

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة الجبالي بونعامة خميس مليانة  
Université Djilali Bounaama Khemis Miliana  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre  
Département de Biologie



*Mémoire de fin d'études*  
En vue de l'obtention du diplôme de **Master** en  
**Domaine** : Sciences de la Nature et de la Vie  
**Filière** : Sciences Biologiques  
**Spécialité**: Microbiologie Appliquée

## *Caractérisations de quelques isolats d'actinomycètes et mise en évidence de production de molécules bioactifs*

*Présenté par :*

*M<sup>elle</sup> : Djemai Sarah*  
*M<sup>elle</sup> : Djemai Meriem*

*Soutenu le : 22 Septembre 2019, Devant le jury:*

*Président* : Mme LAÏSSAOUI A. MAB - Université DBKM  
*Examinatrice* : Mme BRAHIMI S. MAA - Université DBKM  
*Promotrice* : Mme GHOMARI F.N. MAA - Université DBKM  
*Co-Promotrice* : Mme CHABANE S. Université DBKM

*Année universitaire : 2018 / 2019*

## Liste des abréviations

**µl** : Micromètre.

**ADN** : L'acide désoxyribonucléique.

**Al**: aluminum.

**ARN** : L'acide ribonucléique.

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**ATP** : adénosine triphosphate.

**BBP**: bleu de bromophénol.

**BTEX** : Benzène B; Toluène T; Éthylbenzène E; Xylènes X.

**Ca**: calcium.

**Cm** : centimètre.

**C°** : degré Celsius.

**%** : pourcentage.

**DO** : densité optique.

**Fe**: fer.

**FK** : Fibrose Kystique

**G** : gramme.

**G** : grossissement.

**HCl** : chlorure d'hydrogène.

**ISP** : International- Streptomyces –Project.

**L** : litre.

**M** : mètre.

**MA** : mycélium aérien.

**Min** : minute.

**ml** : millilitre.

**mm** : millimètre.

**MS** : mycélium du substrat.

**N**: azote.

**NaCl** : Chlorure de Sodium.

**Nm** : nanomètre.

**P** : phosphore.

**PCR**: polymerase chain reaction.

**PGPR**: acronyme de Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

**PH** : Potentiel en Hydrogène.

**Pi** : phosphore inorganique.

**PLP** : Protéines liant les Pénicillines.

**Po** : phosphore organique.

**Ppm** : partie par million.

**PSM**: phosphor isolation microorganisms.

**PVK**: Pikovskaya.

**TCP**: calcium triphosphate.

**TIAC**: toxi-infection alimentaire collective.

**V** : volume.

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Cycle de développement du genre <i>Streptomyces</i> .....	08
<b>Figure 02</b> : Différentes chaînes de spores chez les actinomycètes; spores endogènes .....10 (A) et spores exogènes (B).	
<b>Figure 03</b> : Applications biotechnologiques des actinomycètes.....	13
<b>Figure 04</b> : Pigments diffusibles produits par diverses actinobactéries dans.....17 le milieu amidon-caséine agar.	
<b>Figure 05</b> : Cycle du phosphore dans le sol.....	21
<b>Figure 06</b> : Présentation schématique de la technique de culture sur lamelle.....	28
<b>Figure 07</b> : Etapes pour l'extraction des molécules bioactives produites par.....30 les actinomycètes.	
<b>Figure 08</b> : Croissance des isolats A06 et A46 sur milieu ISP4 après 7 jours.....33 d'incubation.	
<b>Figure 09</b> : Observations au microscope optique des cultures sur lamelles.....35 des actinomycètes après coloration au bleu de Méthylène (Gx100).	
<b>Figure 10</b> : Couleur du mycélium de substrat (En beige pour l'isolat A03.....36 et en crème pour l'isolat A41).	
<b>Figure 11</b> : Aspects macroscopiques de quelques isolats d'actinomycètes.....	37
<b>Figure 12</b> : Observations par la loupe binoculaire de quelques isolats.....38 d'actinomycètes (Gx4).	
<b>Figure 13</b> : Production des pigments mélanoïdes sur milieu ISP7.....	40
<b>Figure 14</b> : Activité antibactérienne des extraits méthanoïques de quelques.....41 isolats d'actinomycètes.	
<b>Figure 15</b> : Effet antibactérien des extraits méthanoïques de quelques isolats.....42 d'actinomycètes.	
<b>Figure 16</b> : Mise en évidence de la solubilisation du phosphore par les isolats.....44 D'actinomycètes.	
<b>Figure 17</b> : Diamètre du halo de solubilisation du phosphore par les isolats .....45 d'actinomycètes.	
<b>Figure 18</b> : Efficacité de la solubilisation du phosphore (%) par les isolats.....46 d'actinomycètes.	



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Habitats de certains actinomycètes	11
<b>Tableau 02</b> : Références des bactéries indicatrices	26
<b>Tableau 03</b> : Caractères morphologiques de 03 isolats	34

# *Table de matière*

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01

## *Partie I : Synthèse Bibliographie*

### **Chapitre I : Généralités sur les actinomycètes**

1. Définition .....	03
2. Taxonomie .....	03
3. Critères actuels d'identification .....	05
3.1. Critères morphologiques.....	05
3.2. 3.1.1. Mycélium aérien.....	06
3.3. 3.1.2. Mycélium de substrat.....	06
3.4. Critères chimio-taxonomiques.....	05
3.3 Critères moléculaires .....	07
4. Cycle de développement (Ex : le genre <i>Streptomyces</i> ).....	08
5. 4.1. Formation des spores.....	08
5.1.1. Les exo spores.....	08
5.1.2. Les endospores.....	09
5.1.3. Structures particulières.....	09
6. Ecologie.....	11
7. Importance des actinomycètes.....	11
6.1. En agronomie .....	11
6.2. En biotechnologie .....	12

6.3. Autre rôles.....	13
-----------------------	----

## **Chapitre 02 : Les actinomycètes et les substances bioactives**

1. Le métabolisme des actinomycètes.....	14
1.1. Le métabolisme primaire.....	14
1.2. Le métabolisme secondaire .....	14
2. Les substances bioactives.....	15
2.1. Les antibiotiques.....	15
2.2. Les enzymes .....	16
2.3. Les vitamines .....	17
2.4. Les pigments.....	17
2.5. Les bios herbicides .....	17
2.6. Agents anti tumoraux .....	18
2.7. Les immunosupresseurs.....	18
2.8. Les antifongiques et antiparasitaires .....	18
3. La bioremédiation .....	19
4. La solubilisation du phosphore.....	20
4.1. Cycle de phosphore dans le sol .....	20
4.2. Mécanisme de solubilisation du phosphore par les actinomycètes.....	21
5. Généralités sur les bactéries cibles .....	22
5.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
5.2. <i>Bacillus cereus</i> .....	22
5.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	23
5.4. <i>Escherichia coli</i> .....	24
5.5. <i>Bacillus subtilis</i> .....	24

## **Partie II : Etude expérimentale**

### **Chapitre 01 : Matériel et Méthodes**

1. Période et lieu de stage.....	25
2. Matériel utilisé.....	25
3. Méthodes utilisées .....	26
3.1. Revivification des isolats d'actinomycètes.....	26
3.2. Conservation des souches d'actinomycètes .....	26
3.3. Etude morphologiques.....	26
3.3.1. Etude micro-morphologique.....	26
3.3.2. Etude macromorphologique.....	27
3.3.3. Etude physiologique .....	27



3.4. Extraction préliminaire des molécules bioactives.....	29
3.4.1. Production de molécules bioactives sur milieu liquide.....	29
3.4.2. Extraction de molécules bioactives.....	29
3.5. Mise en évidence de l'activité antibactérienne sur milieu solide.....	31
3.5.1. Culture des bactéries-cibles .....	31
3.5.2. Méthode des disques .....	31
3.6. Mise en évidence de la solubilisation du phosphate inorganique.....	31

## **Chapitre 02 : Résultats et discussions**

1. Revivification des isolats.....	33
2. Etude morphologique des isolats d'actinomycètes .....	34
2.1. Etude micro morphologique .....	34
2.2. Etude macromorphologique.....	35
3. Etude physiologique des isolats d'actinomycètes.....	39
3.1. Production des pigments mélanoides.....	39
4. Extraction de molécules bioactives et mise en évidence de l'activité.....	40
antibactérienne	
4.1. Extraction à partir des filtrats de culture.....	40
4.2. Extraction à partir du culot.....	41
5. Mise en évidence de la solubilisation du phosphate inorganique .....	43
Conclusion.....	49
Références bibliographiques.....	51
Annexe.	



## Résumé

Dans cette étude 33 isolats d'actinomycètes préalablement isolés ont été testés pour leur capacité à solubiliser le phosphore et étudier l'activité antibactérienne de leurs métabolites secondaires. L'étude des caractères morphologiques après observation macroscopique a montré que la majorité des colonies sont petites, régulière ou non, aplaties ou bombées, pigmentées, sporulées et poudreuses avec une odeur terreuse. Après coloration simple et coloration de Gram l'observation microscopique a montré que les isolats sont formés de filaments, ramifiés et de coloration de Gram positive. La mise en évidence de l'activité antibactérienne a été réalisée par la technique des disques de diffusion, vis-à-vis de trois souches bactériennes à coloration de Gram+ : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, et deux autres à coloration de Gram- : *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. L'extrait méthanoïque de l'isolat A41 montre la plus forte activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* qui s'est manifestée par une zone d'inhibition d'un diamètre remarquable (30 mm). La plupart des isolats sont capables de solubiliser le phosphore sur gélose PVK mais à des degrés différents. Les isolats A11 et A47 ont montré un pouvoir de solubilisation de 25 et 17 mm de diamètre de solubilisation, respectivement et une efficacité de solubilisation importante de 416% et 383%, respectivement.

**Mots clé :** Actinomycète, activité antibactérienne, extrait méthanoïque, solubilisation du phosphore, gélose PVK.

Les sols d'Algérie bien que soumis à un climat aride à subhumide, montrent une biodiversité surprenante d'actinomycètes, bactéries mycéliennes à Gram positif, ubiquitaires, rencontrés sur tous les substrats naturels et jouent un rôle dans la décomposition des matériaux biologiques et dans le processus d'humification. Leur nombre dans la microflore tellurique dépend de la nature, la profondeur, le pH, l'humidité et l'aération (**Larpent et Sanglier, 1989**).

Les actinobactéries sont des microorganismes procaryotes ayant un pourcentage de guanine-cytosine élevé (supérieur à 55%) qui les différencie des autres bactéries. En outre, elles forment phylogénétiquement une branche à part et sont caractérisées par une très grande diversité morphologique, pouvant aller de la forme cocci à la forme mycélienne parfaite (**Goodfellow, 2012**).

Le genre *Streptomyces* est très répandu dans le sol où il représente souvent 70 à 90 % des actinomycètes. Leur densité augmente dans les sols alcalins et décroît dans les sols submergés (Goodfellow et Williams, 1983). Leur présence dans les sols est très importante en raison de leur aptitude à dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries (Crawford, 1993), et à produire des substances prébiotiques et antibiotiques (**Kieser et al., 2000**).

De nombreux métabolites secondaires ont été isolés dans une variété de microorganismes et ont été employés dans beaucoup de domaines : l'industrie, l'agriculture, science vétérinaire et pharmaceutique (**Oskay et al., 2004**). Cependant, des études sont en cours pour identifier de nouveaux métabolites secondaires efficaces contre les mycètes et les bactéries pathogènes. Les actinomycètes représentent une source biologique utile d'antimicrobiens contre des mycètes et des bactéries pathogènes. Ils sont surtout réputés pour leur grande capacité à produire naturellement des antibiotiques: environ 70% des molécules actives sont d'origine microbienne (**Okami et Hotta., 1988**).

D'autre part, le phosphore est considéré comme l'élément le plus important dans la nutrition des plantes après l'azote. Il s'agit d'un composant essentiel dans toutes les principales procédures métaboliques des plantes, telles que le transfert d'énergie la photosynthèse, la transduction du signal et la respiration (**Khan et al., 2010**).

Le phosphore inorganique se trouve dans les sols, principalement dans des complexes minéraux insolubles tels que le phosphate tricalcique, le phosphate de fer et le phosphate d'aluminium (**Khan et al., 2014**) qui apparaissent après des applications répétées d'engrais chimiques. Les plantes n'ont pas la capacité d'absorber ces formes insolubles, en plus seulement 0,1% du phosphore total se trouve sous forme soluble et disponible pour la nutrition des plantes (**Chen et al., 2006**).

De ce fait, les niveaux de phosphore disponibles doivent être complétés dans la plupart des sols agricoles en ajoutant des engrais chimiques à base de phosphore. Les applications fréquentes et imprudentes des engrais chimiques de phosphore conduisent à une diminution de la fertilité du sol en perturbant la population microbienne et réduisent ainsi le rendement des cultures agricoles (**Gyaneshwar et al., 2002**).

Pour résoudre ce problème, l'utilisation des bactéries solubilisant le phosphate est une solution alternative du fait de leur capacité à solubiliser le phosphate dans les conditions normales et sous stress salin. Cette pratique est d'ailleurs soutenue par plusieurs chercheurs (**Khan et al., 2007**). C'est une stratégie respectueuse de l'environnement et économiquement réalisable pour améliorer la production végétale et augmenter les rendements des cultures dans les sols pauvres en phosphore (**Zaidi et al., 2009 b**).

La présente étude a été réalisée, avec des objectifs de mettre en évidence l'activité antibactérienne des extraits d'actinomycètes après production et extraction de molécules bioactives et de sélectionner les isolats capables de solubiliser le phosphore inorganique.

Ce mémoire est structuré de deux parties :

- Une première partie présente une synthèse bibliographique sur les actinomycètes, leur cycle de développement, leur écologie, leur importance et applications dans divers domaines ainsi que les différentes molécules bioactives qu'ils produisent et leur nature.
- Une deuxième partie porte, d'une part, sur la description des techniques expérimentales utilisées le long de ce travail et d'autre part, traite les résultats obtenus avec leur interprétation.
- Enfin, une conclusion et des perspectives.

## Chapitre 01 : Généralités sur les actinomycètes

### 1. Définition

Ce sont des bactéries Gram positif chimio-organotrophes dont l'ADN contient un pourcentage en GC supérieur à 50 %, Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyen est environ 2 à 3 heures (**Beckers *et al.*, 1982**). Ils développent des filaments ramifiés dans la gélose formant un mycélium végétatif et à la surface de la gélose formant un mycélium aérien. Ce dernier, forme des conidies ou conidiospores. La plupart des actinomycètes sont immobiles, à l'exception des *Actinoplanes* (**Locci, 2005**).

Les actinomycètes n'ont pas de membrane nucléaire, elles possèdent des organites flagellaires ressemblant à ceux des bactéries. Elles sont, pour la plupart, sensibles aux lysozymes et aux agents antibactériens ; le diamètre de leurs hyphes est plus petit que celui des champignons (**Gottlieb, 1973**).

En général, les actinomycètes sont des hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimio-auto trophique (**Ensign *et al.*, 1993**). Certaines ont des exigences nutritionnelles tels que les vitamines et certains acides aminés. Ils colonisent fréquemment les substrats insolubles tels que le charbon (**Crawford., 1993**) et peuvent dégrader les protéines, la celluloses et d'autre matières organiques comme la paraffine (**Hernandes-Coronado *et al.*, 1997**) et les résidus des plantes dans le sol (**Lacey, 1997**).

Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin, ils sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérants des températures avoisinant 50 °C et peuvent aller jusqu'à 60 °C (**Omura, 1992**).

### 2. Taxonomie

La taxonomie des actinobactéries est basée sur un ensemble de caractères morphologiques, physiologiques, chimio taxonomiques et génomiques. L'ensemble des caractéristiques de chaque taxon bactérien est répertorié dans le Manuel de Bergey, un ouvrage de référence pour la taxonomie des bactéries, dont le plus récent comprend un volume en deux parties dédié aux *Actinobacteria* (**Goodfellow *et al.*, 2012**).

Jusqu'à ces dernières années, Les actinomycètes appartiennent au règne des Procaryotes, à la division des Firmicutes et à la classe des Thalobacteria, contenant l'ordre des Actinomycétales (**Larpent, 2000**), qui à lui seul regroupe environ 45 familles et près de 290 genres (**Kämpfer, 2010**).

**Stanier (1966)**, subdivise les actinomycètes en quatre familles :

- **Famille des Mycobactériacées**

Ce sont des actinomycètes dont la morphologie est la plus voisine de celle des bactéries, le mycélium formé en début de développement se rompt rapidement pour libérer des bâtonnets ramifiés ou irréguliers. Les Mycobactériacées présentent des affinités marquées avec les Corynebactériacées et les bactéries lactiques.

Ils se différencient des autres bactéries et actinomycètes, à l'exception de certains nocardia, par leur acido-résistance. Cette famille est représentée par le seul genre *Mycobacterium* qui comprend des espèces pathogènes dont la plus connue est *Mycobacterium tuberculosis*, agent de la tuberculose (**Stanier, 1966**).

- **Famille des Actinomycétacées (proactinomycètes)**

Cette famille représentée par les genres *Nocardia* et *Actinomyces* occupe une position intermédiaire entre les Mycobactériacées caractérisées par une structure bactérienne et les Streptomycétacées caractérisées par une structure pseudo mycélienne. Elle diffère des Mycobactériacées par sa croissance presque entièrement mycélienne avec toutefois une tendance variable à la segmentation, elle diffère des Streptomycétacées par l'absence de conidies (**Stanier, 1966**).

- **Famille des Streptomycétacées :**

Cette famille est caractérisée par une structure mycélienne. Le genre *Streptomyces* est très répandu dans le sol où il représente souvent 70 à 90 % des actinomycètes. Il se distingue des *Nocardia* par leur mycélium végétatif persistant quelque soit le stade de développement et une reproduction par des conidies en chaîne. Les colonies de *Streptomyces* comprennent un mycélium végétatif très serré, implanté dans le milieu et un mycélium aérien, plus lâche d'aspect poudreux, formé d'hyphes terminés par des conidies en chaînes.

Le genre *Micromonospora* est caractérisé par un développement faible ou nul du mycélium aérien : les conidies isolées ou en grappes sont portées directement par le mycélium végétatif. Les différentes espèces pour la plupart thermophiles, se développent surtout dans les fumiers et les composts (Stanier, 1966).

- **Famille des Actinoplanacées**

Les espèces appartenant à cette famille ont un cycle qui présente un stade mobile (sporangiospores mobiles), le genre *Actinoplanes* est aquatique (Stanier, 1966).

### 3. Critères actuels d'identification

#### 3.1. Critères morphologiques

Les critères morphologiques font appel aux caractéristiques culturales sur différents milieux de culture et aux caractéristiques morphologiques (Shirling et Gotlieb, 1966).

Il s'agit alors de noter :

- la présence ou l'absence de mycélium aérien (MA).
- la couleur du MA et du mycélium de substrat (MS).
- la production et la couleur des pigments diffusibles.
- la production ou non de pigments mélanoides.

Les couleurs sont souvent déterminées grâce à l'utilisation d'une charte de couleur. Les colonies formées sur milieu solide par les actinomycètes sont très particulières. Elles résultent de l'accumulation des hyphes ramifiés et non pas de cellules comme c'est le cas chez les bactéries non filamenteuses. Le diamètre des colonies est variable de 1 à 10 mm. L'aspect des colonies peut être compact, sec, lisse, rugueux à contours lisse ou échancrés. Les colonies sont souvent pigmentées (blanc, crème, jaune, violet, rose, gris, etc., ...) (Perry *et al.*, 2004).

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.



### 3.1.1. Mycélium aérien

Le mycélium aérien est habituellement plus épais que le mycélium de substrat, il montre une différenciation suffisante selon laquelle plusieurs isolats peuvent être séparés en un certain nombre de groupes ayant des caractéristiques morphologiques similaires dans des conditions bien précises. Ceci est désigné comme l'un des critères les plus importants pour la classification du genre *Streptomyces* en espèces, comprenant une structure (cotonnier veloutée ou en poudre), une formation d'anneaux ou de zones concentriques et de pigmentation.

### 3.1.2. Mycélium de substrat

Le mycélium de substrat d'actinomycètes a différentes tailles, formes et épaisseurs. Sa couleur varie du blanc ou pratiquement incolore à jaune, marron, rouge, rose, orange, vert ou noir.

D'autre part, les critères micromorphologiques importants des actinomycètes selon **Bouras (2006) et Boudjella (2007)**, sont les suivants :

- la fragmentation ou non du MS.
- la formation de spores exogènes sur le MA et/ou sur le MS, leur forme, leur taille et leur agencement (isolées, en chaînes) ; la présence ou non de sporophores, la surface des spores (lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue).
- la présence ou non de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges le nombre de spores par sporange ainsi que la longueur des sporangiophores.
- la présence de spores mobiles (ex : *Planomonospora*, *Actinoplanes*) ou non mobiles (ex : *Streptomyces*, *Streptosporangium*, ainsi que de nombreux autres genres.)

## 3.2. Critères chimio-taxonomiques

Les études menées par **Cummins et Harris (1956)**, **Roman et Nickerson (1956)** et **Hoare et worke (1957)** rapportées par (**Becker et al., 1965**) ont établi que les actinomycètes avaient une paroi cellulaire de composition très proche de celle des bactéries à Gram positif et ont également indiqué que la composition chimique de la paroi cellulaire pourrait fournir des méthodes pratiques afin de différencier les genres d'actinomycètes.

### 3.2.1. Les acides aminés

La paroi cellulaire des actinomycètes est composée soit d'une :

- Glycoprotéine contenant de la lysine, ce type de paroi est rencontré chez les formes fermentatives, habitants naturels des cavités de l'homme et des animaux, illustrées par le genre *Actinomyces*.
- Glycoprotéine contenant le plus souvent l'acide LL- 2,6 diaminopimélique (DAP), ce type de paroi se rencontre chez les formes oxydatives retrouvées essentiellement dans le sol, tel que les *Streptomyces*.

La glycine est également présente en quantité importante chez les *Streptomyces* et les *Actinoplanes* (Larpent et Sanglier, 1989).

### 3.2.2. Les sucres

La présence ou l'absence de quatre sucres (arabinose, galactose, xylose et madurose) dans les hydrolysats acides de cellules entières permet de classer les actinomycètes de type pariétal II, III et IV contenant du méso-DAP. Sur cette même base, il est aussi possible de répartir en deux sous-groupes les actinomycètes de type pariétal III selon la présence ou l'absence de Madurose. (Becker *et al.*, 1965), (Yamaguchi, 1965) et (Le chevalier et Le chevalier, 1970 b), divisèrent les actinomycètes en huit chimio types sur la base de l'analyse des acides aminés pariétaux et des sucres cellulaires, et dont les plus importants sont : L'arabinose (Ara.), le galactose (Gal.), le xylose (Xyl.), le madurose (Mad.) et le rhamnose (Rha.).

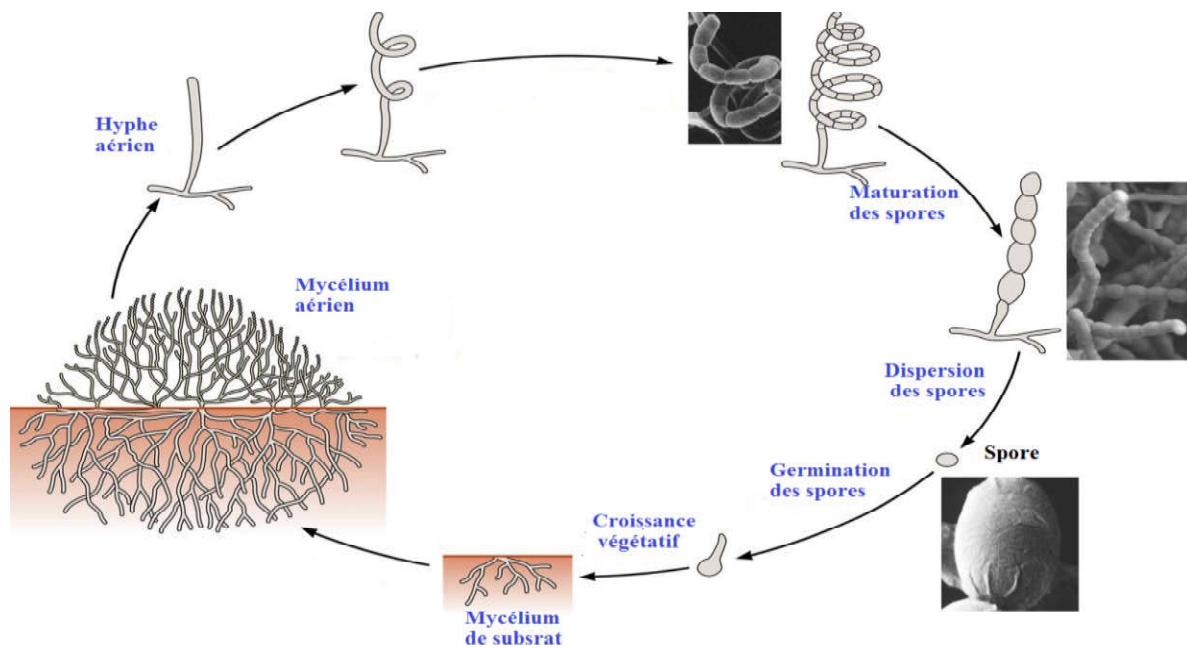
### 3.3. Critères moléculaires

Des techniques moléculaires plus récentes basées sur la PCR et l'étude de l'ARN ribosomiaux 16S, pas seulement pour les actinomycètes ; avec le nombre croissant des nouvelles espèces émergentes, et dans le besoin urgent de les classifier, l'étude de la séquence de l'ARNr16S, sa comparaison après alignement avec celles déjà connues et la construction d'un arbre qui mets en évidence la distance phylogénétiques entre les espèces s'avère être une technique plus rapide et plus faible (Prescott, 2010).

S'ajoute à cela, la détection des génomes similaires avec les techniques d'hybridation ADN-ADN des souches plus proches avec celle étudiée en se basant sur la complémentarité de leurs séquences. Un pourcentage élevé ou égale à 97 % considère deux souches comme appartenant à la même espèce (Madigan *et al.*, 2011).

#### 4. Cycle de développement (Ex : le genre *Streptomyces*)

Le genre *Streptomyces* possède un cycle de développement complexe sur milieu solide, il débute par la germination d'une spore qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes non septés, polynucléés, ramifiés et ancrés dans le milieu solide. La germination de spores comprend quatre étapes : l'activation, l'émergence du tube germinatif et sa croissance (Figure 01) (Manteca et Sanchez, 2010).



**Figure 01.** Cycle de développement du genre *Streptomyces* (Hopwood *et al.*, 1985).

#### 4.1. Formation des spores

Les différents groupes d'actinomycètes peuvent sporuler, ces derniers peuvent être classés en deux groupes principaux selon leur mode de formation : exo spores et endospores, ces spores permettent la propagation de l'espèce et la survie dans des conditions défavorables (Kitouni, 2007 ; Loucif, 2010).

##### 4.1.1. Les exospores

Les actinomycètes forment des spores sur le mycélium aérien appelées les exospores, qui peuvent avoir des formes très variables, elles se développent par septation des extrémités des filaments, habituellement en réponse à une privation en éléments nutritifs (Perscott *et al.*,

2007). La plupart ne sont pas résistante à la chaleur, mais contient des quantités plus importantes de potassium, de calcium et de manganèse que dans le mycélium de substrat (Kitouni, 2007).

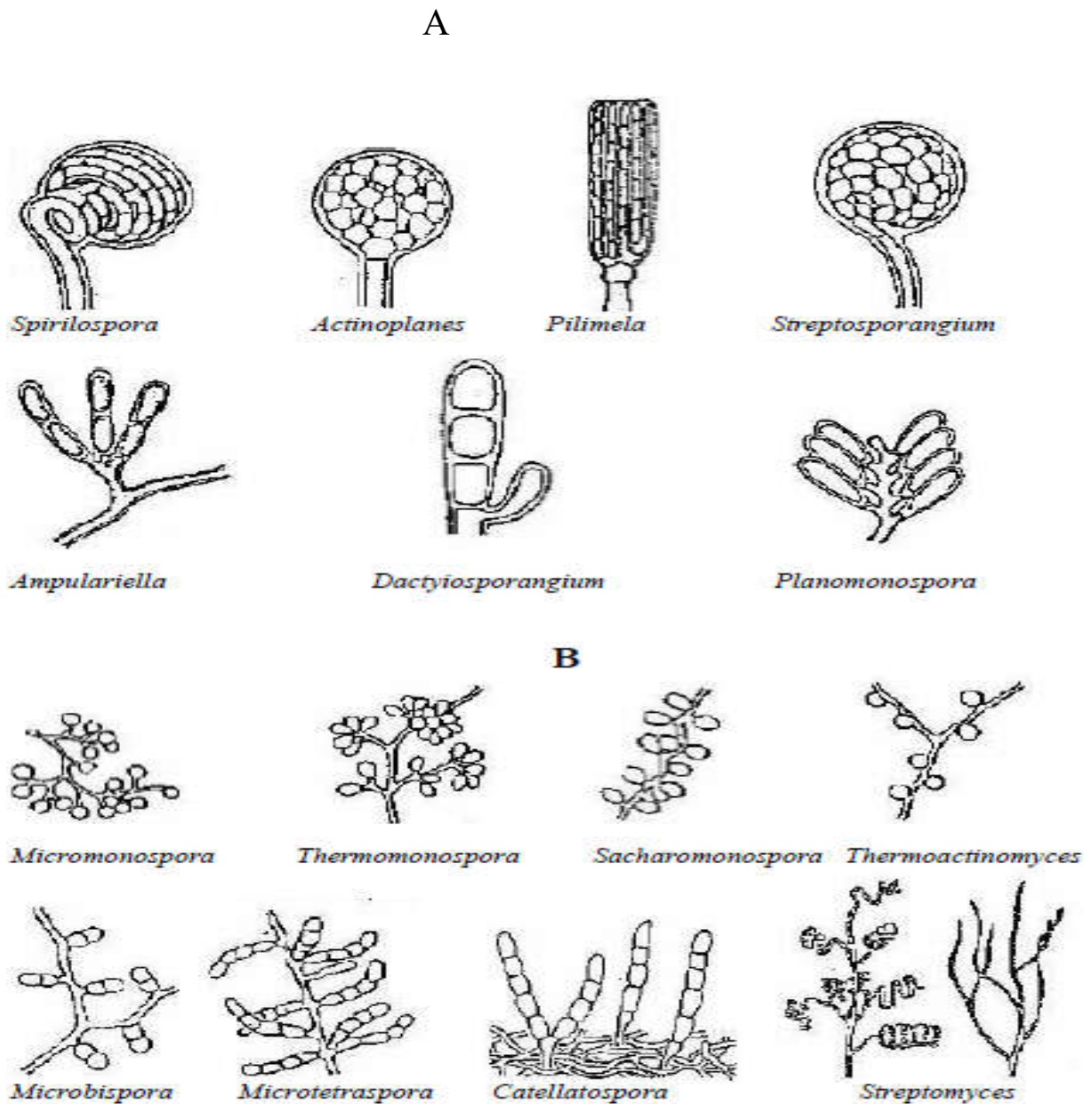
#### 4.1.2. Les endospores

Les endospores sont produits par les actinomycètes thermophiles, ils naissent d'une régénération du cytoplasme avec la formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe, chez le genre *Thermoactinomyces*. A l'inverse des exospores, les endospores contiennent de l'acide dipicolinique, c'est un composé unique retrouvé exclusivement chez les cellules non végétatives. Ce dernier associé à de grandes quantités d'ion de calcium et de magnésium augmente la résistance des spores à la chaleur. Chez les actinomycètes *Actinoplanes* et *Pilimelia*, des zoospores mobiles (pourvues de flagelles) se forment à l'intérieur d'un sac fermé appelé sporange (Figure 03), les endospores sont issues d'une réorganisation cytoplasmique et de la formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe existant (Getha et al., 2005 ; Kitouni, 2007).

#### 4.1.3. Structures particulières

Certain Actinomycètes forment des structures particulières qui ne correspondent ni au mycélium ni aux spores et n'ont pas toujours une fonction définie (Gerard et al., 2001) :

- Le sclérote : trouvé chez les *Chainia* est déterminé par une masse des hyphes cloisonnées dans une vacuole et chargé de glycérides et d'acides gras ramifiés (Prescott et al., 2003).
- Les sporanges : sont des sacs contenant les spores, présents sur les mycéliums aériens bien développés ou sur la surface des colonies dépourvues ou ayant un mycélium aérien moins développé.
- Les synnemata : (corémies), sont des assemblages compacts d'hyphes dressées, parfois fusionnées et portant des conidies apicales ou latérales (Leveau et Bouix ,1993). Les conidies sont des spores asexuées qui peuvent avoir plusieurs organisations :
  - \* une seule conidie tel chez le genre (*Micromonospora*)
  - \* une paire de conidies chez le genre (*Microbispora*)
  - \* chaînes courtes de conidies formées d'un nombre inférieur ou bien égal à 20 spores par chaîne (*Actinomadura*).
  - \* longues chaînes de conidies formées d'un nombre de plus de 20 spores par chaîne (*Streptomyces*) (Prescott et al., 2007).



**Figure 02.** Différentes chaînes de spores chez les actinomycètes; spores endogènes (A) et spores exogènes (B) (Breton *et al.*, 1989).

## 5. Ecologie

Les actinomycètes sont retrouvés presque partout dans la nature. Ils constituent une part importante de la microflore tellurique: 10 à 20 % ou parfois plus (**Ishizawa et Araragi, 1976**). Les actinomycètes constituent une large partie des microorganismes de la rhizosphère et ont pour fonction écologique de décomposer des substances organiques au sein des écosystèmes (**Moncheva et al., 2002**). La plupart des actinomycètes sont saprophytes mais quelques-uns peuvent être pathogènes ou symbiotes des plantes et des animaux (**Suzuki et al., 1994**). Elles colonisent une large variété d'habitats naturels (Tableau 01) et sont capables de se développer sur une large gamme de substrats.

**Tableau 1.** Habitats de certaines actinomycètes (**Williams et al., 1984**).

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

## 6. Importance des actinomycètes

### 6.1. En agronomie

Les actinomycètes ont un rôle important dans le recyclage de la matière organique grâce à leur capacité de dégrader des substances complexes et incapables d'être décomposées par les autres bactéries non mycéliennes et les champignons (**Lamari, 2006**), telles que la lignine, la cellulose, la chitine, la kératine (**cité par Bakour, 2006**). Ils participent donc activement à la fertilisation des sols et décomposent les déchets urbains à haute teneur en produits chimiques.

Les actinomycètes exercent une influence sur la croissance des plantes, et protègent les racines contre les invasions des champignons (**Yilma et al., 2008**). Certains antibiotiques sécrétés par les actinomycètes ont trouvé une application dans la lutte contre quelques maladies des plantes, comme c'est le cas de la kasugamycine, les polyoxines et la blasticidine. Ces derniers ont été isolés grâce à leur très forte activité contre certaines maladies du riz et sont utilisés depuis longtemps et à grande échelle dans l'agriculture japonaise (**Lamari, 2006**).

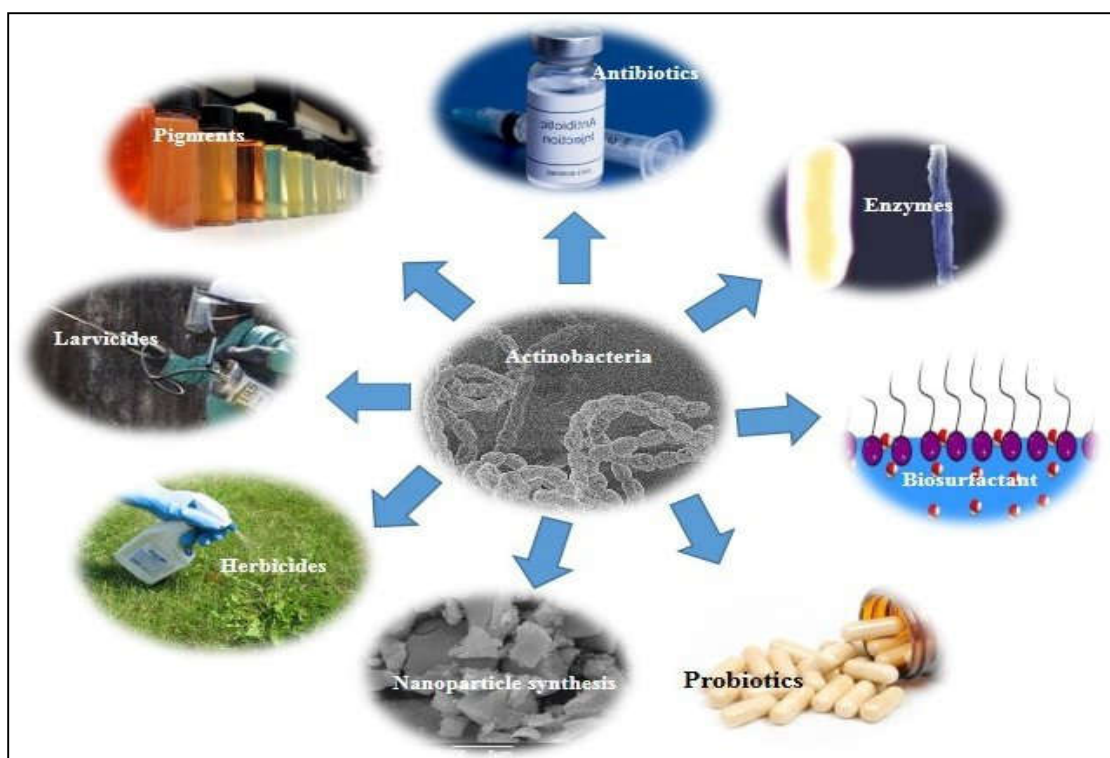
## 6.2. En biotechnologie

Ce sont des microorganismes d'intérêt industriel par excellence, un producteur important des antibiotiques et d'autres molécules et substances bioactives (**Yala, 2001**). Jusqu'ici, environ deux tiers des antibiotiques connus ont été sécrétés par les actinomycètes (**Xue, 2009**), le genre *Streptomyces* sécrète plus de 80% de ces molécules et il est très exploité (**Badji et al., 2006**).

La majorité des antifongiques naturels est d'origine microbienne et près de la moitié est synthétisée par les actinomycètes, en particulier, par *Streptomyces* (**Badji et al., 2005**). En ce qui concerne l'activité antifongiques des actinomycètes, elle ne se limite pas seulement aux champignons filamenteux mais s'entend aux levures et aux dermatophytes.

Ils sont également une source prometteuse de large gamme d'enzymes importantes, qui sont produites à l'échelle industrielle (Laccase, tyrosinase et cellulase...ect). Ils produisent des inhibiteurs enzymatiques utiles pour le traitement du cancer et les immunomodifiants qui améliorent la réponse immunitaire, ils ont la capacité de dégrader une large gamme d'hydrocarbures, de pesticides et de composés aromatiques et aliphatiques (**SKplovská et al., 2003**), ils effectuent des transformations de composés organiques.

De nombreux genres d'actinomycètes peuvent être potentiellement utilisés dans la bioconversion des déchets agricoles et urbains sous-utilisés en produits chimiques de haute valeur. Leur potentiel métabolique offre un domaine de recherche important, la Figure 02 (ci-dessous) présente une brève description des applications importantes des actinomycètes.



**Figure 03.** Applications biotechnologiques des actinomycètes (Anandan, 2017).

### 6.3. Autre rôles

De nombreux actinomycètes peuvent dégrader différents polluants, y compris plusieurs pesticides, par exemple, des membres du genre *Arthrobacter* dégradent le chlorophénol (Pizzul, 2006) et certains genres comme *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium* et *Corynebacterium* se révèlent être d'une grande importance dans la dégradation des hydrocarbures (Lacey, 1997).

Certaines espèces d'actinomycètes se sont révélées capables de dégrader ou de transformer des toxines produites par des champignons toxigènes (mycotoxines), certaines substances, comme la piramicine sont utilisées pour le traitement, les emballages et d'autres pour la protection de certains fromages (Boudjella, 2007).

La géosmine qui donne à la terre une odeur de moisi (terreux) et à l'eau des réservoirs un goût et une odeur désagréables, est produite par certaines espèces d'actinomycètes appartenant aux genres *Streptomyces*, *Nocardiosis*, etc. (Lechevalier, 1981; Goodfellow et Williams, 1983).



## **Chapitre 02 : Les actinomycètes et les substances bioactives**

Les actinomycètes sont connus par leur production de substances biologiquement actives telles que les antibiotiques, les vitamines, les enzymes et les pigments. Certaines espèces ont la capacité de solubiliser le phosphore, d'autres sont impliquées aussi, dans le control phytopathologique et dans la production des composés antifongiques (**Gebreselema, 2013 ; Hsu et Lockwood, 1975**).

Les actinomycètes sont la source des substances antitumorales (actinomycine), anti cholestérol, des insecticides (mykkomycine), des pesticides (antimycine A), des herbicides (phinotricine) et de substances ayant des activités immunosuppressive, et immunostimulantes (la rapamycine) (**Chun et al., 1997 ; Snaglier et Trujillo, 1997 ; Moore et al., 1999 ; Petrosyan et al., 2003**).

### **1. Le métabolisme des actinomycètes**

En général, les actinomycètes sont des bactéries chimioorganotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les biopolymères complexes (chitine, cellulose, lignine). Mais, plusieurs espèces sont capables aussi d'une croissance chimio-autotrophe utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**).

Les métabolismes des actinomycètes peut être divisé en deux parties : le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire (**Strub, 2008**). Leurs propriétés sont différentes en fonction de la phase au cours de laquelle ils sont synthétisés (**Delaunay et al., 2003**).

#### **1.1. Le métabolisme primaire**

Le métabolisme primaire des actinomycètes est semblable à celui des autres organismes. Les métabolites primaires ou généraux essentiels forment la structure cellulaire et permettent le fonctionnement du métabolisme général (**Theilleux, 1993**).

#### **1.2. Le métabolisme secondaire**

Le métabolisme secondaire se différencie du métabolisme primaire par le fait qu'il concerne des métabolites non directement impliqués dans la croissance et la vie de l'organisme (**Theilleux, 1993**). De manière générale, le métabolisme secondaire est considéré comme l'ensemble des voies de synthèse de composés qui n'ont ensuite pas des fonctions apparentes dans le métabolisme cellulaire (**Colombié, 2005**).

## 2. Les substances bioactives

### 2.1. Les antibiotiques

Les antibiotiques produits par les actinomycètes manifestent des activités biologiques de nature principalement antibactérienne, antifongique, anticancéreuse, antivirale ou antiparasitaire (Leveau et Bouix, 1993 ; Oskay et al., 2004 ; Gebreselema, 2013). Les antibiotiques présentent un intérêt significatif dans le domaine de la santé humaine, animale, de l'élevage et de l'agriculture (Leveau et Bouix, 1993). Quelques exemples d'antibiotiques produits par les actinomycètes sont représentés dans le Tableau 01 en Annexe 01.

Les *Streptomyces* ont la capacité de produire différents types d'antibiotiques environ plus de 80% à l'heure actuelle (Demain, 2000). La néomycine et la streptomycine sont parmi les antibiotiques produits essentiellement par *Streptomyces griseus* et *Streptomyces fradiae*, qui sont caractérisés par leur propriété bactéricide, fongicide et herbicide contre les Streptocoques multi-résistants et les bactéries à Gram positif (Rudi et al., 2012). Jusqu'à présent, environ 10 % de ces molécules sont largement utilisées dans le domaine thérapeutique humain et vétérinaire, ainsi qu'en agriculture et en industrie agroalimentaire, le type de composé synthétisé est propre à chaque espèce productrice (Demain, 2000 ; Colombié, 2005).

Selon Berdy (2005), les antibiotiques des actinomycètes peuvent être classés en groupes chimiques à savoir :

- 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).

## 2.2. Les enzymes

Après les antibiotiques, les enzymes sont les produits industriels les plus importants des actinomycètes (**Theilleux, 1993**). En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telles que les protéases, les chitinases (**Tanaka et Omura, 1990 ; Vonothini et al., 2008**), les amylases, les cellulases, les xylanases et les lipases (**Park et al., 2002**). A titre d'exemple : la D-xylose isomérase, plus connue sous le nom de glucose isomérase, produite par l'espèce *Actinoplanes missouriensis* et plusieurs espèces de *Streptomyces*, est utilisée pour obtenir des sirops riches en D-fructose.

Un complexe amyliasique issu de *Streptomyces hydroscopicus* et *Streptomyces praecoxa* été exploité pour préparer des sirops riches en maltose. Les protéases d'actinomycètes sous forme libres ou immobilisées sont employées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, en tannerie et comme additifs dans les détergents (ex : pronase de *S. griseus*) (**Theilleux, 1993**).

Par ailleurs, les actinomycètes produisent de fortes quantités de chitinases et de  $\beta$ -1-3-glucanase et causent des plasmolyses et des lyses des parois cellulaires des pathogènes (**Conn, 2005**). D'après **Park et al., (2002)**, les chitinases produites et sécrétées par les actinomycètes agissent sur les cuticules des nématodes adultes et provoquent ainsi leur mort. Notamment l'espèce *Streptomyces coelicolor* qui sécrète de nombreuses hydrolases incluant : 60 protéases/ peptidases, 13 chitinases/ chitosanases, 8 cellulases/ endoglucanases, 3 amylases et 2 pectates lyases (**Bentley et al., 2002**).

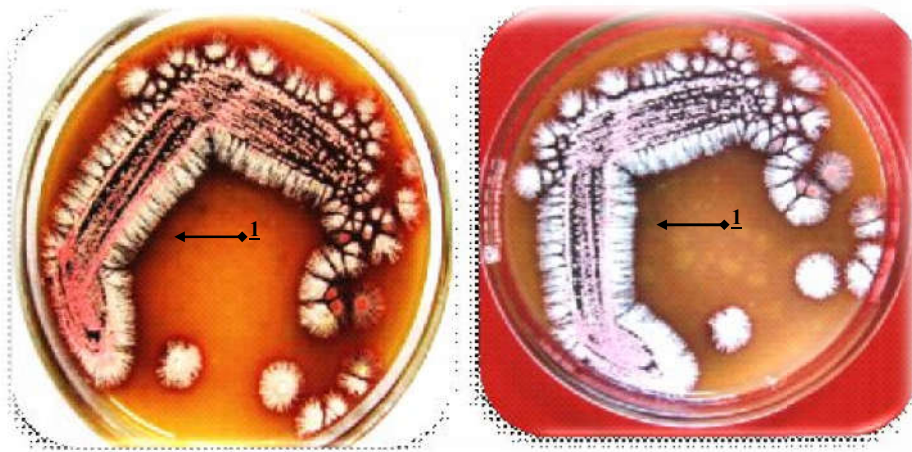
## 2.3. Les vitamines

La vitamine B12 telle qu'elle existe dans la nature peut être produite par des bactéries ou des actinobactéries. L'isolement de la vitamine B12 à partir des fermentations d'actinobactéries a suscité un intérêt considérable pour la production possible de vitamines par des fermentation microbiennes (**Rickes et al., 1948 ; Lichtman et al., 1949**). L'addition de sels de cobalt aux milieux semble être un précurseur pour toute les actinobactéries pour produire de la vitamine. Comme le cobalt est un agent bactéricide assez efficace, ce précurseur doit être ajouté avec précaution. Il a été également démontré que les actinobactéries produisaient d'autres vitamines hydrosolubles, telles que, la thiamine et le dérivé d'acide ptéroyl glutamique qui favorise la croissance de certaines souches de *Leuconostoc citrovorum* et de la coenzyme A (**Anandan, 2016**).

## 2.4. Les pigments

Les actinobactéries sont caractérisées par la production de divers pigments sur des milieux naturels ou synthétiques, ces pigments sont considérés comme une des caractéristiques culturelles importantes dans la description des organismes. Tous les changements phénotypiques induits par des influences environnementales aideront les actinobactéries car, ils montrent des colonies morphologiquement distinctives et produisent une variété de pigment et de filaments appelés hyphes aériens (Goodfellow *et al.*, 2012).

Ces pigments apparaissent habituellement dans différentes nuances de bleu, violet, rouge, rose, jaune, vert, brun, et noire (Figure 03).



**1** : Pigments bruns diffusibles dans le milieu de culture

**Figure 04.** Pigments diffusibles produits par diverses actinobactéries dans le milieu amidon-caséine agar (Anandan, 2016).

## 2.5. Les bioherbicides

Une autre application intéressante de l'actinobactérie est l'utilisation de leurs métabolites secondaires comme herbicides contre les mauvaises herbes. *Streptomyces saganonensis* produit des herbicides (herbimycine) qui contrôlent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones. L'espèce de *S. hygroscopicus* produit de la coformycine carbocyclique et de l'hydantocindine, ce qui peut réduire la synthèse de l'acétylsuccinate en augmentant le contenu de l'ATP (Pillmoor, 1998).

## 2.6. Les agents antitumoraux

Le cancer constitue l'une des pathologies humaines responsables d'un grand nombre de décès chaque année. Parmi les métabolites secondaires des actinomycètes, certaines molécules se révèlent capables d'inhiber la multiplication des cellules cancéreuses. On peut citer l'actinomycine D, les anthracyclines (Daunorubicine, Doxorubicine), la Bléomycine ou encore la Mitomycine C. Ces composés agissent en se fixant sur l'ADN. L'Actinomycine D, par exemple, se fixe au niveau du complexe d'initiation de la transcription et empêche l'élongation par l'ARN polymérase (Sobell, 1985).

## 2.7. Les immunosupresseurs

Certains métabolites sont capables d'agir sur le système immunitaire de façon à inhiber celui-ci. Une telle activité se révèle très utile pour le traitement de maladies auto-immunes ou pour empêcher le rejet d'organes greffés. Par exemple, la Rapamycine issue de *Streptomyces hygroscopicus* est utilisée pour ses propriétés immunosuppressives et antiprolifératives lors des transplantations de reins. Le Tacrolimus (FK506 ou fujimycine) isolé chez *S. tsukubaensis*, est utilisé à très faible dose pour la transplantation de foies depuis 1994 (Demain et Sanchez, 2009).

## 2.8. Les antifongiques et antiparasitaires

Le mot antifongique se réfère à un composé capable de tuer ou d'inhiber la croissance d'un champignon. De nombreux antifongiques sont utilisés en médecine. La nystatine produite par *Streptomyces noursei* est par exemple utilisée pour le traitement de différentes infections par des levures, notamment des *Candida* (Fjaervik et Zotchev, 2005).

Les antagonistes microbiens sont largement utilisés en lutte biologique contre les champignons phytopathogènes. L'activité antagoniste de *Streptomyces* vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires et des enzymes hydrolytiques (Prapagdee *et al.*, 2008). En plus des *Streptomyces*, d'autres genres appartenant aux actinomycètes sont également des producteurs de molécules possédant des activités antifongiques (Sanglier et Trujillo, 1997). Les ramicidines sont par exemple des antifongiques produits par une souche d'*Actinomadura bibisca* (Tomita *et al.*, 1990).

Le terme antiparasitaire désigne plus globalement un composé permettant de lutter contre différents types d'organismes eucaryotes (protistes, insectes, helminthes). Ces métabolites présentent des utilités en médecine humaine et vétérinaire, mais aussi en agriculture.

Des exemples de molécules bioactives non antibactériennes et non antifongiques produites par les actinomycètes sont représentés dans le Tableau 02 en Annexe 01.

### 3. La bioremédiation

Les actinobactéries possèdent de nombreuses propriétés industrielles, ce sont des bons candidats pour une application dans la bioremédiation des sols contaminés par des polluants organiques. Dans certains sites contaminés, les actinobactéries représentent le groupe dominant parmi les agents dégradants (**Johnsen *et al.*, 2002**). Certains travaux suggèrent que la flore de *Streptomyces* pourrait intervenir dans le recyclage du carbone organique et peuvent dégrader les polymères complexes (**Sanscartier *et al.*, 2009**). La bioremédiation microbienne est définie comme l'utilisation des microorganismes pour dégrader des polluants grâce à leurs diverses capacités métaboliques (**Medina-Bellver *et al.*, 2005**).

Les actinomycètes semblent avoir plus d'affinité pour les hydrocarbures aliphatiques et les composés cycloalkylephényl ou substitués par un résidu de longueur de chaîne variable d'alkyle (**Bouchez-Naitali *et al.*, 1999**). Ce n'est pas surprenant étant donné que les BTEX sont des composés volatils et le manque d'activation de l'oxygène ou de l'anionnitrate rendant ainsi ces composés moins stables et résistants à la biodégradation. La biodégradation du mélange BTEX (regroupe les six hydrocarbures suivant ; le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et les trois isomères de xylène qui sont le *méta-xylène* (*m-xylène*), l'*ortho-xylène* (*o-xylène*) et le *para-xylène* (*p-xylène*)) par les actinomycètes est moins rapportée à ce jour. Elle se limite à quelques genres comme *Rhodococcus* (**Kim *et al.*, 2002**), dont les espèces, *Rhodococcus rhodochrous* et *Rhodococcus pyridinovorans* (**Deeb et Alvarez-Cohen, 1999 ; Jung et park, 2004**), *Mycobacterium cosmeticum* (**Zhang *et al.*, 2013**), *Nocardia* sp. Et *Arthrobacter* sp. (**Weber et Corseuil, 1994**), *Gordona alkanivorans* CC-JG39 (**Lin *et al.*, 2005**) et *Streptomyces* sp. (**Djokic *et al.*, 2011**).

#### 4. La solubilisation du phosphore

Le phosphore P est l'élément le plus important dans la nutrition des plantes, après l'azote N. pratiquement, il joue un rôle important dans tous les processus métaboliques, y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse des macromolécules, la synthèse d'acides nucléiques et la respiration chez les plantes (**Khan et al., 2010**). Par conséquent, l'acquisition d'une concentration suffisante de phosphore augmente la croissance et le développement des plantes dans différents systèmes de production.

Le sol peut contenir de grandes quantités de P mais, il est très rarement disponible pour les plantes, étant donné que ses formes organiques (phytates) et inorganiques sont des composés très insolubles (**Jha, 2012**). La mise à disposition des ions phosphates aux plantes est régie par la désorption et la solubilisation de P inorganique ainsi que par la minéralisation du phosphate organique (**Richardson et al., 2009**).

##### 4.1. Cycle de phosphore dans le sol

Dans la nature, le phosphore existe sous forme de phosphate plutôt que sous sa forme élémentaire. Dans la solution du sol, les deux principales formes d'ions phosphatés sont le  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (condition acides) et le  $\text{HPO}_4^{2-}$  (conditions alcalines) (**Busman et al., 2002**).

Ces ions subissent des transformations comme l'adsorption, la minéralisation, la précipitation, l'altération et la réorganisation microbienne. Ainsi, le cycle du phosphore comprend le processus de prélèvement du P par la plante, les transformations des formes organiques du P et les réactions chimiques de fixation et d'immobilisation dans le sol (Figure 04). Le P est un élément peu mobile dans le sol (**Barber, 1995 ; Holford, 1997**).

L'approvisionnement du phosphore en solution est sous l'influence de deux sous cycles : un cycle biologique dans lequel les groupements de P sont des formes organiques dont les transferts sont assistés par des réactions biologiques et un cycle géochimique dans lequel les groupements de P sont des composés chimiques et minéralogiques dont les transferts sont dirigés par des mécanismes abiotiques. Le P du cycle géochimique provient majoritairement de l'altération des roches mères.

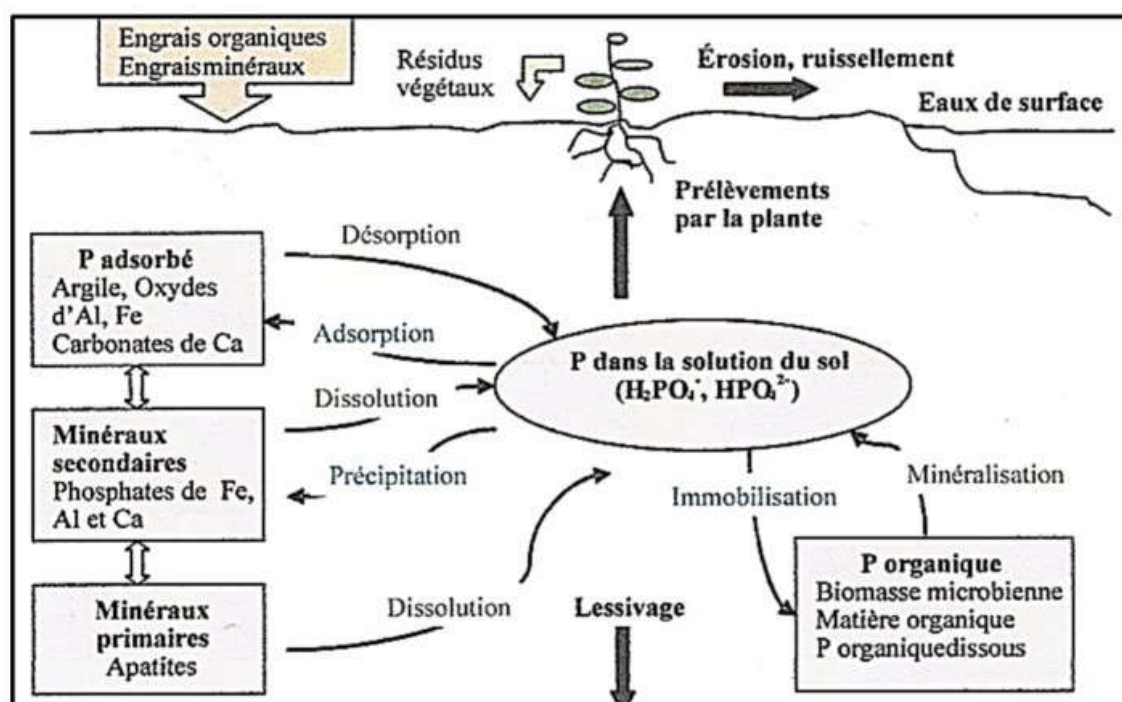


Figure 05. Cycle du phosphore dans le sol (Pierzynski et McDowell, 2005).

#### 4.2. Mécanisme de solubilisation du phosphore par les actinomycètes

Afin de compenser cette pauvreté naturelle en phosphore, ce dernier est ajouté au sol sous formes de fertilisants phosphorés dont seulement 1% est utilisé par les plantes, le reste est rapidement converti en composés insolubles tels que les phosphates calcique et ferrique.

Pour cette raison, les microorganismes solubilisant le phosphore ont un intérêt particulier, les bactéries et les levures sont les plus performants. Parmi les bactéries possédant cette activité, les actinomycètes occupent une place de choix. Les mines marocaines, par exemple, sont riches en phosphore et constituent alors de bons sites pour l'isolement de ces bactéries. *Micromonospora aurantica* et *S. griseus* et *S. lividans* isolés à partir des mines marocaines solubilisent efficacement le phosphore et améliorent sensiblement le poids frais des tiges et des racines.

Certains actinomycètes possèdent une capacité importante de produire des phosphatases alcalines. *Micromonospora endolithica* par exemple, solubilise des quantités importantes de phosphore et produit des phosphatases alcalines et acides, à ceci s'ajoute sa capacité de coloniser *Phaseolus vulgaris* L.



Les phosphatases sont un large groupe d'enzymes hydrolysant des esters et des anhydrides de l'acide phosphorique. Plusieurs études ont montrés une présence excessive de phosphatases chez les actinobactéries vivantes en interaction avec les légumineuses et certaines céréales. Dans les écosystèmes du sol, ces enzymes sont impliquées dans des rôles critiques dans les cycles de P et jouent un rôle principal dans l'activité biologique du sol.

Les principaux mécanismes de solubilisation du P employées par les microorganismes du sol tel que les actinomycètes comprennent :

- 1) La libération des complexant ou composés dissolvant les minéraux par exemple des anions d'acides organiques, des sidérophores, des protons, des ions hydroxyle et le CO<sub>2</sub>.
- 2) La libération d'enzymes extracellulaires (minéralisation biochimique du P).
- 3) La libération de phosphore lors de la dégradation du substrat (minéralisation biologique du P) (McGill et Cole, 1981).

## 5. Généralités sur les bactéries cibles

### 5.1. *Staphylococcus aureus*

Les *Staphylococcus aureus* sont des bactéries sphériques (coques) aérobie-anaérobie facultative a gram positif, très résistantes dans le milieu extérieur et peu en culture. *S.aureus*, communément appelé staphylocoque à coagulase positive. Il a été nommé ainsi par Rosenbach en 1884 en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique (Couderc, 2014). C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses dont la niche principale est la fosse nasale. D'autres sites peuvent également être colonisés par *S.aureus* tels que le pharynx, l'intestin, le périnée, la peau et les aisselles. Si l'homme est le principal réservoir, ces bactéries sont également retrouvées dans l'environnement (eau, air, surface, aliment) et chez l'animal, notamment d'élevage.

### 5.2. *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* est une bactérie pathogène à coloration de Gram positive, de métabolisme aéro-anaérobie facultatif et capable de produire des spores dans des conditions défavorables de croissance. C'est un micro-organisme mobile, en forme de bâtonnet de grande taille (>1µm), parfois en chaînette, les colonies ont un aspect cireux et opaque sur milieux gélosés.

C'est également une bactérie ubiquitaire retrouvée, principalement sous forme de spores, dans un grand nombre d'environnements tels que le sol (**Stenfors Arnesen et al., 2008**), la surface des végétaux (**Kouamé et al., 2013**) ou encore l'air ambiant (**Lues et al., 2007**).

En 2012, un rapport de l'Institut National de Veille Sanitaire (InVS) indique que *B. cereus* est la deuxième cause de TIAC en France juste derrière *Staphylococcus aureus* et devant le genre *Salmonella* (**InVS, 2012**). Néanmoins, l'incidence réelle de *B. cereus* en tant que pathogène alimentaire reste difficile à évaluer pour plusieurs raisons. Premièrement les toxi-infections à *B. cereus* ne sont pas à déclaration obligatoire et sont donc probablement sous estimées dans les décomptes officiels. Deuxièmement, la courte durée et la bénignité des symptômes des infections à *B. cereus* encouragent rarement le malade à consulter un médecin. Enfin les symptômes des infections à *B. cereus* sont régulièrement associés à tort à des toxi-infections à *S. aureus* ou à *Clostridium perfringens*.

### 5.3. *Klebsiella pneumoniae*

C'est est une entérobactérie appartenant au genre *Klebsiella*. Il s'agit d'un bacille gram négatif toujours immobile et très souvent encapsulé, poussant sur milieu ordinaire en atmosphère aéro-anaérobie, oxydase négative, fermentant le glucose et le lactose en produisant du gaz, produisant de l'indole et une uréase et fermentant l'acétoïne (réaction de Voges-proskauer), réduisant les nitrates et nitrites. *K.pneumoniae* est une espèce ubiquitaire, elle peut être isolée de l'environnement (sols, eaux de surface, eau usées, végétaux) ainsi que des flores commensales de l'homme et des animaux (**Bagley, 1978**).

*Klebsiella pneumoniae* est un germe opportuniste, responsable d'infections diverses : infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires qui peuvent être à l'origine de bactériémie et surtout de septicémie de pronostic sévère, principalement chez les malades immunodéprimés, les cancéreux, les brûlés, les cirrhotiques, les diabétiques, chez les vieillards, les nourrissons, les nouveau-nés et les prématurés (**Stone et al., 2003 ; Sahly et al., 2004**).

#### 5.4. *Escherichia coli*

*Escherichia coli*, isolée par Escherich en 1885, est l'espèce type du genre *Escherichia* qui appartient à la famille des Enterobacteriaceae. C'est un Bacille à Gram négatif, assez grand (1–1,5 × 2–6 µm), aéro-anaérobie facultatif, oxydase négatif, nitrate positif et qui fermente le glucose (Farmer *et al.*, 2007). Les principaux caractères distincts de *E. coli* vis à vis des autres entérobactéries sont : la fermentation du lactose, la production d'une β-galactosidase, la production d'indole à partir du tryptophane, l'absence d'uréase et l'absence d'utilisation du citrate (Simmons) comme source d'énergie et de carbone.

Concernant l'habitat, on trouve *Escherichia coli* en abondance dans la flore commensale, en particulier dans le tube digestif. Par ailleurs, elle est très répandue dans l'environnement : eau, sols, et dans les aliments (Baraduc *et al.*, 2000).

Chez l'homme, la colonisation par *E. coli* est précoce, et peut être responsable d'un nombre varié de pathologie. Toutefois, trois types de syndromes majeurs résultent de l'infection par des souches d'*E. coli* pathogènes : infections urinaires, les infections digestives (diarrhées, infections hépatobiliaires et autres), et les méningites néonatales et septicémies (Jaureguy., 2009).

#### 5.5. *Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis*, connu aussi comme le bacille du foin ou le bacille de l'herbe, est une bactérie Gram positive, catalase positive, c'est surtout une espèce ubiquitaire. Sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0,5 à 2 µm. Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle est aérobie stricte, sa température optimale est de 40 °C, elle est trouvée dans le sol, elle peut former une endospore dure protectrice, elle est classée comme une bactérie aérobie obligatoire (Bridier *et al.*, 2010). C'est une Bactérie antagoniste de nombreux champignons pathogènes et est utilisée comme moyen de lutte biologique contre ceux-ci dans de nombreuses cultures et particulièrement contre la pourriture grise dans les vignes (Sonenshein, 2001).

## **Chapitre 01 : Matériel et Méthodes**

L'objectif principal de la présente étude, consiste d'une part, à la production et l'extraction de molécules bioactives à partir des actinomycètes en culture liquide et d'examiner l'activité antibactérienne vis-à-vis certaines bactéries pathogènes pour l'Homme. D'autre part, au criblage des isolats d'actinomycètes aptes à solubiliser le phosphore et la détermination de l'efficacité de la solubilisation de ce dernier.

### **1. Période et lieu de stage**

L'ensemble de ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires pédagogiques de Microbiologie et de Biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre de l'Université «Djilali Bounama» de Khemis Miliana, durant la période s'étalant du mois de Mars au mois de Juillet 2019.

### **2. Matériel utilisé**

#### **2.1. Matériel biologique**

##### **\* Les isolats d'actinomycètes**

Nous avons travaillé sur 33 isolats d'actinomycètes provenant de différents échantillons de sols et appartenant à la collection du Laboratoire de Recherche PRAVDURN de l'Université « Djilali Bounama » de Khemis Miliana. Les isolats ont été conservés à – 20 °C sur milieu ISP2 liquide additionné de 15 % de glycérol (v/v).

##### **\* Les souches bactériennes de références**

Cinq bactéries utilisées pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne des extraits d'actinomycètes sont des souches de références (*ATCC*), et ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'agroalimentaire au Biomédical et à l'environnement (LAMAABE) de l'Université Abou Bakr Belkayed de Tlemcen (**Tableau 02**).

Tableau 02. Références des bactéries indicatrices.

Bactéries	Gram	Référence
<i>Bacillus cereus</i>	Positif	ATCC 10876
<i>Bacillus subtilis</i>	Positif	ATCC 21332
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 43300
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif	ATCC 700603

### 3. Méthodes utilisées

#### 3.1. Revivification des isolats d'actinomycètes

La revivification des isolats a été réalisée par des cultures sur les milieux gélosés Bennet et ISP2 en Annexe 02. Chaque isolats estensemencé en surface du milieu de culture par des stries serrées de manière à avoir des colonies abondantes. Les boites sont ensuite incubées à 30 °C jusqu'à sporulation (pendant 14 à 21 jours).

#### 3.2. Conservation des souches d'actinomycètes

Une nouvelle conservation des isolats d'actinomycètes de courte durée à été effectuée à 4 °C sur gélose inclinée en tubes à essai ou sur milieu ISP2 à raison d'un repiquage toutes les 4 semaines. Pour la conservation de longue durée, les cultures d'actinomycètes de deux semaines en milieu liquide sont additionnées de glycérol stéril d'une concentration de 15% (v/v) et sont immédiatement congelées.

#### 3.3. Etude morphologiques

##### 3.3.1. Etude micro-morphologique

###### \* Coloration de Gram

Les bactéries peuvent être groupées en deux catégories selon la méthode de coloration de Gram, qui a été mise au point en 1884 par un bactériologiste Danois Hans Christian Gram.

Cet examen est réalisé sur des frottis minces préparés à partir de colonies de chaque isolat obtenu sur le milieu ISP2, ces frottis sont colorés, après observation à l'aide d'un

microscope optique à grossissements (Gx100), ce dernier permet de déceler les formes morphologiques des différentes bactéries et de préciser le Gram + et le Gram-.

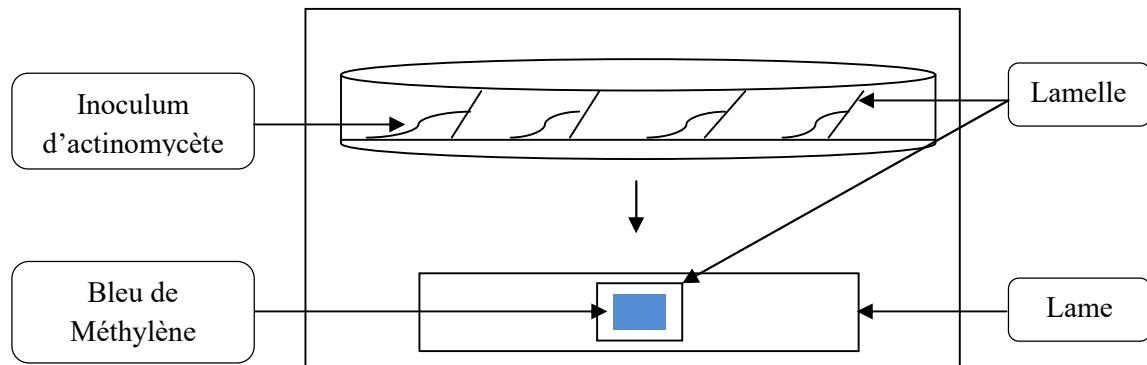
Le mode opératoire est comme suit :

- ✓ Sur un frotti fixé à la chaleur, recouvrir la lame de violet de gentiane 1 minute, puis laver à l'eau distillée.
- ✓ Ensuite, recouvrir du lugol 1 minute,
- ✓ Décolorer bien à l'alcool pendant une période, puis rincer à l'eau,
- ✓ Recouvrir la lame de fuchsine diluée, laisser 30 secondes puis laver à l'eau,
- ✓ Sécher entre deux feuilles de papier buvard,
- ✓ Puis observer sous un objectif à immersion (Gx100) d'un microscope optique (**Prescott *et al.*, 2010**).

À partir de cet examen, nous pouvons déterminer quelques caractères morphologiques des actinomycètes, concernant le type de Gram et les indications sur leurs formes (principalement la forme des filaments) et la présence ou l'absence de spores isolées. (**William *et al.*, 2010**).

#### \* Culture sur lamelle ( Cross 1989)

L'observation *in situ* de la morphologie des chaînes de spores et l'étude du mycélium aérien et du mycélium de substrat ont été effectuées selon la technique décrite par **Cross (1989)**. Cette technique consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans un milieu gélose ISP3 de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec celui-ci (Figure 05). Une goutte de chaque inoculum des souches est déposée sur la lamelle en contact avec le milieu gélosé. Après 21 jours d'incubation à 30 °C, la lamelle est retirée soigneusement de la gélose entraînant quelques fragments du mycélium, elle est ensuite déposée sur la lame avec une goutte de bleu de méthyle et examinée au microscope optique à grossissement (Gx100) .



**Figure 06.** Présentation schématique de la technique de culture sur lamelle.

### 3.3.2. Etude macro-morphologique

#### \* Observation à l'œil nu

L'étude macromorphologique permet de déterminer les différents aspects du mycélium de substrat (MS) et du mycélium aérien (MA), qui varient selon les milieux. Ce test consiste à ensemercer différents milieux d'identification (ISP2, ISP3, ISP4) (Shirling et Gottlieb, 1969), puis les incubés à 30 °C pendant 7, 14 et 21 jours. La production de pigments diffusibles dans le milieu a également été notée.

#### \* Observation à la loupe binoculaire

Après 21 jours d'incubation à 30 °C, les boîtes contenant les colonies d'actinomycètes, d'aspect bien précis et clair sont observées à la loupe binoculaire Gx4.

### 3.3.3. Etude physiologique

#### \* Production de pigments mélanoïdes

La mise en évidence de la production des mélanines (pigment de différent couleur diffusible) est réalisée sur milieu gélosé ISP7. Les isolats actinobactériens sont ensemençés en stries serrées sur ce milieu en boîte de Pétri. Les boîtes sont incubées à 30 °C et la production des mélanoïdes est appréciée après 5 à 9 jours d'incubation par comparaison avec le témoin (une boîte de Pétri contenant le milieu ISP7 uniquement).

### 3.4. Extraction préliminaire des molécules bioactives

#### 3.4.1. Production de molécules bioactives sur milieu liquide

Afin d'évaluer la production des substances antimicrobiennes dans le milieu liquide, les isolats d'actinomycètes ont été mis en culture dans 50 ml du milieu ISP 2 pendant 7 jours à 30 °C sous agitation.

#### 3.4.2. Extraction de molécules bioactives

L'extraction est faite à partir des filtrats de culture et à partir de la biomasse mycélienne.

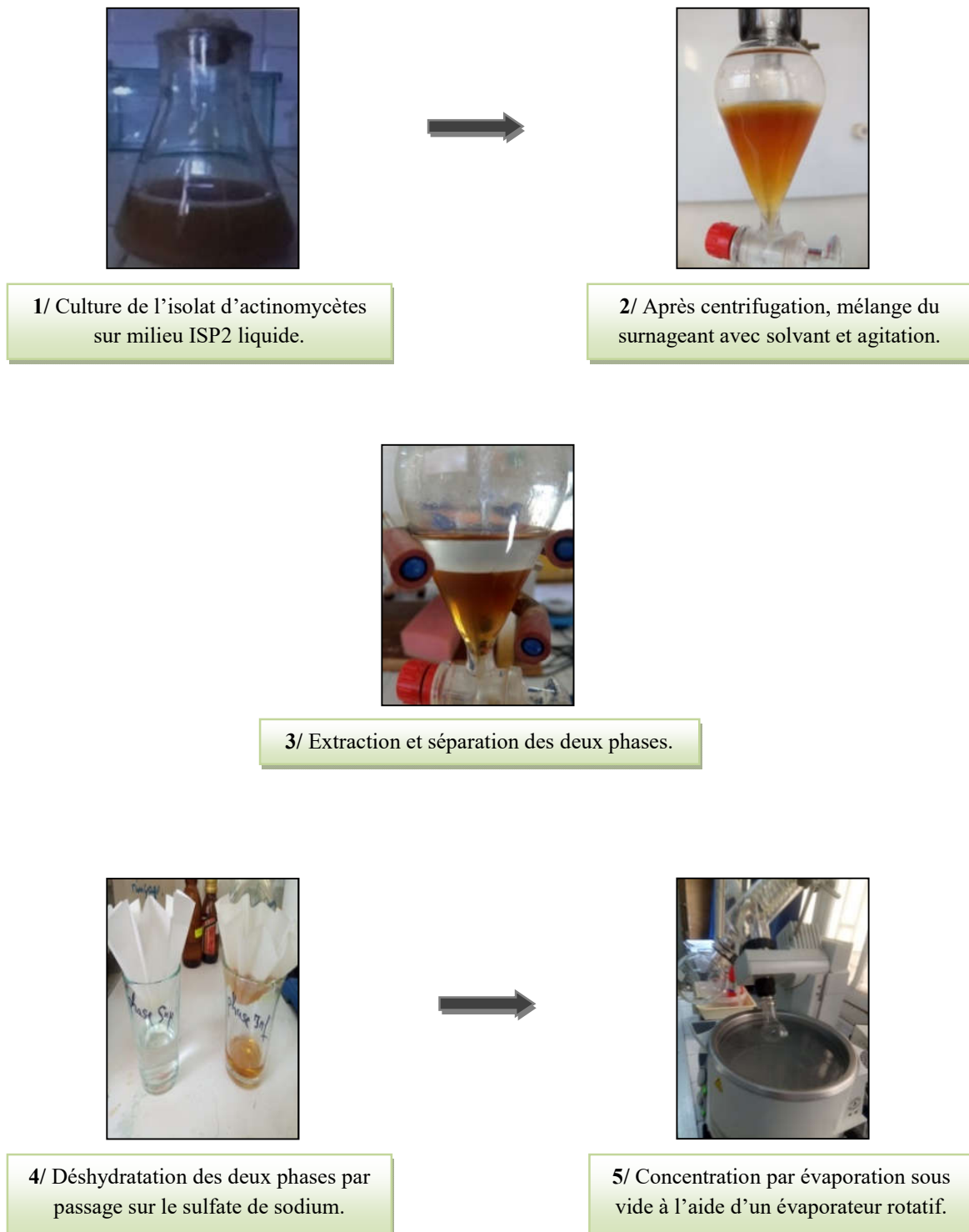
##### \* Extraction à partir des filtrats de culture

Les cultures des actinomycètes sur milieu liquide préparées précédemment sont centrifugées à 10 000 rotation pendant 20 min afin d'éliminer le mycélium. Le surnageant obtenu est additionné d'un même volume d'acétate d'éthyle, comme solvant organique, et est agité à température ambiante pendant 20 min. Après séparation des phases dans les ampoules à décanter, la phase organique (phase supérieure) est récupéré puis déshydratée par passage à travers un papier filtre contenant du sulfate de sodium anhydre (entonnoir + papier filtre + 2g de sulfate de sodium) afin d'éliminer les traces d'eau résiduelles et les contaminants hydrophiles présents (Figure 07). L'extrait de la phase organique obtenu pour chaque isolat est concentré par évaporation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (45 °C). Le résidu sec est ensuite repris dans du méthanol (**Kitouni et al., 2007**). Ces extraits (l'extrait brut et sec), sont testés pour leur activité par la méthode des disques en papier.

##### \* Extraction à partir de culot

Un volume de 20 ml de jus de fermentation est centrifugé à 10 000 rotations pendant 15 minutes. Le mycélium recueilli dans le culot est lavé 2 fois à l'eau distillée stérile, puis extrait pendant 2 heures sous agitation et à température ambiante, avec 5 ml de méthanol pur (**Lindenfelser et al., 1964**). L'ensemble est centrifugé, dans les mêmes conditions décrites ci-dessus, afin de récupérer l'extrait méthanolique du mycélium.





**Figure 07.** Etapes pour l'extraction des molécules bioactives produites par les actinomycètes.

### 3.5. Mise en évidence de l'activité antibactérienne sur milieu solide

L'activité antibactérienne est déterminée par la technique des disques en papier. Cette expérience est menée vis-à-vis 05 souches bactériennes *ATCC*, citées précédemment.

#### 3.5.1. Culture des bactéries-cibles

L'inoculum standard des bactéries-cibles est préparé comme suit : après ensemencement de chaque bactérie cible sur gélose nutritive par des stries d'épuisement, et incubation à 37 °C pendant 24 h (culture jeune), quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une anse de platine qui sera déchargée dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Le tout est homogénéisé et l'opacité de la suspension bactérienne ainsi obtenue doit être équivalente à une densité optique (DO=0,1) à une longueur d'onde  $\lambda = 610$  nm (**Cavalla et Ebrilin, 1994**).

#### 3.5.2. Méthode des disques

La méthode des disques consiste à préparer le milieu Muller Hinton (afin de faciliter la diffusion de l'antibiotique) est pré-ensemencé avec la suspension de bactéries cibles. C'est une méthode qui se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les disques d'antibiotiques sont remplacés par des disques de papier Wattman (de 06 mm de diamètre). Ces derniers sont imprégnés, dans les conditions d'asepsie et à l'aide d'une micropipette, par 10  $\mu$ l de l'extrait de chaque isolat d'actinomycètes.

Après séchage à 37 °C pendant 15 minutes, les disques sont déposés soigneusement sur les boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton préalablement ensemencé, par écouvillonnage, par les bactéries cibles. Un contrôle négatif a été effectué en utilisant un disque de papier imprégné par 10  $\mu$ l de solvant organique seul (acétate d'éthyle et méthanol). Les boîtes sont laissées 15 min pour permettre une pré-diffusion des substances bioactives, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures (**Nurul et al., 2009**).

### 3.6. Mise en évidence de la solubilisation du phosphate inorganique

La capacité des isolats d'actinomycètes à libérer le phosphore soluble a été testée sur milieu Pikovskaya solide (**Pikovskaya, 1948**) contenant 0,5% de phosphate tricalcique (TCP) comme seule source de phosphore. Le milieu est ensemencé par touche ou par cylindre d'agar (**Nautiyal, 1999**).

Après dix jours d'incubation à 30 °C, La solubilisation du phosphate a été mise en évidence par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie sur milieu PVK.

La mesure des diamètres des halos est réalisée par l'équation suivante :

Diamètre total = Diamètre de la colonie (ou disque d'agar) + Diamètre du halo,

Donc : **Diamètre de l'halo = Diamètre total - Diamètre de la colonie (ou disque d'agar).**

Les résultats ont été exprimés par calcul de l'efficacité de solubilisation (Nguyen et *al.*, 1992), par la formule suivante :

**L'efficacité de la solubilisation % = (diamètre de l'halo / diamètre du d'agar) × 100**

L'objectif de notre travail, est d'étudier l'activité antibactérienne des molécules bioactives extraites à partir des filtrats de culture et du culot, des cultures mycéliennes sur milieu ISP2. Ainsi, la sélection des isolats d'actinomycètes capables de solubiliser le phosphate inorganique sur milieu PVK solide.

En effet, la majorité des isolats cultivés pendant vingt-un jours sur le milieu ISP2, présentent des colonies poudreuses de couleur blanchâtre ou mélangée avec d'autres couleurs de tailles petites régulières ou non, aplaties ou bombées avec une odeur terreuse. Cet aspect est particulier pour les isolats développant un mycélium aérien, d'autres, apparaissent pigmentées et sporulées. Nos résultats après coloration, confirment que ces isolats présentent des filaments ramifiés à coloration de Gram positive.

Après, nous avons procédé à l'extraction des métabolites antibactériens, à la fois, à partir du filtrat de la culture en milieu liquide et à partir du mycélium en utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant organique et le méthanol, respectivement. Dans le premier cas, les résultats étaient nuls, c'est-à-dire aucun effet antagoniste de l'extrait sec (surnageant) n'a été détecté vis-à-vis les bactéries cibles testées. Par contre, l'extrait méthanoïque de tous les isolats montre un effet antagoniste variable sur au moins une bactérie cible testée. Une forte activité antibactérienne est enregistrée chez l'isolat A41 avec une zone d'inhibition de 30 mm contre *Bacillus subtilis*.

La résistance bactérienne 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 ces bactéries est devenue une préoccupation sanitaire majeure.

Nous avons pu au cours de cette étude, démontrer que la plupart des isolats étudiées ont la capacité de solubiliser le phosphore ce qui se traduit par l'apparition d'halos clairs autour des colonies sur milieu PVK. D'après certaines études, ce processus est lié à la sécrétion des acides organique produits par ces actinobactéries, qui entraînent la libération du phosphate après destruction complète des liaisons ioniques qui lient le calcium au phosphate. Il s'agit de l'acide gluconique d'après **Hamdali, (2008)**. Les isolats étudiés n'ont pas la même capacité de solubiliser le phosphate ce qui explique la différence entre les diamètres mesurés.

Les isolats A11 et A47 ont engendré les plus grands diamètres donc, ils solubilisent plus le phosphate par rapport aux autres isolats.

Nous avons remarqué une relation très importante entre les isolats qui solubilisent le phosphore et les isolats qui possèdent un effet antagoniste sur les germes cibles ; c'est à dire que les isolats qui solubilisent le phosphore présente en même temps une activité antibactérienne contre les germes cibles.

Enfin et pour conclure, nous pouvons dire, que les sols algériens sont riches en actinomycètes qui solubilisent le phosphore par l'action des phosphatases et qui sont aptes de produire des molécules bioactives (métabolites secondaires) comme les enzymes et les antibiotiques. Ces derniers peuvent être utilisés dans le traitement de plusieurs maladies pour résoudre le problème d'émergence des bactéries multirésistantes. Ces actinobactéries pourront ultérieurement être exploitées et valorisées avec profit dans le domaine pharmaceutique, industriel et agronomique.

Comme perspectives, il reste plusieurs travaux à mener afin de répondre aux questions soulevées lors de cette étude. Parmi ces travaux on cite :

- ✓ La purification des différents métabolites actifs ainsi que leur identification par les techniques chromatographies comme la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).
- ✓ Tester d'autres solvants pour l'extraction ainsi que d'autres systèmes de solvant pour la CCM afin de pouvoir extraire et séparer le maximum de métabolites secondaires.
- ✓ Tester un ensemble varié de conditions de culture pour la fermentation des souches actives dans le but d'optimiser la production de molécules antibactériennes en qualité et en quantité.
- ✓ Déterminer leurs modes d'action dans l'activité antifongique.

**A**

- **Aharonowitz Y., Demain A.L. (1978).** Carbon catabolite regulation of cephalosporin production in *Streptomyces clavuligerus*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 14: 159- 164.
- **Alexander EI, Morgan DJ, Kesh S, Weisenberg SA, zaleskas JM, Kaltsas A, Chevalier JM, Silberzweig J, Barron Y, Mediavilla JR, Kreiswirth BN, RRhee KY. (2011).** Prévalence, persistance, and microbiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among hemodialysis outpatient at a major New York hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 70 :37-44.
- **Anandan R., Dharumadurai D., Manogaran G.P. (2016).** An Introduction to Actinobacteria. In : Dhanasekaran D., Jiang Y. (eds) *Actinobacteria : Basics and Biotechnological Applications*. Intech, Rijeka, pp.3-37.
- **Aoyagi T., Yagisawa M., Kumegai M., Hamada M., Okami Y., Takeuchi T. et al., 2006.** An enzyme inhibitor, Panostalin produced by *Streptomyces*. *The Journal of Antibiotics*. 24 : 860-869.
- **Arasu Valan M, Duraipandiyan V, Agastina P, Ignacimuthu S (2009),** In vitro antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. ERI-3 isolated from Western Ghats rock soil (India), *Journal de Mycologie Médicale*: P 22-28.
- **Arcand, M. M. and Schneider, K.D. (2006).** Plant and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. *Ann. Acad. Bras. Cienc.* 78: 791-807.
- **Athalye, M. ; M. Goodfellow ; j. Lacey ; & P. White (1985).** Numerical classification of *Actinomadura* and *Nocardopsis*. *Int. J. Syst. Bacteriol* . 35. P: 86-98.

**B**

- **Badji B, Riba A., Mathieu F., Lebrihi, et Sabaou N., (2005).** Antifungal activity of saharan *Actinomadura* strain against various pathogenic and toxigenic fungi. *J. Mycol Med.* 15: 211 219.
- **Badji B., (2006).** Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura* et *Nonomurea*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou p 226.
- **Bagley ST, Seidler RJ, Talbot HWJ, and Morrow JE. (1973).** Isolation of *Klebsiellae* from within living wood. *App. Environ. Microbiol* ; 36 :178-85.
- **Bakour L., (2006).** Caractérisation chimique de nouvelles mutacines synthétisées par *Saccharothrix* SA103 et influence des sources de carbone et d'azote sur la production. Mémoire de magistère, université A. Mira de Bejaia.
- **Balagurunatha R., Radhakrishnan M., Somasundaram S.T. 2010.** L-glutaminase Producing Actinomycetes from marine sediments-selective isolation, semi quantitative assay and characterization of potential strain. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*.4:698-705.

- **Balasubramaniam V, Ganesh S, Karunanithi V, Perumal P (2011)**, Improved Culturing, Screening and Fermentation of Soil Actinomycetes for Antimicrobial Agents, *Int. J.Pharm and Ind. Res* Vol (01) Issue (02): P 153-159.
- **Baldacci E., (1962)**. Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. *Ann Soc Belge Méd Trop.* (4).P : 633–646.
- **Baraduc, R., Darfeuille-Michaud, A., Forestier, C., Jallat, C., Joly, B., and Livrelly, D. (2000)**. *Escherichia coli* et autres *Escherichia, Shigella*. Précis de bactériologie clinique. Editions ESKA: 1115-1126.
- **Barber S.A. (1995)**. Soil nutrient bio availability: a Mechanistic Approach. John Wiley and Son N. Y. 398p.
- **Bastide A., M. de Méo, M. Andriantsoa, M. Laget & G. Duménil, (1986)**. Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique *Microb. J.* 2 : 453-466.
- **Becker B ; M .P. Lechevalier & H.A. Lechevalier (1965)**. Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various form genera of aerobic actinomycetes. *Appl. Microbiol.* .P:236-242.
- **Becker B., Lechevalier M.P. and Lechevalier H.A. (1965)**. Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various form genera of aerobic actinomycetes. *Appl. Microbiol.*, 13, 236-242.
- **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. *Infection and immunity.* Vol. 35. N°. 2. Pp: 583-587.
- **Belyagoubi L., (2015)**. Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. THÈSE. Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P : 7-23.
- **Bentley S.D; Chater K.F; Cerdeno-Tarraga. A.-M; Challis. G.L; Thomson. N.R; James. K.D; Harris. D.E; Quail. M.A; Kieser. H; Harper. D; Bateman. A; Brown. S; Chandra. G; Chen. C.W; Collins. M; Cronin. A; Fraser. A; Goble. A; J. Hidalgo; T. Hornsby; S. Howarth; C.- H. Huang; T. Kieser; L. Larke; L. Murphy; Oliver. K; O'Neil. S; Rabbinowitsch. E; Rajandream. M.-A; Rutherford. K; Rutter. S; Seeger. K; Saunders. D; Sharp. S; Squares. R; Squares. S; Taylor. K; Warren. T; Wietzorrek. A; Woodward. J; Barrell. B.G; Parkhill. J; and Hopwood. D.A. (2002)**. – Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 417, 141-147.
- **Berdy, J. 2005**. Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot (Tokyo)* 58. Pp: 1-26.
- **Bouchez-Naitali, M., H. Rakatozafy, R. Marchal, J. Y. Leveau, et J.P. Vandecasteele. (1999)**. Diversity of Bacterial Strains Degrading Hexadecane in Relation to the Mode of Substrate Uptake. *J Appl Microbiol.* 86: 421-428.
- **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*. Vol : 15. Pp: 39–44.

- **Boudjella H., (2007).** Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par trois souches. Thèse de Doctorat institut National Agronomique El-Harrach (Alger).p177.
- **Boughachiche F. (2012).** Étude de molécules antibiotiques sécrétées par des Souches appartenant au genre *Streptomyces*, isolées de Sebkhia. Thèse de doctorat en Biotechnologies Microbiennes. Université Mentouri- Constantine. P.15.
- **Bouras N.,Merrouche R., Lamari L.,Mathieu F., Sabaou N., Lebrihi A., (2008).** Precursor directed biosynthesis of new dithiolopyrrolone analogs by *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137-*Process Biochemistry*, 43(11),1244-1252.
- **Breton A., Theilleux J., Sanglier J.J., Viobis G., (1989).** Organismes producteurs: biologie, taxonomie et écologie. In “Biotechnologie des Antibiotiques”. Larpent J.P. et Sanglier J.J., Masson : Paris. Pp: 33-70.
- **BrissS, Issenhuth-Jeanjean S, Grimont PA. (2004).** Molecular serotyping of *Klebsiella* species isolates by restriction of the amplified capsular antigen gene cluster, *J Clin Microbiol*, Aug ; 42(8) :3388-98.
- **Busman L., G. Randall., Rehm G., Schmitt M. (2002).** «The nature of Phosphorus in soils.» Retrieved 2005-01-27,2005.

## C

- **Carle S., Pharm B. 2003.** Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmactuel*. 36: 25-41.
- **Chen Y., Krol J., Sterkin V., Fan W., Yan X., Huang W et al., 1999.** New process control strategy used in as rapamycin fermentation. *Process Biochemistry*. 34: 383-389.
- **Chen, Y. P., P.D., Arun, AB., Shen, F.T., Lai, W. A., Young, C.C. (2006).** Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied soil ecology*, 34(1), 33-41.
- **Cheng J. R., Fang A., Demain A. L. (1995).** Effect of amino acids on rapamycin biosynthesis in *Streptomyces hygroscopicus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 43: 1096-1098.
- **Choulet. F. (2006).** Evolution du génome des *Streptomyces* : transfert horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy 1, pp 210.
- **Chun J., Youn H. D., Yim, Y. I., Lee H., Kim M.Y., Hah Y.C., Kang S. O., (1997).** *Streptomyces seoulensis* sp.nov. *Int J Syst Bacteriol* 47, 492-498.
- **Colombié. V. (2005).** Description de la production de spiramycine par *Streptomyces ambofaciens*. Modélisation métabolique, simulation et capteur logiciel. Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse. pp174.



- **Conn. V.M. (2005).** - Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University. pp 297. dans : Starr M.P., Stolp H., Truper H.G., Ballows A. et Schlegel H.G. The prokaryote.
- **Conn. V.M. (2005).** Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University. pp 297.
- **Couderc C, Jolivet S, Thiebaut ACM, Ligier I, Alvares As, Lawrence C, Salomon J, Herrmann JI, Guillemot D. (2014).** Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics (ASAR) Study Group, Fluor quinolone use is a risk factor for methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term care facilities : a nested case-case-control study. Clin Infect Dis 59 :206-215.
- **Cross T., (1989).** The actinomycetes II. Growth and examination of actinomycetes—some guidelines. In Williams S. T., SHARPE M. E. and HOLT J. G., (1989). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 4. Williams and Wilkins. Baltimore. P 2340 – 2343.
- **Cwala Z., Igbiosa E. O. and Okoh A. I. 2011.** Assessment of antibiotics production potentials in four actinomycetes isolated from aquatic environments of the Eastern Cape Province of South Africa. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. Vol. 5. N°: 2. Pp118-124.

**D**

- **De Boer E.C., De Dejkhuijzen T.M., Vos P.C.N., Kurth K.H., Schamhart D.H.J. 2000.** Immunostimulation in the urinary bladder by local application of *Nocardia rubra* cell-wall skeletons (Rubratin) and *Bacillus Calmette-Guerin* as therapy superficial bladder cancer: A comparative study. *Clinical infectious diseases*. 31: SUP 3 (65p).
- **Deeb R.A. and Alvarez-Cohen L. (2000).** Aerobic Biotransformation of Gasoline Aromatics in Multi-Component Mixtures. *Bioremediation*. 4 (2): 171–179.
- **Delaunay S., Rondags E. et Germain P. (2003).** Production d'antibiotiques par biotechnologies. Techniques de l'ingénieur. Opérations unitaires, génie de la réaction chimique. J 6 008 1-12.
- **Demain AL, Sanchez S. (2009).** Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot (Tokyo)*. 62(1):5-16.
- **Demain. A.L, Sanchez. S (2009).** Microbial drug discovery: 80 years of progress. *The Journal of Antibiotics*; 62: 5-16.
- **Djokic L., Narancic T, Nikodinovic-runic J., Savic M., et Vasiljevic B (2011).** « Isolation and Characterization of Four Novel Gram-Positive Bacteria Associated with the Rhizosphere of Two Endemorelict Plants Capable of Degrading a Broad Range of Aromatic Substrates ». *Microb. Biotechnol.* 91, no 4: 1227–38.

**E**

- **Euzeby JP., (2015).** List of bacterial names with standing in nomenclature.

**F**

- **Farmer, J.J., Boatwright, K.D., and Janda, J.M. (2007).** Enterobacteriaceae: Introduction and identification. Manual of Clinical microbiology. Washington, DC, USA: ASM press. 9th ed: 649-669.
- **Fenical W., Jensen P. R. 2006.** Developing a new resource for drug discovery marine actinomycete bacteria. *Nature Chemical Biology*. **2**: 666-673.
- **Fjaervik E, Zotchev SB. (2005).** Biosynthesis of the polyene macrolide antibiotic nystatin in *Streptomyces noursei*. *Appl Microbiol Biotechnol*. **67(4)**:436-43.
- **Fukunagak K., Misatot T., Asakawa M.** Blastocidin, A new Anti-Phytopathogenic Fungal Substance. Part I. *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan*. **19**: 181-188.

**G**

- **Gebreselema .G ;S.Samuel & R. Nagappan (2013)** Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **6**. P: 426-435
- **Gerard T & et al., (2001).** Microbiologie. 2eme édition. Canada. P : 152-154.
- **Getha K & S .Vikineswary S., (2005).** Evaluation of *Streptomyces* sp. strain g10 for suppression of *Fusarium* wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. P:24-32.
- **Goodfellow M et Williams S.T., (1983).** Ecology of actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.*, **37**: 189-216.
- **Goodfellow M., (2012).** Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In: Goodfellow *et al.* (Editors). *Bergey Manual of Systematic Bacteriology, The Actinobacteria*, second edition, vol. V, part A, New York, Dordrecht, Heidelberg, London. pp. 1–28.
- **Gyaneshwar, P., Kumar, G.N., Parekh, L. J., Poole, P.S. (2002).** Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. In: *Food Security in Nutrient-Stressed Environments: Exploiting Plants Genetic Capabilities*. Adu-Gyamfi, J.J. (Ed), Springer, Netherlands, pp. 133-143.

**H**

- **Hassimi SM. 2014.** Contribution à l'étude des mécanismes de la solubilisation du phosphate naturel au cours de la biotransformation anaérobie des déchets organiques. Thèse PhD, INP-Université Paul Sabatier de Toulouse, Toulouse. p176.
- **Hawker. L.E. & Linton A.H., (1971).** Mico-organismes. Pp: 325-333.
- **Holford, I.C.R., (1997).** Soil phosphorus: Its measurement and its up take by plantes. *Aust.J.SoilRes*.**35**:227-39.
- **Hopwood DA., Bibb MJ., Chater KF., Kieser T., Bruton CJ., Kieser HM., Lydiate DJ., Smith CP., Ward JM., Schrempf H., (1985).** Genetic Manipulation of *Streptomyces* : Alaboratory Manual. Norwich, UK : John Innes Foundation.

*I*

- **Illmer, P. et F. Schinner (1995).** Solubilization of inorganic calcium phosphates - solubilization mechanisms. *Soil Biol. Biochem.*, **27**(3): 257-263.
- **Ikinose Y., Genka K., Koike T., Kato H., Wtanake Y., Mori T et al., 2003.** Randomized double-blind placebo stage I squamous-cell lung carcinoma. *Journal of National Cancer Institute*. **95**: 605-610.
- **Imada. C; Koseki. N; Kamata. M; Kobayashi. T; and Hamada-Sato. N., (2007).** Isolation and characterization of antibacterial substances produced by marine actinomycetes in the presence of seawater. *Actinomycetologica*, **21** (1), 27-31.
- **Inoue O. O., Netto W., S., Padilla G., Facciotti M.C.R. 2007.** Carbon catabolite repression of retamycin production by *Streptomyces olindensis* ICB20. *Brazilian Journal of Microbiology*. **38**: 58-61.
- **Ishizawa S. and Araragi M., (1976).** Composition of actinomycetes population in soil. *In: Actinomycetes, the boundary microorganisms.* Arai T. (Eds.) Toppan Co. Ltd, Tokyo, 97-107.
- **Iwami M., Nakayama O., Terano H., Kohsaka M., Aoki H., Imanaka H. 2006.** A new immunomodulator, FR-900494: Physico-chemical and biological characteristics. *The journal of Antibiotics*. **40**: 612-622.

*J*

- **Jaureguy, F. (2009).** Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. *Med Sci, Paris*. **25**(3): 221-223.
- **Jha B., Gontia I. and Hartmann A. (2012).** The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential *Plant Soil*, **356**:265–277.
- **Jinenez J. T., Sturdikova M., Sturdik E. 2009.** Natural products of marine origin and their perspectives in the discovery of new anticancer drugs. *Acta chimica Slovaca*. **2**: 63-74.
- **Johnsen, S. A., Subramaniam, M., Katagiri, T., Janknecht, R., and Spelsberg, T. C. (2002).** Transcriptional regulation of Smad2 is required for enhancement of TGF $\beta$ /Smad signaling by TGF $\beta$  inducible early gene. *Journal of cellular biochemistry*, **87**(2), 233-241.
- **Jung, I.G., et C.H. Park (2004).** « Characteristics of *Rhodococcus Pyridinovorans* PYJ-1 for the Biodegradation of Benzene, Toluene, m-Xylene (BTX), and Their Mixtures ». *J Biosci Bioeng*. **97**: 429–431.

## K

- **Kaila A. (1959)**. Retention of phosphates by peat samples. *J. Sci. Agric. Soc. Finland* 31: 215-225.
- **Kämpfer P., (2010)**. *Actinobacteria*. Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology Part 19,1819–1838.
- **Kanoh K., Matsuo Y., Adashi K. 2005**. Mechercharmycin A et B cytotoxic substance from marine derived *Thermoactinomyces* sp. YM3- 251. *The Journal of Antibiotics*. **58: 289-92**. Khan, M. S., Zaidi, A., Ahmed, M., Oves, M. and Wani, P. M. (2010). Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi-current respective. *Archives of Agronomy and Soil Science* **56, 73-98**. Khan, M. S., Zaidi, A., Ahmad, E. (2014). Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. In: Phosphate Solubilizing Microorganisms Khan, M. S., Zaidi, A. (Eds). Springer International Publishing. Switzerland. Pp. 31-62.
- **Khan, M. S., Zaidi, A., Ahmed, M., Oves, M, M. and Wani, P. M. (2010)**. Bactériale growth Promotion by phosphate Solubilizing fungi-current respective. *Archives of Agronomy and sil Science* 56, 73, 98.
- **Khattabi A, Hilali L, Dari K, Assobhei O, Gavini F.,(2002)**. Isolement de microorganismes d'origine marine (Maroc) antagonistes de *Yersinia ruckeri* et *Yersinia pseudotuberculosis*. *Rev. Biol. Biotech.*;2:28–32.
- **Kieser T., Bibb M. J., Buttner M. J., Chater K F. and Hopwood D. A. (2000)**. Practical *Streptomyces* Genetics. *The John Innes Foundation, Norwich, UK* : 613.
- **Kim D., Kim Y.S., Kim S.K., Kim S.W., Zylstra G.J., Kim Y.M. and Kim E. (2002)**. Monocyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation by *Rhodococcus* sp. Strain DK17. *Appl Environ Microbiol*. 68: 3270–3278.
- **Kitouni M., (2007)**. Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à Partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. P: 15-17.
- **Komatsu K., Tsuda M., Tanaka Y., Mikami Y., Kobayashi J. 2005**. SAR studies of Brasilicar for immunosuppressive and cytotoxic activities. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. **13: 1507-13**.
- **Kouamé, A. K., Djéni, T. N., N'guessan, F. K. & Dje, M. K. (2013)**. Postprocessing microflora of commercial attiéke (a fermented cassava product) produced in the south of Côte d'Ivoire, *Lett Appl Microbiol*, 56, 44-50.
- **Kumar V., Punia S. S., Lakshminarayana K. and Narula N. (1999)**. Effect of phosphate solubilising analogue resistant mutants of *Azotobacter chroococcum* on sorghum. *Ind. J. Agric. Sci.* 69: 198-200.
- **Kwon H.C., Kauffman C. A., Jensen P.R. 2006**. Marinomycins a-d, antitumor antibiotics of a new structure class from a marine actinomycete of the recently discovered genus *Marinospora*. *Journal of the American Chemical Society*. **128: 1622- 1632**.

**L**

- **Lacey J. (1997).** Actinomycetes in composts. *Ann Agric Environ Med*, **4**: 113– 121.
- **Lakshmi D.T., Krishnan K. (2009).** A report on the antidermatophytic activity of Actinomycetes. *Inter. J. Integrative Biol.* **6**: 132-136.
- **Lamari L. (2006).** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université de Tizi Ouzou (Algerie).
- **Larpen J. P., 2000-**Introduction à la nouvelle classification bactérienne et les principaux groupes bactériens. Lavoisier. France.4 : 183-212.
- **Larpen JP, Sanglier JJ. (1989).** In: Biotechnologie des antibiotiques. Paris: Ed. Masson. p. 481.
- **Larpen-Gourgaud M., Larpen J-P. Mémento., (1997).** technique microbiologie. paris, Tec, & Doc-Lavoisier, 3ème édition. ISBN-2-7430-0163-1.
- **Lechevalier H.A. and Lechevalier M.P., (1970b).** A critical evaluation of genera of aerobic actinomycetes. *In: The Actinomycetales*. Prauser H. (Eds.). G. Fisher Verlag, Jena, 393-405.
- **Lechevalier H.A. and Lechevalier M.P., (1981).** Introduction to the order Actinomycetales. *In: The procaryotes*, Eds : Starr M. P., H. Stolp, H. G. Truper, A. Ballows and H. G. Schlegel. *Springer-Verlag. Berlin. 2*: 1915-1922.
- **Lechevalier M.P., (1981).** Ecological associations involving actinomycetes. *In: Actinomycetes*. Shaal and Pulverer (Eds.). *Zbl. Bakt. suppl.*, **11**, 159-166.
- **Leclerc H., Izard D., Husson M.O., Wattre P. et Jakubezak E., (1983).** Microbiologie générale. Doin, Paris., p. 40.
- **Lefebvre. T., (2008).** Associations biologiques entre les termites du genre *Nasutitermes* et leur microflore actinomycétale: spécificité et évolution. Thèse doc : Ecole doctorale Science de la Vie et de la Santé : Paris. Pp : 168.
- **Leveau J. Y & M Bouix ., (1993).** Microbiologie Industrielle. Paris. P : 424-439.
- **Lichtman H., Watson J., Ginsberg V., Pierce J.V., Stokstad E.L., Jukes T.H. (1949).** Vitamin B12b some properties and its therapeutic use. *Experimental Biology and Medicine.*, 72(3), 643-645.
- **Lin T.C., Young C. C., Ho M. J., Yeh M. S, Chou C. L., Wei Y. H., et Chang J. S. (2005).** Characterization of Floating Activity of Indigenous Diesel-Assimilating Bacterial Isolates. *J. Biosci. Bioengin.* 99: 466–472.
- **Lindenfelser L. A., Shotwell O. L., Bachler M. J., Shannon G. M. and Pridham T. G., (1964).** Antibiotics Against Plant Disease VIII. Screening for Nonpolyenic Antifungal Antibiotics Produced by Streptomycetes' *Appl. Microbiol.* 12,(6), 508-512.
- **Liu S., Liu S. Y., Lu Z. X. 2007.** Antibacterial activity and property of the fermentation product of marine *Streptomyces* sp GB-2. *Chinese Journal of Biotechnology.* **23**: 1077-1081.
- **Locci R (1989).** Streptomycetes and related genera. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Eds: S.T. Williams, M.E. Sharpe et J.G. Holt.. The Williams and Wilkins Company, Baltimore. 4, 2451-2508.

- **Locci R., (2005).** Actinomycete spore Encyclopedia of science, doi :10.38/npg.els.0004237.
- **Loucif K., (2010).** Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection des Souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. 139.p :05-10.
- **Lues, J. F., Theron, M. M., Venter, P. & Rasephei, M. H. (2007).** Microbial composition in bioaerosols of a high-throughput chicken-slaughtering facility. *Poult Sci*, 86, 142-9.

## *M*

- **Madigan M. T., Martinko. J. M., Prker J. 1997.** Biology of microorganisms. Prentice Hall International (Ed).
- **Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A,Clark D.P., (2011).** Brock biology of microorganisms. 13th Edition Hardcover.ISBN-13 :978-0-321-64963-8.
- **Malet-Gason L., Romero F., Espliego-Vazquez F., Gravalos D., Fernandez-Puentes J.L. 2009.** IB-00208, anew cytotoxic polycyclic xanthone produced by a marine-derived *Actinomadura*. *The journal of Antibiotics*. **56: 219-225.**
- **Manteca, A., J., Jung, H. R., Schwammle, V.,& jensen, o. N., (2010).** Quantitative proteomics analysis of *streptomyces coelicolor* developement demonstretes that onser of secondary metabolism coincides with hypha differentiation. *Moleculair & cellular protromics*,9(7),1423-1436.
- **Mariat F. et Sebald M., (1990).** Les actinomycètes. In: Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.935-949
- **Mariat F., Sebald M.1990.** Actinomycétales..In:LeMinor. L., Véron M. Bactériologie.médicale.Medecine-Sciences.Flammmation.France. Deuxième partie : 933-999
- **Maskey R.P., Helmke E., Kayser O., Feibig H.H., Maier A., Bushe A et al.,2004.** Anti-cancer and antibacterial trioscacarcins with high anti-malaria activity from a marine streptomycete and their absolute stereochemistry. *The Journal of Antibiotics*. **57: 771-779.**
- **Mengel K ., Kirkby. (1987).** Principles of plant nutrition. 4<sup>th</sup> Eds, International Potash Institute, Bern, Switzerland, 687p.
- **Merizig.H. NAAMI, F., (2015).** Etude taxonomique de quelques souches'actinomycètes isolées de la région de Ouargla. Mémoire Master Académique.Microbiologie fondamentale et appliquée. Universite Kasdi Merbah Ourgla, 65p.
- **Mocheva P., Tishkov S., Dimitrova N., Chipeva V., Antonova-Nikolova S. and Bogatzevska N. (2002).** Characteristics of actinomycetes from Antartica *J. Cult. Collect.* **3:3-4.**
- **Moncheva P, Tishkov S, Dimitrova N, et al., (2002).** Characteristics Of Soil Actinomycetes From Antarctica.

- **Moore B. S., Trischman J. A., Seng D., Kho D., Jensen P. R., Fenical W. S., (1999).** Antiinflammatory depsipeptides from a marine streptomyceetes. *J. Org. Chem.* 64. 1145-1150.
- **Muiru W.M ;EW Mutitu &DM Mukunva (2008)** Identification of selected actinomycetes isolated and characterisation of their metabolites. *J. Biol. Sci.*, 8 (6), 1021-1026.
- **Mukai A., Fukai T., Matsumoto Y., Ishakawa J., Hoshino Y., Yazawa K et al., 2006.** Transvalencin Z, a new antimicrobial compound with salicylic acid residue from *Nocardia transvalensis* IFM 10065. *The Journal of Antibiotics.* 59: 366-9.

## N

- **Nautiyal, C.S. (1999).**An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms.*FEMS Microbiology letters*,170,65-270.
- **Nemoto A., Hoshino Y., Yasawa K, Ando A., Mikami Y., Komkaki H et al., 2002.** Asterobactin, a new siderophore group from *Nocardia asteroides*. *The Journal of Antibiotics.* 55: 593-7.
- **Nouredine. L., (2006).** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université de Tizi Ouzou (Algerie). pp 186.

## O

- **Okami, Y., Hotta, K. (1988).** Search and discovery of new antibiotics. In: Goodfellow M, Williams ST, Mordarski M, editors. Actinomycetes in biotechnology. New York: *Academic Press, Inc*; p.33-67.
- **Olmos. B., Yu. D., Singh, Y., Schreck, F., Bongs. K., & Lesanovsky.I., (2013).** Long-range interacting many-body systemes with alkaline-earth-metal atoms. *Physical review letters.*110(14)143602.
- **Omura S., Iwai Y., Takahashi Y., Sadakane N., Nakagawa A., Oiwa H et al., 2006.** Herbimycine, a new antibiotics produced by a strain of *Streptomyces*. *The journal of Antibiotics.* 32: 255-261.
- **Omura S., Tanaka J.(1986).** Biosynthesis of tylosine and its regulation by ammonium andphosphate. In: Kleinkauf H., Von Dohren. H, Dormaner H., Nesmann G. Regulation of secondary metabolites. VCH Publishers Inc. Berlin. 306-332.
- **Oskay M ; AU Tamer & C.Azeri (2004)** antibacterial activity of some actinomycètes isolated from farming soils of Turkey. *African Journal of Biotechnology.* Vol, 3(9), P: 441-446.
- **Oskay, M., Tamer, A.Ü., Azeri, C. (2004).** Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afr J Biotechnol*, 3(9): 441–446.
- **Otto. H. J., (1998).** Écologie forestière.institutue pour le développement forestier : Paris. Pp : 397.

P

- **Perry J. J.; Staley J. T.; Lory S., (2004).** Microbiologie. Dunod, Pais. 497–498.
- **Petrosyan P., Garcí'a Valera M., Luz Madrigal A., Huitro'n C., Flores M. E. (2003).** *Streptomyces mexicanus* sp. Nov., a xylanolytic micro-organism isolated from soil. *Int. J. Sys. Ev. Microbiol.* 53, 269-273.
- **Pikovskaya, R.I.(1948).** Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*, 17, 362-370.
- **Pillmoor J.B. (1998).** Carbocyclic coformycin: a case study of the opportunities and pitfalls in the industrial search for new agrochemicals from nature. *Journal of Pesticide Science.*, 52(1), 75-80.
- **Pizzul. L. (2006).** Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Actinomycetes. Thèse de Doctorat. Université d'Uppsala (Suède).
- **Prescott & al., (2010).** Microbiologie. 3eme édition. Paris.p: 589-603.
- **Prescott L & J Harley., (2003).** Microbiologie. 2eme édition P: 1164.
- **Prescott L.M ;JP Harly ;DA Klein., (2007).** Microbiologie. Edition de la Boeck. P: 06-08.
- **Prescott L.M, Sherwood L.M, Woolverton C.J., (2010).** Microbiologie. De Boeck Edition. 2010. ISBN-978-2-8041-60128.
- **Pridham T.G ; CW Hesseltine & RG Benedict., (1958).** A guide for the classification of Streptomycetes according to selected groups: placement of strains in morphological selection. *Appl. Microbiol.*, 6, 5-79.

R

- **Rangaswami. G. Bagyaraj. D. J. Bagyaraj D.G., (2004).** Agricultural Microbiology. PHI : New Delhi. Pp : 440.
- **Ravel, J., E. M. H. Willington et R. T. Hill. 2000.** Interspecific transfer of *Streptomyces* giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 529-534.
- **Reddy T.V.K. ; S Mahmood ; M Mohamme & S Ciesielski (2010)** *Streptomyces osmaniensis* sp. nov., isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 1755–1759.
- **Rickes E.L., Brink N.G., Koniuszy F.R., Wood T.R., Folkers K. (1948).** Crystalline vitamin B12. *Science.*, 107(2781), 396-397.

S

- **Sabaou N., Hacene H., Bennadji A., Bennadji H., Bounaga N., (1992).** Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne, *Can. J. Microbiol.* 38 :1066–1073.
- **Saffroy S., (2006).** Etude du métabolisme carbone chez *Streptomyces pristinaespiralis*. Thèse de Doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. Institut nationale polytechnique de Lorraine. France.P.150.



- **Sahly, H., Ancken, H., Benedi, V.J., Forestier, C., Fusing, V., Hansen, D.S, Ofek, I., and Podshun, R. (2004).** Impairment of Respiratory Burst in polymorphonuclear Leukocytes by Extended-Spectrum Beta-lactamase-Producing Strains of *Klebsiella pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 23: 20-26.
- **Saleem Basha N., Rekha R., Komala M., Ruby S. 2009.** Production of Extracellular Antileukaemic Enzyme L-asparaginase from marine Actinomycetes by solid-state and submerged fermentation: Purification and Characterization. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 8: 353-360.
- **Sanasam S., Ningthoujam D.S., (2010).** Screening of local actinomycete isolated in manipur for anticandidal activity. *Asian J. Biotechnol.* 2: 139-145.
- **Sanchez S., Demain A. L. (2002).** Metabolic regulation of fermentation processes. *Enzymes Microbiology Technology.* 31: 895-906.
- **Sanscartier D., Zeeb B., Koch I., Reimer K. (2009).** Bioremediation of diesel-contaminated soil by heated and humidified biopile system in cold climates. *Cold Regions Science and Technology* ,55(1),167-173.
- **Sarkonen N., Könönen O., Summanen P., Kanervo A., Takala A., et Jousimies-Somer H., (2000).** Oral Colonization with Actinomyces Species in Infants by Two Years of Age. *J Dent Res.* 79: 864-867.
- **Sateesh V. Naikpatil & Rathod. J. L. 2011.** Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. *Journal of Ecobiotechnology.* 3(10). Pp :48-53.
- **Schmitzer P.R., Graupner R.R., Chapin E.L., Fields S.C., Gilbert J.R., Gray J.A et al., 2000.** Ribofuranosyl Adenylosuccinate Synthetase Following Phosphorylation. *Natural Products.* 63: 777-781.
- **Shirling E.B., Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species** *Int J Syst. Bacteriol.*( 1966). 16 :313-340.
- **Shirling. E.B., et Gottlieb, D., (1966).** Retrospective evaluation of international *Streptomyces* project taxonomic criteria-the Boundary Microorganisms. Toppan Printing Co Ltd.,161,9-41.
- **Shukla G., (2010).** Soil Enzymology. Springer: Berlin. Pp: 384.
- **Singh. S.L; Baruah. I; and Bora. T.C., (2006).** Actinomycetes of lake Loktat Habitat: Isolation and screening for Antimicrobial Activities. *Biotechnol.*, 5 (2), 217-221.
- **Sobell HM. (1985).** Actinomycin and DNA transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 82(16):5328-31.
- **Sokolovska I., Rozenberg R., Riez C., Rouxhet P.G., Agathos S.N., Wattiau P., (2003).** Crabon source-induced modification in mycolic acid content and cell wall permeability of *Rhodococcus erythropolis* El. Application. *Environment. Microbiology,* 69,701.
- **Srivibool R. and Sukchotiratana M. (2006).** Bioperspective of actinomycetes isolates from coastal soils: A new source of antimicrobial producers. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 28: 493-499.

- **Stenfors Arnesen, L., Fagerlund, A. & Granum, P. (2008).** From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol Rev*, 32, 579 - 606.
- **Stevenson F.J. (1986).** Cycles of soils. C, N, P, S, micronutrients. J. Wiley and Sons, New York, 380p.
- **Stone, P.W., Gupta, A., Loughrey, R.N., Della-Latta, P.H., Cimiotti, R.N., Larson, E., Rubenstein, D., and Saiman, L. (2003).** Attributable Coast And Length Of Stay Of An Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Outbreak In A Neonatal Intensive Care Unit. 24: 601-606.
- **Strub C. 2008.** Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse INP-ENSAT. France.
- **Strub C. 2008.** Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse INP-ENSAT. France. 174p.
- **Sturdikova M., Sturdik E. 2009.** Natural products of marine origin and their perspectives in the discovery of new anticancer. *Acta Chgimica Slovaca. 2 : 63-74.*
- **Subathra Devi, C., Kumari, A., Jain, N (2012).** Novel bioactive compounds from mangrove derived Actinomycetes. Asian journal of Pharmaceutical and Clinical Research.; Vol 5, Suppl 4.
- **Suzuki K., Nagai K., Shimizu Y. and Suzuki Y., (1994).** Search for actinomycetes in screening for new bioactive compounds. *Actinomycetologica*, 8, 122–127.

## T

- **Takahashi Y., Omura S. 2003.** Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *Journal of Genetic Applied Microbiology. 49: 141-154.*
- **Tanaka, S., Igarashi, K., Kaji, A. (1986).** Studies on the action of tetracycline and puromycin. *J Biol Chem*, 247(1): 45–50.
- **Tanaka. Y; and OMURA. S. (1990).** – Metabolism and products of Actinomycetes- an introduction. *Actinomycetologica*, 4 (1), 13-14.
- **Theilleux J., (1993).** Les actinomycètes *In : Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel*, Lavoisier, Tech et Doc, V 612p, pp 425.
- **Theilleux J., 1993 - les actinomycètes in Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel**, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V 612p, pp 425
- **Tomita, K., M. Nishito, K. Sitoh, H. Yamamoto, Y. Hashino, H. Okhuma, M. Konishi, T. Miyaki et T. Oki. 1990.** Pramucidins A, B and C: new antifungal antibiotics. I. Taxonomy, production and physico-chemical properties. *J. Antibiot.* 43: 755-762.
- **Tortora FC., (2003).** Introduction à la microbiologie. Canada. 2eme édition. P : 332.

U

- **Ullah. I, Masood Arshad. M, Chuadhry. I. J. M, Noureen. U, Jadoon. W. A; Jadoon. M. A. 2012.** *Actinomycetes* screening for bioactive potential isolated from the moist forest soils of Pakistan. *Rec. Zool. Surv. Pakistan*. Vol : 21. Pp: 10-13.
- **Uyeda M., Mizukami M., Yokomizo K., Suzuki K. 2001.** Pentalenolactone I and hygromycine A, immunosuppressants produced by *Streptomyces filipinensis* and *Streptomyces hygroscopicus*. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 65: 1252-4.

V

- **Vino S., Lokesh K.R. 2008.** Borrelidin: A promising anticancer agent from *Streptomyces* species. *Journal of advanced Biotechnolog Reviews*. 22-26.
- **Vonothini. G; Murugan. M; Sivakumar. K; and Sudha. S. (2008).** - Optimization of protease production by an actinomycete Strain, PS-18A isolated from an estuarine shrimp pond. *African Journal of Biotechnology*, 7 (18), 3225-3230.

W

- **Whitelaw MA. 2000.** Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Adv. Agron.*, 69: 99.
- **Williams ST., Lanning S., Wellington EMH., (1984).** Ecology of Actinomycetes. In: *The Biology of the Actinomycetes*. Eds: M. Goodfellow, M. Mordarski and S.T. Williams. Academic press, London, New York, Sydney, Tokyo, Sao Paulo. pp. 481–528.
- **Williamson N. R., Fineran C. P., Leeper F.j., Salmon P. C. 2006.** The biosynthesis and regulation of bacterial prodiginin. *Nature Microbiology Review*. Vol 4.
- **Winn. W. C, Koneman. E. W., (2006).** Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Lippincott Williams & Wilkins: Washington. Pp: 1565.

X

- **Xue Q., (2009).** Classification et la tolérance aux sels des actinomycètes dans l'eau de lac dans Quinghai et le sol salin (lackde ) . *Jof subst devl.2* :107-110.

Y

- **Yala D., Merad A. S., Mohamed D., Ouar Korich M. N., (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Medecine de Maghreb*. N° 91.
- **Yamaguchi T., (1965).** Comparaison of the cell-wall composition of morphologically distinct actinomycetes. *J. Bacteriol.*, 89: 444-453.

- **Yan Chu S. (1993).** New developments of agricultural antibiotic pesticide. Trans. (China).15(6), 5-12.
- **Yilma S., Cannon-Sykora J., Samoylov A., Loc T., Liu N., Brinker C. J., Neely W. C. and Vodyanoy V., (2008).** Large-conductance cholesterol–amphotericin B channels in reconstituted lipid bilayers. *Biosensors Bioelectron.* 22: 1359–1367.

## Z

- **Zaidi, A., Khan, M., Ahmad, M., Oves, M. (2009b).** Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta microbiologica and immunologica Hungarica*, 56(3), 263-284.
- **Zaitlin.B; and Watson. S.B., (2006).** Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: *Myths, tenets ant truths.* 40 (9), 1741-1753.
- **Zhang, L., C. Zhang, Z. Cheng, Y. Yao, and Chen J (2013).** « Biodegradation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene and o-Xylene by the Bacterium *Mycobacterium Cosmeticum* Byf-4 ». *Chemosphere.* 90: 1340–1347.
- **Zitouni A., Boudjella H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., Lebrihi A., and Sabaou N. (2005).** Nocardiosis and Saccharothrix genera in Saharan soils in Algeria : Isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *Research in Microbiology*, 156(10), 984-993.
- **Zitouni., (2005).** Taxonomie et antibiotiques des *Saccharothrix* et des *Nocardiosis* des sols sahariens et nouvelles molécules bioactives sécrétés par *Saccharothrix sp.* SA 103. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri (Tizi ouazou).