# UNIVERSITÉ DE BISKRA

### Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie Département des sciences de la nature et de la vie

Filière: Sciences biologiques

### MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

### Présenté et soutenu par : **Hachana Meriem/Halilou Ikram**

Le : jeudi 22 juin 2023

### Isolement et caractérisation des Actinomycètes des sols arides (Touggourt, Illizi et Tendouf)

### Jury:

M.	BENKADOUR Bachir	MAA	Université de Biskra	Président
Dr.	BABA ARBI Souad	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Dr.	REDOUANE-SALAH Sara	MCA	Université de Biskra	Examinateur

Année universitaire: 2022 - 2023

### Remerciements

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre gratitude envers "Allah", le tout-puissant et le Miséricordieux, pour nous avoir accordé le courage, la volonté, la force, la santé et la persévérance nécessaires pour mener à bien cette humble tâche. Nous sommes reconnaissants d'avoir été guidés sur le chemin du succès et soutenus dans surmonté les obstacles rencontrés tout au long de nos études.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre encadrant, Dr. BABA ARBI S, Maître de Conférences à la département des sciences de la nature et de la vie université Mohamed Khider, Biskra. Ses précieux conseils, son soutien constant, son orientation éclairée, son aide inestimable, sa patience exemplaire et sa compétence remarquable ont été essentiels pour mener à bien ce modeste travail. De plus, nous sommes reconnaissant(e)s de sa participation active dans la correction de ce manuscrit. Sa gentillesse et son engagement ont été d'une valeur inestimable pour nous.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude envers les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail. De plus, nous tenons à remercier les professeurs Ben Abdullah et Bougnoun pour leur précieuse assistance.

Nous exprimons également notre gratitude envers l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation au cours de ces cinq dernières années et nous ont préparés pour cette dernière année de master. Nous vous remercions sincèrement pour vos encouragements et votre bienveillance.

Enfin, nos remerciements s'étendent à toutes les personnes qui ont joué un rôle, de près ou de loin, dans la réalisation de ce travail.

### **Dédicace**

Je dédie humblement ce travail, qui est le résultat de vos conseils

A mon père "Rachid", mon exemplaire dans cette vie.

À ma mère "Djamila", la personne la plus précieuse au monde, qui m'a toujours encouragé pendant mes études. Je t'aime maman.

Je prie Dieu de les protéger et de leur accorder une longue vie.

À ma deuxième mère "El-Ghalia", que Dieu la protège.

À mon défunt deuxième père "Benounas Belkacem" que Dieu lui fasse miséricorde.

À mes sœurs "Fadia, Souad, Moufida, Hadjer, Imen, Rabiaa, Abla"

À mes cher frères "Yazid ,Riad,Yacine,Mourad, Djamel, Nabil."

À ma chère binôme, ma sœur "Halilou Ikram".

À mon cher ami "Mamen Maroua".

À ma chère tante "Wannasa", mon oncle "Gerri Omar" et mes cousins "Ikram, Hind et Salsabil".

À tous nos amis de la promotion 2018-2023.

### Meriem

### **Dédicace**

C'est un immense plaisir pour moi de dédier ce modeste travail À deux personnes les plus nobles et plus chères au monde qu'il sachez que leur place dans mon cœur et ma pensée;

Mon père et ma mère : Salim & Amel

Pour leur précieux soutien, patiente, sacrifices et conseils

Je demande à Dieu les protéger et leur réserver une longue vie

À ma très chère sœur : Samia

À mon cher frère : Amir

Pour votre soutien, vos encouragements, votre confiance et surtout votre Amour, je vous aime tous.

À ma chère binôme ma sœur HACHANA MERIEM

Pour la belle énergie que tu as partagée avec moi chaque jour pour la

Réalisation de ce travail.

Je tiens à adresser mes chaleureux remerciements à ma chère amie Mamen Marwa.

A mes chères tantes: Nadjwa, Monia, Hanan, chafika, Wassila

A mon cher oncle: Bahi

A mes grands-parents maternels et paternels

À mes tantes adorées : Fatima, Houda

À mon oncle bien-aimé : Zwawi, Hamza, que Dieu lui fasse miséricorde

À tous nos amis de promo 2018-2023

A qui nous souhaitons bonne chance dans leur vie professionnelle.

À Toute personne dont j'ai une place dans mon cœur, que je

Connais, Que J'estime et que j'aime.

Merci d'être toujours là pour moi

### Ikram

### Sommaire

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUI	E
Chapitre1. Généralités sur les actinomycètes	
1.1. Définition et Caractérisation d'actinomycètes	5
1.2. Classification des actinomycètes	5
1.2.1. Caractères morphologiques	5
1.2.2.Caractères physiologiques	6
1.2.2.1. Oxygène	6
1.2.2.2. Température	6
1.2.2.3. pH	6
1.2.2.4. Taux d'humidité	6
1.2.3.Caractères chimio-taxonomiques	6
1.2.4.Caractères moléculaires	6
1.3. Ecologie et distribution dans la nature	7
1.4. Cycle de développement	7
Chapitre2. Les intérêts des actinomycètes	
2.1.Importance dans le domaine agronomique	7
2.2. Production des substances biologiquement actives	7
2.2.1. Production des antibiotiques	7
2.2.2. Production des enzymes	8
2.2.3. Production des vitamines	9

2.2.4. Production des pigments	9
Deuxième partie . PARTIE EXPRIMENTALE	
Chapitre 3: Materiel et méthodes	
3.1. Isolement et purification des actinomycètes à partir d'un sol aride	10
3.1.1. Prélèvement des échantillons	10
3.1.2. Isolement des actinomycètes	10
3.1.3 Purification des souches	11
3.1.4 Conservation des isolats	11
3.2. Caractérisation des souches actinomycètes isolées	11
3.2.1. Etude morphologique	11
3.2.1.1. Macromorphologie et caractères culturaux	11
3.2.1.2. Micromorphologie	11
3.2.2. Etude phénotypique	12
3.2.2.1. Recherche de catalase	12
3.2.2.2. Hydrolyse d'amidon	12
3.2.2.3. Hydrolyse de la gélatine	12
3.2.2.4. Croissance à différentes température	12
3.2.2.5. Croissance à différentes pH	12
3.2.2.6. Croissance à différentes concentration en NaCl	12
3.2.2.7. Résistance ou xylène	13
3.2.2.8. Test biochimiques	13
3.3. Recherche de l'activité antimicrobienne chez les isolats d'actinomycètes	13
3.3.1. Test des stries croisées	13
Chapitre 4. Résultats et discussion	
4.2. Caractérisation des souches actinomycètes isolées	18
4.2.1. Etude morphologiques	18
4.2.1.1. Macromorphologies	18

4.2.1.2. Micromorphologie	19
4.2.2. Etude phénotypique	20
4.2.2.1. Résultats de recherche de catalase	20
4.2.2.2. Hydrolyse des différents substrats	20
4.2.2.2.1. Résultats d'hydrolyse de l'amidon	21
4.2.2.2. Résultats d'hydrolyse de gélatine	21
4.2.2.3. Croissance à différentes températures	22
4.2.2.4. Croissance des isolats à différents pH	23
4.2.2.5. Croissance des isolats à différentes concentrations en NaCl	25
4.2.2.6. Résultats de résistance ou xylène	26
4.2.2.7.Test biochimiques	26
4.3. Résultats d'activité antimicrobienne	27
Conclusion	30
Référence bibliographique	36
Annexe	40
Résumé	44

### Liste des tableaux

Tableau	1:	Classe	ment	des	actinon	nycètes	en	fonction	du	Manuel	de	Systén	natique
Bactériol	ogiq	ue de B	ergey		•••••								5
Tableau	<b>2:</b> F	'aramètr	es ph	ysico	-chimiq	ues des	enzy	mes issu	s des	actinomy	ycètes	S	8
Tableau	<b>3:</b> L	es pigm	ents p	rodu	ites par	les actii	nomy	cètes					9
Tableau	<b>4:</b> R	ésultat d	de l'ét	ude 1	nacrom	orpholo	giqu	e et carac	tères	macrosco	opiqu	e	18
Tableau	<b>5:</b> R	ésultats	des a	activi	tés de o	dégrada	tion	des diffé	rents	substrat	s des	sept s	ouches
étudiées.	•••••												20
Tableau	<b>6:</b> L	es Résu	ltats d	le Cro	oissance	des sou	iches	actinom	ycète	s à différ	entes	рН	24
Tableau	<b>7:</b> R	ésultats	d'acti	ivité	antimic	robienn	e des	souches.					28

### Liste des figures

Figure 1: Representation schematique du cycle de vie des actinomycetes sporulant	8
Figure2:Distribution de la production de molécules bioactives antibiotiques	et non
antibiotiques entre les Streptomyces et les genres apparentés d'une part et les autre	s genres
d'Actinomycetales.	8
Figure 3:Aspect macroscopique des quelque souches du sol aride sur le milieu	Amidon-
Caséine	15
Figure 4: Nombre des souches d'actinomycètes isolés à partir de chaque échantillon	16
Figure 5: Nombre des souches d'actinomycètes isolés par milieu de culture	16
Figure 6: Aspect microscopique des souches d'actinomycète	19
Figure 7: Résultat de production de catalase des sept souches	20
Figure 8: Résultats d'hydrolyse de l'amidon par les isolats d'actinomycètes	21
Figure 9: Résultats d'hydrolyse de gélatine par les isolats d'actinomycètes	21
Figure 10:Pourcentage des souches produisent les enzymes hydrolytiques	22
Figure 11:Croissance de quelques souches actinomycètes à 30 °C à 35 °C	23
Figure 12:Croissance des souches actinomycètes à différentes températures	23
Figure 13:Croissance des souches actinomycètes à différentes pH	24
Figure 14:Croissance des souches actinomycètes à concentration en NaCl	26
Figure 15: Utilisation des sources de carbone par les souches d'actinomycètes isolées.	27
Figure 16: Résultats d'activité antimicrobienne des soucheS isolées	29

### Liste des abréviations

%: Pourcentage.

°C: Le degré Celsius

E:Echantillon

**G**:Grossissement

**Gram** + :Gram positive

**Gram - :**Gram negative

(G+C)%: coefficient de Chargaff

**h:**heure

**ISP**: The International Streptomyces Project

l'ARNr : Acide ribonucléique ribosomal

MS: mycélium du substrat

MA: mycélium aérien

**pH**: potentiel d'hydrogène

**P/V:** Poids sur volume

**V/V:** Volume sur volume



Les sols arides, caractérisés par des conditions environnementales extrêmes telles que des températures élevées, une faible disponibilité en eau et une salinité élevée, représentent un habitat unique pour les microorganismes adaptés à ces conditions stressantes. Les actinomycètes, en particulier, sont réputés pour leur résistance à ces contraintes environnementales et leur capacité à survivre dans des habitats arides. Leur isolement à partir de ces sols arides offre donc une occasion précieuse d'étudier leur diversité, leur adaptation aux conditions extrêmes et leur potentiel biotechnologique (Mohammadipanah, 2016).

Les actinomycètes occupent un rôle essentiel dans plusieurs aspects clés de l'écosystème. Ils contribuent activement à la décomposition de la matière organique, la fixation de l'azote, la production de métabolites spécialisés, la symbiose et le maintien de l'équilibre écologique. Leur vaste diversité génétique, leurs capacités métaboliques uniques et leur capacité à prospérer dans des conditions environnementales extrêmes suscitent un grand intérêt dans les domaines de la recherche scientifique et de la biotechnologie (Goodfellow et al., 1983).

L'importance des actinobactéries a été largement reconnue dans plusieurs domaines, tels que l'industrie, la médecine, la médecine vétérinaire, l'agriculture et l'agroalimentaire (**George et al., 2012 ; Solecka et al., 2012**). Les actinobactéries, en particulier celles qui présentent une structure mycélienne, sont renommées pour leur capacité à produire des antibiotiques, notamment le genre *Streptomyces*.

En Algérie, les sols sahariens et arides présentent une grande diversité d'actinomycètes, et de peu études ont été menées sur ces microorganismes(Fatahi-Bafghi et al., 2019)ces études ont principalement porté sur leur classification taxonomique afin de découvrir de nouvelles espèces. Par ailleurs, des recherches ont été réalisées pour mettre en évidence leur activité antimicrobienne ou pour découvrir de nouveaux antibiotiques (Boudemagh et al., 2005). En autre, les actinomycètes ont été étudiés dans le contexte de la lutte biologique contre certaines maladies des plantes et pour améliorer la croissance des plantes (Aouar et al., 2012).

Dans cette étude, nos principaux objectifs sont les suivants :

- ➤ La recherche et l'isolement sélectif des actinomycètes à partir de sols arides de trois région différents : Tindouf, Illizi, Touggourt.
- Etudier les caractères phénotypiques des actinomycètes isolés et leur capacité à produire des substances antimicrobiennes contre des souches cliniques.

Ce travail est structuré en deux parties :

Première partie est un synthèse bibliographique répartie en deux chapitres, le premier présent des généralités sur les caractères des bactéries étudiées, et le deuxième chapitre concerne l'intérêt de ces dernières en différents domaines.

La deuxième partie est l'étude expérimental, comporte 2 chapitres : un chapitre regroupe l'ensemble du matériel et des méthodes utilisés pour la réalisation de cette étude et le dernier chapitre représente et discutes les résultats obtenus.

## Première partie Synthèse bibliographique

# Chapitre 1 Généralités sur les actinomycètes

### 1.1. Définition et Caractérisation d'actinomycètes

La dénomination « Actinomycète » du grec « aktino » et « mycètes » qui signifie « champignon à rayon » ou « champignons rayonnants » (Eunice et al., 1983).

Les actinomycètes présentent des similitudes à la fois avec les bactéries et avec les champignons c'est pourquoi il était considéré comme un groupe intermédiaire entre eux (Andriambololona, 2010).

Les actinomycètes sont des microorganismes procaryotes appartenant à l'ordre des *Actinomycetales*(**Dgigal**, **2003**). Ce sont des bactéries aérobies mais certains genres peuvent être des anaérobies facultatives, Gram positives, contiennent une forte teneur en guanine cytosine (57 % et 75%) dans leur génome (**Bhatti et al.**, **2017**).

Elles forment des filaments ramifiés ou hyphes et des spores asexuées, la plupart immobiles et sont des saprophytes (Mc Neil et al., 1994). Les actinomycètes sont, en mode alimentaire, hétérotrophe. Ceux-ci se nourrissent de matières organiques préexistantes(Lechevalier H,1965). Cependant plusieurs espèces sont également capables de croissance chimique autotrophie (Ensign et al., 1993).

### 1.2. Classification des actinomycètes

La classification des Actinobactéries repose sur un ensemble de caractéristiques morphologiques, physiologiques, chimio taxonomiques et moléculaires :

### 1.2.1. Caractères morphologiques

Les actinomycètes présentent une large gamme morphologique, allant du simple bacille diphtérique aux formes mycéliennes complexes(Gottlieb, 1973).

Les actinomycètes les plus différenciés développent sur un milieu gélosé une masse d'hyphes mycéliens distribués en deux couches distinctes :

- Le mycélium aérien (colonies poudreuses fermement attaché au milieu).
- Le mycélium du substrat (colonies pâteuses facilement détaché des milieux).

Selon les cas, des spores peuvent se former sur le mycélium aérien ou sur le mycélium du substrat où les deux à la fois, elles permettent la propagation de la souche (**Zermane**, **2008**).

### 1.2.2. Caractères physiologiques

Plusieurs facteurs peuvent influencer la croissance des actinomycètes. Parmi ces facteurs (conditions environnementales) on peut citer : l'oxygène, le pH, la température...etc.

### 1.2.2.1. Oxygène

Les actinomycètes isolés du sol sont généralement oxydatifs aérobies tels que les *Streptomyces* mais certains genres peuvent être anaérobies facultatifs voire mêmes anaérobies stricts comme c'est le cas du genre *Actinomyces*(Lee et al., 2002).

### 1.2.2.2. Température

Généralement, les actinomycètes se développent le mieux à des températures modérées variant entre 25 à 30 °C, ce sont mésophiles, mais certaines espèces sont thermophiles supportant des températures élevées 50 et 60 °C telles que le genre *Thermoactinomyceces*(Holt et al., 1994).

### 1.2.2.3. pH

Les actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance dans un intervalle de pH compris entre 5-9, avec une croissance optimale à pH neutre ou légèrement alcalin (**Djaballah**, **2010**).

### 1.2.2.4. Taux d'humidité

Les actinomycètes sont isolés des sols dont les niveaux d'humidité sont faibles ou modérés (Oskay, 2004).

### 1.2.3. Caractères chimio-taxonomiques

La chimiotaxonomie est une discipline scientifique visant à classifier les espèces vivantes (taxons) selon leurs caractères chimiques.

L'examen des acides aminés de la paroi cellulaire, des glucides, des lipides et des acides nucléiques sont les principaux traits utilisés dans les chimiotaxonomies (**Kitouni, 2007**).

### 1.2.4. Caractères moléculaires

La caractérisation moléculaire est basée sur : détermination du (G+C) %, séquençage des gènes de l'AR Nr 16S et l'hybridation ADN-ADN (**Stackebrandt, 1997**). selon ces critères les Actinomycètes sont classés comme le tableau ci- dessous .

**Tableau 1:** Classement des actinomycètes en fonction du Manuel de Systématique Bactériologique de Bergey

Domaine	Bactéria							
Phylum	Actinobacteria							
Classe	Nitriliruptoria	Nitriliruptoria Acidimicrobiia Actinobaci						
	Rubrobacteria	Coriobacteria	Thermoleophilia					
Ordre		-Actinom	ycetales					
	- Streptomycetales							
	Plus les 13 Ordres.							
Famille	Actinomycetaceae							
	Streptomycetaceae							
Genre	Actinomyces							
	Plus les 6 autres genres							
	Streptomyces							
		Plus les 2 au	tres genres.					

### 1.3. Ecologie et distribution dans la nature

Les actinomycètes sont des micro-organismes présents partout dans les substrats naturels courant, ce sont ubiquitaires(Lacey, 1973). Ils ont été trouvés dans les eaux douces et salées, dans les compostes, dans l'atmosphère et dans des substrats plus divers. Ils sont présents sur la surface du sol à 80%, et diminue avec l'augmentation de profondeur(Goodfellow et al., 1983). La plupart sont des saprophytes jouant un rôle essentiel dans la décomposition des macromolécules dans le sol, ce qui contribue de ce fait au recyclage de la matière organique (Meij et al., 2017).

### 1.4. Cycle de développement

Les actinomycètes ont un cycle de vie résultant de trois processus physiologiques importants : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire puis la mort (Danilenko et al., 2005).

Sur un milieu solide, les spores d'actinomycètes produisent un ou plusieurs mycéliums de substrats (MS), ramifié et non fragmenté, suite à la germination d'une spore et se développent par croissance apicale (Figure 1).

Le mycélium aérien émerge par la réutilisation de composés assimilés par le mycélium végétal tels que l'ADN, les protéines ainsi que des composés stockés résultants de la lyse du MS(Ou et al., 2008).

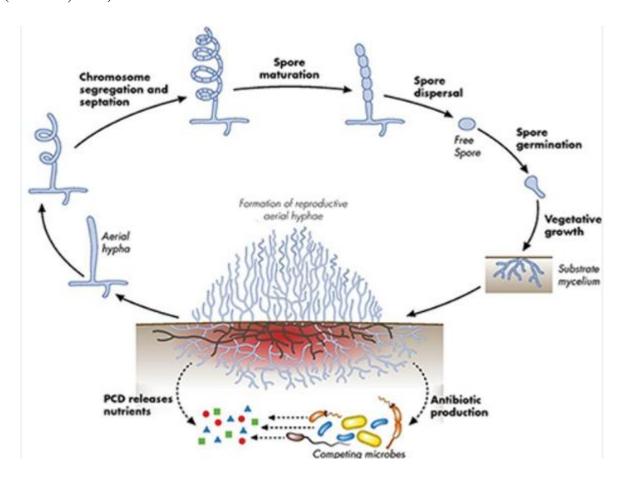


Figure 1:Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes sporulant.

## Chapitre 2 Intérêt des actinomycètes

### 2.1.Importance dans le domaine agronomique

L'actinomycète joue un rôle important pour améliorer la qualité des terres agricoles. en effet, ils aident à fertiliser le sol. Ils effectuent des transformations microbiennes de composés organiques complexes difficilement dégradable ou non, par les autres microorganismes, comme les polymères complexes: les polysaccharides, les lignocelluloses et la chitine. L'activité des Actinobactéries peut être utilisée dans le processus de recyclage et de biodégradation des matières organiques et des éléments minéraux (Aouar, 2012).

On les connaît aussi comme des fabricants de métabolites utilisés comme facteurs de croissance pour améliorer la croissance des plantes et faciliter leur développement dans des conditions stressantes (Himaman et al., 2016).

Les actinomycètes ont un potentiel significatif pour contrôler les maladies pathogènes des plantes. ils peuvent agir grâce à divers mécanismes d'action tels qu'antagonisme, la compétition nutritionnelle ou spatiale ou encore le parasitisme (**Misato,1982**).

### 2.2. Production des substances biologiquement actives

### 2.2.1. Production des antibiotiques

Les actinomycètes occupent une place très importante dans le domaine de la biotechnologie des antibiotiques.

Les actinomycètes sont également la source de substances antitumorales (actinomycine, adriamycine, rebeccamycine, mitomycine), insecticides (mitomycine), pesticides (antimycine A), herbicides (phinotricine) et substances à activité immunosuppressive et immunostimulante (rapamycine et FK500).

Les actinomycètes sont particulièrement importants parce qu'ils produisent de nombreux antibiotiques. Environ 70 % des 25 000 antibiotiques décrits à l'heure actuelle sont synthétisés par les microorganismes, dont 60% par le Actinomycètes (Leclerc et al., 1986). Le genre *Streptomyces* est connu comme étant le producteur du plus grand nombre d'antibiotiques (**Okami et al., 1988 ; Long et al., 1993**).

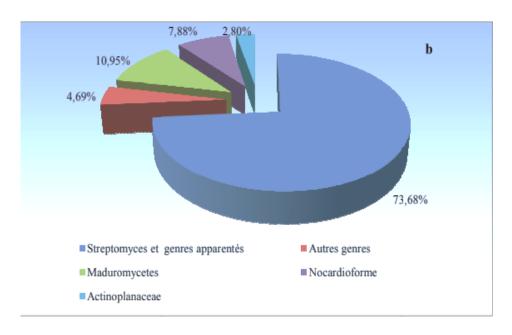


Figure 2:Distribution de la production de molécules bioactives antibiotiques et non antibiotiques entre les Streptomyces et les genres apparentés d'une part et les autres genres d'Actinomycetales(Sanguilier et al., 1997)

### 2.2.2. Production des enzymes

Les enzymes représentent le plus grand produit industriel après les antibiotiques. en effet, les Actinomycètes sont des excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telles que les cellulases et les xylanase utilisées dans le traitement des sous-produits, les protéases, les chitinases, les lipases et les amylases voir (tableau 2). Elles ont un autre rôle important dans l'industrie alimentaire, la fermentation, l'industrie du textile et du papier (Mukesh, 2014).

**Tableau 2:** Paramètres physico-chimiques des enzymes issus des actinomycètes.(**Divya et al., 2013**).

Enzymes	Souches productrices	
	Thermomonospora sp	
Cellulase	Recombinant streptomyces sp	
	Thermobifidahalotolerans	
Xylanase	Actinomadurasp	
	Streptomycesspp	
	Streptomycessp	
Amylase	Streptomyceserumpens	
	Nocardiopsis sp	
Pectinase	Streptomyceslydicus	
	Streptomycespactum	
Protease	Streptomyces thermoviolaceus	
	Streptomyces sp	

### 2.2.3. Production des vitamines

La flore intestinale abonde en vitamines naturelles, en aliments d'origine végétale et en micro-organismes, tout en jouant un rôle essentiel dans la synthèse chimique de nombreuses vitamines présentes dans les différents produits alimentaires

La vitamine B12, aussi nommée cobalamine, il est essentiel à la formation des globules rouges et sa carence provoque une anémie pernicieuse. C'est une vitamine (hydrosoluble) essentielle largement utilisée dans les industries médicales et alimentaires (**Sumathy et al., 2020**). Elle est synthétisée par différents types d'Actinomycètes, les principaux sont : *Streptomyces chromogenws*, *S. griseus* et *S. antibioticus*.

### 2.2.4. Production des pigments

Les pigments sont des composés présentant des caractéristiques importantes pour de nombreuses industries. Dans l'industrie alimentaire, ils sont utilisés comme additifs, intensificateurs de couleur, antioxydants... etc.

Les actinomycètes sont capables de synthétiser une large gamme de pigments sombres appelés pigments de mélanine /mélano devoir (tableau 3)certains pigments bien connus provenant d'actinomycètes sont(**Ramalingam et al.,2017**).

Les pigments	Souches productrices
Bleu	Streptomyces coelicolor
Brun	Streptomyces sp
Vert	Actinomyces viscosus
	Saccharomonospora viridis
Orange	Actinomyces naeslundii
Rouge	Streptomyces echinoruber
Violet	Streptomyces mauve colo

Tableau3:Les pigments produites par les actinomycètes.

La production de pigments est influencée par des facteurs chimiques, physiques et physiologiques, tels que les conditions anaérobies et les basses températures (28-30°C), qui stimulent la production de pigments chez *Streptomyces coelicolor*.

## Deuxième partie Partie expérimentale

### 3.1. Isolement et purification des actinomycètes à partir d'un sol aride

### 3.1.1. Prélèvement des échantillons

Les échantillons des sols étudiés sont prélevés à partir de trois sites différents appartiennent à trois Wilayas : Touggourt, Illizi et Tendouf.

Les 3 échantillons de sol ont été prélevés de façon aseptique à la surface après avoir retiré les 15 premiers centimètres de profondeur, ensuite déposé avec une spatule sur une feuille stérile. après un premier tri, en enlevant les pierres et les débris végétaux, l'échantillon est récupéré dans une boîte stérile. on transporte les échantillons au laboratoire et les réfrigérés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

### 3.1.2. Isolement des actinomycètes

### 3.1.2.1. Milieux de cultures pour l'isolement des actinomycètes

On utilise des milieux de culture sélectifs pour isoler les actinomycètes voir(annexe 1).

- Milieu ISP « ISP2 »(Shirlinget al., 1966).
- Milieu Gausse (Morakchi, 2011).
- Milieu Amidon Caséine(Sharma et al.,2011).

### 3.1.2.2. Préparation de la suspension de dilution et ensemencement

L'isolement est réalisé par la méthode de suspensions-dilutions. un gramme de sol est mis en suspension dans 9 ml d'eau distillée stérile. après avoir agité vigoureusement au moyen d'un vortex, la suspension mère résultante est diluée dans de l'eau distillée stérile jusqu'à obtention de 10<sup>-2</sup>. Ensuite, 0,1 ml de chaque dilution est étalé sur le milieu ISP2, puis versé dans des boîtes de Pétri stériles. les boîtes ensemencées sont incubées à 30 degrés Celsius et observées quotidiennement pendant 15 à 21 jours (**Haque, 2014**).

Toutes les colonies proches par leurs aspects macroscopiques sur les actinomycètes (la taille, la forme, la couleur, présence ou absence d'une masse sporale ...etc.). sont observés par microscopie optique, à l'aide de colorations de Gram.

### 3.1.3. Purification des souches

Les colonies présentant les critères des actinomycètes, confirmés par observation microscopique, sont purifiées par repiquage successif sur le milieu amidon caséine.

lerepiquage doit être répétée autant de fois que nécessaire jusqu'à obtention d'une souche pure. la pureté des isolats est vérifiée par microscopie directe après chaque repiquage (coloration de Gram).

### 3.1.4. Conservation des isolats

La méthode de préservation des souches consiste à repiquer les souches dans un tube sur gélose inclinée(Botton et al.,1990), puits incubés 7 jours. la souche pure devrait être entreposée à 4°C pour de nouvelles analyses biochimiques physiologiques et techniques de fermentation.

### 3.2. Caractérisation des souches actinomycètes isolées

### 3.2.1. Etude morphologiques

### 3.2.1.1. Macromorphologies et caractères culturaux

On détermine l'apparence phénotypique des colonies et les caractéristiques culturelles sur milieu gausse et ISP2. les inoculums sont ensemencés par la méthode de strie. après 15 à 21 jours d'incubation à 30°C, on relève les caractères suivants(**Shirling et al., 1966**):

- La couleur, taille, élévation, transparence, surface.
- La croissance : faible, moyenne, bonne.
- Production de pigment diffusible.

### 3.2.1.2. Micromorphologies

Les isolats sont testés pour déterminer leur type de Gram et préciser la morphologie des cellules bactériennes à partir des colonies isolées sur le milieu Amidon caséine sous microscopie optique (G×100) (Fortas et al., 2017).

### 3.2.2. Etude phénotypique

### 3.2.2.1. Recherche de catalase

Cette réaction résulte simplement dans le contact de la culture avec une nouvelle solution de  $H_2O_2$  à 10 volumes, une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame en présence d'un échantillon de culture, la présence de l'enzyme se manifeste par un dégagement de bulles de gaz abondant sous forme de mousse : le test catalase est positif, s'il n'y a pas de bulles : Le résultat est négatif(**Zinedine**, **2004**).

Catalase
$$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + O_2$$
(Libération d'oxygène qui forme du gaz)

### 3.2.2.2. Hydrolyse d'amidon

Les souches sont cultivées sur le milieu ISP9 contenant (1% p/v) d'amidon soluble, le milieu est réparti dans des boîtes de pétries stériles, puis ensemencés par spot de la souche à tester, les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 7-10 jours(**dos Santos et al., 2012; Khwaja et al., 2011**).

Après incubation, la gélose est recouverte par une solution de lugol. l'absence de coloration autour des colonies indique l'hydrolyse de l'amidon tandis que les zones contenant de l'amidon se colorent en brun (**Géraldine**, **1981**).

### 3.2.2.3. Hydrolyse de la gélatine

Les bactéries d'actinomycètes ont été ensemencées sur le milieu ISP9 contenant (0,4% p/v)de gélatine, ensuite, incubées à 30°C pendant 14 jours.les zones où la gélatine n'est pas dégradée deviennent opaques lors de l'ajout de solution de chlorure de mercure. les zones claires correspondent aux zones d'hydrolyse (**Géraldine**, 1981).

### 3.2.2.4. Croissance à différentes températures

Afin de déterminer la tolérance à différentes températures, les isolats ont été ensemencés sur le milieu ISP2 puis incubés en même temps, aux températures : 30°C, 35°C 40°C et 45°C. après incubation pendant 7 à 15 jours la croissance est estimée visuellement à (Gordon et al., 1956).

### 3.2.2.5. Croissance à différents pH

Les souches isolées sont inoculées sur le milieu ISP2liquide pour les pH :3, 4, 5 et sur milieu amidon caséine solide ajusté aux pH : 8,8.5,9,9.5 et 10 . la croissance des souches est évaluée visuellement entre 7 et 15 jours après l'incubation à 30 °C (**Budhathoki al., 2020**)

### 3.2.2.6. Croissance à différentes concentrations en NaCl

La croissance des souches d'actinomycètes en présence de différentes concentrations en NaCl est testée sur un milieu solide ISP2 préparés avec l'ajout des concentrations : 0.1 ,0.5,1 1.5 et 2% de NaCl .ce milieu est coulé en boîtes de Pétri puis ensemencé par des spots et incubés à 30°C pendant 7 à 15 jours.

La lecture s'est faite après 9 jourd'incubation ,tout développement a signifié une tolérance positive(Gebreselema,2013).

### 3.2.2.7. Résistance ou xylène

Ce test a été effectué en ensemençant les boîtes de Pétri coulées par gélose ISP9 ajoutée avec (1% v/v) xylène liquide. après 14 jours d'incubation à 30°C, les boîtes ont été inondées d'éthanol absolu (99% v/v) et laissées pendant 1 h à température ambiante. les colonies productrices de xylanase avaient des zones claires par rapport à une couleur opaque du milieu non hydrolysée. (das et al., 2012).

### 3.2.2.8. Test biochimiques

### 3.2.2.8.1. Utilisation de composés glucides en tant que source unique de carbone

Ce test vise à évaluer la croissance de l'actinomycète en présence de composés glucidiques au moyen du milieu ISP9 recommandé par Pridham et Gottlieb (1948).

Les glucides testés comme seule source de carbone sont : xylose, glucose, addition de 1% de chaque composé dans le milieu ISP9.

Après l'ensemencement et l'incubation pendant 7 à 14 jours 30 °C, la croissance est évaluée dans des boîtes contenant la source de carbone.

### 3.3. Recherche de l'activité antimicrobienne chez les isolats d'actinomycètes

### 3.3.1. Test des stries croisées

Cette méthode consiste à ensemencer les isolats d'actinomycètes par une des stries dans les boites de pétries contient le ISP2 et incuber pendant 07 jours à 30°C (**Aouiche et al.,2012**).puis les souches cibles (*E. coli 22, Candida albicans, Staphylococcus aureus 23*) sont ensemencées par une stries croisées perpendiculairement celui de l'actinomycète, ensuite incuber à 30 °C pendant 24 à 48 h voir (annexe 2).

On observe ainsi la présence ou non d'une zone d'inhibition indiquant que l'isolat produise des molécules antibactériennes contre la souche cible testée (résultat positif).

L'absence d'inhibition signifie que l'isolat ne produit pas d'antibactérien contre la souche testée (résultat négatif).

# Chapitre 4 Résultats et discussion

### 4.1. Isolement des souches des actinomycètes

Pour l'isolement des souches d'actinomycètes, trois échantillons de sol provenant de 3 régions différentes ont été utilisés (Illizi, Touggourt, Tindouf). Ces échantillons ont été cultivés sur des milieux sélectifs l'ISP 2 et Gausse. Après une période d'incubation de 15 à 21 jours à 30°C, des colonies caractéristiques des actinomycètes ont été observées, avec un total de 7 colonies présentant l'aspect macroscopique similaire à ces organismes voir (figure 3). Par la suite, toutes les colonies ont été purifiées en les transférant sur du milieu Amidon-Caséine à 30°C pendant 15 jours.



**Figure 3:**Aspect macroscopique des quelque souchesdu sol aride sur le milieu Amidon-Caséine.

Les figures 4 et 5 illustrent la représentation du nombre de souches isolées à partir des échantillons et du milieu ( ISP2 , Gausse) .

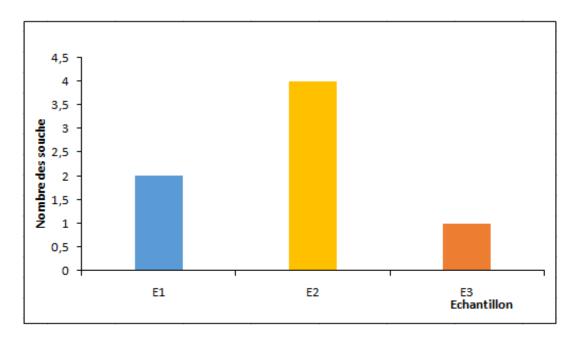


Figure 4: Nombre des souches d'actinomycètes isolés à partir de chaque échantillon.

La figure 4 indique que l'échantillon E2(Touggourt) a montré le plus grand nombre de souches isolées (4 souches), tandis que l'échantillon E1(Illizi) a donné deux souches, et seulement une souche a été isolée à partir de l'échantillon E3(Tindouf).

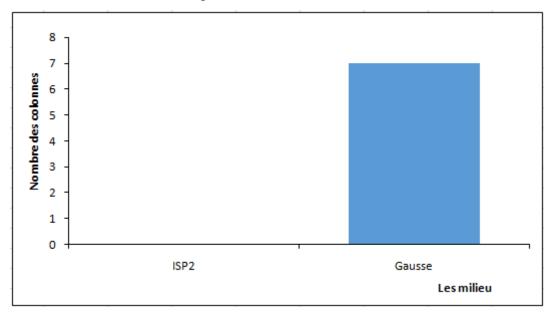


Figure 5: Nombre des souches d'actinomycètes isolés par milieu de culture.

Chapitre 4 Résultats et discussion

D'après les résultats présentés dans la figure 5, il a été observé que le milieu Gausse était le plus performant pour isoler les actinomycètes provenant de trois régions différentes. En utilisant ce milieu, nous avons pu isoler 7 souches, et par la suite, nous avons purifiées sur un milieu à base d'amidon et de caséine. En revanche, le milieu ISP2 n'a donné aucun résultat en termes d'isolement des actinomycètes.

Selon Locif (2006). L'utilisation du milieu ISP2 pour l'isolement des actinomycètes ont montré des résultats peu satisfaisants en raison de sa non-sélectivité, favorisant la croissance d'autres micro-organismes indésirables. Cela rend l'isolement sélectif des actinomycètes plus difficile et entraîne un risque accru de contamination. De plus, la croissance lente des actinomycètes prolonge le processus d'obtention de colonies pures sur ce milieu, ce qui augmente le risque de contamination et complique davantage l'isolement.

Les résultats de cette étude sont en accord avec ceux présentés précédemment par Morakchi(2011), qui ont démontré que l'isolement des actinomycètes sur milieu Gausse repose sur la présence d'une quantité importante d'amidon en tant que source de carbone. Cette condition crée un environnement propice à la croissance des actinomycètes en raison de la présence d'un bagage d'enzymes.

En raison du faible nombre de colonies observées sur le milieu de Gausse, nous avons procédé à une purification sur milieu Amidon Caséine.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux présentés par Atlas(1993) et Prescott et al. (2004), qui démontrent que le milieu d'amidon caséine offre les meilleurs résultats pour l'isolement des souches d'actinomycètes provenant de sols arides.

Les caractéristiques essentielles de ce milieu comprennent sa richesse en nutriments, qui favorise la croissance et le développement des micro-organismes. Le milieu d'amidon caséine offre une source de carbone complexe dérivée de l'amidon, ainsi qu'une source d'azote protéique provenant de la caséine, permettant ainsi aux actinomycètes de se développer de manière optimale.

### 4.2. Caractérisation des souches actinomycètes isolées

### 4.2.1. Etude morphologiques

### 4.2.1.1. Macromorphologies

Après la purification, les colonies d'actinomycètes sont identifiées en se basant sur leurs Caractéristiques morphologiques à la fois macroscopiques et microscopiques.

Ces caractéristiques comprennent :

Texture: lisse, rugueuse, poudreuse ou floconneuse.

Couleur : Variations de blanc, crème, jaune pâle, jaune, rouge, brun ou noir.

Forme : Circulaire, ovale, irrégulière ou en étoile.

Texture de surface : lisse, granuleuse, ridée, bosselée ou fibrillaire.

Opacité: Transparente, translucide ou opaque.

Les résultats concernant les caractères macroscopiques des souches isolées sont regroupés dans le tableau 4.

**Tableau 4:**Résultat de l'étude macromorphologique et caractères macroscopique.

Milieu		Le	_		_		
de	Echantillon	code de	Texture	Couleur	Forme	Opacité	Pigmentation
Culture		L'isolat					sur milieu
	E1	ILS1	Poudreuse	Jaune	Circulaire	Opaque	
		ILS2	Granuleuse	Blanc	Circulaire	Opaque	
Gausse		TGS1					Absence des
	E2	TGD1	Lisse	Blanc	Irrégulière	Opaque	pigmentation
		TGS1	Poudreuse	Jaune	Circulaire	Opaque	
		TGS2					
	E3	TNS1	Granuleuse	Blanc	Circulaire	Opaque	
		ILS1	Poudreuse	Jaune	Circulaire	Opaque	Beige
	E1	ILS2	Rugueuse	Blanc	Irrégulière	Opaque	Rose
Amidon							
caséine		TGS1					Absence des
	E2	TGD1	Rugueuse	Blanc	Irrégulière	Opaque	pigmentation
		TGS1					Absence des
		TGS2	Poudreuse	Jaune	Circulaire	Opaque	pigmentation
	E3	TNS1	Rugueuse	Blanc	Irrégulière	Opaque	Marron

Chapitre 4 Résultats et discussion

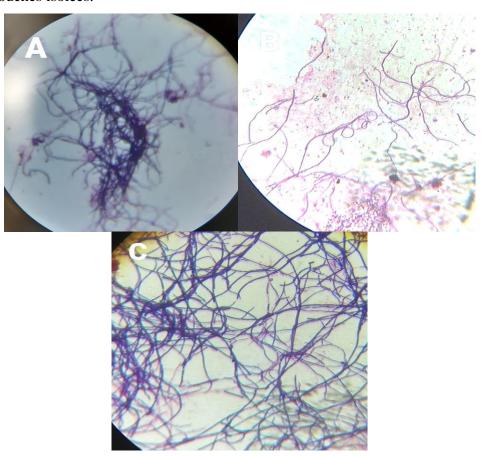
Les recherches menées par Shirling et Gottlieb (1966) confirment que les colonies d'actinomycètes sont identifiables grâce à leurs caractéristiques morphologiques distinctives.

Ces colonies se manifestent par une texture sèche et rugueuse, peuvent être colorées ou non, adhèrent à la gélose, et présentent à la fois un mycélium végétatif et aérien.

Il convient de noter que certaines colonies ne montrent que le mycélium provenant du substrat.

### 4.2.1.2. Micromorphologie

Après avoir effectué la coloration de Gram, l'observation microscopique révèle que toutes les souches d'actinomycètes isolées et purifiées sont des bactéries Gram-positives. les résultats présentés dans la figure 6 confirment la présence d'une morphologie filamenteuse chez les souches isolées.



**Figure 6:**Aspect microscopique des souches d'actinomycète : A (ILS2) ;B (TGS1) ; C(TNS1) après coloration de Gram (Gx100).

Chapitre 4 Résultats et discussion

Les résultats de l'étude rapporté par Kitouni et al. (2005) démontrent que l'observation microscopique des bactéries actinomycètes, en particulier les streptomycètes, révèle une structure filamenteuse avec la présence de spores isolées ou regroupées en amas. ces spores peuvent former des chaînes courtes ou longues, voire s'entremêler. les actinomycètes appartiennent au Phylum des *Actinobacteria*, qui regroupent des bactéries Gram positives, ce qui confirme l'appartenance de nos isolats au groupe des actinomycètes.

### 4.2.2. Etude phénotypique

### 4.2.2.1. Résultats de recherche de catalase

Chaque isolat d'actinomycète a généré une libération abondante de gaz sous forme de mousse lors de la dégradation de l'eau oxygénée, ce qui indique une positivité à la catalase. Par ailleurs, les actinomycètes de forme filamenteuse sont des bactéries aérobies.

Les résultats obtenus par Qiong Ying et al. (2012) confirment la nature aérobie des souches d'actinomycètes.



Figure 7: Résultat de production de catalase des sept souches

### 4.2.2.2. Hydrolyse des différents substrats

Les résultats des activités enzymatiques des sept souches étudiées sontillustrées dans le tableau ci-dessous.

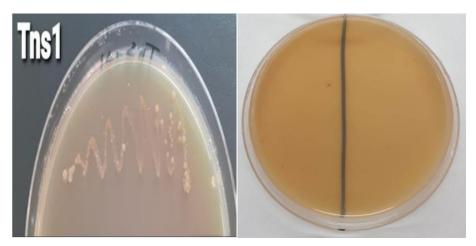
**Tableau 5:**Résultats des activités de dégradation des différents substrats des sept souches étudiées.

Isolats	Amidon	Gélatine
TGS1	+	+
TGS2	+	+
ILS1	+	-
ILS2	+	-
TGD1	+	+
TGD2	+	+
TNS1	+	+

(+) Dégradation le substrat ; (-) pas dégradation le substrat

#### 4.2.2.2.1. Résultats d'hydrolyse de l'amidon

Lors de l'analyse de sept souches, Nous avons remarqué qu'elles présentaient une activité amylolytique lorsqu'elles étaient cultivées sur un milieu ISP9 contenant de l'amidon. L'addition de Lugol a provoqué l'apparition d'un halo clair autour des colonies, ce qui a donné une couleur brune, indiquant la dégradation de l'amidon voir(figure8). Ces observations suggèrent que toutes les souches étudiées possèdent une amylase et sont capables d'hydrolyser l'amidon.



**Figure 8:**Résultats d'hydrolyse de l'amidon par les isolats d'actinomycètes.

#### 4.2.2.2. Résultats d'hydrolyse de gélatine

Selon les résultats obtenus, la dégradation de la gélatine est observée par la formation d'une zone claire autour des colonies, ce qui témoigne de la production de l'enzyme gélatinase, comme le montre la figure 9.au contraire, les souches ILS1 et ILS2 d'actinomycètes n'ont montré aucune dégradation de la gélatine.

Les résultats de l'étude réalisée par Shiroza et al. (1982) démontrent que la plupart des actinomycètes ont la capacité de décomposer différents substrats protéiques, tels que la gélatine, grâce à leur ensemble d'enzymes.



Figure 9: Résultats d'hydrolyse de gélatine par les isolats d'actinomycètes.

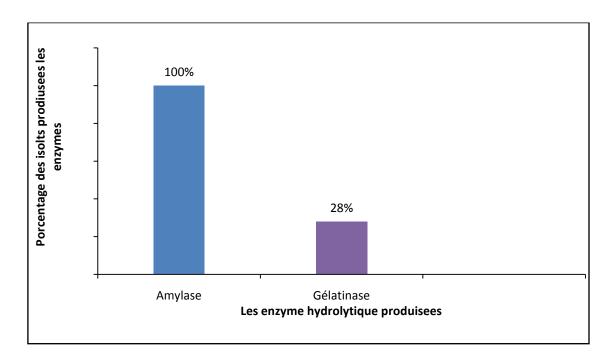


Figure 10:Pourcentage des souches produisent les enzymes hydrolytiques.

#### 4.2.2.3. Croissance à différentes températures

La figure 11 présente les résultats de la croissance des isolats sur le milieu Amidon Caséine à différentes températures d'incubation.

D'après les données présentées dans la figure 12,II a été démontré que nos souches d'actinomycètes poussent à une température de croissance optimale de 30°C. Toutes les souches isolées ont montré une croissance dans une plage de température allant de 35°C à 45°C.

Non résultats montrent que les souches d'actinomycètes peuvent présenter une certain variabilité dans leur tolérance à la température, en fonction de leur environnement d'origine.

Selon Gebreselema et al. (2013), la température optimale pour la croissance des isolats d'actinomycètes variait de 25 à 30 °C. Cela signifie que ces souches se développaient le mieux dans cette plage de température spécifique.

D'autre part, Sharma (2011) a démontré que tous les isolats d'actinomycètes pouvaient pousser dans une plage de température plus large, allant de 20 à 37 °C. Cela indique une certaine plasticité thermique parmi les souches étudiées.

Cependant, Messaoudi (2013) a observé que la température optimale de croissance des isolats d'actinomycètes était plus élevée, dans l'intervalle de 40 à 45 °C. Cela suggère que certaines souches d'actinomycètes peuvent être adaptées à des environnements plus chaud.

En résumé, les souches d'actinomycètes peuvent présenter des capacités de tolérance à la température différentes en fonction de leur environnement d'origine. certaine souches préfèrent des températures plus modérées, tandis que d'autres sont adaptées à des environnements plus chaud.

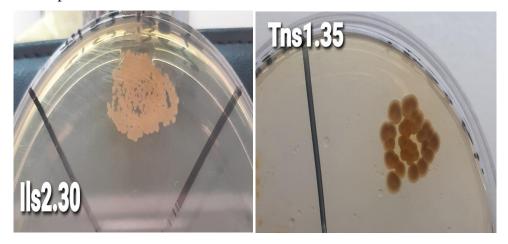


Figure 11:Croissance de quelques souches actinomycètes à 30 °C à 35 °C.

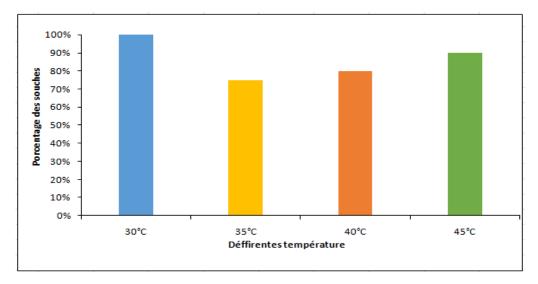


Figure 12: Croissance des souches actinomycètes à différentes températures.

#### 4.2.2.4. Croissance des isolats à différents pH

D'après les résultats obtenus dans notre étude de la croissance à cinq valeurs de pH alcalinpH :8, 8.5, 9, 10 sur milieu ISP2 solide, nos souches montrent une bonne croissance dans une plage de pH allant de 8 à 9. cependant, 57 % des souches isolés se développent dans un environnement alcalin avec un pH de 10.

D'après les études réalisées par Boughachiche et al. (2016), il a été constaté que les actinomycètes sont capables de survivre dans une plage de pH allant de 7 à 10 . De plus, les résultats obtenus par Kim et al. (2004) suggèrent que les actinomycètes ont généralement une bonne croissance dans des milieux présentant un pH alcalin.

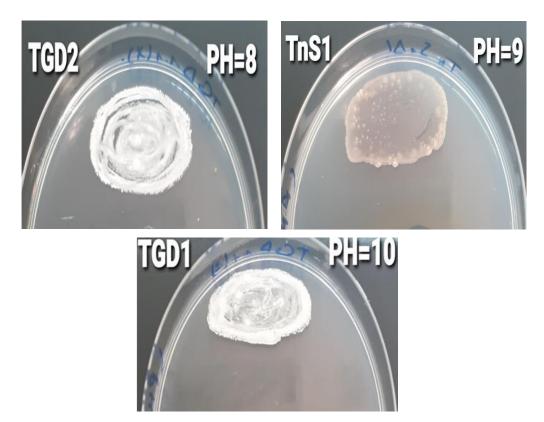


Figure 13: Croissance des souches actinomycètes à différentes pH.

Les souches d'actinomycètes ont été cultivées dans milieu ISP2 liquide à divers pH ,et les résultats de densité optique ont montré une variation de leur croissance en fonction de ces conditions avec .

<b>Tableau 6:</b> Les Résultats de croissance des souches actinomycètes à différentes pH	
------------------------------------------------------------------------------------------	--

Les souches	pH =3	pH = 4	pH = 5
ILS1	0.093	0.267	0.494
ILS2	0.063	0.86	0.176
TGS1	0.033	0.077	0.140
TGS2	0.032	0.73	0.126
TGD1	0.025	0.42	0.112
TGD2	0.008	0.016	0.04
TNS1	0.002	0.003	0.009

L'étude de la croissance de nos isolats sur les milieux ISP2 liquides à différents pH a donné des résultats intéressants. les milieux ISP2 liquides à différents pH(3,4,5) ont été testés pour évaluer la croissance des nos isolats.les actinomycètes sont connus pour leur capacité à se développerdans divers environnements et leur potentiel en tant que producteurs de composés bioactifs .

Les résultats obtenus ont révélé des variations significatives dans la croissance des isolats en fonction des différents pH sur le milieux ISP2 liquide. la majorité des échantillons a manifesté une croissance vigoureuse à pH de 5, tandis qu'ils ont montré une croissance modérée à un pH de 4. De plus, la croissance des isolats d'actinomycètes et croissance limitée à pH 3. Ces observations révèlent la corrélation directe entre les valeurs de pH et la croissance des actinomycètes, où l'augmentation de pH est associée à une augmentation proportionnelle de la croissance de l'actinomycète. Ainsi, il est clair que la composition du milieu joue un rôle essentiel dans la capacité des actinomycètes à se développer et à se reproduire.

Nos résultats sont cohérents avec ceux de l'étude de Smith et al. (2018), corroborant ainsi l'effet du pH sur la croissance des actinomycètes et leur production de métabolites. Les résultats suggèrent que des valeurs de pH élevées favorisent une augmentation de la croissance des actinomycètes.

#### 4.2.2.5. Croissance des isolats à différentes concentrations en NaCl

Les résultats de la croissance des sept souches isolées sur différentes concentrations de NaCl (0.1%, 0.5%, 1%, 1.5%, 2%) sont illustrées dans la figure 14.

Selon les résultats présentés, les souches isolées atteignent leur taux de croissance optimal dans une plage de concentrations allant de 0% à 2%.

Nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus par Boudemagh (2007), qui indiquent que les souches d'actinomycètes présentent une croissance satisfaisante aux concentrations de 1%, 2% et 3%.

La provenance de l'isolement et les caractéristiques du sol, y compris le degré de salinité, peuvent influencer la capacité des souches d'actinomycètes à tolérer différentes concentrations de NaCl.

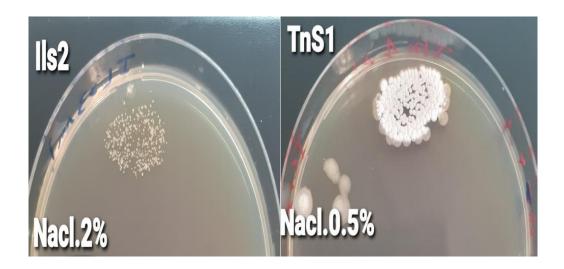


Figure 14: Croissance des souches actinomycètes à concentration en NaCl.

#### 4.2.2.6. Résultats de résistance ou xylène

Nous avons évalué l'activité xylanase de nos souches en ajoutant 1% de xylène liquide au milieu ISP9. les zones d'hydrolyse du xylène sont visibles sous la forme de halos clairs entourant les colonies. l'absence de halos autour des colonies indique que les souches ne dégradent pas le xylène.

Les études menées par Ninawe (2005) ont révélé que les souches d'actinomycètes sont capables de produire l'enzyme xylanase. cependant, nos résultats ne montrent aucune hydrolyse de xylène par les actinomycètes, ce qui suggère que nos isolats ne produisent pas l'enzyme responsable de la dégradation du xylène. ce résultat négatif peut être attribué à l'utilisation de xylène liquide (disponible dans notre laboratoire) contrairement à d'autres études qui ont utilisé du xylène en poudre.

#### 4.2.2.6.Test biochimiques

#### 4.2.2.6.1. Utilisation de composés glucides en tant que source unique de carbone

D'autres caractéristiques phénotypiques révèlent que les souches isolées présentent une croissance sur différentes sources de carbone. les résultats de ce test sont regroupés et illustrés dans la figure 15.

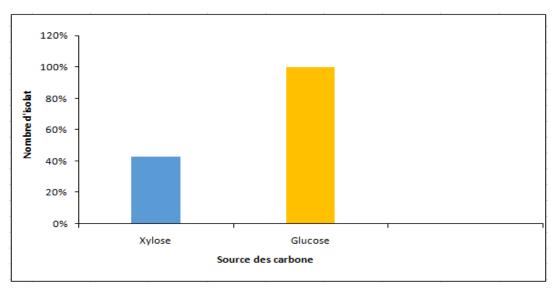


Figure 15: Utilisation des sources de carbone par les souches d'actinomycètes isolées.

En se référant à la figure 15, nous avons observé que 3 isolats (TGS1,ILS2,TNS1) (enivrent 42.8%) montrent une croissance en milieu ISP9 contenants du xylose en tant que source de carbone, tandis que les isolats restants ne le font pas. ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Kim et Goodfellow(1999), qui a révélé que certaines souches d'actinomycètes du genre *Streptomyces* utilisent le xylose comme source de carbone.

Les résultats de l'étude menée par Paul Njenga et al (2017) mettent en évidence l'utilisation de différentes sources de carbone (glucose, xylose, mannitol,inositol, glycérol, lactose, citrate) par les actinomycètes en tant que nutriments essentiels.

En ce qui concerne le glucose, nous remarquons que toutes les souches isolées présentent la capacité d'utiliser ce substrat. Ceci est cohérent avec les résultats de Boughachiche (2016) confirmant que la majorité des actinomycètes ont la capacité d'utiliser glucose.

#### 4.3. Résultats d'activité antimicrobienne

La méthode des stries croisées est utilisée pour rechercher une activité antimicrobienne sur le milieu ISP2.

Les résultats de l'incubation révèlent la présence d'une activité antimicrobienne contre les souches cibles testées, à savoir *E. coli,S. aureus* et *Candida albicans*. ces résultats sont résumés dans le tableau 7.

Souche							
B. testée	ILS1	ILS2	TGS1	TGS2	TGD1	TGD2	TNS1
Candida Alb	+	-	+	-	-	-	+
(Gram positif)							
E. coli	-	-	-	+++	+	+	+
(Gram négatif)				0.5 cm			
Staphylococcus	+	-	+	+++	-	-	+
(Gram positif)				1 cm			

**Tableau 7:**Résultats d'activité antimicrobienne des souches.

(+) présence d'activité ; (-) absence d'activité

Parmi nos souches, seule la souche TNS1 présente une activité significative contre les trois souches testées : *Escherichia coli, Staphylococcus aureus et Candida albicans*.

Contrairement, la souche ILS2 ne présente aucune activité antimicrobienne contre les souches testées.

Les souches ILS1 et TGS1 présentent une activité contre les souches *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*, mais pas d'activité antimicrobienne contre *E. coli*.

Les souches TGD1 et TGD2 ont une activité contre la souche testée *E. coli* seulement et ne montrent pas d'activité antimicrobienne contre *Candida albicans et Staphylococcus aureus*.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Oskay et al. (2004) et Şahin et Učur (2003), qui indiquent que les souches d'actinomycètes présentent une activité contre *S. aureus*.

La bactérie Gram positif *Staphylococcus aureus*, est sensible uniquement à la souche isolée TGS2, avec une zone d'inhibition de 1 cm.

Tandis que la souche Gram négatif *E. coli*, est sensible uniquement à l'isolat TGS2, avec une zone d'inhibition de 0.5 cm.

Des résultats similaires sont mentionnés par Şahin et Učur (2003), qui rapportent que seule souche de Streptomyces présente une activité sur *E.coli*. le même résultat est obtenu dans les travaux d'Oskay et al. (2004).

Les résultats mettant en évidence l'activité de la majorité de nos isolats d'actinomycètes sur *Candida albicans* peuvent être expliqués par plusieurs facteurs. les actinomycètes sont

connus pour leur capacité à produire diverses enzymes et métabolites bioactifs, dont certains peuvent avoir une action inhibitrice sur *Candida albicans*, une levure souvent impliquée dans les infections fongiques. ainsi, il est possible que les souches d'actinomycètes présentent une activité inhibitrice contre *Candida albicans* grâce à la production de ces substances.

De plus, les actinomycètes peuvent entrer en compétition avec *Candida albicans* pour les ressources présentes dans le milieu de culture. Ils sont capables de produire des métabolites qui inhibent la croissance de *Candida albicans* ou modifient son métabolisme, ce qui se traduit par une activité négative observée dans les résultats.

En résumé, les résultats montrant l'activité des souches d'actinomycètes sur *Candidaalbicans* peuvent s'expliquer par la production d'enzymes ou de métabolites inhibiteurs ainsi que par des interactions compétitives entre les deux organismes (Berdy, J. 2005).

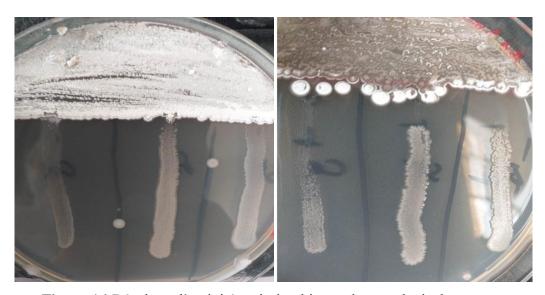


Figure 16: Résultats d'activité antimicrobienne des souche isolats.

# Conclusion

En conclusion, l'isolement et la caractérisation des actinomycètes du sol arides ont permis d'obtenir des informations précieuses sur ces microorganismes adaptés aux conditions environnementales extrêmes.

Notre étude repose sur deux objectifs majeurs. le premier est de procéder à l'isolement des actinomycètes à partir de sols arides provenant de trois régions différentes : Tindouf, Illizi et Touggourt. le deuxième objectif vise à caractériser phénotypiquement les actinomycètes isolés et à évaluer leur capacité à produire des substances antibactériennes contre des souches cliniques.

La première partie de notre recherche était axée sur l'isolement sélectif des actinomycètes, pour cela, nous avons utilisé deux milieux de culture sélectifs ainsi qu'un milieu de purification à base d'amidon et de caséine, les milieux ISP2 et Gausse se sont révélés efficaces pour isoler avec succès sept actinomycètes à partir des sols arides provenant de trois régions.

L'étude des caractéristiques de croissance des isolats sur des milieux de culture solides a révélé que la plupart d'entre eux présentaient des mycéliums aériens et avaient la capacité de produire des pigments, qu'ils soient solubles ou non dans le milieu. de plus, l'examen microscopique optique a révélé la présence de filaments Gram positifs dans la structure microscopique des différents isolats. ces résultats révèlent la relation entre les caractéristiques de croissance des isolats et leur composition cellulaire, en démontrant que les actinomycètes étudiés sont capables de former des structures mycéliennes aériennes, de produire des pigments et de présenter une réaction positive lors du test de coloration Gram.

Les résultats de l'analyse des propriétés phénotypiques mettent en évidence les caractéristiques de nos souches isolées des sols arides, elles sont classées comme aérobies et sont capables de produire de la catalase, de plus, ces souches ont démontré leur aptitude à dégrader la plupart des substrats testés amidon, gélatine, xylène Elles ont également montré une capacité de croissance à différentes températures 30°C, 35°C 40°C et 45°C, une tolérance à diverses concentrations de chlorure de sodium (0.1, 0.5,1, 1.5 et 2%), et une survie en présence de variations de pH( 8, 8.5, 9, 9.5 et 10).

L'activité antimicrobienne a été évaluée en utilisant la méthode des stries croisées sur le milieu de culture ISP2. les résultats de ces études ont révélé qu'une seule souche d'actinomycètes TNS1 était capable de produire des molécules inhibitrices contre les souches cibles utilisées, à savoir *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*.

Tandis qu'une seule souche isolée n'a montré aucune activité antimicrobienne contre les trois souches cibles utilisées *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*.

# Les perspectives

- Confirmer l'efficacité antimicrobienne en utilisant d'autres techniques, telles que la technique des (Technique des cylindres d'Agar et technique des puits).
- > Identification des affiliations des souches étudiées a été réalisée se basant sur les caractères morphologique (les caractères de mycélium et de substrat).
- ➤ La mise en évidence de leur capacité à dégrader quelque herbicide et pesticide.

# Référence bibliographique

# A

- Andriambololona, T. (2010). Etude biologique et chimique des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d'Ankafobe. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo.55
- Aouar, L. (2012). Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine. 201.
- 3. Aouar, L. L. (2012). Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens. Can J Plant Pathol(34), 165–176.

# B

- 4. Berdy, J. (2005). Bioactive Microbiol metabolites. Journal of Antibiotics, 58(1), 1-26.
- 5. Bhatti, AA., Haq., Bhat, RA. (2017) Actinomycine benefecation role in soil and plante health. Microbial parthenogenesis 111:458-476
- 6. Boudemagh, A. M. (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 Myc Med., (15), 39–44.
- Boughachiche F., Rachedi K., Duran R., Lauga B., Karama S., Bouyoucef L., BoulezazS., Boukrouma M., Boutaleb H and Boulahrouf A. 2016. Optimization of alkaline protease production by Streptomyces sp. Strain isolated from saltpan environment. Journal of Biotechnology. Vol. 15(26): 1401-1412
- 8. Botton B., Breton A., Fevre M., Guy Ph., Larpent. & Veau P., (1990). Moisissures utiles et nuisibles (importance industrielle). Masson, France.pp48-98. Berdy, J. (2005). Bioactive Microbiol metabolites. Journal of Antibiotics, 58(1), 1-26
- 9. Budhathoki, Shailesh, and Anima Shrestha. "Screening of actinomycetes from soil for antibacterial activity." Nepal Journal of Biotechnology 8.3 (2020): 102-110.

# C

 Charlotte J. F, Bhavya D, Anupama H, Sri Priya S. D, and Lokesh R. (2021) Isolation and Identification of Pigment Producing Actinomycètes Saccharomonospora azurea SJCJABS01

# D

- Danilenko V.N., Mironov V.A., Elizarov S.M.2005. Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes .A Review App BiochemMicrobiol 41(4):319–329.
- 12. Dgigal, D. (2003). Ineraction entre la communauté microbienne du sol (bactéries et al champignons mycorhiziens) et les nématodes bactérivores ; effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse doctorant 9. University Cheikh Anta de Dakar
- 13. Divya P., Neelu N., Mansi P., Manish B., Abul M., Madhukar K., and Balasaheb K., (2013). Actinomycetes: A Repertory of Green Catalysts with a Potential revenue resource. Journal BioMed Research International, 264020: 8.
- 14. Djaballah, C. (2010). Biodiversité des Actinomycètes Halophiles et Halotolérante Isolat de la sebkha d'Ain Mlila .Mémoire de Magister. Ecologie Microbienne. Constantine, Université Mentouri.
- 15. Dos Santos E.R., Santos Teles Z.N., Campos N.M., de Souza D.A.J., da Rocha Bispo A.S and do Nascimento R.P.2012. Production of α-Amylase from Streptomyces sp. SLBA-08 Strain Using Agro-Industrial By-Products. Braz Arch Biol Technol 55 (5): 793-800.
- 16. Das A., Soudbakhsh M., Bhattacharya S., Hamedani k., Suryan S., Prashanthi k. 2012. Enzymatic Screening, Antibacterial Potential and Molecular Characterization of Streptomycetes Isolated from Wayanad District in Kerala, India. International Journal of pharmacy and biological science 2(1):201-210

# $\mathbf{E}$

17. Ensign J. C., Normand P., Burden J.P. and Yallop C. A., 1993. Physiology of some actinomycetes genera. Res. Microbiol. 144: 657-660

18. Eunice J. A and Prosser J. I. 1983. Mycelial Growth and Branching of Streptomyces Coelieo Zor A3(2) on Solid Medium. Journal of General Microbiology, 129:2029-2036

# F

- 19. Fatahi-Bafghi, M., Rasouli-nasab, M., Yasliani-Fard, S., Habibnia, S., Gharehbaghi, F., Eshraghi, S. S., ... & Heidarieh, P. (2019). Diversity and antimicrobial activity of actinomycetes isolated from Lut Desert: the extremely arid climatic zones of Iran. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 25, 1201-1207.
- 20. Fortas Z., Bellahcene M., Harir M., José M., Antonio V., & Susana R. 2017. Isolation and Characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara Soils with Antimicrobial Activities. Internatinal Journal of Molecular and Clinical Microbiology6(2):110-120.

# G

- 21. Gao, B., & Gupta, R. S. (2012). Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum Actinobacteria. Microbiology and molecular biology reviews, 76(1), 66-112.
- 22. Gebreselema G., Feleke M., Samuel S., Nagappan R. 2013. Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. Asian Pac J Trop Biomed, 3(6): 426-435.
- 23. Geraldine, M. (1981). A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. Journal of General Microbiology, 127,237-259.
- 24. Geraldine, M. (1981). A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. Journal of General Microbiology, 127,237-259.
- 25. George M., Anjumol A., Mohamed Halta A.A. 2012. Distribition and bioactive potential of soil actinomycetes from different ecological habitats. African Journal of Microbiology Research 6(10):2265-2271.
- 26. Gordon R.E. and Mihm 1.M. 1956, A comparative study of some strains received as Nocardiae, 1. Bacteriol, 73: 15-26
- 27. Gordon, R. e. (1974). Nocardia coeliaca Nocardia autotrophica, and the Nocardin strain. International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,(1), 54-63.

- 28. Goodfellow Met Williams ST. (1983). Ecology of Actinomycètes. ANN Rev Microbial.,37:189-216.
- 29. Gottlieb D. (1973). General consideration and implication of the Actinomycetales. In: Sykes G., Skinner F. A. (éds). Actinomycetales characteristics and practical importance. London, New York: Academic Press.

# H

- 30. Haque, A. U. (2014). Isolation, Characterization and screening of actinomycetes for antibacterial activity from the soil of gazipur Bangladesh world journal of pharmaceutical sciences Isolation. Journal of pharmaceutical sciences Isolation (3), 275-285.
- 31. Himaman, W., Thamchaipenet, A., Pathom-aree, W., Duangmal, K. (2016). Actinomycine from Eucalyptus and their biological activities for controlling Eucalyptus leaf and shoot blight. Microbiological Research 188: 42-52
- 32. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J., Williams S.T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Éd. Williams and Wilkins, USA. p.611-703.

# $\underline{\mathbf{J}}$

33. Jakimowicz D. (2007). Chromosome segregation and cell division during the growth and differentiation of Streptomyces.PostepyHig. Med. Dosw. 61:565-75.

# K

- 34. Khwaja S., Ram P., Santosh K and Manish D.V.2011.Isolation of soil thermophilic strains of Actinomycine for the production of α- amylase. Africain Journal of Biotechnology 10(77):17831-17836
- 35. Kitouni, M., (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes, Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire de substances élaborées. Thèse de doctorat. Université Mentouri- Constantine.

36. Kim &Goodfellow, S. (1999). Reclassification of Amycolatopsis rugosa Lechevalier et al. 1986 as Prauserellarugosagen. nov. comb.nov. Int J Syst Bacteriol (Vol. 49).

# $\mathbf{L}$

- 37. Lacey, J (1973). Actinomycetes in soils, composts and fodders. In: Actinomycetales: characteristics and practical importance. Eds.: G. Sykes, F.A. Skinner. Academic press, London, New York: 231–251.
- 38. Lechevalier HA, Lechevalier MP. 1965. Classification des actinomycètes aérobies basée sur leur morphologie et leur composition chimique. AnnInst Pasteur 108 :662–673. (In French.)
- 39. Lee, H., Kok, P., & Dowling, J. P. (2002). A quantum Rosetta stone for interferometry. *Journal of Modern Optics*, 49(14-15), 2325-2338.
- 40. Long P. F. and Wildman H. G., (1993). Strategy for the use of petreatements in the isolation of non-Streptomycetes Actinomycine from soil. Actinomycine. 4: 59-64.
- 41. Loucif L.2006.Recherche des souches d'actinomycètes productrices de molécules antibactériennes "Cas des eaux du lac oubeirad'elkala.Mémoire de magister, Université Badji Mokhtar, Annaba,75p.

# $\underline{\mathbf{M}}$

- 42. Mc Neil M.M. and Brown J.M. 1994. The medically important aerobic Actinomycine: epidemiology and microbiology. Clin. Microbiol. Rev., 7(3):357-417
- 43. Meij, A.V.D; Worsley, S.F; Hutchings, M.I; Van Wezel, G.P. Chemical ecology of antibiotic production by Actinomycine. FEMS Microbiol. Rev. 2017; 41: 392–416.
- 44. Messaoudi O. 2013. Contribution à la caractérisation de souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha Kenadsa (Bechar). Diplôme de Magistère en Microbiologie Appliquée, Université Aboubakar Belkaid de Tlemcen, p.58.
- 45. Misato T. (1982). Present status and futur prospects of agricultural antibiotics.
- 46. Mohammadipanah, F., & Wink, J. (2016). Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity. Frontiers in Microbiology, 6, 1541.

- 47. Moore B. S., Trischman J. A., Seng D., Kho D., Jensen P. R. and Fenical W. S., (1999). Anti-inflammatory Depsipeptides from a marine Streptomycetes. J.Org. Chem. 64:1145-1150
- 48. Morakchi H. 2011. Isolement et identification de souche d'actinomycètes productrices de molécules bioactives au niveau du lac Oubeira : Etude morphologique, physiologique, moléculaire et spectre d'activité. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar Annaba, P 6.
- 49. Mukesh, S. (2014). Actinomycine: Source, Identification, and Their Applications. International Journal Current Microbiology and Applied Sciences, 2(3), 801-832.

# <u>N</u>

50. Ninawe, S. K. (2005). Use of xylan-rich cost effective agro-residues in the production of xylanase by Streptomyces cyaneusSN32. J Appl Microbiol, 1141–1148.

# <u>O</u>

- 51. Okami Y. and Hotta K., (1988). Search and discovery of new antibiotic in: M. Goodfellow, S.T. Williams and M. Mordanski (eds) Actinomycine in biotechnology. Academic Press, London. pp. 33 67.
- 52. Ou. X; Zhang. B; Zhang. L; Dong. K; Liu. C; Zhao. G; and Ding. X. (2008). SarA influences the sporulation and secondary metabolism in Streptomyces coelicolor M145. Acta. Biochim. Biophys Sin, 40 (10) 877-882.
- 53. Qiong-Ying, W., Jun-Qiang, J., Guang-Xiu, T., Hui, Y., & Zhong-Zheng, G. (2012). Isolation and characterization of an antimicrobial endophytic bacterium ME-2 from mulberry twig in Chin. *Afr J MicRes*, *6*, 6462-6467.
- 54. Oskay, M. (2004). Antibacterial activity of some actinomycétes isolated from farming of Turkey. African Journal of Biotechnologie, 3(9), 441-446

# P

- 55. Petrosyan P., Gacia-varela M., Madrigal A., Huitron C. and Flores M.E., (2003)
- 56. Paul Njenga W., Mwaura F.B., Wagacha J.M., Gathuru E.M.2017. Methods of Isolating Actinomycetes from the Soils of Menengai Crater in Kenya. Arch of Clinical Micr 8(3):45.

- 57. Prescott L., Harley J.P., Klein D.A. 2003. Microbiologie. De Boek Ed (Berlin), 2ème édition, pp 539'
- 58. Porter, N (1971). Prevalance and distribution of antibiotic producing actinomycetes. AdvAppl Microbiol, 14: 73–92.

# $\mathbf{R}$

59. Ramalingam S., Udhyakumar K., Saravanan R., &Dheeba B. 2017. Extraction of Actinomycetes (Streptomyces sp.) Pigment and Evaluation of its Anticancer Propertyon HeLa Cell Line. Der Pharma Chemica 9(24): 106-113.

# <u>S</u>

- 60. Sanglier J.J. et Trujillo M., (1997). Substances bioactives produites par les actinomycètes et stratégie de sélection de souches. Bull. Soc. Fr. Microbiol. 12 (13).
- 61. Streptomyces mexicanus sp. nov., xylanolytic microorganism isolated from soil. Inter.
- J. Syst. Evol. Microbiol. 53: 269-273.
- 62. Sharma D., Kaur T., Chadha. BS et Manhas R. K. 2011. Antimicrobial Activity of Actinomycine against Multidrug Resistant Staphylococcus aureus, E. coli and Various Other Pathogens. Tropical Journal of Pharmaceutical Research December, Vol 10. No: 6: 801-808
- 63. SAKER, R. (2015). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes thèse de doctorat. Sétif, Algérie
- 64. Saunders A. P., Otto R. H., & Sylvester J. C. 1952. The Production of Vitamin B12 By Various Strains of Actinomycine. Journal of Bacteriology are provided of American Society for Microbiology (ASM) 64(5): 725–728.
- 65. Shirling and Gottlieb, E. (1966). Methods for Characterisation of Streptomyces Species. International journal of systemic and evolutionary microbiology (3), 313-340
- 66. Stackebrandt, E.-R. (1997). Proposal for a new hierarchic classification system. Actinobacteria classis Nov. Int. J. Syst.Evol, 47(2), 479–491.
- 67. Sumathy J. H., & Veronica R. 2020. Production Of Vitamin B12 Using Enriched Oil Cakes By Streptomyces Spp Isolated From Soil Samples. International Journal of Current Reasearch in Multidisciplinary (IJCRM) 5(1): 45-61.

# $\underline{\mathbf{T}}$

68. Turan-Zitouni, G., Demirayak, Ş., Özdemir, A., Kaplancıklı, Z. A., &Yıldız, M. T. (2004). Synthesis of some 2-[(benzazole-2-yl) thioacetylamino] thiazole derivatives and their antimicrobial activity and toxicity. *European journal of medicinal chemistry*, 39(3), 267-272.

# $\underline{\mathbf{W}}$

- 69. William B. R., Whitman., T Krieg., T James., R Daniel., P Brian Hedlund., J. Pasteur., (2010). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer New York Dordrecht Heidelberg, London.pp 25-49.
- 70. WILDMAN, P. (1993). Growing Your Own Community Economy, Queensland, Australia, Prosperity Press.

# $\underline{\mathbf{Z}}$

- 71. Zermane F., (2008). Etude des caractéristiques culturales des Actinomycètes impliquées dans la biodégradation de la cellulose, des substances pectiques et des composés organiques de synthèse. Mémoire de Magistère, Université Mentouri Constantine. 123p.7i
- 72. Zinedine, A. (2004). Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnels. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc.

# Annexes

#### Annexe (1)

#### I- Milieux de culture :

# 1. Les compositions des milieux utilisés pour l'isolement des actinomycètes :

#### Le milieu ISP2:

Glucose 4 g

Extrait de levure 4 g

Extrait de malt 10 g

Agar 20 g

Eau distillée 1000 ml

pH = 7,2.

#### Le milieu Gausse :

KNO3 1g

K2HPO4 0,5g

MgSO4 0,5g

NaCl 0,5g

FeSO4 0, 01g

Amidon 20g

Agar 30g

Eau distillée 1000ml

pH = 7,4

# 2. Milieux de cultures pour purification des actinomycètes :

# Amidon Caséine

Amidon	10g
KNO3	2g
NaCl	2g
Caséine	0,3g
MgSO47H2O	0,05g
CaCO3	0,02g
FeSO47H2O	0,01g

ED 1000ml Agar 18g

PH = 7.2

#### 2. Les compositions des milieux utilisés pour la caractérisation des actinomycète :

#### Le milieu ISP9:

(NH4)2SO4 2,64g

KH2PO4 2,38g

K2HPO4 5,65g

MgSO 4, 7

H2O 1g

Solution saline 1 ml

Eau distillée 1000 ml

Agar 20g

pH: 6,8 - 7.

#### **Solution saline:**

CuSO 4, 5H2O 0,64g

FeSO 4, 7H2O 0,11 g

MnC12, 4H2O 0,79 g

ZnSO4, 7H2O 0.15 g

Eau distillée 1000 ml.

# Milieu GN: (Gélose nutritive)

Gélose poudre 23g

Eau distillée 1000 ml

#### Annexe (2)

#### I. Coloration de Gram

- Préparez le frottis bactérien.
- Appliquez le colorant basique, le violet de Gentiane, sur le frottis et laissez agir pendant une minute.
- Éliminez l'excès de violet de Gentiane en utilisant une solution de Lugol et laissez agir pendant 30 secondes.
- Rincez à l'eau.
- Décolorez le frottis en utilisant de l'alcool à 90°.
- Effectuez un deuxième rinçage à l'eau.
- Appliquez un deuxième colorant, la Fuschine, sur le frottis et laissez agir pendant une minute.
- Rincez à l'eau.
- Séchez le frottis en le plaçant entre deux feuilles de papier absorbant.
- Avant d'effectuer l'observation microscopique, déposez une goutte d'huile d'immersion et observez à l'objectif d'immersion x10 et x100.

# II. Technique des stries croisées

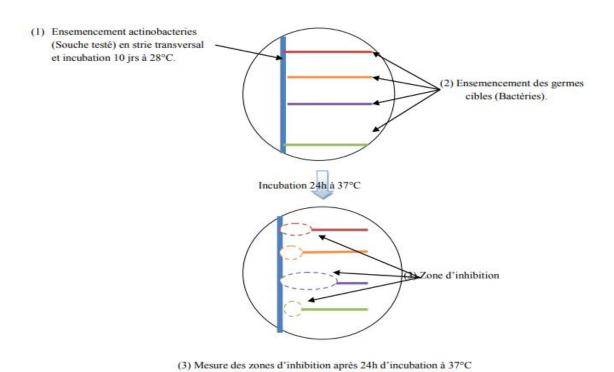


Figure : Recherche de l'activité antimicrobienne par technique des stries croisées.

في هذه العمل قمنا بدراسة 7 سلالات من الاكتينوميسات المعزولة من التربة الجافة من ثلاث مناطق مختلفة تندوف و إيليزي و تقرت (على وسط Gausse) الهدف من هذه الدراسة هو التعرف على خصائصها المظهرية بالإضافة الى قدرتها على تحليل مواد المختلفة و تركيب الجزيئات المضادة للميكروبات .

كشفت نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية باستخدام وسط ISP9 مع مواد مضافة إن الاكتينوميسات تستخدم زيلوز (xylène) و الجلوكوز كمصدر للكربون و لديها قدرة ملحوظة على تحليل مركبات النشاء والجيلاتين و الزيلين(xylose) بالإضافة الى ذلك تظهر نتائجنا تحملا كبيرا لدرجات حرارة تتراوح من 30 الى 3024على وسط 3018 لتركيزات كلوريد صوديوم (30, 30, 30) المضافة لنفس الوسط كما أظهرت العزلات تحملا لمجموعة واسعة من درجة الحموضة تتراوح من 3018 الى 3010 .

أظهرت بعض العز لات نشاطا مضادا للميكروبات ضد الكائنات المجهرية المستخدمة في الاختبارات

الكلمات المفتاحية: الاكتينوميسات، الخصائص المظهرية، النشاط المضاد للميكروبات

#### Résumé

Dans cette étude, nous avons sept souches d'actinomycètes isolées à partir de sols arides provenant de trois régions distinctes : Tindouf, Illizi et Touggourt (sur le milieu Gausse). L'objectif était de mettre en évidence leurs caractéristiques phénotypiques (macromorphologiques et micro-morphologiques) ainsi que leurs capacités à hydrolyser divers substrats, et la synthèse des molécules antimicrobiennes.

Les résultats des tests biochimiques, sur milieu ISP9 additionné de substrats testée, ont révélé que d'actinomycète utilisent la xylose, glucose comme source de carbone et présentent une remarquable capacité à dégrader composés amidon, gélatine et le xylène.

De plus, nos résultats démontrent la tolérance important à des températures allant de 30 à 45°C sur milieu ISP2, ainsi qu'à des concentrations de chlorure de sodium (1%, 2%, 3%) supplémentés au même milieu. Ils ont également montré une tolérance à une large gamme de pH, allant de 3 à 10. Certains isolats ont même manifesté une activité antimicrobienne contre les bactéries utilisées dans les tests.

Mots clés: Actinomycètes, caractérisation phénotypique, activité antimicrobienne.

#### **Abstract**

In this study, we seven strains of actinomycetes isolated from arid soils from three distinct regions: Tindouf, Illizi and Touggourt (on the Gausse medium). The objective was to highlight their phenotypic characteristics (macromorphological and micro-morphological) as well as their ability to hydrolyse various substrates, and the synthesis of antimicrobial molecules.

The results of the biochemical tests, using ISP9 medium with added substrates, revealed that actinomycetes use xylose, glucose as a source of carbon and have a remarkable ability to break down starch, gelatin and xylene compounds. In addition, our results demonstrate high tolerance at temperatures ranging from 30 to 45°C on ISP2 media, as well as at sodium chloride concentrations (1%, 2%, 3%) supplemented in the same medium. They also showed tolerance to a wide pH range from 3 to 10. Some isolates have even demonstrated antimicrobial activity against the bacteria used in the tests.

**Keywords:** Actinomycetes, phenotypic characterization, antimicrobial activity.