

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



CENTRE UNIVERSITAIRE SALHI AHMED -NAAM



Institut des Sciences et Technologies

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de  
Master Académique en Sciences Biologiques  
Spécialité « Microbiologie Appliquée »

**Thème**

---

**Essai d'élaboration d'un dendrogramme de la microflore  
des zones truffières de la wilaya de Naama**

---

Présenté par :

*Melle* : Bahra Wahiba

*Melle* : Djelali Nawal

**Soutenu le 13/09/2020**

**Devant le jury :**

*Dr.* LAGHA Nouria

M.C.A

Président

*M<sup>r</sup>* . AMROUCHE Abdel-ilah

Professeur

Encadreur

*Mme.* YAKOUBI Meriem

M.A.B

Examinatrice

Année Universitaire : 2019-2020

## Remerciement

*Tout d'abord et avant tout, Nos premiers remerciements s'adressent à Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force, le courage et la patience afin d'élaborer ce mémoire.*

*Nous remercierons profondément s'adressent en premier lieu à notre honorable encadreur **Pr Amrouche Abdelilah** pour son orientation, son aide, son appui, sa rigueur scientifique et pour la confiance qu'il nous a accordé durant la réalisation de ce travail*  
*« Sincèrement monsieur, nous ne pouvons que vous exprimez notre respect et notre gratitude, grâce à vous conseils cruciales et à votre supervision »*

*Nous exprimons Un remerciement chaleureux aux membres du jury : **Dr Lagha N** Doctorante en centre universitaire Naama pour le grand honneur de présider le jury de soutenance*

*Nos remerciements s'adressent aussi à **Mme. Yakoubi M** maitre assistante en centre universitaire Naama pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail*

*Je tiens à remercier Monsieur **Naimi Mostapha** pour son aide et son conseil*

*Nous exprimons notre sincère gratitude, à toute la promotion de Microbiologie Appliquée et à tous les ingénieurs du laboratoire de microbiologie.*

*Ainsi que tous ceux qui ont participé, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire*

## *Dédicace*

*Avec l'aide de dieu tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que*

*Je dédie*

*À*

*Mes chers parents, que nulle dédicace ne peut exprimer mes sincères  
Sentiments, pour leur patience illimitée, leurs encouragements, leur  
soutien, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs  
grands sacrifices.*

*À*

*Mon frère et ma sœur*

*À*

*Tous les membres de ma famille.*

*À*

*Mes amies et mes collègues*

*Nawal*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre, À la source de tendresse, de patience  
et de générosité*

*À mon cher père*

*« À celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière ... mon  
très cher père*

*L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime  
et de mon respect*

*À ma chère Maman*

*« À la plus belle perle du monde ... ma tendre mère, pour ces longues années de soutien  
inconditionnel*

*Pour sa confiance permanente et l'acceptation de mes choix parfois ambitieux, Elle  
m'a toujours facilité ce parcours »*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma  
considération Pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon  
bien être.*

*À ma très chère Grand-mère*

*À ma belle-sœur Amina*

*À mes tantes et mes oncles et toutes la famille Bahra*

*À mes chères amies intime*

*Asma, Fatima, Meriem, Sarra, safae et Halima*

*Et à tous les collègues de la promotion 2019-2020*

*Wahiba*

# Résumé

Ce travail était prévu pour identifier les actinomycètes telluriques qui existe au niveau de sol truffiers de la région de Naama.

Le travail a été réalisé selon la méthodologie engagée, le prélèvement des échantillons à partir de trois zones truffières. Les échantillons du sol subissent un prétraitement par un séchage et par le CACO3 ensuite, l'étape d'isolement et de purification ont été effectués sur trois milieux de culture Bennett, ISP2 et GLM puis les isolats purifiés sont identifiés morphologiquement et biochimiquement.

D'après les résultats, 32 souches ont été isoler à partir de Sahara de sud Algérie et 163 souches été sélectionnés de sol de Marzouga « Maroc », l'activité antimicrobienne montre que permet 32 souches isolées trois isolat (C, MS1 et 10) ayant un effet sur des bactéries pathogènes (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*) avec une activité anti levure (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*). Par contre, les isolats de sol Marzouga représentent un effet de la 96 souche sur milieu TSA et 92 souches sur milieu Bennett.

Identification moléculaire révélé que les souches « C, MS1 et 10 » sont : *Streptomyces violaceoruber* (code NCBI 1935, score 1.912), *Streptomyces albus* (code NCBI 1888 ; score 1,261) et *Streptomyces badius* (code NCBI 1941 ; score 1.514), respectivement. Cependant que les résultats obtenus à partir de Marzouga sont représentés sous forme un dendrogramme.

Les souches actives ont montrés une activité inhibitrice contre des microorganismes pathogènes, ce dernier conclure que l'écosystème algérienne abritent une variété intéressante des actinomycètes qui peuvent être une source prodigieuse des molécules antimicrobienne

**Mots clé** : sol, actinomycètes, activité antimicrobienne, Identification moléculaire

# Abstract

This work was planned to identify the telluric actinomycetes that exist in the truffle soil of the Naama region.

The work was carried out according to the methodology involved, taking samples from three truffle zones. The soil samples were pre-treated by drying and by CaCO<sub>3</sub> then the isolation and purification step was carried out on three culture media Bennett, ISP2 and GLM then the purified isolates were identified morphologically and biochemically.

According to the results, 32 strains were isolated from southern Sahara of Algeria and 163 strains were selected from soil of Marzouga "Morocco", the antimicrobial activity shows that 32 strains isolate three isolates (C, MS1 and 10) having an effect on pathogenic bacteria (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*) with anti-yeast activity (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*). On the other hand, the Marzouga soil isolates represent an effect of 96 strains on TSA medium and 92 strains on Bennett medium.

Molecular identification revealed that strains "C, MS1 and 10" are: *Streptomyces violaceoruber* (NCBI code 1935; score 1.912), *Streptomyces albus* (NCBI code 1888; score 1.261) and *Streptomyces badius* (NCBI code 1941; score 1.514), respectively. However, the results obtained from Marzouga are represented as a dendrogram.

The active strains have shown inhibitory activity against pathogenic microorganisms, the latter concluding that the Algerian ecosystem is home to an interesting variety of actinomycetes that can be a prodigious source of antimicrobial molecules.

**Key words:** soil, actinomycetes, antimicrobial activity, Molecular Identification.

## الملخص

تم التخطيط لهذا العمل للتعرف على الفطريات الشعاعية الترابية الموجودة على مستوى أرض الكمأة في منطقة النعامة. يتبع عينة التربة عزل وتنقية سلالات الفطريات الشعاعية .

تم تنفيذ العمل وفق المنهجية المتبعة، مع أخذ عينات من ثلاث مناطق من الكمأة. خضعت عينات التربة للمعالجة المسبقة بالتجفيف ثم باستخدام CACO3، تم إجراء خطوة العزل والتنقية على ثلاث أوساط استنبات Bennett وISP2 و GLM ثم تم التعرف على العزلات المنقاة شكليًا وكيميائيًا.

وبحسب النتائج، تم عزل 32 سلالة من صحراء الجزائر وعزل 163 سلالة من تربة مرزوقة المغرب. يظهر النشاط المضاد للميكروبات ان من بين 32 سلالة معزولة ثلاث سلالات فقط (C , MS1, 10) لهم تأثير على البكتيريا المسببة للأمراض ( Micrococcus luteus , Staphylococcus aureus et Staphylococcus epidermidis ) مع نشاط مضاد للفطريات (*Candida albicans, Saccharomyces cerevisiae*) من ناحية أخرى، فإن عزلات تربة مرزوقة تمثل تأثير 96 سلالة على الوسط TSA و 92 سلالة على الوسط Bennett

كشفت التعريف الجزئي ان السلالات C, MS1, 10 هم *Streptomyces violaceoruber* (رمز NCBI 1935). درجة 1.912 و *Streptomyces albus* (رمز NCBI 1888). درجة 1.261 و *Streptomyces badius* (رمز 1941 NCBI). درجة 1.514 على التوالي. ومع ذلك، فإن النتائج التي تم الحصول عليها من تربة مرزوقة تم تمثيلها في شكل dendrogramme.

أظهرت السلالات النشطة نشاطاً مثبتاً ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض، وخلص الأخير إلى أن النظام البيئي الجزائري يضم مجموعة متنوعة مثيرة للاهتمام من الفطريات الشعاعية التي يمكن أن تكون مصدرًا رائعًا للجزيئات المضادة للميكروبات

**الكلمات المفتاحية:** التربة، الفطريات الشعاعية، النشاط المضاد للميكروبات، التحديد الجزيئي

# listes des abreviations

**AFNOR** : Association française de normalisation

**MAL-TOF** : Désorption-ionisation laser assistée par matrice

**PCR** : Polymerase Chain Reaction/ réaction de polymérisation en chaîne

**TSA**: Tryptic Soy Agar/Gélose tryptone soja

# Listes des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Classes granulométriques du sol	P06
<b>Tableau 2</b> : Superficies des zones arides d'Algérie en 103 Km2	P10
<b>Tableau 3</b> : Répartitions des actinomycètes dans la nature	P21
<b>Tableau 4</b> : Caractéristiques de culture des souches C, MS1 et 10 sur Différents milieux	P39
<b>Tableau 5</b> : Propriétés physiologiques et biochimiques des souches C, MS1 et 10	P40

# Listes des figures

<b>Figure1</b> : Proportion des principaux composants du sol par volume	P06
<b>Figure2</b> : Diagramme de texture	P07
<b>Figure 3</b> : Carte des zones arides dans le monde	P09
<b>Figure 4</b> : Structure de l'hyphe. (A) hyphe coenocytique, (B) hyphe cloisonné	P14
<b>Figure 5</b> : classification générale des champignons	P15
<b>Figure 6</b> : Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure	P17
<b>Figure 7</b> : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes Vivants (bleu-vert) et mort (blanc). Le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaines de conidiospores sont représentés	P20
<b>Figure 8</b> : Cycle de développement d'un Actinomycète sur milieu solide	P23
<b>Figure 9</b> : le premier et le deuxième échantillon du sol prélevés	P26
<b>Figure 10</b> : Présentation schématique de la technique de culture sur lamelle	P31
<b>Figure 10</b> : l'activité antimicrobienne montre par la zone d'inhibition sur milieu Bennett	P38
<b>Figure 11(a)</b> : Dendrogramme dérivé des empreintes digitales BOXA1R-PCR 163isolats et de leurs activités antimicrobiennes (boîte rouge, active ; boîte blanche, inactive)	P39
<b>Figure 11(b)</b> : Dendrogramme dérivé des empreintes digitales BOXA1R-PCR 163isolats et de leurs activités antimicrobiennes (boîte rouge, active ; boîte blanche, inactive) (la suite)	P40

# Sommaire

<b>Remerciements</b>	<b>i</b>
<b>Dédicaces</b>	<b>ii</b>
<b>Résumé</b>	<b>v</b>
<b>Abstract</b>	<b>v</b>
<b>الملخص</b>	<b>vi</b>
<b>La liste des abreviations</b>	<b>vii</b>
<b>La liste des figures</b>	<b>viii</b>
<b>La liste des tableaux</b>	<b>x</b>
<b>Sommaire</b>	<b>xi</b>
<b>Introduction</b>	<b>1</b>

## **Partie I : Synthèse bibliographique**

<b>Chapitre I : Généralités sur le sol</b>	<b>P03</b>
I.1. Définition du sol	P04
I.2. Composants du sol	P04
I.2.1. Fraction minérale	P04
I.2.2. Organismes vivants	P04
I.2.3. Humus	P05
I.3. Caractéristiques du sol	P05
I.3.1. Texture du sol	P06
I.3.2. Structure du sol	P07
I.4. Sol aride	P08
I.4.1. Caractéristiques de la zone aride	P08
I.4.2. Répartition des zones arides	P09
I.4.2.1 Dans le monde	P09
I.4.2.2 En Algérie	P10
<b>Chapitre II : Microflore du sol</b>	<b>P11</b>
II.1. Algues	P

II.2. Bactérie	P12
II.3. Champignons	P13
II.3.1. Définition	P13
II.3.2. Structure	P13
II.3.3. Classification	P14
II.3.4. Mode de reproduction des champignons	P16
II.3.5. Mode de vie des champignons	P18
II.4. Actinomycètes	P18
II.4.1. Historique	P18
II.4.2. Définition	P19
II.4.3. Morphologie	P20
II.4.4. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature	P21
II.4.5. Physiologie des actinomycètes	P22
II.4.6. Cycle de vie des actinomycètes	P23
II.4.7. Taxonomie	P24
II.4.7. Importance des actinomycètes	P24
<b>Partie II: Matériel et méthodes</b>	
III .1. Echantillonnage	P26
III. 2. Analyses physico-chimiques du sol	P27
III. 2.1 Mesure du pH	P27
III. 2.2 Dosage d'humidité	P27
III .2.3. Détermination du taux de la matière organique	P27
III .2.4. Mesure de la conductivité de l'extrait aqueux 1/5	P28
III .3. Prétraitement des échantillons	P28
III .4. Isolement des actinomycètes	P28
III .4.1. Les milieux de cultures utilisés	P28
III.4.2. Préparations des dilutions	P29

III.4.3. Ensemencement et incubation	P29
III.5. Dénombrement	P29
III.6. Purification des isolats d'actinobactéries	P29
III.7. Conservations des souches	P30
III.8. Identification des souches purifiées	P30
III.8.1. Etude morphologique	P30
III.8.1.1. Caractères microscopiques	P30
III.8.1.1.1. Technique sur lamelle	P30
III.8.1.1.2. Coloration de Gram	P31
III.8.2. Etude biochimique	P32
III.8.2.1. Hydrolyse d'amidon	P32
III.8.2.2. Hydrolyse de la caséine	P32
III.8.2.3. Hydrolyse de la gélatine	P32
III.8.2.4. Action sur le lait écrémé	P32
III.8.2.5. Utilisation de citrate comme seule source de carbone	P32
III.8.2.6. Réduction des nitrates	P33
III.8.2.7. Recherche de catalase	P33
III.8.2.8. Recherche de l'uréase	P33
III.8.2.9. Recherche de la production d'indole	P33
III.8.2.10. Production d'H <sub>2</sub> S	P34
III.8.2.11. Production de pigments mélanoïdes	P34
III.8.2.12. Recherche de la cellulase	P34
III.8.2.13. Dégradation de tween 80	P34
<b>Partie III : Résultats</b>	<b>P35</b>
<b>Conclusion</b>	<b>P43</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>P45</b>
<b>Annexe</b>	

# *Introduction*

Les actinomycètes sont un groupe hétérogène de bactéries Gram positif avec un taux élevé de G+C. Ces bactéries développent un réseau ramifié d'hyphes, ceux-ci poussent à la fois à la surface et à l'intérieur du substrat. Ce sont des bactéries omniprésentes dans presque tous les milieux même ceux où la vie est extrêmement hostile (**Goodfellow & William, 1983 ; Okami & Hotta, 1988**). On les trouve dans divers habitats (marins, sols, etc...) et diverses conditions environnementales (couvrant une large gamme de pH, température, salinité, etc...). Un certain nombre d'entre eux sont capables de croître dans des habitats riches en sel, et ils sont donc halophiles ou halotolérants (**Solanki & Kothari, 2011**) Ils sont connus pour leur aptitude à jouer un rôle très important dans la biodégradation de la matière organique et inorganiques présentes dans la nature (**Silini, 2012**).

Les actinomycètes, surtout celles qui ont une structure mycélienne sont réputées pour la production d'antibiotiques, en particulier le genre *Streptomyces*. Ce dernier est considéré parmi les meilleurs candidats pour la production de métabolites secondaires biologiquement actifs. Il sécrète près de la moitié des antibiotiques naturels d'origine microbienne (**Solecka et al., 2012**). Ils sont capables de métaboliser plusieurs et différents composés y compris les polysaccharides, les alcools, les acides aminés et les composés aromatiques par la production des enzymes extracellulaire (**Benimeli et al., 2003**). Leur aptitude de dégrader les pesticides et les herbicides et les hydrocarbures avait également été signalée (**Boucheffa, 2011**). Les actinomycètes sont aussi connus par leur production d'autre métabolites secondaires tel que les antiparasitaires, les antitumoraux et les immunosuppresseurs (**Angehrn et al., 2004 ; Imada, 2005**)

En Algérie, les sols sahariens et

semi-arides se sont révélés très diversifiés en actinomycètes et de nombreux travaux ont été publiés sur ces microorganismes, du point de vue taxonomique dans le but de découvrir de nouvelles espèces (**Zitouni, 2004**).

Dans cette optique, on s'est intéressé à la recherche et l'isolement des actinomycètes des zones arides et particulièrement truffières et d'essayer d'établir un dendrogramme de ce groupe. Les objectifs de notre étude se focalisent principalement sur :

- ✓ L'isolement et la purification des isolats d'actinomycètes.
- ✓ L'identification morphologique et biochimique des isolats.
- ✓ L'élaboration d'un dendrogramme

*Partie I*  
*Synthèse Bibliographique*

*Chapitre I*  
*Généralités sur le sol*

## I. Généralités sur le sol

### I.1. Définition du sol

Le sol est la couche externe de la croûte terrestre caractérisée par la présence de nombreux êtres vivants. Il est le siège d'un échange intense de matière et d'énergie entre l'air ; l'eau et les roches. Le sol en tant que partie de l'écosystème terrestre, occupe une position clé dans les cycles globaux de matières (**Gobat et al., 2003**). Pour l'agronome et le pédologue, le sol est le produit de l'altération, du remaniement et de l'organisation des couches supérieures de la croûte terrestre sous l'action de la vie, de l'atmosphère et des échanges d'énergie qui s'y manifestent (**Mathieu, 2009**).

Le sol est défini par opposition au mot roche, dans sa définition géotechnique, c'est un agrégat naturel de grains minéraux, séparables par une action mécanique légère. Le sol est un matériau meuble, ce caractère étant fondamental. Il ne suffit cependant pas à définir un sol naturel, car certains matériaux produits par l'homme présentent aussi ce caractère. Par exemple les sous-produits miniers et les granulats concassés (sable, gravier, ballast...) sont aussi des matériaux meubles (**Degoutte & Royet, 1999**).

### I.2. Composants du sol

Le sol est un système complexe formé de très nombreux composants minéraux et organiques soumis à des phénomènes physiques, chimiques et biologiques en constante interaction. Il comprend :

#### I.2.1. Fraction minérale

Faite de fragments de roche issus du sous-sol comprenant, du plus fins au plus gros, des argiles, des limons, des sables, et d'ions comme les anions phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) et le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ). Les silicates telles les argiles, constituent 95% des roches de la croûte terrestre ; quant au grain de sable, il s'agit d'un cristal de quartz, forme cristalline de la silice (**Terchi, 2014**).

#### I.2.2. Organismes vivants

Les bactéries et les champignons sont les principaux acteurs de la création des sols et de la croissance des plantes. Sans eux, pas de cycle des minéraux, pas d'humus, pas d'épuration de l'air, pas de conditions de vie pour les végétaux, les animaux et les humains. Les bactéries font partie, juste après les champignons, des décomposeurs les plus

Actifs et les plus importants des matières organiques sur terre. Elles sont les premières à attaquer les matières animales et végétales afin d'absorber notamment l'azote et le carbone (**Carnaulet, 2015**).

### I.2.3. Humus

Par ses propriétés physicochimiques, la matière organique interagit avec les particules du sol et participe à sa structuration. La matière organique fraîche provient des déchets des organismes, de leurs sécrétions ou des tissus morts. Mais elle provient majoritairement de débris végétaux (cellulose, hémicellulose, lignine, tanins) (**Chenu, 1993**), ces composés organiques humifiés sont séparés en trois fractions suivant leur solubilité : les acides fulviques très solubles à tout pH, les acides humiques insolubles à pH acide, et l'humine insoluble. Des composés lipidiques et azotés sont également présents dans le sol (**Faugier, 2010**).

En se décomposant la matière organique libère plusieurs éléments nutritifs nécessaires à la croissance de la plante, elle apporte des quantités significatives d'azote, de phosphore, de potassium, de magnésium et de calcium ainsi que du bore, du molybdène, du cuivre et du zinc (**Ndoum Ng'owona, 2010**). La matière organique constitue souvent le ciment organique liant les fines particules entre elles et formant ainsi les agrégats, elle ralentit la pénétration de l'eau de pluie dans ces agrégats et permet l'augmentation du taux des agrégats hydro stables. Ainsi, il devient nécessaire de maintenir et même d'augmenter le contenu des sols en matière organique pour améliorer leur fertilité (**Boudiar, 2013**).

### I.3. Caractéristiques du sol

Le sol comporte trois phases : une phase solide (qui est minérale et organique), une phase liquide ou solution du sol (qui correspond à l'eau et aux éléments dissous), et une phase gazeuse (composé principalement de l'oxygène, de dioxyde de carbone) (**Figure 1**). Le sol est caractérisé par une texture et une structure qui va fortement conditionner ses propriétés physiques et chimiques (**Terchi, 2014**).



**Figure 1 :** Proportion des principaux composants du sol par volume (Sahbi&Maref, 2018)

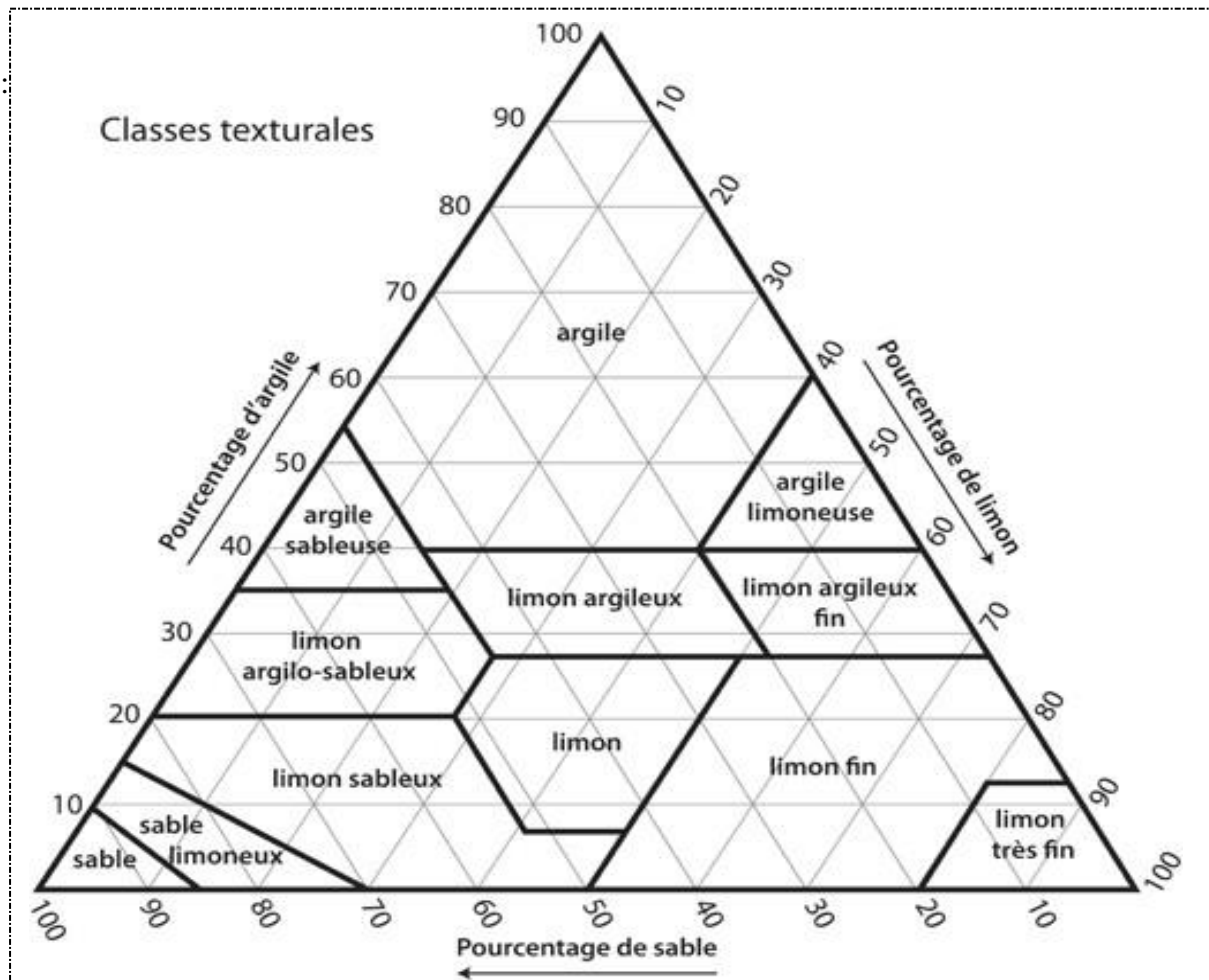
### I.3.1. Texture du sol

La texture se définit comme la composition élémentaire d'un échantillon avec les proportions relatives de ses éléments constitutifs groupés par classe de diamètre. En d'autres termes la texture du sol correspond à la granulométrie, c'est à dire les différentes proportions du sol qui sont : l'argile, le limon, le sable et les éléments grossiers. (Delville et al, 1996). Le **tableau (1)** nous renseigne sur les différentes classes granulométriques du sol.

**Tableaux 1:** Classes granulométriques du sol (Baize, 2000)

Classes	Terre fine					Terre grossière	
	Fraction argileuse	Fraction Limoneuse		Fraction Sableuse		Graviers	Cailloux
	Argiles	Limons fins	Limons grossiers	Sables fins	Sables grossiers		
Diamètre des particules	< 2 $\mu$ m	2-20 $\mu$ m	20-50 $\mu$ m	50-200 $\mu$ m	0,2-2mm	2-20mm	>20mm

Selon **Siegenthaler (2011)**, la texture du sol est déterminée par la grosseur des particules qui le composent en pourcentage de sable, limon et d'argile (**Figure 2**).



*Figure2 : Diagramme de texture (Duchaufour et al., 2018).*

### I.3.2. Structure du sol

La structure d'un sol est l'assemblage des différents constituants physiques du sol à un moment donné (**Pasquier ,2010**). En pédologie les structures, ce sont les arrangements, à toutes échelles d'espace et tous niveaux d'investigation des constituants solides des couvertures pédologiques entre les quels subsistent des vides. (**Baize et al., 2013**).

Les particules du sol maintenues ensemble par des forces physiques et chimiques, forment des agrégats (**Pierzinsky, 2005**). L'absence ou la présence ainsi que la forme de ces agrégats définissent le type de structure (**Gobat et al., 1998**).

La structure a une influence sur l'enracinement, détermine la cohésion du sol et de sa porosité.

On distingue trois grands groupes de structure :

- ▢ **Structures particulières** : les constituants solides du sol n'ont aucun lien entre eux.
- ▢ **Structures compactes et continues** : les constituants sont liés entre eux en un seul bloc. L'air et l'eau ne circulent pas facilement, le sol asphyxiant, ce qui est néfaste pour les racines et la microflore.
- ▢ **Structures fragmentaires ou motteuses** : plus favorables, les constituants sont liés entre eux en agrégats de différentes tailles. (Ndoum Ng'owona, 2010).

## I.4.Sol aride

### I.4.1. Caractéristiques de la zone aride

La zone aride est caractérisée à la fois par son climat toujours peu pluvieux très sec, et, très irrégulier, et par sa végétation herbacée ou frutescente, rarement arborée. Supportant des conditions sévères, ses sols présentent un certain nombre de caractères constants : évolution lente, profondeur souvent réduite, matière organique fortement évoluée, peu abondante et superficielle ; éléments minéraux peu altérés ; colloïdes argileux stables ; éléments solubles concentrés en surface ou partiellement lessivés et accumulés, à un niveau ou un autre du profil, jusqu'à donner naissance à des nodules ou à des croûtes calcaires, gypseuses ou salines (Aubert, 1960).

Généralement la zone aride est subdivisée en trois domaines comme suit (Emberger, 1955 ; le Houerou, 1975) :

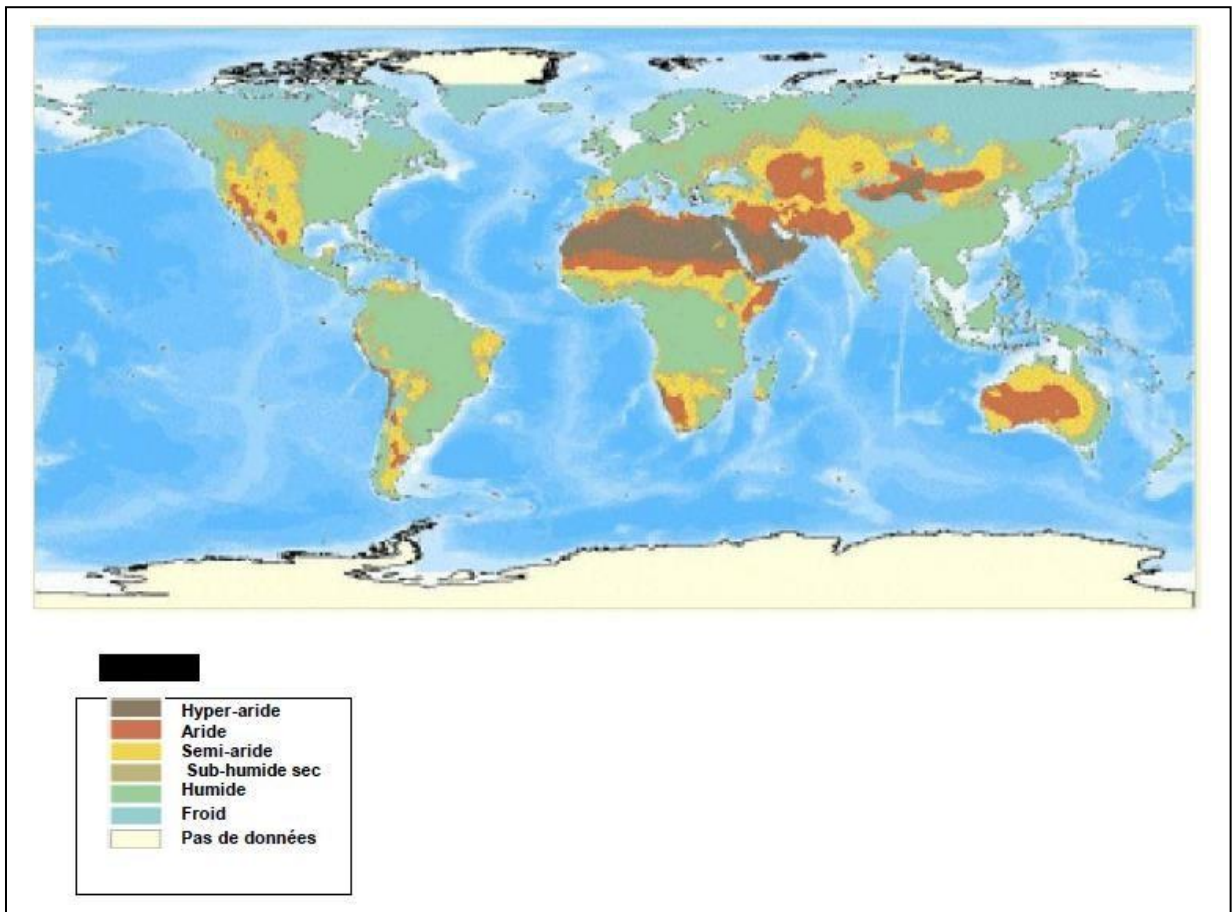
- ▢ Le domaine hyper aride dont la pluviométrie est inférieure à 100 mm.
- ▢ Le domaine aride proprement dit dont la pluviométrie est comprise entre 100 et 300- 400 mm.
- ▢ Le domaine semi- aride dont la pluviométrie est comprise entre 300- 400 mm et 600 mm. Selon certains écologistes, le terme désert vrai devrait être réservé de façon exclusive aux zones à climat hyper aride (Ramade, 2003).

## I.4.2. Répartition des zones arides

### I.4.2.1 Dans le monde

Wri (2002) vint de proposer pour classer la zone aride de considérer les valeurs du rapport ratio précipitation annuelle / évapotranspiration potentielle moyenne annuelle (**Figure 3**), le monde a été divisé en :

- ▢ La zone hyper aride couvrant environs 11 millions de Kilomètres carrés, soit 8% des terres totales et elle correspond principalement au désert du Sahara.
- ▢ Les zones arides, semi-arides et subhumides sèche et couvrent près de 54 kilomètre carré, elles sont principalement concentrées en Asie et Afrique.



*Figure 3 : Carte des zones arides dans le monde (Wri, 2002)*

## I.4.2. 2 En Algérie

La classification bioclimatique d'Emberger et sauvage a été largement adoptée en régions méditerranéennes. Cinq étages du bioclimat méditerranéen ont été définis pour l'Algérie : Saharien, aride, semi-aride, sub- humide et humide.

On distingue selon **Nedjraoui(2003)** :

▣ Le semi- aride : 300- 600 mm.

▣ L'aride : 300- 100 mm.

▣ Le Saharien < 100 mm qui occupe 89,5% la superficie totale de l'Algérie. La superficie des zones arides en Algérie selon le **Houerou (1995)** est de 216000 Km<sup>2</sup>, et 386000 Km<sup>2</sup> de zones hyper arides supérieur (**Tableau 2**).

**Tableau 2 : Superficies des zones arides d'Algérie en 103 Km<sup>2</sup> (Madani, 2008)**

Pluviosité moyenne	La superficie
Semi- aride à humide P> 400	181
Aride supérieur 400> P> 300	59
Aride moyenne 300> P> 200	70
Aride inférieur 200> P> 100	87
Zone aride total	216
Hyper aride supérieur	386

# *Chapitre* **II**

## *Microflores du sol*

## Microflores du sol

Trop souvent considéré comme un environnement minéral, le sol est un écosystème particulier, biotope de la microflore, de la faune du sol ainsi que des végétaux (**Anderson & Martens, 2013**). C'est un véritable laboratoire biologique où se déroulent des réactions qu'on ne trouve nulle part ailleurs (**Pedro, 1996**). A cause de son hétérogénéité, il abrite des populations de microorganismes à des particularités biologiques et biochimiques très diverses. L'activité de ces populations est influencée par divers facteurs : température, pH, profondeur du sol, humidité et présence des substances organiques et inorganiques.

La « bonne santé » des sols est un paramètre extrêmement important en agriculture. Les microorganismes jouent un rôle majeur dans les cycles des nutriments des sols. Selon le cas ils produisent des matières nutritives ou les consomment. Par exemple la production des nutriments provient de la dégradation de matières organiques. De même d'importants ils sont impliqués dans le recyclage de nombreux éléments chimiques (carbone, azote, phosphore, soufre, du fer et d'autres) (**Jerome et al., 2004**)

### II.1. Algues

Ce sont des organismes microscopique photoautotrophe uni ou pluricellulaire. Sont considérées comme relativement peu abondantes dans le sol (**Soltner , 2005**)

Les algues représentent une partie importante de la microflore édaphique. Elles sont un réservoir de nutriments pour les plantes supérieures. A travers la photosynthèse et la fixation de l'azote, elles apportent du carbone organique et de l'azote dans l'écosystème sol, elles favorisent la structuration des sols et contrôlent l'activité des autres organismes édaphiques (**Jeffery et al., 2013**).

### II.2. Bactéries

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs du sol (**Dommergues & Mangenot, 1970**).

Ce sont des micro-organismes procaryotes unicellulaires d'une taille varie d'une taille varie de 0.1 à 10 microns, d'une forme sphérique (coque) ou des bâtonnets (bacille). Certaines d'entre elles sont incurvées ou spiralées, d'autres ramifiées, jusqu'à engendrer comme dans les

groupes des actinomycètes, un réel mycélium (**Gobat et al., 2003**). Ils sont divisés en deux, bactéries aérobies du sol qui participent essentiellement dans les réactions d'oxydation de la matière organique et la deuxième sont des anaérobies qui assurent les réactions de réduction au cours de fermentations (**Vitousek, 1991**). Les bactéries peuvent être soit autotrophes (ils synthétisent des composés de carbone provenant de sources inorganiques) ou hétérotrophes (utilisent des composés organiques pour tirer la majeure partie ou la totalité du carbone dont ils ont besoin). Certaines bactéries contribuent à la fertilité du sol en fixant l'azote. D'autres sont important dans la décomposition de la matière organique (**Calvet, 2003**).

## II.3. Champignons

### II.3.1. Définition

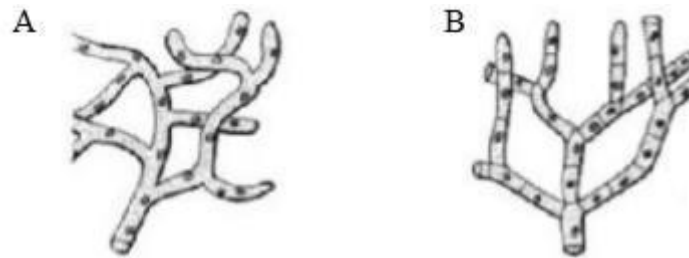
Les champignons constituent une des lignées les plus diverses des Eukaryota (**Blackwell, 2011**) et sont perçus comme un des groupes les plus important en raison de leurs fonctions vitales aux écosystèmes (**Mueller & Schimat, 2007**).

Les champignons, appelés aussi mycètes. Sont des organismes eucaryotes uni ou pluricellulaire incluant des espèces macroscopique (macro mycètes) et d'autres microscopique (micromycètes) d'aspect filamenteux ou levuriforme (**Chabasse et al., 2002**). Sont des aérobies stricts et rarement anaérobies (**Tortora et al., 2003**), en général, acidophiles (pH compris entre 3 et 7) (**Nicklin et al., 2000**) et mésophiles (température optimale 20-30°C) (**Botton et al., 1999**). Cependant, certaines espèces sont psychrophiles, se développant à basse température ( $T^{\circ} < 15^{\circ}\text{C}$  ou même parfois  $< 0^{\circ}\text{C}$ , comme *Cladosporium herbarium*, *Thamnidium elegans*). Elles ont, en générale, un faible besoin en eau par rapport à d'autres microorganismes ( $aw = 0.65$ ) (**Boiron, 1996**). Ayant un métabolisme hétérotrophe car ils tirent leur énergie de la respiration et de la fermentation des matières organiques solubles disponibles dans leur environnement (**Leveau & Bouix, 1993 ; Nicklin et al., 1999**).

### II.3.2. Structure

Les moisissures (Micromycètes) ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent dans diverses familles de champignons microscopiques. Leur unité cellulaire de base est appelée hyphe (**Nicklin et al., 2000**) peut être non cloisonnés (hyphes cénocytiques) dans le cas des Phycomycètes, ou cloisonnés (hyphes septés) chez les Septomycètes (**Leyral & Vierling, 2001**). C'est une cellule tubulaire emprisonnée dans une paroi rigide de chitine. Les hyphes se multiplient au niveau de leur extrémités, formant ainsi

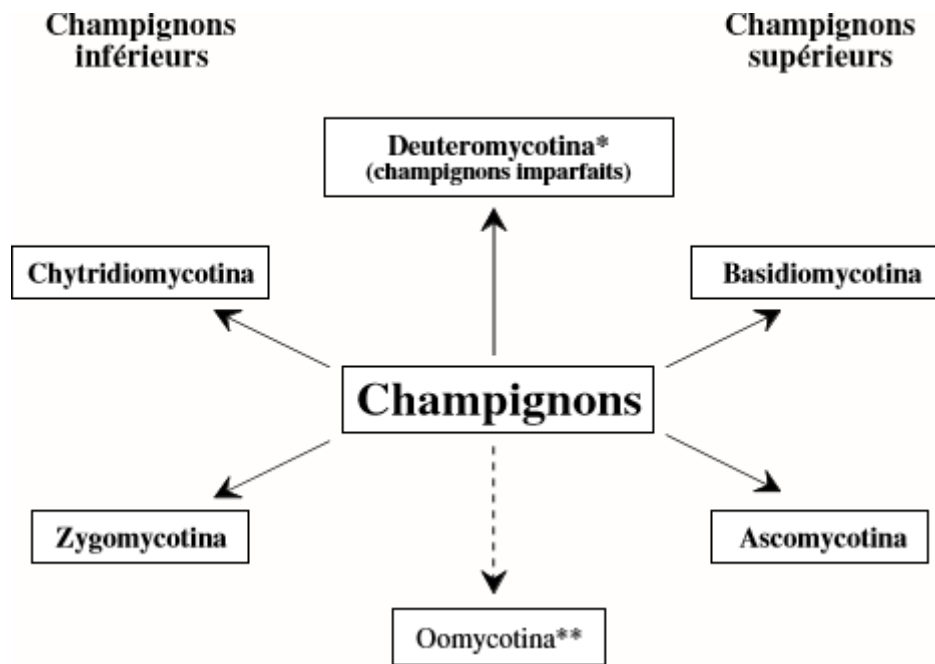
une masse emmêlée appelée mycélium. Les hyphes contiennent un noyau, des mitochondries, des ribosomes, un appareil de Golgi et des vésicules entourées de membrane noyée dans un cytoplasme entouré d'une membrane plasmique. Les structures intracellulaires sont soutenues et organisées par un système de microtubules et le réticulum endoplasmique. Les produits intracytoplasmiques de l'hyphe tendent à s'accumuler au niveau de l'extrémité en croissance (Nicklin *et al.*, 2000).



**Figure 4 :** Structure de l'hyphe. (A) hyphe coenocytique, (B) hyphe cloisonnée (Lecellier, 2013)

### II.3.3. Classification

La classification de **Hawksworth, Sutton et Ainsworth (1970)** modifiée par **Know Chung et Bennett (1992)**, puis par de **Hoog (1995)**, est la plus utilisée actuellement (**Chabasse et al., 2002**). Les mycètes étaient classés dans un groupe polyphylétique contenant des micro-organismes qui avaient des ancêtres très différentes. Actuellement la science préfère une classification monophylétique, où tous les groupes à l'intérieur d'un embranchement descendent d'un même ancêtre. Les mycètes sont divisés en quatre groupes en fonction de leur morphologie et leur reproduction sexuelle (Nicklin *et al.*, 2000).



*Figure 5 : classification générale des champignons (Chabasse et al., 2002)*

### a. Chytridiomycètes

Les Chytridiomycètes sont des champignons d'origine aquatique, au mycélium large peu ou pas cloisonné (siphonné), ils sont souvent unicellulaires, ce sont les seuls champignons qui possèdent des cellules mobiles au cours de leur cycle (les spores sont munies d'un flagelle). Ils ne sont pas impliqués en mycologie médicale et on les considère comme les ancêtres de tous les champignons actuels (Chabasse, 2008). Beaucoup des Chytridiomycètes sont capables de dégrader cellulose et même la kératine (Prescott et al., 2013).

### b. Zygomycètes

Ce groupe constitue les mycètes inférieurs, chez qui le mycélium végétatif n'est pas septé (Nicklin et al., 2000), de diamètre irrégulier, pourvu de nombreux noyaux non séparés par des cloisons. Essentiellement saprophytes, ils se présentent sous forme de moisissures (Bouchet et al., 1999). Caractérisée par la production de spores sexuées appelées zygospores et la reproduction asexuée se réalise par la formation de sporange (Nicklin et al., 2000). Comporte de nombreux pathogènes : les Mucorales, agents des mucormycoses et les Entomophthorales, agents des entomophthoromycoses (Chabasse et al., 2002).

### c. Ascomycètes

Les *Ascomycètes* comprennent environ 15.000 espèces (**Hocini & Meziani, 2013**). Le sous-domaine *Ascomycotina* se distingue de *Zygomycotina* par un certain nombre de caractères fondamentaux, le plus remarquable étant la production de mycélium cloisonné (**Pitt & Hocking, 2009**) constituent les mycètes supérieurs et caractérise par la production des conidiospores asexuées et des ascospores sexuées dans des cellules sacciformes appelées asques (**Nicklin et al., 2000**). Ce groupe des mycètes comprend aussi un grand nombre de pathogènes de l'homme (levures ascospores, champignons filamenteux tels que les *Aspergillus*, les dermatophytes) (**Chabasse et al., 2002**).

### d. Basidiomycètes

Constitue le groupe des mycètes supérieur (**Nicklin et al., 2000**). Elles regroupent seulement certaines moisissures parasites. Elles sont caractérisées par un thalle à mycélium septé (**Botton et al ; 1999**) et par la production de spores sexuées, appelées basidiospores, formées par bourgeonnement à l'apex de cellules allongées, les basides. La plupart des *Basidiomycètes* sont pathogènes de plantes, mais ils sont peu impliqués en pathologie humaines. Ceux qui vivent en parasite chez l'homme sont le plus souvent des *Cryptococcus*, notamment *C.neoformans* dont la forme parfaite appartient au genre *Filobasidiella* (**Chabasse et al., 2002**).

- A côté de ces quatre divisions, il faut faire une place spéciale aux **Deutéromycètes** ou Champignons imparfaits existant chez les mycètes supérieures (**Nicklin et al., 2000**). Ce groupe comprend tous les champignons qui ne produisent ni ascospores, ni basidiospores et qui se multiplient au moyen de conidies. Ils sont unicellulaires (levures) ou à thalle filamenteux septé (**Botton et al., 1990**).

#### II.3.4. Mode de reproduction des champignons

Il y'a deux types de reproduction : la reproduction asexuée, correspondant à la forme Anamorphe, et la reproduction sexuée, correspondant à la forme téléomorphe.

### a. La reproduction asexuée :

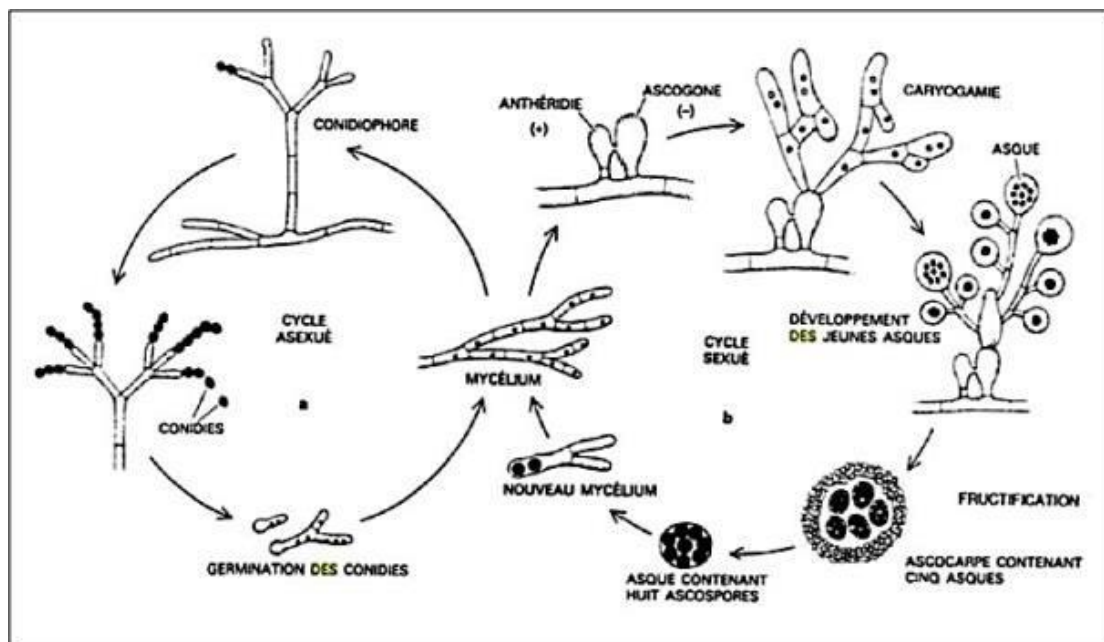
Se fait sans fusion de gamètes. Elle correspond majoritairement à la dispersion de spores asexuées, permettant la propagation des moisissures afin de coloniser d'autres substrats. Cette forme de reproduction asexuée est appelée la sporulation (**Kachour, 2005**).

La reproduction asexuée chez les *Chytridiomycètes* se caractérise par la formation de zoospores mobiles et uniflagellées à l'intérieur des sporanges et chez les *Zygomycètes* par la formation des sporangiospores non mobiles dans des sporanges, pour les *Ascomycètes* se reproduisent par la formation de conidiospores à partir des extrémités des hyphes (**Nicklin et al., 2000**).

### b. La reproduction sexuée :

Elle assure par la fusion de deux gamètes haploïdes ( $n$ ) donnant un zygote diploïde ( $2n$ ). Une structure (+) à  $n$  chromosomes rencontre une autre structure (-) et la fusion des cytoplasmes donne naissance à un nouveau mycélium à  $2n$  chromosomes (**Kachour, 2005**).

La reproduction sexuée chez les *Chytridiomycètes* donne la naissance à des oospores et chez les *Ascomycètes* donne des ascospores et basidiospores pour les *Basidiomycètes* (**Nicklin et al., 2000**).



**Figure 6 :** Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure (**Kachour, 2005**).

### II.3.5. Mode de vie des champignons

Indépendamment du classement hiérarchique en plusieurs groupes et sous-groupes, les champignons sont classés selon leur mode de vie en trois grandes catégories : les saprophytes, les parasites et les symbiontes.

- ❖ **Le saprophytisme** : les espèces saprophytes se développent aux dépens des substances mortes d'origines animale ou végétale (**Bouchet *et al.*, 1999**). Ces espèces jouent un rôle essentiel au sein des cycles biologiques en minéralisant les matières végétales ou animales mortes (**Marouf & Reynaud, 2007**).
- ❖ **La symbiose** : (**Raven *et al.*, 2000** ; **Marouf & Reynaud, 2007**), définissent la symbiose comme une association étroite et durable entre les organismes d'espèces différentes, pouvant appartenir à des règnes différents, vivant en équilibre les uns avec les autres et tirant les bénéfices mutuels de cette union, mais pouvant vivre séparément.
- ❖ **Le parasitisme** : les champignons filamenteux extraient leurs nutriments de la matière vivante. Ils tirent profit de leurs hôtes en vivant à leurs dépens entraînant parfois leur mort (**Lecellier, 2013**). C'est le cas des espèces responsables de maladies sur les végétaux tel que l'oïdium (blanc) (**Bouchet *et al.*, 1999**).

## II.4. Actinomycètes

### II.4.1. Historique

D'après **Waksman (1959)**, **Cohn** fut le premier à découvrir les actinomycètes en 1875 qu'il nomma *Streptothrix foerestri* ; par la suite **Hraz en 1877**, isola l'agent responsable des actinomycoses du bétail et le nomma *Actinomyces bovis*. (**Messoudi, 2013**).

On peut diviser l'histoire des actinomycètes en quatre grandes périodes :

- **La première va de 1874 aux années 1900** : elle pourrait être nommée la période « médicale » par ce que l'intérêt porté à ces organismes était du presque exclusivement aux propriétés pathogènes.
- **La deuxième période (1900-1919)** : se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de **Krainsky (1914)**, **Cohn**, **Curtis** et **Orla Yensen (1909)**, qui créa la famille des *Actinomycetaceae* qui comprend un seul genre *Actinomyces*, par la suite **Buchanan (1917)** créa l'ordre des *Actinomycetales*.

- **Troisième période (1919-1940)** : au cours de laquelle une meilleure connaissance des germes a été acquise, grâce aux recherches de Orskov (1923) qui créa le genre *Micromonospora*. Ce genre regroupe les actinomycètes qui ne produisent pas de mycélium aérien. **Jensen (1932)** regroupe dans le genre *Paraactinomyces* (actuellement *Nocardia*) les actinomycètes dont le mycélium de substrat se fragmente.
- **Quatrième période** : commence en 1940, et correspond à l'époque des antibiotiques produits par les actinomycètes, avec la création du genre *Streptomyces* (en combinant les noms des genres *Streptothrix* et *Actinomyces*) par **Waksman et Henrici en 1943** qui regroupe les actinomycètes dont le mycélium aérien produit des chaînes de spores portées par des sporophores, **En 1958 Pridham et al.**, proposa un système de classification des *Streptomyces* basé sur la morphologie des chaînes de spores et la couleur du mycélium aérien ; **Ettling et al (1958)** introduit un critère important dans la différenciation des espèces : la production des pigments mélanoides (**Messoudi, 2013**).

Enfin, depuis les années 1960, l'essor des méthodes de génétique, initiées par Hopwood puis de génomique a révolutionné la classification des espèces puis les méthodes de découvertes de métabolites secondaires et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes (**Belyagoubi, 2014**).

#### II.4.2. Définition

Le mot Actinomycète a été dérivé des mots grecs « Actino » signifiant rayon et « Mycète » signifiant champignon (**Kebabi & Merouane, 2010**). Les Actinomycètes ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactéries et champignons. Maintenant, ils sont reconnus comme des organismes procaryotes, présentent des similitudes à la fois avec les bactéries et les champignons (**Tokiniana, 2010**).

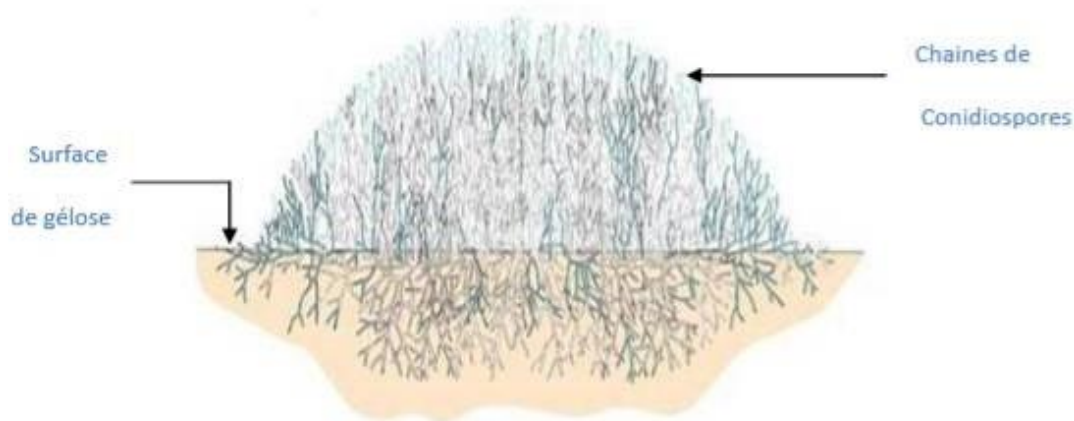
Les actinomycètes sont des bactéries de coloration de Gram positifs à taux élevés de (G+C) compris entre 60-70 % (**Messoudi, 2013**), formant des filaments minces et ramifiés qui, lorsqu'ils évoluent sur un substrat solide, comme la gélose, ils se développent à la fois sur la surface et à l'intérieur de celui-ci (**Prescott, 2010**).

Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyenne est environ 2 à 3 heures (**Messoudi, 2013**).

### II.4.3. Morphologie

La morphologie des différents groupes d'Actinomycètes varie de simple bacille diphtéroïde à des formes mycéliennes complexe (**Boudemagh, 2007**).

- Ils développent un réseau ramifié d'hyphes. Ceux-ci poussent à la surface et à l'intérieure du substrat pour former un tapis dense d'hyphes, qu'on appelle mycélium végétatif. Les hyphes qui poussent vers le haut forment un mycélium aérien (**Prescott et al., 2003**). Les filaments mycéliens peuvent produire des spores, soit uniques comme : *Micromonospora*, soit en chaînes tel que : *Streptomyces*, soit groupées dans des sporanges tel : *Actinoplan*



**Figure 7 :** Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes vivants (bleu-vert) et mort (blanc). Le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores sont représentés (**Prescott et al., 2003**).

- La plupart ne sont pas mobiles, lorsqu'il y a mobilité elle est limitée aux spores flagellées.
- La composition de la paroi des actinomycètes ne renferme ni chitine ni cellulose mais une glycoprotéine contenant de la lysine ou de l'acide diaminopimélique et leur cytologie est comme celle des bactéries (**Lechevalier & Lechevalier, 1985**).

#### II.4.4. Ecologie et distribution des actinomycètes dans la nature

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux écologiques (Goodfellow *et al.*, 1983). Elles peuvent être dans les sols, dans les eaux douces ou salines et dans l'air. Toutefois, elles sont particulièrement abondantes dans le sol, spécialement dans les sols alcalins et les sols riches en matières organiques où elles constituent une part importante de la population microbienne (Loqman, 2009).

**Tableau 3 : Répartitions des actinomycètes dans la nature (Goodfellow, 1983)**

Genre	Habitats
<i>Actinomodura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau, litière
<i>Frankia</i>	Nodule des racines
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, eau
<i>Nocardia</i>	Sol, eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier, litière
<i>Sacharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière
<i>Streptosporangium</i>	Sol
<i>Thermomonospora</i>	Matière en décomposition et fermentation

## II.4.5. Physiologie des actinomycètes

Le développement des actinomycètes peut être influencé par plusieurs paramètres physicochimiques tel que : l'oxygène, le pH, la température, l'activité de l'eau...etc.

### a. L'oxygène

Les actinomycètes sont principalement aérobies (**Jeffrey, 2008**) mais peuvent être divisés en deux groupes :

- ✓ Les formes fermentatives anaérobies, représentées par le genre type *Actinomyces*, qui sont des commensales obligatoires des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs.
- ✓ Les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streptomyces*, sont abondantes dans la nature en particulier sur le sol (**Avril et al, 1992**).

### b. Le pH

Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin (**Omura, 1992**) avec une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7-8 (**Messoudi, 2013**).

### c. La température

La température optimale de croissance des actinomycètes est entre 25° à 30°C°. Les espèces thermophiles peuvent croître à des températures de 55° à 60°C° ou plus (**Omura, 1992**).

### d. Le taux d'humidité

En général, les actinomycètes ont été isolés dans des sols contenant des taux faibles jusqu'à modérés d'humidité, ce qui suggère qu'ils ne sont pas beaucoup influencés par les conditions semi-arides (**Oskay et al., 2004 ; Prescott et al., 2007**).

### e. Matière organique

En 1986, **Henis** a montré que le nombre des actinomycètes est corrélé positivement avec le taux de matière organique et que de larges populations d'actinomycètes coïncidaient avec des taux relativement élevés de matière organique, quel que soit le taux de la salinité du sol (**Lee & Hwang, 2002**).

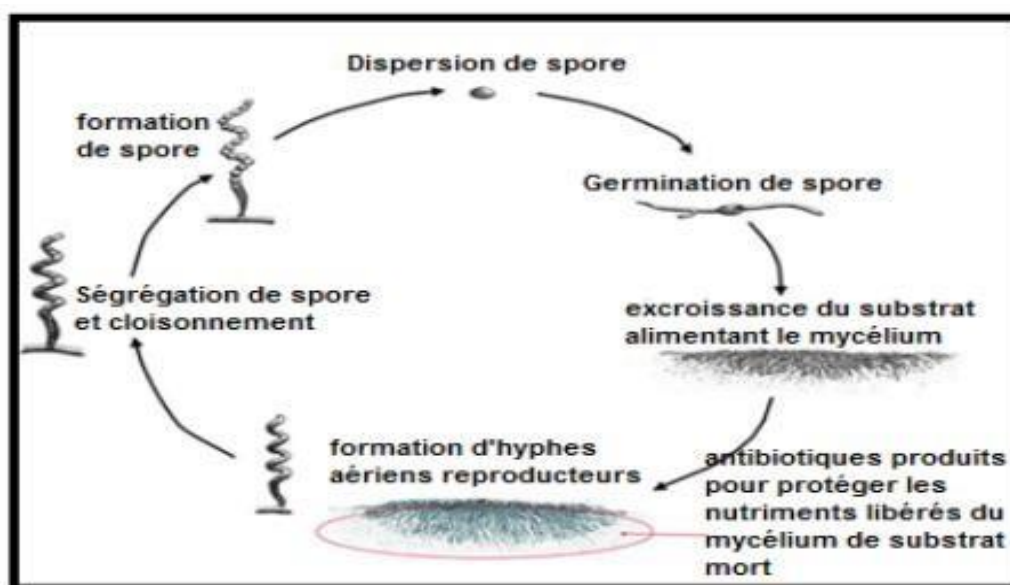
## II.4.6. Cycle de vie des actinomycètes

Les Actinomycètes possèdent une structure de procaryotes mais un cycle biologique semblable à certains champignons (**Boudemagh, 2007**). La reproduction des Actinomycètes est plus lente (7 à 28 jours) que celle des autres bactéries (24 heures) (**Saci, 2012**).

Le cycle de vie de nombreux actinomycètes commence par la germination des spores, processus qui nécessite la présence des ions de calcium. Cette germination donne naissance à un mycélium primaire ramifié (**O'Gara et al., 2008**).

Un mycélium aérien vient de se dresser au-dessus du mycélium de substrat. En effet cette dernière autolyse et les produits de la lyse sont utilisés par le mycélium aérien, c'est à ce moment-là que les composés médicalement utiles sont synthétisés, et on les appelle métabolites secondaires (**Smaoui, 2010**).

A l'extrémité du mycélium aérien se forme des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores, ces spores naissent par séparation du mycélium primaire habituellement en réponse à un stress d'environnement (manque de nutriment). Si les spores sont localisées dans des sporanges, on les appelle des sporangiospores. Généralement ces spores ne sont pas résistantes à la chaleur, mais résistent bien à la dessiccation et ont de ce fait une importante valeur adaptative, les actinomycètes sont immobiles, excepte pour les spores de certains genres (*Actinoplan, Spirillospora...etc.*) (**Prescott et al., 2010**).



**Figure 8** : Cycle de développement d'un Actinomycète sur milieu solide (**Breton et al., 1989**).

### II.4.7. Taxonomie

La taxonomie des actinomycètes a beaucoup évolué au cours des vingt à trente dernières années en même temps qu'évoluait le nombre de genres d'actinomycètes.

Selon la classification du « Taxonomic Outline of The Procaryotes, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology », seconde édition 2004 (**Garrity et al., 2004**), le phylum Actinobacteria (bactéries à Gram positif et G+C % élevé) est constitué d'une seule classe dénommée également « *Actinobacteria* ». La classe des *Actinobacteria* est divisée en 5 sous classes : *Acidimicrobidae*, *Rubrobacteridae*, *Coriobacteridae*, *Sphaerobacteridae*, *Actinobacteridae*

Chacune de ces sous classes est constituée d'un ou de plusieurs ordres eux-mêmes constitués d'une ou de plusieurs familles. Dans la sous-classe des *Actinobacteridae*, L'ordre des *Actinomycetales* est subdivisé en 10 sous-ordres : *Actinomycineae*, *Micrococcineae*, *Corynebacterineae*, *Micromonosporineae*, *Propionibacterineae*, *Pseudonocardineae*, *Streptomycineae*, *Streptosporangineae*, *Frankineae* et *Glycomycineae*. (**Harouna Maidoukia & Alkama, 2014**)

### II.4.7. Importance des actinomycètes

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

## *Partie II*

### *Matériel et méthodes*

### III .1. Echantillonnage

Durant la période s'étalant entre la mi-janvier et Février 2020, deux échantillons de sol ont été prélevés à partir de deux zones différentes de la wilaya de Naama. Selon nos investigations auprès de la population locale, certains autochtones avaient déclaré que ces régions sont des zones truffières dans les conditions climatiques favorables.

- Le premier prélèvement que nous avons effectué est de la région dite "Hirach".
- Le deuxième prélèvement est de la région qui situe le long de la route entre Naama chef-lieu et la localité de Asla

Les prélèvements des échantillons de sol ont été effectués par la méthode de **(Pochon & Tardieux, 1962)** et dans des conditions d'asepsie à l'aide d'une spatule stérile en écartant les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol, puis ils ont été récupérés dans des sacs en plastique stériles soigneusement fermés et conservés aux laboratoires à 4°C avant les analyses.



*Figure 9 : le premier et le deuxième échantillon du sol prélevés*

## III. 2. Analyses physico-chimiques du sol

### III. 2.1 Mesure du pH

Le pH a été déterminé selon la norme AFNOR X 31-103 (AFNOR, 1994) par la mesure d'une suspension de sol dans l'eau à 2/5 dont le rapport (sol/ eau) est de 2/5 (g/ml) rapport (masse/ volume) après agitation à l'aide d'un pH mètre

### III. 2.2 Dosage d'humidité

Cinq à dix grammes de sol sont séchés pendant 2 jours dans un four à 105°C, jusqu'à obtention d'un poids constant. L'humidité est calculée d'après la relation (Djaballah, 2010)

$$H = \frac{PH - PS}{PH} \times 100$$

- H : L'humidité.
- PH : Poids humide de l'échantillon.
- PS : Poids sec de l'échantillon.

### III .2.3. Détermination du taux de la matière organique

La matière organique est caractérisée par sa forte teneur en carbone, qui se transforme par oxydation en gaz carbonique. La détermination de la teneur en matière organique d'un échantillon de sol est effectuée selon la technique suivante : les échantillons du sol préalablement tamisés à 2mm sont séchés à l'étuve à la température de 100°C afin d'éliminer l'eau, une calcination du sol est obtenue par incinération de 5 g du sol dans un four à moufle à haute température (475°C) pendant 16 heures. La matière organique est calculée comme suit : (Messoudi, 2013)

$$\% \text{ Matière organique} = \frac{\text{Poids du sol avant calcination} - \text{Poids du sol après calcination}}{\text{Poids du sol avant calcination}}$$

### III .2.4. Mesure de la conductivité de l'extrait aqueux 1/5

20 g de sol tamisé dans un tamis de 2 mm sont mis en suspension dans 100 ml d'eau distillée. Après une heure d'agitation dans un agitateur rotatif suivie d'une demi-heure de repos, la suspension est ensuite décantée dans un Bécher et la conductivité est mesurée à l'aide d'un conductimètre (Mathieu et Pieltain, 2003)

### III .3. Prétraitement des échantillons

Avant l'isolement, les échantillons du sol ont subi un prétraitement pour améliorer le nombre des actinomycètes, pour cela deux prétraitements ont été appliqués :

- **Le séchage**

10 du sol de chaque échantillon est séché à une température de 50°C pendant 60 minutes, ce prétraitement à comme effet la réduction de la flore bactérienne dans les échantillons du sol (Djaballah, 2010)

- **L'enrichissement des échantillons par le bicarbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>)**

Cette méthode consiste à mélanger 10g d'échantillon de sol avec 1g de CaCO<sub>3</sub>. Le mélange est incubé dans une étuve à 28°C pendant 7 à 9 jours. Ce prétraitement a pour avantage, la réduction de la flore fongique ainsi que l'augmentation du nombre d'actinobactéries (El-Nakeeb & Lechevalier, 1963)

### III .4. Isolement des actinomycètes

#### III .4.1. Les milieux de cultures utilisés

Parmi les milieux de culture sélectifs des actinobactéries ; trois milieux sont utilisés pour l'isolement, il s'agit de :

▢ Milieu Bennett (Lee *et al.*, 2011)

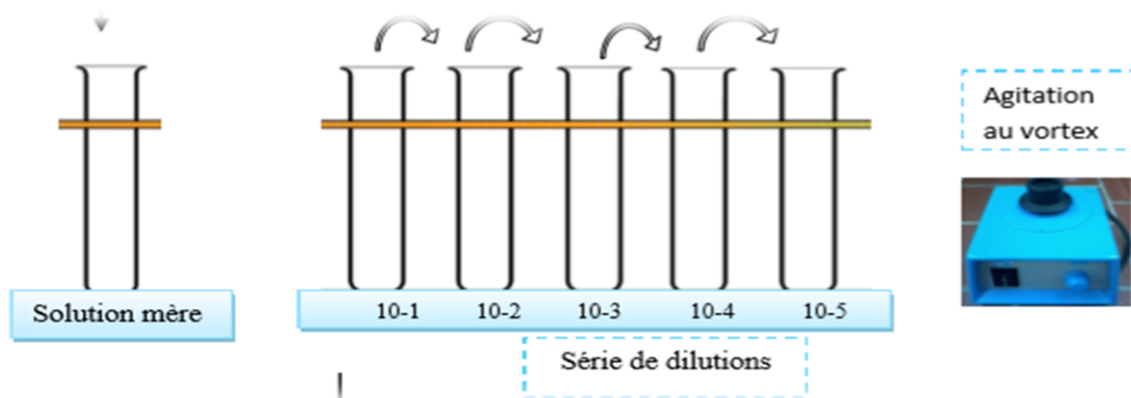
▢ Milieu *International Streptomyces Project 2* (ISP2) (Ara *et al.*, 2012)

▢ Milieu gélose à l'extrait de levure et l'extrait de malt (GLM) (Kitouni *et al.*, 2005).

Les trois milieux sont additionnées de 10  $\mu\text{L}/\text{mL}$  d'acide nalidixique et 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de nystatine (Boudemagh, 2007)

### III.4.2. Préparations des dilutions

La préparation des dilutions consiste tout d'abord à préparer la solution mère, après avoir mis 10 grammes de chaque échantillon à 90 ml d'eau physiologique stérile. La suspension subit une agitation pendant 5 à 10 minutes. Par la suite on réalise une série de dilution décimale pour chaque échantillon jusqu'à  $10^{-3}$ .



### III.4.3. Ensemencement et incubation

Un volume de 1 ml de chaque dilution est ensemencé à la surface de milieu de culture coulé sur des boîtes pétries, avec trois répétitions pour chaque dilution. L'ensemencement est effectué par la technique d'étalement en surface (étalement par râteau). Les boîtes sont incubées à la température de 28°C, et elles sont vérifiées régulièrement pendant 21 jours (Messoudi, 2013)

### III.5. Dénombrement

Le dénombrement des colonies d'actinomycètes isolées est effectué quotidiennement, après le 14ème jour d'incubation. Il est réalisé par un appareil de comptage des colonies.

### III.6. Purification des isolats d'actinobactéries

Afin d'obtenir des souches pures, les différentes colonies obtenues sont repiquées et ensemencées par la méthode de stries sur des boîtes de pétri contenant le même milieu d'isolement, puis incubées pendant 7 jours à 30°C. Cette dernière opération est répétée jusqu'à

l'obtention de souches pures. Il est recommandé de réaliser le moins de repiquages possibles pour conserver la stabilité génétique des souches. (**Kitouni, 2007 ; Boussaber et al., 2012**)

### **III.7. Conservations des souches**

Seules les colonies à coloration de Gram positive présentant l'aspect filamenteux caractéristique des actinomycètes, sont conservées sur géloses inclinées du milieu ISP5. Les tubes sont incubés à 28° C jusqu'à croissance des souches. Ils sont placés, par la suite dans un réfrigérateur à 4° C (**Suzuki, 2001**).

### **III.8. Identification des souches purifiées**

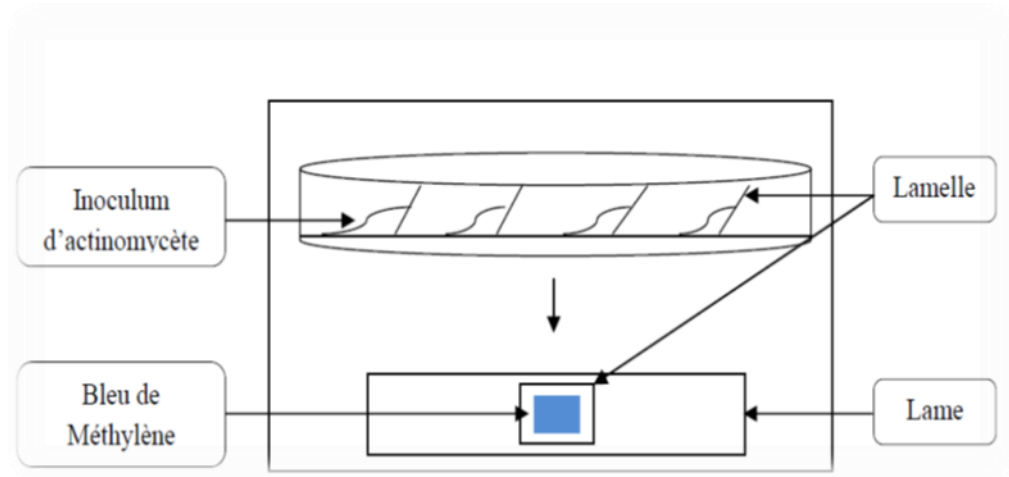
#### **III.8.1. Etude morphologique**

##### **III.8.1.1. Caractères microscopiques**

###### **III.8.1.1.1. Technique culture sur lamelle**

Les caractéristiques macroscopiques sont basées sur l'aspect des colonies isolées : la taille, la forme, la texture, la couleur, la répartition des spores, l'observation du mycélium aérien et les pigmentations diffusibles sur les milieux de culture

Ces caractères sont observés par la technique de la culture sur lamelle (**Williams & Cross, 1971 ; Holt et al., 1994**), qui consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans un milieu gélosé Bennett de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec celui-ci (**figure 10**). Une goutte de chaque inoculum est déposée contre la lamelle en contact avec le milieu nutritif. Après 14 jours d'incubation à 28°C. la lamelle est retirée soigneusement de la gélose entraînant quelques fragments du mycélium de substrat et aérien non dénaturés, elle est ensuite déposée sur la lame contenant une goutte de bleu de méthyle ou lactophénol examinée au microscope optique à différents grossissement



**Figure 10** : Présentation schématique de la technique de culture sur lamelle (Djemai & Djemai, 2019)

### III.8.1.1.2. Coloration de Gram

#### a. Préparation des frottis

Sur des lames en verre propre, les frottis des souches isolées ont été réalisés. Une colonie est bien étalée avec une goutte d'eau physiologique stérile puis fixés en les passant par des mouvements rapides dans la chaleur du bec Bunsen.

#### b. Coloration

Après fixation des bactéries, le frottis est recouvert d'un premier colorant, le violet de Gentiane, pendant 1 min. Après lavage, la lame est traitée au Lugol pendant 1 min puis décolorée par l'alcool pendant 15 secondes. Elle est colorée une deuxième fois par la fuchsine pendant 30 secondes. Une fois lavée et séchée, le frottis est observé au microscope à l'immersion (huile de paraffine + objectif x100)

## III.8.2. Etude biochimique

### III.8.2.1. Hydrolyse d'amidon

Ce test est réalisé sur le milieu nutritif gélosé contenant 1% de l'amidon soluble selon la méthode de (Gordon & Smith, 1953). Après 14 jours d'incubation à 28°C, la gélose est

recouverte d'une solution de Lugol. L'hydrolyse est mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies à l'inverse les zones contenant de l'amidon qui se colorent en brun (Djaballah, 2010)

### **III.8.2.2. Hydrolyse de la caséine**

L'hydrolyse de la caséine a été étudiée sur un milieu gélosé contenant 05 % de lait écrémé. L'ensemencement de la souche à tester est réalisé par des stries et l'incubation a été effectuée à 30°C. Après 7 jours, l'apparition d'une auréole claire autour des colonies indique la dégradation de la caséine (Raval *et al.*, 2012 ; Roy *et al.*, 2014)

### **III.8.2.3. Hydrolyse de la gélatine**

Les souches sont ensemencées dans des tubes contenant la gélatine nutritive. Les tubes sont placés une heure au réfrigérateur, après une incubation à 28°C pendant 21 jours. Si la gélatine devient solide cela implique qu'elle n'a pas été attaquée par les actinobactéries, si elle reste liquide, cela implique qu'une enzyme extracellulaire, la gélatinase, l'a hydrolysée (Larpent & Larpent-Ghourgoud, 1985)

### **III.8.2.4. Action sur le lait écrémé**

Des tubes contenant 10 ml d'une solution de 10 % du lait écrémé ont été ensemencés avec nos isolats puis incubés à 30°C. Les observations sont effectuées après 14 jours, elles permettent de noter une coagulation du lait provoqué par les souches (Djaballah, 2010).

### **III.8.2.5. Utilisation de citrate comme seule source de carbone**

Ce test détermine la capacité d'un organisme d'utiliser le citrate comme seule source de carbone. Des cultures de souches *Streptomyces* sur milieu citrate de Simmons incubées à 30°C sont observées quotidiennement jusqu'au 14 jours. La coloration du milieu en bleu traduit l'utilisation du citrate par les souches. (Guiraud, 1998)

### **III.8.2.6. Réduction des nitrates**

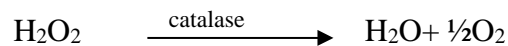
Ce test est réalisée sur milieu mannitol-mobilité, après ensemencement et incubation des tubes pendant 1 à 5 jours à 45° C, l'observation s'effectue après l'introduction dans les tubes

de quelques gouttes de deux réactifs Nitrate réductase 1 et Nitrate réductase 2. Si la surface du milieu se colore en rouge cela indique la réduction du nitrate par l'enzyme nitrate réductase.

En cas d'absence de coloration, l'ajout de poudre de zinc dans le tube et l'apparition d'une coloration rouge indique la présence de nitrite (NO<sub>2</sub>), par réduction des nitrates en nitrites par le zinc. Si la pente reste incolore, cela indique que le nitrate est réduit complètement au-delà du stade des nitrites en azote gazeux (Camille, 2007)

### III.8.2.7. Recherche de catalase

Cette enzyme permet la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui résulte de l'oxydation par l'oxygène :



Cette réaction est mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraîche de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10 volumes : une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame en présence d'un échantillon de culture. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulle traduit la décomposition de dioxygène : le test catalase est positif et s'il n'y a pas de bulles : le test catalase est négatif. (Delarras, 2007)

### III.8.2.8. Recherche de l'uréase

Ce test est préconisé pour la recherche des souches de *Streptomyces* possédant des uréases en utilisant le milieu urée-indole, après culture, ces milieux prennent une teinte rouge si l'urée est dégradée. (Guiraud, 1998)

### III.8.2.9. Recherche de la production d'indole

Le test a été réalisé en introduisant dans de l'eau peptonée, exempte d'indole, quelque goutte de la suspension bactérienne. Les tubes sont ensuite incubés à 30°C pendant 7 jours. Après incubation, quelque goutte de réactif de Kovacs ont été ajoutées. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'un anneau rouge vermillon à la surface (Kitouni, 2007)

### III.8.2.10. Production d'H<sub>2</sub>S

Ce test est réalisé en utilisant le milieu TSI. Des tubes contenant le milieu TSI sont ensemencés puis incubés pendant 7 à 14 jours à 30°C (Marchal et al. 1991).

## Lecture

- ✓ Lactose-saccharose positif : la pente du milieu de culture virant au jaune.
- ✓ Glucose positif : culot jaune, la pente du milieu de culture rouge.
- ✓ H<sub>2</sub>S positif : noircissement du milieu dans la zone joignant la pente.

### III.8.2.11. Production de pigments mélanoïdes

La mise en évidence de la production de mélanine est réalisée sur le milieu gélosé ISP7, les isolats d'actinomycètes sont ensemencés en stries serrées sur ce milieu puis incubés à 30°C. La production de mélanoïdes est appréciée après 5 à 9 jours d'incubation (**Djemai & Djemai, 2019**).

### III.8.2.12. Recherche de la cellulase

On utilise dans ce test, des tubes contenant 5 ml de milieu ISP9 liquide, on trompe dans chaque tube des bandelettes de papier Wattman N°1 stériles, comme seule source de carbone. Les tubes sont ainsi ensemencés avec des souches d'actinomycètes et incubés à 30°C pendant 14 jours ou plus, un tube non ensemencé sert de témoin négatif. Le développement de croissance sur le papier est considéré comme résultat positif. (**Yugal, 2014**).

### III.8.2.13. Dégradation de tween 80

Ce test permet de mettre en évidence la dégradation de tween 80 qui se manifeste par une auréole opaque autour des colonies (**Sierra, 1957**).

# *Partie III*

## *Résultats et discussion*

*(Review)*

Les actinomycètes sont des bactéries qui se trouvent dans le sol, l'eau et l'air, pour sa recherche doit passer par plusieurs étapes qui sont décrites par les chercheurs. Les premières étapes c'est l'isolement et la purification des souches bactériennes à partir du sol, l'isolement est une technique classique de placage des suspensions sur divers milieux de cultures qui favorisent sa croissance.

Différents milieux de cultures utilisés pour isoler et purifier les souches d'actinomycètes, (**Harir et al., 2017**) ont été sélectionnés et purifiés les isolats prélevés à partir des régions du Sahara dans le sud de l'Algérie sur les milieux ISP2 et gélose à l'extrait de malt (GLM), ces derniers sont additionnés par l'actidione (5 µg/ml) et rifampicine (5 µg/ml) ont été utilisés pour promouvoir les conditions de croissance des actinomycètes et de prévenir la contamination fongique. Alors que (**Ouchari et al., 2019**) dans leur recherche sur le potentiel antimicrobien des actinomycètes isolés de la désert chaud inexploré de Merzouga, Maroc, ils ont été choisis TSA milieu Bennett, YMA et SEA comme milieux d'isolement

Ces travaux sont réalisés pour but d'identifier et étudier l'activité antimicrobienne des souches des actinomycètes, (**Harir et al., 2017**) ont été déterminés l'activité antimicrobienne par la technique des cylindres d'Agar, c'est une technique consiste à ensemercer un tapis bactérien de la souche d'actinomycètes sur milieu de culture favorable après incubation à 20°C pendant 5 à 6 jours, des disques de géloses de 10mm de diamètre sont prélevés et sont ensuite déposés sur le milieu Mueller-Hinton préalablement ensemercé avec les bactéries tests à la manière d'un antibiogramme. Pour permettre une meilleure diffusion d'antibiotique, les boîtes ont été gardées quelques minutes à 4°C, puis elles ont été incubées 37 ° C pendant 18 à 24 h. tandis que (**Ouchari et al., 2019**) ont été testé l'activité antimicrobien par la méthode de la gélose à points, en utilisant 2 milieux différentes « TSA, Bennett » pour l'activité antibactérienne (deux bactéries à Gram positif, *Staphylococcus aureus*, et *Listeria monocytogenes* et une bactérie Gram-négative *Salmonella enterica*), les souches des actinobactéries ont été incubées à 30°C pendant 7 à 10 jours dans d'autres cote les souches de test ont été cultivées pendant la nuit dans un bouillon nutritif à 37°C. Une suspension de 0,5 McFarland d'une culture de bactéries de test incubées ont été ensemercées sur les boîtes, à proximité de la tâche d'actinobactérie en suite les boîtes ont été incubées à 37°C et après 24h les zones d'inhibition ont été mesurées

Pour l'activité antifongique, Les isolats d'actinobactéries ont été inoculés ponctuellement sur le milieu TSA et incubés pendant 7 jours à 30° ensuite ont été recouverte par une couche de milieu Sabouraud préalablement ensemercé avec une suspension standardisée de la levure de

test (*Candida albicans* CCMM/L60) (C.a.) puis incubé à 37°C pendant 24 à 48 h. les zones d'inhibition autour des colonies a été mesurée et enregistré.

Les caractéristiques morphologiques, biochimiques et culturelles des souches isolées sont déterminées comme ceux-ci : selon (**Harir et al., 2017**). La détermination de la couleur a été effectuée à l'aide de Cartes de couleurs ISCC-NBS (16).

La micromorphologie des souches a été observée par microscopie optique après incubation à 30 C pour 2 semaines sur des plaques de pétri contenant le milieu ISP2. Le site de pigmentation du mycélium aérien et des sporophores, qui sont très caractéristiques et utiles dans la classification des actinomycètes, ont été observées en cultivant les souches sur différents supports ISP (c'est-à-dire extrait de levure - extrait de malt (ISP2), gélose à l'avoine (ISP3), gélose aux sels inorganiques et à l'amidon (ISP4), gélose au glycérol et à l'asparagine (ISP5), agar nutritif et milieu Bennett). La disposition des spores et des structures sporulantes était examen microscopique

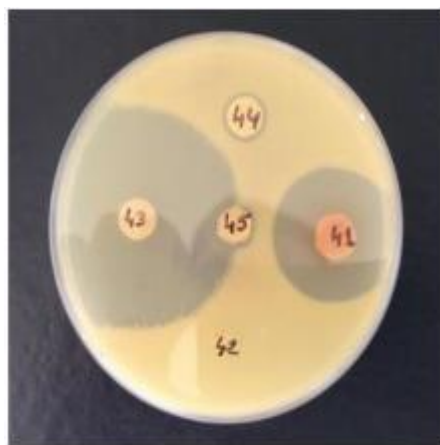
Ensuite, l'identification des souches (**Harir et al., 2017**) bases sur la méthode de MALDI-TOF par contre (**Ouchari et al., 2019**) ont été réalisés l'identification par l'extraction de l'ADN par la méthode de lyse alcaline. Les isolats d'Actinobactéries purifiés ont été cultivés pour environ 5 jours sur la plaque TSA. La culture fraîche a été suspendue dans 100 µl de solution de lyse alcaline suivie d'une étape de lyse à chaud pendant 10 min à 95°C conduisant à la destruction des parois cellulaires, après centrifugation, l'ADN dans le surnageant a été quantifiée à l'aide de NanoDrop 8000 (Thermo Fisher scientifique)

Les échantillons d'ADN ont été amplifier en utilisant l'amorce PCR dérivée de la séquence répétitive BOXA1R (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3'). Les produits PCR ont été séparés par électrophorèse sur des gels d'agarose à 1,5% sous 47 V pendant 18 h à 4°C.

Ils ont été utilisés le système de documentation des gels Gel Doc XR+ (Bio-Rad), Les gels BOXA1R-PCR colorés ont été visualisés sous lumière ultraviolet et les photographies des gels ont été stockées sous forme de fichiers TIFF. Les empreintes digitales ont été analysées à l'aide du logiciel BioNumerics v7.1 (Applied Maths, Sint Martens Latem, Belgique). Les matrices de similitude des courbes densitométriques des traces de gel ont été calculées à l'aide du Moment du produit de Pearson Coefficient de corrélation (Pearson, 1926) suivi d'un dendrogramme construction à l'aide d'une méthode de groupe de paires non pondérées avec arithmétique l'algorithme de la moyenne (UPGMA).

Les résultats obtenus sont comme suite : 32 souches ont été isolées de Sahara du sud Algérie par (Harir et al., 2017) 13 isolats ont montré un effet antimicrobien contre les agents pathogènes une large spectre de 3 isolats nomme ( C, MS1 et 10) contre les bactéries pathogènes (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*) avec une activité anti levure (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*) alors que l'activité antifongique était modérée alors que (Ouchari et al., 2019) ont été sélectionnés 163 isolats à partir de sol de Merzouga avec une activité antibactérien de 96 isolats sur le milieu TSA contre au moins un des agents pathogènes et un effet de 92 isolats sur le milieu Bennett. Ont été observées que 34 isolats actifs sur la TSA sont devenus inactif sur la gélose de Bennett ; d'autre part, 30 isolats inactifs sur le même milieu de culture, la TSA, est devenu actif sur l'agar de Bennett

Parmi les 96 isolats actifs, 53 sont actifs contre l'un ou les deux agents pathogènes à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*) et un isolat n'était actif que contre l'agent pathogène à Gram négatif (*Salmonella enterica*). Cependant 30% des isolats ont montré une activité antifongique contre *condida albicans*



**Figure 10** : l'activité antimicrobienne montre par la zone d'inhibition sur milieu Bennett (Ouchari et al., 2019)

Pour les résultats des caractères culturelle sont montre que les colonies des souches C, MS1 et 10 obtenue par (Harir et al., 2017) ont bien poussé sur la plupart des supports organiques utilisés et étaient convexes et lisse. Le mycélium aérien était gris pour les souches C et MS1 et gris jaunâtre pour la souche 10. Le mycélium du substrat était jaune pâle pour la souche MS1, bleu violet pour la souche C et orange brillant jaune pour la souche 10 Les caractères culturelle des isolats sont décrites en détail dans le (tableau 4).

En ce qui concerne les caractères morphologique et biochimique, les isolats ont été capables d'hydrolyser un grand nombre de composés tels que la caséine, l'arabinose, le fructose, le galactose, le glucose, le mannitol et la xylose. Ils étaient résistants à l'azide de sodium (0,05 g/L), le cristal violet (0,05 mg/ml) et plusieurs antibiotiques comme l'ampicilline (20 mg/L), la kanamycine (25 mg/L) et la tétracycline (30 mg/l). La croissance optimale La température de la plupart des isolats était comprise entre 25 et 30C, la croissance étant inhibée à des températures supérieures à 40C (**Tableau 5**)

**Tableau 4 : Caractéristiques de culture des souches C, MS1 et 10 sur différents milieux (Harir et al., 2017)**

	Moyenne de Croissance			Couleur des spores			Mycélium végétatif			Pigment soluble		
	C	MS1	10	C	MS1	10	C	MS1	10	C	MS1	10
ISP2	+++	+++	+++	Gris	Gris	Jaunâtre gris	Pâle Jaune	Bleu violet	Brillant Orange Jaune	-	-	+ Sombre vert
ISP3	+	+	+	Gris blanc	Gris blanc	Jaunâtre gris	Pâle Jaune	Bleu violet	Brillant Orange Jaune	-	-	-
ISP4	++	++	++	Blanc	Blanc	Jaunâtre gris	Pâle Jaune	Bleu violet	Brillant Orange Jaune	-	-	-
ISP5	+	+	+	Gris	Gris	Jaunâtre gris	Pâle Jaune	Bleu violet	Brillant Orange Jaune	-	-	-
Nutritif gélose	+	+	+	Gris blanc	Gris blanc	Jaunâtre gris	Pâle Jaune	Bleu violet	Brillant Orange Jaune	-	-	-
Nutritif gélose	+++	+++	+++	Gris blanc	Gris blanc	Jaunâtre gris	Pâle Jaune	Bleu violet	Brillant Orange Jaune	-	-	+ Sombre vert

**Tableau 5 : Propriétés physiologiques et biochimiques des souches C, MS1 et 10 (Harir et al., 2017)**

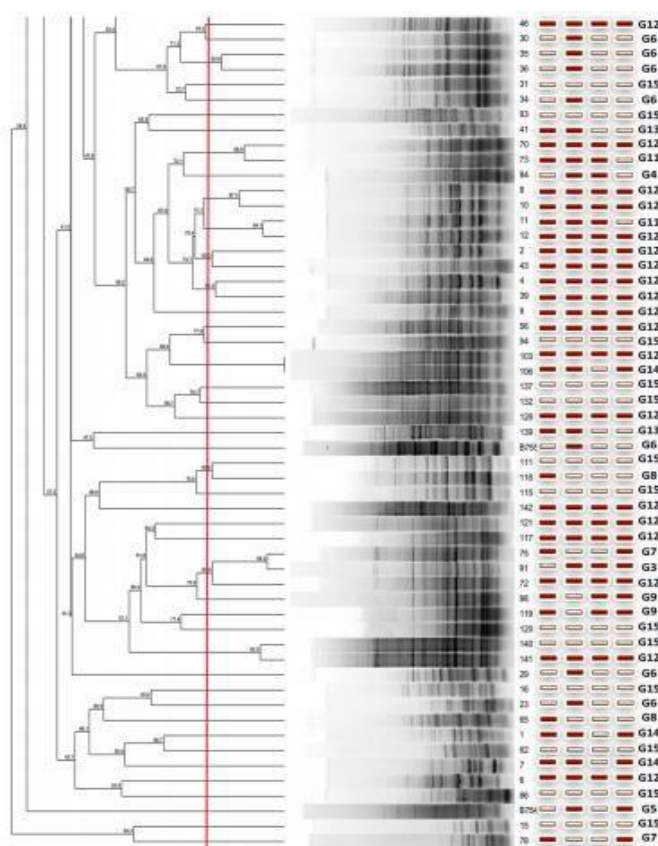
Propriété	C	MS1	10
Formation de mélanine (ISP6 et ISP7)	-	++	++
Hydrolyse de l'amidon (milieu gélose tryptone soja)	++	++	++
Hydrolyse de la caséine (milieu gélose caséine)	++	++	++
Production d'uréase (milieu de bouillon de nitrate peptone)	++	+	++
Hydrolyse de la gélatine (milieu nutritif de gélatine)	-	-	-
Production de pigments solubles (médiats ISP)	-	-	++ Gris
Production de H <sub>2</sub> S (milieu gélose triple sucre fer)	+	+	+
Gamme de pH de croissance (ISP4) 6 - 9	+	+	++
Plage de température de croissance (ISP4) 25-45 C	+	+	+
Résistance aux antibiotiques			
Ampicilline (20 mg / L)	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
Kanamycine (25 mg / L)	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
Tétracycline (30 mg / L)	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
Chloramphénicol (25 mg / L)	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
Hydroxychlorure de chlortétracycline (30 mg / L)	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
Tolérance au NaCl			
NaCl 5% (ISP4)	++	++	++
NaCl 7% (ISP4)	+	+	+
NaCl 10% (ISP4)	-	-	-
Morphologie des sporophores			
Tout droit	-	-	-
Spirale	++	++	++
Flexous	-	-	-
Retinaculum apertum	+	-	-
Croissance sur composés inhibiteurs			
Phénol 0,1% (ISP4)	-	-	-
Lysozyme 0,005% (ISP4)	-	-	-
Azide de sodium 0,01% (ISP4)	-	-	<b>ND</b>
Cristal violet 0,05% (ISP4)	-	-	-

ISP: Projet international Streptomyces; ISP4: milieu gélose sels minéraux-amidon; ISP6: milieu gélose peptone-extrait de levure-fer; ISP7: milieu gélose tyrosine. +: Croissance; -: pas de croissance; ND: non déterminé. R: Résistant, S: Sensible.

Concernant les résultats d'identification, MALDI-TOF MS montre que les isolats C, MS1 et 10 sont : *Streptomyces violaceoruber* (code NCBI 1935, score 1.912), *Streptomyces albus* (code NCBI 1888 ; score 1,261) et *Streptomyces badius* (code NCBI 1941 ; score 1.514), respectivement. Cependant que les résultats obtenus à partir des empreintes digitales BOXA1R-PCR sont représentés sous forme un dendrogramme. Les 163 isolats ont été comparé avec des trois souches de type standard avec une similarité de 80% ce dernier montré 16 grappes regroupées de deux à quatre isolats. Seuls 35 isolats ont été regroupés et 128 isolats n'ont pas été groupés.

Les profils ont été comparés à ceux de trois souches de type standard du genre *Streptomyces* : (B754) *Streptomyces griseus subsp. griseus*, B35 *Streptomyces tinghiriensis* et B755 *Streptomyces rimosus subsp. rimosus*).





**Figure 11(b):** Dendrogramme dérivé des empreintes digitales BOXAIR-PCR des 163 isolats et de leurs activités antimicrobiennes (boîte rouge, active ; boîte blanche, inactive) (Ouchari et al., 2019)(la suite)

D'après les résultats de (Harir et al., 2017 et Ouchari et al., 2019) les souches isolées sont des producteurs potentiels de composés bioactifs comme le montrent les activités antimicrobiennes de leurs extraits bruts contre différents agents pathogènes. Généralement la classe des actinobactéries est un groupe très important de bactéries ayant une valeur considérable car les producteurs prolifères d'antibiotiques et d'autres produits découverts pourraient représenter une ressource précieuse pour la découverte de composés biologiquement actifs. Selon les résultats de nouveau travail de (Benhaj et al., 2018) sur le Dépistage d'actinomycètes rares isolés dans les zones humides pour la production des enzymes hydrolytiques et leur activité antimicrobienne ont montré que les actinomycètes sont l'un des sources les plus attractifs de nouvelles enzymes et de métabolites bioactifs et les rares actinomycètes sont une source très importante de nouvelles métabolites secondaires et des antibiotiques utiles malgré leur nombre limité. Alors que (Kitouni et al., 2020) conclure d'après ses résultats que les actinobactéries sont des agents de lutte biologique et ils sont utilisés comme biostimulants parce qu'ils possèdent des caractères favorisant la croissance des plantes (PGP) et qui sont : La solubilisation du phosphate dont la capacité à utiliser  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)$

2 est importante pour la production de phytohormones et par conséquent pour améliorer indirectement la croissance des plantes. Production d'acide indole-3- acétique qui est une substance stimulant la croissance des plantes qui agit par différentes voies métaboliques. Il est impliqué dans l'élongation des racines, la division cellulaire et la prolifération des poils radiculaires, environ 80% des rhizobactéries sont capables de produire de l'indole-3-acétique acide comme métabolite secondaire.

*Conclusion*

Les actinobactéries jouent un rôle important comme des bio stimulants des plantes parce qu'ils, peuvent produire des métabolites favorisant la croissance des plantes tels que les phytohormones et les sidérophores. Les phytohormones telles que l'acide indole acétique, sont positivement corrélées avec un meilleur rendement des cultures, car ils améliorent indirectement l'absorption de l'eau et les nutriments du sol, en stimulant la croissance et la formation des racines, la division cellulaire et la prolifération des poils radiculaires, environ 80% des rhizobactéries sont capables de produire de l'indole-acétique acide comme métabolite secondaire. En outre, les sidérophores produits par les actinobactéries peuvent se lier au  $Fe^{3+}$  de l'environnement et le rendre disponible pour les plantes cibles. De plus les actinomycètes améliorent la biodisponibilité des nutriments du sol grâce à son rôle potentiel dans le recyclage, fixation de l'azote et solubilisation du phosphate. La production d'acides organiques, de phénols et d'ammoniac ont également été signalés pour plusieurs actinobactéries. L'ammoniac participe à la décomposition de la matière organique, entraînant une productivité végétale plus élevée et une plus grande tolérance aux phytoparasites.

Parmi les plantes stimulées par les actinobactéries ; le maïs ou toutes les graines inoculées ont montré une meilleure croissance que non inoculées. Cette amélioration du taux de germination observée peut être due à une augmentation de la synthèse des phytohormones comme la gibbérelline qui déclenche les activités enzymatiques spécifiques à la germination.

Plusieurs souches d'actinobactéries ont été signalées comme de puissants agents de lutte biologique contre les microorganismes pathogènes, on peut citer les *Streptomyces* qui ont la capacité de produire des antibiotiques à large spectre à partir de racines, de tiges et de feuilles qui les font agir comme un antagoniste contre les phytopathogènes. D'un autre point de vue, la productivité plus élevée des palmiers traités peut être attribuée à l'augmentation des ingrédients phénoliques du sol, ce qui pourrait réduire la sensibilité des plantes aux pathogènes du sol, et donc de maintenir le rendement.

*Références*  
*bibliographies*

**A**

- **Abdelaziz W.** Isolement des mycètes producteurs de substances antibactériennes à partir des sols sahariens. Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister En Microbiologie et Biochimie Appliquées. Université Mentouri, Constantine, (2006) : 100pp+ annexes
- **AFNOR (1994).** Recueil des normes français. NF ISO 11465.qualite du sol – détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau – méthode gravimétrique
- **Avril, J, L., & al.** Bactériologie clinique.2 éd, ellipses, Paris, (1992) : pp 511.
- **Ameur H.** Effet d'osmoprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de Streptomyces et de plantes d'intérêt agricole sur sol salé ou aride. Thèse de doctorat en sciences biologie. Université Ferhat Abbas, Sétif, (2014) : 145pp+annexes
- **Amor C., Touati R.** Isolement et Identification des Moisissures d'une Zone Aride. Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme de Master en écologie Microbienne. Université des Frères Mentouri, Constantine, (2016) : 53pp+ annexes
- **Anderson, T.H. , Martens, R .** Soil biology and biochemistry. (2013): P 487-495
- **Angehrn P.,Buchmann S.,Funk C.,Goetschi E.,Gmunder H.,Hebeisen P., Kostrewa D.,Link H.,Luebbers T., Masciadri R., Nielsen J., Reindl P.,Ricklin F.,Schmitt-Hoffmann A.,Theil F.P.** New antibacterial agenst dirived from dna gyrase inhibitor cyclothialidine.J.Med.Chem.47,(2004) :pp1487-1513.
- **Ara I., Bukhari N. A., Wijayanti D. R., Bakir M. A.** Proteolytic activity of alkaliphilic, salt-tolerant actinomycetes from various regions in Saudi Arabia. African Journal of Biotechnology. Vol. 11(16), (2012): pp3849-3857.
- **Aubert G.** Les sols de la zone aride, étude de leur formation, de leurs caractères, de leur conservation. In : Colloque général sur les problèmes de la zone aride, Unesco de Paris, (1960) :pp 127- 150.

**B**

- **Baize D.** Guide des analyses courantes en pédologie. Ed. INRA, Paris, (2000).
- **Baize D., Duval O., Richard G.** Les sols et leurs structures. Observation à differences Échelles, Editions Quæ, Versailles, (2013) : pp264

- **Belyagoubi L.** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat en biologie. Université Abou bakr Belkaïd, Tlemcen, (2014) : 170pp+ annexes
- **Benhadj M, Gacemi-Kirane D, Menasria T, Guebla k, Ahmane Z.** Screening of rare actinomycetes isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities. Journal of King Saud University, (2019) : pp706\_712
- **Benhamida F, Elkhalili F.** Variabilité spatiale de l'activité microbienne du sol sous culture de palmier dattier(phoenix dactyliferal) à ouargla. Mémoire pour l'obtention de diplôme de master, universite KASDI MERBAH, ouargla, (2016) : 53pp+ annexes.
- **Benimeli C.S., Amoroso M.J., Chaile A.P., Castro G.R.** Isolation of four aquatic streptomycetes strains capable of growth on organochlorine pesticides. Bioresource technology, 89, (2003) : pp133-138.
- **Bentaleb B., Ghamez S.** Etude et sélection des actinomycètes filamenteux promoteurs de croissance de plantes, in vitro. Mémoire de Master en Biologie moléculaire et cellulaire. UNIVERSITE 8 MAI 1945, GUELMA, (2015) : 45pp+annexes
- **Blackwell M.** The Fungi: 1, 2, 3 ....5.1 million species? American Journal of botany 98, (2011): pp 426-438.
- **Boiron P.** Organization des champignons. Nathan, Paris, (1996).
- **Botton B., Beton A., Fever M., Gaithier S., Guy p.h., Larpent J.P., Raymond P. Sanglier J.J., Vayssie Y., Veau P.** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2eme édition, Masson, Collection Biotechnologies, (1990) : pp 34-428.
- **Boucheffa K.** Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polygéniques : Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits. Mémoire de Magister. En microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes, Université Abderrahmane Mira Bejaia, (2011) :90pp+annexes.
- **Bouchet Ph., Guignard J-L, Villard J** Les champignons. Mycologie fondamentales et appliquée, Edition Masson, Paris, (1999).
- **Boudiar R.** Etude comparative des effets de travail du sol conventionnel et le semis direct sur l'évolution du sol en région semi-aride. Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme de Magister, Université Ferhat Abbas Sétif 1, (2013) :91pp+annexes.

- **Boudemagh A.** Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse doctorat en microbiologie appliqué, Université Mentouri, Constantine, (2007) : 144pp+ annexes
- **Boussaber E, Kadmiri I. M , Hilal L.** 2012. Isolement des souches d'actinomycètes Productrices de substances antifongiques, Science Lib Editions Mersenne, Vol. 4, (2012) :pp 211
- **Breton A, Theilleux J, Sanglier J.J, Viobis G.** Organismes producteurs :biologie,Ctaxonomie et écologie. In "Biotechnologie des Antibiotiques". Larpent J.P. et Sanglier J.J., Masson, Paris, (1989) : pp33-70.1-4706.

*e*

- **Calvet R.** Le sol, propriete et function, phenomenes physique et chimique, Tome 2, Paris, (2003)
- **Chabasse D, Bouchara, J.P, de Gentile L, Brus S , Cimon B , Penn P.** Les moisissures d'interet medical. Cahier de formation biologie medicale, N°25, Bioforma, France, (2002) : pp 159.
- **Chabasse D.** Classification des champignons d'intérêt médical. Encyl Méd Chir Editions scientifiques et Médicales Elsevier SAS, PARIS, (2008).
- **Camille D.** Microbiologie pratiques pour le laboratoire d'analyse et de contrôle sanitaire, Lavoisier, (2007) : pp126-173.
- **Chenu C.** Clay or sand polysaccharide associations as models for the interface between micro-organisms and soil: water related properties and microstructure. Geoderma (1993) :pp 56.

*D*

- **Dari R.** Dénombrement de la biomasse microbienne des sols arides exemple d'un sol salé sous deux types de cultures. Mémoire pour L'obtention Du Diplôme d'ingénieur d'état en sciences Agronomiques. universite KASDI MERBAH, (2013) : 53pp+annexes
- **Degoutte G, Royet P.** Aide mémoires des mécaniques des sols. Les Publications 11 de L'ENGREF, (1999) : pp 95.

- **Djebbah F.** Isolement des microorganismes (actinomycètes et moisissures) producteurs de substances antimicrobiennes à partir du sol d'une grotte dans la région de Tlemcen (Tagma). UNIVERSITE de TLEMEN, (2016) : 100pp+annexes
- **Djaballah C.** Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha d'Ain M'lila. Thèse pour obtenir du Diplôme de Magister En Ecologie Microbienne. Université Mentouri, Constantine, (2010) : pp 73+annexes
- **Delarras C.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire:Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier, (2007) : pp 476
- **Delville P.H., Boucher, L. et Vidal, L.** Les bas-fonds en Afrique tropical humide : stratégie paysannes, contraintes agronomiques et aménagements. CIRAD, (1996) :19pp.
- **Dommergues Y, Mangenot F.** Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie, Paris, (1970).
- **Djemai S., Djemai M.** Caractérisations de quelques isolats d'actinomycètes et mise en évidence de production de molécules bioactifs. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie Appliquée. Université Djilali Bounaama, Khemis Miliana, (2019) :65pp+annexes.
- **Duchaufour P., Faivre P., Poulenard J., Gury M.** Introduction à la science du sol : Sol, végétation, environnement. 7 e édition, © Dunod, Paris, (2018) : 442pp.

## ε

- **El-Nakeeb, M., Lechevalier, H.** Selective Isolation of Aerobic Actinomycetes. Appl Microbiol. Vol : 11. N°: 2, (1963) : pp 75-77.
- **Emberger L.** Une classification biogéographique des climats. Trav. Ins. Bot, Montpellier 7, (1955) : pp3- 43.

## ζ

- **Faugier A.** Diversité bactérienne des sols : accès aux populations à effectifs moniritaires « the rare biosphere ». Thèse pour obtenir le grade de docteur, école centrale de Lyon, (2010) : pp 173.

9

- **Garrity G.M, Bell J.A, Lilburn T.G.** Taxonomic Outline of the prokaryotes. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition. Springer-Verlag. New York. (2004).
- **Gobat J.M., Aragnon M., Matthey W.** Le Sol vivant. Bases de Pédologie biologie des sols. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, (1998) : pp 817.
- **Gobat J., Arango M., Mathey W.** Le sol vivant, base de pédologie, Biologie des sols, (2003).
- **Goodfellow M, Williams S.T.** Ecology of Actinomycètes. Annual Review of Microbiology.37, (1983): pp189-216.
- **Gordon R. E., Smith M. M.** Rapidly growing, acid fast bacteria Species descriptions of Mycobacteriimu J. Bacteriol. 66, (1953): pp 41-48.
- **Guiraud J.P.** Techniques d'analyse microbiologique. In Microbiologie alimentaire, Dunod, Paris, (1998) : pp 171-334

7

- **Harir M, Bellahcene M, Fortas Z, José M, García-A, Antonio V, Susana R.** Isolation and Characterization of Actinobacteria from Algerian Sahara Soils with Antimicrobial Activities. Spring 2017, Vol 6, No 2, (2019) : 109-120.
- **Holt J.G., Krieg N.R, Sneath P.H.A, Staley J.T., Williams S.T.** Bergey's manual of determinative bacteriology .Williams and Wikins, (1994).
- **Harouna Maidoukia A., Alkama M.** Etude de quelques activités enzymatiques des actinomycètes isolé de deux écosystèmes extrêmes dans le sud Algérien. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master. Université Constantine I, Constantine, (2014) : 48pp+ annexes

7

- **Imada C.** Enzyme Inhibitors and other bioactive compounds from marine actinomycetes.Antonie van Leeuwenhoek.87, (2005) :pp59-63.

9

- **Jeffrey L.** “Isolation, characterization and identification of actinomycetes from agriculture soils at Semongok, Sarawak,” *African Journal of Biotechnology*, vol. 7, no. 20, (2008) : pp. 3700–3705
- **Jeffery S, Gardi C, Jones A.** Atlas Européen de la biodiversité des sols. Publications Office, (2013) : pp 90-95.
- **Jerome P., Lory S., Staley J S.** Microbiologie, Ed Paris, (2004): pp 891.

κ

- **Kebabi R, Merouane F.** Identification d'isolats cliniques d'actinomycètes et mise en Évidence de leur activité antimicrobienne. Mémoire de Master en Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Micro-organismes. Constantine : Université Mentouri, Constantine, (2010) : 56pp+ annexes
- **Kachour L.** Identification des moisissures isolées à partir des eaux du lac Oubeira (PNEK) et impact des eaux usées sur leur diversité. Mémoire de magister en microbiologie, Université Badji Mokhtar, Annaba, (2005) :250pp+ annexes.
- **Kerbab S.** Les actinomycètes d'un sol salé : rôle des osmoprotecteurs naturels. Mémoire de magister en biologiques. Université Ferhat Abbas. Sétif, (2012) : 133pp+ annexes
- **Kitouni M., Boudemagh A., Oulmi L., Reghioua S., Boughachiche F., Zerizer H., Hamdiken H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A., Boiron P.** Isolation of actinomycetes to Develop at an Extremely Low Humidity. Vol : 405. (2005) : pp 461-463.
- **Kitouni M.** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées, Thèse présenté pour l'obtention du diplôme de doctorat d'état en Microbiologie appliquée. Université Mentouri, Constantine, (2007) :170pp+annexes.
- **Kitouni M, Djebaili R, Pellegrini M, Smati M, Del Gallo M.** Actinomycete Strains Isolated from Saline Soils: Plant-Growth-Promoting Traits and Inoculation Effects on *Solanum lycopersicum*. *Sustainability*. 12, 4617, (2020): pp1-19.

λ

- **Larpent J. P., Larpent-Gonrgaud M.** Manuel pratique de microbiologie. Hermann, Paris, (1985) : pp 157-162.

- **Lecellier A.** Caractérisation et identification des champignons filamenteux par Spectroscopie vibrationnelle. Reims : Université de Reims Champagne-Ardenne, 195, (2013) : pp 9-27.
- **Lechevalier M.P., Lechevalier H.** "Biology of actinomycetes not belonging to genus Streptomyces in: Biology of industrial microorganisms. The Benjamin Cummings Publishing Company, INC, (1985): pp315-360.
- **Lee J. Y, Hwang B. K.** Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. Can. J. Microbiol. Vol : 48, (2002): pp 407–417.
- **Lee E. J., Hwang K. Y., Lee H. S., Chung N.** Characterization of a New Streptomyces sp. A1022 as a Potential Biocontrol Agent. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem, Vol: 54(N°:3), (2011): pp488-493.
- **Le Houerou H.N.** Deterioration of the ecologia equilibrium in the aride zone o North Africa. In : FAO, Rome, (1975): pp 45- 57.
- **Le Houerou H.N.** Bioclimatologie et Biogéographie des steppes arides du Nord de L'Afrique. Diversité biologique, développement durable et désertification. Option Méditerranéenne. Série B : études et recherches n 10, Cheam., Montpellier, (1995) : pp397.
- **Leveau S. B. & Bouix M.** Les microorganismes d'intérêt industriel. Lavoisier microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier, Paris, (1993).
- **Loqman S.** 2009. La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. Thèse doctorat, Université De Reims Champagne-Ardenne Ecole Doctorale Sciences Exactes et Biologie, (2009) : 253pp+ annexes

### *M*

- **Madani D.** Relation entre le couvert végétal et les conditions édaphiques en zones à déficit hydriques. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Magister En Sciences Agronomiques, Université de El Hadj Lakhdar Batna, (2008) :119pp+annexes.
- **Marchal N., Bourdon J. L.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin éditeurs, Paris, (1991) : pp509.
- **Marouf A. et Reynaud J.** La botanique de A à Z. Edition, Paris, (2007) : P342
- **Maier R. M., Pepper I. L, Gerba C. P.** Environmental microbiology. Academic Press, London, (2009) : pp 598.

- **Mathieu C., Pielain F.** Analyse chimique des sols, Méthodes choisies. Editions TEC & DOC, 11 rue Lavoisier 75008, Paris, (2003)
- **Mathieu C.** Les principaux sols du monde. Voyage à travers l'épiderme vivant de la planète terre. Lavoisier, Paris, (2009) : pp220.
- **Messaoudi O.** contribution à la caractérisation des souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha de kenadsa ( Bechar). Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magistère en Microbiologie appliquée. Université Abou bakr belkaid, Tlemcen, (2013) : 85pp+annexes.
- **Muller G.M., Schimit J.P. (2007).** Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict ? Biodiversity and conservation. Vol.16. P.1-5.

## *n*

- **Ndoum Ng'owona M.F.** Etude des facteurs du sol favorables à la croissance de *Pericopsis elata* (Harms) Var. Meeuwen (Assamela) dans trois unités forestières d'aménagement à l'est Cameroun. Mémoire pour l'obtention du Diplôme D'Ingénieur des Eaux, Forêts et Chasses, Université de Dschang, (2010) :67pp+annexes.
- **Nedjraoui, D.** Country pasture, forage ressource profils. In: FAO. Grassland and pasture crops Algérie, (2003) : pp 1-29.
- **Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R.** L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. Paris, (2000).
- **Nicklin J., Greame-Cook K., Paget T ., Killington R.** Essentiel en Microbiologie. Edition Berti, Paris, (1999).

## *o*

- **O'Gara F., Dowling D. N., Boesten B.** Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs. John Wiley & Sons, Weinheim, (2008): pp 192.
- **Okami Y., Hotta K.** Search and discovery of new antibiotics, In: Goodfellow M, Williams ST, Mordarski M (Ed). Actinomycetes in Biotechnology, 67. Academic Press, San Diego, (1988) : pp 33.
- **Omura S.** The research for bioactive compounds from microorganisms. Springer, verlag, New York, (1992).

- **Oskay M.** Tamer A.U., Azeri C. Antibacteria activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. African Journal of Biotechnology. Vol.3 (9), (2004): pp 441- 446.
- **Ouchari L., Boukeskase A., Bouizgarne B., Ouhdouch Y.** Antimicrobial potential of actinomycetes isolated from the unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity. The Company of Biologists. 8, (2019) : pp1-7.

**P**

- **Pasquier L.** Guide du sol ‘L’argile et La motte’, Edition ENESAD, (2010) : pp 111.
- **Pedro G.** La science du sol à l’aube du XXI ème siècle. Rennes,17, (1996):pp136-143
- **Pierzinsky G.** Soils and Environmental Quality.CRC Press, Boca Raton (USA), (2005).
- **Pitt J.I., Hocking A.D.** Fungi and Food Spoilage. 3eme edition, Springer, New York, (2009): pp 524.
- **Pochon J, Tardieux P.** Technique d’analyse en microbiologie du sol. Ed tourelle, Paris, (1962)
- **Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A.** Microbiologie.2eme edition, De Boeck, Bruxelles, (2003) : pp1164
- **Prescott L. ML, Harley J., Klein D. A.** Microbiologie. Edition de Boeck et Lancier, (2007).
- **Prescott L. M, Harley J. P, Klein D. A.** Microbiologie. 2eme édition, De Boeck, Bruxelles, (2010) : pp1088.
- **Prescott Woolverton C.J, Sherwood L.M, Willey J.M.** Microbiologie. 4e Edition, (2013)

**R**

- **Ramade F.** Élément d’écologie. 3 -ème édition, Dunod, (2003) : pp690.
- **Raval.** Biotransformation of a single amino acid L-tyrosine to a bioactive molecule LDOPA, Int. J. Sci Res, 2, (2012): pp 2250–3153.
- **Raven P.H, Evert Ray F.** et Eichhorn Susan E. Biologie végétale, Edition : Paris, (2000): P 968.
- **Roy S., Das I., Munjal M., Karthik L., Kumar G., Kumar S., Rao K.V.B.** Isolation and characterization of tyrosinase produced by marine actinobacteria and it application in the removal of phenol from aqueous environment. Front, Biol, 9 (4), (2014) : 306-316

**S**

- **Saci A.** Production d'alpha-amylase par *Streptomyces* sp. Optimisation d'un milieu de production à base de déchets d'orange. Mémoire de magister en écologie de Gestion des déchets . Université Mentouri, Constantine , (2012) : 92 pp+ annexes
- **Saadi N., Sahnoun N.** Isolement et caractérisation de la flore actinomycétale du sol de la retenue collinaire d'Ourkiss. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Microbiologie Appliquée. UNIVERSITE LARBI BEN M'HIDI, OUM EL-BOUAGHI , (2018) : 29pp+ annexes.
- **Sahbi I., Maref R.** Contribution à l'isolement et l'identification des champignons filamenteux à partir de deux sols salin et agricole. Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie appliquée, Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, (2018) :41pp+annexes.
- **Siegenthaler G.** Domaine de Vens le Haut F-74910 Seyssel, France, (2011) : pp 61.
- **Sierra G.** A simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatt substrates. *Antonie van Leeuwenhoek*, 23(1), (1957) :pp15-22.
- **Silini S.** Contribution à l'étude de la biodégradation de la méthyléthylcétone en réacteur batch par les actinomycètes isolés à partir des boues activées de la station d'épuration d'El- Atmania. Thèse de Magister en écologie ,Gestion des déchets : évaluation et solution environnementales, Université des frères Mentouri, Constantine, (2012) :101pp.
- **Solanki P., Kothari V.** Halophilic Actinomycetes Salt-loving Filaments. *International Journal of Life Sciences and Technology* 4 Issue 2, (2011) : pp7-13
- **Solecka J., Zajko J., postek M., Rajnisz A.** Biologically active secondary metabolites From actinomycetes. *Central Eaurpean Journalof biology* 7, (2012) : pp 373-390.
- **Smaoui S.** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse doc : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse), (2010) : pp 207.
- **Soltner D.** Les bases de la production végétale. Le sol et son amélioration. Tome I, 24emè édition collection Sciences et techniques agricoles, (2005).
- **Suzuki S.I., Okuda T, Komatsubara S.** Selective isolation and distribution of *Sporichthya* strains in soil. *Appl. Env. Microbiol.* 65(5), (1999): pp 1930-1935

7

- **Terchi S.** Etude de l'impact de la qualité des eaux d'irrigation sur la fertilité du sol, la plante et le rendement des systèmes d'irrigation. Mémoire de Master en Hydraulique, école nationale supérieure d'hydraulique ARBAOUI Abdellah, (2014) :55pp.
- **Tokiniaina A.** Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des Actinomycètes telluriques cas de la forêt d'ankafobe [en ligne]. Mémoire de recherche pour l'obtention du diplôme d'études approfondies de biochimie. : Sc. de Biotechnologie Microbiologie. Université d'Antananarivo, (2010) : pp96+ annexes .
- **Tortora J., Funk B.F. et Case Ch.I.** Introduction à la microbiologie. Edition, ISBN, Canada, (2003).

7

- **Vitousek P. M., Howarth R. W.** Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? Biogeochem. 13, (1991) : pp87-115.

7

- **Williams S.T., Cross T.** Actinomycetes in methods in microbiology. Edition Academic Press, Booth C, London, (1971): pp295-334.
- **Wri.** World resources institute.drylands, people, and ecosystem goods and services aweb-baseed geospatial analysis, (2002).

7

- **Yugal K.M.** Isolation of Cellulose-Degrading Actinomycètes and Evaluation of their Cellulolytic Potential. Bioengineering and Bioscience (5), (2014): pp 1-5.

7

- **Zitouni A.G.** Saccharothrix algeriensis sp. nov. à new species isolated from a Saharan soil Int J Syst Evol Microbioly. (Vol. 54), (2004).

*Annexe*

## Composition des milieux de culture et solutions utilisées

### Milieu de Bennett

D-Glucose anhydre .....	10g
Casaminoacides... ..	2g
Extrait de levure.....	1g
Extrait de viande.....	1g
Agar... ..	15g
Eau distillée .....	1L
PH.....	7,3

### ISP 2

Extrait de levure.....	4 g
Extrait de malt... ..	10 g
Glucose .....	4 g
Agar... ..	20g
Eau distillée .....	1L
PH.....	7,3

### Milieu GLM

Glucose .....	10g
Extrait de levure.....	3g
Extrait de malt .....	3g

Peptone ..... 5 g  
Agar ..... 15g  
Eau distillés ..... 1000 ml  
PH..... 7,3

### **Milieu ISP 5**

Glycérol... ..... 10g  
L-Asparagine... ..... 1g  
K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ..... 1g  
Solution saline standard..... 1ml  
Eau distillée ..... 1000ml  
Agar. .... 20g.  
PH..... 7.0 a 7.4

### **Solution saline standard**

FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O ..... 0, 1g  
MnCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O ..... 0,1g  
ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O..... 0,1g  
Eau distillée ..... 100 ml

### **Eau physiologique 9%**

Chlorure de sodium ..... 9g  
Eau distillé ..... 1000ml

**Milieu amidon 1%**

GN ..... 100ml

Amidon ..... 1g

**Milieu caséine 5%**

Eau distille..... 100ml

Agar ..... 2g

Caséine soluble..... 5g

**Milieu ISP7**

Glycérol : ..... 15g

L-tyrosine : ..... 0,5g                      0,5 g

L'asparagine : ..... 1 g

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: ..... 0,5 g

MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O..... 0,5 g

Na Cl..... 0,5 g

FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O: ..... 0,01 g

Solution saline standard..... 1 ml

Agar ..... 20 g

Eau distillée ..... 1000 ml

PH..... 7,2.

### Milieu ISP 9 liquide

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	2.64g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ... ..	2.38g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ... ..	5.65g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.....	1g
Solution saline 2... ..	1ml
Eau distillée .....	1000ml
PH.....	6.8 a 7

### Milieu Mannitol-Mobilité

Peptone .....	5g
Extrait de viande.....	3g
KNO <sub>3</sub> .....	1g
Agar .....	12g
PH... ..	7.2

### Milieu Citrate de Simmons

Citrate de sodium.....	1g
Chlorure de sodium .....	5g
Sulfate de magnésium.....	200mg
Dihydrogénophosphate d'ammonium .....	1g
Monohydrogénophosphate de potassium .....	80mg
Bleu de bromotymol... ..	1g

Agar ..... 13g

### **Milieu TSI**

Extrait de viande..... 3g

Extrait de levure.....3g

Peptone .....20g

Chlorure de sodium .....5g

Lactose..... 10g

Saccharose ..... 10g

Glucose ..... 1g

Sulfate ferreux ammoniacal..... 300mg

Rouge de phénol ..... 24mg

Thiosulfate sodium anhydre .....300mg

Agar ..... 11g

Eau distillée ..... 1000ml

PH..... 7,4

### **Milieu urée- indole**

Tryptophane..... 3g

Phosphate monopotassique..... 1g

Chlorure de sodium .....5g

Urée .....20g

Rouge de phénol ..... 0.025ml

Alcool à 95° ..... 0.01ml

Eau distillée ..... 1000 ml

PH..... 6,7

- **FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O** : sulfate de fer 7 fois hydrate
- **H<sub>2</sub>S** : sulfure d'hydrogène
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : eau oxygénée
- **K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**: Potassium phosphate dibasic
- **KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Phosphate de potassium monobasique
- **KNO<sub>3</sub>** : Nitrate de potassium
- **MnCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O** : Chlorure de manganèse
- **(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Sulfate d'ammonium
- **ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O** : sulfate de zinc sept fois hydraté