl, A.M., Cheney, N.J., Yang, J.H., Collins, J.J., 2021. Clinically relevant mutations in core metabolic genes confer antibiotic resistance. Science 371, eaba0862.
- Luca, S.V., Macovei, I., Bujor, A., Miron, A., Skalicka-Woźniak, K., Aprotosoai, A.C., Trifan, A., 2020. Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 60, 626–659.
- Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Busse, H.-J., Trujillo, M.E., Kämpfer, P., Whitman, W.B., 2012. Road map of the phylum Actinobacteria, in: Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. Springer, pp. 1–28.
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Senthilkumar, K., Sivakumar, K., Kim, S.-K., 2013. Isolation and characterization of biologically active melanin from *Actinoalloteichus* sp. MA-32. Int. J. Biol. Macromol. 58, 263–274.
- Marchal, N., 1973. Milieu de culture et identification biochimique des bactéries.
- Margesin, R., Schinner, F., 2001. Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology. Extremophiles 5, 73–83.
- Mariat, F., Sebald, M., 1990. Actinomycètes In: Bactériologie Médicale. Flammarion 2nd Edn Ed. 935–49.
- Mayer, F.L., Wilson, D., Hube, B., 2013. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence 4, 119–128.
- McCarthy, A.J., Williams, S.T., 1992. Actinomycetes as agents of biodegradation in the environment—a review. Gene 115, 189–192.
- McCormick, M.H., McGuire, J.M., Pittenger, G.E., Pittenger, R.C., Stark, W.M., 1955. Vancomycin, a new antibiotic. I. Chemical and biologic properties. Antibiot. Annu. 3, 606–611.

- Meier-Kolthoff, J.P., Göker, M., Spröer, C., Klenk, H.-P., 2013. When should a DDH experiment be mandatory in microbial taxonomy? *Arch. Microbiol.* 195, 413–418.
- Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P., Sabaou, N., 2012. *Actinopolyspora algeriensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil. *Extremophiles* 16, 771–776.
- Meklat, A., Sabaou, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., 2011. Isolation, taxonomy, and antagonistic properties of halophilic actinomycetes in Saharan soils of Algeria. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 6710–6714.
- Merck, E., 1975. Révélateurs pour la chromatographie en couches minces et sur papier. E. Merck.
- Merrouche, R., Bouras, N., Coppel, Y., Mathieu, F., Monje, M.-C., Sabaou, N., Lebrihi, A., 2010. Dithiopyrrolone Antibiotic Formation Induced by Adding Valeric Acid to the Culture Broth of *Saccharothrix algeriensis*. *J. Nat. Prod.* 73, 1164–1166. <https://doi.org/10.1021/np900808u>
- Merrouche, R., Yekkour, A., Lamari, L., Zitouni, A., Mathieu, F., Sabaou, N., 2017. Efficiency of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137 and its produced antifungal dithiopyrrolones compounds to suppress *Fusarium oxysporum*-induced wilt disease occurring in some cultivated crops. *Arab. J. Sci. Eng.* 42, 2321–2327.
- Meyer, J., 1976. *Nocardiopsis*, a new genus of the order Actinomycetales. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 26, 487–493.
- Mirsonbol, S.Z., Issazadeh, K., Zarrabi, S., Mirpour, M., 2022. Evaluation of antimicrobial activity of *Streptomyces pactum* isolated from paddy soils and identification of bioactive volatile compounds by GC-MS analysis. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 39, 63. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03508-w>
- Mohamed, H., Miloud, B., Zohra, F., García-Arenzana, J.M., Veloso, A., Rodríguez-Couto, S., 2017. Isolation and characterization of actinobacteria from Algerian Sahara soils with antimicrobial activities. *Int. J. Mol. Cell. Med.* 6, 109.
- Mokrane, S., Bouras, N., Sabaou, N., Mathieu, F., 2013. Actinomycetes from saline and non-saline soils of Saharan palm groves: Taxonomy, ecology and antagonistic properties. *Afr J Microbiol Res* 7, 2167–2178.
- Mpaire, Y., Wamala, S., n.d. Uganda National Academy of Sciences (UNAS). Antibiotic Resistance in Uganda: Situation Analysis and Recommendations. Uganda Natl Acad Sci Kampala, Uganda. 2015.

- Mutai, W.C., Muigai, A.W., Waiyaki, P., Kariuki, S., 2018. Multi-drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi isolates with reduced susceptibility to ciprofloxacin in Kenya. *BMC Microbiol.* 18, 1–5.
- Newman, D.J., Cragg, G.M., 2007. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. *J. Nat. Prod.* 70, 461–477. <https://doi.org/10.1021/np068054v>
- Ninawe, S., Lal, R., Kuhad, R.C., 2006. Isolation of three xylanase-producing strains of actinomycetes and their identification using molecular methods. *Curr. Microbiol.* 53, 178–182.
- Nonomura, H., 1989. Genus *Streptosporangium*. *Bergeys Man. Syst. Bacteriol.* 4, 2545–2551.
- Novella, I.S., Barbés, C., Sánchez, J., 1992. Sporulation of *Streptomyces antibioticus* ETHZ 7451 in submerged culture. *Can. J. Microbiol.* 38, 769–773.
- Okami, Y., Hotta, K., 1988. editors, Goodfellow M., Williams ST and Mordarski M.
- Ollier, C., Poirée, M., 1983. Irrigation: les reseaux d'irrigation, theorie, technique et economie des arrosages.
- Oren, A., 2002. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 28, 56–63.
- Organization, W.H., 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. World Health Organization.
- Oskay, A.M., Üsame, T., Cem, A., 2004. Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afr. J. Biotechnol.* 3, 441–446.
- Papagianni, M., 2004. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnol. Adv.* 22, 189–259.
- Parish, J.H., 1979. Developmental biology of prokaryotes. Univ of California Press.
- Patel, J.J., Brown, M.E., 1969. Interactions of *Azotobacter* with rhizosphere and root-surface microflora. *Plant Soil* 31, 273–281.
- Pathom-Aree, W., Stach, J.E., Ward, A.C., Horikoshi, K., Bull, A.T., Goodfellow, M., 2006. Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10,898 m) from the Mariana Trench. *Extremophiles* 10, 181–189.
- Pavan Kumar, J.G.S., Gomathi, A., Vasconcelos, V., Gothandam, K.M., 2018. Bioactivity assessment of Indian origin—mangrove actinobacteria against *Candida albicans*. *Mar. Drugs* 16, 60.
- Peltola, J.S., Andersson, M.A., Kämpfer, P., Auling, G., Kroppenstedt, R.M., Busse, H.-J., Salkinoja-Salonen, M.S., Rainey, F.A., 2001. Isolation of toxigenic *Nocardiosis* strains from indoor environments and description of two new *Nocardiosis* species, *N.*

- exhalans* sp. nov. and *N. umidischolae* sp. nov. Appl. Environ. Microbiol. 67, 4293–4304.
- Pettit, G.R., Tan, R., Melody, N., Kielty, J.M., Pettit, R.K., Herald, D.L., Tucker, B.E., Mallavia, L.P., Doubek, D.L., Schmidt, J.M., 1999. Antineoplastic agents. Part 409: Isolation and structure of montanastatin from a terrestrial actinomycete. Bioorg. Med. Chem. 7, 895–899.
- Pfefferle, C., Theobald, U., Gürtler, H., Fiedler, H.-P., 2000. Improved secondary metabolite production in the genus *Streptosporangium* by optimization of the fermentation conditions. J. Biotechnol. 80, 135–142.
- Procópio, R.E. de L., Silva, I.R. da, Martins, M.K., Azevedo, J.L. de, Araújo, J.M. de, 2012. Antibiotics produced by *Streptomyces*. Braz. J. Infect. Dis. 16, 466–471.
- Reponen, T.A., Gazenko, S.V., Grinshpun, S.A., Willeke, K., Cole, E.C., 1998. Characteristics of airborne actinomycete spores. Appl. Environ. Microbiol. 64, 3807–3812.
- Reynolds, P.E., 1989. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8, 943–950.
- Reynolds, P.E., 1961. Studies on the mode of action of vancomycin. Biochim. Biophys. Acta 52, 403–405.
- Rodrigues, L., Banat, I.M., Teixeira, J., Oliveira, R., 2006. Biosurfactants: potential applications in medicine. J. Antimicrob. Chemother. 57, 609–618.
- Rong, X., Huang, Y., 2010. Taxonomic evaluation of the *Streptomyces griseus* clade using multilocus sequence analysis and DNA–DNA hybridization, with proposal to combine 29 species and three subspecies as 11 genomic species. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 60, 696–703. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.012419-0>
- Sabaou, N., 1988. Contribution à l'étude des actinomycètes des sols des palmeraies algériennes: systématique et écologie. Thèse Doctorat d'Etat ès-sciences, USTHB, Alger.
- Sabaou, N., Boudjella, H., Bennadji, A., Mostefaoui, A., Zitouni, A., Lamari, L., Bennadji, H., Lefèbvre, G., Germain, P., 1998. Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes, rares producteurs d'antibiotiques. Sci. Chang. PlanétairesSécheresse 9, 147–153.
- Sabaou, N., Hacène, H., Bennadji, A., Bennadji, H., Bounaga, N., 1992. Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne. Can. J. Microbiol. 38, 1066–1073.

- Saitou, N., Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406–425.
- Sánchez-García, B.M., Ramírez-Pimentel, J.G., Guevara-Acevedo, L.P., Raya-Pérez, J.C., Covarrubias-Prieto, J., Mora-Avilés, M.A., 2019. Actinobacteria with antagonistic potential in vitro to phytopathogenic fungi and promotion of growth in chili plants. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 10, 339–344.
- Sanglier, J.J., Haag, H., Huck, T.A., Fehr, T., 1993. Novel bioactive compounds from actinomycetes: a short review (1988–1992). *Res. Microbiol.* 144, 633–642.
- Sapkota, A., Thapa, A., Budhathoki, A., Sainju, M., Shrestha, P., Aryal, S., 2020. Isolation, characterization, and screening of antimicrobial-producing actinomycetes from soil samples. *Int. J. Microbiol.* 2020.
- Sarma, H.K., Sharma, B.K., Tiwari, S.C., 2003. A novel calcimycin antibiotic from Gram-positive actinomycete *Frankia microsymbiont*. *Curr. Sci.-BANGALORE-* 85, 1401–1403.
- Shirling, E.T., Gottlieb, D., 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 16, 313–340.
- Shweta, A., 2012. Cellulases of bacterial origin and their applications: A review. *Int. J. Sci. Res.* 3, 1652.
- Singh, A.K., Ansari, M.W., Pareek, A., Singla-Pareek, S.L., 2008. Raising salinity tolerant rice: recent progress and future perspectives. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 14, 137–154.
- Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., Mehta, P.K., 2017. Microbial metabolites in nutrition, healthcare and agriculture. *3 Biotech* 7, 15. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0586-4>
- Singh, S.P., 2006. Extreme environments and extremophiles. *Natl. Sci. Digit. Libr. CSIR E-Book Environ. Microbiol.* 1–35.
- Siupka, P., Piński, A., Babicka, D., Piotrowska-Seget, Z., 2020. Genome mining revealed a high biosynthetic potential for antifungal *Streptomyces* sp. S-2 isolated from black soot. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 2558.
- Smaoui, S., Mathieu, F., Elleuch, L., Coppel, Y., Merlina, G., Karray-Rebai, I., Mellouli, L., 2012. Taxonomy, purification and chemical characterization of four bioactive compounds from new *Streptomyces* sp. TN256 strain. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28, 793–804.
- Smaoui, S., Mellouli, L., Lebrihi, A., Coppel, Y., Fguira, L.F.B., Mathieu, F., 2011. Purification and structure elucidation of three naturally bioactive molecules from the

- new terrestrial *Streptomyces* sp. TN17 strain. Nat. Prod. Res. 25, 806–814.
<https://doi.org/10.1080/14786410902986225>
- Solanki, R., Khanna, M., Lal, R., 2008. Bioactive compounds from marine actinomycetes. Indian J. Microbiol. 48, 410–431.
- Solecka, J., Zajko, J., Postek, M., Rajnisz, A., 2012a. Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. Open Life Sci. 7, 373–390.
- Solecka, J., Zajko, J., Postek, M., Rajnisz, A., 2012b. Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. Open Life Sci. 7, 373–390.
<https://doi.org/10.2478/s11535-012-0036-1>
- Someya, N., 2008. Biological control of fungal plant diseases using antagonistic bacteria. J. Gen. Plant Pathol. 74, 459–460. <https://doi.org/10.1007/s10327-008-0131-3>
- Sri, P.B., Deepthi, T., Anjani, V.N., Kalyani, A.L.T., Chowdary, Y.A., n.d. Isolation and Production of Biosurfactants from Marine Actinomycetes.
- Stackebrandt, E., Goebel, B.M., 1994. Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 44, 846–849.
<https://doi.org/10.1099/00207713-44-4-846>
- Stackebrandt, E., Rainey, F.A., Ward-Rainey, N.L., 1997. Proposal for a New Hierarchic Classification System, Actinobacteria classis nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 47, 479–491.
<https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-479>
- Stamford, T.L.M., Stamford, N.P., Coelho, L., Araujo, J.M., 2001. Production and characterization of a thermostable α -amylase from *Nocardiopsis* sp. endophyte of yam bean. Bioresour. Technol. 76, 137–141.
- Still, W.C., Kahn, M., Mitra, A., 1978. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. J. Org. Chem. 43, 2923–2925.
<https://doi.org/10.1021/jo00408a041>
- Strathdee, S.A., Davies, S.C., Marcelin, J.R., 2020. Confronting antimicrobial resistance beyond the COVID-19 pandemic and the 2020 US election. The Lancet 396, 1050–1053.
- Superti, S., Dias, C.A.G., d’Azevedo, P.A., 2009. In vitro fosfomycin activity in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. Braz. J. Infect. Dis. 13, 123–124.
- Takada, H., Mandell, Z.F., Yakhnin, H., Glazyrina, A., Chiba, S., Kurata, T., Wu, K.J., Tresco, B.I., Myers, A.G., Aktinson, G.C., 2022. Expression of *Bacillus subtilis* ABCF antibiotic resistance factor VmlR is regulated by RNA polymerase pausing,

- transcription attenuation, translation attenuation and (p) ppGpp. *Nucleic Acids Res.* 50, 6174–6189.
- Tarantini, F.S., Brunati, M., Taravella, A., Carrano, L., Parenti, F., Hong, K.W., Williams, P., Chan, K.G., Heeb, S., Chan, W.C., 2021. *Actinomadura graeca* sp. nov.: A novel producer of the macrocyclic antibiotic zelkovamycin. *Plos One* 16, e0260413.
- Thakur, D., Yadav, A., Gogoi, B.K., Bora, T.C., 2007. Isolation and screening of *Streptomyces* in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. *J. Mycol. Médicale* 17, 242–249.
- Toumatia, O., 2015. Etude de quelques souches de *Streptomyces* des sols arides d'Algérie antagonistes de *Fusarium culmorum*: taxonomie, caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre la fusariose du blé (PhD Thesis). Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. L'école normale supérieure de
- Trujillo, M.E., 2012. Genus III. *Actinomadura* Lechevalier and Lechevalier 1970, 400AL emend. Kroppenstedt, Stackebrandt and Goodfellow 1990, 156. *Bergey's Man. Syst. Bacteriol.* 5, 1940–1959.
- Umezawa, H., Okami, Y., Hashimoto, T., Suhara, Y., Hamada, M., Takeuchi, T., 1965. A new antibiotic, kasugamycin. *J. Antibiot. Ser. A* 18, 101–103.
- Van Hoorn, J.W., Van Alphen, J.G., 1998. Maîtrise de la salinité, bilan de sels et besoins de lessivage des sols irrigués. Cours 'irrigation IAMBari Ital. 95p.
- Velvadapu, V., Paul, T., Wagh, B., Klepacki, D., Guvench, O., MacKerell, A., Andrade, R.B., 2011. Desmethyl Macrolides: Synthesis and Evaluation of 4,8,10-Tridesmethyl Telithromycin. *ACS Med. Chem. Lett.* 2, 68–72. <https://doi.org/10.1021/ml1002184>
- 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, 495–548. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00005-07>
- Vijayakumar, R., Muthukumar, C., Thajuddin, N., Panneerselvam, A., Saravanamuthu, R., 2007. Studies on the diversity of actinomycetes in the Palk Strait region of Bay of Bengal, India. *Actinomycetologica* 0712050027–0712050027.
- Ward, A.C., Bora, N., 2006. Diversity and biogeography of marine actinobacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* 9, 279–286.
- Wayne, L.G., 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *Int J Syst Bacteriol* 37, 463–464.

- Wehrli, W., Staehelin, M., 1971. Actions of the rifamycins. *Bacteriol. Rev.* 35, 290–309.
<https://doi.org/10.1128/br.35.3.290-309.1971>
- Whitman, W.B., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M.E., Ludwig, W., Suzuki, K., 2012. *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria*. Springer New York.
- Williams, P.G., 2009. Panning for chemical gold: marine bacteria as a source of new therapeutics. *Trends Biotechnol.* 27, 45–52.
- Williams, S.T., Goodfellow, M., Wellington, E.M.H., Vickers, J.C., Alderson, G., Sneath, P.H.A., Sackin, M.J., Mortimer, A.M., 1983. A Probability Matrix for Identification of some Streptomycetes. *Microbiology* 129, 1815–1830.
<https://doi.org/10.1099/00221287-129-6-1815>
- Williams, S.T., Sharpe, M.E., Holt, J.G., 1989. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 4. Williams and Wilkins, Baltimore. Hong Kong Lond. Syd.
- Windish, W.W., Mhatre, N.S., 1965. Microbial amylases. *Adv. Appl. Microbiol.* 7, 273–304.
- Xu, L., Li, Q., Jiang, C., 1996. Diversity of soil actinomycetes in yunnan, china. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 244–248. <https://doi.org/10.1128/aem.62.1.244-248.1996>
- Yang ChaoHsun, Y.C., Liu WenHsiung, L.W., 2004. Purification and properties of a maltotriose-producing α -amylase from *Thermobifida fusca*.
- Yang, R.-Q., Zhang, B.-L., Sun, H., Zhang, G.-S., Li, S.-W., Liu, G.-X., Chen, T., Li, Y.-S., Wu, Y.-N., An, L.-Z., 2019. *Nocardia mangyaensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from crude-oil-contaminated soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69, 397–403.
- Yassour, M., Vatanen, T., Siljander, H., Hämäläinen, A.-M., Härkönen, T., Ryhänen, S.J., Franzosa, E.A., Vlamakis, H., Huttenhower, C., Gevers, D., Lander, E.S., Knip, M., on behalf of the DIABIMMUNE Study Group, Xavier, R.J., 2016. Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Sci. Transl. Med.* 8.
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aad0917>
- Yekkour, A., Sabaou, N., Zitouni, A., Errakhi, R., Mathieu, F., Lebrihi, A., 2012. Characterization and antagonistic properties of *Streptomyces* strains isolated from Saharan soils, and evaluation of their ability to control seedling blight of barley caused by *Fusarium culmorum*. *Lett. Appl. Microbiol.* 55, 427–435.
- Yin CaiPing, Y.C., Jin LiPing, J.L., Li Shuai, L.S., Xu Xiao, X.X., Zhang YingLao, Z.Y., 2019. Diversity and antagonistic potential of Actinobacteria from the fungus-growing termite *Odontotermes formosanus*.

- Zerizer, H., Oulmi, L., Boughachiche, F., Reghioua, S., Boudemagh, A., Kitouni, M., Boulahrouf, A., 2006. IDENTIFICATION D'UNE ACTINOMYCETALE, PRODUCTRICE D'ANTIBACTERIENS, ISOLEE DE SOLS ARIDES DE LA REGION DE BISKRA. *Sci. Technol. C Biotechnol.* 17–22.
- Zhang, H., Ma, B., Huang, T., Shi, Y., 2021. Nitrate reduction by the aerobic denitrifying actinomycete *Streptomyces* sp. XD-11-6-2: Performance, metabolic activity, and micro-polluted water treatment. *Bioresour. Technol.* 326, 124779.
- Zhang, Yu-Qin, Liu, H.-Y., Chen, J., Yuan, L.-J., Sun, W., Zhang, L.-X., Zhang, Yue-Qin, Yu, L.-Y., Li, W.-J., 2010. Diversity of culturable actinobacteria from Qinghai–Tibet plateau, China. *Antonie Van Leeuwenhoek* 98, 213–223.
- Zimmermann, W., 1990. Degradation of lignin by bacteria. *J. Biotechnol.* 13, 119–130.
- Zitouni, A., Boudjella, H., Lamari, L., Badji, B., Mathieu, F., Lebrihi, A., Sabaou, N., 2005. *Nocardiopsis* and *Saccharothrix* genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *Res. Microbiol.* 156, 984–993.

Annexes

Annexes

Annexe 1
Données matériel et méthodes

I. Composition des milieux de culture

I.1. Milieux d'isolement des actinobacteries

• **Milieu Ch-V (Hayakawa et Nonomura, 1987)**

Chitine: 2 g; K₂HPO₄: 0,35 g; KH₂PO₄: 0,15 g; MgSO₄, 7H₂O: 0,2 g; NaCl: 0,3 g, CaCO₃: 0,02 g; FeSO₄, 7H₂O: 10 mg; ZnSO₄, 7H₂O: 1 mg; MnCl₂, 4H₂O: 1 mg; agar: 18 g; eau distillée, q.s.p. 1000 mL. pH 7,2.

La solution de vitamines B additionnée au milieu est composée de: thiamine-HCl, riboflavine, niacine, pyridoxine-HCl, inositol, panthoténate de calcium: à raison de 0,5 mgL⁻¹ et biotine: 0,25 mg L⁻¹. Les vitamines sont stérilisées à l'éther puis dissoutes en solution aqueuse stérile avant d'être ajoutées aseptiquement au milieu autoclavée.

I.2. Milieux d'identification des actinobacteries

I.2.1. Milieux de l'étude morphologique

Les milieux ISP ont été préconisés lors de l'« International *Streptomyces* Project » (Shirling et Gottlieb, 1966). L'ISP3 et l'ISP4 sont prêts à l'emploi (DIFCO).

• **Milieu ISP2**

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

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

• **Milieu ISP4**

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

• **Milieu ISP7 (Production de pigments mélanoides) (Shirling et Gottlieb, 1966)**

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

I.2.2. Milieux de l'étude physiologique

I.2.2.1. Dégradation des glucides et dérivés

- **Milieu ISP9** (Pridham et Gottlieb, 1948).

Ce milieu est subdivisé en trois parties:

Solution A: composée de sources de carbone (10 gL^{-1} dans l'eau distillée) stérilisées par l'éther sous hotte axénique.

Les glucides, stérilisés à l'éther, sont ajoutés au milieu de culture à raison de 1%.

I. 3. Milieux de production d'antibiotiques

- **Milieu ISP2** (Shirling et Gottlieb, 1966)

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

Annexe 2

Révélateurs chimiques utilisés pour les antibiotiques (Merck, 1975)

I. Chlorure de fer ferrique (FeCl₃): révélateur des phénols et des acides hydroxamiques.

- Solution de vaporisation: solution de FeCl₃ de 1 à 5% dans HCl 0,5 N. Les taches correspondant aux phénols sont colorées en bleu-vert et celles des acides hydroxamiques, en rose.

II. Formaldéhyde - acide sulfurique: révélateur des aromatiques polycycliques.

- Solution de vaporisation : dissoudre 0,2 mL d'une solution de formaldéhyde (37%) dans 10 mL de H₂SO₄ concentré. Les taches apparaissent de diverses couleurs (brunes, blanchâtres, etc.).

III. Ninhydrine: révélateur des amines, des acides aminés, des osamines et des phospholipides contenant la phosphatidyl éthanolamine.

- Solution de vaporisation: dissoudre 0,2 g de ninhydrine dans 100 mL d'éthanol.
- Traitement complémentaire: chauffer à 110°C (5 à 10 min) jusqu'au développement optimal des taches (couleur violette ou rose).

IV. Réactif de Dragendorff: selon Munier et Macheboeuf: utilisé pour révéler la phosphatidylcholine.

- **Solution a**

Dissoudre 0,85 g de nitrate de bismuth basique dans 10 mL d'acide acétique cristallisable et 40 mL d'eau.

- **Solution b**

Dissoudre 8 g d'iodure de potassium dans 20 mL d'eau.

- **Solution de réserve**

Mélanger a et b (volumes égaux). Cette solution se conserve bien au réfrigérateur (flacon sombre).

- **Solution de vaporisation**

Avant emploi, mélanger 1 mL de solution de réserve, 2 mL d'acide acétique cristallisable et 10 mL d'eau.

Annexe 3

Analyses granulométrique du sol

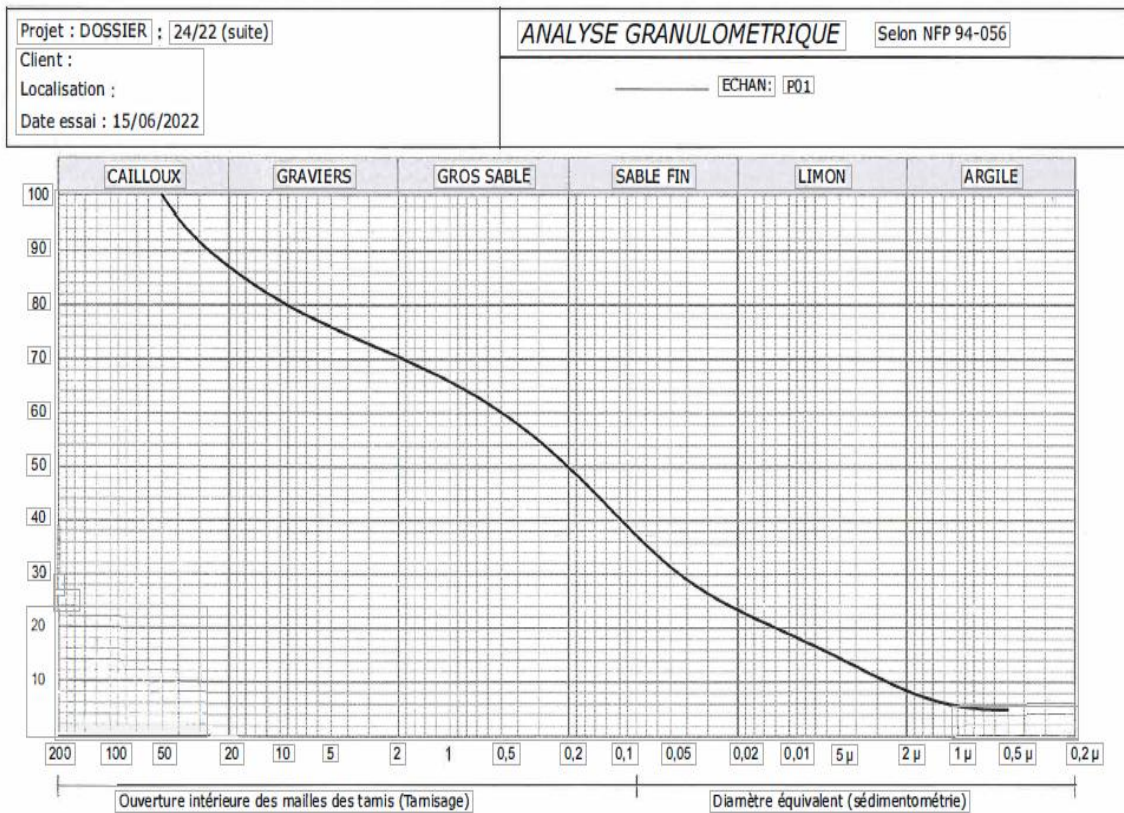


Figure 30 Analyses granulométrique de l'échantillon du sol de la région de Tammou El Maleh

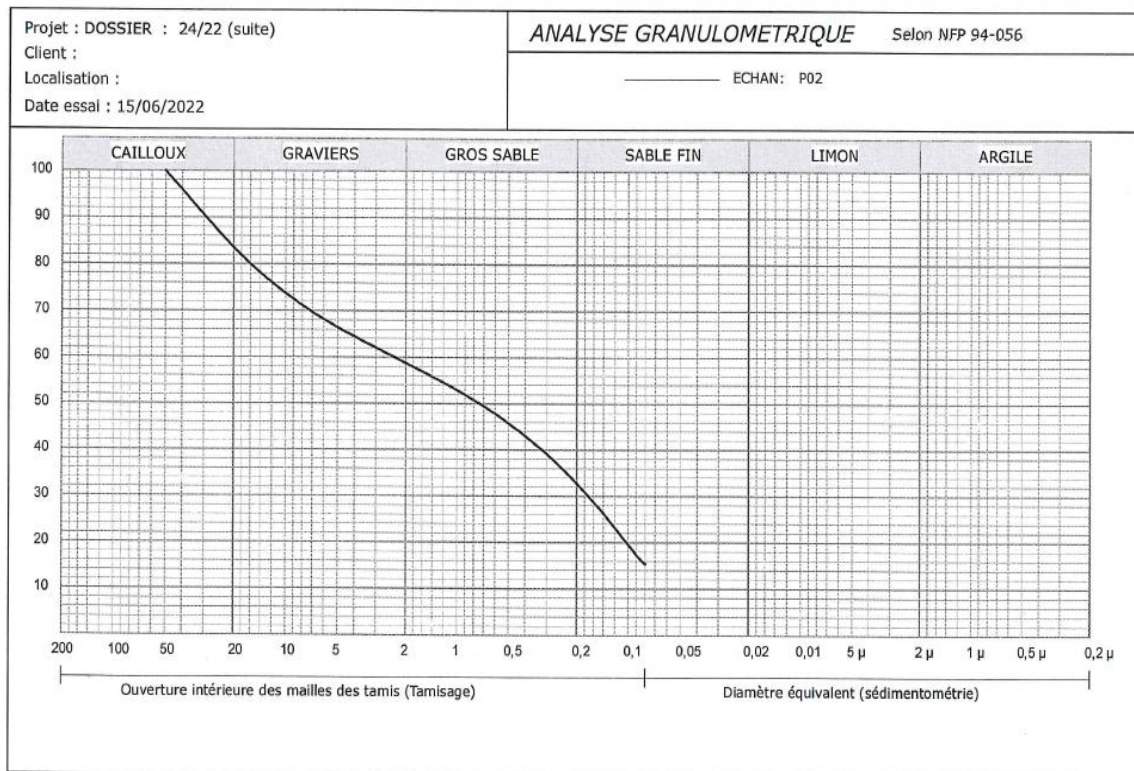


Figure 31 Analyses granulométrique de l'échantillon du sol de la région de la vallée de Mzab

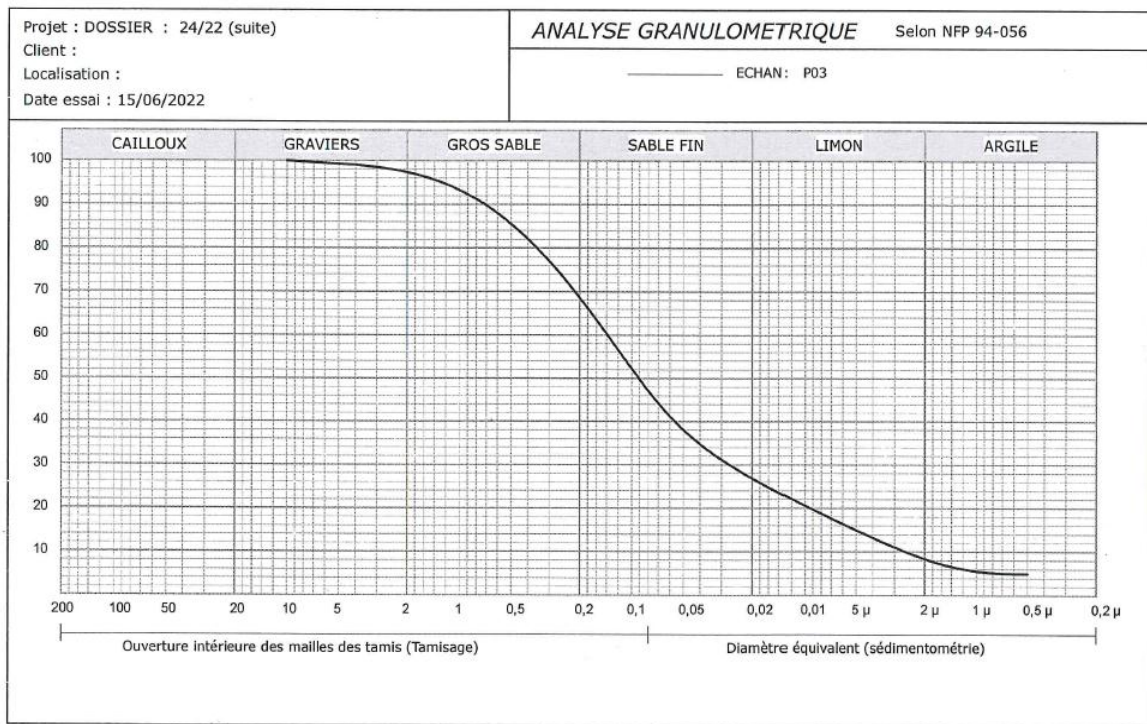


Figure 32 Analyses granulométrique de l'échantillon du sol de la région d'El Jaoua

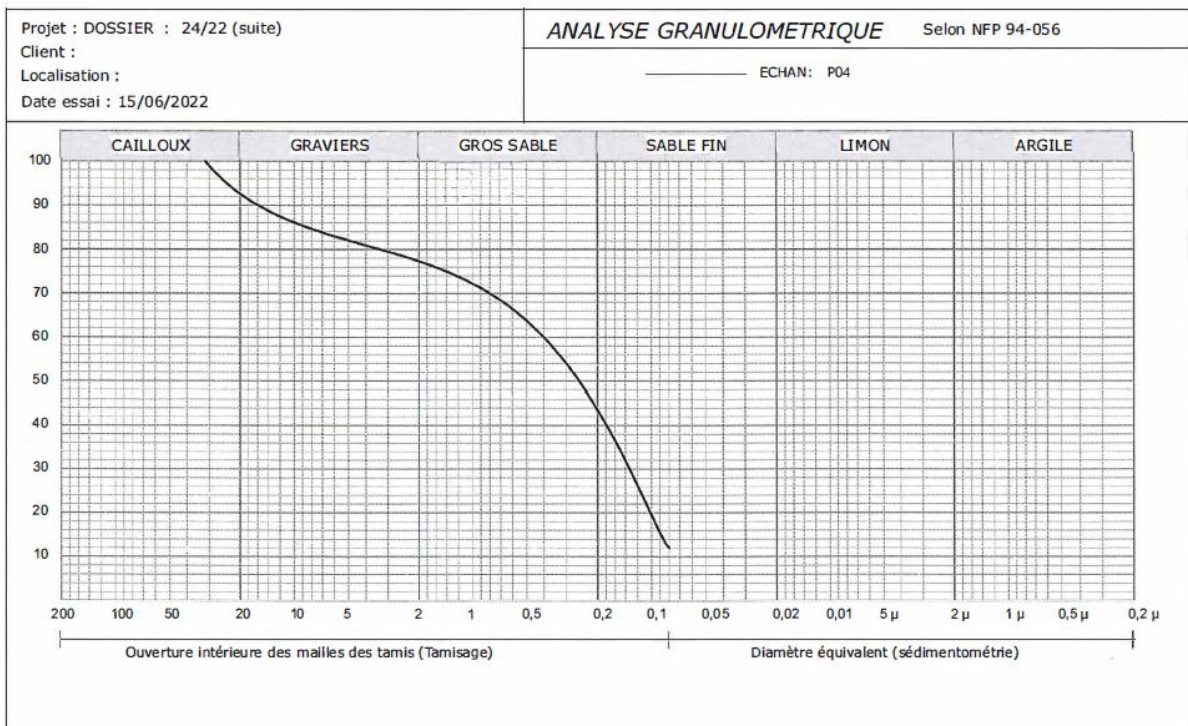


Figure 33 Analyses granulométrique de l'échantillon du sol de la région d'Aoulaoual

Publications