

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعيدة الدكتور مولاي الطاهر

Université de Saida Dr MOULAY TAHAR



كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master**

En Sciences biologiques

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

Thème

## **Isolement des Myxobactéries pour la recherche de métabolites antimicrobiens**

Présenté par :

- Mr : Mohamed Mahmoud Mohamed Abdellahi ELghady Amar
- Melle : Nasrallah Hadjar

Soutenu le : 29/09/2025

Devant le jury composé de :

Président	Mr. GACEM MOHAMED Amine	MCB Université UMTS
Examinateur	MME. BENMAHIEDDINE Assia	MAA Université UMTS
Rapporteur	Mr. BENREGUIEG Mokhtar	PR Université UMTS

Année universitaire 2024/2025



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعيدة الدكتور مولاي الطاهر

Université de Saida Dr MOULAY TAHAR



كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master**

En Sciences biologiques

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

Thème

## **Isolement des Myxobactéries pour la recherche de métabolites antimicrobiens**

Présenté par :

- Mr : Mohamed Mahmoud Mohamed Abdellahi ELghady Amar
- Melle : Nasrallah Hadjar

Soutenu le : 29/09/2025

Devant le jury composé de :

Président	Mr. <b>GACEM MOHAMED Amine</b>	MCB Université UMTS
Examinateur	<b>MME. BENMAHIEDDINE Assia</b>	MAA Université UMTS
Rapporteur	Mr. <b>BENREGUIEG Mokhtar</b>	PR Université UMTS

**Année universitaire 2024/2025**

## Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Allah Tout-Puissant, le Généreux et le Miséricordieux, de nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail, et de nous avoir guidés sur le chemin du savoir et de la science.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et notre respect à notre directeur de thèse, **Pr. Benreguieg Mokhtar**, pour son encadrement précieux, ses conseils éclairés, sa disponibilité constante et la confiance qu'il nous a accordée tout au long de ce travail.

Nous adressons également nos vifs remerciements aux membres du jury, **Pr. Gacem Mohamed Amine** et **Pr. BENMAHIEDDINE Assia**, qui nous font l'honneur d'évaluer ce mémoire. Leurs remarques et suggestions ne manqueront pas d'enrichir et de perfectionner ce travail.

Nous remercions aussi chaleureusement l'ensemble des professeurs du département de biologie, qui nous ont transmis leurs savoirs et accompagné tout au long de notre parcours académique. Nos sincères remerciements vont également aux ingénieurs et au personnel du laboratoire pédagogique de la **Faculté des Sciences de l'Université de Saïda – Dr Moulay Tahar**, pour leur aide efficace, leur disponibilité et leur soutien.

Enfin, nous exprimons toute notre reconnaissance et notre affection à nos familles, pour leur patience, leurs sacrifices, leur encouragement permanent et leur confiance indéfectible, qui ont été pour nous une source de motivation et de force.

## Dédicaces

### **À mes parents bien-aimés,**

À mon père, pilier de ma vie, dont la sagesse, les conseils et l'amour infini m'ont guidé à chaque pas ;

À ma mère, douce lumière de mon existence, dont la tendresse et le soutien ont réchauffé mon cœur et nourri mon âme tout au long de ce chemin.

### **À mes frères et sœurs,**

Pour leur complicité inestimable, leur présence réconfortante et leurs encouragements constants, qui ont transformé mes défis en confiance et mes doutes en sérénité.

### **À ma chère tante,**

Qui a été mon refuge et mon plus précieux soutien, dont les encouragements et la bienveillance ont illuminé mon chemin et m'ont insufflé la force de persévérer.

### **À tous mes professeurs respectés,**

Pour leur savoir généreusement partagé, leurs conseils éclairés et leur soutien sans faille, qui m'ont accompagné avec patience et bienveillance jusqu'à cette étape de ma vie académique.

### **À mes amis et collègues,**

Pour leur amitié sincère, leur écoute attentive et leur présence lumineuse, véritables phares qui ont éclairé mes moments d'incertitude et de fatigue.

### **À toutes les personnes qui m'ont inspiré, encouragé ou soutenu**

Vos gestes, vos paroles et votre bienveillance ont été les étoiles qui ont guidé mon travail vers son accomplissement.

*Nasrallah Hadjar*

## Dédicaces

### À mon père,

pilier de ma vie, source de ma force et de mon inspiration. Ton amour, tes conseils et ton soutien constant m'ont guidé à chaque étape de ce travail.

### À ma mère,

pour sa tendresse infinie, son amour inconditionnel et son encouragement permanent. Ta douceur éclaire mon chemin et réchauffe mon cœur chaque jour.

### À mes frères et sœurs,

pour leur aide précieuse, leur soutien constant, leur présence fidèle et leur complicité, qui m'ont permis d'avancer avec confiance et sérénité.

### À mes amis et collègues,

pour leur soutien sincère, leur sollicitude et leurs encouragements tout au long de ce parcours.

### À mes professeurs :

- Mme soria Fares, pour ses conseils avisés, son soutien et son accompagnement bienveillant tout au long de cette recherche ;
- Mr Mohamed Amine Gacem, pour son aide précieuse, sa disponibilité et ses conseils éclairés ;
- Mme Belgacem Habiba, pour son soutien et sa présence constante ;
- Docteure Chaïmaa Khadir, Merci beaucoup pour toute l'aide et les efforts fournis

### Et enfin, à Berrar Ahmed Taleb,

pour tout, car ce sont ses efforts qui m'ont permis de réaliser ce mémoire.

### À tous ceux qui m'ont soutenu, aidé et encouragé

vos conseils, votre bienveillance et vos encouragements ont été essentiels à l'aboutissement de ce travail.

*Mohamed Mahmoud Mohamed Abdellahi ELghady Amar*

## Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Sélection de quelques molécules bioactives de myxobactéries présentant des modes d'action variés.....</i>	<i>24</i>
<i>Tableau 2 : Sites d'échantillonnage et types de prélèvements pour l'étude des myxobactéries .....</i>	<i>27</i>
<i>Tableau 3 : Principales bactéries cibles et informations associées .....</i>	<i>42</i>
<i>Tableau 4 : Répartition des souches isolées selon les zones d'échantillonnage.....</i>	<i>49</i>
<i>Tableau 5 : Procédés d'isolement et de purification appliqués aux myxobactéries.....</i>	<i>53</i>
<i>Tableau 6: Codes et régions d'origine des 13 isolats sélectionnés parmi les 63 obtenus .....</i>	<i>54</i>
<i>Tableau 7 : Activités antibactériennes des isolats de myxobactéries .....</i>	<i>63</i>
<i>Tableau 8 : Évaluation de l'activité lytique des isolats vis-à-vis de différentes souches fongiques. ....</i>	<i>65</i>

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Classification taxonomique des myxobactéries (myxococcota).....	4
<b>Figure 2 :</b> Diversité et distribution des myxobactéries sur Terre .....	6
<b>Figure 3 :</b> Les fructifications de cinq espèces différentes de myxobactéries.....	7
<b>Figure 4 :</b> Colonies de quelques souches myxobactériennes .....	7
<b>Figure 5:</b> la motilité A et S du <i>M. xanthus</i> .....	9
<b>Figure 6:</b> Schéma de dégradation de la cellulose chez les myxobactéries. (a) <i>Pseudochondromyces catenulatus</i> . (b) <i>Sorangium cellulosum</i> . (c) <i>Byssovorax cruenta</i> .....	10
<b>Figure 7 :</b> Modèle de l'OME dans une communauté bactérienne. Deux populations distinctes mais compatibles se rencontrent (verte et rouge), et l'OME est représenté en jaune .....	11
<b>Figure 8:</b> Comportement de prédation de <i>Myxococcus xanthus</i> contre <i>Micrococcus luteus</i> et <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	12
<b>Figure 9 :</b> <i>Myxococcus xanthus</i> comportements multicellulaires.....	13
<b>Figure 10:</b> Cycle de vie de <i>Myxococcus xanthus</i> .....	14
<b>Figure 11:</b> Cycle de vie de <i>Stigmatella aurantiaca</i> .....	14
<b>Figure 12:</b> Structures chimique de la corallopyronine A , la corallopyronine B , la corallopyronine C.....	17
<b>Figure 13:</b> Structures chimique de certains métabolites bioactifs Myxopyronin A et Myxopyronin B .....	18
<b>Figure 14:</b> Structure chimique de l'althiomycine.....	19
<b>Figure 15:</b> Structure chimique de la carolactone.....	20
<b>Figure 16:</b> Structure chimique de la RaTA .....	21
<b>Figure 18:</b> Échantillonnage .....	28
<b>Figure 19 :</b> Préparation du milieu de culture ST21 .....	29
<b>Figure 20 :</b> Crottes de lapin utilisées.....	30
<b>Figure 21 :</b> Technique du papier filtre.....	31
<b>Figure 22 :</b> Vérification et purification .....	35
<b>Figure 23 :</b> Flacon Erlenmeyer contenant le bouillon de culture inoculé par la souche bactérienne en phase de fermentation .....	40
<b>Figure 24 :</b> préparation de l'extrait bactérien.....	41
<b>Figure 25:</b> Cryotubes et flacon lors de l'extraction à l'aide du rotavap.....	41
<b>Figure 26 :</b> Huile moteur utilisée dans le protocole d'évaluation de l'activité lipolytique.....	45



<b>Figure 27:</b> matériel de bioautographie .....	47
<b>Figure 29 :</b> Observations de quelques colonies apparaissant sur les crottes .....	50
<b>Figure 30:</b> Colonies apparues au moment de l'utilisation d'E. coli comme proie.....	51
<b>Figure 31:</b> Colonies apparues sur le papier Whatman.....	51
<b>Figure 32:</b> Les spores apparaissent au moment de l'isolement.....	52
<b>Figure 33 :</b> Les aspects de quelques colonies myxobactériennes .....	55
<b>Figure 34 :</b> Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 à différents temps d'incubation : .....	56
<b>Figure 35 :</b> Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 à différents temps d'incubation après exposition à E. coli inactivée : observation des résultats au microscope optique, sous un grossissement de 100× .....	57
<b>Figure 36 :</b> Coloration de Gram des différentes souches testées : .....	58
<b>Figure 37 :</b> l'effet antagoniste des isolats myxobactériens sur quatre souches bactériennes cibles :A. Bacillus cereus B. Escherichia coli C. Klebsiella pneumoniae D. Staphylococcus aureus .....	60
<b>Figure 38 :</b> L'aspect de quelques isolats lors du test de prédation.....	61
<b>Figure 39 :</b> Résultats de l'activité antibactérienne des isolats de myxobactéries.....	62
<b>Figure 40 :</b> Graphique représentant l'activité antibactérienne des isolats.....	64
<b>Figure 41 :</b> Résultats de l'activité antifongique des isolats de myxobactéries sur les souches fongiques Fusarium oxysporum (T), Phytophthora infestans (Q, R, S), Aspergillus niger (F, G). .....	66
<b>Figure 42 :</b> <i>Effet antagoniste de quelques isolats sur Aspergillus niger et Phytophthora infestans</i> .....	67
<b>Figure 43 :</b> Effet de l'éclatement cellulaire de certains isolats sur leur activité antifongique contre Phytophthora infestans .....	68
<b>Figure 44 :</b> Photo indiquant les fructifications observées des souches myxobactériennes lors de la détection de bactéries proies ou de souches fongiques .....	69
<b>Figure 45 :</b> A et B : résultats du test sur le milieu à base d'huile moteur ; C et D : résultats sur le milieu à base de Tween 80 .....	70
<b>Figure 46 :</b> Observations du chromatogramme de l'extrait sur CCM.....	70
<b>Figure 47 :</b> Observations du chromatogramme de l'extrait sur CCM, obtenu avec le solvant le plus performant .....	71

## Liste des abréviations

**EMP** : Earth Microbiome Project

**CY** : Casitone Yeast extract medium

**VY** : Yeast extract–Vitamin medium

**PH** : potentiel hydrogène

**OTU** : Operational Taxonomic Unit

**PG** : Peptidoglycane

**LPS** : Lipopolysaccharide

**trs /min** : Tours/minute

**ECM** : Matrice extracellulaire

**ATTC**: American Type Culture Collection

**V/V** : Volume par Volume

**WCX** : Water-Casein medium with supplements

**ST21** : Starch–Casitone medium

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**PDA**: Potato Dextrose Agar

**Rf** : Rapport frontal

**GC** : Guanine-Cytosine content

**OME** : Outer Membrane Exchange

**OMV** : Outer Membrane Vesicle

## ملخص

(عزل الميكسوبيكتيريا من أجل البحث عن المستقلبات المضادة للميكروبات)

الميكسوبيكتيريا هي بكتيريا موجودة في التربة وتُعرف كمصدر واعد للمواد الثانوية النشطة حيويًا، والتي غالبًا ما تتميز بآليات تأثير أصلية ونادرة. في هذا العمل، قمنا بعزل واختيار سلالات محلية من الميكسوبيكتيريا من بيئات طبيعية مختلفة في الجزائر، بهدف تقييم قدرتها على إنتاج مواد مضادة للميكروبات ودراسة خصائصها المضادة من خمسة عينات تربة مأخوذة من بيئات متنوعة (رواسب بحرية، مناطق جافة وشبه جافة)، تم الحصول على ما مجموعه 63 عزلة من الميكسوبيكتيريا. تم زراعة هذه العزلات في ظروف محسنة على أوساط سائلة، ثم خضعت لاستخلاص باستخدام أسيتات الإيثيل. وتم اختبار المستخلصات الخام بواسطة تقنية أسطوانات الأغار ضد مجموعة من الكائنات الدقيقة. تشمل البكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام والخمائر والفطريات الخيطية M-AT-BT05 أوسع نشاط مضاد للفطريات، في حين كشفت M-SMO-NH14 من بين العزلات المختبرة، أظهرت أكبر منطقة تثبيط M-ZS-MB08 عن نشاط إيجابي ضد جميع الفطريات والبكتيريا الممرضة المختبرة. وأظهرت العزلة ، مما يبرز أن بعض العزلات تمتلك نشاطاً مضاداً للميكروبات أعلى Staphylococcus aureus ATCC 6538 ضد من المضادات الحيوية القياسية المستخدمة كشواهد. تؤكد هذه النتائج إمكانات الميكسوبيكتيريا المحلية كمصدر لجزيئات نشطة حيويًا جديدة، وتفتح الطريق لاستكشاف التنوع البيولوجي الميكروبي في الجزائر لاكتشاف عوامل مضادة للميكروبات مبتكرة، لا سيما في مواجهة المقاومة المتزايدة للمضادات الحيوية.

**الكلمات المفتاحية:** الميكسوبيكتيريا؛ العزل؛ تنقية البكتيريا؛ المعالجة الحرارية؛ المواد الثانوية النشطة

## Résumé

(Isolement des myxobactéries pour la recherche de métabolites antimicrobiens)

Les myxobactéries sont des bactéries du sol reconnues comme une source prometteuse de métabolites secondaires bioactifs, souvent caractérisés par des mécanismes d'action originaux et rares. Dans ce travail, nous avons entrepris l'isolement et la sélection de souches indigènes de myxobactéries issues de divers biotopes naturels en Algérie, afin d'évaluer leur potentiel de production de substances antimicrobiennes et d'étudier leurs propriétés antagonistes. À partir de cinq échantillons de sol collectés dans des environnements variés (sédiments marins, zones arides et semi-arides), un total de 63 isolats de myxobactéries a été obtenu. Ces isolats ont été cultivés dans des conditions optimisées sur milieux liquides, puis soumis à une extraction par l'acétate d'éthyle. Les extraits bruts ont été testés par la technique des cylindres d'agar contre un panel de micro-organismes comprenant des bactéries Gram positif, Gram négatif, des levures et des champignons filamenteux.

Parmi les isolats testés, M-SMO-NH14 a montré la plus large activité antifongique, tandis que M-AT-BT05 a révélé une activité positive contre l'ensemble des champignons et des bactéries pathogènes testées. L'isolat M-ZS-MB08 a présenté la zone d'inhibition la plus élevée contre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, mettant en évidence que certains isolats présentent une activité antimicrobienne supérieure à celle des antibiotiques standards utilisés comme témoins. Ces résultats confirment le potentiel des myxobactéries indigènes comme source de nouvelles molécules bioactives et ouvrent la voie à l'exploration de la biodiversité microbienne algérienne pour la découverte d'agents antimicrobiens innovants, particulièrement pertinents face à la résistance croissante aux antibiotiques.

**Mots-clés:** Myxobactéries; Isolement ; Purification bactérienne; Traitement thermique; Métabolites secondaires

## Abstract

(Isolation of myxobacteria for antimicrobial metabolite discovery)

Myxobacteria are soil-dwelling bacteria recognized as a promising source of bioactive secondary metabolites, often characterized by unique and rare modes of action. In this study, we isolated and selected indigenous strains of myxobacteria from various natural habitats in Algeria, aiming to evaluate their potential for producing antimicrobial substances and to investigate their antagonistic properties.

From five soil samples collected from diverse environments (marine sediments, arid and semi-arid areas), a total of 63 myxobacterial isolates were obtained. These isolates were cultivated under optimized conditions in liquid media and then subjected to ethyl acetate extraction. The crude extracts were tested using the agar cylinder technique against a panel of microorganisms including Gram-positive and Gram-negative bacteria, yeasts, and filamentous fungi. Among the tested isolates, M-SMO-NH14 showed the broadest antifungal activity, while M-AT-BT05 Exhibited positive activity against all tested fungi and pathogenic bacteria. The isolate M-ZS-MB08 presented the largest inhibition zone against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, highlighting that some isolates display antimicrobial activity superior to standard antibiotics used as controls. These results confirm the potential of indigenous myxobacteria as a source of novel bioactive molecules and open avenues for exploring Algerian microbial biodiversity to discover innovative antimicrobial agents, particularly relevant in the context of increasing antibiotic resistance.

Keywords: Myxobacteria; Isolation; Bacterial purification; Heat treatment; Secondary metabolites

## Table des Matières

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures .....	II
Liste des abréviations.....	IV
ملخص.....	V
Résumé.....	VI
Abstract .....	VII
Table des Matières .....	VIII
INTRODUCTION .....	1
Partie bibliographique .....	
Chapitre 1 : Revue de la littérature .....	3
1. Les myxobactéries : généralités .....	3
1.1 Historique .....	3
1.2 Taxonomie et classification.....	4
1.3 Habitats et répartition géographique .....	5
1.4 Caractéristiques morphologiques et physiologiques .....	7
1.4.1 Morphologie .....	7
1.4.2 Motilité.....	8
1.4.3 Géosmine.....	9
1.4.4 dégradation de la cellulose. ....	9
1.4.5 Génome .....	10
1.4.6 Mécanismes sociaux et interactions collectives .....	10
1.4.7 Stratégies de prédation .....	11
1.5 Cycle de vie et développement multicellulaire .....	13
2. Métabolisme secondaire des Myxobactéries .....	15
2.1 Antibiotiques myxobactériens inhibiteurs de l'ARN polymérase bactérienne .....	16

2.1.1	Les corallopyronines .....	16
2.1.1.1	Structure .....	16
2.1.1.2	Corallopyronine comme agent anti-Wolbachia.....	17
2.1.2	La myxopyronine .....	18
2.1.3	Activité antibiotique des corallopyronines.....	18
2.2	Inhibiteurs myxobactériens de la synthèse protéique bactérienne .....	19
2.2.1	Althiomycine .....	19
2.2.1.1	Activité antibactérienne de l'althiomycine .....	19
2.3	Antibiotiques myxobactériens influençant la formation de biofilms .....	20
2.3.1	Carolactone.....	20
2.3.1.1	Mode d'action de la carolactone : .....	21
2.4	Substances antivirales .....	21
2.4.1	La ratjadone, inhibiteur de la voie nucléaire du VIH par blocage de la protéine REV	21
2.5	Agents bioactifs de biodégradation des aflatoxines : .....	22
2.6	Agents antiparasitaires .....	23
	Partie expérimentale.....	
	Chapitre I: Matériels et méthodes .....	27
1.	Échantillonnage et isolement des myxobactéries.....	27
1.1	Collecte d'échantillons.....	27
2.	Isolement des myxobactérie.....	28
2.1	Prétraitement des échantillons de sols.....	28
2.1.1.1	Le séchage .....	28
2.1.1.2	Le tamisage .....	29
2.2	Les milieux de cultures utilisés .....	29
2.3	technique d'isolement .....	30
2.3.1	Appâtage avec des granulés de crottes de lapin .....	30

2.3.2	Isolement des myxobactéries cellulolytiques par la technique du papier filtre....	31
2.3.3	technique des appâts bactériens pour l'isolement des myxobactéries.....	32
2.3.3.1	Utilisation d' <i>E. coli</i> vivante .....	32
2.3.3.2	Utilisation d' <i>E. coli</i> inactivée.....	32
2.3.4	Isolement à partir de spores.....	32
2.4	Vérification des myxobactéries .....	33
3.	La purification.....	34
3.1	Les milieux de cultures utilisés .....	34
3.2	Techniques de purification des myxobactéries .....	34
4.	Analyse des caractéristiques des isolats.....	35
4.1	Caractères morphologiques .....	35
4.2	Caractères structuraux .....	36
4.2.1	Coloration de Gram.....	36
4.2.2	Observation à l'état frais .....	36
4.3	Caractères biochimiques .....	36
4.3.1	Activité catalasique .....	36
5.	Test de l'activité antagoniste de certains isolats .....	37
5.1	Germes tests utilisés .....	37
5.2	Standardisation de l'inoculum et évaluation de l'activité antagoniste.....	37
5.2.1	Détermination de l'activité antagoniste des isolats de myxobactéries.....	38
6.	Tests de prédation microbienne .....	38
7.	Processus de fermentation des myxobactéries .....	39
8.	Préparation de l'extrait bactérien .....	40
9.	Méthodes d'extraction des métabolites secondaires bactériens.....	41
10.	Test d'activité antimicrobienne des extraits.....	42
10.1	l'activité antibactérienne .....	42
10.1.1	Bactérie cible.....	42



10.1.2	test d'activité sur les souches bactériennes cibles .....	42
10.2	Activité antifongique .....	43
10.2.1	Champignons et levures cibles .....	43
10.2.2	évaluation de l'activité .....	43
10.3	Lecture de l'activité.....	43
11.	Mise en évidence de l'activité lipolytique des myxobactéries .....	44
11.1	Sur milieu gélosé à base de Tween 80 .....	44
11.2	Sur milieu gélosé à base d'huile moteur .....	44
12.	Détection des substances antimicrobiennes par bioautographie à partir d'extraits bactériens.....	45
12.1	principe de la bioautographie .....	45
12.2	Sélection du meilleur solvant à l'aide de la chromatographie sur couche mince (CCM)	46
12.3	Analyse et séparation des composés par CCM .....	47
13.	Conservation des souches.....	48
	Chapitre II : résultats et discussion .....	49
1.	Résultats d'isolement .....	49
1.1	Technique des crottes de lapin .....	50
1.2	Technique des proies bactériennes .....	50
1.3	Souches cellulolytiques par la technique du papier filtre.....	51
1.4	Technique de spore.....	51
2.	Resultats de purification des myxobactéries.....	52
3.	caractéristiques des isolats .....	54
3.1	Caractères morphologiques .....	54
3.2	Coloration de Gram .....	55
3.3	Observation à l'état frais .....	59
3.4	test à la catalase .....	59
4.	Résultats de l'activité antagoniste des isolats .....	59

5. Observations issues du test de prédation .....	60
6. Mesure de l'activité activité antibactérienne .....	61
7. Tests antifongiques .....	64
8. Évaluation de l'activité antimicrobienne à partir de préparations diverses (surnageants, extraits et échantillons congelés).....	66
8.1 Test du surnageant sur les souches fongiques .....	66
8.2 Utilisation du culot des cellules éclatées .....	67
9. Détection des bactéries proies et des champignons cibles par les myxobactéries .....	68
10. Résultats de l'activité lypolytique .....	69
11. Choix du meilleur solvant par chromatographie sur couche mince (CCM) .....	70
12. Fractionnement et analyse des composés par CCM.....	71
Conclusion .....	72
Annexes.....	81

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

La multirésistance des bactéries et des champignons pathogènes représente aujourd'hui une menace majeure pour la santé publique mondiale (**Saggu et al., 2023**). compromettant l'efficacité des traitements antimicrobiens existants (**Herrmann et al., 2017**). Face à ce défi, la recherche de nouvelles molécules bioactives issues de sources naturelles constitue une priorité stratégique (**Saggu et al., 2023**).

Parmi les microorganismes d'intérêt, les myxobactéries occupent une place particulière. Ces bactéries à Gram négatif, appartenant à la sous-classe des Deltaprotéobactéries (**Muñoz-Dorado et al., 2016**). se distinguent par leur mode de vie singulier, marqué par la motilité par glissement (**Jane et al., 2003**). une organisation sociale complexe (**S. Bhat, 2011**). et la formation de structures multicellulaires appelées fructifications en conditions de stress (**Kaiser et al., 2010 ; Sanford et al., 2002**). Leur comportement coopératif, basé sur la différenciation cellulaire, la communication intercellulaire et la division du travail (**Cao et al., 2015**). évoque des caractéristiques propres aux organismes multicellulaires évolués.

L'intérêt majeur pour les myxobactéries réside dans leur extraordinaire capacité à produire une grande diversité de métabolites secondaires. Ces composés présentent des propriétés antimicrobiennes (**Schäberle et al., 2014**). antifongiques, antivirales (**Fleta-Soriano et al., 2014 ; Mulwa & Stadler, 2018**). antitumorales (**Quang et al., 2025**).

Et immunosuppressives (**Bader, 2021**). plus de 80 familles de molécules bioactives et plusieurs centaines de dérivés structuraux ont été identifiées chez ces bactéries, dont certains se distinguent par des mécanismes d'action uniques, tels que l'inhibition des polymérase, du cytosquelette ou du transport d'électrons (**Saggu et al., 2023**). Bien que les actinomycètes aient longtemps dominé la recherche dans ce domaine, les myxobactéries représentent aujourd'hui un groupe microbien prometteur et encore largement sous-exploré (**Bader, 2021 ; Velicer & Vos, 2009**).

Cependant, l'isolement des myxobactéries demeure un défi en microbiologie en raison de leur croissance lente et de leurs exigences écologiques particulières (**Dworkin & Bonner, 1972**). Des approches spécifiques, telles que l'appâtage avec *Escherichia coli* (**Mohr, 2018**). l'utilisation de filtres cellulolytiques (**Ahearne et al., 2023**). ou encore l'exploitation de

substrats riches en matière organique comme le bois en décomposition ou les excréments d'herbivores (Nören, 1951) sont souvent nécessaires pour leur mise en culture.

Dans ce contexte, le présent travail s'inscrit dans la recherche de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique. Plus précisément, cette étude vise à isoler et caractériser des souches locales de myxobactéries, puis à évaluer leur activité antimicrobienne. À travers cette démarche, l'objectif est de contribuer à la valorisation de la biodiversité microbienne et à l'exploration de nouvelles sources potentielles de composés bioactifs.

# **Partie bibliographique**

---

## Chapitre 1 : Revue de la littérature

### 1. Les myxobactéries : généralités

#### 1.1 Historique

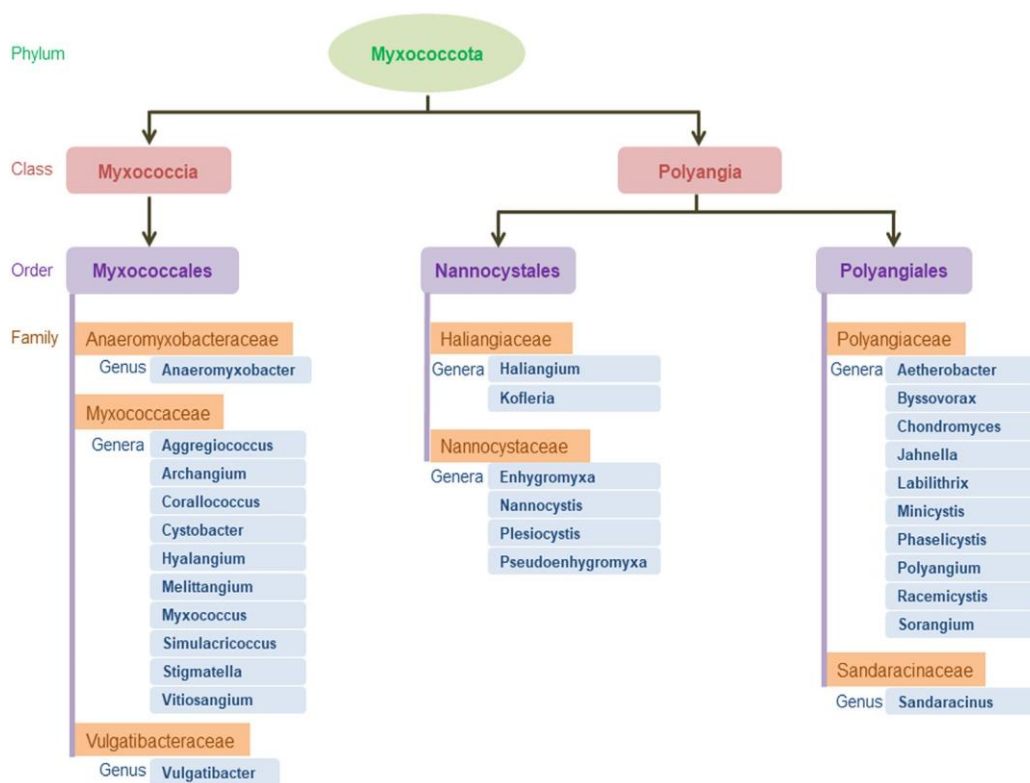
Les myxobactéries sont connues pour former des fructifications aux couleurs vives, souvent visibles à l'œil nu. La première espèce décrite, *Polyangium vitellinum*, fut identifiée et nommée en 1809 par le botaniste allemand H.F. Link, qui considérait alors la fructification comme appartenant aux gastromycètes (**Dawid, 2000**). Plus tard, en 1857, le biologiste britannique M.J. Berkeley découvrit et nomma deux autres genres et espèces, *Stigmatella aurantiaca* et *Chondromyces crocatus*, qu'il classa parmi les hyphomycètes (**Berkeley, 1857**). Ce n'est qu'en 1892 que le botaniste américain Roland Thaxter reconnut ces organismes comme des myxobactéries et décrivit pour la première fois leur cycle de vie (**Thaxter, 1892**).

Depuis le début du XXe siècle, de nombreuses études ont été consacrées aux myxobactéries (**Dawid, 2000 ; Jeffers & Holt, 1961**). Après une première phase centrée sur leur culture notamment l'enrichissement et l'obtention de cultures pures de nouvelles orientations de recherche ont vu le jour. Parmi celles-ci, on peut citer la biologie du développement, initiée par Dworkin et Gibson (**Dworkin, 1964**), ainsi que la génétique moléculaire, explorée par Kaiser et ses collaborateurs (**Kaiser et al., 2010**). Dans ce contexte, *Myxococcus xanthus* est devenu l'organisme modèle et demeure, à ce jour, l'espèce la plus étudiée.

Un tournant majeur fut marqué par la découverte de métabolites secondaires biologiquement actifs par Reichenbach et Dworkin dans les années 1970 (**Reichenbach & Dworkin, 1970**). Depuis, les recherches sur les myxobactéries se sont considérablement élargies. Aujourd'hui, elles portent principalement sur la biologie moléculaire (**Kumar et al., 2017 ; Saggi et al., 2023**), la biologie du développement (**Dworkin, 1996**), la taxonomie (**Reichenbach, 1986 ; Nitsos, 1971**), et surtout, les applications biotechnologiques (**Dong et al., 2022 ; Kumar et al., 2017**).

## 1.2 Taxonomie et classification

Les myxobactéries sont des bactéries unicellulaires Gram-négatives en forme de bâtonnets, appartenant au groupe des Deltaprotéobactéries. (Saggu *et al.*, 2023). Elles représentent l'un des groupes microbiens les plus fascinants en raison de leur capacité à produire une grande diversité de produits naturels bioactifs (Octaviana *et al.*, 2023). Elles ont été décrites pour la première fois en 1892 par le mycologue américain Thaxter (Pakseresht, 2020), et sont désormais classées dans l'ordre des Myxococcales (Dawid, 2000). Ces bactéries se retrouvent dans les sols du monde entier, sur les sept continents (Dawid, 2000 ; Pakseresht, 2020). Au cours des 30 dernières années, près de 7 000 souches ont été isolées, représentant la majorité des genres et espèces décrits (Garcia, 2011). Classées dans l'embranchement Myxococcota (voir figure 1) et l'ordre des Myxococcales (Deltaproteobacteria) sur la base de l'ARNr 16S, elles se répartissent en trois sous-ordres cultivés : Cystobacterineae, Sorangiineae et Nannocystineae (Wang *et al.*, 2021).



**Figure 1** : Classification taxonomique des myxobactéries (myxococcota)

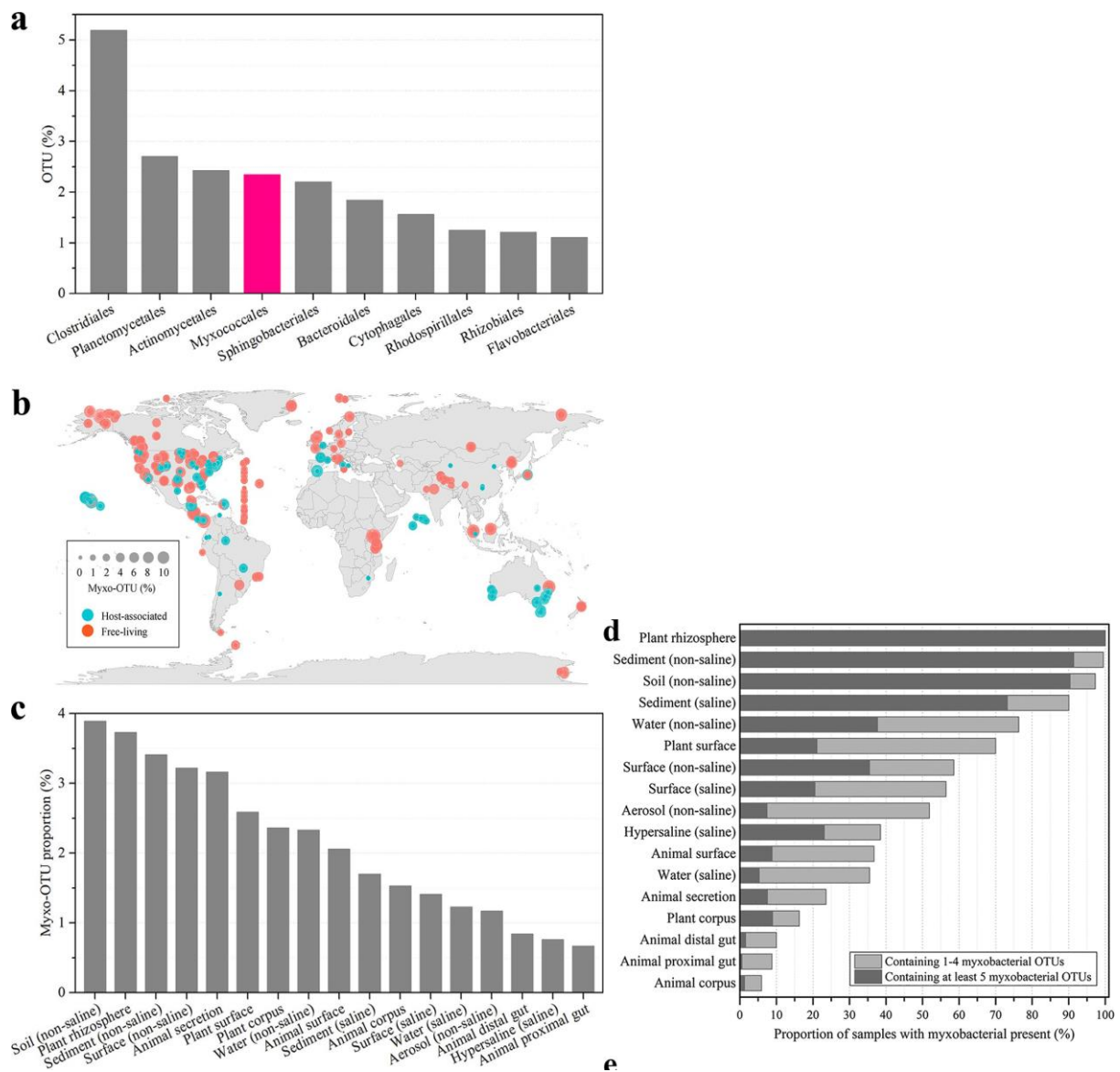
(Saggu *et al.*, 2023).



### 1.3 Habitats et répartition géographique

Les myxobactéries sont largement distribuées dans les sols du monde entier, présentes sur les sept continents (Dawid, 2000 ; Pakseresht, 2020). Leur succès écologique réside dans leur capacité à coloniser des surfaces solides complexes (Kaiser et al., 2010). et à occuper une grande diversité d'habitats : sols, matières végétales en décomposition, écorce et surface des feuilles, excréments d'herbivores, environnements extrêmes (marins, salins, désertiques, thermaux, antarctiques) et sédiments profonds. Certaines espèces psychrophiles, appartenant aux genres *Polyangium* et *Nannocystis*, ont été isolées de sols antarctiques et présentent une croissance optimale entre 4 et 9 °C (Dawid, 2000) Bien que les myxobactéries préfèrent généralement les sols à pH légèrement acide à légèrement alcalin (5–8), elles ont également été signalées dans des sols acides (pH 3,7) et alcalins (pH 8,0–9,2) (Lui, 1982). Une analyse basée sur le gène méta-16S rRNA suggère l'existence de 20 sous-ordres, 58 familles, 445 genres et 998 espèces. Cependant, leur répartition mondiale et leur diversité géographique restent encore mal connues. Le *Earth Microbiome Project* (EMP), lancé en 2010, a permis une première évaluation globale de la diversité et de la distribution des myxobactéries, confirmant leur présence dans plus de 90 % des échantillons de rhizosphère végétale non saline, de sols et de sédiments non salins, ainsi que dans plus de 70 % des sédiments salins. En revanche, elles sont rares (< 10 %) dans les échantillons d'origine animale (tissus, intestin proximal ou distal) et peu fréquentes dans les échantillons de surface ou d'eau saline. Les analyses basées sur la présence d'au moins 5 OTU confirment que la rhizosphère, les sols et les sédiments constituent leurs principaux habitats, tandis que les environnements liés aux animaux ne semblent pas adaptés à leur survie (Wang et al., 2021).

Dans les sols, les espèces les plus typiques sont *Nannocystis exedens*, *Corallocccus coralloides*, *Polyangium* spp., *Myxococcus fulvus*, *Cystobacter* spp. et *M. stipitatus*. Sur l'écorce et le bois en décomposition, on retrouve souvent *Stigmatella aurantiaca*, *Chondromyces apiculatus*, *C. coralloides*, *M. fulvus*, *C. pediculatus* et diverses espèces de *Haploangium*, tandis que le bois pourri est particulièrement favorable à *Chondromyces* et *Stigmatella* spp. Les boulettes de fumier des herbivores sont préférentiellement colonisées par *M. fulvus*, *C. coralloides*, *C. fuscus*, *C. ferrugineus*, *Archangium serpens*, *S. erecta*, *M. virescens*, *M. xanthus* et *C. velatus*. (Dawid, 2000).



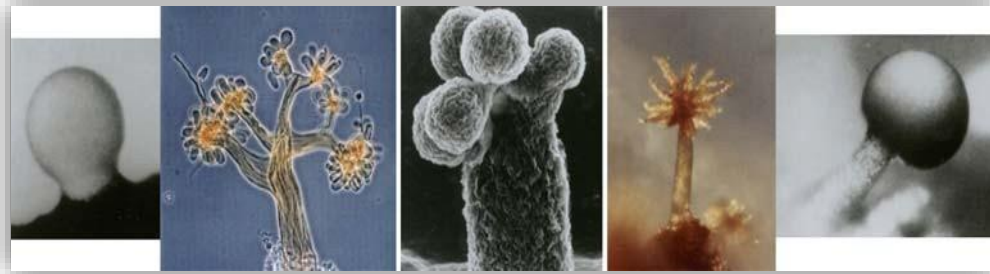
**Figure 2 :** Diversité et distribution des myxobactéries sur Terre

sur la base de 10 000 échantillons EMP. (a) Les 10 premiers ordres classés par numéro d'OTU dans les procaryotes révélés par les données EMP. (b) Diversité géographique mondiale et distribution de la communauté des myxobactéries. (c) Proportions d'OTU myxobactériennes dans les 17 types d'environnement. (d) Proportion des échantillons contenant des OTU myxobactériennes dans les échantillons des 17 types d'environnement. Les types d'environnement ont été classés par EMP

.(Wang et al., 2021).

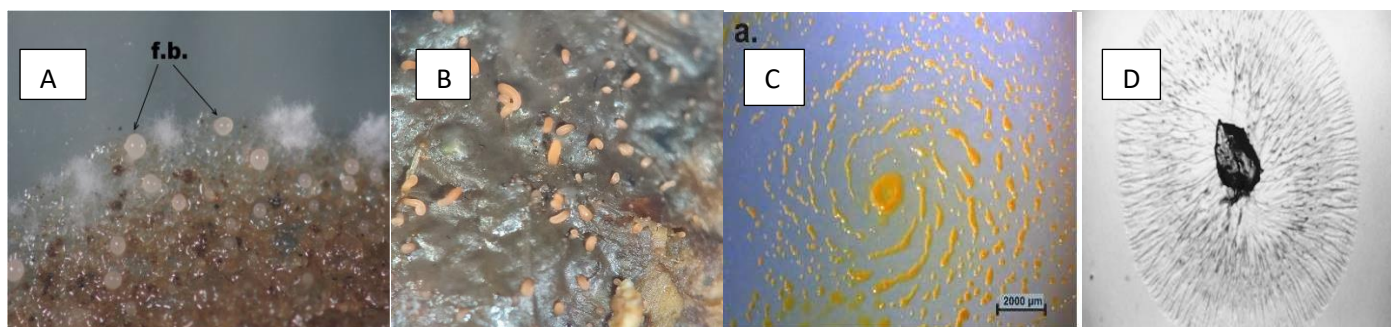
## 1.4 Caractéristiques morphologiques et physiologiques

### 1.4.1 Morphologie



**Figure 3 :** Les fructifications de cinq espèces différentes de myxobactéries

sont présentées, illustrant les différences de morphologie. De gauche à droite : *Myxococcus xanthus*, *Chondromyces crocatus*, *Stigmatella aurantiaca*, *Chondromyces apiculatus*, *Myxococcus stipitatus*. (Kaiser et al., 2010)



**Figure 4 :** Colonies de quelques souches myxobactériennes

**a.** Colonie de myxobactérie apparaissant sur sable **b.** Colonie se développant sur crottes de lapin **c.** Fructification d'espèces dégradant la cellulose **d.** Exemple d'essaim myxobactérien

(Mohr, 2018 ; Nguyen et al., 2022 ; Reichenbach, 2001 ; Wrótniak-Drzewiecka et al., 2016)

Les myxobactéries présentent des cellules végétatives en forme de bâtonnets de taille moyenne, mesurant entre 0,6 et 0,9 µm de largeur et de 3 à 8 µm de longueur. Deux morpho-types se distinguent : les tiges flexibles et allongées pouvant atteindre jusqu'à 20 µm, caractéristiques des Cystobacterinae, et les tiges rigides à extrémités arrondies, typiques des Sorangineae, qui mesurent jusqu'à 10 µm (Dawid, 2000). Leur membrane cellulaire se compose principalement de protéines, phospholipides et lipopolysaccharides, avec une absence notable d'heptoses

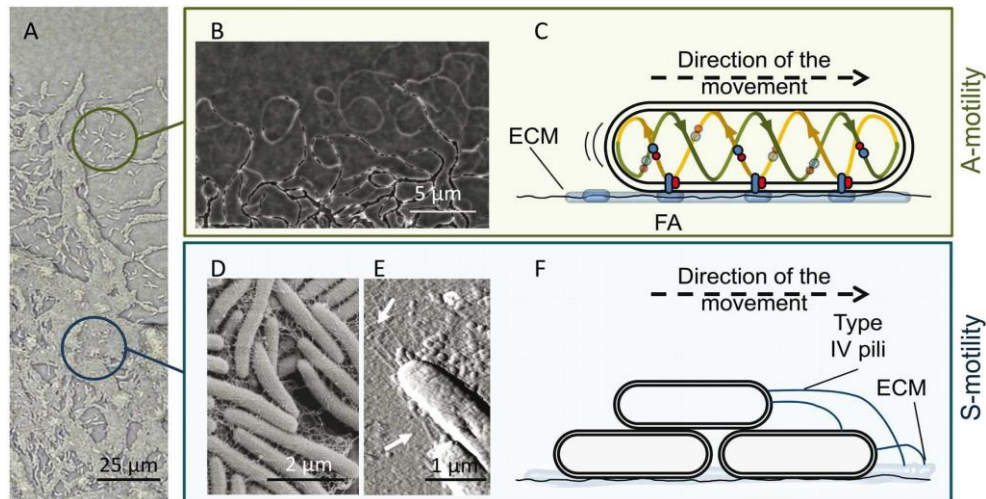
(Velicer & Vos, 2009). La paroi cellulaire est stratifiée, incluant une mince couche de peptidoglycane (PG) organisée en plaques (McDonald & Peterson, 1962). En réponse à certains signaux chimiques, notamment chez *Myxococcus xanthus*, ces cellules peuvent dégrader complètement leur PG pour former des spores sphériques, qui restaurent ensuite la morphologie végétative en réassemblant de novo leur PG lors de la germination (Whitworth, 2021). Les structures superficielles telles que les pili polaires et les fimbriae pérित्रiches jouent un rôle important dans l'adhésion intercellulaire et la formation de biofilms (Bhat, 2009). Physiologiquement, les myxobactéries sont généralement mésophiles, avec une température optimale proche de 30 °C, bien que certaines espèces psychrophiles se développent entre 4 et 9 °C (Dawid, 2000). Leurs spores, même si elles sont moins résistantes à la chaleur que celles des *Bacillus*, peuvent survivre dans l'environnement pendant des décennies, permettant leur isolement à partir d'échantillons séchés conservés à température ambiante (Mohr, 2018).

#### 1.4.2 Motilité

En ce qui concerne leur motilité, *Myxococcus xanthus* est un modèle représentatif. Cette bactérie Gram-négative se déplace sans flagelle grâce à deux systèmes complémentaires : la motilité A (glissement) et la motilité S (sociale) (Muñoz-Dorado et al., 2016).

La motilité A se caractérise par un déplacement lent des cellules individuelles, qui explorent l'environnement en changeant régulièrement de direction. Ce mouvement repose sur la sécrétion d'une matrice extracellulaire gluante, appelée « slime », constituée de polysaccharides déposés sur le substrat, favorisant ainsi l'adhésion et la formation de traces suivies par d'autres cellules. (Mohr, 2018).

La motilité S, quant à elle, permet un déplacement coordonné en essais multicellulaires. Cette coordination est facilitée par une matrice extracellulaire (ECM) composée de polysaccharides, protéines et ADN extracellulaire, essentielle à la prédation, à la formation des biofilms et à la construction des corps fructifères (Villa & de Miguel Bouzas, 2021). La cohésion cellulaire est assurée par des microcanaux structurés dans l'EPS (exopolysaccharides), qui favorisent la synchronisation des cellules..



**Figure 5:** la motilité A et S du *M. xanthus* (Muñoz-Dorado et al., 2016).

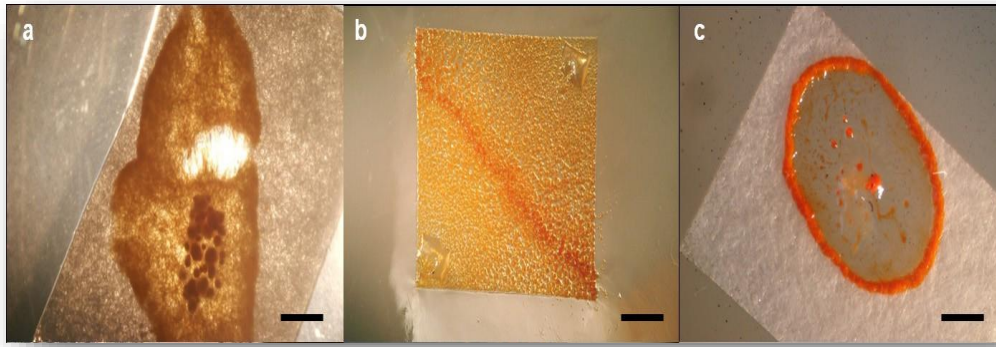
### 1.4.3 Géosmine

Les myxobactéries telles que *Myxococcus xanthus* et *Stigmatella aurantiaca* produisent la géosmine, un terpène volatil responsable de l'odeur caractéristique de la terre humide. Cette molécule est synthétisée par une enzyme, la géosmine synthase, possédant deux domaines fonctionnels : le premier convertit le farnésyl diphosphate en germacradienol, un intermédiaire sesquiterpénique, et le second transforme ce dernier en géosmine (Dickschat et al., 2005).

Les gènes codant pour la géosmine synthase chez les myxobactéries sont homologues à ceux des cyanobactéries et des streptomycètes, suggérant une origine évolutive commune ancienne, remontant à près de trois milliards d'années (Trowitzsch et al., 1981). Cette production contribue au profil chimique volatil des myxobactéries, qui se déplacent en essaims dans le sol et prédatent d'autres bactéries, jouant ainsi un rôle écologique important. (Dickschat et al., 2005).

### 1.4.4 dégradation de la cellulose.

Les myxobactéries sont majoritairement prédatrices, capables de lyser d'autres micro-organismes grâce à la production d'enzymes hydrolytiques, tandis que certaines espèces possèdent la capacité de dégrader la cellulose (Mohr, 2018).



**Figure 6:** Schéma de dégradation de la cellulose chez les myxobactéries. (a) *Pseudochondromyces catenulatus*. (b) *Sorangium cellulosum*. (c) *Byssovorax cruenta* (Garcia, 2011).

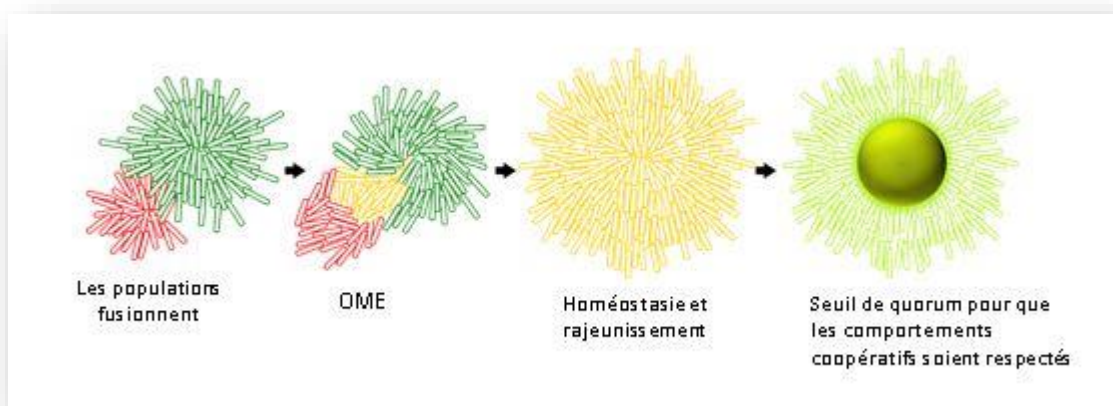
#### 1.4.5 Génome

Les myxobactéries possèdent des génomes larges, allant de 1,8 à plus de 16 Mb, avec un contenu élevé en GC (65-75 %), témoignant de leur complexité génétique et de leur adaptation à divers environnements (Saggu et al., 2023). Ces génomes codent pour un grand nombre de gènes, entre 7 400 et 8 200, notamment ceux impliqués dans la signalisation cellulaire, la motilité, la communication, la prédation et la sporulation (Bhat, 2009).

#### 1.4.6 Mécanismes sociaux et interactions collectives

Les myxobactéries présentent un mode de vie social complexe caractérisé par des comportements collectifs tels que la formation de biofilms et d'essaims coordonnés. Leur déplacement en groupe s'effectue par glissement actif, un mécanisme ne nécessitant pas de flagelles, mais reposant sur un système de fibrilles cytoplasmiques contractiles (Dawid, 2000 ; Octaviana et al., 2023). Ce mode de vie repose sur une forte coopération cellulaire, notamment à travers la formation structurée de corps fruitiers. Lors de la germination des myxospores, la population coordonne la mise en place d'un nouvel essaim, processus facilité par la matrice extracellulaire (ECM), qui maintient étroitement les myxospores au sein des fructifications (Muñoz-Dorado et al., 2016). La motilité et les comportements collectifs sont régulés par des gènes spécifiques, ainsi que par la transmission de signaux moléculaires qui permettent l'agrégation cellulaire, étape essentielle à la formation des structures multicellulaires (Dworkin, 1996 ; Kaiser et al., 2010). Des structures telles que les pili polaires et les fimbriae jouent également un rôle crucial dans les interactions intercellulaires impliquées dans ces

processus (**Dawid, 2000**). Ce mode d'organisation social confère aux myxobactéries une capacité d'adaptation remarquable à des environnements hostiles. À l'instar de certains eucaryotes, elles ont évolué vers une forme de multicellularité nécessitant une communication et une coopération efficaces entre cellules. Cette évolution fait des myxobactéries un modèle pertinent pour l'étude des mécanismes de la multicellularité. Par ailleurs, le mécanisme d'échange de membrane externe (Outer Membrane Exchange, OME) semble jouer un rôle clé dans la formation d'une unité fonctionnelle entre les cellules. Ce processus favoriserait le partage des ressources, le maintien de l'homéostasie, et pourrait également intervenir dans la régulation des interactions sociales (**Cao et al., 2015**).



**Figure 7** : Modèle de l'OME dans une communauté bactérienne. Deux populations distinctes mais compatibles se rencontrent (verte et rouge), et l'OME est représenté en jaune

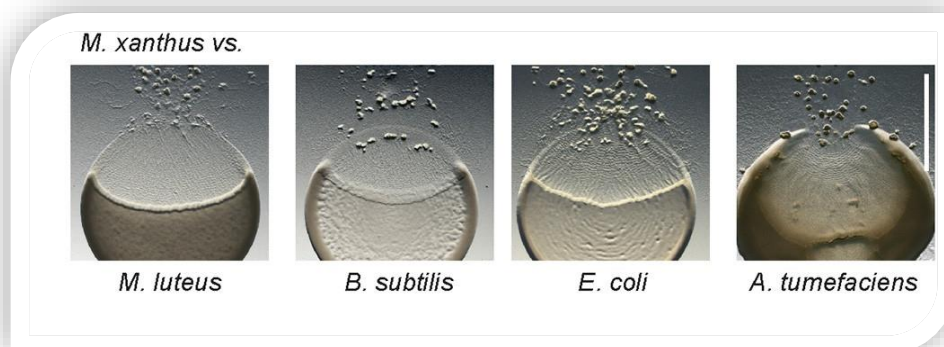
(**Cao et al., 2015**).

#### 1.4.7 Stratégies de prédation

Les myxobactéries, en tant que prédateurs microbiens, jouent un rôle fondamental dans la régulation des communautés bactériennes du sol (**Chen et al., 2023**). Elles contribuent au maintien de l'équilibre microbien en modulant la diversité et l'abondance des populations bactériennes. En raison de leur capacité à attaquer une large gamme de proies, y compris des bactéries et des champignons pathogènes, et à influencer leur évolution, elles participent activement à la stabilité des communautés microbiennes et, par conséquent, au bon fonctionnement de l'écosystème terrestre (**Whitworth, 2021**).

Elles se déplacent en groupe à la recherche de nutriments, se nourrissant d'autres micro-organismes, notamment bactéries et levures, par bactériolyse (**Octaviana et al., 2023**). Elles tuent d'autres espèces pour utiliser leur biomasse comme source d'énergie. Leurs mécanismes

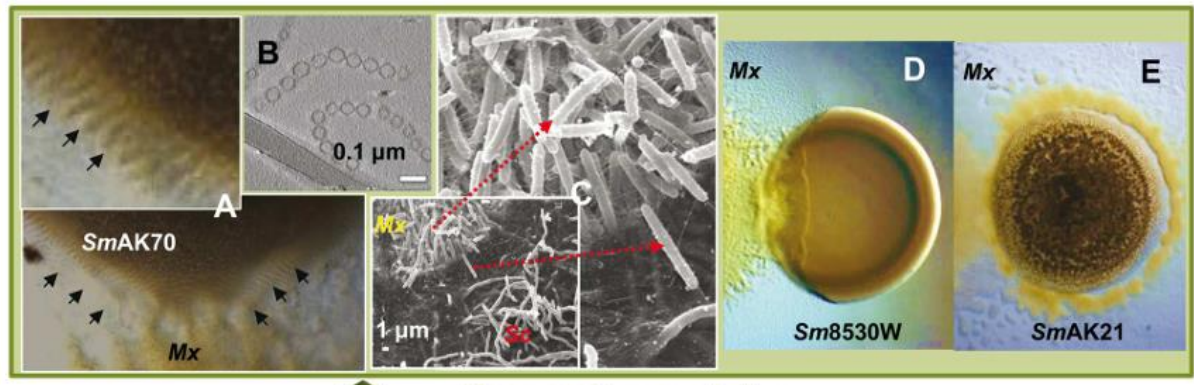
de prédation leur permettent de se nourrir d'un large spectre de bactéries, mais l'identité des effecteurs impliqués dans cette prédation ainsi que leur mode d'action restent, de manière générale, largement inconnus (Arend *et al.*, 2021). Pour exercer leur activité prédatrice, les myxobactéries sécrètent des exoenzymes (protéases, nucléases, lipases, glucanases) capables de dégrader des macromolécules biologiques, des cellules entières, ainsi que des polymères complexes tels que l'amidon ou le xylane. La production de vésicules de membrane externe (OMV) participe également à la communication intercellulaire et à la prédation (Arend *et al.*, 2021 ; Saggi *et al.*, 2023). Parallèlement, elles utilisent la production de sidérophores comme stratégie compétitive pour capter le fer et priver leurs cibles de ce nutriment essentiel (Gaitatzis *et al.*, 2005). Les myxochélines, leurs principaux sidérophores (Contreras-Moreno *et al.*, 2024), assurent non seulement l'acquisition du fer et l'homéostasie intracellulaire, mais exercent également des effets antibactériens et antiprolifératifs (Nadmid, 2015). En conditions de compétition, cette séquestration du fer affaiblit les bactéries voisines, facilitant ainsi leur prédation (Dong *et al.*, 2022).



**Figure 8:** Comportement de prédation de *Myxococcus xanthus* contre *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Agrobacterium tumefaciens*

(Arend *et al.*, 2021).





**Figure 9 :** *Myxococcus xanthus* comportements multicellulaires.

(A) mouvements coordonnés du souche *M. xanthus DK1622* lors de la prédation. (B) Chaînes d'OMV par le microscopie électronique à transmission. Les OMV contiennent de multiples enzymes hydrolytiques et métabolites secondaires, indiquant un rôle important dans la destruction et la lyse des proies. (C) Micrographies électroniques à balayage de l'interface du souche *M. xanthus DK1622* L'image agrandie montre la connexion intense de la matrice extracellulaire (ECM) entre les cellules attaquantes. (D) Stratégie d'attaque frontale du souche *M. xanthus DK1622* (Mx) par rapport à une colonie non mucoïde de *S. meliloti 8530W*. (E) Stratégie d'attaque du souche *M. xanthus DZ2* (Mx) contre une colonie mucoïde de *S. meliloti AK21* (Muñoz-Dorado et al., 2016).

### 1.5 Cycle de vie et développement multicellulaire

Les myxobactéries présentent un cycle de vie unique, combinant croissance végétative et développement multicellulaire. En conditions favorables, elles se multiplient par fission binaire et se déplacent collectivement grâce à une motilité glissante. (Villa & de Miguel Bouzas, 2021). Lorsqu'elles subissent une carence en nutriments, les individus déclenchent un programme de développement coordonné, régulé par des signaux intercellulaires qui assurent la synchronisation des différentes étapes. Au cours de ce développement, les cellules s'agrègent pour former des corps fructifères, structures multicellulaires (Mohr, 2018). dans lesquelles elles se différencient en myxospores résistantes et quiescentes. Ces spores, capables de survivre à des conditions environnementales défavorables, germent ensuite pour redonner naissance à des cellules végétatives lorsque l'environnement redevient propice. Ce cycle illustre une forme remarquable de multicellularité procaryote, fondée sur la coopération et la communication cellulaire. La morphologie des corps fructifères varie selon les genres, et les spores y sont regroupées dans des sporangioles dont la forme et la pigmentation diffèrent (Dawid, 2000). La formation de ces structures résulte d'un processus coopératif sensible à plusieurs facteurs

environnementaux, tels que la disponibilité en nutriments, le pH, la température, etc. (Bhat & Sundarraj, 1972). Les myxobactéries se distinguent également par leur comportement social complexe. Elles sécrètent une matrice extracellulaire qui joue un rôle central dans la communication intercellulaire et le mouvement collectif vers les proies. Sur gélose, elles forment de grands essaims, permettant d'observer visuellement cette coopération sociale. Cette socialité se traduit également par la production de nombreux métabolites secondaires biologiquement actifs, renforçant leur rôle écologique et leur potentiel biotechnologique (Dawid, 2000).

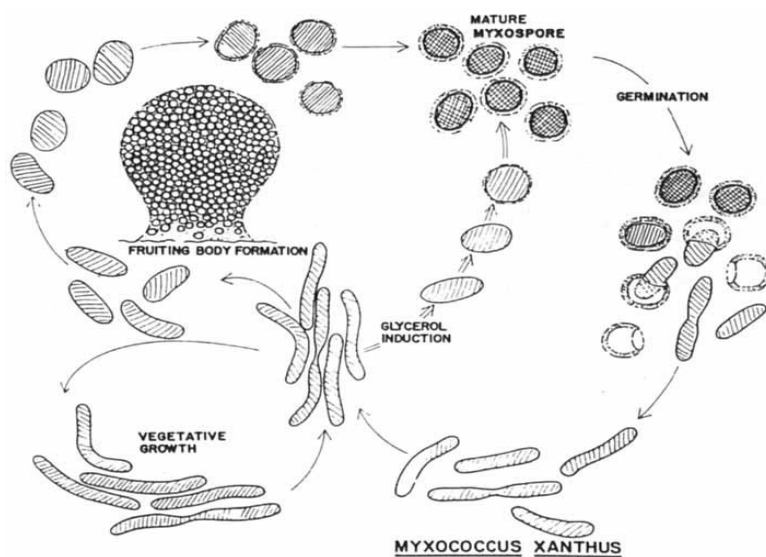


Figure 10: Cycle de vie de *Myxococcus xanthus*

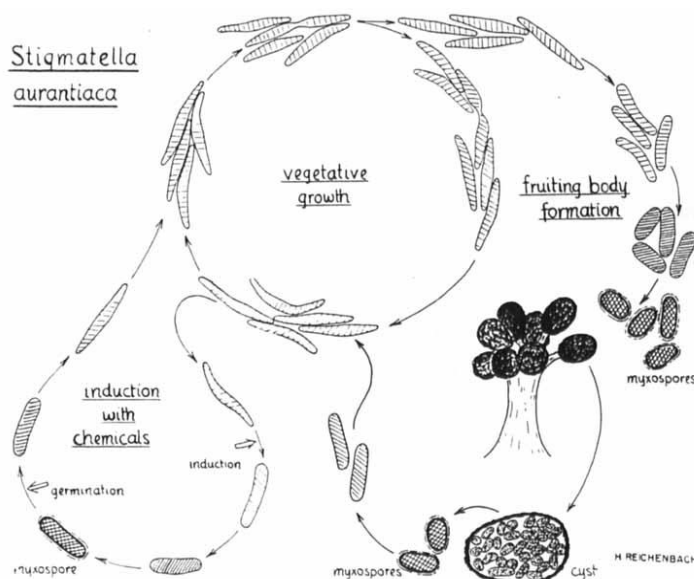


Figure 11: Cycle de vie de *Stigmatella aurantiaca*

(Dworkin & Bonner, 1972).

## 2. Métabolisme secondaire des Myxobactéries

Les myxobactéries représentent une source prolifique et unique de métabolites secondaires, caractérisés par une grande diversité structurale et fonctionnelle. (Schäberle et al., 2014). En évidence leur remarquable potentiel biotechnologique. En tant que groupe bactérien, elles suscitent un intérêt croissant en tant que producteurs de produits naturels, rivalisant avec les actinomycètes, traditionnellement considérés comme les principales sources microbiennes de métabolites secondaires. (Wrótniak-Drzewiecka et al., 2016)

Cette capacité exceptionnelle repose en grande partie sur la taille considérable de leurs génomes, qui renferment un nombre élevé de clusters de gènes biosynthétiques. Plus de 600 produits naturels myxobactériens sont aujourd'hui répertoriés (Saggu et al., 2023), et ce chiffre ne cesse d'augmenter grâce à l'isolement de nouvelles souches. Le fait qu'une grande proportion des taxons myxobactériens reste encore non cultivée suggère que l'exploration de leur diversité phylogénétique pourrait révéler de nouvelles familles de composés bioactifs. Ainsi, les campagnes de prospection et d'isolement de nouvelles souches constituent une voie prometteuse pour la découverte de molécules inédites (Gemperlein et al., 2018).

Les métabolites issus des myxobactéries se distinguent non seulement par leur diversité structurale, mais également par leurs mécanismes d'action originaux (Mulwa & Stadler, 2018). Ils ciblent souvent des structures cellulaires rarement affectées par d'autres produits naturels, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques. Un exemple emblématique est l'épothilone, produit par *Sorangium cellulosum*, qui a atteint les essais cliniques de phase III en tant qu'agent anticancéreux. L'épothilone présente une meilleure solubilité aqueuse, peut être produit par fermentation et reste actif contre les tumeurs résistantes au paclitaxel (Saggu et al., 2023). D'autres composés, tels que la disorazole et la tubulysine, agissent de manière opposée en déstabilisant les microtubules, tandis que le rhizopodine et la chondramide ciblent le cytosquelette d'actine (Herrmann et al., 2017).

Fait remarquable, plusieurs métabolites myxobactériens présentent une grande similitude avec des composés isolés chez des organismes marins supérieurs, tels que les éponges ou les mollusques, ce qui suggère l'existence de myxobactéries marines (Gemperlein et al., 2018), productrices de ces substances ou de symbioses microbiennes responsables de leur biosynthèse. Par ailleurs, une particularité rare du métabolisme myxobactérien réside dans la production de stéroïdes, une capacité inhabituelle pour les procaryotes. Bien que leur rôle biologique reste incertain, leur présence témoigne de l'originalité métabolique de ce groupe (Bader, 2021 ; Bhat, 2011).

Dans l'ensemble, la diversité chimique et fonctionnelle des métabolites myxobactériens, leur potentiel thérapeutique et agricole, ainsi que la perspective d'en découvrir de nouveaux grâce à l'exploration de souches encore méconnues, confirment la place des myxobactéries comme l'une des plus importantes ressources microbiennes en produits naturels (Gemperlein et al., 2018) Leur étude et leur exploitation constituent donc un champ de recherche stratégique pour la découverte de nouvelles molécules bioactives à forte valeur ajoutée.

## 2.1 Antibiotiques myxobactériens inhibiteurs de l'ARN polymérase bactérienne

### 2.1.1 Les corallopyronines

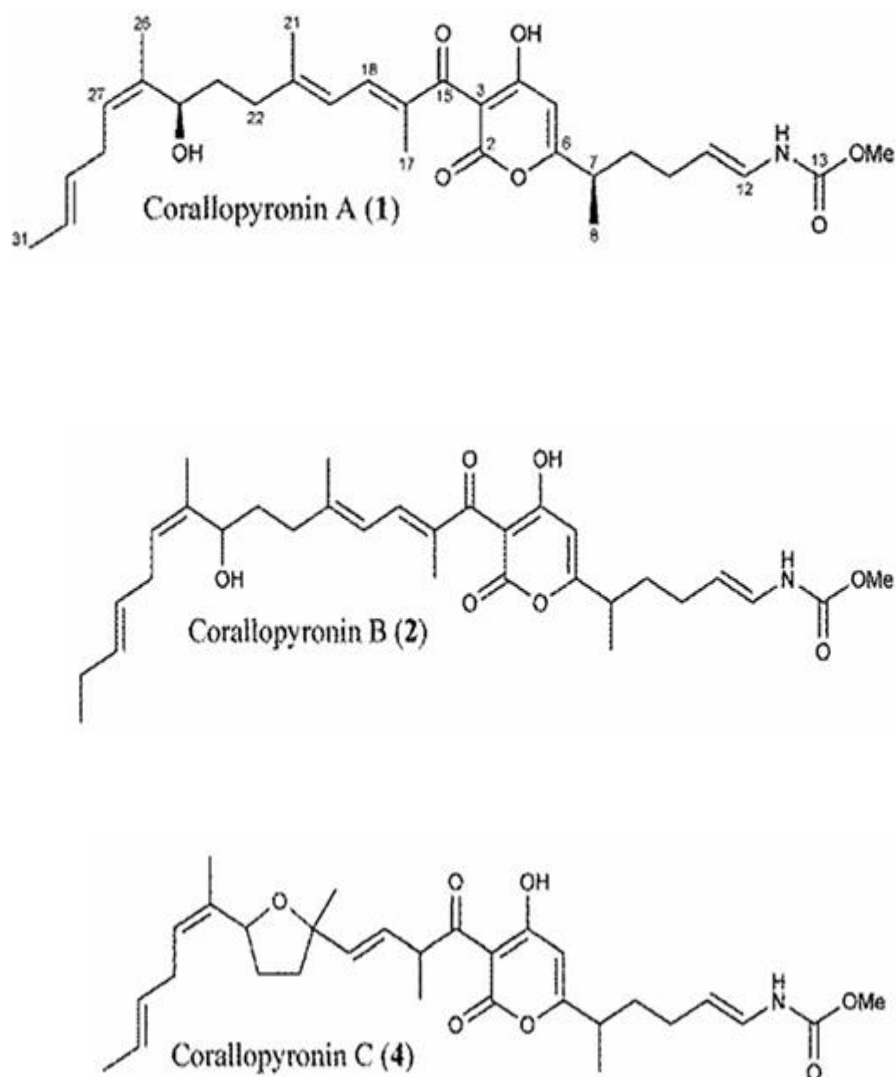
Les corallopyronines, identifiées en 1985 chez *Coralloccoccus coralloides*, se distinguent, notamment pour le composé A, par une topologie moléculaire complexe et des caractéristiques structurales uniques (Schäberle et al., 2014).

#### 2.1.1.1 Structure

Un noyau pyrone rigide constitue l'échafaudage central de la molécule, prolongé par deux chaînes flexibles : une chaîne occidentale lipophile (portant trois groupes méthyle, un hydroxyle et un diène conjugué) et une chaîne orientale (portant un méthyle, un énamide et un carbamate de méthyle) (Herrmann et al., 2017).

La famille des corallopyronines comprend actuellement trois membres structurellement apparentés :

- la corallopyronine A, qui constitue le composé majeur produit par la souche bactérienne,
- la corallopyronine B et la corallopyronine C, des analogues partageant un squelette moléculaire commun basé sur le noyau pyrone caractéristique, mais différant par la nature et la position de certains substituants, ce qui confère à chaque composé des propriétés physico-chimiques et biologiques spécifiques (Schäberle et al., 2014).



**Figure 12:** Structures chimique de la corallopyronine A , la corallopyronine B , la corallopyronine C

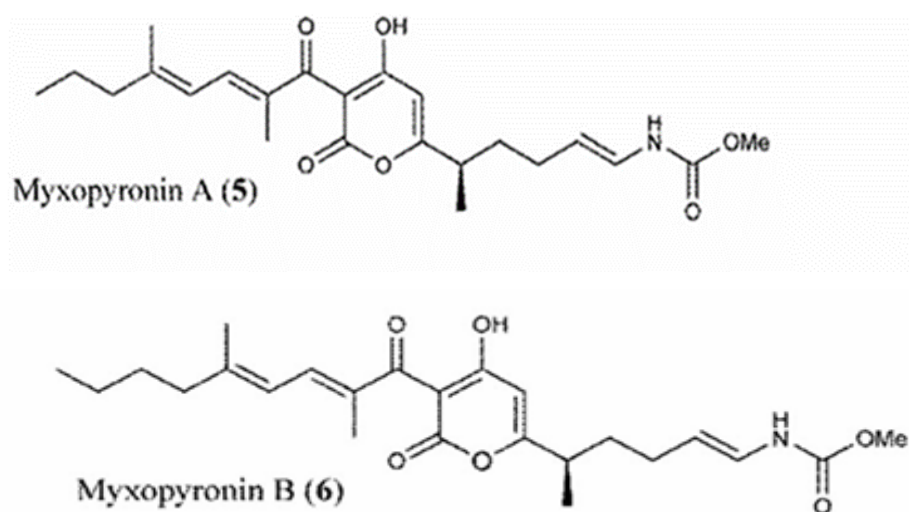
(Schäberle et al., 2014).

### 2.1.1.2 Corallopyronine comme agent anti-Wolbachia

La corallopyronine A cible efficacement *Wolbachia*, bactéries intracellulaires essentielles aux nématodes responsables de filarioses (ex. onchocercose). Dans une étude *in vivo* sur des souris infectées par *Litomosoides sigmodontis*,. Un traitement par Corallopyronine a montré une efficacité remarquable en éliminant les bactéries *Wolbachia*, ce qui entraîne la mort des vers par perte de leur symbiose. Aucune toxicité n'a été observée jusqu'à une dose de 100 mg·kg<sup>-1</sup>(Schäberle et al., 2014).

### 2.1.2 La myxopyronine

Les myxopyronines A et B, caractérisées en 1983 chez *Myxococcus fulvus*, présentent une analogie structurale partielle avec les corallopyronines (Herrmann et al., 2017). conservation du noyau pyrone et de la chaîne orientale, mais une chaîne occidentale plus courte (absence d'hydroxyle, terminaison au C-24 pour la molécule 5 et au C-25 pour la molécule 6) (Schäberle et al., 2014).



**Figure 13:** Structures chimique de certains métabolites bioactifs Myxopyronin A et Myxopyronin B

(Schäberle et al., 2014).

### 2.1.3 Activité antibiotique des corallopyronines

La corallopyronine A a été testée sur une série de micro-organismes et a montré une activité prometteuse contre les bactéries Gram positives, avec des valeurs de CMI de l'ordre de 0,097 mg·mL<sup>-1</sup> (*Staphylococcus aureus*) et 0,39 mg·mL<sup>-1</sup> (*Bacillus megaterium*). La corallopyronine B s'est révélée moins active dans les mêmes systèmes de test, avec des valeurs de CMI de 0,39 mg·mL<sup>-1</sup> (*S. aureus*) et 3,1 mg·mL<sup>-1</sup> (*B. megaterium*). La corallopyronine C (CMI respectives : 0,78 et 6,25 mg·mL<sup>-1</sup>). Les corallopyronines n'ont pas montré d'activité antibiotique contre les bactéries Gram négatives, à l'exception de *Escherichia coli*, qui constitue un phénotype hypersensible (Schäberle et al., 2014).

## 2.2 Inhibiteurs myxobactériens de la synthèse protéique bactérienne

### 2.2.1 Althiomycine

L'althiomycine, un antibiotique contenant du soufre, isolée pour la première fois en 1957 à partir d'une souche de *Streptomyces althioticus*. D'autres producteurs ont été identifiés, notamment des myxobactéries. Sur le plan chimique, ce composé se distingue par la présence d'un groupe oxime, d'un cycle thiazole, d'un cycle thiazoline et d'une méthoxypyrrolinone. Sa structure de base est un peptide (H<sub>2</sub>N-Gly-Cys-Ser-Cys-Gly-COOH) dans lequel les deux résidus cystéine participent à la formation des cycles thiazoline et thiazole par hétérocyclisation. Les hypothèses issues d'une analyse rétro-biosynthétique ont été validées par la caractérisation du cluster génique responsable de la biosynthèse de l'althiomycine chez *Myxococcus xanthus* DK897, obtenue via une approche d'exploration génomique. (Schäberle et al., 2014).

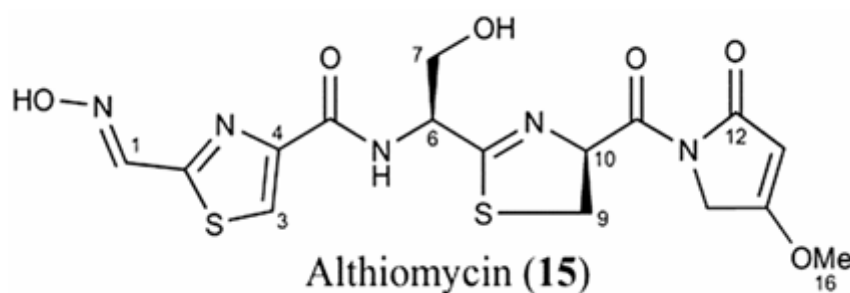


Figure 14: Structure chimique de l'althiomycine

#### 2.2.1.1 Activité antibactérienne de l'althiomycine

Des recherches sur le mécanisme d'action de l'althiomycine ont été menées sur des cellules d'*Escherichia coli*. L'analyse de son impact sur la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines a montré que cet antibiotique inhibe principalement la biosynthèse protéique. L'althiomycine présente une activité antibiotique à large spectre, efficace contre diverses bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Des études ont mesuré ses concentrations minimales inhibitrices (CMI) : 6,3 mg·mL<sup>-1</sup> contre *Klebsiella pneumoniae*, 1 mg·mL<sup>-1</sup> contre *Escherichia coli* 1852E PM, 16 mg·mL<sup>-1</sup> contre *Staphylococcus aureus* 853E, et 0,8 mg·mL<sup>-1</sup> contre *Corynebacterium diphtheriae*.

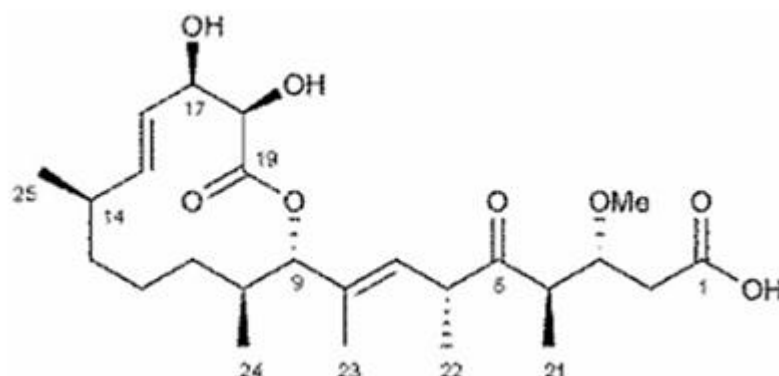
Des rapports indiquent que l'althiomycine, en raison de ses effets principalement dirigés contre les bactéries Gram-négatives, a suscité l'intérêt de l'industrie pharmaceutique (Schäberle et al., 2014).

### 2.3 Antibiotiques myxobactériens influençant la formation de biofilms

Les bactéries organisées en biofilms développent une résistance accrue aux antibiotiques comparativement à leurs formes libres. Cette résistance s'explique notamment par l'incapacité des antimicrobiens à pénétrer la matrice protectrice du biofilm (Arakal et al., 2025).et par la présence de cellules métaboliquement inactives. La découverte d'antibiotiques ciblant spécifiquement les biofilms bactériens revêt donc un intérêt majeur, en particulier pour combattre des infections critiques telles que les infections urinaires, les pathologies dentaires ou encore les biofilms sur implants médicaux.(Dye & Yang, 2022).

#### 2.3.1 Carolactone

La carolactone est un métabolite secondaire de type macrolide, découvert en 1998 par Höge et son équipe. Elle est produite par la myxobactérie *Sorangium cellulosum* (souche So ce960). Bien que classée parmi les macrolides, son activité biologique principale ne réside pas dans l'antibiose classique (contre les bactéries planctoniques), mais dans une puissante inhibition de la formation de biofilms par *Streptococcus mutans* (pathogène buccal responsable des caries). Cette propriété en fait une molécule d'intérêt pour la recherche en microbiologie médicale (Schäberle et al., 2014).



**Figure 15:** Structure chimique de la carolactone (Schäberle et al., 2014).



### 2.3.1.1 Mode d'action de la carolactone :

La carolactone présente une activité antibiotique contre *Escherichia coli* (CMI 0,06 mg·mL<sup>-1</sup>) et inhibe particulièrement les biofilms de *Streptococcus mutans*, bactérie pathogène associée aux caries et aux endocardites. Son efficacité à très faible concentration (mort de 33 % des cellules à 5 ng·mL<sup>-1</sup> ; 66 % à 25 ng·mL<sup>-1</sup>) et son seuil d'action nanomolaire (10 nM) suggèrent une cible moléculaire peu abondante (Schäberle *et al.*, 2014).

## 2.4 Substances antivirales

### 2.4.1 La ratjadone, inhibiteur de la voie nucléaire du VIH par blocage de la protéine REV

La protéine régulatrice virale REV assure l'export cytoplasmique des transcrits viraux bruts via le transporteur CRM1, en exploitant des signaux nucléaires antagonistes (NLS/NES) et des médiateurs cellulaires (importine-β), étape critique pour la réplication du VIH. La ratjadone A (RaTA) est un métabolite secondaire produit par certaines souches de myxobactéries, notamment *Sorangium cellulosum*. Découverte pour ses propriétés antibiotiques et antifongiques dans les années 1990, cette molécule a depuis révélé une activité antivirale remarquable contre le VIH, faisant d'elle un sujet de recherche prometteur en pharmacologie (Herrmann *et al.*, 2017).

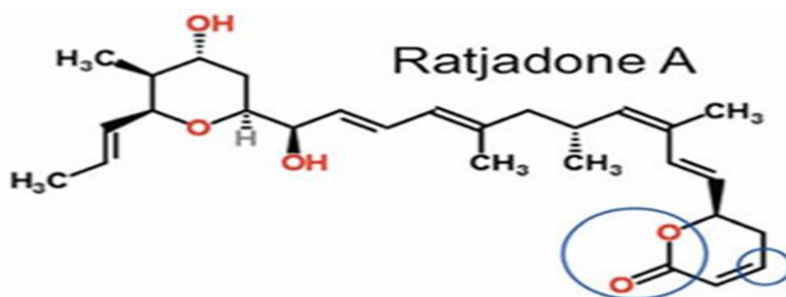


Figure 16: Structure chimique de la RaTA

(Fleta-Soriano *et al.*, 2014).

Le test d'addition temporelle (TOA) confirme que la ratjadone A (RaTA) bloque spécifiquement l'export nucléaire des ARNm du VIH. L'effet maximal survient à 12 h post-infection, phase critique de l'export viral. La comparaison avec l'inhibiteur T20 valide le protocole, malgré des variations résiduelles typiques des cibles compétitives.

La ratjadone A inhibe le VIH en bloquant l'exportine CRM1. Bien que sa faible sélectivité limite son usage en monothérapie, son mécanisme d'action hôte-dirigé (moins sujet aux résistances) ouvre la voie à des dérivés combinables avec le TAR, pour des thérapies antirétrovirales innovantes (Fleta-Soriano et al., 2014).

## 2.5 Agents bioactifs de biodégradation des aflatoxines :

Les aflatoxines, métabolites toxiques produits par *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* et *A. nomius*, représentent un risque majeur pour la santé animale et humaine. Ces mycotoxines, notamment les isoformes B1, B2, G1 et G2, sont classées comme cancérogènes puissants, tératogènes et hépatotoxiques, causant d'importantes pertes (Zhao et al., 2011).

Parmi elles, l'aflatoxine B1 (AFB1) est le cancérogène naturel le plus virulent Métabolisée en aflatoxine M1 (AFM1) par le cytochrome P450 hépatique, elle contamine la chaîne alimentaire, par exemple le lait de vache (Zinedine et al., 2007).

Si les méthodes physico-chimiques de détoxification restent limitées en efficacité et en sécurité (Kabak et al., 2006), la biodégradation microbienne émerge comme alternative prometteuse. Plusieurs champignons (*Rhizopus arrhizus*, *Aspergillus niger*, *Trametes* spp.) et bactéries participent à la détoxification, ouvrant la voie à des solutions biologiques durables. Une étude a montré que le surnageant de culture de *Myxococcus fulvus*, et l'enzyme MADE peuvent efficacement éliminer les AFB1, AFG1 et AFM1 en solution. L'enzyme MADE extracellulaire produite par *Myxococcus fulvus*, pourrait être appliquée pour éliminer les aflatoxines dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, afin d'atténuer les dangers pour la santé humaine et animale. Ce résultat est en accord avec la recherche de (Alberts et al., 2009), qui ont démontré la capacité de certains extraits extracellulaires à dégrader l'AFB1.

Les sources bactériennes d'enzymes dégradant les aflatoxines sont très importantes. L'enzyme MADE, purifiée à partir de *Myxococcus fulvus*, en constitue un exemple bien caractérisé. Cette particularité souligne son intérêt en bioremédiation. (Dye & Yang, 2022).

## 2.6 Agents antiparasitaires

Les myxobactéries constituent une source prometteuse de nouveaux agents antiparasitaires grâce à leur remarquable capacité à produire des métabolites secondaires originaux. Récemment, de nouvelles souches appartenant au clade des *Myxococcaceae* ont été identifiées comme productrices d'angiolams, une famille de composés polykétidiques-nonribosomiques présentant des activités biologiques notables. Plusieurs dérivés, dont les angiolams B, C et D, ont montré une efficacité antiparasitaire significative, notamment contre *Plasmodium falciparum*, avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> dans la gamme submicromolaire (0,3–0,8 μM), témoignant d'un fort potentiel thérapeutique (Walesch et al., 2024).

Ces résultats soulignent l'importance d'explorer davantage la diversité chimique des myxobactéries, non seulement pour élargir le répertoire des structures naturelles bioactives, mais aussi pour développer de nouvelles pistes dans la lutte contre les infections parasitaires, en particulier celles dues aux protozoaires responsables de maladies tropicales négligées.

**Tableau 1** : Sélection de quelques molécules bioactives de myxobactéries présentant des modes d'action variés(Saggu *et al.*, 2023).

Métabolite	Source	Activité biologique	Classe structurale	Mécanisme d'action
<b>Althiomycine</b>	Myxococcus xanthus; Cystobacter fuscus	Antibactérien, cytotoxique	Peptide cyclique	Inhibe la synthèse protéique (peptidyl transférase)
<b>Ambruticine</b>	Sorangium cellulosum	Antifongique	Lactone	Interfère avec l'osmorégulation (voie HOG)
<b>Corallopyronine</b>	Coralloccoccus coralloides	Antibactérien, antifilaire	$\alpha$ -Pyrone	Inhibe la synthèse protéique (ARN polymérase bactérienne)
<b>Epothilone</b>	Sorangium cellulosum	Antifongique, anti-mitotique, antiviral (HIV)	Macrolactone	Stabilise les microtubules, favorise la régénération axonale
<b>Carolactone</b>	Sorangium cellulosum	Anti-biofilm (S. mutans)	Macrolactone	Altère la paroi cellulaire et la signalisation PknB
<b>Bengamide</b>	Myxococcus virescens	Anthelminthique, antibactérien, anti-inflammatoire	Caprolactame	Inhibe MetAP et la voie NFkB
<b>Chlorotonil</b>	Sorangium cellulosum	Antipaludique, antibactérien	Macrolactone	Bloque le cycle intraérythrocytaire du parasite
<b>Chondramide</b>	Chondromyces crocatus	Antifongique, antiviral (EBOV), cytotoxique	Depsipeptide	Inhibe la polymérisation de l'actine

<b>Archazolid</b>	Archangium gephyra; Archangium violaceum	Antifongique, cytotoxique	Macrolactone	Inhibe les ATPases vacuolaires
<b>Cystobactamide</b>	Cystobacter sp.	Antibactérien	Peptide	Inhibe la synthèse d'ADN (topoisomérase IIa)
<b>Aurachine</b>	Stigmatella aurantiaca	Antituberculeux, antifongique, antipaludique	Quinolone	Inhibe la chaîne respiratoire (complexes I et III)
<b>Leupyrrine</b>	Sorangium cellulosum	Antifongique, cytotoxique	Macrodilactone	Inhibe la synthèse d'ADN, ARN et protéines
<b>Macyranone</b>	Cystobacter fuscus	Antiparasitaire (Trypanosoma, Leishmania), cytotoxique	Epoxykétone	Inhibiteur du protéasome
<b>Icumazole</b>	Sorangium cellulosum	Antifongique	Oxazole, polykétide	Inhibe la synthèse d'ADN, ARN et protéines; cible la chaîne respiratoire
<b>Nor-Icumazole</b>	Sorangium cellulosum	Antiviral (EBOV, HCV)	Isochromanone	Stabilise la forme tétramérique des canaux potassiques
<b>Disorazol</b>	Sorangium cellulosum	Antifongique, cytotoxique	Macrodilactone	Perturbe la formation des microtubules
<b>Aurafurone</b>	Stigmatella aurantiaca; Archangium gephyra	Antibactérien, antifongique, cytotoxique	Furanone	Inhibe l'acétyl- CoA carboxylase

<b>Indiacens</b>	Sandaracinus amylolyticus	Antibactérien, antifongique	Indole prénylé	NR
<b>Jerangolide</b>	Sorangium cellulosum	Antifongique	Lactone	Altère la perméabilité membranaire et l'osmorégulation
<b>Cruentaren</b>	Byssovorax cruenta	Antifongique, cytotoxique	Benzolactone énamide	Inhibe l'ATPase mitochondriale (F0-F1)

# **Partie expérimentale**

## Chapitre I: Matériels et méthodes

## 1. Échantillonnage et isolement des myxobactéries

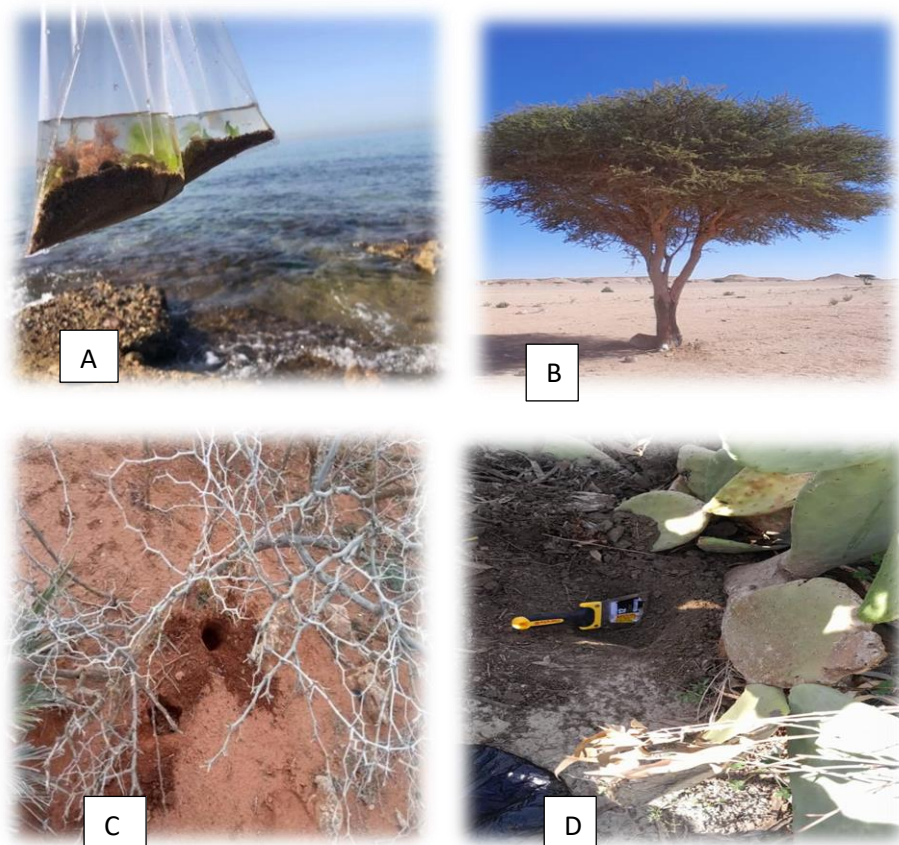
## 1.1 Collecte d'échantillons

Des échantillons de sol ont été prélevés dans différentes régions géographiques de l'Algérie : au niveau de la rhizosphère d'Acacia dans le Sahara (Tindouf), de Ziziphus dans le Nord-Ouest (Saïda), de la rhizosphère d'olivier dans la région de Hacine, ainsi que dans des sédiments marins à l'Ouest (Oran) et dans la région de Laghouat (sol normal). Les échantillons ont été collectés dans des sacs en plastique stériles. Les myxobactéries ont ensuite été analysées à partir de ces prélèvements issus des différentes régions de l'Algérie (**Dawid, 2000 ; Rana et al., 2019**)

**Tableau 2 :** Sites d'échantillonnage et types de prélèvements pour l'étude des myxobactéries

Type d'échantillon	Région (Algérie)	Site / Plante associée	Coordonnées géographiques
Sol rhizosphérique	Tindouf (Sahara)	Rhizosphère d'Acacia	7°42'05.7"N ; 8°05'23.8"W
Sol rhizosphérique	Saïda (Nord-Ouest)	Rhizosphère de Ziziphus	34°49'12.0"N ; 0°10'39.6"E
Sol rhizosphérique	Hacine (Mascara)	Rhizosphère du cactus	35.4178°N ; 0.0084°E
Sol d'une région semi-aride	Laghouat	Sans plante spécifique	—
Sédiments marins	Oran (Ouest)	Littoral marin	35°50'58.8"N ; 0°28'59.7"W





**Figure 17:** Échantillonnage

**a.** Sédiment Marin (Oran) **b.** Rhizosphère d'Acacia (Tindouf) **c.** Rhizosphère de Ziziphus (Saïda) **d.** Rhizosphère de cactus (Mascara)

## 2. Isolement des myxobactérie

### 2.1 Prétraitement des échantillons de sols

#### 2.1.1.1 Le séchage

Afin de favoriser l'isolement sélectif des micro-organismes et de réduire la présence de formes indésirables, les échantillons de sol doivent être soumis à un séchage à température ambiante. Ce procédé permet d'éliminer en grande partie les formes végétatives de nombreux micro-organismes, qui sont généralement sensibles à la dessiccation (**Dawid, 2000**). cette étape constitue une condition préalable importante, car elle contribue à diminuer la charge microbienne active et à conserver principalement les structures résistantes, telles que les spores, mieux adaptées aux conditions de sécheresse.

### 2.1.1.2 Le tamisage

Le tamisage des échantillons est réalisé à l'aide d'un tamis équipé de mailles de 250 µm de diamètre, permettant ainsi d'éliminer efficacement les particules de grande taille ainsi que les débris végétaux. Cette étape a pour objectif d'obtenir un sol plus homogène et plus fin, favorisant par la suite les manipulations de laboratoire. En réduisant la présence de gros granulés et de fragments organiques, elle contribue également à limiter les interférences lors de l'isolement et de la culture des micro-organismes (Yang *et al.*, 2023).

## 2.2 Les milieux de cultures utilisés

Les milieux de culture employés pour l'isolement des myxobactéries comprennent principalement :

- le milieu ST21 (Soil-Extract Agar) (Garcia, 2011 ; Zhang *et al.*, 2013).
- le milieu WCX (Water Agar WCX) (Rana *et al.*, 2019 ; Saggi *et al.*, 2023)

Après stérilisation par autoclavage et refroidissement des milieux à une température d'environ 45 °C, une solution de cycloheximide (à des concentrations comprises entre 50 et 250 mg/mL) (Charousová *et al.*, 2017) est ajoutée de façon aseptique. L'incorporation de ce composé antifongique a pour objectif de limiter, voire d'inhiber, la croissance des champignons, permettant ainsi de favoriser l'isolement sélectif des myxobactéries (Garcia, 2011).



Figure 18 : Préparation du milieu de culture ST21

### 2.3 technique d'isolement

L'isolement des myxobactéries repose sur des méthodes sélectives exploitant leur capacité de prédation et leur motilité. Après préparation des échantillons de sol (séchage et tamisage), ceux-ci sontensemencés sur le milieu WCX (Water Agar) sous forme de points, de croix ou de trois stries parallèles (Saggu et al., 2023). Des crottes ou des morceaux de papier filtre sont placés sur la gélose ST21 (Soil-Extract Agar), supplémentée en cycloheximide (50–250 mg/mL). Une quantité d'échantillon de sol est également déposée afin de favoriser la croissance (Charousová et al., 2017 ; Yamanaka et al., 1987).

#### 2.3.1 Appâtage avec des granulés de crottes de lapin

L'isolement des myxobactéries peut être efficacement réalisé en utilisant les excréments de lapin comme appât, méthode reconnue pour sa capacité à favoriser la prédation et la croissance de ces bactéries (Vaksman & Kaplan, 2015). Après autoclavage et séchage, le fumier de lapin est utilisé comme source de carbone dans le milieu minéral pauvre ST21 (Soil-Extract Agar), préalablement traité à la cycloheximide (50 à 250 mg/mL). Pour chaque boîte de Pétri, quatre granulés de crottes de lapin sont déposés, et sur chacun d'eux, une petite quantité de sol sec est ajoutée. Les crottes de lapin sont disposées de manière à ce qu'une partie des granulés dépasse de la surface du sol. L'incubation se déroule à 30°C pendant 15 à 22 jours (Mohr, 2018). Après cette période, l'observation à la loupe binoculaire permet de détecter le déplacement des structures de fructification des myxobactéries du sol vers les pellets. Cette technique permet l'isolement de plusieurs genres de myxobactéries, notamment *Nannocystis* (famille Nannocystaceae), *Myxococcus*, *Corallococcus* (famille Myxococcaceae), *Archangium* et *Cystobacter* (famille Cystobacteraceae) (Saggu et al., 2023).



Figure 19 : Crottes de lapin utilisées

### 2.3.2 Isolement des myxobactéries cellulolytiques par la technique du papier filtre

La technique du papier filtre constitue une méthode privilégiée pour l'isolement des myxobactéries capables de dégrader la cellulose. Elle repose sur l'utilisation de fragments de papier filtre comme substrat de cellulose, stimulant ainsi l'activité des espèces cellulolytiques (Garcia, 2011).

Pour cette approche, le milieu minéral ST21 est utilisé, dans lequel la cellulose constitue la seule source de carbone (Arnold & Shimkets, 1988). La cellulose est apportée sous forme de petits morceaux de papier filtre stérilisés (Whatman, 1 cm<sup>2</sup>), déposés à la surface de la gélose à raison de trois à quatre morceaux par boîte. Une petite quantité de sol sec est ensuite appliquée sur chaque fragment de papier filtre. L'incubation se fait à 30 °C pendant 20 à 25 jours, période au terme de laquelle les fructifications deviennent visibles (Mohr, 2018).

Grâce à cette technique, de nombreuses espèces telles que *Myxococcus* spp. et *Coralloccoccus* spp. ont pu être isolées. Cependant, certaines myxobactéries appartenant aux Archangiacées (notamment *Cystobacter* spp., *Melittangium* spp., et *Stigmatella* spp.) nécessitent des conditions particulières pour leur croissance. L'emploi du papier filtre comme source de cellulose et d'énergie constitue donc un élément clé pour stimuler la croissance et l'observation des myxobactéries cellulolytiques (Charousová et al., 2017 ; Meliah & Lisdiyanti, 2018 ; Saggu et al., 2023).



Figure 20 : Technique du papier filtre

### 2.3.3 technique des appâts bactériens pour l'isolement des myxobactéries

La technique des appâts bactériens repose sur l'utilisation de cultures d'*Escherichia coli*, vivantes ou inactivées, déposées à la surface du milieu de culture. Les myxobactéries, attirées par ces proies, migrent vers elles et forment des fronts caractéristiques autour de la zone colonisée. Cette méthode a permis l'isolement de plusieurs genres de myxobactéries à partir d'échantillons de sol (Kumar et al., 2017).

#### 2.3.3.1 Utilisation d'*E. coli* vivante

Pour l'ensemencement avec *E. coli* vivante, le milieu Water-agar est utilisé. Après ajustement du pH à 7,2 et stérilisation, *E. coli* vivante est déposée en forme de croix (X) aux quatre extrémités, à l'aide d'une micropipette (Saggu et al., 2023). et de petites quantités de sol sec sont placées à proximité. Les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 1 à 4 semaines et examinées pour détecter la formation d'essaims et de fructifications (Rana et al., 2019).

#### 2.3.3.2 Utilisation d'*E. coli* inactivée

Pour l'*E. coli* morte, la culture est d'abord incubée dans 10 mL de bouillon Luria à 37 °C pendant 24 h. Elle est ensuite traitée thermiquement à 80 °C pendant 40 minutes pour l'inactivation. Après ajustement du pH à 7,2 et stérilisation, *E. coli* morte estensemencée sur le milieu Water-agar en forme de croix (X) aux quatre extrémités, et de petites quantités de sol sec sont déposées à proximité. Les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 20 à 25 jours (Saggu et al., 2023 ; Zwarycz & Whitworth, 2023). La prédation sur *E. coli* vivante ou morte permet de caractériser les myxobactéries comme des micro-prédateurs, capables de lyser d'autres micro-organismes, facilitant ainsi leur isolement sélectif.(Charousová et al., 2017).

### 2.3.4 Isolement à partir de spores

Cette méthode est spécifiquement utilisée pour l'isolement des myxobactéries sporulées, en raison de la résistance particulière des myxospores à des traitements thermiques modérés. Les myxospores présentent en effet une tolérance accrue à la chaleur, ce qui permet de les distinguer des autres microorganismes sensibles à de telles conditions. Dans un premier temps, un échantillon de sol est prélevé, puis séché à l'air afin de réduire la population microbienne active non sporulée. Une fois sec, le sol est dilué dans de l'eau distillée stérile pour obtenir une suspension homogène. Cette suspension est ensuite soumise à un traitement thermique contrôlé,

généralement à une température comprise entre 55 °C et 60 °C pendant une durée de 10 à 15 minutes. Ce traitement vise à éliminer les cellules végétatives sensibles à la chaleur, tout en préservant la viabilité des myxospores. Après refroidissement, la suspension estensemencée sur un milieu de culture sélectif, tel que le milieu ST21. Ce milieu est supplémenté en cycloheximide à une concentration de 50 µg/mL, un agent antifongique permettant d'inhiber la croissance des champignons et ainsi d'éviter leur compétition avec les myxobactéries. (Saggu et al., 2023).

#### 2.4 Vérification des myxobactéries

Au cours de la période d'incubation, l'ensemble des boîtes de Pétri issues des cinq techniques d'isolement a été contrôlé régulièrement. Les observations ont été réalisées d'abord à l'œil nu, puis à l'aide d'une loupe binoculaire (grossissements ×20 et ×40). Toutes les manipulations ont été effectuées dans des conditions aseptiques, à proximité de la flamme d'un bec Bunsen (environ 15 cm). Ces observations avaient pour objectif de suivre l'évolution des cultures et de caractériser la morphologie des colonies de myxobactéries (Bhat & Sundarraj, 1972). Elles ont permis de repérer les isolats présentant des caractéristiques compatibles avec ce groupe bactérien. L'identification des myxobactéries a reposé sur leurs traits morphologiques et culturels distinctifs, en particulier la formation de structures de fructification et les phénomènes d'essaimage (Sanford et al., 2002). considérés comme des critères majeurs de reconnaissance de ce groupe

### 3. La purification

#### 3.1 Les milieux de cultures utilisés

Pour l'isolement des myxobactéries, deux milieux de culture principaux ont été employés :

- le milieu CY (Casitone Yeast extract agar) (**Kumar et al., 2017 ; Saggi et al., 2023**)
- le milieu VY2 (Vegetable juice Yeast extract agar 2) (**Octaviana et al., 2023 ; Rouhizohrab & Mohammadipanah, 2022**)

La composition détaillée de chacun de ces milieux est présentée en annexe. Après autoclavage et refroidissement, les milieux ont été coulés dans des boîtes de Pétri stériles, puis utilisés pour l'ensemencement des colonies suspectées d'appartenir aux myxobactéries.

Compte tenu du mode de vie social de ces bactéries et de leur développement fréquent en mélange avec d'autres microorganismes (**Lui, 1982**), plusieurs étapes de purification ont été nécessaires afin d'obtenir des isolats purs.

#### 3.2 Techniques de purification des myxobactéries

La purification des myxobactéries constitue une étape essentielle afin d'obtenir des souches axéniques. Elle repose sur plusieurs approches complémentaires permettant de séparer les myxobactéries des autres microorganismes présents dans les cultures mixtes. (**Cao et al., 2015**).

La première méthode consiste à prélever, à l'aide d'une anse de platine stérile, des fragments situés au bord des essaïms bactériens (swarming bodies) observés sous loupe binoculaire. Le prélèvement est ensuite transféré sur des milieux de purification solides et stériles, principalement VY2 (Vegetable juice Yeast extract agar 2) et CY (Casitone Yeast extract agar). L'ensemencement est réalisé par la méthode des stries serrées, suivi d'une incubation à 30 °C pendant une durée variable de 3 à 30 jours, selon l'espèce. (**Saggi et al., 2023**).

Une autre approche repose sur le prélèvement direct des fructifications à l'aide d'une aiguille stérile. Les spores issues de ces fructifications sont ensuite déposées sur le milieu CY agar, ce qui permet, après germination, d'obtenir des colonies isolées. (**Rouhizohrab & Mohammadipanah, 2022**).

Dans certains cas, l'utilisation d'un antifongique (cycloheximide) peut être nécessaire afin de limiter la croissance des champignons contaminants et de favoriser la purification des myxobactéries.

Enfin, la purification repose sur des repiquages successifs des colonies suspectes jusqu'à l'obtention de cultures homogènes. Après plusieurs transferts et de longues périodes d'incubation, la pureté des souches devient manifeste, garantissant la disponibilité d'isolats exploitables pour les analyses ultérieures.



**Figure 21** : Vérification et purification

#### 4. Analyse des caractéristiques des isolats

##### 4.1 Caractères morphologiques

Le suivi des caractères morphologiques des myxobactéries s'effectue principalement à travers l'observation de leur croissance. Cette approche permet de mettre en évidence les variations au niveau des colonies, telles que l'essaimage, la formation éventuelle de corps fructifères, (Sanford *et al.*, 2002). ainsi que les phénomènes de coopération cellulaire (Cao *et al.*, 2015). Ces observations sont poursuivies sur une période de trois mois, ce qui offre une vision globale de l'évolution morphologique. Il est important de souligner que chaque espèce de myxobactérie présente des caractéristiques distinctes, ce qui confère à chacune un profil morphologique spécifique.



## 4.2 Caractères structuraux

### 4.2.1 Coloration de Gram

La coloration de Gram est réalisée pour la plupart des isolats, constituant un caractère essentiel dans la reconnaissance des myxobactéries. (Gemperlein et al., 2018). Dans ce contexte, le suivi des isolats a été effectué à différents stades, sur plusieurs jours, afin d'observer les variations morphologiques. Après quelques jours d'incubation, une culture d'*Escherichia coli* préalablement inactivée par un traitement thermique a été utilisée comme appât. Pour ce faire, *E. coli* a d'abord été cultivée dans 10 mL de milieu HMB (voir composition dans l'annexe), puis incubée à 37 °C pendant 24 heures. La culture obtenue a ensuite été soumise à un traitement thermique à 80 °C pendant 40 minutes afin d'inactiver les cellules. Après ajustement du pH à 7,2 et stérilisation, quelques gouttes de cette suspension ont été déposées à la surface des boîtes de Pétri et réparties uniformément selon le geste en « huit ».

### 4.2.2 Observation à l'état frais

Cette technique permet de visualiser les cellules vivantes dans leur état naturel, en préservant leur mobilité et leur morphologie réelles. (Nitsos, 1971).

Une goutte d'eau distillée stérile est déposée sur une lame propre, puis recouverte délicatement d'une lamelle couvre-objet. L'examen est réalisé au microscope optique, d'abord avec un objectif à faible grossissement pour localiser les bactéries, puis à l'aide d'objectifs à plus fort grossissement afin d'observer plus précisément la forme, la taille et la mobilité des cellules.

## 4.3 Caractères biochimiques

### 4.3.1 Activité catalasique

Le test de production de l'enzyme catalase n'est pas un critère déterminant pour l'identification biochimique des myxobactéries. Cependant, la majorité des souches sont généralement capables de produire cette enzyme. La mise en œuvre du test consiste à déposer, à l'aide d'une seringue stérile, une goutte de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sur une lame propre. Une colonie de la souche à tester est ensuite transférée sur cette goutte. L'apparition immédiate de bulles traduit une réaction positive, indiquant la présence de l'enzyme catalase, alors que l'absence de bulles correspond à une réaction négative. (Yoshio et al., 2022).

## 5. Test de l'activité antagoniste de certains isolats

L'activité antagoniste des isolats de myxobactéries a été évaluée à l'aide de la méthode des cylindres d'agar, une technique largement utilisée pour mettre en évidence la production de métabolites antimicrobiens diffusibles.(Choma & Grzelak, 2011). Cette expérience a été réalisée sur un milieu solide de type Müller-Hinton agar, reconnu pour sa composition standardisée et son usage courant dans les tests de sensibilité aux antibiotiques.

Les isolats de myxobactéries ont été cultivés préalablement sur des milieux sélectifs adaptés (CY et VY2), puis transférés dans des cylindres d'agar stériles déposés à la surface des boîtes contenant le Müller-Hinton. Après incubation, la diffusion des substances produites par les myxobactéries dans le milieu environnant a permis d'évaluer leur effet inhibiteur vis-à-vis de différentes souches cibles.(Charousová et al., 2017 ; Rana et al., 2019).

### 5.1 Germes tests utilisés

L'efficacité antagoniste a été testée sur un panel représentatif de micro-organismes d'importance médicale, comprenant :(Muñoz-Dorado et al., 2016 ; Zwarycz & Whitworth, 2023).

- **Bactéries à Gram négatif** : *Escherichia coli* ATCC 25921 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC, deux espèces fréquemment impliquées dans les infections opportunistes et connues pour leur résistance croissante aux antibiotiques.
- **Bactéries à Gram positif** : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, pathogène majeur responsable d'infections nosocomiales et communautaires, et *Bacillus subtilis* ATCC 6633, utilisée comme souche modèle de référence en microbiologie.

### 5.2 Standardisation de l'inoculum et évaluation de l'activité antagoniste

Pour évaluer l'activité antagoniste des isolats de myxobactéries, il est essentiel de préparer un inoculum standardisé des micro-organismes cibles. Les cultures utilisées étaient jeunes (18 à 24 heures) et issues de souches pures afin d'assurer une viabilité optimale et une charge microbienne homogène. La densité cellulaire a été ajustée pour atteindre  $10^6$  UFC/ml, correspondant à l'étalon de turbidité McFarland 0,5.(Charousová et al., 2017). Cette valeur assurant une standardisation précise de la suspension bactérienne. Une fois la concentration cellulaire ajustée, les suspensions ont étéensemencées en tapis homogène sur des boîtes de

Müller-Hinton agar à l'aide d'un écouvillon stérile. Cette préparation permet de créer une surface uniforme, favorable à la diffusion des métabolites produits par les myxobactéries. (Singh, 1947).

### 5.2.1 Détermination de l'activité antagoniste des isolats de myxobactéries

.Pour ce faire, des cylindres stériles de 6 mm de diamètre ont été soigneusement découpés à partir de cultures purifiées de chaque isolat à l'aide d'un emporte-pièce aseptique, garantissant l'absence de contamination croisée. Ces cylindres ont ensuite été déposés avec précaution sur des boîtes de Müller-Hinton préalablement ensemencées avec les micro-organismes cibles (Burnison & Pacha, 1968). choisis pour leur pertinence clinique et leur représentativité des pathogènes d'importance médicale. Avant l'incubation, les boîtes ont été maintenues à 4 °C pendant une période de 2 heures afin de favoriser une diffusion homogène et complète des substances bioactives produites par les isolats dans le milieu gélosé. Cette étape est cruciale, car elle permet d'optimiser la distribution des composés antimicrobiens et d'assurer la reproductibilité des résultats. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures (Al-Mohammadi et al., 2021). température correspondant aux conditions optimales de croissance des bactéries testées. À l'issue de l'incubation, Les zones d'inhibition ont été mesurées avec précision à l'aide d'une règle graduée en millimètres, constituant un indicateur direct de l'efficacité antagoniste des isolats. L'analyse de ces zones permet non seulement d'identifier les isolats présentant une activité antimicrobienne significative, mais également de comparer leur potentiel relatif. Cette méthodologie rigoureuse, combinant contrôle aseptique, conditions standardisées d'incubation et mesures quantitatives, assure la fiabilité et la validité des données obtenues, offrant ainsi une évaluation robuste du pouvoir antagoniste des myxobactéries isolées.

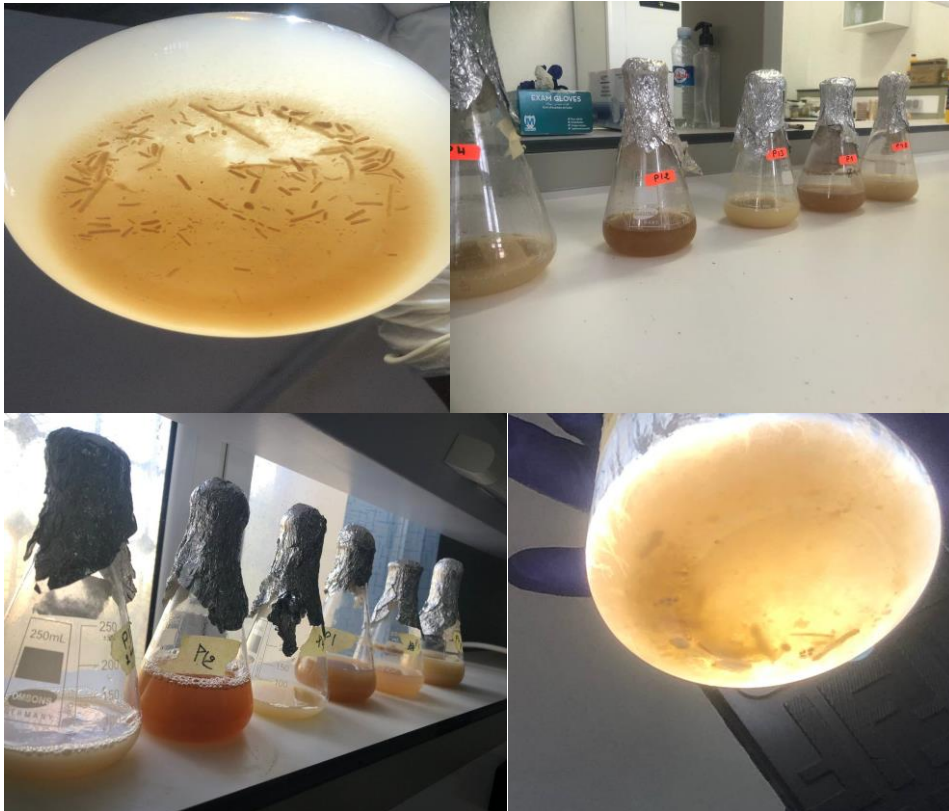
## 6. Tests de prédation microbienne

Les tests de prédation microbienne ont été entrepris dans le but d'évaluer la capacité des myxobactéries à interagir avec et à dégrader différents micro-organismes cibles. À cet effet, des cultures âgées de 36 heures d'*Escherichia coli* ATCC 25921, *Klebsiella pneumoniae* ATCC, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ainsi que de la levure *Saccharomyces cerevisiae* ont été préparées et déposées sur une gélose WCX water agar conformément aux protocoles décrits par (Rana et al., 2019 ; Singh, 1947). Les myxobactéries ont ensuite été inoculées sur ces tapis cellulaires afin de suivre leur comportement prédateur au cours du temps. L'observation de la

dynamique de croissance a mis en évidence la formation d'un essaim caractéristique, qui s'est progressivement étendu sur la surface des cultures témoins. Ce phénomène traduit non seulement l'expansion active des myxobactéries, mais également leur capacité à induire la lyse des micro-organismes cibles, confirmant ainsi leur potentiel (**Zwarycz & Whitworth, 2023**). Ces résultats s'inscrivent en cohérence avec les travaux antérieurs, lesquels démontrent que la prédation myxobactérienne repose sur des mécanismes collectifs complexes. En particulier, la sécrétion coordonnée d'enzymes hydrolytiques et de métabolites secondaires joue un rôle déterminant dans la dégradation des cellules hôtes et l'exploitation des nutriments libérés (**Charousová et al., 2017**).

### 7. Processus de fermentation des myxobactéries

La souche de myxobactérie ayant présenté un résultat positif au test de prédation a été retenue pour les essais de fermentation. Selon le protocole, elle a été inoculée dans 100 mL de milieu liquide, soit VY/2 soit CY-H (DSMZ Medium 1542). en fonction de la souche étudiée (**Octaviana et al., 2023**). L'incubation a été réalisée à 30 °C pendant 10 jours, sous agitation constante à 180 tr/min (**Wu et al., 2021**). À la fin de cette première phase de culture, un transfert a été effectué vers 100 mL de milieu frais identique à celui utilisé initialement (VY/2 ou CY-H) en utilisant un inoculum correspondant à 10 % du volume de départ. La culture a ensuite été poursuivie dans les mêmes conditions (30 °C, 180 tr/min) pendant 7 jours supplémentaires (**Reichenbach, 2001 ; Zwarycz & Whitworth, 2023**).



**Figure 22 :** Flacon Erlenmeyer contenant le bouillon de culture inoculé par la souche bactérienne en phase de fermentation

## 8. Préparation de l'extrait bactérien

L'extrait bactérien a été préparé selon deux approches distinctes. Dans la première, de l'acétate d'éthyle a été ajouté à la culture en proportion v/v. Dans la seconde, aucune addition d'acétate d'éthyle n'a été réalisée. Dans les deux cas, les cultures ont été centrifugées à 6 000 tr/min pendant 20 minutes afin de séparer le surnageant du culot bactérien. Le surnageant, correspondant à la fraction extracellulaire, a été récupéré. Le culot bactérien a ensuite été lavé trois fois avec de l'eau stérile, puis soumis à un choc thermique afin de provoquer la lyse cellulaire (Rouhizohrab & Mohammadipanah, 2022). Le lysat obtenu a été centrifugé une seconde fois, et le surnageant recueilli a été considéré comme la fraction intracellulaire. Les deux fractions (extracellulaire et intracellulaire) ont d'abord été testées sans filtration, puis filtrées à travers une membrane stérile (0,22  $\mu\text{m}$ ) avant d'être analysées afin d'évaluer leur activité biologique (Quang et al., 2025).



Figure 23 : préparation de l'extrait bactérien

### 9. Méthodes d'extraction des métabolites secondaires bactériens

Pour l'étape d'extraction, la culture bactérienne a été mélangée à de l'acétate d'éthyle dans des tubes coniques. Après centrifugation, deux phases distinctes se sont formées (Xu *et al.*, 2011). une phase aqueuse (inférieure) et une phase organique (supérieure). Cette dernière a été soigneusement récupérée à l'aide d'une pipette stérile et transférée dans des cryotubes stériles de 2 mL. L'extrait organique obtenu a ensuite été concentré par évaporation sous vide à l'aide d'un rotavap. (Rana *et al.*, 2019). Le résidu sec a été repris dans du méthanol, puis l'extrait final a été conservé dans des microtubes Eppendorf stériles, prêts à être utilisés



Figure 24: Cryotubes et flacon lors de l'extraction à l'aide du rotavap

## 10. Test d'activité antimicrobienne des extraits

### 10.1 l'activité antibactérienne

#### 10.1.1 Bactérie cible

**Tableau 3 :** Principales bactéries cibles et informations associées

Bactérie	Souche ATCC	Type	Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25921	Entérobactérie	Gram –
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC	Entérobactérie	Gram –
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Cocci en amas	Gram +
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Bacille sporulé	Gram +

#### 10.1.2 test d'activité sur les souches bactériennes cibles

L'activité antibactérienne des extraits de myxobactéries a été évaluée in vitro par la méthode de diffusion sur gélose à l'aide de disques imprégnés (Choma & Grzelak, 2011). Quatre souches bactériennes pathogènes de référence ont été utilisées : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Klebsiella pneumoniae* (Rana et al., 2019). Pour chaque essai, des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton (MHA) ont étéensemencées en surface avec 100 µL de suspension bactérienne ajustée à une turbidité équivalente à l'étalon 0,5 McFarland (Charousová et al., 2017). Des disques stériles de 6 mm de diamètre ont ensuite été déposés sur la surface des milieux, puis imprégnés avec les extraits bruts de myxobactéries à l'aide de micropipettes stériles (Wu et al., 2021). Les boîtes de Pétri ont été placées à 4 °C pendant 2 à 4 heures afin d'assurer une bonne diffusion des métabolites. (Al-Mohammadi et al., 2021). Après une incubation de 18 à 24 h, les résultats ont été visualisés. Des antibiotiques de référence vancomycine, pénicilline, amoxicilline, érythromycine, rifampicine et gentamicine ont été utilisés comme témoins positifs (Rana et al., 2019). tandis que le méthanol a servi de témoin négatif. Après incubation, les zones d'inhibition ont été mesurées afin d'évaluer l'efficacité antibactérienne des extraits.

## 10.2 Activité antifongique

### 10.2.1 Champignons et levures cibles

- *Candida albicans* — levure opportuniste humaine.

#### Champignons filamenteux (moisissures, Ascomycètes)

- *Aspergillus niger* — moisissure saprophyte, parfois opportuniste.
- *Fusarium oxysporum* — moisissure tellurique, nombreux formae speciales phytopathogènes.

#### Pseudo-champignon (Oomycète, straménopile)

1. *Phytophthora infestans* — agent du mildiou de la pomme de terre et de la tomate

### 10.2.2 évaluation de l'activité

L'activité antifongique des extraits a été évaluée par la méthode de diffusion sur **(Choma & Grzelak, 2011)**. Trois souches fongiques (*Aspergillus niger*, *Phytophthora infestans* et *Fusarium oxysporum*) ainsi qu'une levure (*Candida albicans*) ont été sélectionnées comme organismes tests **(Wu et al., 2021)**. Les suspensions de spores ont été préparées et ajustées à une turbidité correspondant à l'étalon 0,5 McFarland, puis ensemencées en surface sur des milieux gélosés. Des disques stériles, imprégnés d'extraits bruts de myxobactéries, ont ensuite été déposés sur les boîtes de Pétri. Celles-ci ont été maintenues à 4 °C pendant 4 heures afin de favoriser une diffusion optimale **(Al-Mohammadi et al., 2021)**. des métabolites antifongiques, puis incubées à 28 °C. Après une période d'incubation de 3 à 7 jours, les zones d'inhibition ont été observées et mesurées, permettant d'évaluer le potentiel antifongique des extraits testés **(Böhlendorf et al., 1999 ; Charousová et al., 2017)**.

### 10.3 Lecture de l'activité

La présence d'une zone d'inhibition, après la période d'incubation, autour des disques indique un résultat positif. Cette inhibition reflète la production, par les myxobactéries, de métabolites antimicrobiens capables de freiner ou d'empêcher la croissance des bactéries et des champignons tests. **(Saggu et al., 2023)**. Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré à l'aide



d'une règle graduée. En revanche, l'absence de zones d'inhibition distinctes autour des disques d'agar est interprétée comme un résultat négatif.

## 11. Mise en évidence de l'activité lipolytique des myxobactéries

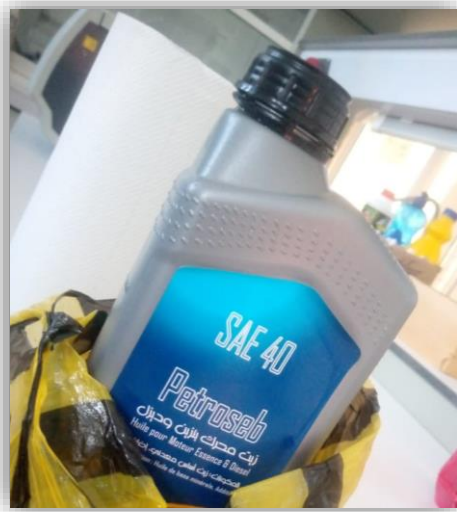
### 11.1 Sur milieu gélosé à base de Tween 80

Pour la mise en évidence de l'activité lipolytique bactérienne, nous avons utilisé le milieu gélosé à base thaine 80. Dans ce milieu le monooléate de sorbitane polyoxyéthyléné (Tween 80) sert de substrat lipidique. Le principe repose sur l'hydrolyse enzymatique du Tween 80 par les lipases bactériennes, entraînant la libération d'acide oléique. En présence de sels de calcium, cet acide gras forme des cristaux insolubles de savon calcique (**Sierra, 1956**), qui précipitent localement. Ainsi, lorsqu'une souche bactérienne produit des enzymes lipolytiques, un halo opaque caractéristique apparaît autour de la colonie, traduisant la précipitation des sels calciques. Dans les cas d'une activité lipasique particulièrement élevée, la précipitation est suffisamment intense pour donner naissance à des cristaux macroscopiques visibles à l'œil nu, pouvant également être observés aisément au microscope optique. La méthode consiste à ensemercer les souches bactériennes sur une gélose nutritive supplémentée en Tween 80 et à incuber les cultures à température appropriée. Les premiers résultats deviennent généralement observables après 24 à 72 heures d'incubation (**Delmotte, 1958**), selon la vitesse de croissance et le potentiel lipolytique des souches testées. Ce test présente l'avantage d'être à la fois simple, sensible et spécifique, ce qui en fait un outil de choix pour l'étude de l'activité lipolytique des bactéries.

### 11.2 Sur milieu gélosé à base d'huile moteur

En complément du test au Tween 80, l'activité lipolytique des souches bactériennes a également été évaluée sur un milieu gélosé enrichi en huile moteur. Ce type de substrat lipidique présente l'intérêt de reproduire des conditions plus proches de la biodégradation d'hydrocarbures complexes, permettant ainsi d'évaluer la capacité des micro-organismes à dégrader des lipides d'origine industrielle. Le principe de la méthode repose sur l'utilisation de l'huile comme unique source de carbone. Lorsqu'une bactérie est capable de sécréter des enzymes lipolytiques et hydrolases, elle dégrade progressivement les constituants lipidiques de l'huile, ce qui se traduit par l'apparition de zones d'opacité ou de décoloration dans le milieu autour des colonies en croissance. Ces modifications visuelles constituent un indicateur direct de l'activité

enzymatique extracellulaire. Les souches étudiées sont déposées ponctuellement sur la gélose contenant l'huile moteur, puis incubées dans des conditions appropriées. Selon le potentiel métabolique des bactéries, les résultats deviennent observables après une période variant entre 24 et 72 heures. L'apparition de halos ou de zones de modification de la texture du milieu confirme la présence d'une activité lipolytique. Cette approche, bien que plus exigeante que le test au Tween 80, présente l'avantage de tester la capacité de dégradation dans un contexte plus proche des substrats naturels et industriels.



**Figure 25 :** Huile moteur utilisée dans le protocole d'évaluation de l'activité lipolytique

## 12. Détection des substances antimicrobiennes par bioautographie à partir d'extraits bactériens

### 12.1 principe de la bioautographie

La bioautographie est une méthode microbiologique de dépistage couramment utilisée pour la détection des substances antimicrobiennes présentes dans divers extraits biologiques, notamment les extraits bactériens. Cette technique repose sur la mise en évidence de l'activité biologique principalement antibactérienne ou antifongique de certaines molécules. Elle présente plusieurs avantages majeurs : une sensibilité élevée, une grande simplicité de mise en œuvre, un faible coût, une rapidité d'exécution et l'absence de besoin en équipement sophistiqué. (Choma & Grzelak, 2011). L'originalité de la bioautographie réside dans sa capacité à combiner la séparation chromatographique et la détection biologique. En pratique, elle est fréquemment associée à la chromatographie sur couche mince (CCM). Cette dernière

permet de séparer les différents composés présents dans un extrait bactérien en fonction de leur polarité, à travers leur migration sur une plaque recouverte d'une phase stationnaire (généralement de la silice). (**Badji et al., 2005**). Chaque composé migre sur la plaque jusqu'à une certaine hauteur, caractérisée par un rapport frontal (RF), qui est une mesure du déplacement relatif de la substance par rapport au solvant utilisé. Une fois la séparation effectuée, la plaque chromatographique est mise en contact avec une culture microbienne sensible (souvent sous forme d'une couche mince d'agar inoculé avec une bactérie test). Après incubation, les zones où aucune croissance microbienne n'est observée correspondent aux emplacements des composés ayant une activité antimicrobienne. Ces zones d'inhibition peuvent ainsi être corrélées aux RF obtenus, permettant non seulement de détecter la présence d'activités antimicrobiennes, mais aussi de localiser et différencier les molécules actives présentes dans l'extrait. (**Choma & Grzelak, 2011**).

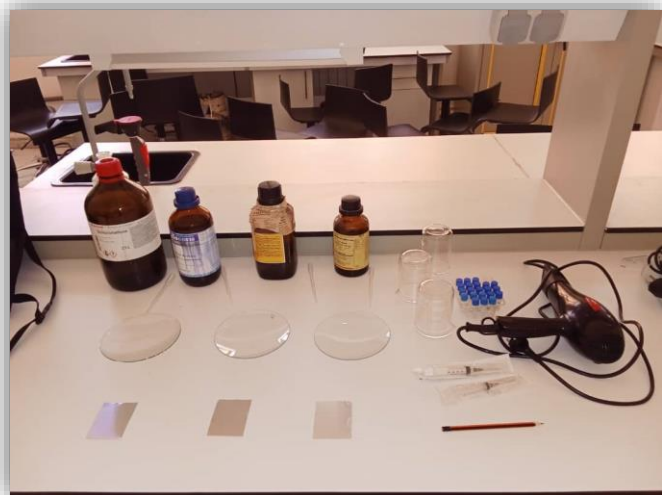
### 12.2 Sélection du meilleur solvant à l'aide de la chromatographie sur couche mince (CCM)

L'extrait brut a été séparé par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant des plaques de silice Kiesel gel HF254-366. (**Ghasemi et al., 2004**). Trois béchers de 250 mL, chacun contenant 22 mL du système éluant, ont été préparés. La plaque de silice a été divisée en trois parties, correspondant à trois systèmes de solvants différents.

À l'aide d'une microsiringue, un volume de 25  $\mu$ L de chaque extrait organique a été déposé en un point sur la plaque. Celle-ci a ensuite été séchée à l'aide d'un séchoir avant d'être placée dans les béchers contenant respectivement l'un des systèmes de solvants suivants :

- Acétate d'éthyle – Méthanol (13,04 : 2,86 ; v/v) (**Laure et al., 2004**).
- Dichlorométhane – Méthanol (21,12 : 0,88 ; v/v) (**Kolundžić et al., 2017**).
- Hexane – Acétate d'éthyle (19,8 : 2,2 ; v/v) (**Laure et al., 2004**).

Le développement a été arrêté lorsque le front du solvant a atteint une distance d'environ 10 cm à partir du point de dépôt. La plaque a ensuite été retirée de la cuve, séchée à température ambiante, puis observée à l'œil nu et sous lumière UV. Les taches révélées ont été localisées en fonction de leur absorbance à 254 nm et de leur fluorescence à 365 nm. (**Piard et al., 2018**).



**Figure 26:** matériel de bioautographie

### 12.3 Analyse et séparation des composés par CCM

L'extrait brut a été fractionné par chromatographie sur couche mince (CCM) sur gel de silice afin d'obtenir un nombre suffisant de fractions isolées permettant d'identifier celles présentant une activité biologique. Des volumes compris entre 250 et 600  $\mu\text{L}$  de chaque extrait concentré ont été déposés en fines bandes continues sur des plaques de gel de silice. Ces plaques ont ensuite été placées dans des cuves de chromatographie contenant 100 mL du système de solvant (Dichlorométhane – Méthanol) jugé le plus efficace. Le développement a été réalisé avec les éluants préalablement sélectionnés, permettant une séparation nette et une localisation précise des différentes taches correspondant aux constituants de l'extrait. Les zones ainsi révélées ont été raclées puis récupérées à l'aide de 2 mL de méthanol, afin d'être utilisées pour les tests biologiques ultérieurs (**Djahra et al., 2013 ; Jazy & Rokia Sanogo, 2018 ; Belgacem Habiba et al., 2023**)

### 13. Conservation des souches

Les souches d'intérêt ont été conservées dans des microtubes Eppendorf stériles contenant un mélange de milieu CY avec **15 %** de glycérol. Les échantillons ainsi préparés ont ensuite été stockés de **-20 °C** à **-70 °C** ce qui permet de maintenir leur viabilité et de préserver leurs caractéristiques biologiques pour des utilisations ultérieures. (**Howard, 2025**).

## **Résultats et discussion**

## Chapitre II : résultats et discussion

## 1. Résultats d'isolement

Cinq échantillons ont été utilisés pour l'isolement des myxobactéries dans cette étude : un sol normal, trois sols rhizosphériques provenant d'Acacia, Ziziphus et Olivier issus de différentes zones arides et semi-arides, ainsi qu'un sédiment marin. Les résultats concernant le nombre d'isolats obtenus à partir de ces différents sols sont présentés dans le tableau 4. La durée d'incubation varie selon la technique d'isolement employée, chaque méthode présentant ses propres obstacles et difficultés. De manière générale, l'isolement des myxobactéries n'est pas aisé, principalement en raison du mode de vie (Cao *et al.*, 2015). particulier de ces bactéries.

**Tableau 4 :** Répartition des souches isolées selon les zones d'échantillonnage

Type d'échantillon	Zone / Région (Algérie)	Nombre de souches isolées
Sol rhizosphérique	Tindouf	14
Sol rhizosphérique	Saïda	12
Sol rhizosphérique	Hacine	7
Sol d'une région semi-aride	Laghouat	11
Sédiments marins	Oran	19

Ces isolats présentaient des morphologies variées selon la souche et le milieu de culture. (Jane *et al.*, 2003). Ils formaient des films rappelant des colonies bactériennes, avec l'apparition, selon les cas (Reichenbach, 2001). de colonies de couleur rose pâle, noire ou orangée, parfois accompagnées de structures de fructification très discrètes, localisées soit à la surface, soit en profondeur dans la gélose (Iizuka *et al.*, 2013). Des motifs radiaux caractéristiques ont également été observés dans les zones d'essaimage

### 1.1 Technique des crottes de lapin

Après une période d'incubation de 28 jours à 30 °C (Saggu *et al.*, 2023), il a été observé le développement de colonies présentant différents aspects morphologiques. Des colonies de couleur orange sont apparues sur les crottes, accompagnées dans certains cas de formations granuleuses jaune clair ainsi que de zones présentant des taches violacées. Par ailleurs, dans certaines boîtes de Petri, de petites colonies orange ont été détectées au niveau de la gélose, localisées à proximité des échantillons de sol déposés.

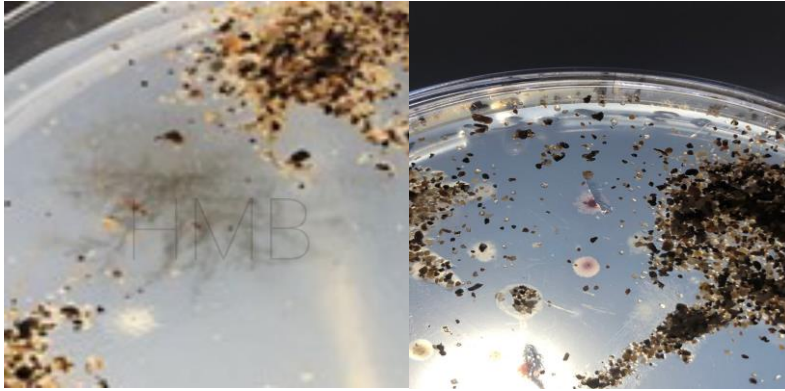


**Figure 27 :** Observations de quelques colonies apparaissant sur les crottes

### 1.2 Technique des proies bactériennes

L'apparition des colonies débute généralement après 18 jours d'incubation. Toutefois, après 27 jours, les corps fructifères deviennent plus distincts. La majorité des colonies obtenues à l'aide des deux techniques se caractérisent par une couleur blanc clair et présentent une tendance à s'enfoncer légèrement dans la gélose. Néanmoins, dans certaines boîtes, l'apparition de colonies de couleur rouge et des autres noire fructifères a également été observée.





**Figure 28:** Colonies apparues au moment de l'utilisation d'E. coli comme proie

### 1.3 Souches cellulolytiques par la technique du papier filtre

Après 22 jours d'incubation à 30 °C sur le milieu ST21 (**Rana et al., 2019**), des taches de couleur orange, jaune, noire et parfois violette sont apparues sur la majorité des échantillons de sol. Ces colorations résultent de l'activité de dégradation de la cellulose par les isolats myxobactériens.



**Figure 29:** Colonies apparues sur le papier Whatman.

### 1.4 Technique de spore

Dans cette technique, nous n'utilisons pas un grand nombre de boîtes de test. Cependant, malgré ce nombre limité, on observe l'apparition de concavités bien marquées dans les boîtes utilisées.

Ces dépressions correspondent à la formation de spores chez certaines espèces de myxobactéries.(Saggu et al., 2023).



**Figure 30:** Les spores apparaissent au moment de l'isolement

## 2. Resultats de purification des myxobactéries

Après un suivi prolongé des boîtes de culture et l'application de plusieurs techniques de purification (Rouhizohrab & Mohammadipanah, 2022). incluant le transfert de colonies issues des essaims et des corps fructifères, ainsi que la comparaison entre différents milieux de purification et les aspects bactériens observés, Les procédés d'isolement et de purification appliqués sont présentés dans le ( tableau 5) un total de 63 isolats a pu être obtenu sous forme pure. Ces isolats, bien structurés, présentent des caractéristiques morphologiques typiques des myxobactéries et se révèlent Gram négatifs, confirmant ainsi leur appartenance à ce groupe bactérien.

Tableau 5 : Procédés d'isolement et de purification appliqués aux myxobactéries

Méthode d'isolement et de purification	Nombre d'isolats obtenus	Nombre de cultures pures obtenues	Pourcentage de cultures pures (%)	Cible du traitement	Durée de purification	Type de souche observée / caractéristique	Avantages	Inconvénients
Appâtage avec granulés de crottes de lapin	37	9	24,32	Corps fructifère et essaim	1-2 mois	Formation de grands corps fructifères	Méthode très efficace pour isoler des souches intéressantes	Nécessite plusieurs transferts pour obtenir une culture pure
Transfert de corps fructifères	12	2	16,67	Corps fructifère	1 mois	Corps fructifères matures bien différenciés	Permet l'obtention d'essaims homogènes à partir de structures précises	Manipulation délicate, nécessite de l'expérience technique
Purification avec antifongique	35	7	20,00	Corps fructifère	1 mois	Corps fructifères bien formés et visibles	Réduit efficacement les contaminations fongiques	Coûteuse
Appâtage avec E. coli	29	10	34,48	Corps fructifère	1-2 mois	Corps fructifères matures bien développés	Permet d'isoler des souches à forte capacité de prédation	Méthode longue et complexe à réaliser
Culture en stries	65	10	15,38	Essaim	1 mois	Développement rapide d'essaims homogènes	Favorise la croissance sélective des myxobactéries	Risque de contamination croisée, nécessite des repiquages fréquents
Transfert avec lamelle	12	—	—	Essaim	1 mois	Diversité morphologique des essaims	Permet une observation directe et précise au microscope	Sensible à la contamination et difficile à maîtriser
Méthode du papier filtre	46	22	47,83	Corps fructifère et essaim	1-2 mois	Bon équilibre entre essaims et structures fructifères	Méthode simple, efficace et peu contaminante	Moins adaptée à certaines espèces, efficacité variable
Technique d'isolement des spores	10	3	30	Corps fructifère	1-2 mois	Similarité morphologique des essaims	Technique simple et productive	Nécessite plusieurs repiquages

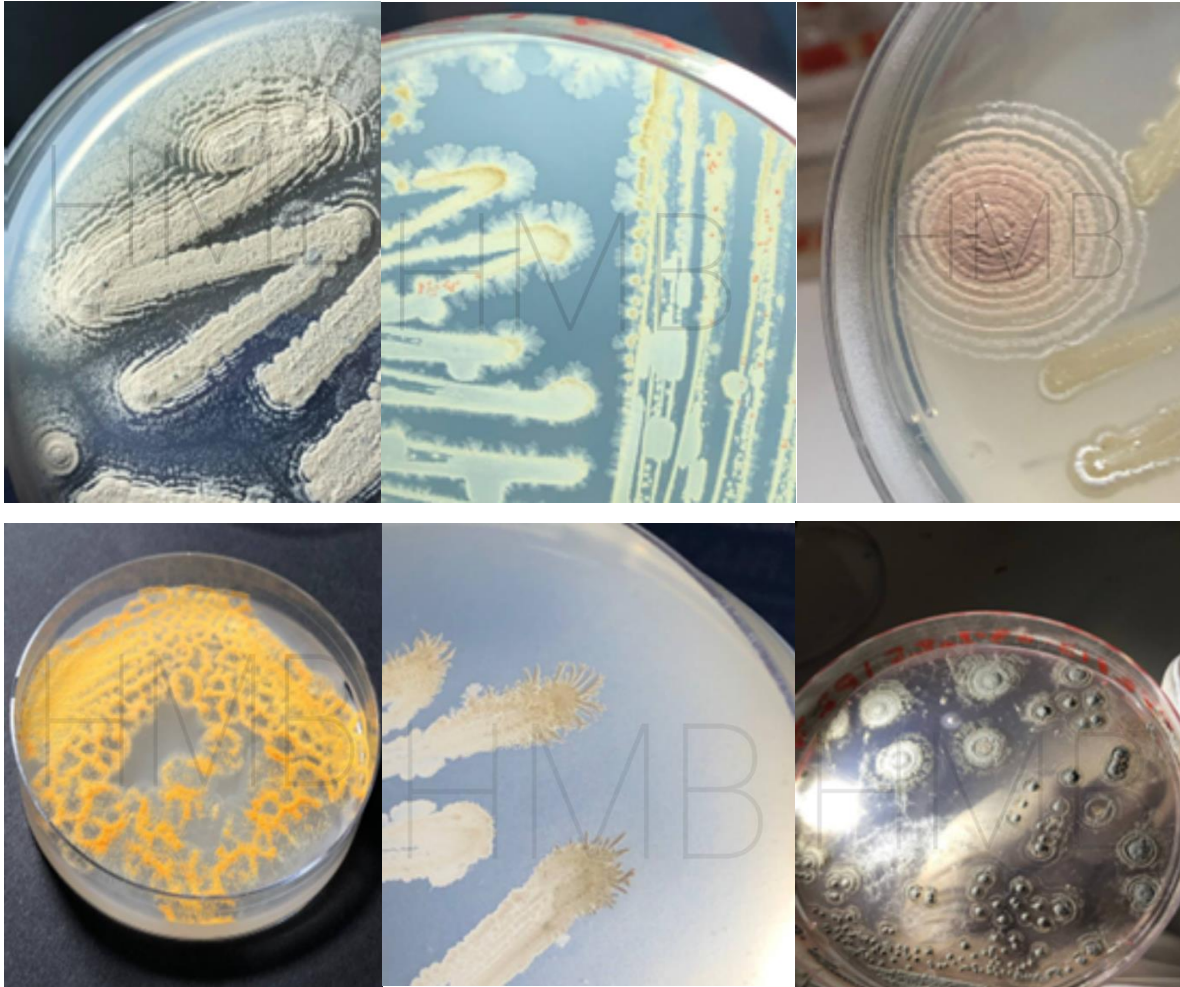
**Tableau 6:** Codes et régions d'origine des 13 isolats sélectionnés parmi les 63 obtenus

<b>Code isolat</b>	<b>Région (Algérie)</b>
M-AT-AH01	Tindouf (Sahara)
M-AT-MB03	Tindouf (Sahara)
M-AT-MM04	Tindouf (Sahara)
M-AT-BT05	Tindouf (Sahara)
M-ZS-AH06	Saïda (Nord-Ouest)
M-ZS-NH07	Saïda (Nord-Ouest)
M-ZS-MB08	Saïda (Nord-Ouest)
M-ZS-MM09	Saïda (Nord-Ouest)
M-SMO-BT10	Oran (Littoral)
M-SMO-NH11	Oran (Littoral)
M-SMO-MB12	Oran (Littoral)
M-SMO-MM13	Oran (Littoral)
M-SMO-NH14	Oran (Littoral)

### 3. caractéristiques des isolats

#### 3.1 Caractères morphologiques

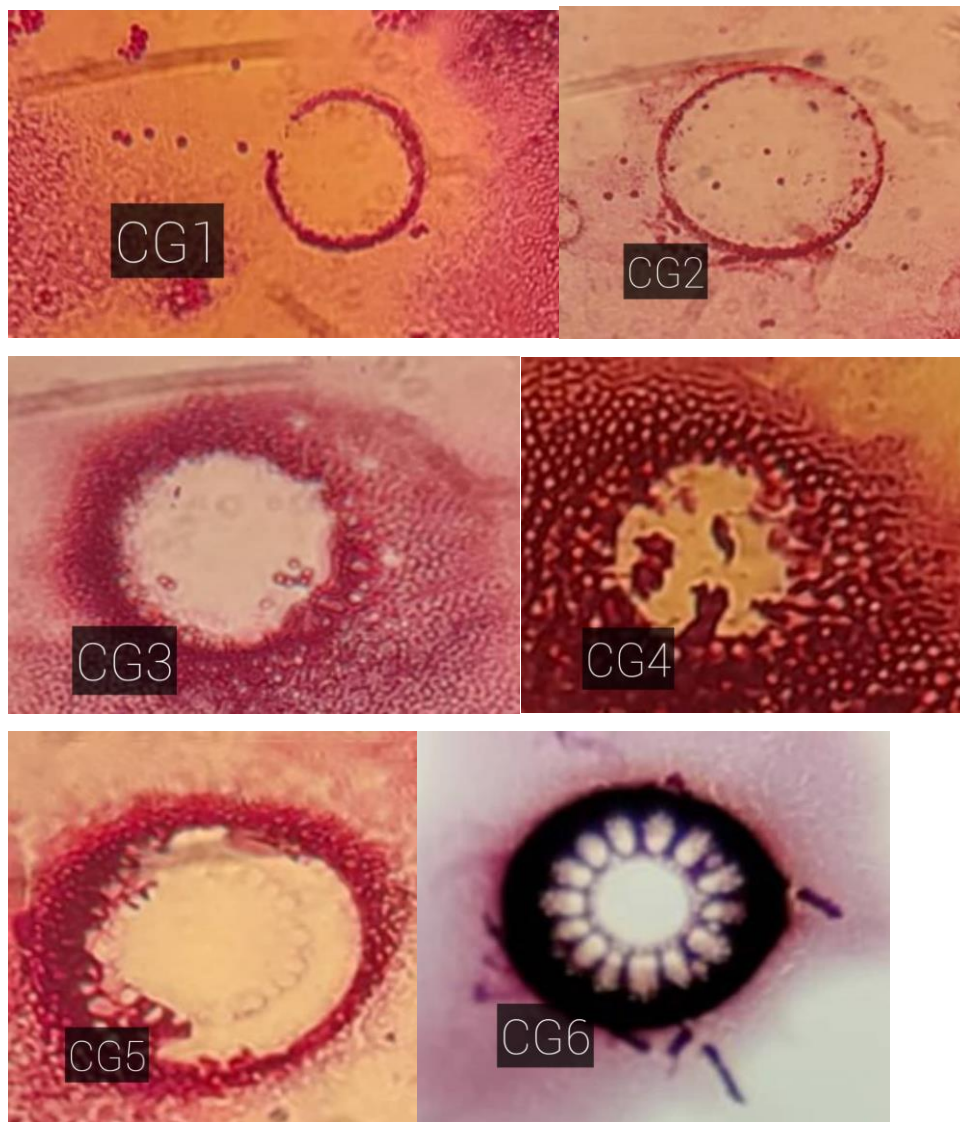
Après plusieurs repiquages et transferts des colonies, l'apparition de cultures pures présentant des caractéristiques morphologiques typiques des myxobactéries (**Kaiser et al., 2010**). a été observée. Le développement de certaines souches met en évidence la formation d'essaims dont la morphologie varie selon l'espèce. Ces essaims peuvent adopter différentes formes : parfois ramifiés, avec des extrémités fines en forme de « cheveux » ou de doigts (aspect filamenteux) ,parfois étalés, aérés, aux bordures irrégulières ou encore très circulaires et concentriques, avec des anneaux réguliers rappelant une cible ou un disque.



**Figure 31 :** Les aspects de quelques colonies mycobactériennes

### 3.2 Coloration de Gram

La coloration de Gram, réalisée à différents stades du suivi des isolats et à des jours distincts, a permis d'observer les résultats suivants au microscope optique, sous un grossissement de 100×.



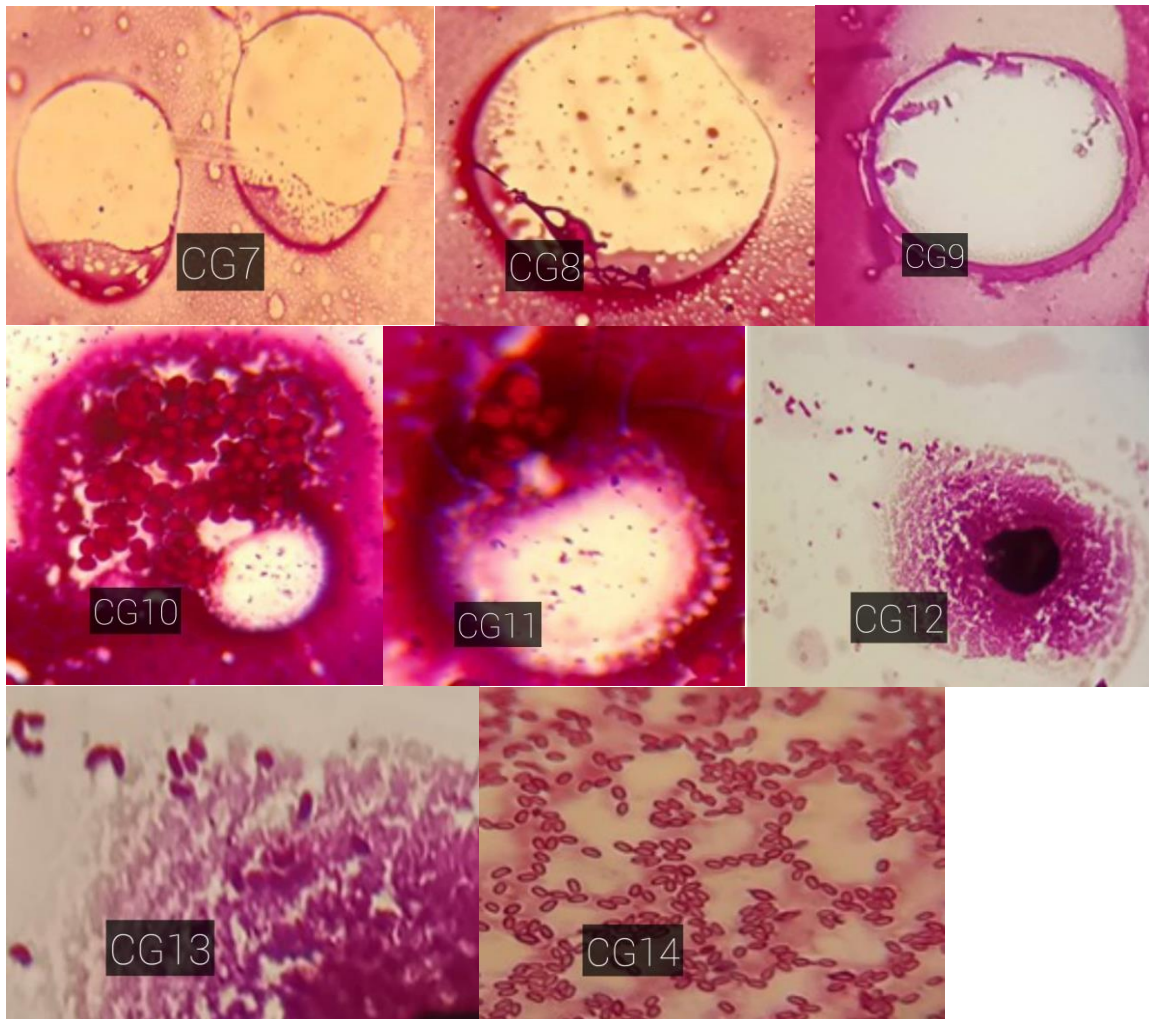
**Figure 32 :** Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 à différents temps d'incubation :

- **CG-1 :** Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 4 jours
- **CG-2 :** Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 5 jours
- **CG-3 :** Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 6 jours
- **CG-4 :** Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 7 jours
- **CG-5 :** Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 9 jours
- **CG-6 :** Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 14 jours

Après quelques jours d'incubation, une culture d'*Escherichia coli* préalablement inactivée par un traitement thermique a été utilisée. *E. coli* a d'abord été cultivée dans 10 mL de milieu HMB, puis incubée à 37 °C pendant 24 heures. La culture obtenue a ensuite été soumise à un traitement

thermique à 80 °C pendant 40 minutes afin d'inactiver les cellules. Après ajustement du pH à 7,2 et stérilisation, quelques gouttes de cette suspension ont été déposées à la surface des boîtes de Pétri et réparties uniformément par le geste du huit.

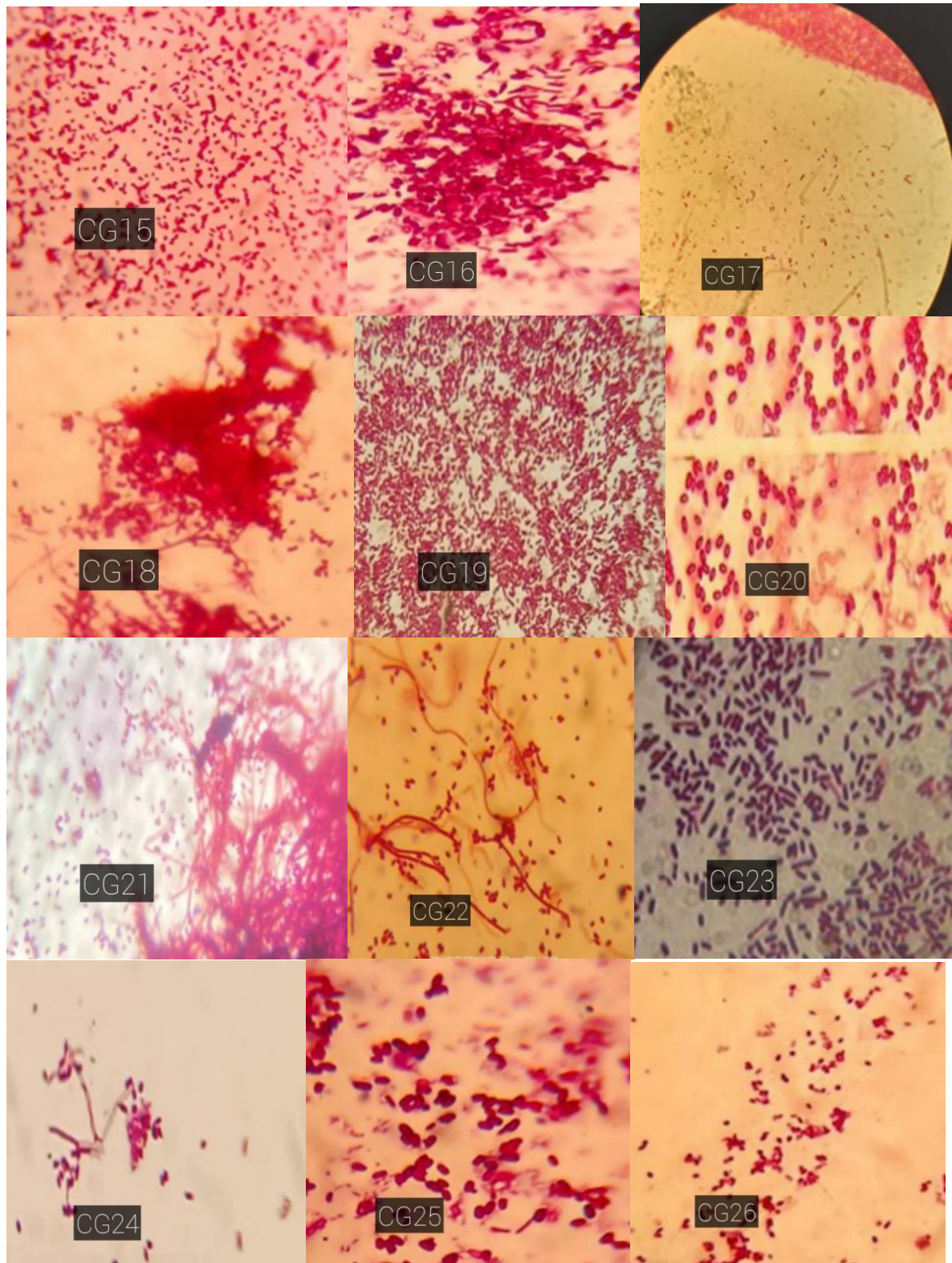
Par la suite, la coloration de Gram a été réalisée sur les souches étudiées, et les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.



**Figure 33** :Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 à différents temps d'incubation après exposition à *E. coli* inactivée : observation des résultats au microscope optique, sous un grossissement de 100×

- **CG-7** : Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 24 heures
- **CG-8** : Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 24 heures
- **CG-9** : Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 2 jours
- **CG-10** : Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 3 jours

- **CG-11** : Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 3 jours
- **CG-12** : Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 4 jours
- **CG-14** : Coloration de Gram de la souche M-SMO-NH14 après 5 jours



**Figure 34** : Coloration de Gram des différentes souches testées :



- **CG-14** : Coloration de Gram de la souche *M-SMO-NH14*
- **CG-15** : Coloration de Gram de la souche *M-ZS-MB08*
- **CG-16** : Coloration de Gram de la souche *M-AT-MM04*
- **CG-17** : Coloration de Gram de la souche *M-SMO-MB12*
- **CG-19** : Coloration de Gram de la souche *M-ZS-NH07*
- **CG-19** : Coloration de Gram de la souche *M-AT-AH01*
- **CG-20** : Coloration de Gram de la souche *M-SMO-BT10*
- **CG-21** : Coloration de Gram de la souche *M-ZS-MM09*
- **CG-22** : Coloration de Gram de la souche *M-SMO-MM13*
- **CG-23** : Coloration de Gram de la souche *M-AT-BT05*
- **CG-24** : Coloration de Gram de la souche *M-ZS-AH06*
- **CG-25** : Coloration de Gram de la souche *M-SMO-NH11*
- **CG-26** : Coloration de Gram de la souche *M-AT-MB03*

### **3.3 Observation à l'état frais**

La majorité des colonies observées présentent des morphologies très circulaires et concentriques. Elles se déplacent de manière irrégulière,. Parfois, certaines formes adoptent un aspect en bâtonnets très allongés, renforçant la diversité morphologique propre à ce groupe bactérien.

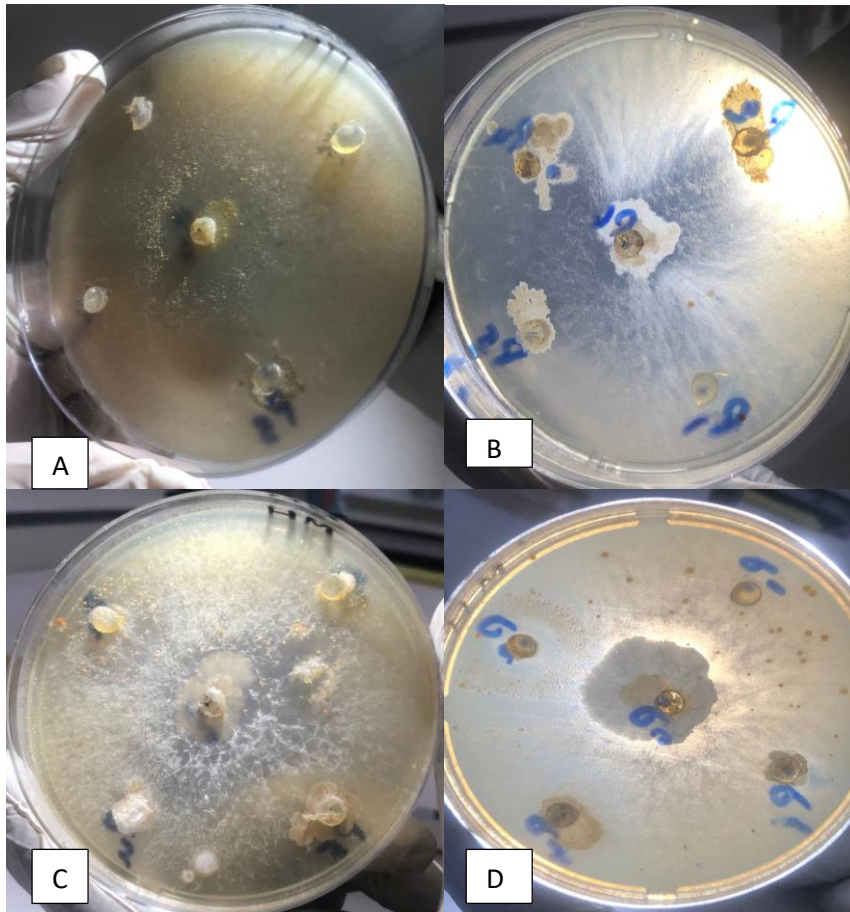
### **3.4 test à la catalase**

La majorité des colonies ont donné un résultat positif au test de la catalase. Toutefois, la réalisation de ce test s'avère délicate en raison du mode de vie coopératif caractéristique de ces bactéries, qui rend la manipulation individuelle des cellules plus complexes.

## **4. Résultats de l'activité antagoniste des isolats**

Les résultats de l'activité antagoniste des isolats révèlent un phénomène particulièrement intéressant, traduisant la propagation des colonies myxobactériennes sur les souches pathogènes

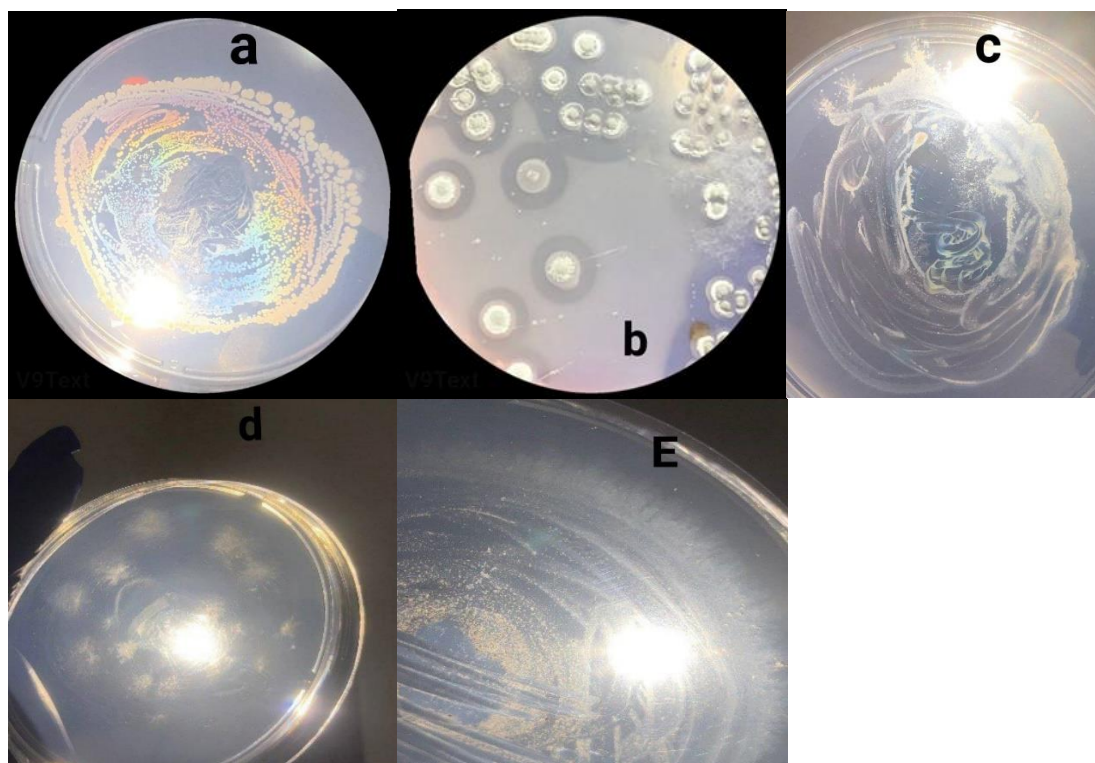
cibles. Cette propagation varie selon les souches pathogènes, mettant en évidence des différences notables d'interaction. Il s'agit d'une caractéristique typique des myxobactéries. (Muñoz-Dorado et al., 2016). Après un suivi prolongé d'un mois, une expansion continue des isolats myxobactériens sur les cultures pathogènes a été observée, confirmant leur capacité antagoniste durable et spécifique.



**Figure 35 :** l'effet antagoniste des isolats myxobactériens sur quatre souches bactériennes cibles :A. *Bacillus cereus* B. *Escherichia coli* C. *Klebsiella pneumoniae* D. *Staphylococcus aureus*

### 5. Observations issues du test de prédation

plusieurs souches ont montré des résultats positifs et une croissance remarquable sur le milieu pauvre WCX (Rouhizohrab & Mohammadipanah, 2022 ; Saggi et al., 2023). en présence de souches pathogènes telles que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ainsi que de levures comme *Saccharomyces cerevisiae*, utilisées comme souches proies (Saggi et al., 2023).



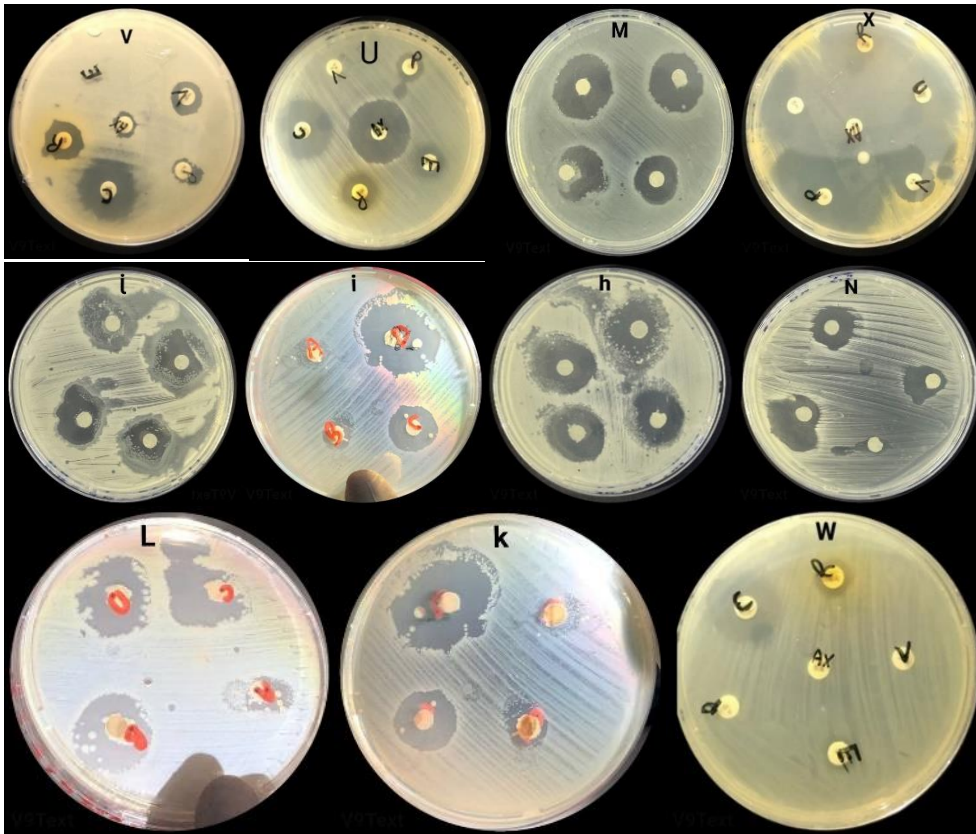
**Figure 36 :** L'aspect de quelques isolats lors du test de prédation

a. Motilité active de la souche M-SMO-NH11 en interaction avec *Escherichia coli*. b. Activité motile de la souche M-SMO-NH11 observée sur *Saccharomyces cerevisiae*. c. Motilité prédatrice de la souche M-SMO-BT10 contre *Staphylococcus aureus*. d. Motilité et effet prédateur de la souche M-AT-NH02 sur *Staphylococcus aureus*. e. Glissement et prédation de la souche M-AT-MB03 sur *Escherichia coli*.

## 6. Mesure de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits des isolats a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque en milieu agar. Les résultats, exprimés en diamètres des zones d'inhibition (ZOI) en millimètres, sont présentés dans le tableau 6. Des antibiotiques standards, tels qu'érythromycine, vancomycine, amoxicilline, pénicilline, rifampicine et gentamicine, ont été utilisés comme témoins positifs afin de comparer l'efficacité des extraits testés. (Rana et al., 2019). Plusieurs isolats ont montré une activité inhibitrice significative contre les souches bactériennes testées. L'isolat **M-ZS-MB08** a présenté la zone d'inhibition la plus élevée contre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, avec une ZOI de  $37 \pm 0,26$  mm, dépassant celle observée avec la gentamicine ( $22 \pm 0,15$  mm) ou la rifampicine ( $14 \pm 0,15$  mm). Des résultats similaires ont été observés avec **M-SMO-NH14** ( $37 \pm 0,89$  mm) et **M-AT-BT05** ( $34 \pm 0,04$  mm), indiquant une activité plus marquée que celle des antibiotiques de référence. Concernant *Escherichia coli* ATCC 25921, les zones d'inhibition les plus importantes ont été observées

avec M-SMO-NH14 ( $39 \pm 0,92$  mm), M-SMO-BT10 ( $36 \pm 0,84$  mm) et M-ZS-MB08 (30 mm), là encore supérieures à celles mesurées pour l'amoxicilline ( $23 \pm 0,15$  mm) ou la gentamicine ( $22 \pm 0,23$  mm).. En ce qui concerne *Bacillus subtilis* ATCC 6633, les meilleurs résultats ont été enregistrés avec M-SMO-NH10 ( $21 \pm 0,09$  mm) et M-AT-BT05 ( $24 \pm 0,24$  mm), en comparaison avec les antibiotiques, dont certains n'ont montré aucune inhibition (–) ou n'ont pas été testés (O). Dans l'ensemble, ces données mettent en évidence que certains isolats présentent une activité antimicrobienne supérieure à celle des antibiotiques standards utilisés comme témoins, ce qui souligne leur potentiel prometteur en tant que sources de nouvelles molécules antimicrobiennes.



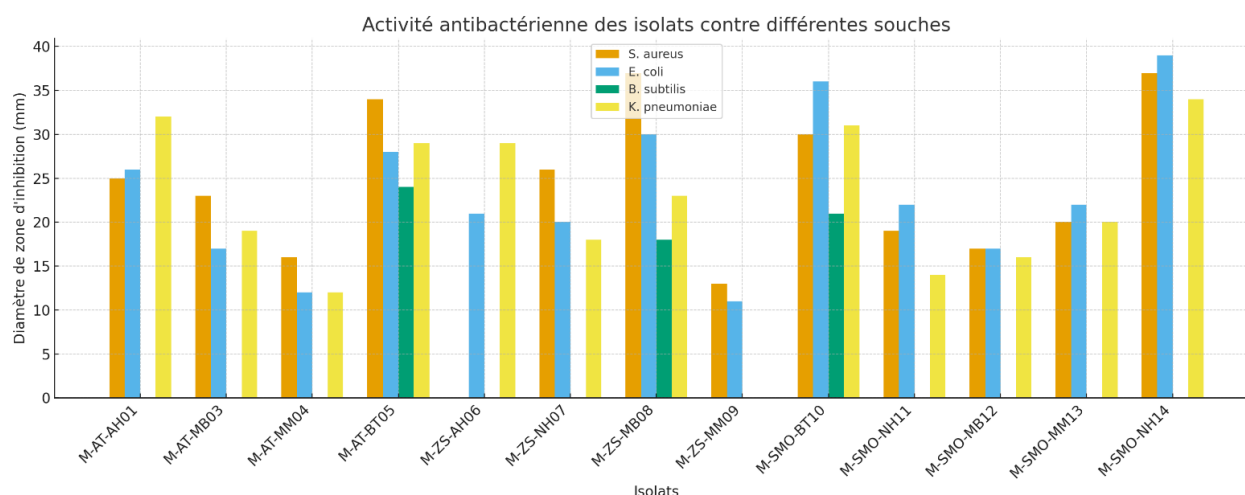
**Figure 37 :** Résultats de l'activité antibactérienne des isolats de myxobactéries

sur les bactéries pathogènes de référence : *Staphylococcus aureus* (H, I) – ATCC 6538, *Escherichia coli* (L, M) – ATCC 25921, *Klebsiella pneumoniae* (J, K) et *Bacillus subtilis* (N) – ATCC 6633. Les antibiogrammes (antibiotiques témoins) sont représentés par les lettres suivantes : (X) pour *Staphylococcus aureus*, (V) pour *Escherichia coli*, (W) pour *Klebsiella pneumoniae*, et (U) pour *Bacillus subtilis*.

Tableau 7 : Activités antibactériennes des isolats de myxobactéries

Numéro de série. Identifiant d'isolement	Staphylococcus aureus ATCC 6538	Escherichia coli ATCC 25921	Bacillus subtilis ATCC 6633	Klebsiella pneumoniae ATCC
M-AT-AH01	25 ±0,27	26 ±0,47	O	32 ±0,61
M-AT-MB03	23±0,73	17 ±0,34	O	19 ±0,23
M-AT-MM04	16±0,27	12 ±0,34	O	12 ±0,31
M-AT-BT05	34±0,04	28 ±0,12	24 ±0,24	29± 0,47
M-ZS-AH06	–	21 ±0,24	O	29 ±0,32
M-ZS-NH07	26 ±0,37	20 ±0,17	O	18 ±0,52
M-ZS-MB08	37 ±0,26	30 ±0	18 ±0,27	23 ±0,10
M-ZS-MM09	13 ±0,28	11 ±0,24	O	–
M-SMO-BT10	30 ±0,23	36 ±0,84	21±0,09	31±0,11
M-SMO-NH11	19 ±0,19	22 ±0,12	O	14 ±0,23
M-SMO-MB12	17 ±0,11	17 ±0,38	O	16 ±0
M-SMO-MM13	20 ±0,67	22 ±0,12	O	20 ±0,16
M-SMO-NH14	37 ±0,89	39 ±0,92	–	34 ±0,66
Erythromycine	+++	12 ±0,47	–	–
vancomycine	+++	–	10 ±0,18	–
Amoxicilline	+++	23 ± 0,15	8 ±0,30	–
Pénicilline	+++	10 ±0,22	10 ±0,10	–
Rifampicine	+++	14 ±0,15	15 ±0,39	10 ±0,55
Gentamicine	+++	22 ±0,15	22 ±0,23	20 ±0,25

Valeurs indiquées sous forme de Diamètre des zones d'inhibition (en mm) observé pour différents isolats contre diverses souches bactériennes. (+++) : forte inhibition ; (–) : aucune inhibition ; (O) : non testé.



**Figure 38 :** Graphique représentant l'activité antibactérienne des isolats

## 7. Tests antifongiques

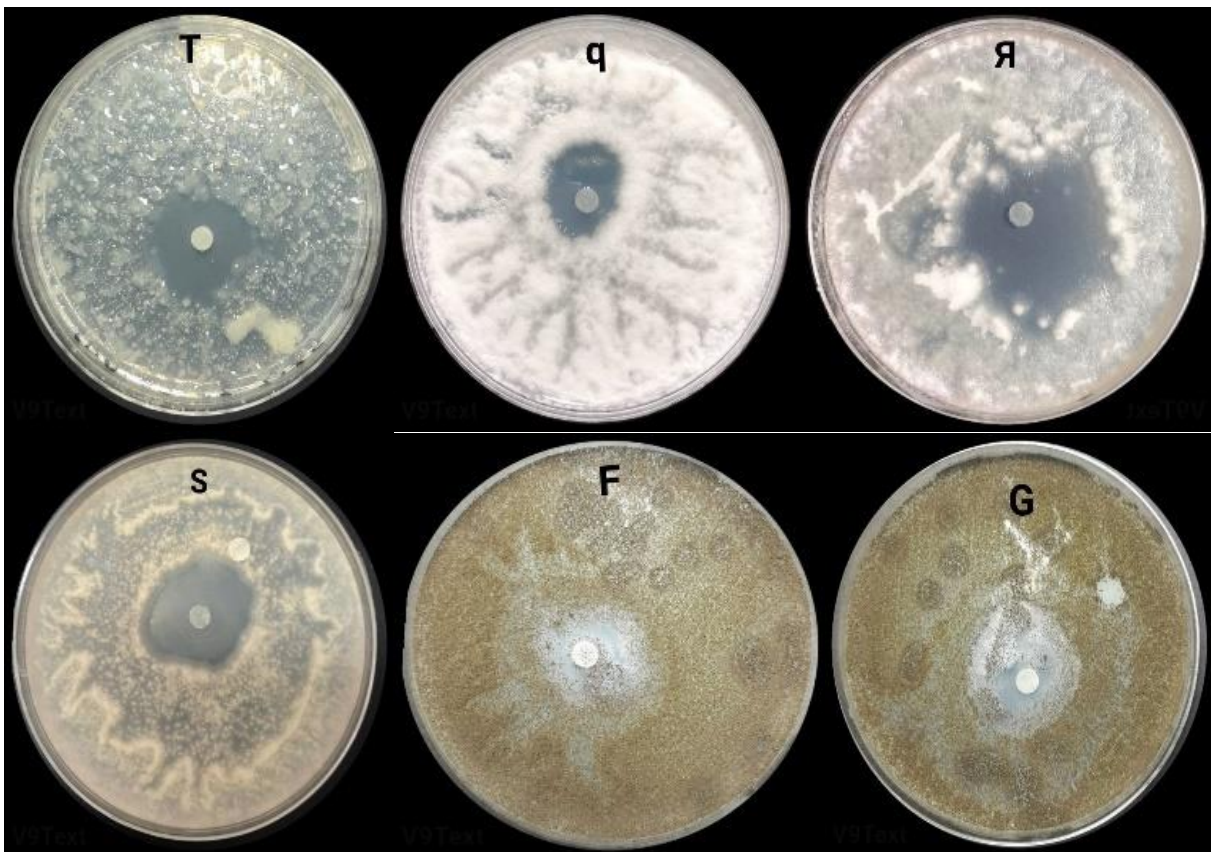
L'évaluation de l'activité antifongique a été réalisée en testant la capacité des isolats à lyser le culot cellulaire de trois champignons phytopathogènes (Wu et al., 2021).d'importance : *Aspergillus niger*, *Phytophthora infestans* et *Fusarium oxysporum*, ainsi que leur activité vis-à-vis de *Candida albicans*. Les résultats sont présentés dans le tableau 7. Parmi les isolats testés, **M-SMO-NH14** a montré la plus large activité antifongique, avec une lyse marquée contre les trois champignons phytopathogènes, en particulier *Phytophthora infestans* (notée +++), et une activité remarquable contre *Candida albicans*, indiquant un potentiel élevé de dégradation du mycélium et des cellules fongiques. Cet isolat se distingue donc par un fort potentiel antifongique, pertinent pour le développement de biopesticides et d'agents antifongiques ciblés. L'isolat **M-AT-BT05** a également révélé une activité positive contre l'ensemble des champignons testés, avec une intensité modérée, et une activité remarquable contre *Candida albicans*, ce qui suggère la production de métabolites antifongiques à spectre relativement large. En revanche, **M-ZS-MB08** a été inactif contre *Aspergillus niger* et *Candida albicans*, mais a montré une certaine capacité de lyse vis-à-vis de *Phytophthora infestans* et *Fusarium oxysporum*, indiquant une spécificité d'action ciblée sur certains types de parois fongiques. Enfin, **M-SMO-NH11** s'est révélé actif uniquement contre *Aspergillus niger*, tandis qu'aucune lyse n'a été observée contre les deux autres champignons testés ni contre *Candida albicans*, suggérant une activité antifongique plus restreinte. Globalement, ces résultats mettent en évidence une diversité d'action antifongique selon les isolats, probablement liée à la nature et

à la concentration des métabolites secondaires produits. Certains isolats, comme **M-SMO-NH14** et **M-AT-BT05**, présentent un intérêt particulier pour le développement d'agents antifongiques et de biopesticides ciblant des champignons d'importance économique et médicale.

**Tableau 8** : Évaluation de l'activité lytique des isolats vis-à-vis de différentes souches fongiques.

Numéro de série. Identifiant d'isolement	<i>Aspergillus niger</i> ,	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Candida albicans</i>
M-AT-BT05	+	++	+	++
M-SMO-NH11	+	-	-	-
M-SMO-NH14	+	+++	+	++
M-ZS-MB08	-	+	+	-

Remarque : (+) = Capable de lyser le culot cellulaire microbien. (-) = incapable de lyser le culot cellulaire microbien



**Figure 39 :** Résultats de l'activité antifongique des isolats de myxobactéries sur les souches fongiques *Fusarium oxysporum* (T), *Phytophthora infestans* (Q, R, S), *Aspergillus niger* (F, G).

## 8. Évaluation de l'activité antimicrobienne à partir de préparations diverses (surnageants, extraits et échantillons congelés)

Dans le cadre de la recherche sur les métabolites produits par les myxobactéries, l'évaluation de l'activité antifongique des souches isolées a été réalisée en testant leur effet antagoniste sur deux champignons phytopathogènes (Wu et al., 2021 ; Xia et al., 2023). d'importance : *Phytophthora infestans* et *Aspergillus niger*. Deux approches ont été menées :

### 8.1 Test du surnageant sur les souches fongiques

le surnageant obtenu après centrifugation des cultures de myxobactéries (6000 tr/min) a été directement appliqué sur les champignons cibles. Les résultats ont montré un effet marqué, caractérisé par la formation d'un "tapis" myxobactérien recouvrant la surface des colonies



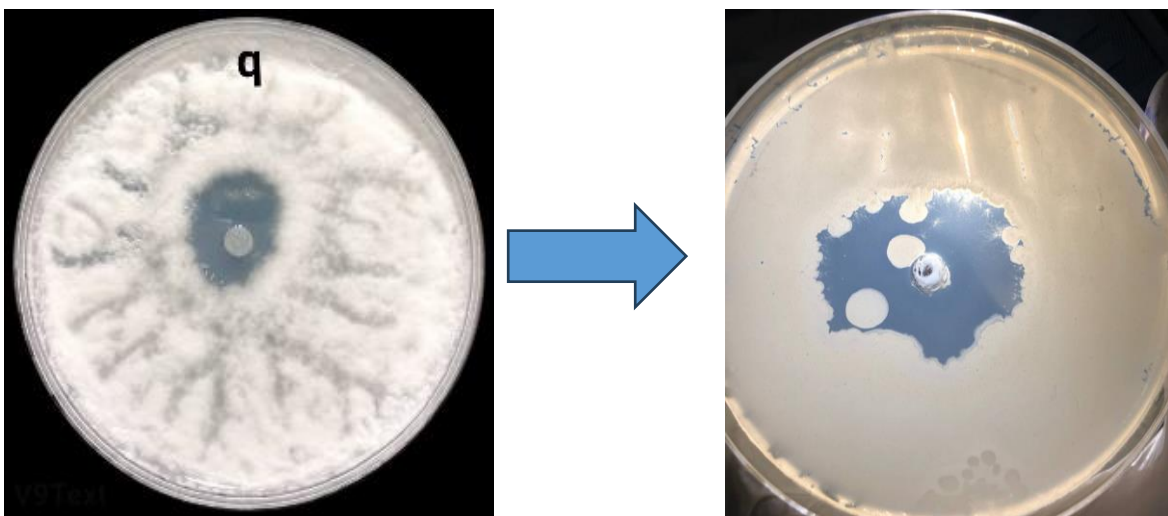
fongiques, entraînant un ralentissement, voire un blocage complet de leur croissance. Par ailleurs, l'examen microscopique des zones de recouvrement a confirmé la présence de bacilles Gram négatifs, typiques des myxobactéries, validant leur implication directe dans l'effet observé.

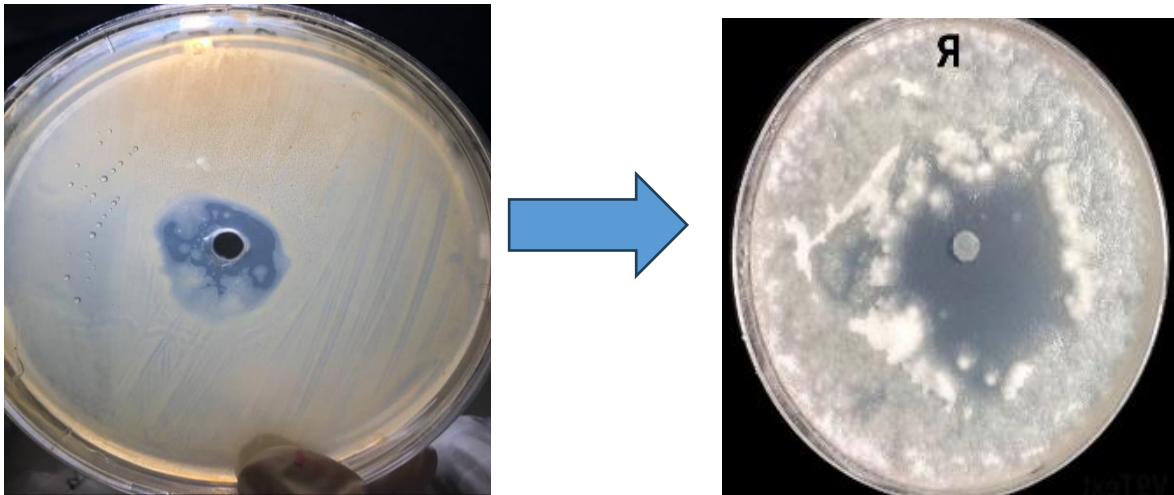


**Figure 40 :** Effet antagoniste de quelques isolats sur *Aspergillus niger* et *Phytophthora infestans*

### 8.2 Utilisation du culot des cellules éclatées

afin d'accéder aux métabolites intracellulaires, les culots bactériens ont été soumis à plusieurs cycles de congélation-décongélation. Les surnageants ont ensuite été récupérés, centrifugés puis testés contre les champignons cibles. Les observations ont révélé une amélioration significative de l'activité antifongique comparativement aux tests réalisés avant traitement, suggérant que les métabolites intracellulaires libérés renforcent l'effet antifongique de l'extrait bactérien.

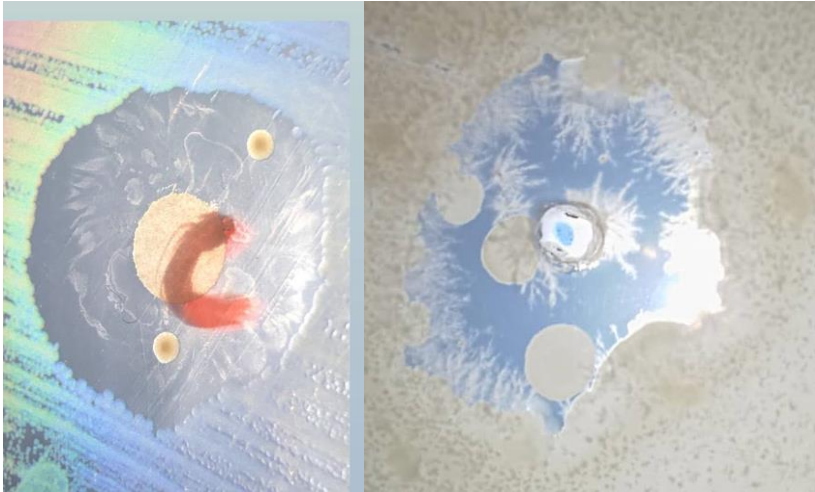




**Figure 41** : Effet de l'éclatement cellulaire de certains isolats sur leur activité antifongique contre *Phytophthora infestans*

### 9. Détection des bactéries proies et des champignons cibles par les myxobactéries

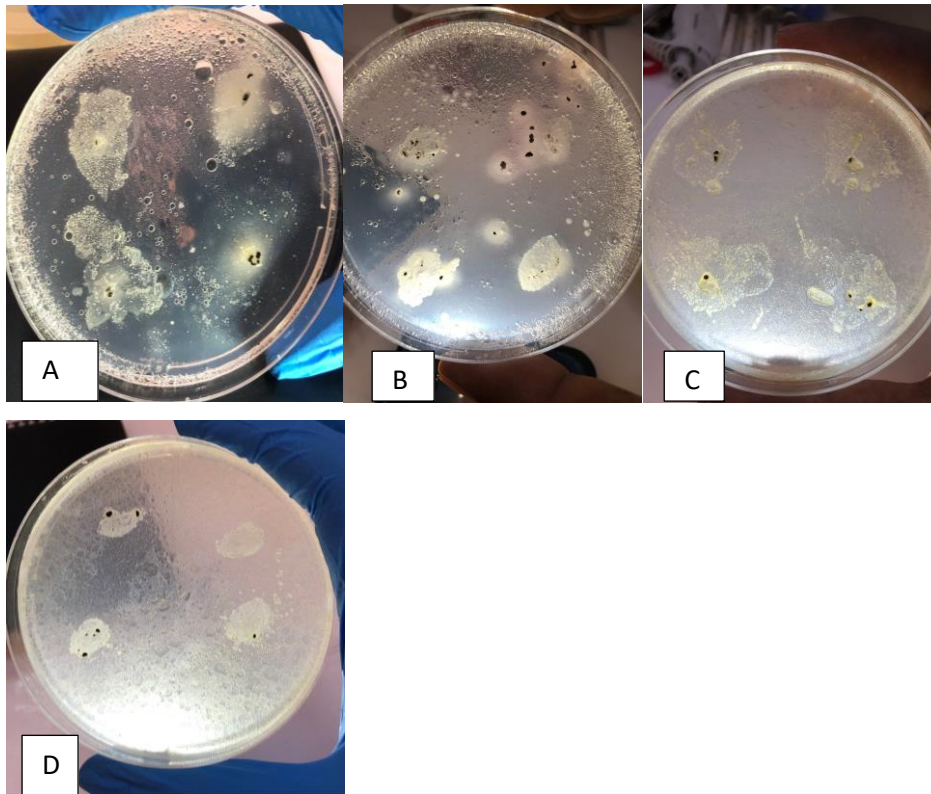
Lors de l'évaluation de l'activité des extraits des isolats de myxobactéries, deux types d'extraits ont été utilisés : des extraits non filtrés, contenant des cellules bactériennes vivantes ou des spores selon la disponibilité en nutriments, et des extraits filtrés à l'aide d'un filtre de  $0,22 \mu\text{m}$ , empêchant le passage de toute forme bactérienne. Les résultats ont montré que, dans les extraits non filtrés, les myxobactéries étaient actives contre les souches cibles, qu'il s'agisse de bactéries ou de champignons. Cette activité débutait dès le deuxième jour et se propageait progressivement, accompagnée de la formation de corps fructifiants très visibles dans les zones d'inhibition.



**Figure 42 :** Photo indiquant les fructifications observées des souches myxobactériennes lors de la détection de bactéries proies ou de souches fongiques

### 10. Résultats de l'activité lypolytique

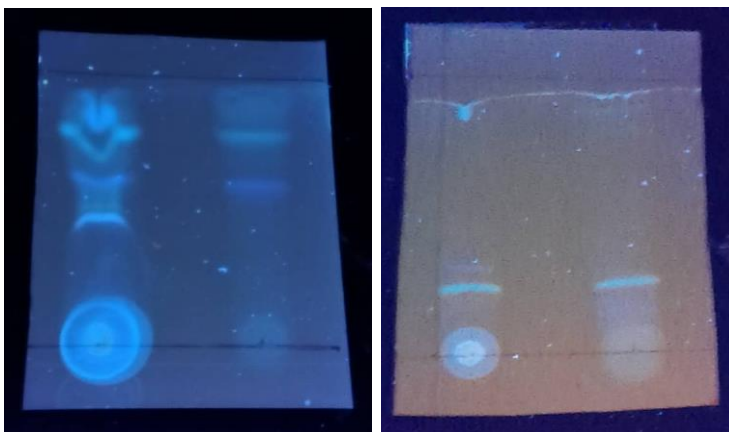
On a observé la formation nette de halos clairs et de zones de texture distinctes sur le milieu gélosé contenant du Tween 80 (Sierra, 1956), ainsi que sur le milieu à base d'huile moteur. Ces observations indiquent une activité lypolytique importante, traduisant la capacité des souches à dégrader les lipides et les hydrocarbures. Cette propriété revêt une grande importance pour de nombreux domaines, notamment en biotechnologie et en environnement, où la dégradation des composés lipidiques et hydrocarbonés est essentielle.



**Figure 43 :** A et B : résultats du test sur le milieu à base d'huile moteur ; C et D : résultats sur le milieu à base de Tween 80

### 11. Choix du meilleur solvant par chromatographie sur couche mince (CCM)

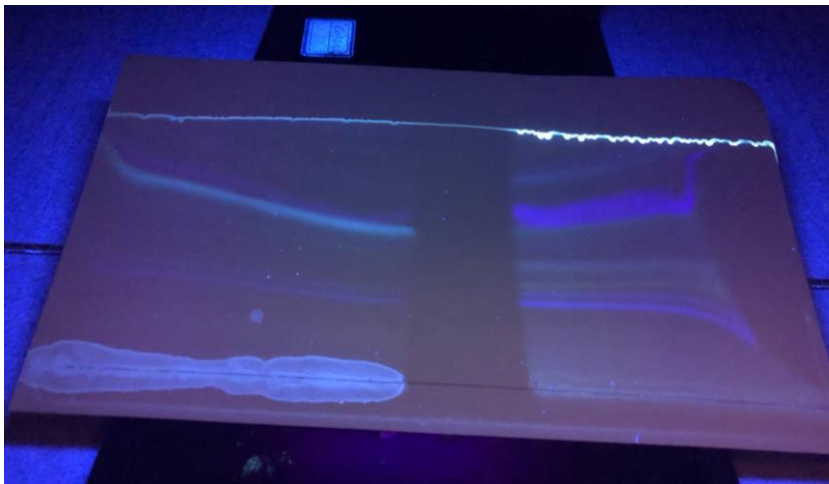
Les observations ont montré que le système Dichlorométhane – Méthanol a permis une meilleure séparation des composés de l'extrait, révélant des taches distinctes et bien définies. Ce résultat indique que ce mélange de solvants constitue le meilleur éluant pour l'extraction et l'analyse chromatographique des composants de l'extrait testé.



**Figure 44 :** Observations du chromatogramme de l'extrait sur CCM

## 12. Fractionnement et analyse des composés par CCM

Après la sélection du meilleur système de solvant, à savoir le Dichlorométhane – Méthanol, le fractionnement de l'extrait brut par chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisé afin de séparer les différents composants présents. L'application de l'extrait sur les plaques de silice et le développement chromatographique dans ce système éluant ont permis une migration nette et bien définie des composés. Cette migration remarquable a facilité l'observation et la localisation précise des différentes taches correspondant aux constituants de l'extrait. Chaque fraction ainsi identifiée a pu être isolée en raclant les zones spécifiques de la plaque, puis récupérée à l'aide d'un petit volume de méthanol pour les analyses et tests biologiques ultérieurs.



**Figure 45 :** Observations du chromatogramme de l'extrait sur CCM, obtenu avec le solvant le plus performant

# **Conclusion**

## Conclusion

Les myxobactéries constituent un groupe de bactéries sociales prédatrices, non pathogènes, capables de dégrader des biomolécules complexes et de produire une vaste gamme de métabolites secondaires bioactifs. Ces caractéristiques en font des micro-organismes d'un grand intérêt écologique, médical et (Li et al., 2019 ; Nadmid, 2015 ; Saggu et al., 2023). Bien qu'elles soient largement répandues dans divers environnements, leur isolement reste difficile, et seule une faible proportion de leur diversité naturelle a été étudiée jusqu'à présent (Dworkin, 1996).

Dans le cadre de ce travail, soixante-trois isolats distincts de myxobactéries ont été obtenus à partir de sols algériens, parmi lesquels treize ont montré une activité biologique particulièrement remarquable : M-AT-AH01, M-AT-MB03, M-AT-MM04, M-AT-BT05, M-ZS-AH06, M-ZS-NH07, M-ZS-MB08, M-ZS-MM09, M-SMO-BT10, M-SMO-NH11, M-SMO-MB12, M-SMO-MM13 et M-SMO-NH14. L'Algérie, avec la diversité de ses écosystèmes allant des zones arides sahariennes aux régions méditerranéennes humides, en passant par les zones côtières et les sédiments marins représente un réservoir riche et encore largement inexploré de myxobactéries, comme le confirment les résultats obtenus.

Sur le plan morphologique, tous les isolats se distinguent par la formation de corps fructifères multicellulaires et par une croissance par essaimage, des traits phénotypiques caractéristiques des myxobactéries (Arnold & Shimkets, 1988 ; Kaiser et al., 2010 ; McDonald & Peterson, 1962). Les différences observées dans leur interaction avec le milieu, telles que la faible pénétration dans l'agar et la formation limitée de dépressions, suggèrent une variabilité phénotypique reflétant une diversité génétique sous-jacente.

L'évaluation de l'activité biologique des isolats a révélé un potentiel antimicrobien et antifongique notable. Plusieurs souches ont montré une activité inhibitrice marquée contre des bactéries pathogènes humaines, notamment *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Klebsiella pneumoniae*. De plus, une activité antifongique a été observée contre des champignons phytopathogènes d'importance agronomique, tels que *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora infestans* et *Aspergillus niger*, ainsi que contre des levures pathogènes telles que *Candida albicans*. Ces observations indiquent que les isolats produisent des métabolites bioactifs variés, capables d'agir à la fois sur des pathogènes humains et sur des agents

responsables de maladies des plantes.(**Chan et al., 2003 ; Jansen et al., 2001 ; Zhang et al., 2013**).

Ainsi, les treize isolats sélectionnés constituent une ressource prometteuse pour la découverte de nouvelles molécules naturelles. Leur potentiel d'application est double d'une part, le développement d'antibiotiques ou d'antifongiques pour lutter contre la résistance microbienne croissante d'autre part, la mise au point de stratégies de biocontrôle pour la protection durable des cultures.

En conclusion, ce travail met en évidence le potentiel antimicrobien et antifongique des isolats de myxobactéries étudiés. Les perspectives futures incluent l'optimisation des conditions de culture, l'isolement des métabolites actifs et l'évaluation de leur efficacité *in vivo*, afin de valoriser ces micro-organismes dans les domaines pharmaceutique et agricole.



## **Références bibliographiques**

## References

- Ahearne, A., Phillips, K., Knehans, T., Hoing, M., Dowd, S. E., & Stevens, D. C. (2023). Chromosomal organization of biosynthetic gene clusters suggests plasticity of myxobacterial specialized metabolism including descriptions for nine novel species: *Archangium lansinium* sp. nov., *Myxococcus landrumus* sp. nov., *Nannocystis bainbridgea* sp. nov., *Nannocystis poenicansa* sp. nov., *Nannocystis radixulma* sp. nov., *Polyangium mundeleinium* sp. nov., *Pyxidicoccus parkwaysis* sp. nov., *Sorangium aterium* sp. nov., *Stigmatella ashevillena* sp. nov. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2023.03.08.531766>
- Alberts, J. F., Gelderblom, W. C. A., Botha, A., & van Zyl, W. H. (2009). Degradation of aflatoxin B1 by fungal laccase enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 135(1), 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.022>
- Al-Mohammadi, A. R., Ismaiel, A. A., Ibrahim, R. A., Moustafa, A. H., Zeid, A. A., & Enan, G. (2021). Chemical constitution and antimicrobial activity of kombucha fermented beverage. *Molecules*, 26(16). <https://doi.org/10.3390/molecules26165026>
- Arakal, B. S., Rowlands, R. S., Maddocks, S. E., Whitworth, D. E., James, P. E., & Livingstone, P. G. (2025). Myxobacteria from soil can substantially reduce the bacterial load in a wound infection model. *Journal of Applied Microbiology*, 136(1). <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae315>
- Arend, K. I., Schmidt, J. J., Bentler, T., Lüchtfeld, C., Eggerich, D., Hexamer, H. M., & Kaimer, C. (2021). Myxococcus xanthus Predation of Gram-Positive or Gram-Negative Bacteria Is Mediated by Different Bacteriolytic Mechanisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(5), 1–17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02382-20>
- Arnold, J. W., & Shimkets, L. J. (1988). Cell Surface Properties Correlated with Cohesion in *Myxococcus xanthus*. In *JOURNAL OF BACTERIOLOGY* (Vol. 170, Issue 12). <http://jb.asm.org/>
- Bader, C. (2021). Analysis of the Myxobacterial Secondary Metabolome Facilitated by Supercritical Fluid Technologies and Magnetic Resonance Mass Spectrometry.
- Badji, B., Riba, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2005). Activité antifongique d'une souche d'*Actinomyces* d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxigènes. *Journal de Mycologie Médicale*, 15(4), 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2005.07.001>
- Badji, B., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2006). Antimicrobial compounds produced by *Actinomyces* sp. AC104 isolated from an Algerian Saharan soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 52(4), 373–382. <https://doi.org/10.1139/W05-132>
- Belgacem, H. (2023). Recherche dans des écosystèmes extrêmes de nouvelles souches d'Actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes : Caractérisation des molécules bioactives, Université de Saïda Moulay Tahar. Département de Biologie.
- Bhat, S. (2009). Pores, signals and programmed cell death in *Myxococcus xanthus* (Doctoral dissertation, University of Georgia). University of Georgia, Athens, GA.
- Bhat, J. V., & Sundarraj, N. (1972). Myxobacteria. *Current Science*, 41(3), 83–91. Current Science Association. <https://www.jstor.org/stable/24074341>

- Böhlendorf, B., Herrmann, M., Hecht, H.-J., Sasse, F., Forche, J., Edgar, Kunze, B., Reichenbach, H., & Höfle, G. (1999). Antibiotics from Gliding Bacteria, 85 [ ] Melithiazols A-N: New Antifungal  $\beta$ -Methoxyacrylates from Myxobacteria. In *Eur. J. Org. Chem.*
- Berkeley, M. J. (1857). *Cryptogamic botany*. London: H. Baillière.
- Burnison, B. K., & Pacha, R. E. (1968). AN ABSTRACT OF THE THESIS OF Title: ANTAGONISTIC PROPERTIES OF AQUATIC MYXOBACTERIA AND PSEUDOMONADS Abstract approved: Certain species of the orders Myxobacterales and Pseudo.
- Cao, P., Dey, A., Vassallo, C. N., & Wall, D. (2015). How Myxobacteria Cooperate. In *Journal of Molecular Biology* (Vol. 427, Issue 23, pp. 3709–3721). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.07.022>
- Chan, Y. K., McCormick, W. A., & Seifert, K. A. (2003). Characterization of an antifungal soil bacterium and its antagonistic activities against *Fusarium* species. *Canadian Journal of Microbiology*, 49(4), 253–262. <https://doi.org/10.1139/w03-033>
- Charousová, I., Medo, J., & Javoreková, S. (2017a). Isolation, antimicrobial activity of myxobacterial crude extracts and identification of the most potent strains. *Archives of Biological Sciences*, 2017, 561–568. <https://doi.org/10.2298/ABS161011132C>
- Charousová, I., Steinmetz, H., Medo, J., Javoreková, S., & Wink, J. (2017). Soil myxobacteria as a potential source of polyketide-peptide substances. *Folia Microbiologica*, 62(4), 305–315. <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0502-2>
- Chen, X., He, B., Ding, C., Qi, X., Li, Y., & Hu, W. (2023). Diversity and Functional Distribution Characteristics of Myxobacterial Communities in the Rhizosphere of *Tamarix chinensis* Lour in Ebinur Lake Wetland, China. *Microorganisms*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11081924>
- Choma, I. M., & Grzelak, E. M. (2011). Bioautography detection in thin-layer chromatography. In *Journal of Chromatography A* (Vol. 1218, Issue 19, pp. 2684–2691). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.069>
- Contreras-Moreno, F. J., Moraleda-Muñoz, A., Marcos-Torres, F. J., Cuéllar, V., Soto, M. J., Pérez, J., & Muñoz-Dorado, J. (2024). Siderophores and competition for iron govern myxobacterial predation dynamics. *ISME Journal*, 18(1). <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae077>
- Dawid, W. (2000). Biology and global distribution of myxobacteria in soils. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(4), 403–427. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00548.x>
- Delmotte, A. (1958). L'activité lipolytique microbienne décelée par la méthode de Sierra avec référence spéciale au *M. pyogenes* var. *aureus*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 24(1), 309–315. <https://doi.org/10.1007/BF02538335>
- Dickschat, J. S., Bode, H. B., Mahmud, T., Müller, R., & Schulz, S. (2005). A novel type of geosmin biosynthesis in myxobacteria. *Journal of Organic Chemistry*, 70(13), 5174–5182. <https://doi.org/10.1021/jo050449g>

- Djahra, A. B., Bordjiba, O., & Benkherara, S. (2013). Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytotherapie*, 11(6), 348–352. <https://doi.org/10.1007/s10298-013-0819-1>
- Dong, Y., Dong, H., Feng, Z., Wang, X., Yao, Q., & Zhu, H. (2022). A Disturbed Siderophore Transport Inhibits Myxobacterial Predation. *Cells*, 11(23). <https://doi.org/10.3390/cells11233718>
- Dworkin, M. (1996). Recent Advances in the Social and Developmental Biology of the Myxobacteria †. In *MICROBIOLOGICAL REVIEWS* (Vol. 60, Issue 1).
- Dworkin, M., & Bonner, J. T. (1972). The myxobacteria: New directions in studies of procaryotic development. *Critical Reviews in Microbiology*, 1(4), 435–452. <https://doi.org/10.3109/10408417209103873>
- Dworkin, M. (1964). Nutritional requirements for vegetative growth of *Myxococcus xanthus*. *Journal of Bacteriology*, 88(2), 640–645.
- Dye, K. J., & Yang, Z. (2022). Analysis of *Myxococcus xanthus* Vegetative Biofilms With Microtiter Plates. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.894562>
- Fleta-Soriano, E., Martinez, J. P., Hinkelmann, B., Gerth, K., Washausen, P., Diez, J., Frank, R., Sasse, F., & Meyerhans, A. (2014). The myxobacterial metabolite ratjadone A inhibits HIV infection by blocking the Rev/CRM1-mediated nuclear export pathway. <http://www.microbialcellfactories.com/content/13/1/17>
- Gaitatzis, N., Kunze, B., & Müller, R. (2005). Novel insights into siderophore formation in myxobacteria. *ChemBioChem*, 6(2), 365–374. <https://doi.org/10.1002/cbic.200400206>
- Garcia, R. O. (2011). Exploiting the natural products of novel myxobacteria: Phylogenetic and fatty acid perspectives and bioactive compound discovery (Thèse de doctorat, Universität des Saarlandes). Universität des Saarlandes, Saarbrücken, Allemagne.
- Gemperlein, K., Zaburannyi, N., Garcia, R., La Clair, J. J., & Müller, R. (2018). Metabolic and biosynthetic diversity in marine myxobacteria. In *Marine Drugs* (Vol. 16, Issue 9). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/md16090314>
- Ghasemi, Y., Tabatabaei Yazdi, M., Shafiee, A., Amini, M., Shokravi, S., & Zarrini, G. (2004). Parsiguine, a novel antimicrobial substance from *Fischerella ambigua*. *Pharmaceutical Biology*, 42(4–5), 318–322. <https://doi.org/10.1080/13880200490511918>
- Herrmann, J., Fayad, A. A., & Müller, R. (2017). Natural products from myxobacteria: Novel metabolites and bioactivities. In *Natural Product Reports* (Vol. 34, Issue 2, pp. 135–160). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c6np00106h>
- Howard, D. H. (2025). Microscopic examination of the oscillated THE PRESERVATION OF BACTERIA BY FREEZING IN GLYCEROL BROTH" 2. <https://journals.asm.org/journal/jb>
- Iizuka, T., Jojima, Y., Hayakawa, A., Fujii, T., Yamanaka, S., & Fudou, R. (2013). *Pseudenhgromyxa salsuginis* gen. nov., sp. nov., a myxobacterium isolated from an estuarine marsh. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(PART4), 1360–1369. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.040501-0>

- Jane, S., Bsc, B., & Leics, H. (2003). Carotenoid Regulation in *Myxococcus xanthus*.
- Jansen, R., Kunze, B., Reichenbach, H., & Höfle, G. (n.d.). FULL PAPER Antibiotics from Gliding Bacteria, LXXXVI [ ‡] Apicularen A and B, Cytotoxic 10-Membered Lactones with a Novel Mechanism of Action from *Chondromyces* Species (Myxobacteria): Isolation, Structure Elucidation, and Biosynthesis.
- Jazy, M. A., & Rokia Sanogo, M. H. (2018). Chromatographie Sur Couche Mince Et Activité Antiradicalaire D'extraits De *Pupalia lappacea* (L.) Juss. Amaranthaceae. *European Scientific Journal, ESJ*, 14(3), 140. <https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n3p140>
- Jeffers, E. E., & Holt, J. G. (1961). The nomenclatural status of the taxa of the Myxobacterales (Schizomycetes). *International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy*, 11(2), 63–92.
- Kabak, B., Dobson, A. D. W., & Var, I. (2006). Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8), 593–619. <https://doi.org/10.1080/10408390500436185>
- Kaiser, D., Robinson, M., & Kroos, L. (2010). Myxobacteria, polarity, and multicellular morphogenesis. In *Cold Spring Harbor perspectives in biology* (Vol. 2, Issue 8). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000380>
- Kolundžić, M., Stanojković, T., Radović, J., Tačić, A., Dodevska, M., Milenković, M., Sisto, F., Masia, C., Farronato, G., Nikolić, V., & Kundaković, T. (2017). Cytotoxic and antimicrobial activities of *Cantharellus cibarius* Fr. (Cantarellaceae). *Journal of Medicinal Food*, 20(8), 790–796. <https://doi.org/10.1089/jmf.2016.0176>
- Kumar, S., Yadav, A. K., Chambel, P., & Kaur, R. (2017). Molecular and functional characterization of myxobacteria isolated from soil in India. *3 Biotech*, 7(2). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0722-9>
- Laure, F., Lopes, M., Rosas, R., Faure, R., Bianchini, J.-P., Raharivelomanana, P., & Fogliani, B. (2004, août). Composés triterpéniques isolés de feuilles du *Calophyllum inophyllum* Linn. de Polynésie Française. Communication présentée aux Assises de la Recherche dans le Pacifique, Nouméa, Nouvelle-Calédonie. <https://hal.science/hal-04750954v1>
- Li, Z., Ye, X., Liu, M., Xia, C., Zhang, L., Luo, X., Wang, T., Chen, Y., Zhao, Y., Qiao, Y., Huang, Y., Cao, H., Gu, X., Fan, J., Cui, Z., & Zhang, Z. (2019). A novel outer membrane  $\beta$ -1,6-glucanase is deployed in the predation of fungi by myxobacteria. *ISME Journal*, 13(9), 2223–2235. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0424-x>
- Lui, W. T. (1982). Separation of outer and cytoplasmic membranes of *Myxococcus xanthus* (Mémoire de maîtrise, University of Manitoba). University of Manitoba, Winnipeg, Canada.
- McDonald, J. C., & Peterson, J. E. (1962). Liquid Culture of Two Members of the Higher Fruiting Myxobacteria. *Mycologia*, 54(4), 368–373. <https://doi.org/10.1080/00275514.1962.12025011>
- Meliah, S., & Lisdiyanti, P. (2018). Isolation, characterization and molecular identification of myxobacteria from two Outermost Islands of Indonesia. *Biotropia*, 25(2), 121–129. <https://doi.org/10.11598/btb.2018.25.2.796>

- Mohr, K. I. (2018). Diversity of myxobacteria—we only see the tip of the iceberg. In *Microorganisms* (Vol. 6, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030084>
- Mulwa, L. S., & Stadler, M. (2018). Antiviral compounds from myxobacteria. In *Microorganisms* (Vol. 6, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030073>
- Muñoz-Dorado, J., Marcos-Torres, F. J., García-Bravo, E., Moraleda-Muñoz, A., & Pérez, J. (2016). Myxobacteria: Moving, killing, feeding, and surviving together. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 7, Issue MAY). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00781>
- Nadmid, S. (2015). Isolation and Characterization of Novel Natural Compounds from Myxobacteria.
- Nguyen, Y. T. N., Duong, C. D., Nguyen, H. T. K., Nguyen, C. P., Vo, N. T., Dinh, L. T. L., Nguyen, N. L. B., Nguyen, T. M., Nguyen, N. D., & Nguyen, A. T. (2022). MYXOBACTERIA FROM VIETNAM: ISOLATION, PHYLOGENETIC ANALYSIS AND BIOPROSPECTION. <https://doi.org/10.1101/2022.04.27.489816>
- Nitsos, P. K. (1971). Fresh water myxobacteria: A taxonomic study (Master's thesis, Oregon State University). Oregon State University
- Nören, B. (1951). Myxobacteria in soils. *Nature*, 167(4249), 225. <https://doi.org/10.1038/167226a0>
- Octaviana, S., Primahana, G., Mozef, T., Borges, L. G. A., Pieper, D. H., & Wink, J. (2023). Diversity of Myxobacteria Isolated from Indonesian Mangroves and Their Potential for New Antimicrobial Sources. *Current Microbiology*, 80(1). <https://doi.org/10.1007/s00284-022-03066-2>
- Quang, M. T., Duong, K. N. T., Tran, T. B. N., Do, D. X. M., Nguyen, T. M., Nguyen, D. A. H., & Nguyen, T. M. (2025). Antifungal and antitumor activities of cellulose-degrading myxobacteria isolated from soil in Vietnam. *MedPharmRes*, 9(1), 95–105. <https://doi.org/10.32895/ump.mpr.9.1.9>
- Pakseresht, B. (2020). Caractérisation et tentative d'isolement de bactéries du clade myxobactérien marin (Mémoire de maîtrise, Université Concordia). Université Concordia, Montréal, Canada.
- Piard, J., Guibert, C., Dabard, C., Demurget, N., Hitier, M., & Mahieu, N. (2018). Le photochromisme pour illustrer des notions de cinétique en terminale scientifique. *Le Bulletin de l'Union des Professeurs de Physique et de Chimie*, 112(1003), 667-682. <https://hal.science/hal-04067030v1>
- Rana, N., Khadka, S., Marasini, B. P., Joshi, B., Poudel, P., Poudel, P., Khanal, S., & Parajuli, N. (2019). Isolation and Characterization of Soil Myxobacteria from Nepal. *Journal of Institute of Science and Technology*, 24(2), 7–16. <https://doi.org/10.3126/jist.v24i2.27246>
- Reichenbach' And, H., & Dworkin, M. (1970). Induction of Myxospore Formation in *Stigmatella aurantiaca* (Myxobacterales) by Monovalent Cations. In *JOURNAL OF BACTERIOLOGY* (Vol. 101). <https://journals.asm.org/journal/jb>

- Reichenbach, H. (1986). The myxobacteria: common organisms with uncommon behaviour. *Microbiological Sciences*, 3(9), 268—274. <http://europepmc.org/abstract/MED/3155270>
- Reichenbach, H. (2001). Myxobacteria, producers of novel bioactive substances. In *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* (Vol. 27). [www.nature.com/jim](http://www.nature.com/jim)
- Rouhizohrab, N., & Mohammadipanah, F. (2022b). Suppression of predominant interfering bacteria in the purification process of myxobacteria (Vol. 14, Issue 5). <http://ijm.tums.ac.ir>
- Saggu, S. K., Nath, A., & Kumar, S. (2023). Myxobacteria: biology and bioactive secondary metabolites. *Research in Microbiology*, 174(7). <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104079>
- Sanford, R. A., Cole, J. R., & Tiedje, J. M. (2002). Characterization and description of *Anaeromyxobacter dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an Aryl-halo-respiring facultative anaerobic myxobacterium. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 893–900. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.893-900.2002>
- Schäberle, T. F., Lohr, F., Schmitz, A., & König, G. M. (2014). Antibiotics from myxobacteria. In *Natural Product Reports* (Vol. 31, Issue 7, pp. 953–972). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c4np00011k>
- Singh, B. N. (1947). Myxobacteria in soils and composts; their distribution, number and lytic action on bacteria. *Journal of General Microbiology*, 1(1), 1–10. <https://doi.org/10.1099/00221287-1-1-1>
- Sierra, G. (1956). A simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie van Leeuwenhoek*, 22(1), 15–22. <https://doi.org/10.1007/BF02538321>
- Thaxter, R. (1892). On the Myxobacteriaceæ, a new order of Schizomycetes. *Contributions from the Cryptogamic Laboratory of Harvard University*, 8, 1–22.
- Trowitzsch, W., Witte, L., & Reichenbach, H. (1981). Geosmin from earthy smelling cultures of *Nannocystis exedens* (Myxobacterales). *FEMS Microbiology Letters*, 12(3), 257–260. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1981.tb07653.x>
- Vaksman, Z., & Kaplan, H. B. (2015). *Myxococcus xanthus* Growth, Development, and Isolation. *Current Protocols in Microbiology*, 39(1), 7A.1.1-7A.1.21. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc07a01s39>
- Velicer, G. J., & Vos, M. (2009). Sociobiology of the myxobacteria. In *Annual Review of Microbiology* (Vol. 63, pp. 599–623). <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073158>
- Villa, T. G., & de Miguel Bouzas, T. (2021). Developmental biology in Prokaryotes and lower Eukaryotes. In *Developmental Biology in Prokaryotes and Lower Eukaryotes*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-77595-7>
- Walesch, S., Garcia, R., Mahmoud, A. B., Panter, F., Bollenbach, S., Mäser, P., Kaiser, M., Krug, D., & Müller, R. (2024). New myxobacteria of the Myxococcaceae clade produce angiolums with antiparasitic activities. *Microbiology Spectrum*, 12(3). <https://doi.org/10.1128/spectrum.03689-23>

- Wang, J., Wang, J., Wu, S., Zhang, Z., & Li, Y. (2021). Global Geographic Diversity and Distribution of the Myxobacteria. *Microbiology Spectrum*, 9(1). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00012-21>
- Whitworth, D. (Ed.). (2021). *Myxobacteria: Physiology and regulation*. Basel: MDPI. [https://www.mdpi.com/journal/microorganisms/special\\_issues/Myxobacteria](https://www.mdpi.com/journal/microorganisms/special_issues/Myxobacteria)
- Wrótniak-Drzewiecka, W., Brzezińska, A. J., Dahm, H., Ingle, A. P., & Rai, M. (2016). Current trends in myxobacteria research. In *Annals of Microbiology* (Vol. 66, Issue 1, pp. 17–33). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1104-3>
- Wu, Z., Cui, H., Sun, Z., & Liu, H. (2021). Biocontrol mechanism of *Myxococcus xanthus* B25-I-1 against *Phytophthora infestans*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 175. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104832>
- Xia, C., Zhao, Y., Zhang, L., Li, X., Cheng, Y., Wang, D., Xu, C., Qi, M., Wang, J., Guo, X., Ye, X., Huang, Y., Shen, D., Dou, D., Cao, H., Li, Z., & Cui, Z. (2023). Myxobacteria restrain *Phytophthora* invasion by scavenging thiamine in soybean rhizosphere via outer membrane vesicle-secreted thiaminase I. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41247-0>
- Xu, F., Tao, W.-Y., & Sun, J. (2011). Identification of volatile compounds released by myxobacteria *Sorangium cellulosum* AHB103-1. *African Journal of Microbiology Research*, 5(4), 353–358. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.718>
- Yamanaka, S., Kawaguchi, A., & Komagata, K. (1987). ISOLATION AND IDENTIFICATION OF MYXOBACTERIA FROM SOILS AND PLANT MATERIALS, WITH SPECIAL REFERENCE TO DNA BASE COMPOSITION, QUINONE SYSTEM, AND CELLULAR FATTY ACID COMPOSITION, AND WITH A DESCRIPTION OF A NEW SPECIES, MYXOCOCCUS FLA VESCENS. In *J. Gen. Appl. Microbiol* (Vol. 33).
- Yang, Y., Tao, H., Ma, W., Wang, N., Chen, X., & Wang, W. (2023). Lysis profile and preference of *Myxococcus* sp. PT13 for typical soil bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1211756>
- Yoshio, K., Yoshioka, Y., & Toshikuni, K. (2022). Physiological roles of catalases Cat1 and Cat2 in *Myxococcus xanthus*. *Journal of Microbiology*, 60(12), 1168–1177. <https://doi.org/10.1007/s12275-022-2277-7>
- Zhang, X., Yao, Q., Cai, Z., Xie, X., & Zhu, H. (2013). Isolation and Identification of Myxobacteria from Saline-Alkaline Soils in Xinjiang, China. *PLoS ONE*, 8(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070466>
- Zhao, L. H., Guan, S., Gao, X., Ma, Q. G., Lei, Y. P., Bai, X. M., & Ji, C. (2011). Preparation, purification and characteristics of an aflatoxin degradation enzyme from *Myxococcus fulvus* ANSM068. *Journal of Applied Microbiology*, 110(1), 147–155. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04867.x>
- Zinedine, A., González-Osnaya, L., Soriano, J. M., Moltó, J. C., Idrissi, L., & Mañes, J. (2007). Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. *International Journal of Food Microbiology*, 114(1), 25–29. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.11.001>



Zwarycz, A. S., & Whitworth, D. E. (2023). Myxobacterial Predation: A Standardised Lawn Predation Assay Highlights Strains with Unusually Efficient Predatory Activity. *Microorganisms*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020398>

# **Annexes**

**Annexes****Composition de milieu de culture****Milieux d'isolement des myxobactéries**

Milieux st21 :

Solution A :

$K_2HPO_4$  1,0 g ; extrait de levure 0,02 g ; agar 14,0 g ; eau distillée 600,0 ml

Solution B :

$KNO_3$  1,0 g ;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1,0 g ;  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  1,0 g ;  $MnSO_4 \cdot 7H_2O$  0,1 g ; eau distillée 300,0 ml

Solution C :

$FeCl_3$  0,2 g ; eau distillée 100,0 ml

Autoclaver les solutions séparément et les mélanger après refroidissement à 50 °C. Ajuster le pH à 7,2

Milieux WCX :  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ : 1.5 g ; Agar : 18 g ; Eau distillée : 1000ml ; pH : 7.2.

**Milieux de purification et d'identification des myxobactéries**

CY-AGAR :

Casitone 3,00 g ;  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  1,36 g ; extrait de levure 1,00 g ; agar 15,00 g ; eau distillée 1000,00 ml ; pH 7,2

VY/2-AGAR :

Levure de boulanger 5,00 g ;  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  1,36 g ; vitamine  $B_{12}$  0,50 mg ; agar 15,00 g ; eau distillée 1000,00 ml ; pH 7,2

Milieux HMB :

Farine de soja dégraissée 1,0 g ; D-glucose 1,0 g ; eau distillée 1000,0 ml ; *E. coli* inactivé (ajouté) ; pH 7,2

**Milieux de fermentation**

VY/2 Bouillon :

Levure 5,00 g ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1,36 g ; vitamine  $\text{B}_{12}$  0,50 mg ; eau distillée 1000,00 ml

CY/H LIQUID (Myxobacteria) :

Solution A : Casitone 1,5 g ; extrait de levure 1,5 g ; amidon 4,0 g ; farine de soja dégraissée 1,0 g ; D-glucose 1,0 g ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1,0 g ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5 g ; HEPES 11,9 g ; eau distillée 1000,0 ml

Solution B : EDTA-fer 0,80 g ; eau distillée 100,0 ml

Solution C : Vitamine  $\text{B}_{12}$  0,05 g ; eau distillée 100,0 ml

Ajuster le pH de la solution A à 7,4. Autoclaver les solutions A et B séparément. Stériliser la solution vitaminée par filtration. Après refroidissement, ajouter 1 ml de solution B et 1 ml de solution C par litre de solution A.

**Milieux pour l'étude de l'activité prédatrice**

Milieux WCX :  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 1.5 g ; Agar : 18 g ; Eau distillée : 1000ml ; pH : 7.2.

**Milieux pour l'étude de l'activité lipolytique**

Milieu gélosé à base de Tween 80 ou d'huile moteur :

Casitone 3,00 g ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1,36 g ; extrait de levure 1,00 g ; agar 15,00 g ; eau distillée 1000,00 ml ; pH ajusté à 7,0.

Après stérilisation à l'autoclave, le milieu est additionné soit de Tween 80 stérile, soit d'huile moteur stérile, à raison de 10 ml/L.

**Milieux pour l'étude de l'activité antimicrobienne**

Activité antibactérienne :

Milieu Mueller Hinton : infusion de viande de bœuf : 300,0 ml, peptone de caséine : 17,5 g , amidon : 1,5 g, Agar :17,0g, pH=7,4 .

Activité antifongique :

Milieu PDA : Le milieu est composé de filtrat de pomme de terre (500 ml), de glucose (20 g), d'agar (20 g) et d'eau distillée (500 ml), avec un pH ajusté à 5,6.

**Résultats de l'isolement des souches en fonction des échantillons****Tableau 1 : Répartition des souches isolées en fonction des zones d'échantillonnage**

Type d'échantillon	Zone / Région (Algérie)	Nombre de souches isolées
Sol rhizosphérique	Tindouf	14
Sol rhizosphérique	Saïda	12
Sol rhizosphérique	Hacine	7
Sol non rhizosphérique	Laghouat	11
Sédiments marins	Oran	19

**Analyse de l'activité antimicrobienne****Tableau 2 : Évaluation primaire de l'activité antifongique par mesure des zones d'inhibition (mm)**

Numéro de série / Identifiant d'isolement	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Candida albicans</i>
M-AT-BT05	38	42	35	31
M-SMO-NH11	36	0	0	0
M-SMO-NH14	34	69	33	44
M-ZS-MB08	0	43	39	0

**Tableau 3 : Évaluation primaire de l'activité antibactérienne par mesure des zones d'inhibition (mm)**

Numéro de série. Identifiant d'isolement	Staphylococcus aureus ATCC 6538	Escherichia coli ATCC 25921	Bacillus subtilis ATCC 6633	Klebsiella pneumoniae ATCC
M-AT-AH01	25 ±0,27	26 ±0,47	O	32 ±0,61
M-AT-MB03	23±0,73	17 ±0,34	O	19 ±0,23
M-AT-MM04	16±0,27	12 ±0,34	O	12 ±0,31
M-AT-BT05	34±0,04	28 ±0,12	24 ±0,24	29± 0,47
M-ZS-AH06	–	21 ±0,24	O	29 ±0,32
M-ZS-NH07	26 ±0,37	20 ±0,17	O	18 ±0,52
M-ZS-MB08	37 ±0,26	30 ±0	18 ±0,27	23 ±0,10
M-ZS-MM09	13 ±0,28	11 ±0,24	O	–
M-SMO-BT10	30 ±0,23	36 ±0,84	21±0,09	31±0,11
M-SMO-NH11	19 ±0,19	22 ±0,12	O	14 ±0,23
M-SMO-MB12	17 ±0,11	17 ±0,38	O	16 ±0
M-SMO-MM13	20 ±0,67	22 ±0,12	O	20 ±0,16
M-SMO-NH14	37 ±0,89	39 ±0,92	–	34 ±0,66