

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Ecologie Microbienne



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

*L'étude de l'activité antimicrobienne de quelques souches
d'actinobacteries*

Présenté par :
Bachiri Fatma & Bakhouche Yousra

Soutenu le : **15 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M. NABTI H.	MCA	Président
M. ADJEBLI A.	MCB	Encadreur
Mme SOUAGUI S.	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

REMERCIEMENTS

Avant tout, on remercie LE BON DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour terminer ce travail.

Nos remerciements et nos profonde gratitude s'adresse à :

Mr Adjebli Ahmed, *Pour avoir encadré ce travail, pour son aide, ses conseils et sa patience.*

*Nous voudrions également exprimer nos vifs remerciements à **Mr Messis A/Aziz** de nous avoir aider durant ce travail et acceper de nous donner les souchs d'actinobacteries a testées ainsi que **Mm SOUAGUI.Samiha** et **Mr Nabti hafid** d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail*

On adresse aussi nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation tout au long de ces cinq ans.

Dédicace :

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux.

*A ma mère **rebiha** qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau .Ni sacrifices, ni privatisations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ces enfants.*

*A mon cher papa **ABDELKADER** qui a su se montrer patient, compréhensif, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort..*

Que dieu vous procure santé, prospérité et bonheur...

A mes soeurs mima, lila, meriem et leurs époux layachi, badri et khaled ; la petite imene et mon frère djamel ainsi que ma belle-sœur fouzia que dieu vous garde et vous protège que votre chemin soit plein succès.

A toute ma famille

A mes chers : maroua, ikram, ayoub, feriel, farah, amina, aya, abdeljalil et amir que dieu vous protège et vous préserve

A toutes les personnes qui m'ont aidée à réaliser ce travail.

Fatima

Dédicace :

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux.

*A ma mère **Nora** qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ni sacrifices, ni privatisations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ces enfants.*

*A mon cher papa **Mohammed** qui a su se montrer patient, compréhensif, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.*

Que dieu vous procure santé, prospérité et bonheur...

A ma soeur sara et son époux raouf, à mes frères zinou, borhane et massi ainsi que mes belles sœurs hana et aida que dieu vous garde et vous protège que votre chemin soit plein succès.

A toute ma famille

A mon prince hossem que dieu le protège et le préserve

A toutes les personnes qui m'ont aidée à réaliser ce travail.

yousra

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique

ADNr : acide désoxyribonucléique ribosomique

DGGE : Denaturing gradient gel electrophoresis

DAP : diaminopimélique acide

PE : phosphatidylethanolamine

PC : phosphatidylcholine

PG : phosphatidylglycerol

PL : phospholipide

C : carbone

ARN : acide ribonucléique

PDA : Potato dextrose agar

DO : Densité Optique.

G+C : Guanine +Cytosine.

MA : Mycélium Aérien.

MIB : 2- méthylisoborneol.

MH : Muller Hinton.

MS : Mycélium du Substrat.

MWM : Milieu Williams Modifié.

UFC : Unités Formant Colonies.

UV : Ultraviolet.

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Cycle de développement de <i>Streptomyces sp</i>	10
Figure 02 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des cylindres d'agar	14
Figure 03 : la mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des stries croisées	15
Figure 04 : Mise en évidence de l'activité antifongique des d'actinobacteries sur milieu PDA par la méthode des cylindres d'agar.....	17
Figure 05 : Mise en évidence de l'activité antifongique sur milieu Williams par la Méthode des stries croisées.....	18
Figure 06 : Activité antibacterienne des isolats (<i>Streptomyces sp PB</i> , <i>Streptomyces sp P4D10</i> , <i>Micrococcus sp PBD25</i>).....	19
Figure 07 : Activité antibactérienne de l'isolat <i>Streptomyces sp PB</i>	20
Figure 08 : Activité antibactérienne de l'isolat <i>Streptomyces sp P4D10</i>	21
Figure 09 : Activité antibactérienne de l'isolat <i>Micorcooccus sp PBD25</i>	21
Figure 10 : Activité antifongique des isolats (<i>Streptomyces sp Pb</i> , <i>Streptomyces sp P4D10</i> , <i>Micrococcus sp PbD25</i>) par la méthode des cylindres d'agar	23
Figure 11 : Activité antifongique de l'isolat <i>Streptomyces sp PB</i>	24
Figure 12 : Activité antifongique de l'isolat <i>Micrococcus sp PbD25</i>	24
Figure 13 : Activité antifongique de l'isolat <i>Streptomyces sp P4D10</i>	25

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Habitats de certaines actinobactéries (Williams *et al.*, 1984).....4

Tableau II : Quelques exemples d'antibiotiques produits par les actinomycètes (Loucif., 2011).....5

Tableau III : Les germes cibles utilisés pour tester l'activité antimicrobienne des actinobactéries.....12

Tableau IV: Souches d'actinobactéries testées pour l'étude antimicrobienne.....13

Tableau V : Activité antibactérienne des 3 isolats d'actinobactéries testés mise en évidence par la méthode de stries croisées sur le milieu M2.....22

Tableau VI : Activité antifongique des 3 isolats d'actinobactéries testés mise en évidence par la méthode de stries croisées sur milieu M2.....26

SOMMAIRE

Sommaire

Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures

Introduction : 1

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

LES ACTINOBACTERIES	3
I-Généralité sur les actinobacteries	3
II- Taxonomie des actinobacteries	5
II-1- Description	5
II-2 Critère taxonomiques d'actinobacterie	6
II-2-1 Critères morphologiques.....	6
II-2-2 Critères chimiques (chimio taxonomie)	6
II-2-3-Critères physiologiques et taxonomie numérique	7
II-2-4 Critères moléculaires	8
III- Importance des actinobacteries	8
III-1- Importance écologiques des actinobacteries.....	8
III-2- L'importance en domaine Médicale et vétérinaire	9
III-3- L'importance en biotechnologie	9
III-4- Importance en agronomie	9
IV- Le genre <i>Streptomyces</i>	10
IV-1-Le cycle de développement des actinobacteries	10

CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

I- Matériel biologiques	12
I-1- La Revivification de souches testées (Actinobacteries)	12
I-2- Germes cibles	12
I-3- Isolats à testé.....	13
II-Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	13
II-1- La standardisation des inocula	13

SOMMAIRE

II-Mise en évidence de l'activité antifongique.....	16
---	----

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I-Mise en évidence de l'activité antimicrobienne	19
II- Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	19
II-1- Méthode des cylindres d'agar	19
II-2- Méthodes de stries croisées	22
III- Mise en évidence de l'activité antifongique	23
III-1- Méthode des cylindres d'agar	23
III-2- Méthode de striées croisés	25
Discussion :	27
CONCLUSION GENERALE	29

Références Bibliographique

Annexes

introduction

INTRODUCTION

L'utilisation des microorganismes (bactéries, champignons) pour la fabrication de divers produits tels que le pain la bière...etc., a débuté depuis des années notamment la production d'antibiotiques.

Ces microorganismes sont omniprésents dans notre environnement (le sol, l'aire et les eaux) et ils occupent une place de plus en plus importante au sein de notre vie quotidienne de plus, ces derniers sont de remarquables agents de production de nombreuses molécules organiques obtenues par fermentation et utilisées pour leurs propriétés fonctionnelles dans des domaines extrêmement variés. Parmi ces molécules, on peut citer les alcools, les acides organiques, les acides aminés, les polysaccharides, les vitamines, les enzymes, les antibiotiques, les bactériocines, etc. Malgré ce côté très bénéfique des microorganismes, certains d'entre eux causent des problèmes majeurs pour l'humanité. Il s'agit de bactéries, de levures unicellulaires et de champignons filamenteux pathogènes pour l'homme. A ce propos, actuellement on assiste à un problème très épineux qui est la résistance de ces microorganismes pathogènes aux molécules antibactériennes et antifongiques communément utilisées (**Smaoui 2010**).

L'origine des molécules antimicrobiennes peut être naturelle, synthétique ou semi synthétique (**Watve et al, 2001**). En pratique il est prouvé que la capacité de produire de différents composés est limité à des groupes de microorganismes eucaryotes et de bactéries, en particulier les actinobacteries (**Zerizer, 2006**)

Les actinobacteries, une famille de bactéries s'est particulièrement illustrée par la richesse de son métabolisme secondaire et par la remarquable diversité des métabolites produits (**Overbye et Barret 2005**), ils sont à l'origine de 70% des antibiotiques naturels connus dans le monde. Le genre *Streptomyces*, qui secrète plus de 80% de ces molécules, est très intéressamment exploité. (**Watve et al., 2001**),

Ils sont potentiellement intéressants pour la découverte de nouveaux métabolites secondaires bioactifs, La dégradation de composés organiques aliphatiques et aromatiques, la détoxification de polluants, la production de nouvelles enzymes et d'autres métabolites tels que les antibiotiques, les solutés compatibles et les polymères sont d'autres applications industrielles potentielles des actinobactéries. Les nouveaux métabolites secondaires bioactifs produits par les actinobactéries, isolées principalement des habitats marins, ont révélé la

INTRODUCTION

grande capacité de ce groupe physiologique dans la production de nouveaux composés bioactifs (**Hamed et al., 2013**).

En Algérie des travaux ont porté sur l'isolement de genre rares des actinobactéries marines, la taxonomie numérique des souches isolées et l'étude préliminaire des antibiotiques sécrétés (**Zitouni et al. 1995**). Les sols sahariens qui représentent un écosystème particulier, renferment un potentiel riche en actinomycètes, tant du point de vue quantitatif et de la biodiversité générique et spécifique que du point de vue des propriétés antibactériennes et antifongiques

Durant ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de trois isolats d'actinobactéries notés : (*Micrococcus sp PbD25*), (*Streptomyces sp Pb*) et (*Streptomyces sp P4D10*), en évaluant :

- l'activité antibactérienne des actinobactéries envers deux bactéries à Gram positifs et deux bactéries à Gram négatifs
- l'activité antifongique des trois isolats vis-à-vis des champignons phytopathogènes

Chapitre I
Revue Bibliographique

Les Actinobacteries

I-Généralité sur les actinobacteries

Les actinobacteries sont réparties de façon ubiquitaire dans les écosystèmes aquatiques et terrestres, ont un mode de vie mycélien et subissent une différenciation morphologique complexe. Ils ont également un métabolisme secondaire étendu et produisent environ les deux tiers de tous les antibiotiques utilisés en clinique courante, aussi bien que beaucoup de composés anticancéreux, anthelminthiques, et antifongiques (**Barka et al., 2015**).

Les actinobacteries composent un groupe diversifié de bactéries Gram positives à forte teneur en (G + C), abondantes dans les sols et présentes dans divers habitats spéciaux et extrêmes, (**Sheng., 2016**).

Les actinobacteries constituent l'un des phylums taxonomiques les plus importants et les plus anciens du domaine des bactéries et sont bien connus pour leurs métabolites secondaires (**Verma et al., 2013**). Sont classées dans le Domaine des *Bacteria* ou *Eubacteria*, le Phylum des *Actinobacteria*, la Classe des *Actinobacteria* et la Sous-Classe des *Actinobacteridae* (**Euzéby., 2015**).

Elles comprennent des pathogènes (notamment des espèces de *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Propionibacterium* et *Tropheryma*), des habitants du sol (*Micromonospora* et *Streptomyces*), des commensaux végétaux (par exemple, *Frankia spp.*) Et des commensaux gastro-intestinaux (*Bifidobacterium spp.*) (**Barka et al., 2015**).

La distribution des actinobacteries des écosystèmes extrêmes a été rapportée par plusieurs auteurs, dans le but d'étudier leur métabolisme secondaire ils suggèrent que ces niches abiotiques rares renferment de nouvelles souches et/ou de nouvelles molécules d'intérêt pharmaceutique (**2000 Gurielidze et al., 2010 Rojas et al., 2009 Lazzarini et al.**). Sont souvent, moins reconnus en tant qu'organismes importants du sol comme est le cas des cyanobactéries et des champignons tel que *Penicillium sp.* et *Chaetomium sp* (**Zaitlin et Watson., 2006**).

Elles se trouvent dans de nombreux écosystèmes à travers le monde (**Tableau I**) y compris le sol salin alcalin, les éponges marines, les sédiments en eau profonde les sources chaudes, les intestins et les plantes médicinales (**Sheng., 2016**)

Les actinobactéries du sol sont surtout présents en surface, mais on peut les retrouver aussi à plus de 2 m de profondeur (**Sabaou et al., 1992**).

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

Actinobactéries	Habitats
<i>Actinoplanes</i> spp	Eau douce, litière végétale, sol.
<i>Frankia</i> spp.	Nodules racinaires des non-légumineuses, sol.
<i>Micromonospora</i> spp.	Eau douce, sédiments, sols (humides ou non).
<i>Nocardia amarae</i>	Boues activées.
<i>Rhodococcus coprophilus</i>	Déjections animales, eau, sol.
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	Foin moisi, sol.
<i>Saccharomonospora</i>	Compost, sol.
<i>Streptomyces</i> spp.	Sol, litière végétale, eau.

Du point de vue quantitatif, le nombre d'actinobactéries mycéliennes par gramme de sol sec est de l'ordre de 10^6 à 10^7 UFC dans les sols cultivés; ce nombre est beaucoup plus faible dans les sols des régions arides et plus élevé au niveau des sols rhizosphériques (**Goodfellow et Williams., 1983 ; Sabaou et al., 1998 ; Lamari et al., 2015**).

Les actinobactéries marines associés aux éponges constituent une source potentielle pour le développement d'antibiotiques originaux (**Gandhimathi et al., 2008**)

Le genre *Streptomyces* des actinobactéries a révélé un potentiel biotechnologique intéressant pour la production d'enzymes (par exemple la xylose isomérase issue d'un Streptomycète thermophile (**Hodgson., 2000**) ou la biodégradation de biopolymères (par exemple le chitosane (**Fukamizo et Brzezinski., 1997**) ou de polluants organiques (par exemple l'acide phénylacétique (**Niraula et al., 2010**)). Et d'enzymes extracellulaires et sont recherchés de façon routinière dans le but de découvrir de nouvelles substances bioactives (**Vijayakumar et al., 2007**), (**Tableau II**).

Tableau II : Quelques exemples d'antibiotiques produits par les actinomycètes (Loucif., 2011).

Actinomycètes producteurs	Antibiotiques
1/Les agents antibactériens	
<i>Micromonospora sp.</i>	Clostomycine
<i>Streptomyces griseus</i>	Candicidine
<i>Streptomyces lydicus</i>	Streptolydigin
<i>Streptomyce lindensis</i>	Rétamycine
<i>Marinispora sp.</i>	Marinomycine
<i>Verrucosipora sp.</i>	Abyssomycine
2/ Les agents antifongiques	
<i>Streptomyces griseochromogenes</i>	Blasticidine
<i>Streptomyces humidus</i>	Phenylacétate
<i>Nocardia transvalensis</i>	Transvalencine
<i>Streptomyces nodosus</i>	Amphotéricine B
3/Les bioherbicides et bioinsecticides produits par les actinomycètes	
<i>Saccharopolyspora spinosa</i>	Spinosad. Insecticide neurotoxique
<i>Actinomadura sp</i>	Herbicides.
<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	Herbimycine

II- Taxonomie des actinobacteries

II-1- Description :

Les actinobacteries sont des bactéries aérobies à Gram positives caractérisés par un génome à forte teneur en G + C. Actuellement, le phylum Actinobacteria tel qu'il figure dans **Le Manuel de Bergey, (2012)** regroupe 6 classes, 23 ordres, 53 familles, 222 genres et environ 3000 espèces. Les genres de ce phylum présentent une énorme diversité en termes de morphologie, de physiologie et de capacités métaboliques. La taxonomie des Actinobactéries a évolué de manière significative avec le temps avec l'accumulation de connaissances.

Les Streptomycètes représentent le plus grand genre appartenant à l'ordre des Actinomycétales qui renferment une diversité de morphotypes comprenant des formes unicellulaires sphériques, des hyphes fragmentés et des mycéliums ramifiés (**Barka et al., 2016**)

II-2 Critère taxonomiques d'actinobactérie :

La définition des genres et des espèces se fonde sur un ensemble de caractères morphologiques et fonctionnels, chimio taxonomiques et génomiques, rassemblés dans le tableau annexe. L'ensemble des caractéristiques de chaque taxon bactérien est répertorié dans le manuel Bergey. (**Bergey's Manual of Systematic Bacteriology., 2012**).

II-2-1 Critères morphologiques

- **Critères macromorphologiques**

L'identification macromorphologique des actinobactéries est basée sur la présence du mycélium du substrat (MS), et la production du mycelia aérien (ex : de nombreux genres) ou non (ex Actinoplanes, Micromonospora et Rhodococcus), ainsi que la couleur de ses derniers. La production et la couleur des pigments diffusibles dans le milieu de culture. (**Nouredine., 2006**) (**Boudjella et al., 2007**).

- **Critères micro-morphologiques :**

Les critères micro morphologiques importants sont : la fragmentation ou non du mycélium, la formation de spores ; leur formes ; leur surface (lisse ou rugueuse épineuse ou chevelue), leur mobilité, la présence de sporophores, La formation d'endospores (Thermoactinomyces) ou la présence de structures particulières comme les sporanges, les sclérotés ou synnemata (Actinosynnema) (**Demain et Solomon., 1985 ; Nouredine., 2006 ; Boudjella, et al., 2007**).

II-2-2 Critères chimiques (chimio taxonomie)

Les critères morphologiques ne suffisent pas pour établir une détermination correcte des actinobactéries ce qui rend indispensable de considérer d'autres caractères tels que l'étude de la composition chimique de la paroi cellulaire Pour permettre l'identification des genres et des groupes d'actinobactéries (**Boudjella., 2007 ; Becker et al., 1965**)

- **les sucres**

Les sucres caractéristiques sont principalement les couples arabinose-galactose, arabinose-xylose, rhamnose-galactose, ainsi que le madurose ou 3-O- méthyle galactose (**Lechevalier et Lechevalier., 1970**). Sur la base de la composition des cellules en acides aminés et en sucres, plusieurs chimio types ont ainsi été définis. (Annexe)

- **Les acides aminés :**

Les plus importants sont l'acide diaminopimélique (DAP) qui peut être sous forme isométrique LL ou DL (*méso*) et la glycine qui, soit présente ou absente.

Cependant, chez quelques actinobactéries, le DAP peut être remplacé par la lysine l'Ornithine ou l'acide diaminobutyrique, (**Backer et al. 1965**), ce qui définit plusieurs types pariétaux. Exemple : type I (LL DAP + Glycine). Actuellement plusieurs techniques ont pris naissance permettant ainsi une meilleure séparation à l'instar du couplage chromatographie/spectroscopie de masse (**Nozawa et al., 2007**)

- **Les lipides :**

Les lipides taxonomiquement important peuvent être représentés par trois groupes : les lipides polaires, les ménaquinones et les acides mycoliques. La diversité des phospholipides a permis à (**Lechevalier et al., 1977**) de distinguer cinq chimio types notés de PI à PV et caractérisés généralement par la présence d'un ou de deux phospholipides caractéristiques.(annexe)

II-2-3 Critères physiologiques et taxonomie numérique

En plus des caractères morphologiques, la détermination des espèces se base également sur les caractères physiologiques. Ceux-ci consistent en des tests de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques et protidiques, polymères complexes etc. D'autres tests interviennent parfois dans la détermination des espèces, comme la résistance à certains agents antimicrobiens et la tolérance à des conditions extrêmes (température, pH, salinité, etc.).

La taxonomie numérique est une méthode de classification développée à la fin des années 1950 qui consiste à utiliser un grand nombre de caractères physiologiques et biochimiques, et permet de définir des pourcentages de similarité entre les organismes grâce à

l'utilisation de coefficients (de Jaccard, etc.). Plusieurs groupes ou « cluster » sont ainsi formés suivant les ressemblances des souches définies par un indice de similarité (**Sneath., 1989**).

II-2-4 Critères moléculaires

- l'analyse des séquences de l'ADN codant pour l'ARN ribosomique 16S (ADNr 16S)
- la détermination du pourcentage de guanine-cytosine (GC%)
- l'analyse des séquences des protéines ribosomiques l'hybridation ADN-ADN (**Stackebrandt., 1997 ; Ventura., 2007**)

III- Importance des actinobacteries

III-1- Importance écologique des actinobacteries

La fonction écologique principale des actinobacteries au sein des écosystèmes est la décomposition des substances organiques (**Prescott et al., 2010**), grâce à leurs capacités de produire une large gamme d'enzyme hydrolytique, comme les protéases, les nucléases, les lipases ...etc. (**Prakash et al., 2012**), ainsi que les enzymes pour l'hydrolyse des sucres complexes comme : la cellulose, hémicellulose et certaines d'entre eux attaquent même la carapace chitineuse des cadavres d'insectes (**Maier et al., 2009**).

Au niveau de la rhizosphère, les actinobacteries forment des relations symbiotiques avec les racines des plantes, en contribuant à la promotion de leurs croissances par des effets directs (**Barreto et al., 2008**) comprennent la solubilisation du phosphore, la fixation d'azote atmosphérique, la production de phytohormones, (**El-Mehalawy et al., 2004**), et des effets indirects qui peuvent être dus au contrôle des agents pathogènes par la production des métabolites secondaires, tel que les antibiotiques (**Barreto et al., 2008**), ou par la compétition nutritionnelle vis-à-vis de ces agents, comme par exemple la synthèse des sidérophores, qui sont des chélateurs du fer (**tableau II**) (**Getha et al., 2005**).

III-2- L'importance en domaine Médicale et vétérinaire

Les *Streptomyces* produisent 70 à 80% des substances bioactives naturelles connues à application pharmaceutique ou agrochimique (Berdy., 2005 ; Manteca *et al.*, 2008). Continuellement de nouveaux métabolites à différentes activités biologiques sont isolées de souches *Streptomyces* (Getha *et al.*, 2005 ; Kang *et al.*, 2010).

Le premier et le plus important métabolites produit des *Streptomyces* est les antibiotiques (Watve *et al.*, 2001).

De plus, *Streptomyces* est la source la plus importante de métabolites secondaires présentant une activité biologique d'intérêt pour la santé humaine et animale: antibactérienne (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol), antifongique (nystatine), antivirale (tunicamycine), antiparasitaire (ivermectine), immunosuppressive (rapamycine), antitumorale (actinomycine, mitomycine C, anthracyclines), inhibiteur d'enzyme (acide clavulanique) (Demain., 2000). En particulier, ce genre est remarquable pour le nombre et la diversité chimique des antibiotiques qu'il produit (Watve *et al.*, 2001).

III-3- l'importance En biotechnologie

Plusieurs sociétés de biotechnologie comme Diversa, Cubiste et Protéus, ainsi que des établissements universitaires travaillent actuellement sur de nouvelles stratégies pour les applications pharmaceutiques de nouveaux composés produits par les microorganismes marins et extrêmophiles dont les actinobactéries. Plusieurs antibiotiques produits par les actinobactéries marines ont été rapportés (Maskey *et al.*, 2003 ; Mahyudin *et al.*, 2012).

Les actinobactéries représentent une grande proportion de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété de molécules bioactives de haute valeur commerciale entre autres des antibiotiques

III-4- Importance en agronomie

Les actinobactéries sont des microorganismes qu'on rencontre sur tous les substrats naturels courants, et en particulier le sol (Lacey., 1973 ; Williams *et al.*, 1984). Dans le sol, de nombreuses actinobactéries sont saprophytes et participent à la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus, tout comme les champignons.

IV- Le genre *Streptomyces*

Streptomyces est une bactérie mycélienne caractérisée par un cycle de développement complexe (Manteca et Sanchez., 2010).

IV-1-Le cycle de développement des actinobactéries

(Exemple type : *Streptomyces sp*)

Tout comme les eucaryotes pluricellulaires, les actinobactéries possèdent un cycle de vie complexe (**Figure 1**), qui est le résultat de trois processus physiologiques majeurs : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire puis la mort (**Danilenko et al., 2005**).

Il débute par la germination d'une spore, processus qui nécessite la présence des ions de calcium, cette germination donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes qui se ramifie et non fragmenté et se développent par croissance apicale (**O'Gara et al., 2008**). Le développement du mycélium du substrat vers la partie superficielle donne le mycélium aérien, les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores, qui sont des agents de dissémination. (**Kim et al., 2004 ; Smaoui., 2010**).

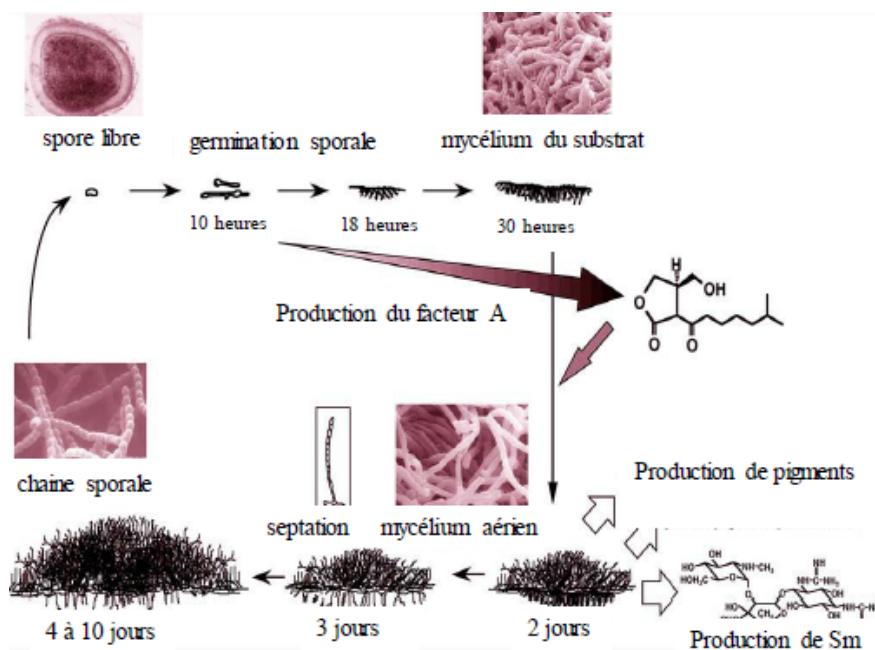


Figure 01 : Cycle de développement de *Streptomyces sp* (Horinouchi, 2002).

Les *Streptomyces* produisent 70 à 80% des substances bioactives naturelles connues à application pharmaceutique ou agrochimique (**Berdy., 2005 ; Manteca et al., 2008**). Continuellement de nouveaux métabolites à différentes activités biologiques sont isolées de souches *Streptomyces* (**Getha et al., 2005 ; Kang et al., 2010**).

Le premier et le plus important métabolites produit des *Streptomyces* est les antibiotiques (Watve *et al.*, 2001).

De plus, *Streptomyces* est la source la plus importante de métabolites secondaires présentant une activité biologique d'intérêt pour la santé humaine et animale: antibactérienne (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol), antifongique (nystatine), antivirale (tunicamycine), antiparasitaire (ivermectine), immunosuppressive (rapamycine), antitumorale (actinomycine, mitomycine C, anthracyclines), inhibiteur d'enzyme (acide clavulanique) (Demain., 2000). En particulier, ce genre est remarquable pour le nombre et la diversité chimique des antibiotiques qu'il produit (Watve *et al.*, 2001).

Chapitre II
Matériels et Méthodes

I- Matériel biologiques

Les souches d'actinobactéries sélectionnées proviennent de la collection du Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA), de l'université de Bejaïa (fournis par Mr : Messis A). Elles ont été isolées à partir de 6 écosystèmes dans les régions de (Boulimat à bejaia) et Tikjda à Bouira. Le prélèvement a été effectué en 2012, sur le milieu Williams.

Les souches isolées (actinobactéries) ont été purifiées et conservées sur le milieu Williams (Williams Kuster 1964) à 4°C en vue d'études ultérieures.

I-1- La Revivification de souches testées (Actinobactéries)

La revivification a été faite après plusieurs repiquages successifs sur le milieu Williams suivis d'une incubation à 28°C pendant 10 jours.

I-2- Germes cibles

Des champignons filamenteux ainsi que des bactéries à Gram positifs et négatifs ont été utilisés comme germes cibles pour tester l'activité antimicrobienne des isolats actinobactéries (germe testé) (**Tableau 3**)




Tableau III : Les germes cibles utilisés pour tester l'activité antimicrobienne des actinobactéries.

Champignons	Bactéries	
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	Gram+
	<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram-
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>E. coli</i>	
<i>Mucor sp</i>		

I-3- Isolats à tester

Nous avons testé l'activité antifongique et antibactérienne des 3 isolats d'actinobactéries (Tableau IV)

Tableau IV : Souches d'actinobactéries testées pour l'étude antimicrobienne.

Souches	Aspect macroscopique sur le milieu Williams			
<i>Streptomyces</i> <i>sp P4D10</i>	Blanche	+++		
<i>Micrococcus</i> <i>sp PBD25</i>	Beige crème	+++		
<i>Streptomyces</i> <i>sp PB</i>	Blanche	+++		

+++ : Une bonne croissance (sporulation).

II-Mise en évidence de l'activité antibactérienne**II-1- La standardisation des inocula**

La standardisation des germes cibles a été réalisée en utilisant la méthode des suspensions dilutions corrélée à la mesure de la densité optique. Après un balisage au spectrophotomètre, une longueur d'onde maximale a été fixée à 600 nm une DO allant de 0,47 à 0,5 de la solution mère pour les champignons et 628 nm une DO de 0,13 à 0,18 de la solution mère pour les bactéries au spectrophotomètre (Shimadzu UVmini. 1240).

L'activité antibactérienne des isolats actinobacteries a été réalisé en suivant deux méthodes :

▪ **Méthode des cylindres d'agar (Patel et Brown, 1969)**

L'activité antibactérienne des isolats a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar sur le milieu Muller Hinton.

Cette méthode consiste à ensemencer les souches à tester sur milieu Williams est incubé pendant 10 jours à 28°C. Après incubation, des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre sont découpés stérilement à l'aide d'un emporte-pièce à partir de ce milieu et déposés à la surface d'une boîte contenant le milieu Muller Hinton (MH) préalablement ensemencé par tous les germes cibles.

Les boîtes ensemencées sont maintenues à 4°C pendant 2h avant d'être incubées pour permettre la diffusion des substances actives tout en empêchant momentanément la croissance des microorganismes cibles. Les zones d'inhibition ont été mesurées après 24h d'incubation à 37°C pour les bactéries. **La Figure 2** illustre les étapes de la méthode.

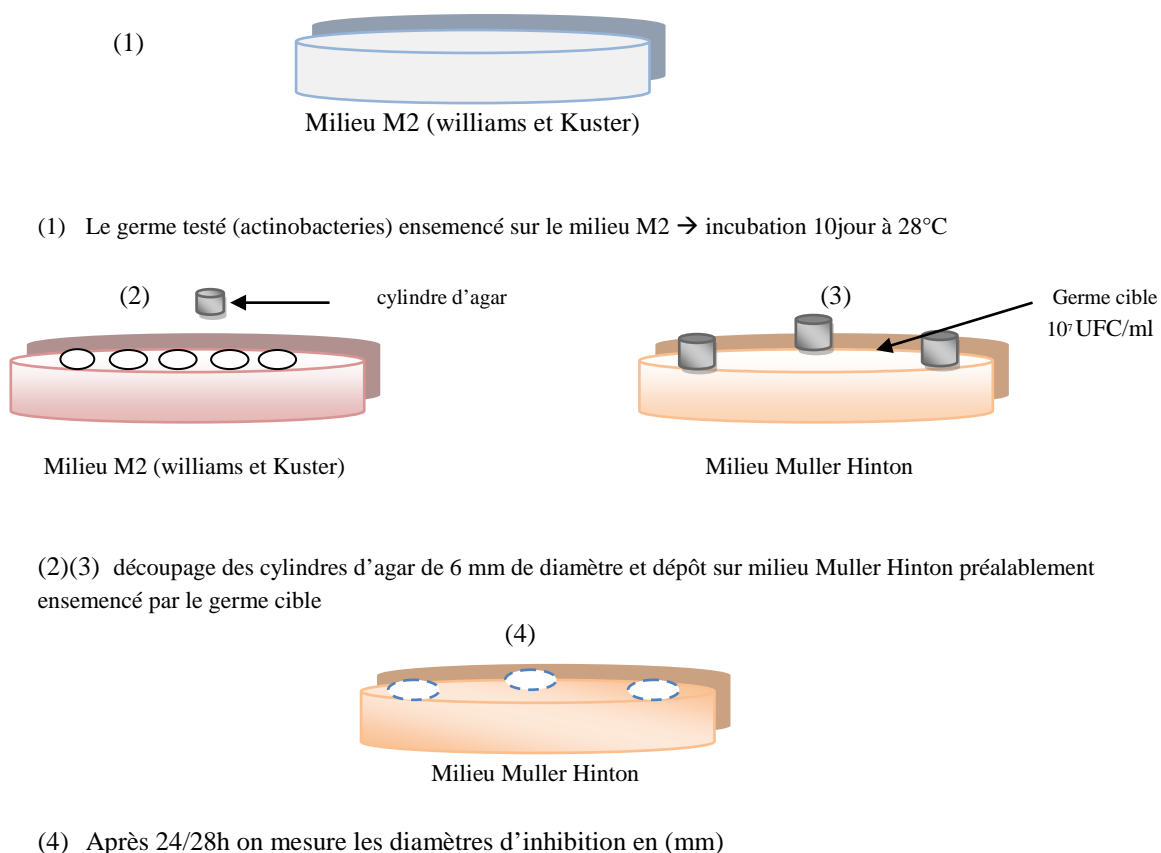


Figure 02 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des cylindres d'agar.

▪ **Méthode de stries croisées (Rothrock et Gottlieb, 1981)**

L'activité antibactérienne des isolats actinobactéries a été mise en évidence par la méthode de stries croisées sur milieu Williams. Les souches testées ont été ensemencées en un seul trait à la surface du milieu puis incubées à 28°C pendant 10 jours. Une culture jeune des germes cibles ont été ensemencés perpendiculairement au strie longitudinale de la souche d'actinobactéries, Les boîtes ont été incubées à 37°C en fonction de la température de croissances des germes cibles pendant 24h à 48h, la lecture des résultats s'effectue en mesurant la distance (zone d'inhibition) entre les bordures de la souche cible et la souche test (actinobactéries) (**figure 3**).

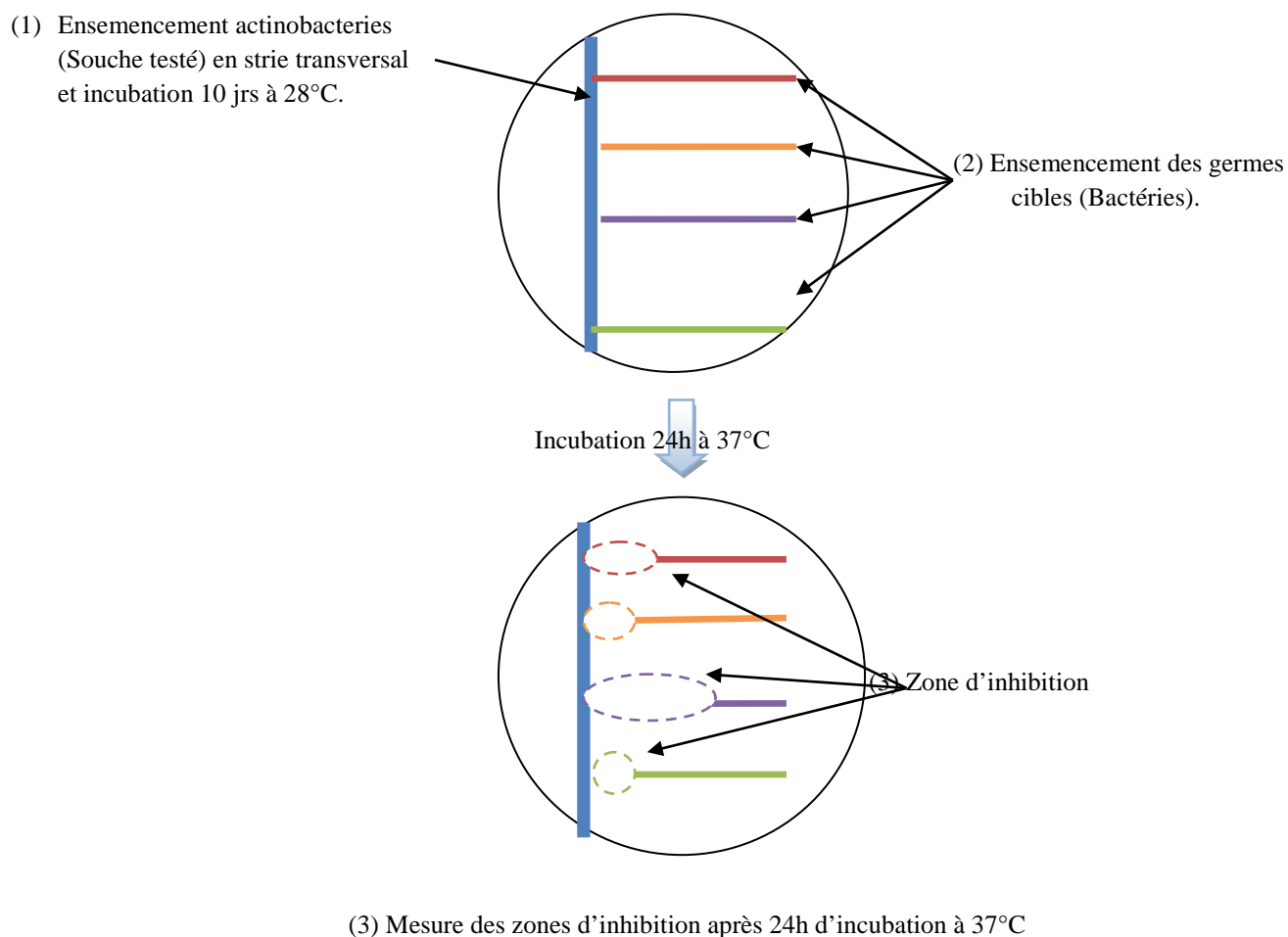


Figure 03 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode de stries croisées.

III- Mise en évidence de l'activité antifongique

La méthode des cylindres d'agar

L'activité antifongique des isolats d'actinobactéries purifiés, a été testée contre 4 champignons pathogènes et phytopathogènes selon la méthode des cylindres d'agar, après ensemencement (en stries serrées) et incubation à 28°C pendant 10 jours des souches d'actinobactéries à tester, des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre ont été découpés avec un emporte-pièce stérile puis déposés sur le milieu favorable à la croissance des différents germes cibles (milieu PDA). Les boîtes ensemencées ont été maintenues à 4 °C pendant 2 heures pour la diffusion des métabolites antimicrobiens. Après incubation à 25°C pendant 24h /48h heures, les zones ont été mesurées (en millimètre). Cette opération a été répétée deux fois pour chaque actinobactérie. (**Figure 02**).

Méthode de confrontation directe

Pour mettre en évidence l'activité antifongique des isolats d'actinobactéries sur la croissance mycélienne des champignons (**Tableau III**) sur le milieu PDA. Les germes cibles (champignons) ont été ensemencés sur le milieu PDA puis incubés à 25°C pendant 3 jours, 3 cylindres d'agar de 6 mm de diamètre du germe cible ont été découpés et déposés à la surface d'une boîte pétri contenant le milieu PDA et l'incubés 72h à 25°C. un implant mycélien de 6 mm de diamètre a été déposé sur une nouvelle boîte de pétri contenant le milieu PDA, en parallèle un disque de 6 mm du milieu Williams préalablement ensemencé par le germe testé (actinobactérie) également a été découpé et déposé sur le même milieu que le cylindre d'agar du germe cible et l'incubé pendant 5 jours à 25°C (**Figure 4**).

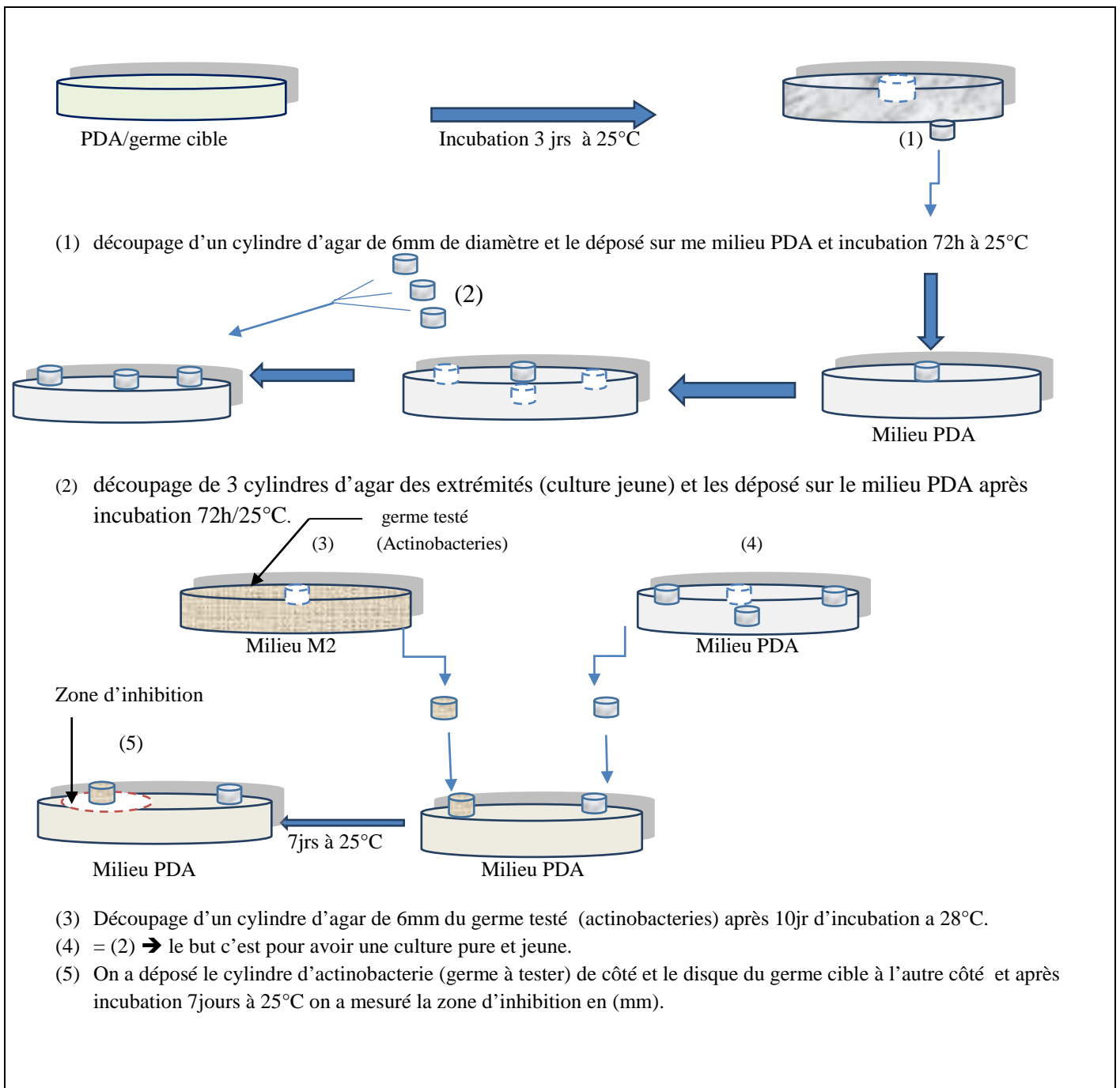


Figure 04 : Mise en évidence de l'activité antifongique des isolats d'actinobacteries par la méthode des cylindres d'agar.

- **Méthode de stries croisées**

L'activité antifongique des souches d'actinobactéries a été évaluée par la méthode de stries croisées sur milieu Williams. Les souches testées ont été ensemencées en un seul trait à la surface du milieu solide puis incubées à 28°C pendant 10 jours. Les germes cibles ont été ensemencés perpendiculairement à la strie longitudinale de la souche d'actinobactéries, les boîtes ont été incubées à 25°C pendant 48h. (**Figure 05**).

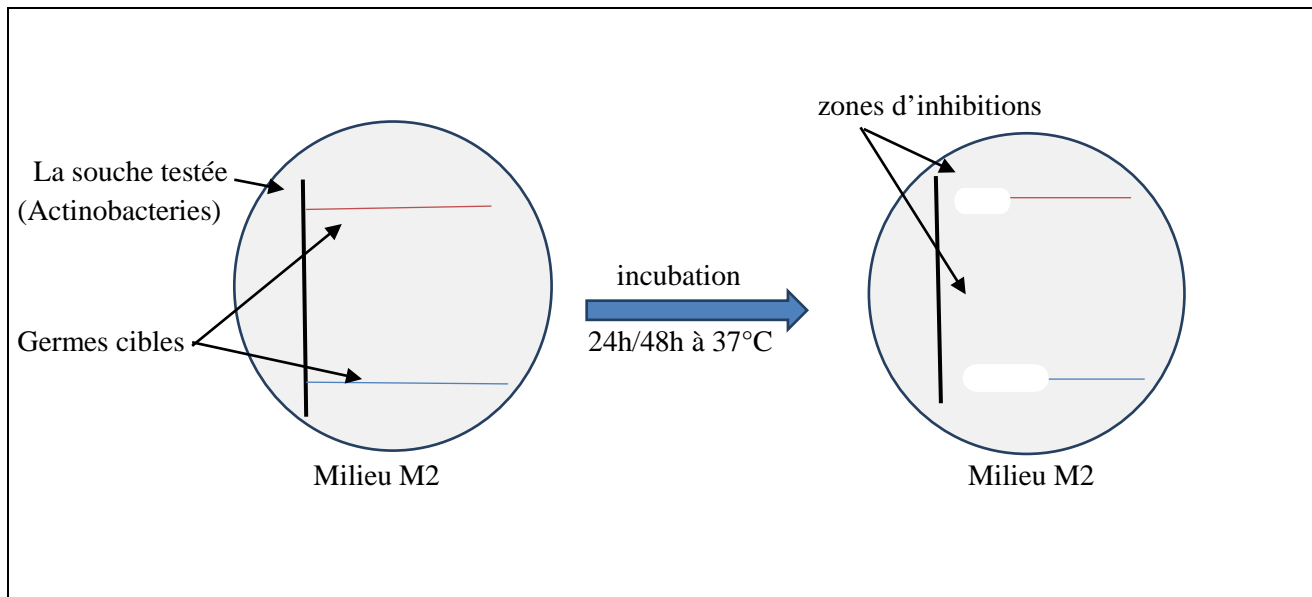


Figure 05 : Mise en évidence de l'activité antifongique sur milieu M2 modifié par la Méthode des stries croisées.

Chapitre III
Résultats et Discussions

I- Mise en évidence de l'activité antimicrobienne

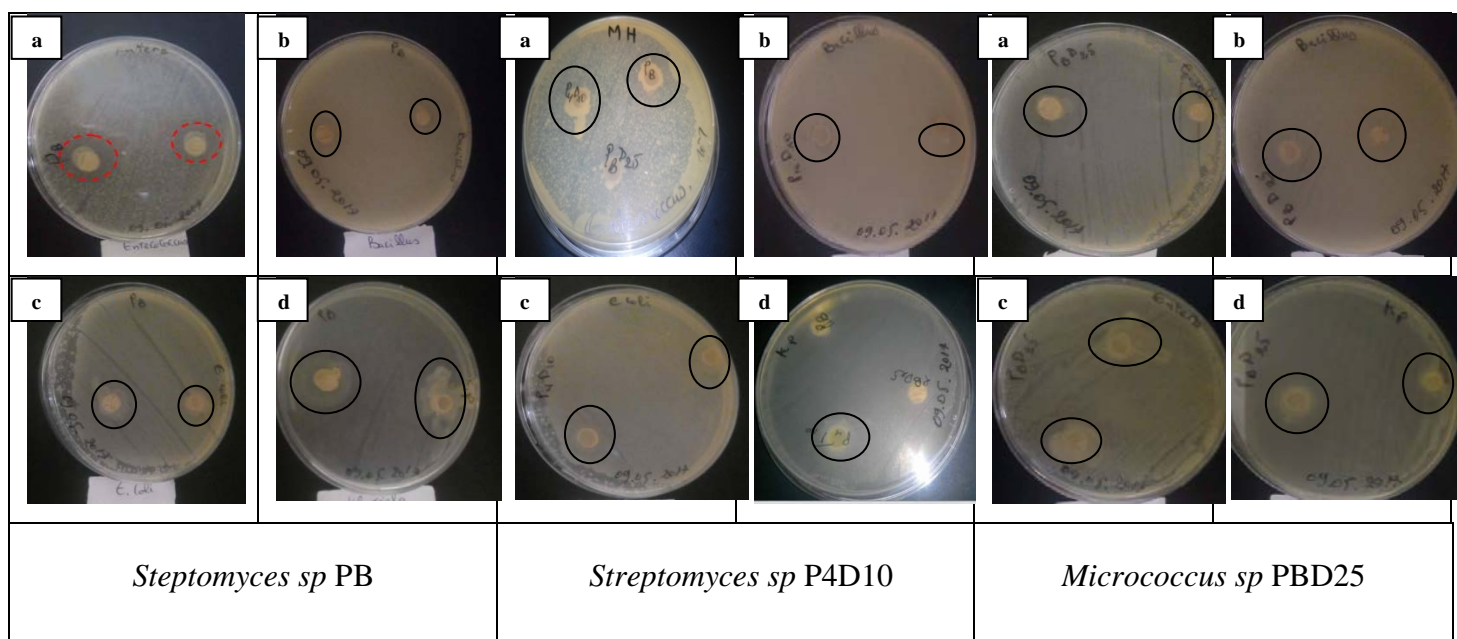
3 isolats d'actinobactéries (*Streptomyces sp PB*, *Streptomyces sp P4D10*, *Micrococcus sp PBD25*) ont été utilisés pour évaluer leur activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes, (2 bactéries Gram- ; 2 Gram+, et 4 champignons filamenteux). Les bactéries ont été choisies sur la base de leur pouvoir pathogène pour l'homme, (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. faecalis* et *B. subtilis*), et des champignons phytopathogènes (*B. cinerea*, *A. flavus*, *A. niger*, *Mucor sp.*).

Les résultats ont été obtenus après incubation à 37°C pendant 24h pour les bactéries, et à 25°C pendant 48h à 5 jours pour les champignons.

II- Mise en évidence de l'activité antibactérienne

II-1- Méthode des cylindres d'agar

Les isolats testés ont montré une activité variable antibactérienne vis-à-vis des germes cibles utilisés. (Figure 06).



a : *E. faecalis*

b : *B. subtilis*.

c : *E.coli*.

d : *K. pneumoniae*.

Figure 06 : Activité antibactérienne des isolats (*Streptomyces sp PB*, *Streptomyces sp P4D10*, *Micrococcus sp PBD25*).

L'isolat *Streptomyces sp* PB a présenté un effet antibactérien important *K. pneumoniae* et *E. faecalis* avec des zones d'inhibitions de 18 mm et 15 mm respectivement et une activité antibactérienne

particulièrement faible vis-à-vis *B. subtilis* et *E. coli*. (Figure 07).

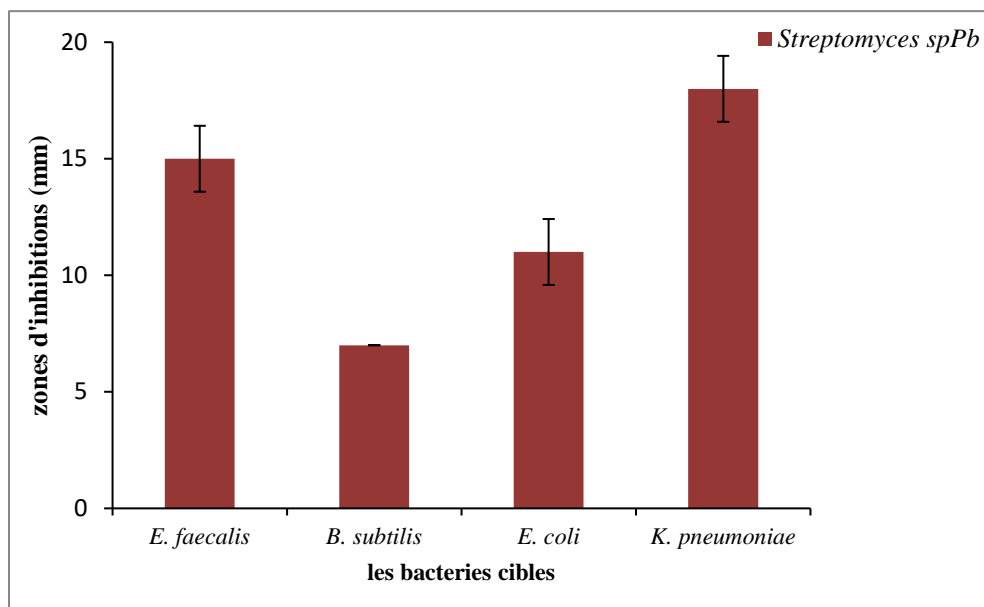


Figure 07 : Activité antibactérienne de l'isolat *Streptomyces sp* PB.

L'isolat *Streptomyces sp* P4D10 présente également une forte activité antagoniste vis-à-vis des bactéries à Gram- avec les diamètres des zones d'inhibition variant entre 15 mm pour *E. coli* et 12 mm pour *K. pneumoniae* par contre un effet moyen pour *E. faecalis* et aucun effet remarquable n'a été enregistré pour *B. subtilis* dont les zone d'inhibition ont été de 10 mm et 7 mm respectivement (Figure 08).

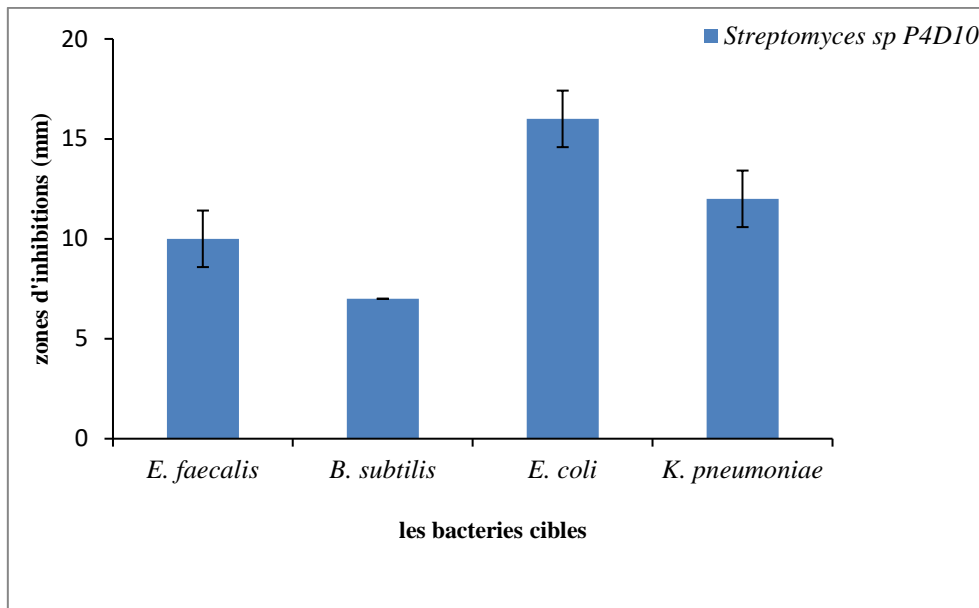


Figure 08 : Activité antibactérienne de l'isolat *Streptomyces sp* P4D10.

L'isolat *Micrococcus sp* PBD25 a montré une faible activité antagoniste contre *B. subtilis* et *K. pneumoniae* dont les zones d'inhibitions ne dépassent pas les 10 mm, mais une activité antagoniste bonne à moyenne contre *E. faecalis* où la zone d'inhibition atteint 13 mm et *E. coli* qui ne dépasse pas 11 mm (**Figure 09**).

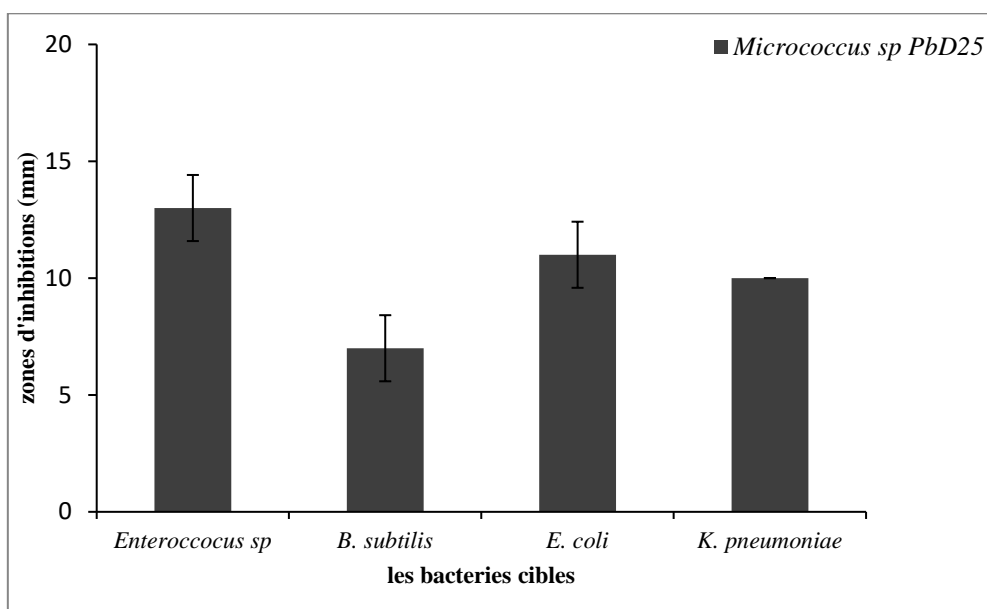
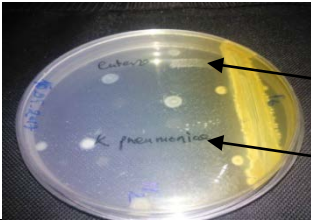
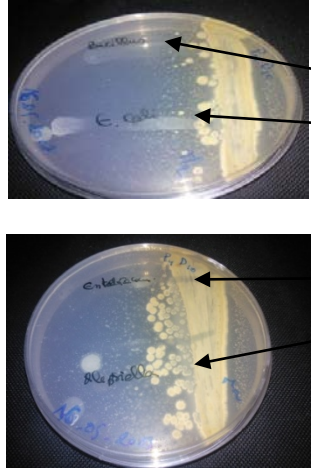
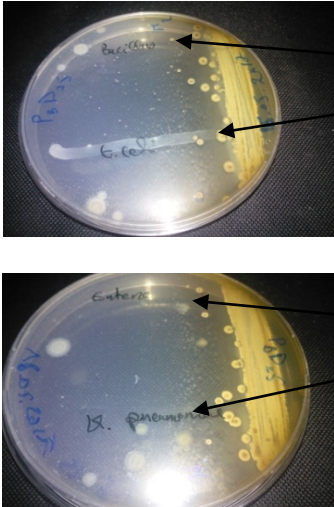


Figure 09: Activité antibactérienne de l'isolat *Micrococcus sp* PBD25.

II-2- Méthodes de stries croisées

Tous les isolats d'actinobacteries ont montré un antagonisme remarquable contre les bactéries à Gram négatifs, (*K. pneumoniae*, *E. coli*), par contre aucun effet remarquable contre les Gram positifs (*B. subtilis*, *E. faecalis*), cette méthode nous a plus au moins confirmé les résultats de la méthode des cylindres d'agar. (Tableau V).

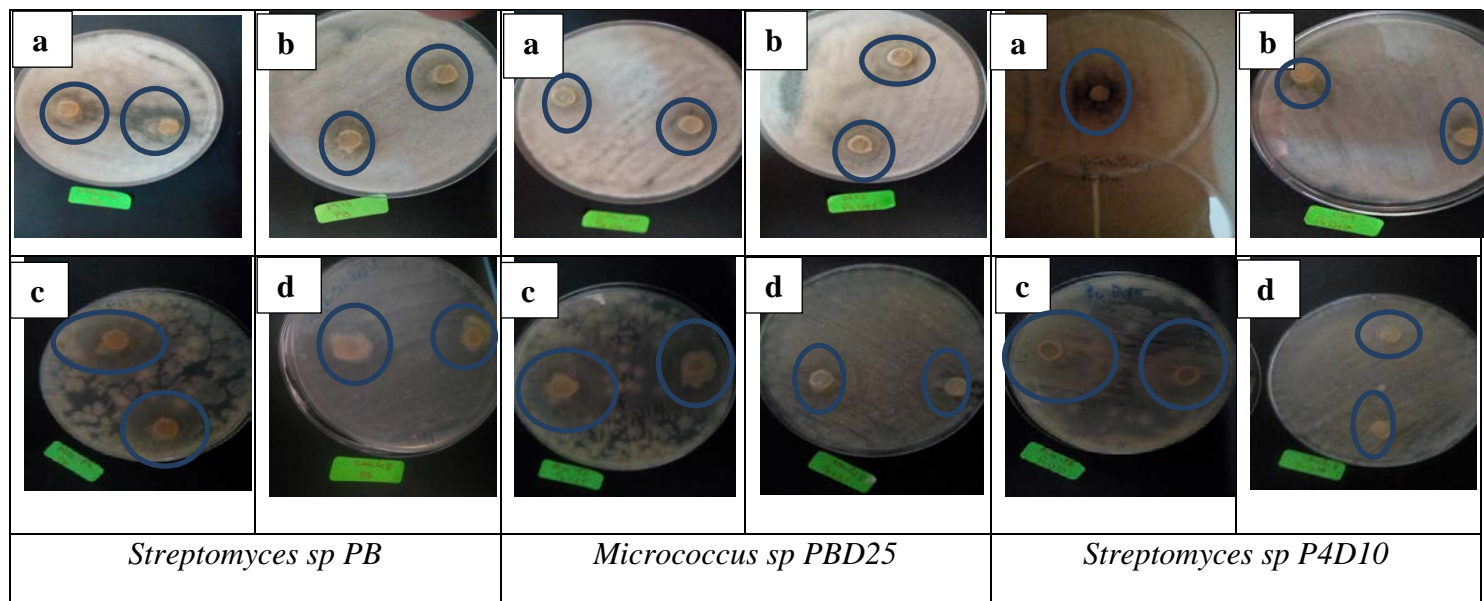
Tableau V : Teste des stries croisées isolats d'actinobacteries

Souche testé	Résultat de la méthode de stries croisées	Germes cibles utilisé
<p>✚ L'isolat <i>Streptomyces sp</i> PB</p>		<ul style="list-style-type: none"> • <i>E. faecalis</i> • <i>K. pneumoniae</i>
<p>✚ L'isolat <i>Streptomyces sp</i> P4D10</p>		<ul style="list-style-type: none"> • <i>B. subtilis</i> • <i>E. coli</i> • <i>E. faecalis</i> • <i>K. pneumoniae</i>
<p>✚ L'isolat <i>Micrococcus sp</i> PbD25</p>		<ul style="list-style-type: none"> • <i>B. subtilis</i> • <i>E. coli</i> • <i>E. faecalis</i> • <i>K. pneumoniae</i>

III- Mise en évidence de l'activité antifongique

III-1- Méthode des cylindres d'agar

Les actinobactéries testés dans cette étude ont montré un potentiel antifongique vis-à-vis des champignons testés (figure 10)



- a: *A. niger*
- b: *Mucor sp*
- c: *B. cinerea*
- d *A. flavus*.

Figure 10 : Activité antifongique des isolats (*Streptomyces sp Pb*, *Streptomyces sp P4D10*, *Micrococcus sp PbD25*) par la méthode des cylindres d'agar.

L'isolat *Streptomyces sp PB* a présenté une activité antifongique envers tous les champignons, notamment une activité plus remarquable sur *A. niger* avec une zone d'inhibition de 23 mm et des activités variables vis-à-vis *Mucor sp*, *A. flavus*, *B. cinerea* qui se présente comme suite : 19 mm ; 17 mm ; 18 mm respectivement (figure 11).

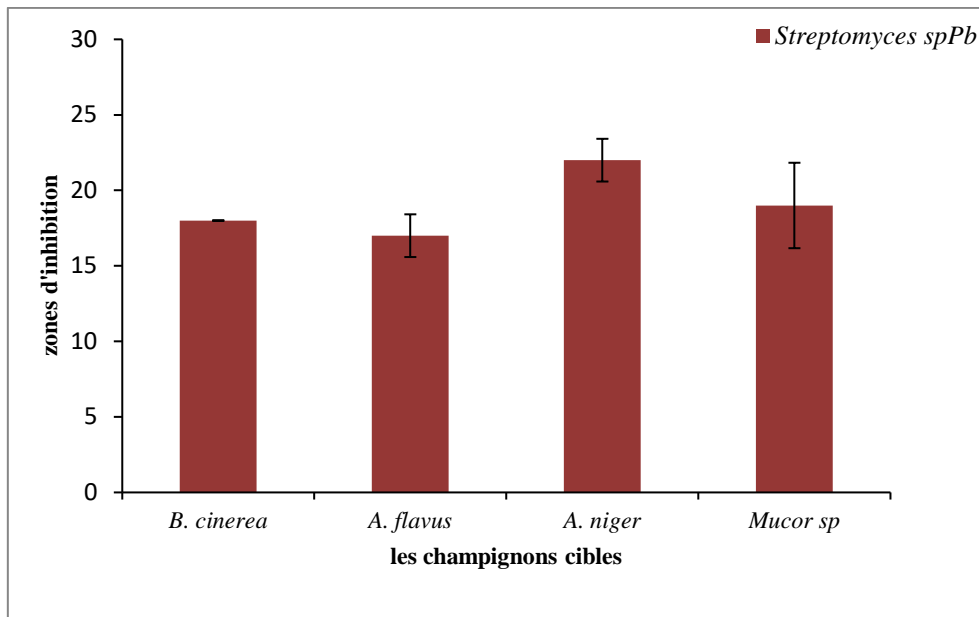


Figure 11 : Activité antifongique de l'isolat *Streptomyces sp Pb*.

l'isolat *Micrococcus sp* PBD25 présente également une activité antifongique remarquable vis-à-vis tous les champignons où le diamètre des zones d'inhibition pour *B. cinerea* ; *Mucor sp* ; *A. niger*, *A. flavus* atteints : 26.5 mm ; 18 mm ; 16 mm et 12 mm respectivement (**figure 12**).

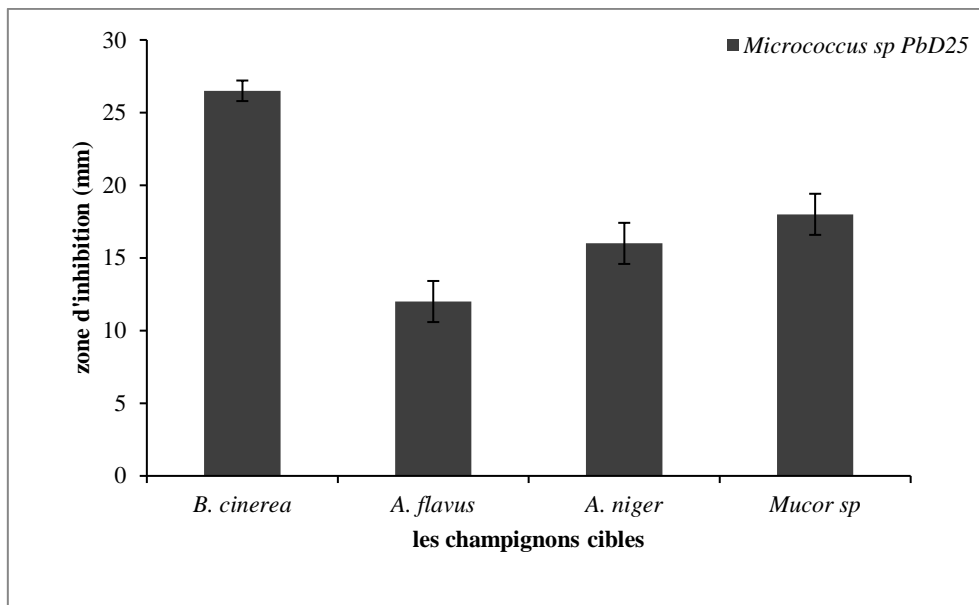


Figure 12 : Activité antifongique de l'isolat *Micrococcus sp PbD25*.

Le résultat obtenu pour l'isolat *Streptomyces sp* P4D10 affirme une activité antifongique vis-à-vis de tous les germes cibles, clairement remarquable pour *B. cinerea* avec une zone d'inhibition de 25 mm; et 14.5 mm pour *A. flavus* ; 13 mm pour *A. niger* et 11.5 mm pour *Mucor sp* (**figure 13**).

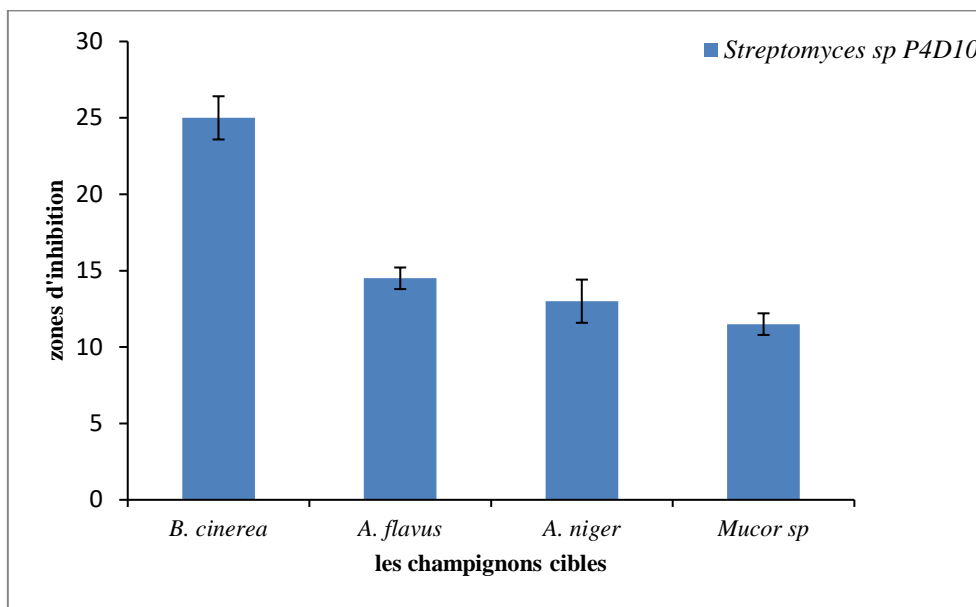


Figure 13 : Activité antifongique de l'isolat *Streptomyces sp* P4D10.

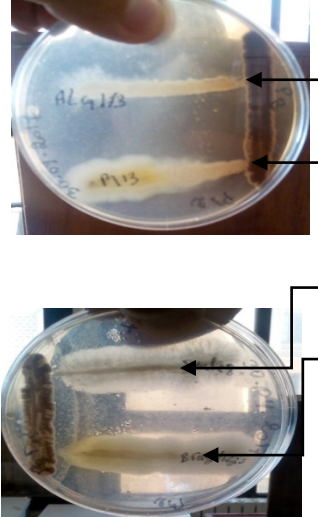
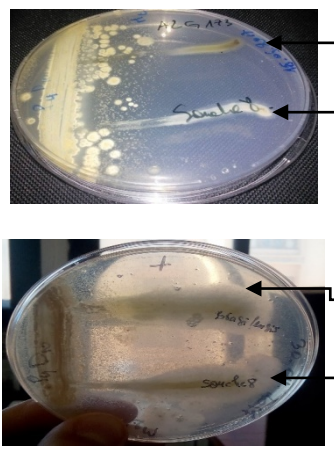
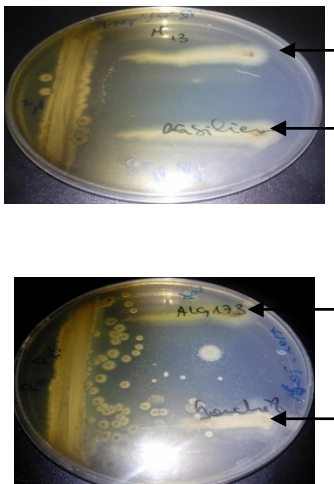
La méthode de confrontation directe

La méthode de confrontation directe a montré une activité antifongique des isolats d'actinobactéries vis-à-vis des 4 champignons avec des variations d'une espèce à une autre. (Annexe)

III-2- Méthode de striées croisés

Tous les isolats d'actinobactéries ont montré un antagonisme remarquable contre les champignons, cette méthode nous a confirmé les résultats de la méthode des cylindres d'agar et de la méthode de confrontation directe (**Tableau VI**).

Tableau VI : Test des stries croisées des isolats d'actinobacteries

Souche testé	Résultat de la méthode de stries croisées	Germes cibles utilisé
<p>✚ L'isolat <i>Streptomyces</i> sp PB</p>		<ul style="list-style-type: none"> • <i>B. cinerea</i> • <i>Mucor</i> sp • <i>A. flavus</i> • <i>A. niger</i>
<p>✚ L'isolat <i>Streptomyces</i> sp P4D10</p>		<ul style="list-style-type: none"> • <i>B. cinerea</i> • <i>A. flavus</i> • <i>A. niger</i> • <i>Mucor</i> sp
<p>✚ L'isolat <i>Micrococcus</i> sp PBD25</p>		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Mucor</i> sp • <i>A. niger</i> • <i>B. cinerea</i> • <i>A. flavus</i>

DISCUSSION

Ce travail a été consacré sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne des trois isolats d'actinobactéries préalablement caractérisées dans les travaux de recherche du laboratoire de microbiologie appliquée, université de Bejaia

L'activité antimicrobienne a été mise en évidence par les testes des cylindres d'agar et les stries croisées.

Les trois isolats présentent une activité antibactérienne et antifongique très variables selon l'isolat d'actinobactéries et selon le germe cible utilisé.

L'activité antibactérienne la plus importante est enregistré avec l'isolat *Streptomyces sp PB* contre la bactérie à Gram négatif *K. pneumoniae* où la zone d'inhibition a été de 18 mm, autrefois aucun des isolats n'a présenté d'activité vis-à-vis la bactérie à Gram négatif *B. subtilis*, mais seule l'isolat *Streptomyces sp PBD25* a pu marquer une activité contre la bactérie à Gram positif *E. faecalis* (13 mm). De plus, les trois isolats ont marqué une bonne activité antifongique vis-à-vis des champignons testés.

L'activité antifongique a été relevée pour l'isolat *Micrococcus sp PBD25* notamment contre *B. cinerea* (26,5 mm) et la même valeur presque a été enregistré par l'isolat *Streptomyces sp P4D10* (25 mm), contrairement à l'isolat *Streptomyces sp PB* a été marqué une forte activité antifongique vis-à-vis *A. niger* et une faible activité antifongique contre *B. cinerea* dont les zone d'inhibition sont de (22 mm ; 17 mm) respectivement. Des résultats similaires ont été rapportés par **Loucif (2011)** que d'une part, l'activité antibactérienne diffère d'une souche actinobactéries à l'autre, et d'autre part, pour la même souche d'actinobactéries.

Selon **Srivibool et Sukchotiratana, (2006)**, qui ont obtenu des résultats comparables, expliquèrent que l'absence d'activité antibactérienne ou antifongique ne signifie pas forcément que la substance est absente ou pas assez active, mais cela peut être du à une mauvaise diffusion de celle-ci, dans le milieu, car n'étant pas polaire ou bien constituée de composés non polaires. **Boughachiche et al. (2005)** et **Boudemagh et al. (2005)**, expliquent que les variations des zones d'inhibition sont dues au fait qu'une souche d'actinobactéries peut produire plusieurs molécules antimicrobiennes (différents spectres d'action) dont la nature dépend de la composition du milieu de culture. En outre, les résultats de ce travail montrent aussi que l'activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries testées dépend de la méthode utilisée (**Lemriss., 2003**). Ainsi, nos résultats montrent aussi une différence en fonction de la méthode utilisée. Il s'est révélé que par rapport à la méthode des stries croisées,

DISCUSSION

la méthode des cylindres d'agar se prête mieux à la détermination de la sensibilité des souches microbiennes aux isolats d'actinobactéries testées.

***CONCLUSION Générale et
perspective***

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les actinobactéries sont des microorganismes d'intérêts industriels par excellence. Ces microorganismes sont les plus recherchés pour leur capacité de produire beaucoup de métabolites secondaires. Le présent travail, a été consacré à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de trois isolats d'actinobactéries isolés de deux régions différentes Boulimat (Béjaia) et Tikjda (Bouira) par l'équipe de Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) de l'Université Abderrahmane Mira de Bejaia. A savoir : *Streptomyces sp Pb*, *Streptomyces sp P4D10* et *Micrococcus sp PbD25* vis-à-vis des microorganismes cibles : *A. Niger*, *A. flavus*, *Mucor sp*, *B. cinerea*, *E.feacalis*, *K.pneumonie*, *E.coli*, *B.subtilis*).

L'activité antifongique a montré un potentiel important pour les deux isolats *Streptomyces sp P4D10* et *Micrococcus sp PbD25* vis-à-vis *B.cinerea* et une activité plus au moins faible pour les autres champignons cibles. L'activité antibactérienne a montré des activités surtout sur les bactéries à Gram positifs que sur les bactéries à Gram négatifs et cela pour les deux isolats *Micrococcus sp PBD25*, *streptomyces sp P4D10*

Finalement, l'activité antimicrobienne de ces isolats diffère entre les germes cibles utilisés et d'un isolat d'actinobactéries à un autre.

Il serait intéressant d'aborder les points suivants dans l'avenir afin d'affiner ce présent travail :

- Caractérisation des molécules actives des actinobactéries testées,
- Compléter l'identification moléculaire des actinobactéries testées,
- Elargir le nombre des germes cibles (bactérien et fongique),

b

- **Barka EA et al.** Taxonomie, physiologie et produits naturels des actinobacteries. Science biologique [en ligne], 2016, vol.80, n°1, p.1-43 (consulté le 25/05/2017)
- **Barka EA et al.** taxonomy physiology and natural products of actinobacteria. Science medical [en ligne] . 2015, vol.80, n°1, p.1-43 (consulté le 20/04/2017)
- **Barreto T. R. et al., 2008.** Population densities and genetic diversity of actinomycetes associated to the rhizosphere of theobroma cacao. Brazilian Journal of Microbiology. Vol: 39.N: °3. Pp. 464-465.
- **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. Environ Microbiol, 13(2), 236-243
- **Berdy J. 2005.** Bioactive microbiol metabolites. Journal of antibiotics. 58: 1-26.
- **Bergey's Manuel, (2007). Garrity. G.M.; Lilburn. T.G; Cole. J.R; Harrison. S.H.,Euzéby. J; and Tindall. B.J.** In: Part 10: Taxonomic Outline of the Bacteria and Archeae. Copyright, Michigan State University Board of Trustees
- **Boucheffa K., 2010.** Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques: Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits
- **Boudjella H., 2007.** Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des Streptosporangium des sols sahariens et caractérisation des principaux

antibiotiques sécrétés par trois souches. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique El-Harrach (Alger).pp 177

C

□ **Collins M.D., Goodfellow M. and Minnikin D.E. (1980).** - Fatty acid, isoprenoid

quinone and polar lipid composition in the classification of Curtobacterium and related taxa. J. Gen. Microbiol., 118, 29-37.

D

□ **Demain, A.L. (2000).** Small bugs, big business: the economic power of the microbe.

Biotechnol Adv, 18(6): 499-514.

□ **Demain, A.L., Solomon N.A. (1985).** Biology of industrial microorganisms. The Benjamin/Cummings publishing company, Inc. pp 291–357.

E

□ **El-Mehalawy A. et al., 2004.** Influence of Maize Root Colonization by the Rhizosphere Actinomycetes and Yeast Fungi on Plant Growth and on the Biological Control of Late Wilt Disease. International journal of agriculture and biology. Vol 6. N°:4. Pp: 599–605.

□ **Euzeby JP. (2015).** List of bacterial names with standing in nomenclature. <http://www.bacterio.cict.fr/>

F

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

G

- **Getha K.; Vikineswary S.; Wong W. H.; Seki T.; Ward A.; Goodfellow M., 2005.** Evaluation of *Streptomyces* sp. strain g10 for suppression of *Fusarium* wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.*, (32):24-32
- **Goodfellow and Cross (1984).** In **Embeley T.G., O'Donnell M.A., Rostron J. and Goodfellow M. (1987).** Chemotaxonomy of wall type IV actinomycetes which lack mycolic acids *J. Gen. L Microbiol.*, 134.953-960
- **Gurielidze M, Pataraya D, cholokava N, Nutsunidze N,** Extremophilic Actinomycetes, Distributed in Various Types of Soils of Georgia and their Protease Activity. *Bulletin of the Georgian National Academy of science* 2010 ;4(3) :81-85

H

- **Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T. (Eds) (2000).** *Bergey's Manual of Déterminative Bacteriology*, Lippincott Williams & Kilkins (Philadelphia) ,9th Edition. pp 619-623

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **-Horinouchi S. 2002.** Antimicrobial hormone, A-factor, as a master switch for morphological differentiation and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*. *Frontiers in Biosciences*.7: 2045-2057.

K

- **Kang J. H., Kondo.F. 2004.** *Streptomyces* sp strain isolated from river water has high bisphenol A degradability. *Letters in Applied Microbiology*. 39: 178-180.

L

- **Lacey J. (1973).** Actinomycetes in soils, composts and fodders. *Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser.*, **2**, 231-51.
- **Lamari L., Boudjella H., Bouras N., Sabaou N. (2015).** Etude comparative des actinobactéries de la rhizosphère de deux cultivars de palmier dattier sensible et résistant au bayoud. *Algerian Journal of Arid Environment.*, 3:3–17.
- **Larpent. J.J. (2000).** - Introduction à la nouvelle classification bactérienne, les principaux groupes bactériens, ed : **Tec et Doc, pp 280**
- **Lazzarini A, Cavaletti, Toppo G, Marinelli F,** Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. *Antonie Van Leeuwenhoek*.2000 ;78 :399-405
- **Lechevalier M. P.; De Bievre C.; Lechevalier H. A., 1977.** Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochem. Syst. Ecol.*, **5**, 249-260

- **Lechevalier M.P. and Lechevalier H.A. (1970b).** Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 20: 435-443.

M

- **Maier R. M.; Pepper I. L.; Gerba C. P., 2009.** Environmental microbiology. Academic Press: London. Pp: 598.
- **Mahyudin NA., Blunt JW., Cole ALJ., Munro MHG. (2012).** The isolation of a new S-methyl benzothioate compound from amarine derived *Streptomyces* sp. *J Biomed Biotechnol.*, doi:10.1155/2012/894708
- **Maskey RP., Li FC., Qin S., Fiebig HH., Laatsch H. (2003a).** Chandrananimycins A-C: production of novel anticancer antibiotics from a marine *Actinomadura* sp. isolate M048 by variation of medium composition and growth conditions. *J Antibiot.*, 56:622–629.
- **Maskey RP., Helmke E., Laastsch H. (2003b).** Himalomycin A and B: isolation and structure elucidation of new fridamycin type antibiotics from a marine *Streptomyces* isolate. *J Antibiot.*,56:942–949. McNeil MM., Brown JM. (1994). The medically
- **Mordarska H.; Mordarski M.; Goodfellow M., 1972.** Chemotaxonomic characters and classification of some nocardioform bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 71, 77-86

N

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Nosawa Y., Sakai N., Arai K., Kawasaki Y. and Harada K. (2007).** Reliable and sensitive analysis of amino acid's in Marfey's methode. J. Microbiol. Meth. 70: 306-
- **Nouredine. L. (2006).** - Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. **Thèse de Doctorat. Université de Tizi Ouzou (Algerie). pp 186.311.**

O

Overbye K.M et Barret J.F. (2005). Antibiotics :Where did we go wrong ?
discovery Today.10, 45-52

P

- **Prakash A.; Satyanarayana T.; Johri B. N., 2012.** Microorganisms in Environmental Management. Springer. Pp: 819
- **Prescott L.M, Sherwood L.M, Woolverton C.J,** Microbiologie. De Boeck Edition 2010. ISBN-978-2-8041-6012-8

S

- **Sabaou N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A, Lamari L., Bennadji H., Lefebvre G., Germain P. (1998).** Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. Sécheresse, 9 :147–153.
- **Sabaou N., Hacene 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

□ **SMAOUI S., 2010**-Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. en vue de l'obtention du doctorat .Toulouse : 22p

□ **Sneath. P.H.A. (1989).** – Numerical taxonomy. *in* : Bergey's Manual of systematic Bacteriology,.Williams S.T., Sharpe M.E. and Holt J.G. (Eds.), Volume 4. Williams and Wilkins Co.,Baltimore. pp. 2303- 2305

□ **Stackebrandt E. and Woese C.R. (1981).** The evolution of prokaryotes. *Synop. Soc.Gen.Microbiol.* 32: 1-31.

□ **Stackebrandt E., Rainey F.A and Ward-Rainey N.L. (1997).** A proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* clasis nov. *Int. J. syst. Bacteriol.*, **47**, 479-491.

V

□ **Ventura M.; Canchaya C.; Tauch A.; Chandra G.; Fitzgerald G. F.; Chater K. F.; van Sinderen D., 2007.** Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*, 71 (3), 495–548

□ **Verma et al.** Analyses phylogénitiques de phylum actinobacteries basées sur des séquences entières du génomesSanté médical [en ligne].2013, vol. 164, n°7, p 718-28(consulté le 02/04/2017)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Vijayakumar R., Muthukumar C., Thajuddin N., Panneerselvam A. and Saravanamuthu R. (2007).** Studies on the diversity of actinomycetes in the palk strait region of bay of Bengal, india. *Actinomycetologica*. 21 (2): 59-65.

W

- **Watve, M.G., Tickoo, R., Jog, M.M., Bhole, B.D. (2001).** How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*?. *Arch Microbiol*, 176(5): 386–90
- **Williams ST., Lanning S., Wellington EMH. (1984).** Ecology of Actinomycetes. In: *The Biology of the Actinomycetes*. Eds: M. Goodfellow, M. Mordarski and S.T. Williams. Academic press, London, New York, Sydney, Tokyo, Sao Paulo. pp. 481–528.

Z

- **Zitouni, A. (1995).** Les genres *Nocardiopsis* et *Saccharothrix* (Actinomycetales) dans les sols sahariens: taxonomie numérique ; extraction ; purification et caractérisation de quelques antibiotiques synthétisés. Magister de microbiologie, E.N.S. de Kouba, Algérie.
- **Zaitlin B and Watson S.B (2006).** Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: myths, tenets and truths. *Water research*. 40.1741-1753

ANNEXES

Tableau : Principaux critères utilisés pour la taxonomie des actinomycètes

Critères taxonomiques		Références
Critères morphologiques et fonctionnels	<p>Hyphes : présence, abondance et disposition des hyphes du mycélium végétatif ou du mycélium aérien</p> <p>Spores : nombre, mobilité, forme, position sur les hyphes</p> <p>Présence de sporanges</p> <p>Présence de sclérotés ou de synnématas</p> <p>Résistance des spores à la chaleur</p> <p>Résistance aux traitements acides</p>	<p>Schofield et Schaal, (1981); Demain et Solomon (1985)</p>
Critères Chimio taxonomiques	<p>Composition du peptidoglycane</p> <p>Composition en sucres cellulaires</p> <p>Composition phospholipidique des membranes</p> <p>Production d'antibiotiques</p> <p>Tests biochimiques :</p> <p>Réduction du nitrate</p> <p>Hydrolyse de l'urée</p> <p>Hydrolyse de l'acide hyppurique</p> <p>Synthèse de mélanine (Streptomyces)</p>	<p>Stanek et Roberts (1974) ; Lechevalier et al, (1977) ; Lechevalier et Lechevalier (1985); Larpent et Sanglier (1989)</p> <p>Critères génomiques %GC</p>
Critères génomiques	<p>%GC de l'ADN</p> <p>Digestions de l'ADN et analyse par électrophorèse en champ pulsé (DGGE)</p> <p>Séquence de l'ADNr 16S</p>	<p>(Stackebrandt, 1997; Ventura, 2007 ; Zhi, 2009).</p>

ANNEXES

Tableau : Chimio types de parois (Larpent, 2000).

Type	Genres
Type I : LL- DAP, Glycine	Streptomyces, Streptoverticillium, Nocardioïdes, Intrasporangium, Kineosporia, Sporichthya, Arachnia, Pimelobacter
Type II : méso DAP, Glycine, arabinose	Micromonospora, Glycomyces, Actinoplanètes (Actinoplane Ampullariella, Catellatospora, Dactylosporangium, Pilimelia)
Type III : méso DAP, Galactose	Thermomonospora, Spirillospora, Thermoactinomyces, Nocardiosis, Streptosporangium, Geodermatophilus, Microtetraspora, Brevibacterium, Dermatophilus, Frankia, Maduromycètes (Actinomadura, Microbispora, Microtetraspora, Planobispora, Planomonospora, Streptosporangium) Saccharothrix, Streptoalloteichus, Nocardia, Corynebacterium, Mycobacterium, Actinobispora, Caseobacter, Rhodococcus
Type IV : méso DAP, Arabinose, Galactose	Kibdelosporangium, Actinopolyspora, Amycolata, Amycolatopsis, Saccharopolyspora, Kibdelosporangium, Pseudonocardia, Saccharomonospora.
Type V : Lysine, Ornithine	<i>Actinomyces israelii</i>
Type VI : Lysine, Acide aspartique	<i>Actinomyces bovis</i> , <i>Microbacterium</i> , <i>Oerskovia</i> , <i>Promicromonospora</i> , <i>Arcanobacterium</i>
Type VII : DAB Glycine, Lysine (+/-)	<i>Agromyces</i> , <i>Clavibacter</i>
Type VIII : Ornithine	<i>Aureobacterium</i> , <i>Curtobacterium</i> , <i>Cellulomonas</i>

DAP : acide diaminopimélique

DAB : aide diaminobutyrique

Tableau : Types de phospholipides rencontrés chez les actinomycètes (Lechevalier et al. 1977)

type de PL	PE	PC	PG	P Glycérol	Exemples de genres
PI	-	-	-	v	Actinomadura Nocardioïdes
PII	+	-	-	-	Streptomyces, Nocardia Amycolatopsis, Kutzernia Saccharothrix
PIII	-	+	-	V	Nocardiosis, Pseudonocardia Saccharopolyspora
PIV	+	-	+	-	Streptosporangium, Planomonospora, Planobispora, Microtetraspora, Nonomuraea
PV	-	-	+	+	Oerskovia, Promicromonospora Cellulomonas

Composition des milieux de culture :

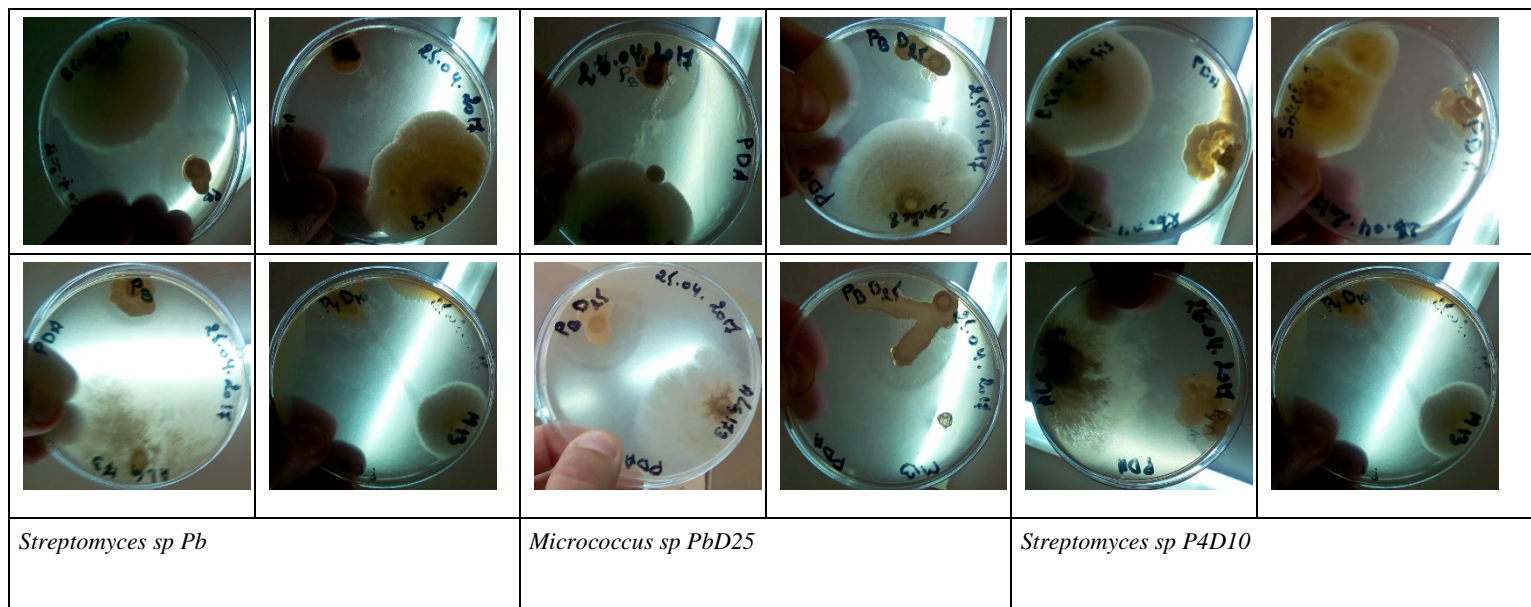
Williams and Kuster (M2) :

10 g.L-1 Amidon soluble
 0.3 g.L-1 caséine
 2 g.L-1 KNO₃
 2 g.L-1 Na Cl
 2 g.L-1 K₂HPO₄
 0.05 g.L-1 MgSO₄.7H₂O
 0.02 g.L-1 CaCO₃
 0.01 g.L-1 FeSO₄.7H₂O
 1 g.L-1 glucose
 15 g.L-1 agar

PH 7.2

Figure: Activité antifongique des souches (*Streptomyces sp Pb*, *Micrococcus sp PbD25*, *Streptomyces sp P4D10*) par la méthode de confrontation directe vis-à-vis :

a): *A. niger* ; b): *B. cinerea* ; c): *A. flavus* d): *Mucor sp*



Résumé

Cette étude a pour objectif principal la mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode des cylindres (*Streptomyces sp Pb*, *Streptomyces sp P4D10* et *Micrococcus sp PbD25*) collectés dans deux régions différentes. L'activité antibactérienne a été évaluée sur le milieu Muller Hinton vis-à-vis de quatre bactéries (*E. feacalis*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *B. subtilis*) et l'activité antifongique a été réalisée sur le milieu PDA envers quatre champignons (*A. Niger*, *A. flavus*, *Mucor sp*, *B. cinerea*). Les trois actinobactéries testées ont montré des activités antimicrobiennes variables envers des germes Cibles utilisés. L'activité antibactérienne la plus importante a été enregistrée avec l'isolat *Streptomyces sp PB* contre la bactérie à Gram négatif *K. pneumoniae*. Aucun des isolats d'actinobactéries n'a présenté d'activité vis-à-vis la bactérie Gram positif *B. subtilis*. Une bonne activité antifongique a été relevée pour l'isolat *Micrococcus sp PBD25* et *Streptomyces sp P4D10* notamment contre *B. cinerea*. L'isolat *Streptomyces sp PB* qui a marqué une forte activité antifongique vis-à-vis *A. niger* et une faible activité antifongique contre *B. cinerea*. Les trois actinobactéries étudiées sont doté d'un potentiel antimicrobien intéressant.

Mots clés : Actinobactéries, *Streptomyces*, Activité antibactérienne, Activité Antifongique.

Abstract

The main objective of this study is to demonstrate antimicrobial activity by Method of agar cylinders of three actinobacteria isolates (*Streptomyces sp Pb*, *Streptomyces Sp P4D10* and *Micrococcus sp PbD25*) collected in two different regions. The activity Antibacterial was evaluated on Muller Hinton medium against four bacteria (*E. Feacalis*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *B. subtilis*) and the antifungal activity was carried out on the medium PDA to four fungi (*A. Niger*, *A. flavus*, *Mucor sp*, *B. cinerea*). The three Actinobacterias tested showed variable antimicrobial activities towards germs Targets used. The most important antibacterial activity was recorded with the isolate *Streptomyces sp PB* against gram negative bacteria *K. pneumoniae*. None of the isolates of actinobacteria showed no activity against Gram-positive *B. subtilis* bacteria. A good Antifungal activity was observed for the isolate *Micrococcus sp PBD25* and *Streptomyces sp P4D10* Especially against *B. cinerea*. The *Streptomyces sp PB* isolate, which had a strong activity Antifungal activity against *A. niger* and low antifungal activity against *B. cinerea*. The three Actinobacteria studied have an interesting antimicrobial potential.

Key words: Actinobacteria, *Streptomyces*, Antibacterial activity, Activity antifungal.