REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES S.N.V

DEPARTEMENT DE LA SCIENCE DE LA NATURE ET DELA VIE

N° :……

DOMAINE : S.N.V

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE ET METAGINOMIQUE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par: DAHMANI Fatiha et BOUZID Warda

Intitulé

Activité antimicrobienne des actinobacteries isolés de la rhizosphère *de Daucus sahariensis* Murb.

Soutenu devant le jury composé de:

BENDERRADJI Laid	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
GHADBANE Mouloud	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
BOUNAR Rabeh	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examinateur

Année universitaire : 2016 /2017

Remerciements

Je souhaite adresser, à travers ces quelques lignes, ma grand reconnaissance envers l'université Mohamed Boudiaf de M'sila, la faculté des sciences, particulièrement, le département des science de la nature et de la vie.

Nous remerciements tous nos enseignant spécialement aux membre de jury : Notre encadreurs monsieur GHADBANE Mouloud., maitre de conférences à l'université Mohamed Boudiaf de M'sila. Sans lequel ce travail n'aurait pu aboutir, je remercie pour sa gentillesse, son soutien et pour le fait de m'avoir fait partager son expérience, aussi je le remercie pour m'avoir offert les échantillons de sol et aidé dans la réalisation de étude statistique.

Monsieur BENDERRADJI Laid, maitre de conférences à l'université Mohamed Boudiaf de M'sila. Responsable de la formation d'un master académique " Biotechnologie végétale et métagenomique B.V.M." malgré vos multiples engagements, vous avez accepté d'apporter vos critiques constructives à mon mémoire. votre présence en tant que président du jury est un grand honneur pour nous.

Monsieur BOUNAR Rabeh, Maitre- assistant à l'université Mohamed Boudiaf de M'sila qui est accepté d'examiner ce travail avec bienveillance.

Nous remercions également Dr. BENDIF Hamdi, et Mr HARIR Mohamed pour ses conseils judicieux et ses encouragements permanents, et tous les enseignants de département des sciences de la nature et de la vie, et département de biologie de l'université du Mohamed Boudiaf.

Nous tiens à remercier: Mr SEGHIRI Kamel, chef d'équipe aux laboratoires de département des sciences de la nature et de la vie, pour le fait de nous avons accueilli dans son équipe de laboratoire et pour ses conseils.

Je remercie Allah le Généraux pour m'avoir vers la lumière de la recherche du savoir et de la science

Je dédie ce mémoire :

A mes parents :
Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.
Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.
A ma belle soeur chahra
A mes frères Morad et Rabeh pour aide et support

A tous mes collègues et mes amies en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

DAHMANI FATIHA

Je remercie Allah le Généraux pour m'avoir vers la lumière de la recherche du savoir et de la science

Je dédie ce mémoire :

A mes parents :
Ma mère Ounissa, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.
Mon père Mohamed, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.
A ma belle soeur wassila et ma petite sœur kenza
A mes frères halim et farid pour aide et support

A tous mes collègues fatiha, djamila khaoula et mes amies zineb, imane, hiba, hadjer,salma ,amina, safia en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

BOUZID WARDA

Liste des figures

Figure 01 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes avec des hyphes vivant (bleu et vert) et morts (blancs) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaines de conidiospores..... 05

Figure 02 : Observation au microscope électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes. (A) Bactéries du genre *Nocardia* qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre *Streptomyces* en sporulation..... 06

Figure03 : Cycle de développement de *Streptomyces* sur milieu solide (Delaunay et *al*., 2003)..... 09

Figure 04 : Origine des antibiotiques (Berdy, 2005)..... 14

Figure 05 :Méthode de stries croisée en boite de pétri entre la souche antibactériennes et l'agent phytopatogène..... 19

Figure06 : Mise en évidence de l'activité antibiotique sur milieu Williams modifié solide par la méthode des stries croisées..... 20

Figure 07 : le champignon *phytophthora infastants*..... 22

Figure 08 : Quelque isolats d' Actinobactéries étudiés……..… 25

Figure 09 : Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries..... 30

Liste des tableaux

Tableau 01 : Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol..... 10
Tableau 02 : Répartition des certaines actinobactéries dans la nature..... 11
Tableau 03 : Description d'échantillon a utilisée..... 16
Tableau 04 : Caractéristique morphologique des isolats Actinobactéries..... 23
Tableau 05 : L'activité antimicrobiennes de (09) isolatsd'Actinobactéries..... 26
Tableau 06 : Pourcentage de l'activité antimicrobiennes de (09) isolats d'actinobactéries..... 27

Liste des abréviations

E. coli : *Escherichia coli.*

ISP : International Streptomyces Project (milieu de culture).

M2 :Milieu amidon extrait de levure peptone.

CAA :Milieu caséine amidon agar.

GN :Gélose nutritive.

MSBA : l'université de Mohamed Boudiaf M'sila département de science de la nature et de la vie Laboratoire de la biotechnologie végétale Actinobactéries.

MSBC : l'université de Mohamed Boudiaf M'sila département de science de la nature et de la vie Laboratoire de la biotechnologie végétale Champignons.

PDA : Potato- Dextrose- Agar.

ATCC : American Type Culture Collection.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

CHAPITRE I : SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Rhizosphére 3

I.1.1. Microorganismes rhizosphérique.....3

I.1.1.1.Bactéries 3

I.1.1.2. Champignon.....4

I.1.1.3. Actinobactéries 4

I.2. Les Actinobactéries 4

I.2.1. Histoire des actinobactéries 4

I.2.2. Définition des actinobactéries 4

I.2.3. Propriétés générales des actinobactéries.....5

I.2.4.Morphologie des actinobactéries 6

I.2.5. Cycle de développement et physiologie des actinobactéries 7

I.3. Les actinobactéries du sol 9

I.3.1.Actinobactéries dans les sols de rhizosphères des plantes 10

I.4. Ecologie et distribution des actinobactéries dans la nature 11

I.5. Importances des actinobactéries 11

I.5.1. Dans les domaines médical, vétérinaire et industriel 12

I.5.2. Dans le domaine agronomique 12

I.6. Role des actinobactéries dans le sol 12

I.7. Le métabolisme antibiotique des actinobactéries 13

I.7.1. La production des antibiotique 13

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.Objectif recherché 9

II.1.Isolement du champignons phythopathogène (*Phytophthora infestant)* 11

II.1.1.Isolement des champignons(*Phytophthora infestant)* 11

II.1.1.1. Purification et consevation 12

II.1.1.2. Identification de l'agent pathogène 12

II.1.2. Isolement des Actinobactéries 12

II.1.2.1. Prospection d'échantillon 12

II.1.2.2.Prélèvement des échantillon du sol rhizosphèriques 13

II.1.2.3. Prétraitement des échantillons 13

II.1.2.4.Méthodeet milieu d'isolement d'isolats d'actinobactéries(suspension-dilution) 14

II.1.2.4.1. Milieu d'isolement d'isolats d'actinobactéries 15

II.1.2.4.2. Préparation de la suspension de dilution et ensemencement 15

II.1.2.5. Purification et conservation de l'isolat d'actinobactéries 16

II.1.2.6. Identication macroscopique d'isolats d'actinobactéries 16

II.2. Activité antimicrobiennes des isolats d'actinobactéries.....16

II.2.1. Bactéries testé.....16

II.2.1.1. Repiquage des bactéries testé 17

II.2.2.Technique des stries croisées 18

II.2.3. Lecture 18

II.2.4. Etude statistique 18

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1.Identification du champignon phytopahogène(*Phytophthora infestant*) et des actinobacteries.....24

III.1.1. Identification du champignon phytopahogène(*Phytophthora infestant)*.....24

III.1.1.1.1.Les caractéristiques morphologique du chamignon 24

III.1.2. Les caractéristiques morphologique des isolats Actinobactéries 26

III.1.2.1.Les caractères culturaux des isolats Actinobactéries 26

III.2.Activité antimicrobiennes des isolats d'actinobactéries 28

III.2.1. Activités antifongique d'isolats d'Actinobactéries 27

III.2.2.Activité antibactérienne d'isolats d'Actinobactéries 27

Conclusion.....31

Référence bibliographique

Annexe

Résumé

Introduction

Introduction

La découverte des premiers agents antibactériens, sulfamides en 1935, puis pénicillineau lendemain de la seconde guerre mondiale, avait suscité le grand espoir de voir les maladies infectieuses à jamais jugulées, révolutionné la médecine moderne et a fortement diminué la souffrance humaine. L'usage massif des antibiotiques a abouti, non à l'élimination des infections mais à apprendre aux microbes à résister à ces antibiotiques en exerçant une pression de sélection qui a favorisée l'émergence de gènes de résistance chez les bactéries aboutissant à des souches multirésistantes responsables d'infections graves. Ces dernières années la résistance bactérienne aux antibiotiques est devenue un phénomène mondial inquiétant (Courvalin et Philippon, 1990 ; Hugues Fleury, 2008 ; Bevilacqua).

Les actinobactéries sont des procaryote très recherchés en biotechnologie à cause de leur rôle important dans la production des composés bioactifs. ce groupe de bactéries a fourni un nombre considérable d'enzyme, de composés anti tumoraux ,d'agent immunosuppressifs, d'insecticides, d'antiparasites, d'herbicides, d'antioxydant et surtout d'antibiotique (Solanki et al., 2008). Cette dernière, sont élaborés par divers organismes vivants notamment les microorganismes (bactéries et champignons). Parmi ceux-ci, les actinobactéries, appelés aussi actinomycètes, constituent l'un des groupes les plus étudiés pour le dépistage de nouvelles molécules bioactives. Ces bactéries sont retrouvées dans divers habitats, même les plus hostiles, et principalement dans les sols. Le genre *Streptomyces*est le principal pourvoyeur en antibiotiques, mais d'autres genres sont également producteurs. L'une des stratégies pour augmenter la probabilité d'obtenir de nouveaux antibiotiques d'origine actinobactérienne est d'explorer des environnements extrêmes (sols arides, salés, etc.) et des habitats les moins exploités et également viser des actinobactéries dites 'rares'. Ainsi, Les bioprospections de tels environnements ont été d'un succès remarquable. En effet, plusieurs actinobactéries rares ont été isolées et sont à l'origine de nouveaux antibiotiques (Boudjella et *al*., 2014).

Les sols sahariens d'Algérie représentent des écosystèmes particuliers. Leur exploration a permis de mettre en évidence leur richesse et leur biodiversité en actinobactéries rares. De nombreux travaux ont été réalisés dans le but de rechercher des souches productrices d'antibiotiques. Plusieurs souches isolées sont de nouvelles espèces et produisent de nouvelles molécules antimicrobiennes (Boudjella et *al*., 2014).

L'objectif principale de ce travail est d'étudier l'activité antimicrobienne des actinobactérie isolée à partir de rhizosphère de *Ducus sahariensis* dans région de Bousaada M'sila (Algerie). Pour atteindre cet objectif notre travail est présenté en trois chapitres:

-Le premier chapitre est relatif à une synthèse bibliographique en rapport avec le thème abordé

- Le deuxième chapitre est consacré à la présentation du matériel utilisé et à la description des méthodes effectuées

- Le troisième chapitre comporte les résultats et discussions lesquels sont présentés en deux parties:

. La première partie est relative à l'isolement des actinomycètes, des champignons et dénombrement des actinomycètes rhizosphériques pour ceci; il était primordial de sélectionner des milieux de cultures sélectifs pour l'isolement des actinomycètes, ainsi que des techniques favorisant la croissance de la groupe de bactéries et des champignons par rapport aux autres microorganismes du sol ont des taux de croissance très élevés comparé avec celui des actinomycètes.

. La deuxième partie concerne l'étude de l'activité antimicrobiennes(l'activité antifongique, antibactériennes) des isolats d'actinomycètes d'origine de rhizosphères de plantes *Ducus sahariensis* contre 06 microorganismes pathogènes.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

I.1.Rhizosphére

Le terme «rhizosphère» défini pour la première fois en 1904 par Lorenz Hiltner, indique le volume de sol soumis à l'influence de racines vivantes (Bakker et *al*., 2013; Bouizgarne, 2013; Prescott et Grayston, 2013). La zone du sol rhizosphérique se caractérise par des conditions biotiques et abiotiques différentes de celles dans le sol non rhizosphérique (Ibekwe et *al*., 2010). La densité des populations de bactéries est considérablement augmentée dans le sol rhizosphérique et diminue dans le sol non rhizosphérique (Karthikeyan et *al*., 2008; McGahan et *al*., 2014). Les exsudations des acides organiques, des acides aminés ou de lipides par les racines et la décomposition des matières organiques mortes (débris issus des cellules végétales mortes) modifient l'environnement rhizosphérique (Brimecombe et *al*. 2001). Il s'ensuit par conséquent une modification de la structure et de la composition des populations bactériennes au contact des racines (Kennedy, 1999).

Tous les activités microbiennes, favorables ou non à la vie de la plante, sont rencontrées dans cette zone. Parmi ces activités, on peut citer la solubilisation ou la métabolisation des minéraux pour les nutriment, la compétition avec ou sans induction d'une résistance de la plante aux pathogènes, et aussi la sécrétion de métabolites bioactifs ou les antibiotiques (Dommergue et *al*, 1999).

I.1.1.Microorganismes rhizosphérique

I.1.1.1.Bactéries

Dans la rhizosphère, les bactéries sont les organismes les plus nombreux (leur densité est de l'ordre de 10^9 par g de sol) et les plus variés (Morel, 1996). Le nombre d'organismes est maximal dans les premiers centimètres sous la surface et il décroit rapidement avec la profondeur. Ce sont les bactéries qui sont les plus nombreuses. On évalue habituellement les populations de bactéries du sol par la méthode dite du dénombrement de colonies sur gélose. Celle-ci donne probablement un résultat bien inférieur au nombre réel de bactéries, car aucun milieu nutritif ni aucune condition de culture ne permet de satisfaire tous les besoins nutritifs et autres de la microflore des sols (Tortora et *al*, 2003).

I.1.1.2.Champignon

La densité des champignons est estimée à 10^6 par gramme de sol. Parmi les genres les plus fréquents dans la rhizosphère, on citer *Fusarium ,Mucor, Rhizopus, Penicillium, Rhizocotonia, Phoma*. Certaines espèces sont antagoniste de champignons pathogènes, d'autres s'associent aux racines des plantes cultivées comme les mycorhize (Dommergue et *al.*,1970)

I.2. Les actinobactéries

I.2.1.Historique

Waksman divise en quatre grandes catégories l'histoire des actinobactéries . La Première, est celle de la découverte de leur rôle dans la pathologie et va de 1874 aux années 1990. La seconde période (1900-1919) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinobactéries du sol, avec les travaux de Kraisky, de Cohn, de Waksman et de Curtis. C'est ensuite la période (1919-1940) au cours de laquelle une meilleure connaissance des germes a été acquise grâce aux recherches de Waksman, de Lieske, de Krassilnikov entre autre. La dernière époque historique, enfin, est celle des antibiotiques produits par les actinobactéries . Elle commence en 1940 et le nom de Selman Waksman lui est indissolublement lié (Leuminor, 1989).

I.2.2. Définition

Les bactéries du genre *streptomyces* sont les actinobactéries les mieux connus et les plus fréquemment isolés du sol, des spores reproductrices asexuée, appelées conidies, se forment aux extrémités des filaments aériens ; si chaque conidies atterrit sur un substrat appropriés, elle peut y germer et former une nouvelle colonie ; les espèces du genre *streptomyces* sont des aérobies stricts ; la plupart produisent des enzymes extracellulaires qui leur permettent d'utiliser les protéines ; les polysaccharides- tels que l'amidon-, la cellulose et bien d'autres substances organiques présentes dans le sol (Tortora et *al*, 2003).

Les actinobactérienes sont des bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies circulaires (Eunice et Prosser, 1983) constituées d'hyphes, c'est – à-dire de filaments qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance (Gottleb, 1973 ;Lechevalier et Lechevalier, 1981 Eunice et prosser, 1983).

On distingue deux groupes d'actinobactérienes :

_ **Groupe01 :** les formes fermentatives anaérobies, représentées par le genre *Actinomyces*, qui

sont des commensales obligatoires des cavités naturelles l'homme et des animaux supérieure.

_ **Groupe 02 :** les formes oxydatives aérobies, telles que les *Streotomyces,* sont abondantes dans la nature en particulière sur le sol (Avril et *al*, 1992).

I.2.3. Propriétés générales

Lorsque les Actinobactéries croissent sur un substrat solide comme la gélose, le réseau ramifié d'hyphes formé se développe à la fois à la surface du substrat et à l'intérieur de ce dernier (Figure 01) pour former un mycélium végétatif. La plupart des Actinobactéries ne sont pas mobiles, chez les quelques genres dotés de mobilité, celle-ci est limitée aux spores flagellées. La composition de la paroi cellulaire varie fortement d'un groupe à l'autre et prend une importance taxinomique considérable (Prescott et al., 2010). Ils peuvent vivre dans les écosystèmes riches en matière inorganique. Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyenne est environ 2 à 3 heures (Beckers *et al*., 1982).

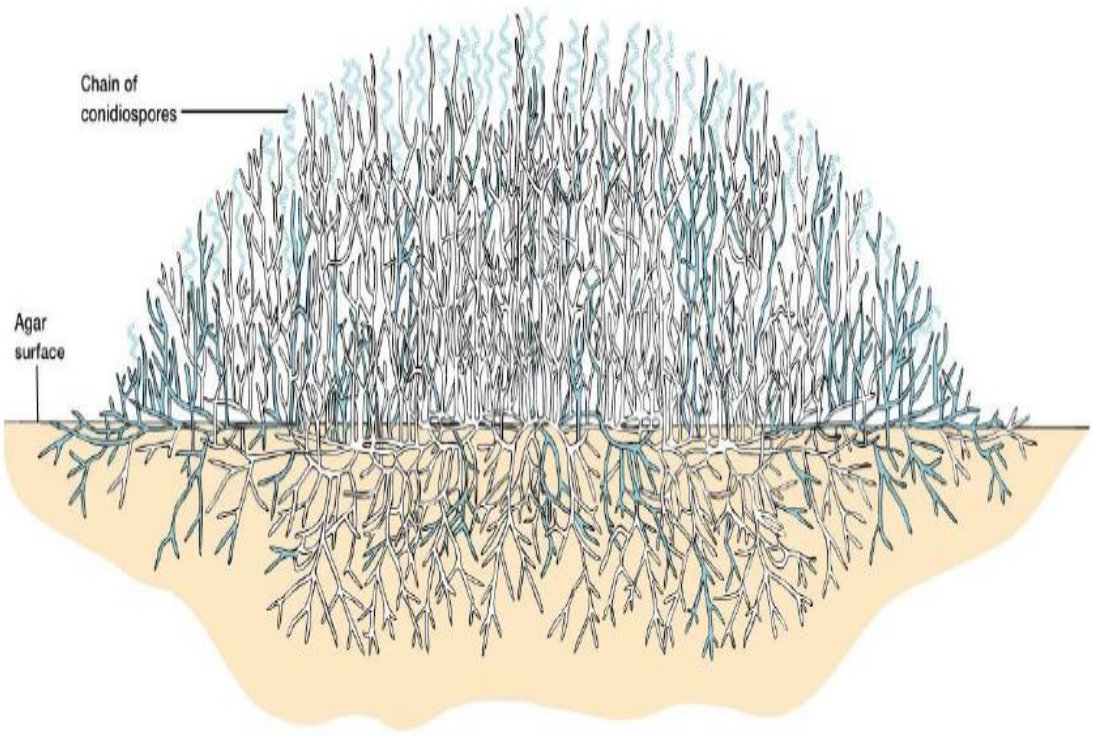


Figure 01 : Coupe transversale d'une colonie d' actinobactéries avec des hyphes vivant (bleu et vert) et morts (blancs) montrant le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaines de conidiospores (Prescott, 2010).

I.1.2.4. Morphologie

Morphologiquement, les actinobactéries peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium). Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (Lechevalier, 1985).

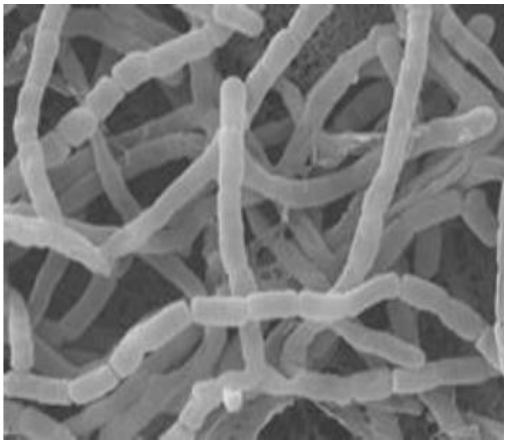
Les colonies formées sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

_ Colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.

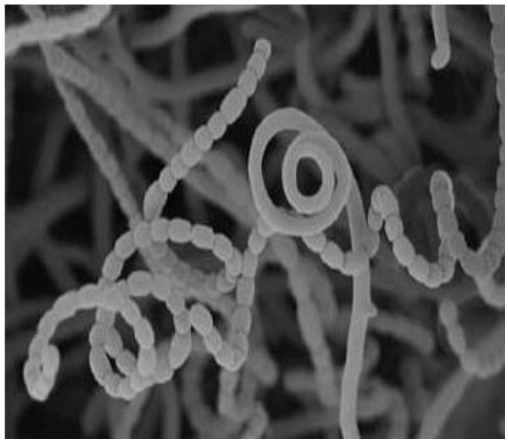
_ Colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.

_ Colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

Le mycélium des actinobactéries présente une grande diversité de morphologies. On rencontre des espèces dont le mycélium est rudimentaire au point d'être inexistant (la plupart des *Mycobacterium*), d'autres au mycélium fugace, qui se fragmente (certaines *Nocardia*), et enfin des espèces au mycélium développé et persistant comme dans le genre *Streptomyces*. Les mycéliums fragmentaires et permanents sont illustrés sur la Figure 02.



(A)*Nocardia*



(B)Streptomyces

Figure 02 : Observation au microscope électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des Actinobactéries . (A) Bactéries du genre *Nocardia*qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre *Streptomyces*en sporulation (Belyagoubi, 2014).

Les différents groupes d' Actinobactéries peuvent se sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores hautement résistantes à la chaleur et autres adversités. Les conidies peuvent, suivant les groupes, être produites :

- isolément (*Micromonospora)*
- deux à deux longitudinalement (*Microbispora*)
- en courtes chaînes (*Actinomadura*)
- en longues chaînettes (*Streptomyces*)

Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, sinuées ou en spirales. De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores (*Streptoverticillium*)**.**

I.1.2.5. Cycle de développement et physiologie des actinobactéries

I.1.2.5.1. Cycle de développement

Les actinobactéries appartiennent au règne des procaryotes, division des fimicutes (bactéries Gram positif), classe des thallobacteria (bactéries filamenteuses) et à l'ordre des actinomycétales. Sur milieu solide, le cycle de développement des Actinobactéries est très similaire à celui des champignons, à la différence essentielle que ces bactéries demeurent haploïdes durant tout le cycle. Les Actinobactéries sont des bactéries filamenteuses dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes, c'est à dire des filaments qui irradient, par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance.

Sur milieu nutritif, la germination d'une spore à partir de laquelle croît un tube germinatif constitue le point de départ du cycle. De ce tube se développe un réseau constitué d'hyphes qui se ramifient, formant un mycélium primaire qui s'étend sur et dans le milieu. À partir de ce mycélium primaire s'élève par croissance apicale un mycélium secondaire aérien de forme variable selon les genres bactériens. Suivent un cloisonnement des hyphes aériens, un épaississement des cloisons et, finalement, la libération de spores (figure 03), (Delaunay et *al*., 2003). Ces formes cellulaires permettent la survie dans des conditions défavorables à la croissance végétative

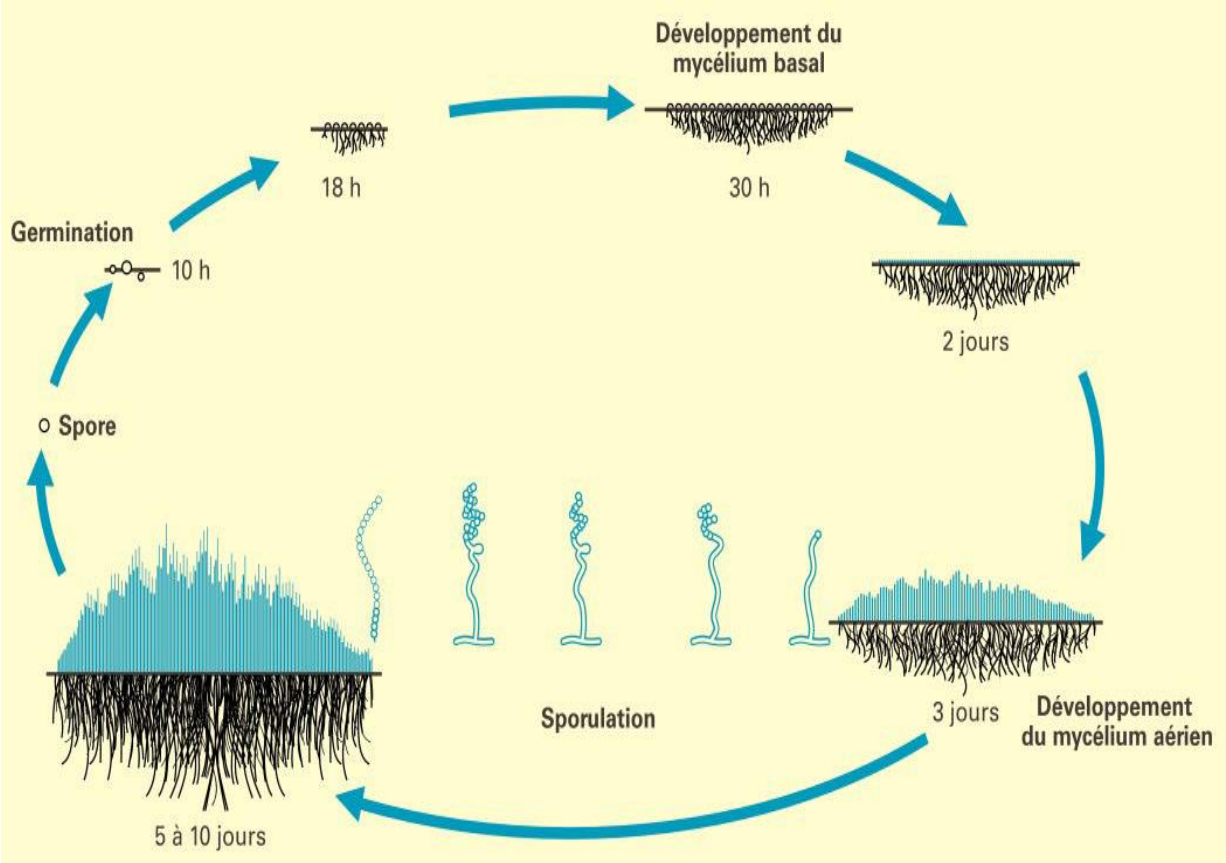


Figure 03: Cycle de développement de *Streptomyces* sur milieu solide (Delaunay et *al*., 2003).

1.1.2.5.2.Les facteurs physiologiques des actinobactéries

La croissance des actinomycètes est influencée par plusieurs paramètres physiologiques en particulier: l'oxygène, le pH, la température…etc.

a. L'oxygène

On peut diviser les actinobactéries selon leurs types respiratoires 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, Ils font partie de la flore de Veillons.

_ 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

Pour le pH, la plupart des actinobactéries se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8.Mais on peut observer une croissance à des valeurs de pH inférieurs à 4 (McKinney, 2004), telle est le cas pour les souches acidophiles comme le genre *Streptacidiphilus* (Wang *et al*.,

2006)

c. La température

La température optimale de croissance est entre 25 à 30°C, mais les espèces thermophiles peuvent croitre à des températures entre 55 et 65°C (Rangaswami et *al.*, 2004).

d. L'activité de l'eau

La germination des spores de la plupart des actinobactéries peut être observée à des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0.67, l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est égal à 0,98 (Zvyagintsev et *al.*, 2005).

e. Tolérance en Na Cl

Selon leurs exigences en NaCl, les microorganismes sont divisés en deux groupes :

_ Les halophiles : ont besoin de sel (NaCl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (P/V) pour les faiblement halophiles, jusqu'à 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes.

_ Les halotolérants : acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolèrent de 6 à 8 % de NaCl (P/V)) ; les modérément tolérants (tolèrent de 18 à 20 % de NaCl (P/V)) et les extrêmement tolérants (se développent de 0 % jusqu'à saturation en NaCl) (Nanjani, 2011).

I.3. Les actinobactéries de sol

Le sol héberge de divers genres de micro-organismes. Les actinobactéries sont moins dominants que des bactéries et plus importants que des champignons. Les actinobactéries composent habituellement à 10-50% de la communauté microbienne totale déterminée par la méthode d'électrodéposition dans la terre vierge et cultivée. Leur nombre varie considérablement dans différents types de sol s'étendant de 10^5 à 10^6g dans des zones tempérées.

Un nombre peu élevé d' actinobactéries a été enregistré dans la région de l'Antarctique, dans les tourbes acides et les sédiments des différentes eaux. Leurs présences est maximum dans les couches supérieures du sol, il diminue avec la profondeur. Dans le sol sec alcalin leur abondance relative est haute. Les actinomycètes les plus abondants dans le sol sont les espèces de *Streptomyces* qui peuvent former plus de 2/3 des colonies sur des plaques de dilution, les *Nocardia sp* représentent jusqu'à un tiers et les *Micromonospora* attiennent les 5% (Alexander, 1961). Lechevalier et Lechevalier (1967) ont isolé 5000 actibactéries issus de 16 sols différents. Plus de 95% étaient des *Streptomyces*.

Tableau 01 : Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol (Lechevalier et Lechevalier, 1967).

Genre	**Pourcentage**	**Genre**	**Pourcentage**
Streptomyces	95,34	*Mycobacterium*	0,14
Nocardia	1,98	*Streptosporangium*	0,10
Micromonospora	1,4	*Actinomadura*	0,10
Thermomonospora	0,22	*Micropolyspora*	0,10
Actinoplanes	0,20	*Pseudonocardia*	0,06
Microbispora	0,18	*Microellobosporia*	0,04

Les cendres volcaniques et les rizières sont les types de sols propres Japon. Les actinobactéries étaient nombreux (80 x $10^5 g^{-1}$) dans le sol cultivé de cendre volcanique de montagne et moins dans les rizières (26 x 10^5 g^{-1}). Ils étaient moins dans les sols vierges que dans le sol cultivé (Kumar *et al.*, 2003).

I.3.1. Actinobactéries dans les sols de rhizosphères de plantes

La majorité des actinobactéries sont trouvés dans divers types de sols tels que les champs agricoles, les forêts tropicales et les grottes naturelles (Gomes *et al.,* 2000; Nakaew *et al.*, 2009). Certains des actinobactéries sont distribués dans les parties rhizosphèriques du sol. Le terme de rhizosphère, tout d'abord utilisé par Martin et Kemp **(Hiltner ,1904)** et défini comme une zone du sol qui entoure les racines des plants. La densité de ces derniers est plus élevée dans cette zone que dans les sols dépourvus

Racines (Lynch, 1990). Cette différence est liée à la sécrétion des petits composés organiques par les racines sous forme d'exsudats qui fournissent la nutrition et les sources d'énergie pour la croissance microbienne (Soderberg et Baath., 1998). On sait depuis longtemps que les exsudats contiennent des acides organiques, des acides aminés, des acides gras, des vitamines et des monomères des glucides ; la composition et la quantité des exsudats racinaires varie selon les espèces végétales et les conditions abiotiques tels que de la température et l'humidité de sol (Martin et Kemp., 1980). Cette flore microbienne de la rhizosphère comprend principalement les bactéries, les champignons et les actinobactéries .

Les interactions entre les microorganismes procaryotes et les racines des plantes peuvent avoir des effets bénéfiques, nuisibles ou neutres sur la plante en fonction du type d'interaction symbiote et les conditions de sol (Smith et Read., 1997).

I.4. Ecologie et distribution des actinobactéries dans la nature

Les actinobactéries sont un groupe de bactéries omniprésent qui se produisent dans la multiplicité d'environnement naturel et synthétique. Ils se trouvent dans différentes niches tels que le sol, l'air, l'eau douce, les océans et sur une variété de matériel comme l'engrais, les résidus de végétaux de compost et des produits alimentaires (Tabeau 02) (kumar *et al.*,2003)**.**

Tableau 02: Répartition des certaines actinobactéries dans la nature (Goodofellow, 1983).

Genre	**Habitats**
Actinomadura	Sol
Actinoplanes	Sol, eau, litière
Saccharomonospora	Matière en décomposition
Streptomyces	Sol, eau, litière
Steptosporangium	Sol

I.5. Importance des actinobactéries

La principale raison derrière l'engouement pour les actinobactéries vient du fait qu'ils possèdent des rôles importants dans le sol et dans les interactions avec les plantes, (Conn, 2005), mais également pour la synthèse de nombreux métabolites d'intérêt biotechnologique. Il a été estimé que sur 16500 antibiotiques connus, 8700 (53%) sont produits par les actinobactéries dont 6550 (40%) par des espèces de *Streptomyces* (Choulet, 2006).En plus de la production d'antibiotiques, les actinobactéries produisent un grand nombre d'autres métabolites secondaires dotés d'une large gamme d'activités, tels que des inhibiteurs d'enzymes, immunosuppresseurs, toxines et pesticides (Dairi, 2005 ; Pizzul, 2006).

I.5.1. Dans les domaines médical, vétérinaire et industriel

Les actinobactéries ont fourni un nombre considérable de composés bioactifs de haute valeur commerciale, et sont recherchés de façon routinière dans le but de découvrir de nouvelles substances bioactives (Vijayakumar *et al.*,2007).

Les antibiotiques ont aussi trouvé une application dans les élevages industriels d'animaux. Ils sont utilisés non seulement pour combattre les maladies des animaux et des plantes, mais aussi dans l'alimentation pour augmenter les rendements zootechniques (Khachatourians,

1998).

I.5.2. Dans le domaine agronomique

Les actinobactéries jouent un rôle important dans le domaine agronomique .ainsi, legener *Frankia* est capable de fixer l'azote atmosphérique chez plusieurs plantes dicotylédones autres que les Fabacées (Goodfellow et williams, 1983).

Les actinobactéries participent à la dégradation des polymères les plus récalcitrants des débris de plantes, des litières et du sol (Williams et *al*.,1984).ils sont capables de décomposer les déchets urbains à haute teneur en produits chimiques. certains genres comme *Nocardia, Rhodococcus, Arthrobacter, Mycobacterium et Corynebacterium* se révèlent être d'une grande importance dans la dégradation des hydrocarbures, souvent à l'origine de pollution graves. Les actinobactéries sont également utilisée dans la lutte biologique contre les agents phytopathogènes d'origine tellurique (Crawford et al, 1993).

I.6. Rôle des actinobactéries dans le sol

Dans le sol, la densité des actinobactéries , essentiellement représentés par les genres *Nocardia* et *Streptomyces*, est en général 3 à 15 fois plus faible que celle des bactéries et varie entre105 et 108 unités /g de sol. Leur densité augmente dans les sols alcalins et décroît dans les sols submergés (Goodfellow et Williams, 1983). Leur rôle dans le sol est important en raison de leur aptitude à dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries, et à produire des substances probiotiques et antibiotiques (Kieser *et al*., 2000). Les premiers stades de la dégradation de la matière organique sont le fait de bactéries et de champignons. Les actinobactéries ne se développent pas durant ces premiers stades en raison de leur inaptitude à la compétition, par contre, ils se développent relativement bien sur une matière organique partiellement dégradée et inapte à porter une microflore fongique et bactérienne (Crawford et al., 1993).

1.7. Le métabolisme antibiotique des actinobactéries

Les métabolites secondaire produits par les actinobactéries présentent un grand nombre d'effets biologiques diverses, d'abord des activités antimicrobiennes. L'ordre des actinomycetales sont célèbre producteur de métabolites bioactifs avec une expérience professionnelle de plus de 10 000 agents antimicrobiens à usage clinique (Demain, 2009). Les métabolites secondaires produits par les actinobactéries révèlent des activités biologiques variées tel qu'antibactériennes, antifongique, antiviral, anticancéreux, anti protozoaires, anti cholestérol.

Ce groupe de composés forme un assemblage hétérogène des molécules biologiquement

puissantes avec diverses structures et mécanismes d'action. La découverte des agents antimicrobiens des actinobactéries a mené à une percée dans le monde de la médecine, en raison de leur assistance précieuse pour sauver l'homme de maladies infectieuses.la plupart des bactéries infectieuses sans traitement aux 19 siècles peut être facilement guérir maintenant avec un programme court des antibiotiques, par exemple la tuberculose (McDermott *et al.*,1947) .

1.7.1. La production des antibiotiques

Les actinobactéries sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que producteurs d'antibiotiques (Berdy, 2005). On estime que les deux tiers des quelque six mille antibiotiques isolés jusqu'ici sont produits par les actinobactéries.

Historiquement A.Waksman fut le premier à démontrer la richesse des actinobactéries dans ce domaine, il isola quatre des premiers antibiotiques utiles : *l'actinomycine* (1940);*la streptomycine* (1944) ; *la néomycine* (1949) et *la candicidine* (1953). Parmi les espèces actinomycètales, les *Streptomyces* sont les plus importants producteurs d'antibiotiques et autres métabolites secondaires, 75% des antibiotiques sont produits par les espèces de streptomycètes (Revel *et al.,* 2000). Les antibiotiques des actinobactéries peuvent être classés en groupes chimiques quelques exemples:

-Les aminoglycosides (streptomycine, néomycine, kanamycine, gentamicine);
-Les macrolides (érythromycine)
-Les ansamycines (rifamycine)
-Les bêta-lactames (thiénamycine)
-Les peptides (viomycine, thiostrepton, actinomycine, pristinamycine)
-Les tétracyclines (chlortétracycline, oxytétracycline)
-Les nucléosides (puromycine)
-Les polyènes (nystatine, candicidine, amphotéricine B);
-Les polyéthers (monensine) (Berdy, 2005).

Les antibiotiques des actinobactéries sont utilisés aussi dans le traitement de certaines maladies des plantes.

Les actinobactéries tiennent une très grande importance dans le domaine de la biotechnologie des antibiotiques, malgré les progrès de synthèses chimiques. En effet, 45% des antibiotiques connus, sont naturellement issus des actinobactéries et plus particulièrement du genre *Streptomyces* (Figure 04)**,** (Sibanda & al. 2010). Parmi les antibiotiques qui ont des applications thérapeutiques on peut citer : les aminoglycosides, les anthracyclines, les

glycopepetides, les bata-lactamines, les tetracyclines, les macrolides, les nucliosides…etc.

Autre les antibiotiques, les actinobactéries produits d'autres molécules qui ont des applications biotechnologiques variées, telles que :

- Anti tumorales : actinomycine, adriamycine, rebeccamycine- (Uyeda, 2004).

- Antivirale, antiparasite ;

- Insecticides : nikkomycine-, miticides herbicides : phosphinothricines.

- Piscicides : antimycine A-,

Ainsi que d'autres substances ayants des activités biologiques les plus diverses (immunosuppressives, immunostimulantes) (Sanglier et *al.*, 1993).

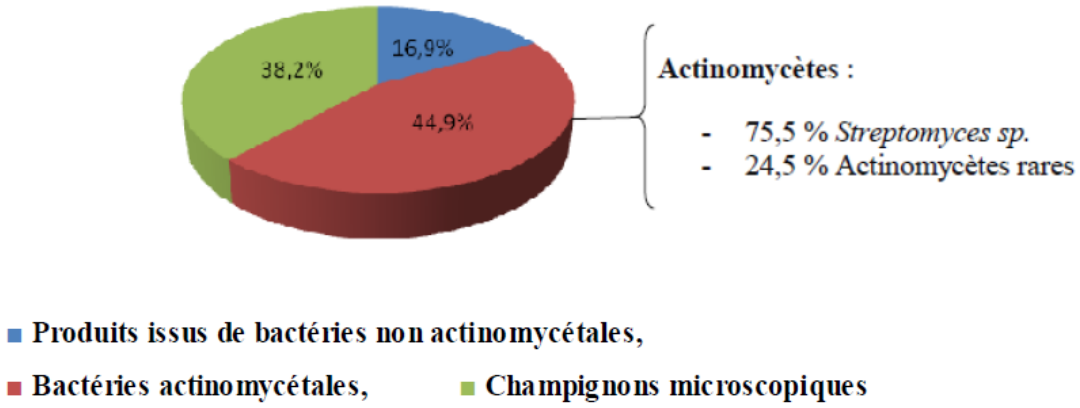


Figure 04 : Origine des antibiotiques (Berdy, 2005).

Chapitre II :

Matériels et méthodes

II. Objectif recherché:

Ce travail est réalisé au laboratoire de biotechnologie végétale, faculté des sciences de la nature et de la vie. Notre objectif essentiel, consiste à essayer de voir l'activité antimicrobienne des actinobactéries isolé de la rhizosphère de la plante *Daucus sahariensis.*

Pour parvenir à cela, nous avons utilisé un méthode pour tester 06 bactéries référencé non pathogène sur les actinobactéries qui nous avons isolé et purifié sur le milieu de culture pour faire l'activité antibactérienne. Et aussi nous avons fait l'isolement du champignon pour faire l'activité antifongique.

II. 1. Isolement du champignon Phytopathogene (*Phytophthora infestant)* et des actinobactéries

II.1.1. Isolement des champignons (*Phytophthora infestant)*

Le champignon phytopatogène est isolé directement à partir d'un fragment de fruit de tomate *(Solanum lycopersicum* L.), Le fragment d'un fruit présentant les symptômes d'une maladie fongique (pourriture et nécrose ou présence des hyphes observés sous loupe binoculaire) est immergé dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée stérilisée (121°C, 20min à l'autoclave) puis incubé à la température ambiante**.**

II.1.1.1. Purification et conservation

Nous avons réalisé des repiquages successif sur milieu PDA par ce procédé, nous avons obtenu une culture pure de *Phytophtora* la conservation des souches est effectué par repiquage sur milieu PDA.

II.1.1.2. Identification de l'agent pathogène

L'identification de l'agent causale repose sur une étude macroscopique de caractère morphologique de la culture.

II.1.2. Isolement des actinobactéries

II. 1.2.1. Prospection d'échantillon:

La prospection sur terrain ainsi que le moment du mois du février qui se déroule dans la région du Bousaada, une ville où se trouve la plante *Daucus saharinesisMerb*, située Bousaada, de willaya du M'sila. Son climat est semi-aride.

Tableau 03: Description d'échantillon a utilisée.

Région de prélèvement	**Profondeur des prélèvements**	**Nombre d'isolat d'actinobactéries isolés**	**Caractéristiques de sol**
			Le profil et la couleur
Boussaada à M'sila	05-10 cm	09	Sol sableux Marron jaune

II.1.2.2. Prélèvement des échantillons du sol rhizosphériques

Ils sont prélevés à l'aide d'une grande spatule stérile, les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés, on prélève alors avec une petite spatule stérile dans la couche sous-jacente (entre 5 et 15 cm de profondeur) 100 à 150 g de terre, qui sont déposés sur une feuille d'aluminium. Les gros débris sont écartés (pierres, racines, etc.) et environ 50 g sont placés dans un flacon stérile et transportés le plus rapidement possible au laboratoire pour analyse (Pochon et Tardieux, 1962).

II.1.2.3. Prétraitement des échantillons

Avant l'isolement, les échantillons du sol subis un prétraitement pour améliorer le nombre des actinobactéries, pour cela prétraitements ont été appliqués : chaque échantillon est partagé en deux lots de 50 g chacun. Un des deux lots subit un chauffage au étuve à 110°C pendant 10 minutes (Agate et Bath, 1963).1 gramme de chaque sol chauffé ou non.

Dans notre travail nous avons utilisé prétraitement physique; séchage. Le séchage de l'échantillon du sol à l'air libre, a pour but la réduction de la flore bactériennes contaminant. Les travaux de (Fan et *al.,* 2010), indiquent qu'un séchage des échantillons du sol pendant 7 à 21 jours réduise considérablement le nombre des champignons ainsi que les bactéries.

II.1.2.4. Méthode et milieu d'isolement d'isolats d'actinobactéries (suspension-dilution)

II.1.2.4.1. Milieu d'isolement d'isolats d'actinobactéries testé

Le milieu de cultures recommandées pour l'isolement des actinobactéries, ont été utilisés est ISP2 (Ara et *al.,* 2012).La composition de cette milieu de culture est donnée dans l'annexe. Le pH du milieu de culture est ajusté à raison de 7.4 avant la stérilisation. Pour favoriser l'isolement des actinobactéries. Dans notre travail Le milieu de base ISP2 est additionné de *Streptomycine*(10ug/l), *Actidine* (50ug/ml). L'autoclavage de milieu a lieu de 110c°pendant 20 min après l'ajustement du pH à 7.3.

II.1.2.4.2. Préparation de la suspension de dilution et ensemencement

La préparation des dilutions consiste tout d'abord à ajouter 1 g de sol à 9 ml d'eau physiologique stérile. La suspension subit une agitation pendant quelques minutes par un vortex, ce qui constitue la dilution 10^{0}.

À partir de cette suspension mère on prépare les dilutions 10^{-1}et 10^{-7}**,** avec une addition des racines d'une plante *Daucus sahariensis* qui se trouve dans cette sol après un broyage dans un mortier stérile dans les dilutions suivant (10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-7}).Pour réalise cette méthodes nous avons utilisé la méthode d'ensemencement comme suit :

_ **Ensemencement en surface :** cette méthode consiste à déposer 0.1 ml de chaque échantillon correspondant soit à la dilution 10^{-1} ou 10^{-7}à la surface de milieu ISP2, puis étalé à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Les boites sont incubées pendant 7 jours à 30°C.

II.1.2.5. Purification et conservation de l'isolat d'actinobactéries

Des observations régulières sont effectuées chaque semaine. Les isolats d'actinobactéries sont purifiés par stries sur milieu ISP2 et incubées à 30°C pendant 7 jours. à la base de glucose, d'extrait de malt et d'extrait de levure (Shirling et Gottieb,1966).

II.1.2.6. Identification macroscopique d'isolats d'actinobactéries

Les colonies d'actinobactéries ont été reconnues par leur aspect morphologique caractéristique. Elles apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, adhèrent à la gélose et présentent un mycélium végétatif et aérien, certaines montrent seulement un mycélium du substrat.

L'aspect macroscopique des colonies est observé directement sur la gélose après purification, il permet de connaitre la forme, le contour, la texture, la couleur et la viscosité. Ces observations sont aussi déterminées à l'aide du grossissement X4 du microscope (Guiraud, 1998).

II.2. Activité antimicrobiennes des isolats d'actinobactéries

II.2.1. Bactéries testé

Les déférentes souches bactérienne sont repique dans la laboratoire de la microbiologie du l'université de Mohamed Boudiaf M'sila.

Gram	Nom de la bactérie
+	*Bacillus subtilis*ATCC 6633
-	*Kelbseuilla pheumoniae*ATCC 532
+	*Candida albicans*ATCC10231
+	*Enterococus faccalis*ATCC 2035
-	*E. coli*ATCC 25922
+	*Staphylococcus aureus* ATCC6538

II.2.1.1. Repiquages des bactéries

Le prélèvements des bactéries sont effectués de 48h et repiqués sur un milieu du culture spéciale GN ,les boites sont incubées à 27c° pendant 24h à 48h pour faire l'activité antibacteriennes les diamètres des zone d'inhibition sont mesurée au millimètres prés (Prescott et *al.,* 2007).

II.2.2. Technique des stries croisées (Rothrock et Gottlied, 1981)

Apres l'étude macroscopiques et microscopique, L'antagonisme entre les actinobactéries et les germes cibles a été évaluée sur le milieu solide ISP2 par la technique des stries croisées (Aouiche et *al*., 2012). Tout d'abord, nous effectuons des trait d'actinobactéries dans des nouvelles boites de pétri contient ISP2 et incuber pendant 07 jours à 30°C.

A 7 ème jours on ensemencée en un seul trait de chaque bactéries suivant (*E.coli* ATCC 25922 , *EnterocousFaccalis* ATCC 2035*, Candida Albican* ATCC 10231*, BasillusSubtilis* ATCC 6633*, KclbseillaPneumoniae* ATCC 532*, Saccharomyces Cerivisiae* ATCC 6538*)* sur le même milieu. Et aussi la même chose pour les champignon.les bactéries multiplie chaque

heurs donc on peut prendre des résultats au même jour ou après 24 heures, mais les champignons multiplies plus lentement, on peut donc prendre des résultats après 5 à 7 jours. Cette méthode présenté dans la figure 05 e figure 06 comme suit:

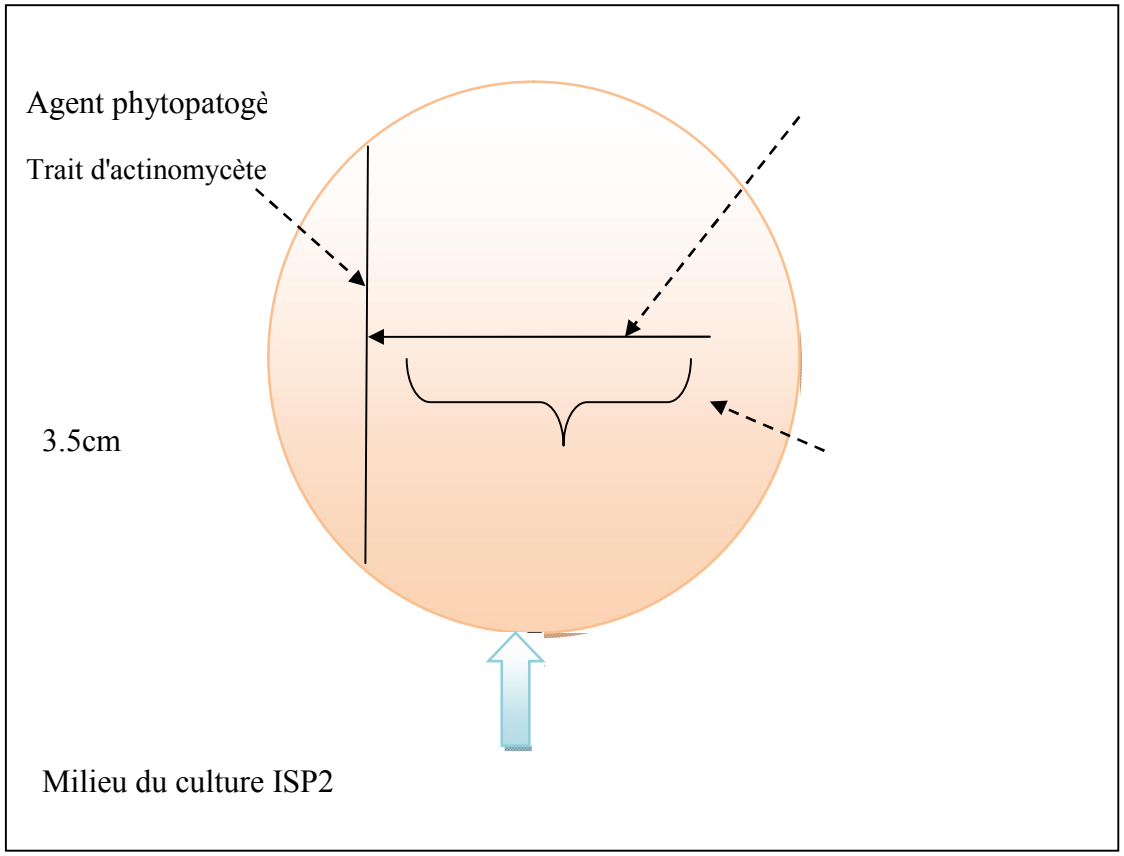
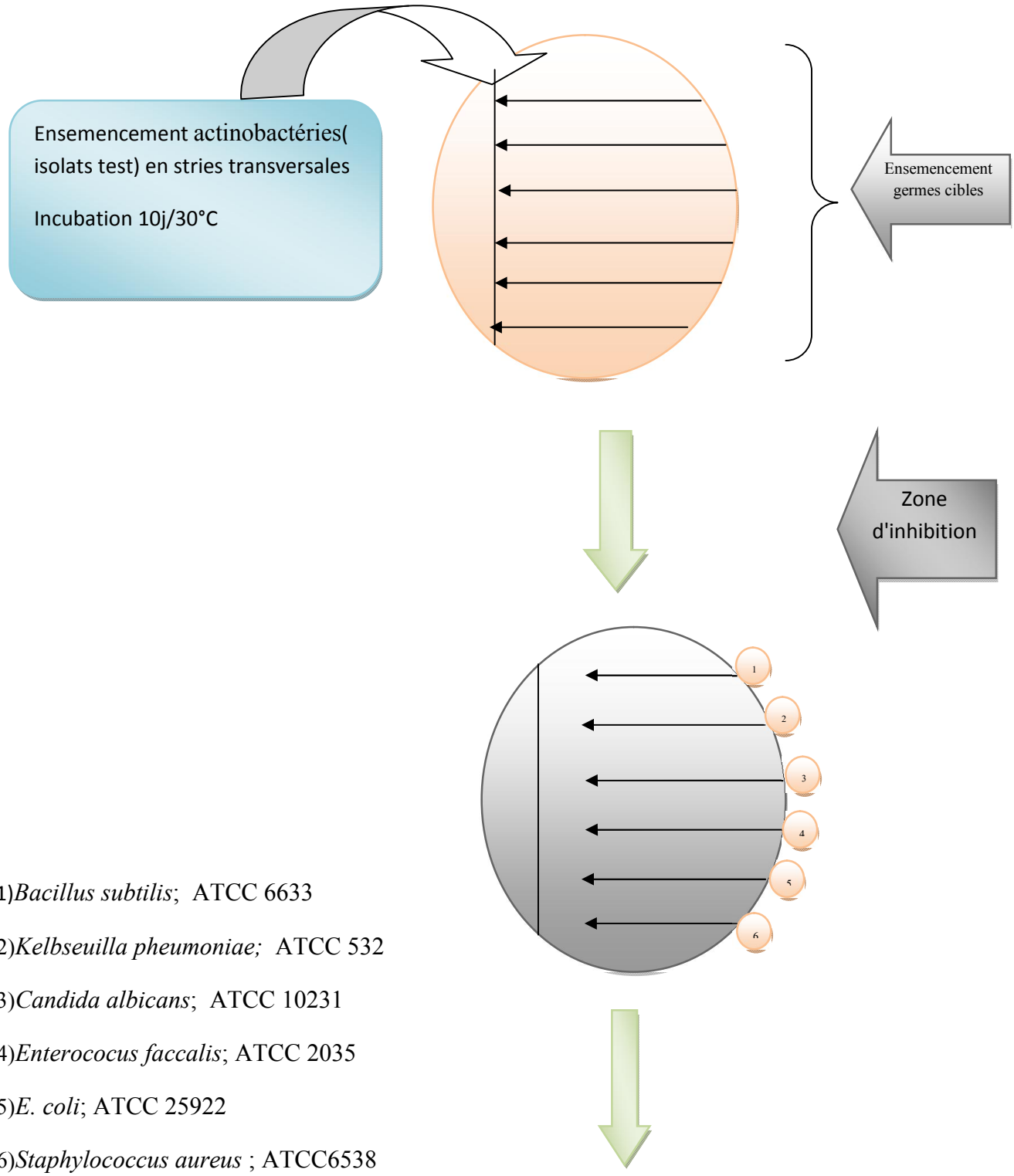


Figure 05: Méthode de stries croisée en boite de pétri entre la souche antibactériennes et l'agent phytopatogène.



(1)*Bacillus subtilis*; ATCC 6633

(2)*Kelbseuilla pheumoniae;* ATCC 532

(3)*Candida albicans*; ATCC 10231

(4)*Enterococus faccalis*; ATCC 2035

(5)*E. coli*; ATCC 25922

(6)*Staphylococcus aureus* ; ATCC6538

Mesure des zones d'inhibition après 24h à 28h d'incubation à 30°C.

Figure06: Mise en évidence de l'activité antibacteriennes sur milieu ISP2 par la méthode des stries croisées (Rothrock et Gottlied, 1981).

II.2.3. Lecture

Après incubation, la présence de zone d'inhibition est observé donc l'actinobactéries produisant des antibactériens et des antifongiques actifs ou non contre la souche test. La distance d'inhibition est mesurée en millimètre selon la formule suivant :

Taux (%) inhibition= (R témoin – R test) / R témoin x 100.

R témoin : distance radiale maximale de croissance du bactérie ou champignon.

R test : distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste.

L'absence de zones d'inhibition claires indique un résultat négatif qui montre que les bactéries ou les champignons sont résistantes aux substances produites par les actinobactéries. Plus cette zone est grande, plus l'activité antimicrobienne est importante.

II.2.4. Etude statistique

Les expériences ont été analysées en utilisant une analyse standard de la variance (ANOVA) avec une facture. Pour tous les teste, le niveau de la signification a été évalué au seuil 5%.la comparaison des moyenne fait moyennement le teste de Ducun afin de distinguer des groupe selon les valeurs des moyennes des variables testées.

Chapitre III :

Résultats et discussions

III.1. Identification du champignon Phytopathogene (*Phytophthora infestant)* et des actinobactéries

II.1.1.Identification du champignon Phytopathogène(*Phytophthora infestant)*

III.1.1.1.Les caractéristiques morphologique du champignon

Le champignon été isolée à partir d'un fruit de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.), présentant des symptômes de la *Phytophthora infestant*; des taches brunes, plus claires en périphérie et pouvant se développer autour de la zone pédonculaire. Ces taches peuvent être marbrée et bosselée irrégulièrement avec un contour mal défini (Jean et *al.,* 2000).

Après repiquage de cette isolat sur le milieu PDA au laboratoire à 25°C pendant 05 jours nous avons observé un aspect cotonneux avec un couleur noirâtre due à la production des micro sclérotes (forme de résistance), (figure 05), l'aspect microscopique nous a permis des distingue des filaments cloisonne avec un tête à la fin de chaque filament.

Figure 07: le champignon *phytophthora infestant.*

III.1.2. Les caractéristiques morphologique des isolats actinobactéries

Après le repiquage sur le milieu ISP2 à 30°C pendant 07jours les isolats d'actinobacteries apparaitre est montre une diversité que soit pour la forme, la couleur et se développent lentement. Elles sont repérées d'après leur aspect macroscopique caractéristique et purifiés afin d'obtenir des cultures pures pour la conservation.

La figure 08, montre L'isolats d'actinobactéries à partir des échantillons traités ou non sur le milieu de culture ISP2.

III.1.2.1. Les caractères culturaux des isolats actinobactéries

Les actinobactéries ont un aspect morphologique très caractéristique. Les colonies apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, avec un mycélium moyen aérien et végétatif en général, certains d'entre eux présentent seulement un mycélium de substrat. Les colonies de taille moyenne, poudreuses, régulières ou non, aplaties ou bombées, avec une odeur terreuse caractéristique des actinobactéries à croissance lente (Boudemagh et *al.,* 2005),(tableau 04). Selon Shirling et Gottlied, 1966, les actinomycètes sont reconnue par 05 séries de couleurs

(Blanche, gris, rouge, bleu, variable: du violet- orange ou rose). Selon la couleur du mycélium aérien sporulé et mature.(figure 09)

Tableau 04: Caractéristique morphologique des isolats actinobactéries.

Isolats actinobactéries	Mycélium MS	Contour	Elévation	La forme et la taille	Couleur de MS
MSBA1	Présent	Régulières	Aplaties	Poudreuses	Blanche
MSBA2	Présent	Irrégulières	Bombée	Très petit, spore	Gris
MSBA3	Présent	Irrégulières	Bombée	Petit spore	Blanche
MSBA4	Présent	Régulières	Aplaties	Poudreuses	Gris
MSBA5	Présent	Irrégulières	Bombée	Petite, spore	Gris
MSBA6	Présent	Irrégulières	Bombée	Petite, spore	Blanc
MSBA7	Présent	Régulières	Aplaties	Crame	Blanc
MSBA8	Présent	Régulière	Bombée	Petit spore	Rose
MSBA9	Présent	Irrégulières	Bombée	Des spore moyenne	Noir

Sur le milieu ISP2,les isolats actinobactéries MSBA2, MSBA3, MSBA5, MSBA6 sont de contour irrégulières, la surface des colonies sporange a petit taille, de couleur blanche au centre et gris a côté ce qui nous a permis de classer dans la série de gris proposée par Shirling et Gottlied, (1966).

Les colonies des isolats actinobactéries MSBA1, MSBA4 a une croissance importance avec des colonies très petite et poudreuses, elles se développent sous forme de colonies détachables. Le Mycélium de substrat est abondant, bien développé de couleur a centre blanc a des coté gris.

Les colonies des isolats actinobactéries MSBA7 sont de contour régulières, la surface des colonies crame, de couleur Blanc.

Les colonies des isolats actinobactéries MSBA8 sont de contour régulières, la surface des colonies spore a petit taille, bombée de couleur Rose.

Les isolats actinobactéries MSBA9 sont de contour irrégulières, la surface des colonies spore a taille moyenne, bombée, de couleur Noir.

Dans notre travail, selon 05 séries de couleur (Shirling et Gottlied, 1966), les 09 isolats d'actinobactéries ont été distribués comme suit: 06 isolats ont été trouvé appartenant à la séries des grise (MSBA1, MSBA2, MSBA3,MSBA4, MSBA5, MSBA6), d'autre appartient à la série des roses (MSBA7), la souche MSBA8 appartient à la séries des blancs et enfin la souche MSBA9 appartient à la séries noirs.

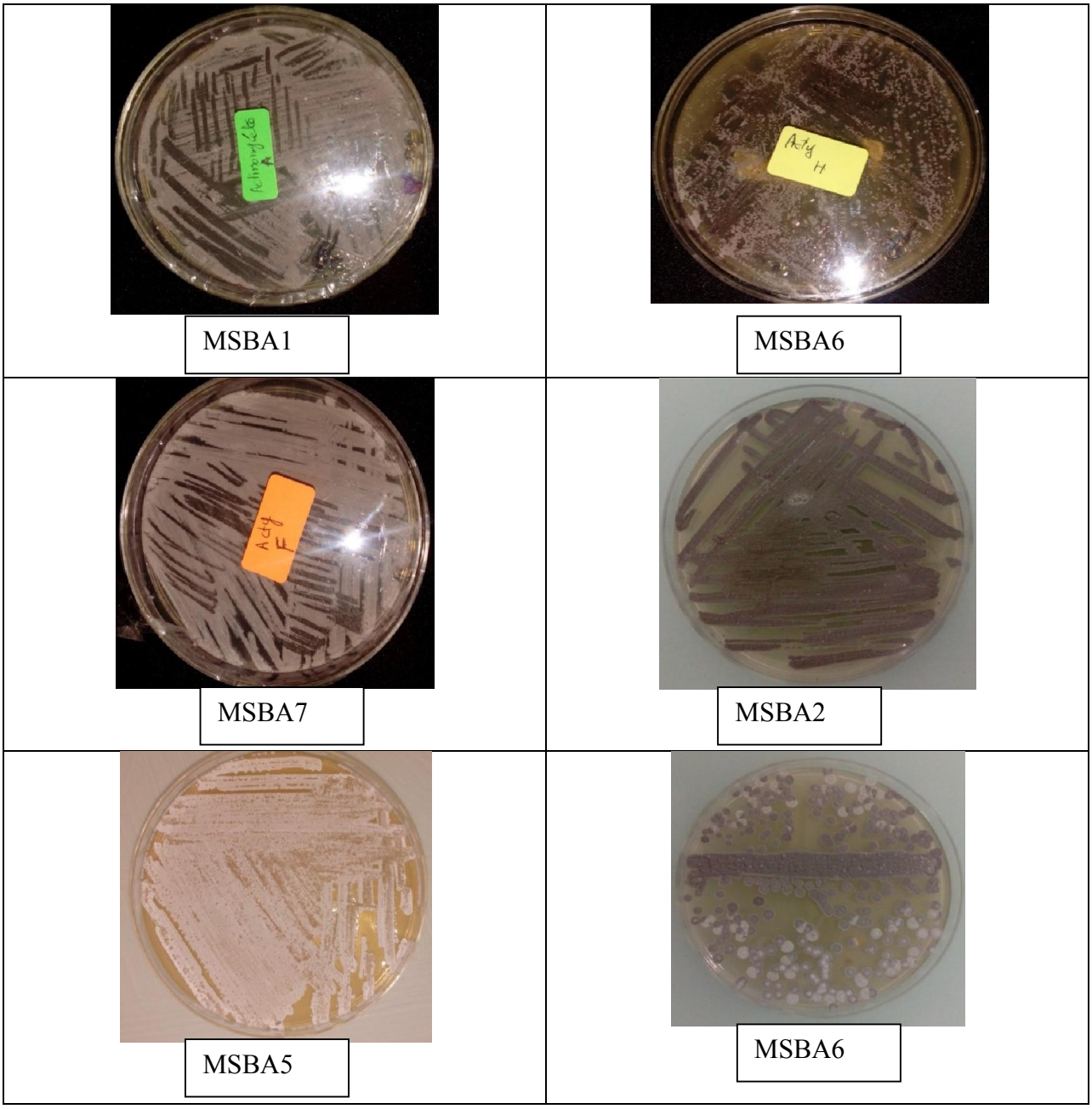


Figure 08: Quelque isolats d'actinobactéries étudiés.

III.2. Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries

L'activité antimicrobienne a été effectués sur milieu du culture ISP2. Les résultats obtenus après incubation à 30°C pendant 24h à 48h pour les bactéries et la levure, les champignons pendant 5 à 7 jours, indiquent la présence ou non d'activité antimicrobiennes sur les germes cibles.09d'actinobactéries ont été isolés à partir des échantillons de sol rhizosphériques, collectés de *Daucus sahariensis* qui poussent dans régions du centre d'Algérie (Boussaâda). Ils ont été identifiés par des méthodes morphologiques et testés pour leur activité antagoniste vis-à-vis de divers microorganismes pathogènes par la technique des stries croisées les résultats sont présentés au tableau 05. Les travaux de (Sabaou et *al.,*1992 et Sabaou et *al.,* 1998 ;Boudjella,1994 ; zitouni et *al.,* 2004 et 2005 ; Badji et *al.,* 2006;Lamari, 2006) confirment la richesse de sol saharienne en actinobacteries , qui est parfois dépassent les autre groupe microorganisme en densité .

Tableau 05: L'activité antimicrobienne de (09) isolats d'actinobactérie

Isolats	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)						
	Germes cibles						
	Bactéries					Champignons	
	Gram^{+}			*Gram*$^{-}$			
	Bacillus subtilis	*Staphylococcus aureus*	*Enterococcus faecalis*	*E. coli*	*Kelbseuilla pheumoniae*	*Candida albicans*	*MSBC1*
MSBA1	00±00b	6.67±5.77ba	7.33±2.89ba	10.00±8.66a	7.67±2.31ba	00±00b	00±00b
MSBA2	0±00c	11.33±15b	10±00ba	13.33±1.15a	8.67±5.77ba	7.67±4.04 b	2.67±2. 52c
MSBA3	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00
MSBA4	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00
MSBA5	0±00b	12.33±0.58a	12±10.39a	15.33±2.89a	13.33±9.81a	13.67±5.7 7a	14±3.6a
MSBA6	2±1.73b	9.33±1.15a	5.33±4.62ba	5.67±0.58ba	6.67±5.77ba	5.33±4.62 ba	0.67±0. 58b
MSBA7	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00
MSBA8	00±00b	00±00b	00±00b	00±00b	2.67±2.31a	00±00b	0±00b
MSBA9	00±00b	2.67±2.31a	3.33±2.89a	00±00b	00±00b	00±00b	3.33±1. 53a

Tableau 06: Pourcentage de l'activité antimicrobienne de (09) isolats d'actinobactéries

Isolats	Isolats à activité antibactériennes	Isolats à activité antifongique	Isolats à activité antimicrobiennes
09	02 (22.22%)	00 (00.00%)	04 (44.44%)

Le criblage préliminaire des isolats d'actinomycètes, a montré que parmi les neuf 09 isolats étudiés, deux 02 isolats (22.22%) à une activité antibactérienne, et aucune activité antifongique et 04 (44.44%) à un large spectre d'activité à la fois sur les bactéries et les champignons (tableau 06). L'inhibition de la croissance des germes cible révélée par l'apparition d'une zone claire, confirme l'activité des Actinobacteries testés.

III.2.1. Activités antifongique d'isolats d'actinobactéries

L'analyse des résultats, a montré que les cinq isolats d'actinobacteries. MSBA1, MSBA3, MSBA4, MSBA7, MSBA8 aucun activité antifongique mais l'isolat MSBA5 a une activité élevé sur les champignon de *phytophthora infestant* (MSBC1) par rapport *Condida albicans*. Dans d'autres études de plusieurs auteurs montre que l'activité antifongique élevée (Kataoka et Futai, 2011; Cuesta et *al*., 2012; Bubici et *al*.,2013; Kaur et *al*., 2013). En effet, Thakur et *al*., (2007). Bubici et *al*., (2013), suggèrent que cette activité antifongique est probablement due à la production des antibiotiques et des enzymes lytiques.

Les travaux de Jayasingh et Parkinson, (2008), indiqué que les antibiotique émis par les espèces d'actinobactéries provoquent l'arrêt de la croissance mycélienne et même dans certains cas un éclatement des hyphes chez certaines espèces fongique .

Parmi les molécules de l'activité antimicrobienne, la gamme des antifongiques est beaucoup plus restreinte que celles des antibactériens (Domenico, 1999).Des genres d'actinomycètes parfois assez rares dans le monde, ont été isolés en nombre important et dont plusieurs sont producteurs d'antifongiques à large spectre d'action (Boudjella, 1994; Zitouni, 1995).

III.2.2. Activité antibactérienne d'isolats d'actinobactéries

À partir 09 isolats d'actinobacteries ont été obtenus.22.22% de deux isolats produits Substances antibactériens contre les bactéries Gram positif et des bactéries Gram négatif (tableau 05).

Activité antibactérienne sur la bactérie phytopathogène sélectionnée Comme les organismes d'essai ont été montrés que l'isolant MSBA4, MSBA7 n'est pas active contre tous les bactéries-teste, ces résultats convergent parfaitement avec ceux de Mustafa et *al.,* 2004, qu'été observé chez les isolats *streptomyces sp*(5c8) .

Trois isolats MSBA1, MSBA2 et MSBA5 a une activité sur toutes les bactéries-tests sauf sur *Bacillus subtilis*. Par contre les travaux de Mustafa et *al.,* 2004 rapporté que l'isolat *Streptomyces phaeochromogenes* (9B40) montrent un activité seulement sur *Bacillus subtilis* ATTC6633, (avec un zone d'inhibition= 18mm).

En effet, les deux isolats MSBA2,MSBA5, ont montré une forte activité antibactériennes contre la pluparts des bactéries gram négatif . Par contre, pour les bactéries cibles Gram positif assez faibles. Ces résultats non comparables avec les travaux de Mellouk et *al.,* 2016; qui montre que l'isolat *Streptomycètes sp* (TA4) est fortement active contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) avec des diamètres d'inhibition de 40 et 32 mm, respectivement; aucune activité n'est enregistrée contre les bactéries à Gram négatif.

Donc l'activité antibactérienne contre les bactéries-tests de Gram négatif apparait plus importante que celle contre les bactéries Gram positif ; les bactéries-tests à Gram négatif concernées par l'inhibition sont : *E. coli*, *Kelbseuilla pheumoniae*.

D'ailleurs Les différences en composition de la paroi entre les bactéries Gram positive et négative peuvent être responsables de leurs différences de sensibilité. En effet, les bactéries Gram négative portent dans leurs membranes externes des sucres de nature lipopolysaccharidique (LPS) ce qui rend leurs parois imperméables au passage des solutés lipophiles, contrairement aux bactéries à coloration de Gram positif qui ont une paroi tapissée uniquement par le peptidoglycane qui n'est pas une barrière efficace (Sateesh*et al.,*2011).

Les résultats des tests de l'activité antimicrobienne possède une activité bien remarquable des quatre isolats testés (MSBA2,MSBA5, MSBA6 et MSBA9), en particulier contre les champignons. En effet, les quatre isolats ont montré une forte activité contre les bactéries Gram négatif . Les isolats MSBA5 et MSBA2 ont donné une activité antimicrobiennes plus élevée par rapport aux autres isolats (tableau 5).Aussi actifs contre un large spectre de microorganismes cibles .

L'analyse des résultats obtenus, montre que l'isolat MSBA5 possède un spectre d'activité inhibitrice très large sur les germes cibles testés. Les inhibitions les plus marquées sont observées contre *E. coli*, *phytophthora infestant* , *Candida albicans*, *Klebseuilla pheumoniae* avec zone d'inhibition 15mm,14mm, 13.67mm, 13.33 mm respectivement (Tableau 5) . .En effet, l'application de ces isolats a donné une zone d'inhibition remarquable vis-à-vis les bactéries Gram négatif, les bactéries Gram positif et les champignons testés. Ces résultats se rapprochent de ceux trouvés par plusieurs chercheures, En effet, Barakete et al., 2002 montre que l'activité antimicrobiennes plus élève *Bacillus subtilis*, 37mm; *Staphylococcus aureus* , 39mm) sauf *E. coli* a le même zone d'inhibition = 15mm et Aouiche., 2012 a montré dans une autre étude que l'isolat *Streptomyces sp* PAL111 possèdent une activité antimicrobienne importante sur les 04 bactéries(*Bacillus subtilis* = 2mm; *Staphylococcus aureus*= 10; E coli = 20; *Klebseuilla pheumoniae*= 20) et un seul champignon *Candida albicans* d'un zone d'inhibition entre 7à 13.

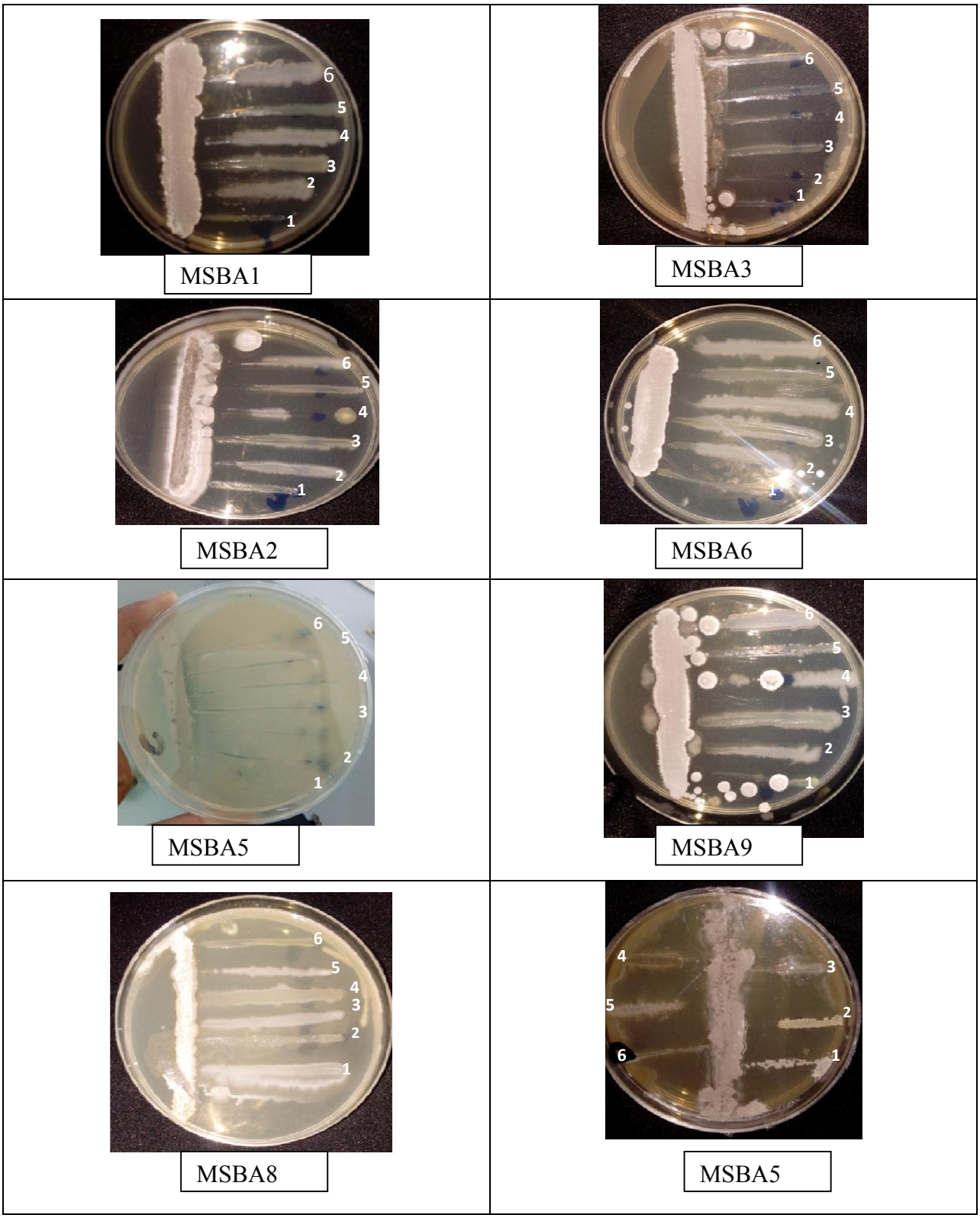


Figure 09: Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries

1: Bacillus subtilis; ATCC 663; 2: *Kelbseuilla pheumoniae;* ATCC 532; 3: *Candida albicans*; ATCC 10231;

4 *: Enterococus faccalis* ; ATCC 2035; 5 : *E. coli* ; ATCC 25922 ; 6: *Staphylococcus aureus* ; ATCC 6538.

Conclusion

Conclusion et perspectives

La résistance microbienne aux molécules constitue un problème important lorsqu'elle concerne des microorganismes pathogènes. Cette résistance se traduit par la capacité acquise d'un microorganisme à résister aux effets d'un agent chimio thérapeutique pour lequel il est normalement sensible; la propagation de ses bactéries est devenue une préoccupation sanitaire majeure.

La recherche de nouvelles substances antimicrobiennes dont le spectre d'activité serait plus large tout en étant moins agressif pour l'hôte semble toujours indispensable. Parmi les nombreuses propriétés des actinobactéries, leur capacité à produire une variété de substances intéressantes, dont les antibiotiques. Ceux-ci ont été largement étudiés surtout chez le genre *Streptomyces*, largement dominant dans de nombreux écosystèmes dits non rude ou extrêmes.

Ainsi, la recherche de nouveaux écosystèmes pour l'isolement d'actinobactéries est crucial pour la découverte de nouvelles espèces et par conséquent la découverte de nouveaux produits naturels bioactifs.

L'activité antimicrobienne a été cherchée par la technique des stries croisées en utilisant le milieu de culture ISP2. Les résultats indiquent que 05 isolats d'actinobactéries parmi les 09 isolats à une activité antibacteriennes sur 04 bactéries *(Kelbseuilla pheumoniae* ATCC 532, *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococus faccalis* ATCC 2035) et antifongique sur *Candida albicans* ATCC 10231 et *Phytophthora infestant* MSBC1.

Les résultats obtenus montrent que les 09 souches actinomycètes étudiées présentent une activité à la fois antibactérienne et antifongique contre les bactéries soit gram positive ou gram négative et les champignons. Une activité antimicrobienne contre au moins 05 bactéries tests avec un effet remarquable contre les bactéries Gram négatif. Les plus grandes zones d'inhibition ont été observées avec les isolats MSBA5 et MSBA2.

Donc l'activité antibactérienne contre les bactéries-tests de Gram négatif apparait plus importante que celle contre les bactéries Gram positif ; les bactéries-tests à Gram négatif concernées par l'inhibition sont : *E. coli*, *Kelbseuilla pheumoniae.*

Ces isolats d'actinobacteries constituent un groupe fort utile dans le domaine des biotechnologies. Leur hétérogénéité, leur diversité écologique et leur exceptionnelle capacité à produire des métabolismes secondaire font d'eux des producteur potentiels de nombreux composés intéressent utilisé dans le monde de la médecine, en raison de leur assistance précieuse pour sauver l'homme de maladie infectieuses et aussi dans la lutte biologique contre les maladies des plantes au moyen de microorganisme.

Les perspectives de recherche consisteraient à:

_ Elargir les zones et le nombre des échantillons dans régions sahariennes.

_ Affiner les méthodes d'isolement des actinobacteries pour récupérer le maximum d'isolat.

_ Faire une identification moléculaire bioactif des différents isolats d'actinobactéries

_ Fait utilisée dans la domaine de la lutte biologique.

Référence bibliographique

Agate A.D., Bhat J.V., (1963) A method for the preferential isolation of actinomycetes from soils. *Antonie Van leeuvenhoek*., 29: 297-304.

Alexander M., (1961) Introduction to soil microbiology. New York. Wiley.,p72.

Ara I., Bukhari N.A., Wijayanti D.R., et Bakir M.A., (2012) Proteolytic activity of alkaliphilic, salt- tolerant actinomycetes from various regions in Saudi Arabia. *African Journal of Biotechnology.,*11(16): 3849-3857.

Avril J. L., (1992). Bactériologie clinique. 2éd. Paris: ellipses., p511.

Aouiche, Adel and Sabaou, Nasserdine and Meklat, Atika and Zitouni, Abdelghani and Mathieu, Florence and Lerbrihi, Ahmed., (2012) Activité antimicrobienne de *Streptomyces sp.* PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxinogènes résistants aux antibiotiques. *Journal de Mycologie Médicale/ Journal of Medical Mycology.*, 22(1): 42-51.

Badji B., Riba A., Mathieu Badji B., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., and Sabou S., (2006) Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura sp*. AC104 isolated from an Algerian Saharan soil. *Can. J. Microbiol*., 52: 373-382.

Bakker P.A.H.M., Berendsen R.L., Doornbos R.F., Wintermans P.C.A., and Pieterse C.M.J., (2003) The rhizosphère revisited: root microbiomics, *Front. Plant Sci*., 4: 1-7.

Barakate M., Ouhdouch Y., Onfdon K.H., et Beaulien C., (2002) Characterization of rhizospheries soil Streptomycetes from Monoccan habitats and their antimicrobial activités.,18: 49-54.

Beckers H. J. A., Van Der Hoeven J. S., (1982) Growth Rates of Actinomyces viscosus and Streptococcus mutans During Early Colonization of Tooth Surfaces in. Gnotobiotic Rats.

Berdy J.,(2005) Bioactive microbial metabolites. J Antibiot *(Tokyo).,* 58: 1-26.

Belyagoubi L., (2014) Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen., p143**.**

Bevilacqua S., (2011) Evaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le cout des antibiotiques au CHU de Nancy, (Essai d'intervention contrôlé). Thèse de doctorat. Sciences de la vie et de la santé. Université Nancy, France., p18-25.

Boudemagh A., Kitouni M., Boughachiche F., Hamdiken H., Oulmi L., Reghioua S., Zerizer H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf D., Boiron P., (2005) Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra, EL-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. Journal de Mycologie Médicale.,15: 39-44.

Boudjella H., (1994) Influence des milieux de culture, des antibiotiques et du pré-traitement des échantillons à la chaleurs sur la sélection des genres et des espèces d'actinomycètes rares de quelques sols sahariens. Magister de Microbiologies, E.N.S. de Kouba., p177.

Boudjella H., lamaril L., boutik K., sabaoun N., (2014) Activité antilevurienne d'un souche d'actinobacterie appartenant au gener streptosporangium et isolee d'un sol saharien., *Algerian journal of arid environment.,2 :*3-18.

Bouizgarne B., (2003) Bacteria for Plant Growth Promotion and Disease Management Chapter 2 p: 15-47, in, D.K. Maheshwari (ed.), Bacteriain Agrobiology: Disease Management, Springer- Verlag Berlin Heidelberg.

Brimecombe M.J., De Leij F.A., and Lynch J.M., (2001) The effect of root exudates on rhizosphere microbial population. In: Pinto R., Varanini z., Nannipierei P., eds. The rhizosphere. New York: Marcel Dekker., p95-141.

Bubici G., Marsico A.D., D'Amico M., Amenduni M., and Cirulli M., (2013) Evaluation of Streptomyces spp. For the biological control of corky root of tomato and Verticillium wilt of eggplant, Appl.Soil Ecology., 72:128-134.

Choulet F., (2006) Evolution du genome des Streptomyces: transfer horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy 1., p 210.

Conn V.M., (2005) Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. F linders University.

Courvalin P., Philippon A., (1990) Mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne aux agents antibactériens. *In* : Le Minor. L., Véron M. Bactériologie médicale. Medecine-Sciences. Flammation. France., 14 : 332-355.

Crawford D. L., Lynch J. M., Whipps J. M., Ousley M. A.,(1993) Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. Applied and Environmental Microbiology., 59: 3899-3905.

Cuesta G., Garcia-de-la-Fuente R., Abad M., and Fornes F., (2012) Isolation and identification of actinomycetes from a compost-amended soil with potential as biocontrol agents, J. Environ. Manag., 95: 280-284.

Dairi T.,(2005) Studies on Biosynthetic Genes and Enzymes of Isoprenoids Produced by Actinomycetes. J. Antibio., 58(4): 227-243.

Davet P., (1996). La vie microbienne de sol et production végétale. (eds) INRA, Paris, France., p383.

Demain A. L., (2009) Antibiotics: Natural products essential to human health. Medicinal Research Reviews., 29: 821-842.

Delaunay S., Rondags E., et Germain P., (2003) Production d'antibiotiques par biotechnologies, Tech. de l'ingé., J 6008: 1-12.

Dommergue Y., Duhoux E., Diem H.G., (1999) Les arbres fixateurs d'azote: caractéristique et role dans l'aménagement des ecosystems méditerranéens et tropicaux. Paris: Editions., p489

Dommergue Y., Mangenot F., (1970) Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie (Eds.), Paris.

Domenico B., (1999) Novel Antifungal drugs curr opin Microbial., 2: 509-15

Eunice J.A and prosser J.I., (1983) Mycelial growth and branching of Streptomyces coelicolor.A3(2) on solid medium. J. gen. Microbiol., 129: 2029-2036.

Fan L., Zheng J., Yang X., (2010) The effect of natural air-dry time on actinomycetes Isolation from sample soil. Journal of Hainan Medical University.

Gomes R. C., Semedo LTAS., Soares RMA., Alviano CS., Linhares LF., et Coelho RR., *(*2000) Chitinolytic actinomycetes from a Brazilian tropical soil active.

Goodfellow M, et Williams S. T., (1983). Ecology of Actinomycets. Ann Rev Microbiol., 37: 189-216.

Gottlie D., (1973). Général considération and implication of the Actinomycetales. In: actinomycetales caracteristics and practical importance. Edited by G. Sykes and F. A. Skinner. AcademicPress, London, New York.

Guiraud J. P., (1998) Techniques d'analyses microbiologiques. In: Microbiologie alimentaires. *Dunod, paris*., p168-333.

Hiltner, L.,(1904). Uberneue Erfahrungenund Problemeaufdem Gebiet der Bodenbakteriolgie and un terbes on deres Berucksichtigung der Grundugungen and Braunche. ArbDtsch Landwirt Ges Berl,98.,p: 59-78.

Hugues F., (2008) Pasteur le Mag., (5): 44.

Ibekwe A.M., Poss J.A., Grattan S.R., Grieve C.M., and Suarez D., (2010) Bacterial diversity in cucumber (Cucumis sativus) rhizosphere in response to salinity, soil pH, and boron, *Soil Biol. &Biochem*., 42:567-575.

Jayasinghe D.B.A.T., andParkinson D., (2008) Actinomycetes as antagonists of litter decomposer fungi. *Appl.Soil. Ecolog*., 38: 109-118.

Jean G., Mirielle B., *Ctifl* ., (2000) Tomate *pour un produit de qualité*. Hortipratic . Editions centre technique Mars 2000interprofessionnel des fruits et légumes 22 rue Bergère- 75009 paris. P:

Kataoka R., and Futi K., (2011) Endophytic actinomycetes from Plnus thunbergli and their antifungal activity againt Cylindrocladium sp., *Arch. Phtopathol. Plant Protec*., 44: 1852-1861.

Kaur T., Sharmaa D., Kaura A., and Manhasa R.K., (2013) Antagonistic and plant growth promoting activities of endophytic and soil actinomycetes, Archives Of Phtopathology And Plant protection., 46: 1756-1768.

Karthikeyan B., Abdul Jaleel C., Lakshmanan G.M.A., and Deiveekasundaram M., (2008) Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants, Colloi. Surf. B: Bioi nterf., 62: 143-145.

Kennedy A.C., (1999) The rhizosphere and spermophere. *In*: Principles and Applications of Soil Microbiology, Eds. Sylvia D.M., Furhrmann J.J., Hartel P.G., and Zuberer D.A. Prentice Hall, Inc.: New Jersey, USA., p402-403.

Khachatourians G. G., (1998) Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic- resistant bacteria. *Can. Med. Asson*. (CMAJ)., 159(9): 1129-1136.

Kieser T., Bibb M. J., Buttner M. J., Chater K.F., Hopwood D. A., *(*2000) General introduction to Actinomycete Biology. In: Practical Streptomyces The Innes Foundation, Crowes, Norwich, England., p1-21.

Kim S.B., Senong C.N., Jeon S.J., et Goodfellow M., (2004) Taxonomic study of neurotolerant yeochonensissp. *Nov. Int. J. Evol. Microbiol*.,54: 211-214.

Kumar A., Bohra C., Singh C.K., (2003) Environment pollution and management. India: New delhi-110035(ED)., p 532-534.

Lamari L., (2006) Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycètes, *Saccharothrixal geriensis.* Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou., p186**.**

Lechevalier H. A. et Lechevalier M.P., (1967) Biology of actinomycetes. Ann. Rev. Microbiol., 21: 71-100.

Lechevalier H. A., et Lechevalier M. P., (1981) Introduction to the order Actinomycetales. In: The prokaryotes, Vol. 2 (Starr M. P, H. Stolp H. G., Truper A. Ballows et H. G. Schlegel. Eds.), Springer- Verlag, Berlin., p1915-1922.

Lechevalier H., (1985) Biology of actinomycetes not belonging to genus streptomyces In: Biology of industrial microorganisms. The Benjamen Cummings Publishing Company, INC., p: 315-360.

Leminor L., Veron M., (1989) Bacteriologie médicale. 2éme édition.,p 335-349.

Lynch J.M., (1990). Introduction: some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. In: Lynch JM (Ed) The rhizosphere. Wiley, Chichester., p 1-10.

Martin, J. K., et Kemp, J. R.,(1980) Carbon loss from roots of wheat cultivars. Soil Biology and Biochemistry., 12: 551-554.

McDermott W., Muschenhiem C., Hadley S. J., Brunn P.A., (1947) Streptomycin in the treatment of tuberculosis in humans. Annals of Internal Medicine., 27: 769-822.

McGahan D.G., Southard R.J., and Zasoski R.J., (2014) Rhizosphere effects on soil solution composition and mineral stability, Geoderma, 226-227: 340-347.

McKinney R. E., (2004) Environmental Pollution Control Microbiology. CRC Press: New York.,p 448.

Mellouk I., Meklat A., Nalubega F., Chaabane C., Fawzia., Ait Yahia A., Bounas N., Mokrane S., Mathieu F., et Sabaou N., (2016) Description et potential antagoniste d'une nouvelle souche d'actinobactéries isolée de la cote de Tipaza., 9(1): 65-78.

Morel R., (1996) Les sols cultivés, 2 éd. Paris: Tech. Doc., p389.

Mustafa O., Usame T., and Cem A., (2004) Antibacterial activity of some actinomycetes isolated fromframing soils of turkey.African Journal of Biotechnologie., 3(9): 441-446.

Nakaew NW., Pathom-aree., et Lumyong *S., (*2009) Generic diversity of rare actinomycetes from Thai cave soils and their possible use as new bioactive compounds. Actinomycetologica., 23: 21-26.

Nanjani S. D., Soni H.P., (2011) Isolation and characterization of extremely halo tolerant and halo philic organisms from dwarka andveraval. Bioinformatica.,1(1):1-15.

Pizzul L., (2006) Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbours by Actinomycetes. Thèse de Doctorat. Université d'Uppsala (Suède).,p39.

Pochon J., Tardieux P., (1962) Techniques d'analyse en microbiologie du sol. *Edition de la tourelle, Saint. Mandé.*, p110-111.

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., (2007) Microbiologie. De Boek and Larcier, Bruxelle., p805-825.

Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A., (2010) Microbiologie. De Boeck: Bruxelles. 2eme édition., p589.

Prescott C.E., and Grayston S.J., (2013) Tree species influence on microbial communities in litter and soil: current knowledge and research needs, *For. Ecol. Manag., 309:* 19-27.

Rangaswami G., Bagyaraj. D. J., Bagyaraj D.G., (2004) Agricultural Microbiology. PHI: New Delhi.,p440.

Rapilly F., (1968) Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Annules des Epiphytes, vol.19. Institut National de la recherche Agronomique, Paris., p102.

Revel J., E. M. H. Willington et R. T. Hill., (2000) Interspecific transfer of Streptomyces giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. Appl. Enveron. Microbiol.,66: 529-534.

Rothrock C.S., et Gottlied D., (1981) Role of antibiosis in antagonism of Streptomyces hygroscopicus var. geldanus to Rhizoctonia solani. *Canadian Journal of Microbiology*., 30: 1440-1447.

Richardson A.E., Barea J.-M., and Prigent- Combaret C., (2009) Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms, *Plant Soil*, 312: 305-339.

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

Sabou N., Hacène H., Bennadji A., Bennadji H., et Bounaga N., (1992) Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algerienne. *Can. J. Microbiol*., 38:1066-1073.

Sateesh V., Naikpatil et Rathod J.L., (2011) Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. Journal of Ecobiotechnology., 3: 48-53.

Sanglier J.J., Haag H., Huck T.A., Fehr T., (1993) Novel bioactive compounds from actinomycetes: a short review (1988-1992). *Res Microbiol.,*144: 633-642.

Soderberg K.H., et Baath E., (1998) Bacterial activity along a young barley root measured by the thymidine and leucine incorporation technique. Soil Biology and Biochemistry., 30 (10-11): 1259-1268.

Smith SE., Read D.J., (1997) Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London, etc

Sharma D., Kaur T., Chadha B. S., et Manhas. R. K., (2011) Antimicrobial Activity of Actinomycetes Againt Multidrug Resistant Staphylococcus aureus, *E. coli* and Various Other Pathogens. Tropical Journal of Pharmaceutical Research December.,10(6): 801-808.

Shirling E. B et Gottieb D., (1966) Methods for characterization of Streptomyces species. International journal of systematic bacteriology.,16(3): 313-340.

Sibanda T., Leonard V., Mabinya L.V., Mazomba N., Akinpelu D. A., Bernard K., Olaniran A. O., and Okoh A.I., (2010) Antibiotic Producing Potentials of Three Freshwater Actinomycetes Isolated from the Eastern Cape Province of South Africa. *Int J Mol Sci*., 11(7): 2612–2623.

Stengel P., Gelin S., Coord., (1998) Sol: interface fragile. INRA, Paris.,p93-94.

Thakur D., Yadav A., Gogoi B.K., and Bora T.C., (2007) Isolation and screening of Streptomyces in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites, *J. Mycol. Méd*., 17: 242-249.

Tortora G. J., Frunke B.R., et Case L.C., (2003) Introduction à la microbiologie. 7ème éd. Saint. Laurent: ERPI.

Uyeda M., (2004) Metabolites produced by actinomycetes--antiviral antibiotics and enzyme inhibitors. Yakugaku Zasshi.,124: 469-479.

Vijayakumar R; Muthukumar. C; Thajuddin. N; Panneerselvam. A; and Saravanamuthu. R. (2007). Studies on the diversity of actinomycetes in the Palk Strait region of Bay of Bengal, India. Actinomycetologica., 21(2):59-65.

Wang J., Soisson S., M., (2006) Platensimycineis a selective Fab F inhibitor with potent antibiotic properties. Nature., 441: 99-110.

Williams S.T., Goodfellow M., Wellington E. M. H., Vickers J. C., Alderson G., Sneath P. H. A., Sackin M. J., et Mortimer A. M., (1984) A probability matrix for identification of some streptomycetes. J. Gen. L Microbiol., 129: 1815-1830.

Zvyagintsev D. G., Zenova G., Sudnizin I.I., et Doroshenko E. A., (2005) The anbility of Soil Actinomycetes to Developat an Extremely Low Humidity., 405: 461-463.

Zitouni A., (1995) Les genres Nocardiopsis et Sacchharothrix (Actinomycetales) dans les sols sahariens: taxonomie numérique: extraction, purification et caractérisation de quelques antibiotiques synthétisés. Thèse de magister, spécialité: Microbiologie. Ecole Normale Supérieur de Kouba, Alger., p177.

Zitouni A., Boudjella H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabou N., (2005) *Nocardiopsis* and *Saccharothrixgenera* in Saharan soils in Algeria: Isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. Research in Microbiology.,156: 984-993.

Annexe

Annexe

Gélose nutritive (Guiraud, 2002)

Extrait de viande……..... 01g

Extrait de levure…….....…….… 02g

Peptone…….....…….. 05g

Chlorure de sodium…….....……. 05g

Agar…….....…….…. 15g

pH…….....…. 7.4

ISP2 (Shirling et Gottlieb, 1966)

Extrait de malt…….....……. 10g

Extrait de levure…….....…..… 04g

Glucose…….....……. 04g

Agar…….....…. 20g

Eau distillé…….....…… 1000ml

pH…….....……..… 7.2

Eau physiologique

Chlorure de sodium…….....… 09g

Eau distillée…….....……... 1000ml

Milieu amidon extrait de levure peptone (M2)

Amidon…….....… 10g

Extrait de levure…….....… 04g

Peptone…….....… 02g

Agar…….....……. 18g

PDA (Rapilly, 1969)

Pomme de terre (macération 500 ml de filtrat).....	500ml
Glucose.....	200g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	500ml
pH.....	6.5

Résumé

L'évolution constante de la résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence des nouvelles maladies infectieuses justifient l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. Dans cette étude nous avons testé l'activité antimicrobienne des neufs actinobactéries isolés à partir d'un rhizosphère de plante *Daucus sahariensis Merb*, prélevées de la région de Boussaâda à M'sila, zone aride à semi -aride situé au nord- est de l'Algérie. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la technique des stries croisées vis-à-vis de cinq bactéries *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Kelbseuilla pheumoniae* ATCC 532, *Enterococus faccalis* ATCC 2035, *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus*ATCC6538 et champignons filamenteux *phytophtora* (phytopathogène) et une levure *Candida albicans* ATCC10231. Les 03 isolats d'actinobactériesMSBA1, MSBA2 et MSBA5 montrées une activité contre tous les bactéries tests sauf *Bacillus subtilis* ATCC 6633.Les isolats MSBA5 que possède une forte activité vis-à-vis des microorganismes-tests. Ces isolats peuvent être un potentiel agent producteur de nombreuses molécules bioactives, en particulier les antibiotiques d'intérêts biotechnologique et pharmacologique.

Mots clés: Isolement, Actinobactéries, Sol rhizosphérique, Activité antimicrobienne.

Abstract

The constant evolution of the bacterial resistance in antibiotics and the emergence of new infectious diseases justify the urgency to arrange new antimicrobial molecules. In this study we tested the antimicrobial activity of actinomycetes isolated form asoil of plant
Daucus sahariensisMerb , appropriated of the region Boussaada à M'sila, arid zone to semi-arid situated in the north-east of Algeria,The antimicrobial activity was estimated by the technique of stries croisées against feve bacteria *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Kelbseuillapheumoniae* ATCC 532,*Enterococusfaccalis* ATCC 2035, *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* and filamentous fungi *phytophtora* (phytopathogenic), and *Candida albicans* ATCC10231 yeast. The three actinobacter **MSBA1**, **MSBA2** and **MSBA5** isolate have shown activity against at for tests bacteria.The larger zones of inhibition were observed with **MSBA5** possess a strong activity against at least one of the microorganisms-tests. These isolates can be a potential agent producing of many bioactive molecules, in particular the antibiotics of interest biotechnology and pharmacology

Key words: Isolation, Actinobacter, rhizosphere Soil, antimicrobial Activity.

ملخص

التطور المستمر لمقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية و ظهور امراض معدية جديدة يبرز الحاجة الملحة لجزيئات جديدة مضادة للميكروبات . في هذه الدراسة اختبرنا نشاط للمضادات البكتيرية لتسعة من البكتيريا الهيفية المعزولة من تربة الجذر لنبتة(*Daucus sahariensis Merb*) جمعت من منطقة بوسعادة في المسيلة .وهي منطقة شبه جافة الى جافة تقع شمال شرق الجزائر.تم تقييم نشاط مضادات الميكروبات بواسطة تقنية عبر الشرائط ضدخمسة من البكتيريا(*Kelbseuilla* ,*Bacillus subtilis* ATCC 6633 *pheumoniae* ATCC 532, *Enterococusfaccalis* ATCC 2035, *E. coli*; ATCC 25922, *Staphylococcus aureus*)وفطري (*phytophtora*) وخميرة (*Candida albicans* ATCC10231) ثلاثة من العزلات البكتيرية الهيفية (**MSBA1**, **MSBA2**,**MSBA5**) أثبتت نشاطها ضد البكتيريا المجربة باستثناء(*Bacillus subtilis* ATCC 6633), تم تسجيل اكبر منطقة تثبيط للعزلة (**MSBA5**) حيث تملك نشاط قوي ضد البكتيريا والفطريات. هذه العزلات عامل قوي إنتاجي للعديد من الجزيئات الحيوية النشطة خاصة المضادات الحيوية ذات أهمية في البيوتكنولوجيا الحيوية والصيدلة.

الكلمات المفتاحية: عزل ،البكتيريا الهيفية، تربة الجذور، نشاط مضادات الميكروبات.