

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

N° d'Ordre

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Contribution à l'étude du potentiel biotechnologique des actinomycètes autochtones tolérantes aux métaux lourds

Présenté par :

M^{elle} : ISSAD Maroua

M^{elle} : HABBAZ Bouchra

Soutenu le : 24/06/2026

Devant le jury composé de :

Président

M^{me}. HAMMOU Bakhta

MCB Université UMTS

Examineur

Mr. BENABBOU Taha Ahmed

MCA Université UMTS

Rapporteur

Mr. BELLIL Yahia

MCA Université UMTS

Année universitaire 2025/2026

Remerciements

Nous remercions tout d'abord **Dieu, Allah**, Le Tout-Puissant, Le Généreux et Le Miséricordieux, de nous avoir donné la force, la patience, la volonté et le courage nécessaires pour mener à bien ce modeste travail. Nous Le remercions également de nous avoir guidés vers la lumière du savoir et de la science, et de nous avoir permis de progresser sur le chemin de la connaissance.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrant, **Mr. Bellil yahia**, pour nous avoir guidés avec patience, rigueur scientifique et bienveillance tout au long de la réalisation de ce mémoire. Ses conseils éclairés, sa disponibilité et la confiance qu'il nous a accordée ont été essentiels à l'aboutissement de ce travail. Nous lui témoignons notre profond respect et notre sincère reconnaissance.

Nous souhaitons également exprimer notre profonde gratitude aux **membres du jury**, qui nous font l'honneur d'évaluer ce mémoire et de s'intéresser à nos travaux.

Nous remercions chaleureusement **l'équipe du laboratoire**, les techniciens et toutes les personnes dont l'aide a facilité la réalisation de cette étude.

Nous exprimons également notre gratitude à l'ensemble **des enseignants** et du **personnel académique** de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie, **Université de Saïda – Dr. Moulay Tahar**, pour la qualité de leur enseignement, leur engagement et leur accompagnement tout au long de notre formation en Master.

Nous remercions aussi nos **camarades de promotion** pour l'ambiance de travail, le partage des connaissances et l'entraide, qui ont rendu cette expérience encore plus enrichissante.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents **RACHID** et **MOKHTARIA**, nulle dédicace ne saurait exprimer mes sincères sentiments, pour leurs patiences illimitée, leurs encouragement contenu, leurs aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

À **mes chers frères : Kamel et Imed**, pour leurs grands amours et leurs soutiens qu'ils trouvent ici l'expression de mes hautes gratitudes.

Mes chères sœurs : Bakhta et Radia, que j'aime très fort, je leurs souhaite tout le succès...tout le bonheur.

À **mes chères amies : Aya ferdous , Maroua et Soulef** , pour leur amitié sincère et leur soutien sans faille.

À tous mes collègues et amis.

HABBAZ BOUCHRA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail, comme preuve de respect, de gratitude et de reconnaissance à : **Mes chers Parents :AHMED et YAMINA** Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler, que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.

À **mes frères Makhoul et Mahdi et Sœurs Fatima** qui m'ont toujours soutenu.

À mes amis **Fatima et Bouchra ,Soulefe** mes **cousins** et tous mes **camarades** de classe tous ceux qui m'ont aidé.

À tous ceux qui m'ont guidé, conseillé et appuyé, de manière directe ou indirecte, durant ce parcours académique.

À tout individu ayant joué un rôle, direct ou indirect, dans mon épanouissement personnel et ma réussite.

À tout la famille **Issad et Khelifa**

ISSAD MAROUA

Table des matières

Table des matières.....	I
Liste des abréviations.....	V
Liste des tableaux.....	VI
Liste des figures.....	VII
Résumé.....	IX
ملخص.....	X
Abstract.....	XI
PARTIE I. INTRODUCTION	1
Introduction	2
Partie II. Synthèse bibliographique	5
CHAPITRE 1.....	6
GENERALITES SUR LES ACTINOBACTERIES.....	6
II.1. Le sol	7
II.1.1. Définition du sol.....	7
II.1.2. Caractéristiques générales du sol	7
II.1.3. Microflore du sol	8
II.1.3.1. Bactéries	8
II.1.3.1.1. Densité, biomasse et distribution	9
II.1.3.2. Actinomycètes.....	10
II.1.3.3. Champignons.....	10
II.2. Actinomycètes	10
II.2.1. Historique	10
II.2.2. Définition des actinomycètes	11
II.2.3. Morphologie	11
II.2.3.1. Mycélium aérien	13
II.2.3.2. Mycélium de substrat.....	13
II.2.3.3. Spores	14
II.2.4. Ecologie des actinomycètes.....	16
II.2.4.1. Sols.....	17
II.2.4.2. Eaux douces et marines	18
II.2.4.3. L'Air	18
II.2.4.4. Le compost	19
II.2.5. Milieux d'eau douce et environnements marins	19
II.2.6. Cycle de développement des actinomycètes	19
II.2.7. Physiologie	20
II.2.8. Milieux de culture des actinomycètes.....	20
II.2.9. Classification des actinomycètes.....	21
II.2.10. <i>Taxonomie et identification des actinomycètes</i>	23
II.2.11. Pouvoir métabolique des actinomycètes.....	24
II.2.11.1. Métabolisme général des actinomycètes	24
II.2.11.2. Le métabolisme primaire.....	25
II.2.11.3. Le métabolisme secondaire	25
II.2.12. Les substances bioactives produite par les actinomycètes	25

II.2.12.1.	La production des antibiotiques	25
II.2.12.2.	<i>Production</i> des enzymes.....	26
II.2.12.2.1.	Les pectinases	26
II.2.12.2.2.	L-asparaginase.....	26
II.2.12.2.3.	Les gélatinases.....	27
II.2.12.2.4.	Protéases	27
II.2.12.2.5.	Amylases.....	27
II.2.12.2.6.	Xylanases.....	28
II.2.12.2.7.	Lipases	28
II.2.12.2.8.	Cellulases.....	28
II.2.12.3.	Les vitamines	28
II.2.12.4.	Les pigments	28
II.2.12.5.	Les herbicides biologiques	29
II.2.12.6.	Les composés antioxydants.....	29
II.2.13.	Importance des actinomycètes.....	30
II.2.13.1.	Importance en biotechnologie	30
II.2.13.2.	Importance dans le domaine agronomique.....	30
II.2.13.3.	Rôle des actinomycètes dans la biodégradation de la matière organique	31
II.2.14.	Principales Espèces et Genres d'Actinomycètes	31
II.2.14.1.	Genre Streptomyces.....	31
II.2.14.2.	Micromonospora	32
II.2.14.3.	Le genre Rhodococcus.....	33
II.2.14.4.	Les actinobactéries du genre Frankia	34
Chapitre 2.	Les métaux lourds.....	36
II.3.	LES MÉTAUX LOURDS	37
II.3.1.	Définition des métaux lourds.....	37
II.3.2.	Classification des métaux lourds.....	38
II.3.3.	. Propriétés physico-chimiques.....	38
II.3.4.	Source des métaux lourds	39
II.3.4.1.	Sources naturelles :	39
II.3.4.2.	Sources anthropiques :	39
II.3.5.	différents métaux lourds présents dans l'environnement	40
II.3.5.1.	Plomb.....	40
II.3.5.1.1.	Historique	40
II.3.5.1.2.	Propriétés physico-chimiques.....	40
II.3.5.2.	Le zinc	41
II.3.5.2.1.	Généralités	41
II.3.5.2.2.	Propriété physico-chimique.....	42
II.3.5.3.	Le Nickel	43
II.3.5.3.1.	Historique et découverte	43
II.3.5.3.2.	Propriétés physico-chimiques.....	44
II.3.5.4.	Le chrome	44
II.3.5.4.1.	Généralités	44
II.3.5.4.2.	Propriétés physico-chimiques.....	45
II.3.6.	Tolérance des actinomycètes aux métaux lourds	46

II.3.6.1.	Séquestration	47
II.3.6.1.1.	La séquestration intracellulaire	47
II.3.6.2.	Biosorption	48
II.3.6.3.	Bioaccumulation	50
II.3.6.4.	Les systèmes d'efflux	51
II.3.6.5.	Les chélateurs externes	52
II.3.7.	Paramètres influençant la mobilité des métaux lourds	53
II.3.7.1.	PH	53
II.3.7.2.	Température	53
II.3.7.3.	Matière organique	53
II.3.8.	Mécanismes de bioremédiation par les actinomycètes	54
II.3.8.1.	Réduction directe	54
II.3.8.2.	Réduction indirecte	54
II.3.9.	Rôle des actinobactéries dans la bioremédiation des métaux	54
II.3.9.1.	Biosorption et bioaccumulation	54
II.3.9.2.	L'immobilisation catalysée par la biologie	55
II.3.9.3.	Détoxification des métaux par transformation de valence	55
	Partie III. Matériels et méthodes	57
III.1.	Échantillonnage des sols	58
III.1.1.	Sites de prélèvement	58
III.1.2.	Analyse des caractéristiques physico-chimiques	59
III.1.3.	Procédure de prélèvement et prétraitement	60
III.2.	Isolement et sélection des actinobactéries	61
III.2.1.	Milieux de cultures utilisés :	61
III.2.2.	Méthode des suspensions-dilution :	61
III.3.	Évaluation du potentiel antimicrobien	61
III.3.1.	Micro-organismes cibles et standardisation :	61
III.3.2.	Criblage par la méthode des cylindres d'agar	62
III.4.	Caractérisation des activités enzymatiques	63
III.5.	Étude de la résistance aux métaux lourds induite par la quercétine	64
III.5.1.	Induction par la quercétine	64
III.5.2.	Préparation du matériel sporale	65
III.5.3.	Tests de résistance aux métaux lourds	65
III.5.3.1.	Préparation des solutions mère des métaux lourds	66
III.5.4.	Ensemencement et incubation	67
III.5.5.	Évaluation de la résistance	67
	Partie IV. Résultats et discussion	69
IV.1.	Analyse physico-chimique et dénombrement des isolats	70
IV.1.1.	Caractéristiques du sol	70
IV.1.1.1.	Influence du pH du sol sur la distribution des actinobactéries :	70
IV.1.2.	Rendement de l'isolement et distribution des souches	71
IV.1.3.	Caractérisation morphologique et confirmation taxonomique	72
IV.2.	Criblage du potentiel antimicrobien	79
IV.3.	Profilage métabolique et activités enzymatiques	82
IV.4.	Résistance aux métaux lourds et potentiel de bioremédiation	89

IV.4.1.	Résultats de la préparation des spores en suspension :	89
IV.4.2.	Détermination de la CMI des métaux lourds.....	91
IV.4.3.	B. Évaluation quantitative : L'Indice de Tolérance (<i>IT</i>)	98
	PARTIE.V.CONCLUSION ETPERSPECTIVES.....	100
V.1.	Conclusion Générale.....	101
V.2.	Perspectives.....	102
VI	Référence bibliographique	103
	Partie VII. Annexe	115
VII.1.	Milieux de cultures	116
VII.1.1.	Composition des milieu de culture.....	116
VII.1.1.1.	Milieu d'identification des actinomycètes	116
VII.1.1.1.1.	Milieu SCA – Starch Casein Agar	116
VII.1.1.1.2.	Milieu GYM – Yeast – Malt extract Agar.....	116
VII.2.	Eau physiologique :	116
VII.3.	Milieux utilisés pour l'activité antimicrobienne.....	117
VII.3.1.	Milieu Mueller Hinton	117
VII.4.	Milieux utilisés pour l'activité enzymatique	117
VII.4.1.	Milieux MM de Hopwood (Minimal Medium de Hopwood)	117
VII.4.2.	Gélatinise	117
VII.4.3.	Protéase	118
VII.4.4.	Pectinase	118
VII.4.5.	Asparaginase	118
VII.4.6.	Lipase.....	119
VII.5.	Milieux utilisés pour les métaux lourds	119
VII.5.1.	ISP2 – International Streptomyces Project	119
VII.5.2.	ISP4 – International Streptomyces Project	119
VII.6.	Les colorants de coloration de gram	120
VII.6.1.	Les étapes De La Coloration de Gram.....	120

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

ADN : Acide Désoxyriboses Nucléique

ATCC : American Type Culture Collection

Bc : Bacillus cereus

Bs : Bacillus subtilis

C : Colonie

CaCO₃ : Bicarbonate de calcium

Cr : Chrome

DO : Densité Optique

Ec : Escherichia coli

EPS : Substances Polymériques Extracellulaires

g/L : gramme par litre

GC% : pourcentage de Cytosine Guanine

GYM : Gélose-Yeast-extrait de Malt

IBMC : Strasbourg : Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire Strasbourg

ISP2 : International Streptomyces Project

Mm : Millimètres

Ni : Nickel

Pb : Plomb

PH : Potentiel d'Hydrogène

Rpm : Rotation par minute

Sa : Staphylococcus aureus

SCA : Starch Casein Agar

UFC : Unité Formant colonies

Zn : Zinc

µl : Microlitres

Liste des tableaux

Tableau 1: Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol .	18
Tableau 2: Les différents taxons des actinomycètes.	22
Tableau 3: Les propriétés physico-chimique de plomb.....	41
Tableau 4: Les propriétés physico-chimique de zinc.	43
Tableau 5: Principales caractéristiques physiques et mécaniques du nickel.	44
Tableau 6: Les caractéristiques physico-chimiques du chrome.....	45
Tableau 7: Repérage géographique des stations d'échantillonnage par GPS.	59
Tableau 8: Caractéristiques des souches indicatrices.	62
Tableau 9: Résultats du pH des échantillons	71
Tableau 10: Aspect macroscopique des isolats d'actinobactéries isolés à partir des échantillons du sol	76
Tableau 11: Résultats du criblage primaire de l'activité antimicrobienne (méthode cylindre d'agar).	81
Tableau 12: Résultat des activités enzymatiques des isolats d'actinomycètes.....	82
Tableau 13: Détermination de la CMI des métaux lourds.	94
Tableau 14: Évaluation quantitative de l'indice de tolérance (IT)	99

Liste des figures

Figure 1 : Colonie d'actinomycètes en croissance sur de la gélose (aspect typique des actinomycètes, section transversale d'une colonie d'actinomycètes exhibant le mycélium du milieu de culture et le mycélium aérien avec des rangées de conidiospores).	12
Figure 2 : La fragmentation du mycélium du substrat et la véritable ramification de <i>Nocardia asteroides</i> (Y. Mikami).	13
Figure 3 : <i>Actinosynnema mirum</i> IFO 14064T (par T. Hasegawa & T. Tamura). Les synnemata se forment sur milieu.	14
Figure 04 : Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide	15
Figure 5 : Diversité des habitats des actinomycètes	16
Figure 6 : Le cycle de développement d'un actinomycète sporulant.....	20
Figure 7 : Micrographie électronique à balayage des hyphes et les spores de <i>Micromonospora</i>	33
Figure 8 : Tableau périodique des éléments de Mendeleïev.	37
Figure 9 : Origines des métaux lourds dans le sol	39
Figure 10: Le plomb.....	41
Figure 11: Le zinc	42
Figure 12 : le Nickel.....	44
Figure 13 : Le Chrome.....	45
Figure 14: Illustration schématique des processus biotiques (à savoir, biosorption et séquestration extracellulaire grâce aux sidérophores, aux biosurfactants et aux substances polymériques extracellulaires (EPS), bioaccumulation, biotransformation et mécanismes.	47
Figure 15 : Les systèmes d'efflux et leur source d'énergie correspondante pour le déplacement. Le transport actif primaire est lié à l'hydrolyse de l'ATP, alors que le transport actif secondaire repose sur l'exploitation d'un gradient de protons à travers la membrane.	52
Figure 16: Mécanismes de bioremédiation par les Actinomycètes.....	56
Figure 17: Localisation géographique des sites de prélèvement des sols.....	58
Figure 18: les échantillons de sol : A sol de boues de la station d'épuration, B sol de déchets industrielles , C sol de région naturelle Saharien	60
Figure 19: Méthode des cylindres d'agar	63
Figure 20: Ensemencement des isolats d'actinomycètes sur milieu minimum contenant l'asparagine avant incubation.	64
Figure 21: centrifugeuse (Scilogex) à réfrigération 4°C pour la préparation de suspension sporal.	65
Figure 22: Les solutions mères de métaux lourds, utilisées pour tests de résistance des actinomycètes, incluent le plomb (Pb), le nickel (Ni), le chrome (Cr) et le zinc (Zn).	66
Figure 23: Ensemencements des isolats d'actinomycètes sur le milieu ISP4 enrichi en métaux lourds à l'aide de la technique du spot avant que l'inoculum ne soit entièrement absorbé par la gélose.	68
Figure 24: Boîtes de Pétri montrant l'isolement d'actinobactéries à partir d'un échantillon de sol Vallée (T1) sur milieu SCA, après ensemencement de la dilution 10^{-3}	74
Figure 25 : variation du nombre d'isolats selon les échantillons de sol	75
Figure 26: Aspect macroscopique des isolats.....	78
Figure 27 : Aspect microscopique des isolats	78
Figure 28 : Criblage primaire des isolats (méthode cylindre d'agar) contre :	79
Figure 29 : Hydrolyse de la caséine par la souche C37 d'actinomycète après 7 jours d'incubation à 30°C sur milieu minimum supplémenté en lait écrémé.....	84
Figure 30: Activité caséinase des isolats d'actinomycètes après 7 jours d'incubation à 30°C sur milieu minimum contenant 10 % de lait écrémé.	84
Figure 31 : Activité pectinolytique des isolats C38, C43, C37 et C19 sur milieu minimum supplémenté en pectine après révélation au Lugol.	85
Figure 32 : Illustration de l'activité gélatinase des isolats C2, C57 et C40 suite à 7 jours d'incubation à 30°C sur un milieu minimum enrichi en gélatine	86

Figure 33 : La formation d'une dépression autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la gélatine par les gélatinases produites par les isolats d'actinomycètes.	86
Figure 34 : Activité asparaginase des isolats d'actinomycètes après 4 jours d'incubation. La coloration rouge observée autour des colonies indique une réaction positive à l'asparaginase.	87
Figure 35 : Résultat de l'analyse de l'asparaginase après une incubation de 7 jours. L'activité asparaginase significative des isolats examinés est signalée par la teinte rouge qui surplombe l'ensemble de la boîte de Pétri.	87
Figure 36 : Activité lipolytique des isolats d'actinomycètes après 7 jours d'incubation à 30 °C sur milieu minimum contenant du Tween 80 (ou de l'huile d'olive).	88
Figure 37 : Activité de décomposition des lipides des souches 37, 43 et 38 d'actinomycètes après une incubation de 7 jours à 30 °C.	88
Figure 38: pourcentage des enzymes produites par les souches d'actinomycètes étudiées.	89
Figure 39: Développement des isolats d'actinomycètes sur la surface du milieu liquide ISP2 suite à une incubation de 7 jours à 30°C.	90
Figure 40 : Après incubation de 7 jours à 30 °C, les isolats d'actinomycètes se développent au fond du milieu liquide ISP2.	90
Figure 41: La croissance d'actinomycètes en milieu ISP4 enrichi en différents métaux lourds tels que le Pb, le Ni, le Cr et le Zn, à diverses concentrations.	92
Figure 42 : Croissance de l'isolat C21 en présence de chrome à 100 µg/ml et 500 µg/ml, indiquant une résistance à ces concentrations.	93
Figure 43: Croissance des isolats actinomycètes C43, C19 et C38 sur milieu ISP4 supplémenté en nickel (500 µg/ml).	93
Figure 44: Profil de tolérance aux métaux lourds des souches d'actinobactéries isolées — concentrations minimales inhibitrices (CMI, µg/ml)	95
Figure 45 : Profil biologique global des souches d'actinobactéries sélectionnées — activités antimicrobiennes, enzymatiques et tolérance aux métaux lourds.	96
Figure 46: Diagramme de Venn illustrant le recoupement des meilleures activités biologiques chez les souches d'actinobactéries isolées.....	97
Figure 47: Diagramme en radar; profil comparatif des souches bioactives sur six axes d'activité biologique	98

Résumé

L'étude a porté sur l'isolement et la caractérisation d'actinobactéries résistantes aux métaux lourds dans des sols de l'ouest algérien. Parmi 64 isolats obtenus, 22 souches pures ont été sélectionnées et confirmées comme appartenant au groupe des actinomycètes.

L'activité antimicrobienne des isolats a montré une efficacité variable, avec les souches C38 et C43 se démarquant par leur inhibition notable d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition de 15 mm et 18,5 mm respectivement.

Une diversité métabolique importante a été mise en évidence à travers les activités enzymatiques : toutes les souches produisent de l'asparaginase, tandis que 68,1 % présentent une activité caséinase, 40,9 % une activité pectinase, 22,7 % une activité lipase et 13,6 % une activité gélatinase. Les isolats C19, C39 et C57 affichent les plus fortes activités protéolytiques, et C75 se distingue par une forte activité pectinolytique.

Les tests de résistance aux métaux lourds révèlent une grande variabilité entre les isolats, le nickel étant le métal le mieux toléré, alors que le plomb est le plus toxique à forte concentration. Les isolats C34, C19, C75, C21 et C37 montrent une résistance élevée au nickel, chrome, zinc et plomb, indiquant leur potentiel pour des applications en bioremédiation.

Ces résultats démontrent que les sols étudiés constituent une source riche d'actinobactéries combinant des propriétés antimicrobiennes, enzymatiques et une forte capacité de résistance aux métaux lourds, offrant ainsi un intérêt certain pour des usages biotechnologiques, pharmaceutiques et environnementaux.

Mots clés : Actinomycètes, métaux lourds, tolérance, activité antimicrobienne, bioremédiation.

ملخص

تناولت هذه الدراسة عزل وتوصيف الأكتينوبكتيريا المقاومة للمعادن الثقيلة من عينات تربة متنوعة جُمعت من غرب الجزائر. تم الحصول ومن بينها تم اختيار 22 سلالة نقية ومستقرة لإجراء التحاليل البيولوجية. وأكدت SCA و GYM على 64 عزلة أولية باستخدام وسائط الفحوصات الماكروسكوبية والمجهريّة انتماء هذه العزلات إلى مجموعة الأكتينوميستيات.

C38 و C43 أظهر تقييم النشاط المضاد للميكروبات قدرات تثبيطية متفاوتة حسب العزلات والكائنات الدقيقة المستهدفة. تميزت السلالتان بفعالية ملحوظة ضد بكتيريا الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية، حيث بلغت مناطق التثبيط 15 مم و 18.5 مم على التوالي.

كشفت دراسة النشاطات الإنزيمية عن تنوع أبيض واسع بين العزلات، إذ تم إنتاج إنزيم الأسباراجيناز من قبل جميع السلالات بنسبة 100٪، في حين لوحظت أنشطة الكازيناز والبكتيناز والليباز والجيلاتيناز بنسب 68.1٪ و 40.9٪ و 22.7٪ و 13.6٪ على التوالي. أظهرت السلالات بنشاط بكتينوليتي قوي C75 أعلى نشاطات بروتينية، بينما تميزت العزلة C57 و C39 و C19.

أظهرت اختبارات مقاومة المعادن الثقيلة تفاوتاً كبيراً بين العزلات، حيث كان النيكل المعدن الأكثر تحملاً، بينما أظهر الرصاص أعلى سمية مستويات مقاومة مرتفعة للنيكل والكروم والزنك والرصاص، مما C37 و C21 و C75 و C19 و C34 عند تراكيز مرتفعة. سجلت العزلات يشير إلى إمكاناتها الواعدة في تطبيقات المعالجة الحيوية للبيئات الملوثة.

تُبرز هذه النتائج أهمية الترب المدروسة كمصدر غني للأكتينوبكتيريا التي تجمع بين الخصائص المضادة للميكروبات والأنشطة الإنزيمية والقدرة على مقاومة المعادن الثقيلة، مما يفتح آفاقاً واسعة لاستغلالها في المجالات البيوتكنولوجية والصيدلانية والبيئية.

الكلمات المفتاحية : الأكتينوميستيات، المعادن الثقيلة، التحمل، النشاط المضاد للميكروبات، المعالجة الحيوية.

Abstract

This study investigated the isolation and characterization of heavy metal-resistant actinobacteria from soil samples in western Algeria. From 64 isolates obtained on GYM and SCA media, 22 pure strains were selected and confirmed as actinomycetes through morphological analysis.

Antimicrobial testing showed variable inhibition, with strains C38 and C43 notably effective against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, producing inhibition zones of 15 mm and 18.5 mm. Enzymatic profiling revealed diverse metabolic capabilities: all strains produced asparaginase, while caseinase, pectinase, lipase, and gelatinase activities were present in 68.1%, 40.9%, 22.7%, and 13.6% of isolates, respectively. Strains C19, C39, and C57 had strong proteolytic activity; C75 exhibited notable pectinolytic activity.

Heavy metal resistance varied among isolates, with nickel being the most tolerated and lead the most toxic at high levels. Isolates C34, C19, C75, C21, and C37 showed high resistance to nickel, chromium, zinc, and lead, suggesting their potential in bioremediation.

These findings highlight the soils as a valuable reservoir of actinobacteria with antimicrobial, enzymatic, and heavy metal resistance properties, offering significant potential for biotechnological, pharmaceutical, and environmental uses.

Keywords : Actinomycetes, heavy metals, metal tolerance, antimicrobial activity, enzymatic activity, bioremediation, soil.

PARTIE I. INTRODUCTION

Introduction

Les sols abritent une richesse particulière en micro-organismes. Ces habitats sont notamment le foyer du microbiome le plus varié et le plus sophistiqué de la Terre, contenant souvent plus de 0,5 milligramme de biomasse microbienne carbonée et plus de 50 000 espèces par gramme. **(van der Heijden, 2008; Fierer, 2017)**. La plus grande portion de la biomasse terrestre, après les plantes, est occupée par les micro-organismes qui habitent le sol et les strates sous-jacentes, et ils fonctionnent de ce fait comme un stock microbien.

Les actinomycètes ont une importance cruciale pour l'environnement, spécifiquement en ce qui concerne la santé des sols et le cycle des nutriments. Leur aptitude singulière à dégrader des composés biologiques complexes tels que la cellulose et la chitine fait d'eux les principaux agents du processus de décomposition de la matière organique. Par ailleurs, leur aptitude à produire une vaste diversité de métabolites secondaires bioactifs contribue à réguler les communautés microbiennes dans divers écosystèmes.

La classe des Actinomycètes englobe des micro-organismes filamentés unicellulaires Gram-positifs qui possèdent un pourcentage élevé en GC (dépassant les 55 %). Ces micro-organismes génèrent un vaste éventail de métabolites secondaires, dont un bon nombre suscite un intérêt considérable pour la santé de l'homme et le secteur pharmaceutique. **(Barka et al., 2016)**. Le genre *Streptomyces*, qui fait partie des Actinobactéries, est réputé pour générer une grande diversité de métabolites secondaires ayant une activité biologique, ainsi que de nouveaux antibiotiques. **(Liu et al., 2018)**.

Les actinobactéries, l'un des groupes microbiens les plus significatifs parmi les procaryotes, possèdent la précieuse aptitude à synthétiser divers composés essentiels pour des applications dans les domaines industriel, agricole, pharmaceutique et biotechnologique, y compris des métabolites secondaires et des enzymes. Néanmoins, l'étude des réponses des actinobactéries au stress et leur production de métabolites secondaires a reçu moins d'attention que celle d'autres types de bactéries.

La contamination par les métaux lourds est l'un des enjeux écologiques majeurs présents dans les environnements marins, terrestres et d'eau douce **(Valdman et al., 2001)**. Via la chaîne

alimentaire, ces métaux ont la capacité de s'accumuler dans le corps humain, ce qui peut contribuer à des problèmes de santé aigus et chroniques et causer de sérieux troubles **(Çeribasi et Yetis, 2001) (Zafar et al., 2007)**. Il existe cinq principales sources anthropiques de pollution métallique : (i) l'extraction et le raffinage des métaux, (ii) les secteurs industriels, (iii) les dépôts aériens, (iv) les activités agricoles et (v) la gestion des déchets **(Haferburg et Kothe, 2007) (Ezzouhri et al., 2009)** Les secteurs utilisant des métaux lourds tels que le plomb (Pb), le zinc (Zn), le chrome (Cr), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), l'arsenic (As) et le nickel (Ni) suscitent une inquiétude particulière du fait de leurs conséquences délétères sur le long terme sur les sols et les eaux environnantes **(Bruins et al., 2000) (Selvin et al., 2009)**.

Les actinobactéries possèdent une étonnante résistance face à des environnements hostiles, comme ceux perçus dans des sols pollués par des métaux lourds, grâce à leur développement mycélien filamenteux, à leur habileté à créer des spores et à leur métabolisme secondaire résilient. Ainsi, ces bactéries ont développé divers mécanismes de résistance. **(Bajkic et al., 2013)**.

Ces premières découvertes ont marqué le début d'une reconnaissance des actinomycètes comme de puissants agents de bioremédiation environnementale, ouvrant la voie aux recherches actuelles qui explorent plus en profondeur leur polyvalence métabolique, leur potentiel génétique et leur adaptabilité aux conditions extrêmes. **(Hashim et al., 2026)**.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer le potentiel biotechnologique des souches d'actinomycètes natives résistantes aux métaux lourds, prélevées dans des sols contaminés. Ce travail de recherche porte sur l'extraction, la caractérisation et l'étude des propriétés biologiques de ces micro-organismes en termes de résistance aux métaux lourds, et leurs potentiels d'application dans les domaines de la biotechnologie et de la bioremédiation.

Cette mémoire se structure en quatre grandes sections :

- La première section se focalise sur une revue des travaux écrits concernant les actinomycètes, leur écologie, leurs attributs morphologiques et physiologiques, et aussi leur potentiel dans la création de métabolites bioactifs.
- La seconde section est dédiée à l'examen de la fonction des actinomycètes dans la résistance et la bioremédiation des métaux lourds, en soulignant leur potentiel pour la production de métabolites bioactifs et leurs usages environnementaux.

- La troisième section se focalise sur l'isolement, la purification et le criblage des propriétés antimicrobiennes des souches isolées, tout en évaluant leurs propriétés enzymatiques et leur résistance face aux métaux lourds.
- La quatrième section présente les résultats obtenus, suivis d'une discussion qui fait le lien entre les observations expérimentales et les données littéraires.

Partie II. Synthèse bibliographique

CHAPITRE 1.

GENERALITES SUR LES ACTINOBACTERIES

II.1. Le sol

II.1.1. Définition du sol

Le sol constitue la couche la plus externe de la croûte terrestre, caractérisée par la présence d'organismes vivants et modifiée par des processus climatiques, physiques, chimiques et biologiques. Il est composé de particules minérales, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes vivants, et est structuré en horizons de sols **(ISO, 2015)**.

II.1.2. Caractéristiques générales du sol

Le sol est un environnement dont la composition et les propriétés témoignent d'une variabilité à la fois spatiale et temporelle. La variabilité spatiale du sol se traduit par des strates de diverses épaisseurs, connues sous le nom d'« horizons », sur le plan vertical, et par l'existence de sols diversifiés sur le plan horizontal. Quand on parle de la variabilité dans le temps, il convient de souligner que certaines propriétés évoluent de manière assez lente pour être considérées comme constantes sur une échelle humaine ; c'est généralement le cas de la composition granulométrique. Par contre, certains autres changent plus ou moins vite et requièrent une observation minutieuse pour être bien observés et décrits, comme le niveau d'humidité et la composition ionique du sol. **(Calvet, 2013)**.

La formation du sol découle de l'interaction de processus tant physiques que chimiques et biologiques. L'observation de presque toutes les pierres exposées met en évidence la présence d'algues, de lichens ou de mousses. Ces organismes demeurent inactifs sur la roche sèche et se prolifèrent en présence d'une légère humidité. Ils sont capables de la photographie et génèrent des substances organiques qui aident à la prolifération des bactéries et champignons chimioorganotrophes. La population de chimioorganotrophes croît en même temps que l'expansion de la couverture végétale. L'acide carbonique, formé à partir du dioxyde de carbone émis lors de la respiration des chimioorganotrophes, joue un rôle crucial dans la dissolution des roches, en particulier des calcaires. Un grand nombre de chimioorganotrophes secrètent aussi des acides organiques qui persistent à dissoudre les roches en particules plus petites. **(Madigan et Martinko, 2007)**.

Des fissures dans les rochers sont causées par des phénomènes physiques comme le gel et la fusion. Dans ces fissures, un sol grossier se crée, favorisant le développement des plantes pionnières. Les plantes dont les racines pénètrent plus profondément contribuent à la fragmentation accrue des roches, tandis que leurs sécrétions stimulent la croissance d'une microflore dans la rhizosphère. Quand les plantes s'éteignent, leurs restes enrichissent le sol en nutriments qui favorisent une plus grande croissance microbienne. Les minéraux se dissolvent et, par le biais de la percolation, l'eau véhicule ces composés chimiques en profondeur. **(Madigan et Martinko, 2007).**

L'érosion favorise une augmentation de l'épaisseur du sol, ce qui facilite la croissance de plantes de taille supérieure et d'arbres. Les créatures du sol s'établissent et contribuent à l'homogénéisation et à l'aération des strates superficielles. **(Pelczar et Chan, 1982).**

En définitive, les déplacements vers le bas de matériaux entraînent l'apparition de strates, définissant le profil du sol. **(Pelczar et Chan, 1982).** Dans nos zones tempérées, l'épaisseur du sol (de la roche mère à la surface) peut aller de quelques décimètres à plusieurs mètres. Généralement, de 1 à 2 mètres d'épaisseur, le sol est plus fertile dans sa couche superficielle connue sous le nom d'épisolum humifère **(Gobat et al., 2010).**

L'établissement d'un sol est influencé par divers facteurs, y compris le climat, mais ce processus peut en général s'étendre sur plusieurs centaines d'années **(Pelczar et Chan, 1982).**

II.1.3. Microflore du sol

La microflore des sols, aussi appelée microflore tellurique, comprend des espèces regroupées dans les catégories suivantes : bactéries, actinomycètes, champignons, algues et protozoaires. On ne considère pas les virus comme des microorganismes du sol au sens strict, cependant, ils ont une influence indirecte dans cet écosystème.

II.1.3.1. Bactéries

En général, les cellules bactériennes sont dix fois plus petites en dimensions linéaires et mille fois plus petites en volume par rapport aux cellules eucaryotes. Selon Gobat (2010), la biomasse bactérienne est chiffrée à approximativement 10^9 bactéries viables pour un gramme de sol.

Les spécialistes de la microbiologie du sol ont tenté de distinguer plusieurs catégories de groupes bactériens : les groupes basés sur la morphologie, la nutrition et la physiologie (ou l'écologie).

► Les groupes morphologiques, déterminés par une observation directe au microscope, se fondent sur la dimension et la configuration des bactéries.

► Le classement en groupes alimentaires est basé sur l'élevage de souches isolées du sol sur des milieux de complexité accrue, ce qui permet de différencier les espèces bactériennes ayant peu d'exigences (groupes 1 à 5) de celles ayant des exigences bien plus élevées (groupes 6 et 7).

► L'expression groupe physiologique fait référence à toutes les bactéries partageant la même aptitude à effectuer un type précis de réaction de biodégradation ou de biosynthèse à partir d'un substrat donné.

On trouve souvent dans les études plusieurs groupes physiologiques, tels que :

- Dotées d'une enzyme appelée nitrogénase, ces dernières ont la capacité de fixer l'azote moléculaire ;
- Le groupe des bactéries ammonificatrices, qui comprend celles capables de décomposer un environnement riche en azote organique jusqu'à atteindre un stade ammoniacal (tels les milieux à peptoné ou à l'asparagine) ;
- Le groupe des bactéries cellulolytiques, qui comprend celles aptes à dégrader un environnement où le carbone est offert sous forme de cellulose (**Dommergues, 1968**).

D'après Clark (1967), les Corynébactériacées sont les plus communes dans le sol, pouvant constituer jusqu'à 65% de la microflore bactérienne globale ; quant aux bacilles sporulés, ils seraient approximativement 25% de cette micropopulation. Les genres suivants, qui ont fait l'objet d'études particulières, composent les 10 % restants : *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Clostridium*, *Spirillum*.

II.1.3.1.1. *Densité, biomasse et distribution*

Habituellement, la concentration totale de la microflore bactérienne se situe entre 10^6 et 10^9 ; cependant, dans des conditions particulièrement propices, comme dans un sol forestier Riche en humus de type mull ou au printemps, ce chiffre peut monter jusqu'à 10^{11} bactéries pour chaque gramme de sol. La plupart des bactéries présentes dans le sol sont des hétérotrophes, ce qui signifie qu'elles tirent leur énergie de la décomposition de la matière organique contenue dans le sol. Il est courant d'observer une concentration plus importante de

bactéries à la surface des racines par rapport à leur présence à une certaine distance dans le sol. **(Dommergues, 1968)**.

II.1.3.2. Actinomycètes

Selon Davet (1996), ces bactéries Gram-positives créent des filaments ramifiés et génèrent des conidies, ce qui a conduit à les percevoir pendant longtemps comme des champignons. Elles participent activement à la décomposition des litières et de nombreuses espèces synthétisent des antibiotiques.

Bien que la plupart des actinomycètes soient des organismes du sol, deux seuls genres sont bien présents dans celui-ci : *Streptomyces* et *Nocardia*. Les *Streptomyces* pourraient représenter à eux seuls près de 70 à 90 % de la petite communauté d'actinomycètes présente dans le sol. **(Dommergues, 1968)**.

II.1.3.3. Champignons

Les champignons sont des microorganismes filamenteux, hétérotrophes et dépourvus de mobilité. Même si l'hétérotrophie est généralement le standard, le trait filamenteux n'est pas un critère déterminant, étant donné que beaucoup de champignons, y compris certains d'une grande importance pratique, se manifestent en forme unicellulaire **(Davet, 1996)**. La biomasse des microchampignons peut varier de 100 à 1000 kg/ha. En ce qui concerne particulièrement les ectomycorhizes, la répartition des champignons dans le sol, tout comme celle des bactéries, dépend de la disponibilité de substrats adéquats, habituellement constitués de débris végétaux. **(Dommergues, 1968)**.

II.2. Actinomycètes

II.2.1. Historique

Cohn a été le premier à séparer des actinobactéries à partir de prélèvements humains en 1875 **(Williams et coll., 1984)**. En 1943, Waksman a accompli l'exploit d'isoler une catégorie d'actinobactéries provenant de sols, de matière organique dégradée, d'eaux et presque tous les milieux favorables à la vie **(Theilleux, 1993)**. L'historien qui évoque les actinobactéries les divise en quatre catégories séparées. La première phase englobe la période de 1874 jusqu'aux années 1890 et se concentre sur l'exploration de leur rôle dans la maladie. La période allant de 1900 à 1919 a été caractérisée par la découverte et l'étude des actinobactéries du sol, grâce

aux travaux de Kraisky, Cohn, Waksman et Curtis. Ensuite, il y a la période de 1919 à 1940., Au cours de cette période, une meilleure connaissance des micro-organismes a été acquise grâce aux recherches de Waksman, Lieske et Krassilinkov. L'époque actuelle, qui court du milieu du 20ème siècle jusqu'à aujourd'hui, se distingue par la production d'antibiotiques par les actinobactéries. C'est en 1940, après la découverte de l'actinomycine, que ces bactéries ont suscité un vif intérêt pour de nombreuses études. Ainsi, ces bactéries se sont révélées être les principales sources de métabolites. **(Donadio et al., 2002).**

II.2.2. Définition des actinomycètes

D'après l'étymologie, le terme Actinomycète est dérivé des mots grecs « Aktis », qui désigne un rayon, et « mykes », qui se traduit par champignon. Par conséquent, il pourrait être interprété comme « Champignons à rayons » ou « Champignons rayonnants » **(Lamari, 2006)**. On a considéré les Actinomycètes comme une sorte de pont entre les bactéries et les champignons. Ils sont aujourd'hui reconnus comme des entités procaryotes **(Andriambololona, 2010)**.

Les actinomycètes, qui se présentent comme des bactéries Gram-positives **(Sanglier et Trujillo, 1997)**, possèdent une haute teneur en GC. Leur proportion de Chargaff (pourcentage de G+C) excède les 55% et se trouve généralement entre 60% et 75% **(Chun et al., 1997)**. Ces organismes sont capables de générer des hyphes ramifiés ou des filaments généralement non segmentés, ainsi que des spores asexuées.

D'après Eunice (1983), les actinomycètes génèrent des colonies rondes constituées d'hyphes (filaments) qui se propagent de façon centrifuge autour de la cellule germinative qui les a produites.

II.2.3. Morphologie

Selon **Gottlieb (1973)**, l'apparence des différents groupes d'actinomycètes peut varier d'un simple bacille diphtéroïde à des structures mycélicoïdes complexes. Il existe des organismes capables de produire un mycélium qui se développe soit sur, soit dans les environnements : on appelle cela le mycélium végétatif ou le substrat **(Michel et al., 1988)**, constitué de hyphes qui pénètrent le milieu ou qui se diffusent sur sa surface. Ce cours met en avant la capacité

des actinomycètes à dégrader les substances organiques insolubles grâce à leurs enzymes extracellulaires. (**Locci, 1976**).

Ces bactéries ont une morphologie qui rappelle étroitement celle des champignons. Les formes Cocci comme *Micrococcus*, les bâtonnets comme *Mycobacterium*, et les polymorphes comme *Nocardia* varient, allant des formes ramifiées qui se décomposent en cellules sphériques à celles qui forment un mycélium aérien avec de longues chaînes de spores (**Erikson, 1949**).

Les actinomycètes cultivés sur des substrats solides forment des colonies qui présentent diverses caractéristiques macroscopiques regroupables en trois catégories :

- Des colonies poussiéreuses où les hyphes aériens sont solidement ancrés dans le substrat.
- Des colonies pâteuses qui se détachent aisément des milieux solides.
- Des colonies dépourvues de mycélium de substrat composées d'hyphes aériens fixés au milieu par des crampons. de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

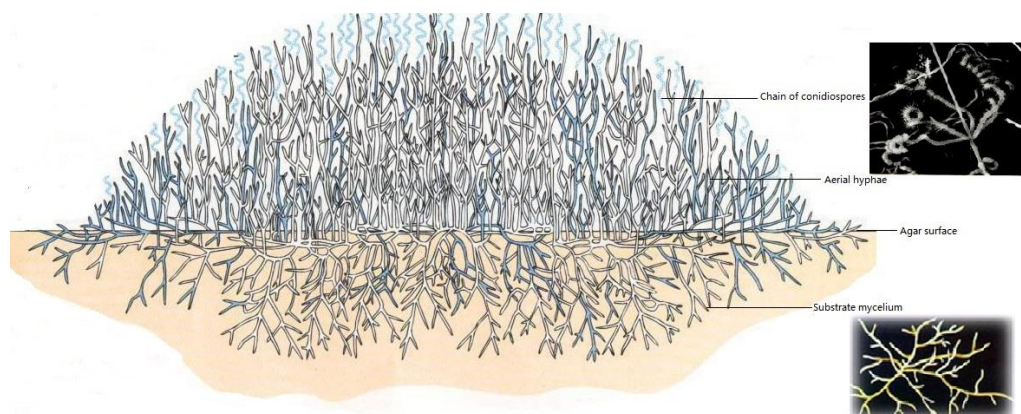


Figure 1 : Colonie d'actinomycètes en croissance sur de la gélose (aspect typique des actinomycètes, section transversale d'une colonie d'actinomycètes exhibant le mycélium du milieu de culture et le mycélium aérien avec des rangées de conidiospores).

II.2.3.1. Mycélium aérien

Quand le mycélium des substrats atteint une certaine phase de croissance, un réseau d'hyphes aériens se constitue, s'étendant dans l'air et conférant une apparence velue ou poudreuse à la colonie en développement. Les spores génératrices de hyphes reproducteurs sont produites par les mycéliums aériens. Le développement des hyphes aériens est influencé par les conditions nutritionnelles, les éléments environnementaux ou les propriétés spécifiques de l'espèce. Il peut parfois être complexe de différencier les hyphes aériens et les mycéliums présents dans le substrat. (Li *et al.*, 2016 ; Hazarika et Thakur, 2020).

II.2.3.2. Mycélium de substrat

Surnommé mycélium végétatif ou mycélium primaire, il résulte de la croissance d'une spore et présente une ramification souvent monopodiale ou dichotomique, avec une épaisseur approximative de 0,4 à 1,2 μm . Le mycélium de substrat a pour rôle essentiel d'absorber les nutriments nécessaires à la croissance des actinobactéries. Au niveau microscopique, les mycéliums de substrat présentent une structure mince et transparente, de phase sombre et plus ramifiée que les hyphes aériens dont la teinte peut varier entre le blanc, le jaune, l'orange, le rouge, le vert, le bleu, le violet, le brun, le noir et d'autres nuances. Certains hyphes sont capables de générer des pigments solubles dans l'eau ou les lipides. (Li *et al.*, 2016 ; Hazarika et Thakur, 2020).

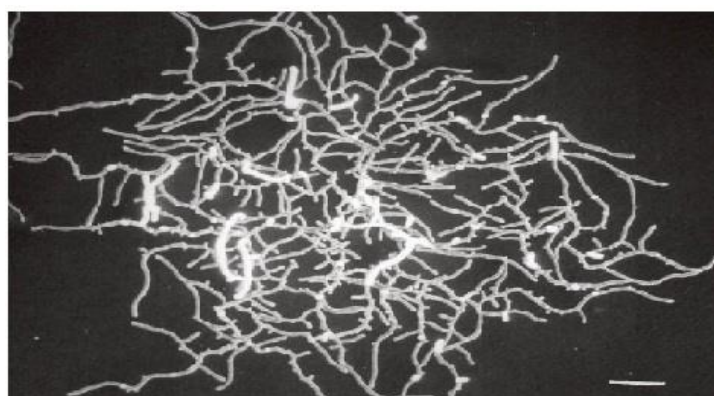


Figure 2 : La fragmentation du mycélium du substrat et la véritable ramification de *Nocardia asteroides* (Y. Mikami).

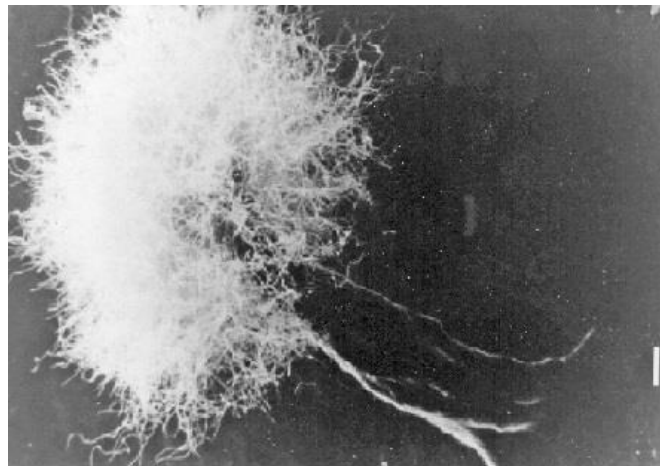


Figure 3 : *Actinosynnema mirum* IFO 14064T (par T. Hasegawa & T. Tamura). Les synnemata se forment sur milieu.

II.2.3.3. Spores

Le mycélium reproducteur des actinobactéries, qui conduit à la création de structures de spores variées, est principalement ce qui illustre leur diversité morphologique. Ces spores possèdent une épaisseur approximative de 1 à 2 μm et se distinguent par la forme et l'ornementation de leurs surfaces. Ces spores matures montrent une gamme de couleurs variations comme le gris, le blanc, le rose, le jaune, la lavande, le bleu ou le vert, entre autres. Actuellement, la forme des spores est généralement sphérique ou ovale (0,7-1,5 μm), globuleuse, ressemblant à un bâton, à un col, à une allantoïde ou en forme de rein. Ces spores peuvent aussi être mobiles ou stationnaires (**Hazarika et Thakur, 2020**).

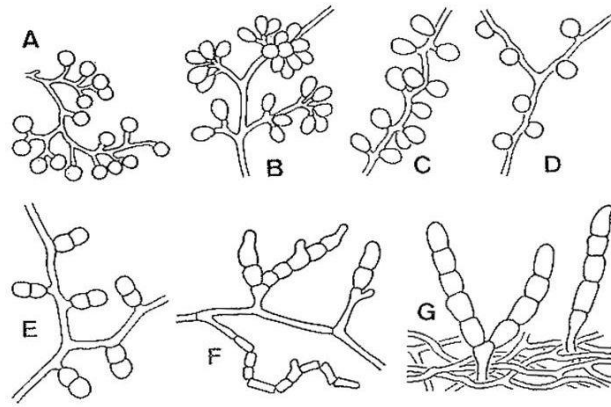


Figure 4 : Production de spores simples et de spores en chaînes courtes (**Miyadoh et al., 1997**)

Monosporous: (A); Micromonospora, (B); Thermomonospora, (C); Saccharomonospora, (D); Thermoactinomyces. Disporous : (E) ; Microbispora. Oligosporous : (F) ; Nocardia brevicatena ; (G) Catellatospora.

Dans une culture en milieu liquide « sans agitation », les hyphes qui se forment suite à la germination des spores se dirigent vers la surface pour se développer en contact avec l'air. Toutefois, dans un milieu liquide « agité », il n'y a pas de développement du mycélium aérien ni de spores. Initialement, les Streptomyces se développent sous forme de filaments autonomes qui, par processus de ramification et d'agrégation, aboutissent à la formation des pellets (**Aouar, 2012**).

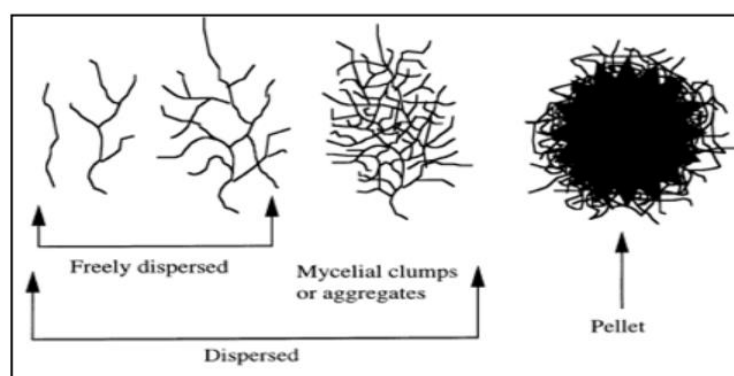


Figure 04 : Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide (**Almaris, 2007**).

La première forme, connue sous le terme de pellet, se réfère à un regroupement de plusieurs hyphes enchevêtrés, dont les diamètres peuvent fluctuer de plusieurs micromètres à plusieurs millimètres. La seconde forme est constituée d'hyphes indépendants dispersés (Cox et al., 1998). Durant la fermentation, l'aspect en pellets peut poser des désagréments en raison de la restriction de la diffusion des nutriments et de l'oxygène à travers les hyphes, entraînant ainsi une autolyse. Toutefois, lors de la fermentation à l'échelle industrielle, ce sont principalement les hyphes indépendants dispersés qui prédominent (dans 90% des cas) (Cox et al., 1998).

II.2.4. Ecologie des actinomycètes

Les actinomycètes constituent un groupe de bactéries extrêmement varié retrouvé dans une multitude d'habitats. Ces organismes se trouvent dans les sols terrestres, les écosystèmes marins, aquatiques et intertidaux, de même que dans des environnements extrêmes ou en symbiose avec divers organismes d'importance supérieure, tels que les éponges marines, les tuniciers, les fourmis et les termites. Ces micro-organismes, dotés de remarquables propriétés hydrolytiques, ont un rôle crucial dans la décomposition de composés organiques complexes et résistants. (Ngamcharungchit et al., 2023).

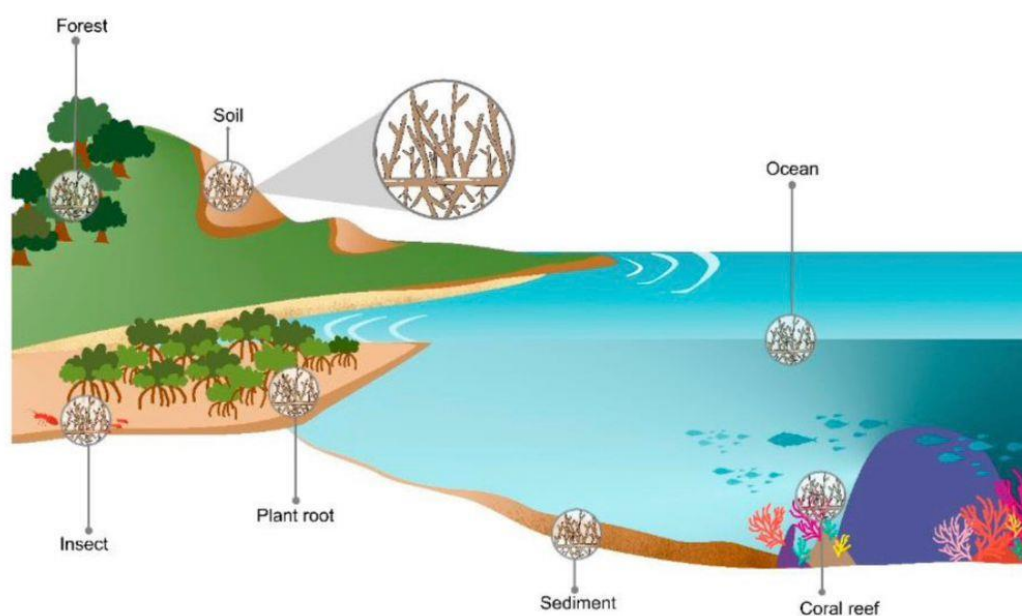


Figure 5 : Diversité des habitats des actinomycètes (Ngamcharungchit et al., 2023).

Les actinomycètes se retrouvent majoritairement dans une multitude de milieux écologiques, tels que les écosystèmes marins (plans d'eau, récifs coralliens, eau salée, sédiments) et terrestres (sols, végétation et insectes).

II.2.4.1. Sols

On trouve des actinomycètes dans presque tous les types de sol, à l'exception des lieux soumis à des conditions trop extrêmes. On les retrouve principalement dans la zone qui s'étend de la surface du sol à une profondeur allant jusqu'à 2 mètres, c'est-à-dire dans la rhizosphère. Le genre *Streptomyces* est celui qui prédomine le plus dans le sol, représentant à lui seul 95% des souches d'Actinomycètes isolées (**Nonomura, 1969**).

Selon **Goodfellow et Williams (1983)**, leur nombre approche le million par gramme. Waksman a réussi à prouver que la quantité d'actinomycètes décroît à mesure que la profondeur s'accroît (**Waksman, 1963**).

D'après cet auteur, bien que la couche en surface abrite au moins 80% de bactéries d'actinomycétales par rapport au total de microorganismes, la couche à une profondeur de 80 Cm n'en détient plus que 16 à 14%. Cela est corroboré par Iwai et Takashi 1992. Le tableau 1 illustre la répartition des différents types d'Actinomycètes retrouvés dans le sol.

Tableau 1: Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol (Andriam bololona, 2010)

Genres	Pourcentage (%)
<i>Streptomyces</i>	95,34
<i>Nocardia</i>	1,98
<i>Micromonospora</i>	1,40
<i>Thermomonospora</i>	0,22
<i>Actinoplanes</i>	0,20
<i>Microbispora</i>	0,18
<i>Mycobacterium</i>	0,14
<i>Streptosporangium</i>	0,10
<i>Actinomadura</i>	0,10
<i>Microspolyspora</i>	0,10
<i>Pseudonocardia</i>	0,06
<i>Microellobosporia</i>	0,04

II.2.4.2. Eaux douces et marines

Les Actinomycètes sont bien représentés dans ces milieux d'où l'on peut facilement isoler des souches de *Microspora* sp, d'*Actinoplanes* sp et de *Streptosporangium* sp. C'est essentiellement dans les sédiments. Ils sont absents dans les eaux minières très acides (pH<1) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique (Xu et al., 1996, Hwang et al., 2001).

II.2.4.3. L'Air

La concentration d'Actinomycètes dans l'atmosphère, sous forme de micro-organismes, est en corrélation avec la quantité de particules de poussière dispersées par le vent.

L'air représente, pour les actinomycètes, un vecteur de transport plutôt qu'un environnement (Gazenko et al., 1989 ; Reponen et al., 1989). Les actinomycètes se multiplient et diffusent

Leurs spores dans l'air, ce qui peut déclencher des troubles respiratoires lorsqu'elles sont inhalées (**Gazeno et al., 1985 ; Suntari et al., 2002**).

II.2.4.4. Le compost

Les actinomycètes, tels que les Thermoactinomyces et les Faenia, sont des microorganismes décomposeurs de la matière organique. Ils se manifestent de manière plus tardive que les bactéries et les champignons. Ils sont experts dans les phases finales du compostage, s'attaquant à des structures résistantes telles que la lignine (**Mincer et al., 2002**).

II.2.5. Milieux d'eau douce et environnements marins

Ces environnements contiennent une abondante population d'Actinomycètes, ce qui facilite l'isolement de souches de Microspora, d'Actinoplanes et de Streptosporangium. Ces derniers se retrouvent principalement dans les sédiments des rivières ou des lacs et participent activement à la décomposition de la matière végétale, conférant à l'eau son odeur de terre et son goût caractéristique.

Goodfellow et Williams ont réexaminé l'écologie des actinomycètes marins en 1983, montrant que ces derniers ne représentent qu'une fraction de la flore globale, leur nombre étant bien moindre par rapport à leur présence dans les milieux d'eau douce ou dans les sols.

II.2.6. Cycle de développement des actinomycètes

À l'instar des eucaryotes multicellulaires, les actinomycètes ont un cycle de vie complexe découlant de trois processus physiologiques essentiels : la croissance végétative, la différenciation cellulaire et ensuite, la mort. (**Tighidet, 2011**, ainsi que **Danilenko et al., 2005**), Leurs étapes de vie démarrent avec la germination des spores, qui requiert la présence D'ions calcium. La germination conduit ensuite à la formation d'un mycélium primaire ramifié (Figure 06) (**O'Gara et al., 2008**).

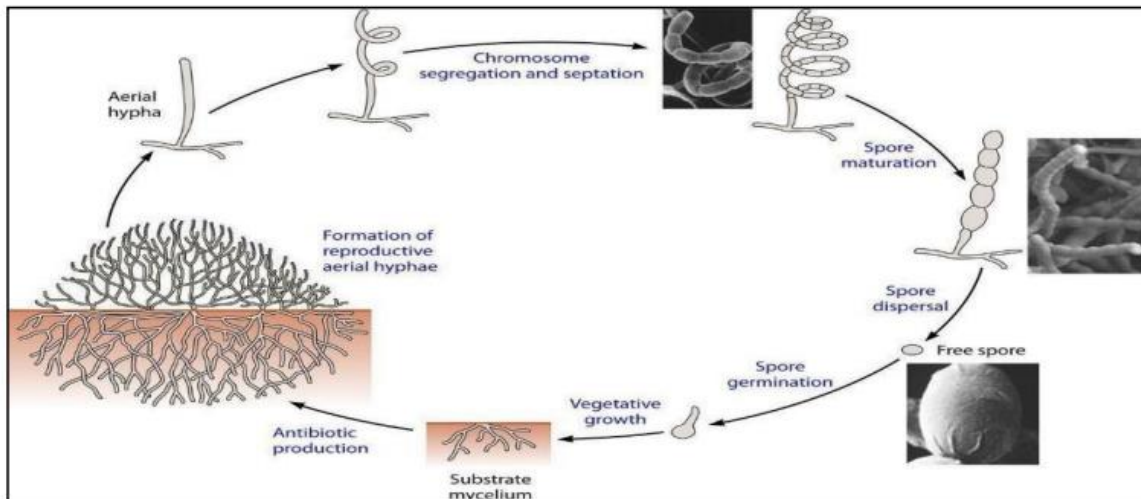


Figure 6 : Le cycle de développement d'un actinomycète sporulant (Barka *et al.*, 2016).

II.2.7. Physiologie

Sur le plan physiologique, les actinomycètes aérobies sont les plus courantes, tandis que les types anaérobies se retrouvent à l'état primitif chez les animaux et les êtres humains. Les actinomycètes ont une préférence pour un pH neutre ou légèrement alcalin, et la plupart d'entre eux sont mésophiles, tandis que d'autres sont thermophiles, capables de supporter des températures jusqu'à près de 50°C et même jusqu'à 60°C (Boucheffa, 2011).

Avec l'évolution de la biologie moléculaire et l'élaboration d'amorces ciblant la séquence du gène ARNr 16S des actinomycètes, l'emploi de la microscopie optique et des analyses biochimiques se révèle de plus en plus secondaire en raison de leur consommation de temps et de ressources. Toutefois, ces techniques demeurent essentielles pour assurer une identification précise des actinomycètes (Wang *et al.*, 1999). Cela a facilité et accéléré de manière significative l'identification précise de ces bactéries au niveau du genre, puisque l'on peut désormais déterminer le genre en seulement quelques heures (Jeffrey, 2000).

II.2.8. Milieux de culture des actinomycètes

Un milieu de culture doit être formulé de manière à promouvoir la prolifération bactérienne, en satisfaisant les exigences nutritives des bactéries. Pour isoler les actinomycètes, les environnements de culture les plus adaptés incluent généralement de l'amidon, du glycérol ou de la chitine comme substrat carboné, et de la caséine, de l'asparagine ou de l'arginine comme source d'azote organique (**Burman, 1973 ; Williams et al., 1993 ; Hilali et al., 2002**). Pour isoler les Actinomycètes, des antibiotiques sont incorporés dans les milieux sélectifs pour empêcher la multiplication de certaines bactéries indésirables.

On utilise fréquemment les antibiotiques suivants : la nystatine, le cycloheximide (Actidione), la pimaricine et l'amphotéricine B pour lutter contre les champignons ; tandis que la polymyxine, la novobiocine, l'acide nalidixique et la colistine sont employées pour éradiquer les bactéries Gram négatives (**Nonomura et Hayakawa, 1988 ; Larpent et Larpent, 1990 ; Takizawa et al., 1993 ; Kurtböke et Wildman, 1998**). Habituellement, l'incubation a lieu à une température de 28 ou 30 °C, ce qui favorise la croissance des actinomycètes (**Burman, 1973**).

II.2.9. Classification des actinomycètes

Les différents taxons des actinomycètes sont présentés dans le Tableau 02.

Tableau 2: Les différents taxons des actinomycètes.

Groupe	Les caractéristiques	Genres
Actinomycètes	Aérobie, facultativement anaérobie ou	<i>Actinomyces</i> , <i>Agromyces</i> ,
	anaérobie ; se présentent sous forme de bâtonnets ou de cocci ou forment des filaments ramifiés qui se fragmentent ; pas de mycélium aérien; composition de la paroi variable mais comprend les chémotypes I, II, V, VI, VII et VIII.	<i>Arachnia</i> , <i>Arcanobacterium</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Bactérie</i> , <i>Brevi</i> , <i>Cellulomonas</i> , <i>Curtobacterium</i> , <i>Microbactérie</i> .
Actinoplanètes	Sporoactinomycètes aérobies ; les spores non motiles peuvent être enfermées dans des vésicules; pas de mycélium aérien; mur chémotype II; les états hydrolytiques de l'organisme entier contiennent de l'arabinose et du xylose	<i>Actinoplanes</i> , <i>Amorphosporangium</i> , <i>Ampularielle</i> , <i>Dactylosporange</i> , <i>Micromonospora</i> .
Maduromycètes	Sporoactinomycètes aérobies ; des chaînes simples ou courtes de spores peuvent être portées sur le mycélium aérien ou formées dans des vésicules; spores mobiles ou non mobiles ; mur chémotype III; les hydrolysats d'organismes entiers contiennent du madurose (3-0-méthyl-D-galactose)	<i>Actinomadura</i> , <i>Microbispora</i> , <i>Microtétraspore</i> , <i>Planobispora</i> , <i>Planomonospora</i> , <i>Spirillospora</i> , <i>Streptosporange</i>
Micropolyspora	Sporoactinomycètes aérobies ; des chaînes simples ou courtes de spores peuvent être présentes sur le substrat et le mycélium aérien; mur chémotype IV; ne contiennent pas d'acides mycoliques.	<i>Actinopolyspora</i> , <i>Micropoly</i> spores, <i>Pseudonocardie</i> , <i>Saccharomonospora</i> , <i>Saccharopolyspora</i> .
Multiloculaire	Aérobie à anaérobie facultatif ; le mycélium se divise dans tous les plans ; pas d'hyphes aériens ; mur chémotype III.	<i>Dermatophile</i> , <i>Frankie</i> , <i>Géodermatophilus</i> .
Nocardioforme	Aérobie, peut être acido-alcoolique; se présentent sous forme de bâtonnets, de cocci et de filaments ramifiés ou forment un substrat et un mycélium aérien qui se fragmentent ; mur chémotype IV; contiennent des acides mycoliques	<i>Caseobacter</i> , <i>Corynebactérie</i> , <i>Mycobactérie</i> , <i>Nocardie</i> , <i>Rhodococcus</i> .
Streptomycètes	Sporoactinomycètes aérobies ; forment un substrat ramifié ex-tensivement et un mycélium aérien ; spores portées par l'antenne mycélium, occasionnellement sur le mycélium du substrat; mur chémotype I	<i>Intrasporangium</i> , <i>Kineospora</i> , <i>Kitasatoa</i> , <i>Nocardioïdes</i> , <i>Sporichthya</i> , <i>Streptomyces</i> .
Thermo-monospores	Sporoactinomycètes aérobies ; forment un substrat largement ramifié et un mycélium aérien, qui peuvent tous deux porter des spores simples ou des chaînes de spores ; spores mobiles ou non mobiles ; mur chémotype III.	<i>Actinosynnème</i> , <i>Nocardiosis</i> , <i>Streptoalloteichus</i> , <i>Thermomonospora</i> .

II.2.10. Taxonomie et identification des actinomycètes

La classification des actinomycètes repose sur divers critères : morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires. L'identification des espèces et des genres demeure un sujet épineux et sujet à controverse en raison de l'utilisation de différents critères.

Initialement, seuls les critères morphologiques macro et micro, correspondant à :

- la présence, la quantité et la localisation des hyphes du mycélium dans le substrat, - le mycélium qui se développe dans l'air,
- la quantité de spores, leur mouvement, leur forme, leur emplacement sur les hyphes, - l'apparition de sporanges

Ces standards ont rendu possible la distinction entre les divers genres (**Waksman et Henrici, 1943**).

Ensuite, l'utilisation de la chimiotaxonomie basée sur la composition cellulaire en acides aminés, sucres, acides mycoliques, phospholipides des membranes et ménaquinones des membranes s'est **imposée (Collins et Jones, 1981)**. La chimiotaxonomie, combinée aux critères morphologiques, a été d'une grande aide pour différencier de nombreux genres, comme par exemple, *Streptomyces* et *Nocardia* (**Becker et al., 1965**).

L'identification des espèces des genres d'actinomycètes requiert non seulement l'analyse de caractéristiques morphologiques et chimiques, mais également de paramètres physiologiques (comme la température et le pH optimaux, ainsi que l'exploitation de sources de carbone et d'azote) et biochimiques (tels que la décomposition de certains substrats comme la gélatine, l'amidon, la caséine, les nitrates et les lipases).

Durant les années 70, une multitude de tests physiologiques, associés à l'informatique, ont été mis en œuvre pour distinguer les espèces au sein de chaque genre.

C'est ainsi que la taxonomie numérique a vu le jour grâce à la production de dendrogrammes qui ont grandement clarifié la composition en espèces des genres *Streptomyces* (**Williams et al., 1983**), *Actinomadura* (**Athalye et al., 1985**), *Nocardiopsis* (**Grund et Kroppenstedt, 1990**) et *Actinophanes* (**Goodfellow et al., 1990**).

Dans le volume 4 du « Bergey's manual of systématique bacteriology » publié en 1989, l'intégralité du tome a été dédiée aux actinomycètes. De ce fait, ces bactéries sont classées sous le règne des Procaryotes, la division Firmicutes, et la classe Thalobacteria qui englobe l'ordre des Actinomycetales. Plusieurs chercheurs ont délaissé les méthodes d'identification traditionnelles au profit des techniques moléculaires.

On fait souvent appel à ces méthodes moléculaires pour leur rapidité et leur **efficacité** (**Kim et al., 1999 ; Labeda et Kroppenstedt, 2000**). Effectivement, l'utilisation de techniques d'analyse moléculaire et génétique, telles que l'hybridation ADN-ADN et le séquençage de l'ARN ribosomique 16S, a permis d'établir toute la phylogénie des actinomycètes (**Kinoshita et al., 1999**). Bien que la technique d'hybridation ADN-ADN puisse être utile pour identifier les espèces du genre *Streptomyces*, elle ne devrait pas être utilisée isolément, compte tenu de la nature instable du génome de ces bactéries. Il est recommandé de l'associer à d'autres méthodes (**Healy et Lambert, 1991 ; Doering et al., 1992 ; Labeda et Lyon, 1992 ; Kim et al., 1999 ; Boucek et al., 2000**).

II.2.11. Pouvoir métabolique des actinomycètes

II.2.11.1. Métabolisme général des actinomycètes

L'évolution morphologique s'accompagne d'une distinction métabolique.

Deux des caractéristiques les plus remarquables des actinomycètes sont leur faculté à croître sur une variété de substrats et leur compétence à produire une multitude de métabolites **bioactifs** (**Theilleux 1993, Zhang et Zeng 2007**). La taille du génome de la famille des Actinomycetaceae, qui contient des centaines de facteurs de transcription régulant l'expression des gènes, est la raison de leur diversité métabolique, leur permettant de satisfaire des exigences spécifiques (**Singh et al., 2006**).

Le métabolisme des Actinomycètes se divise en deux volets : le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire (**Strub 2008**).

II.2.11.2. Le métabolisme primaire

Les réactions cataboliques et anaboliques qui contribuent à la formation de biomasse sont regroupées sous le terme de métabolisme primaire. Ces réactions génèrent de l'énergie et un pouvoir réducteur qui sont utilisés pour créer et assembler les monomères (comme les acides aminés) en macromolécules (comme les protéines). **(Hodgson, 2000).**

II.2.11.3. Le métabolisme secondaire

En général, le métabolisme secondaire est défini comme l'ensemble des mécanismes de synthèse de composés qui par la suite ne semblent pas jouer un rôle évident dans le métabolisme cellulaire **(Colombié 2005)**. Le métabolisme secondaire comprend la synthèse d'antibiotiques et de substances favorisant un meilleur accès aux nutriments **(Wang et al., 1999, Hopwood et Challis 2003)**. Les actinomycètes, grâce à leur diversité métabolique qui leur permet d'exploiter un large éventail de sources de carbone et d'énergie, ainsi qu'à leur capacité à se développer dans des conditions très variées, sont en mesure d'habiter différents types d'écosystèmes **(De Boer et al., 1998)**.

II.2.12. Les substances bioactives produite par les actinomycètes

Actuellement, 65 % des antibiotiques employés dans la médecine proviennent des actinomycètes, dont les membres du genre *Streptomyces* ont produit plus de 10 000 composés bioactifs. Malgré des décennies de recherche dans le domaine de la bio prospection, le genre *Streptomyces* demeure sous le feu des projecteurs pour l'identification de nouveaux antibiotiques **(Lee et al., 2018)**.

II.2.12.1. La production des antibiotiques

Les actinomycètes occupent une position essentielle dans l'industrie pharmaceutique. Ce sont les microorganismes les plus féconds en matière de production d'antibiotiques. On considère

que près de deux tiers des environ six mille antibiotiques identifiés à ce jour proviennent des actinomycètes qui sont producteurs de substances anti-tumorales telles que l'actinomycine, L'adriamycine, la rebeccamycine, la mitomycine et la dannomycine. Selon Leclere et al. (1986), environ 70% des antibiotiques connus à ce jour sont produits par les microorganismes, dont près de 60% proviennent des actinomycètes. **(Leclere et al., 1986).**

II.2.12.2. *Production des enzymes*

Les enzymes sont considérées comme les produits industriels les plus significatifs dérivés des Actinomycètes après les antibiotiques **(Theilleux, 1993)**. Effectivement, ils sont réputés pour produire une variété d'enzymes industrielles comme les protéases, les chitinases **(Tanaka, 1990 et Vonothini, 2008)**, les amylases, les cellulases, les xylanases et les lipases **(Park, 2002)**. Certaines espèces de Streptomyces sont capables de produire de l'amylase, de la cellulase et de l'hémicellulase. Certains ont la faculté de décomposer la lignine **(Jariwala, 2013)**.

Certaines souches actinomycétales sont également capables de produire des lipases, enzymes qui catalysent l'hydrolyse des triglycérides en diglycérides, en monoglycérides, glycérol et acides gras **(Sommer, 1997)**. Dans l'industrie alimentaire, la fermentation, ainsi que dans le secteur du textile et du papier, elles jouent également un rôle crucial **(Mukesh, 2014)**.

II.2.12.2.1. *Les pectinases*

Plusieurs espèces de Streptomyces, dont *S. lydicus*, sont responsables de la production de pectinases, comme l'ont noté Jacob et al. En 2008. Ces enzymes sont employées dans le secteur de l'alimentation pour l'extraction et la clarification des vins et des jus, ainsi que dans l'industrie du textile pour la production du lin et du chanvre **(Janaki et al., 2016)**. La polygalacturonase, l'une des pectinases les plus essentielles, est largement employée dans divers secteurs industriels.

II.2.12.2.2. *L-asparaginase*

Les actinobactéries constituent une source de choix pour la production de L-asparaginase (L-asparagine-amino-hydrolase). Selon **(Janaki et al., 2016)**, une série d'actinobactéries du sol,

Notamment *Streptomyces griseus*, *S. karnatakensis*, *S. albidoflavus* et *Nocardia* sp., est capable de produire l'enzyme l'asparaginase. Selon Mostafa et Salama (1979), les L-asparaginases microbiennes ont été employées comme traitements dans la lutte contre certaines formes de cancer chez l'homme, en particulier pour la leucémie lymphoblastique aiguë.

II.2.12.2.3. Les gélatinases

D'après (Dela Cruz et al., 2016), la gélatinase, une enzyme extracellulaire produite par certaines bactéries, a la capacité de réaliser l'hydrolyse de la gélatine. Cette protéine est issue du collagène, principal constituant des tissus conjonctifs chez les **vertébrés (Dela Cruz et al., 2016)**.

La gélatinase, une enzyme importante qui attire beaucoup d'attention comme cible de traitement, est mise en lien avec la destruction des tissus conjonctifs mentionnée en relation avec le processus de métastase tumorale (Sathya et Ushadevi, 2014).

On trouve aussi son utilité dans le secteur de l'alimentation, notamment pour clarifier les boissons, produire des articles gélifiés et traiter les produits carnés. Elle est également impliquée dans la bioremédiation des déchets gélatineux issus de diverses industries, ce qui contribue à la diminution de la pollution (Pathade et al., 2024).

II.2.12.2.4. Protéases

La protéase, qui joue un rôle crucial dans les secteurs industriels tels que la pharmacie, le cuir, la blanchisserie, l'alimentation et le traitement des déchets (Vonothini et al., 2008), est produite par des organismes tels que *Thermoactinomyces* sp., *Nocardiopsis* sp., *Streptomyces pactum*, *Streptomyces thermoviolaceus* et *Streptomyces* sp. Chitinases Les chitinases employées pour se défendre contre les champignons phytopathogènes et pour le traitement des résidus de crustacés. *Streptomyces thermoviolaceus* et *Nocardiopsis prasina* sont généralement les producteurs de celles-ci (Tsujibo et al., 2003).

II.2.12.2.5. Amylases

L'industrie alimentaire utilise les amylases, produites par *Streptomyces erumpens* et *Thermobifida fusca*, comme agents de conservation dans la fabrication de gâteaux, de jus de

Fruits et de sirops à base d'amidon, ainsi que dans le cadre de l'élimination des contaminants environnementaux (la bioremédiation) (**Mobini-Dehkorde et Javan, 2012**).

II.2.12.2.6. Xylanases

Les xylanases sont employées dans la biotransformation des tissus et la production d'aliments pour bétail (par exemple, des microorganismes utilisés : *Streptomyces* sp. Et *Actinomadura* sp.) (**Soumaya, H. 2014**).

II.2.12.2.7. Lipases

On utilise fréquemment les lipases dans les domaines de la boulangerie, biscuiterie, chocolaterie et dans la décontamination des sols pollués par des hydrocarbures, à l'image de celles générées par *Streptomyces exfoliates* et *Nocardiopsis alba*.

II.2.12.2.8. Cellulases

On utilise les cellulases dans l'industrie textile, l'industrie du papier et des pâtes, ainsi que dans la fabrication de vins. Ces synthèses sont réalisées par *Streptomyces ruber* et *Thermobifida halotolerans* (**El-Sersy, 2010 ; Mukhtar, 2017**).

II.2.12.3. Les vitamines

L'ajout de sels de cobalt dans les milieux semble favoriser la production de vitamines par toutes les actinobactéries. Étant donné que le cobalt possède une forte efficacité bactéricide, il convient d'incorporer ce précurseur de manière prudente. Il a également été prouvé que les actinobactéries produisent d'autres vitamines hydrosolubles, comme la thiamine et le dérivé de l'acide ptéroïdal-glutamique qui favorise la prolifération de certaines souches de *Leuconostoc citrovorum* et de la coenzyme (**Anandan, 2016**).

II.2.12.4. Les pigments

Les actinobactéries se distinguent par la production de différents pigments sur des milieux naturels ou artificiels, pigmentation qui est considérée comme l'une des caractéristiques culturelles significatives dans la caractérisation des organismes. Tous les modifications phénotypiques induites par des facteurs environnementaux favoriseront les actinobactéries étant donné que, Ils présentent des colonies morphologiquement distinctes et génèrent divers pigments de filaments communément appelés hyphes aériens (**Goodfellow et al., 2012**).

On observe généralement ces pigments dans divers ton de bleu, violet, rouge, rose, jaune, vert, brun et noir.

II.2.12.5. Les herbicides biologiques

Une autre utilisation intéressante des actinobactéries consiste en l'emploi de leurs métabolites secondaires en tant qu'herbicides. *Streptomyces saganonensis* génère des herbicides et des herbimycines capables de maîtriser les herbes mauvaises monocotylédones et dicotylédones.

L'Anisomycine, produite par *Streptomyces* sp., est capable de bloquer la capacité des plantes à produire de la chlorophylle. Pareillement, le bialaphos, un dérivé du *Streptomyces viridochromogenes*, est couramment employé dans la lutte contre les mauvaises herbes en entravant la production de glutamine (**Anandan et al., 2016**).

II.2.12.6. Les composés antioxydants

Les actinobactéries sont à l'origine de nombreux composés bioactifs distinctifs, tels que les molécules antioxydantes naturelles (**Hassan et al., 2017**).

Les substances anti-oxydantes sont des composés qui peuvent retarder ou empêcher le processus d'oxydation (**Dekkers et al., 1996**). Les actinomycètes marins sont potentiellement des producteurs de nouveaux métabolites bioactifs et sont actuellement perçus comme une source majeure d'énergie (**Mohankumer et al., 2012**).

Les actinomycètes extraits des sédiments marins pourraient être une source potentielle d'antioxydants dotés de qualités anticancéreuses (Shin et al., 2008 ; Arumugam et al., 2010 ; Nagaseshu et al., 2016).

II.2.13. Importance des actinomycètes

II.2.13.1. Importance en biotechnologie

En raison de leur diversité biochimique, de leur variété écologique et de leur remarquable aptitude à produire des métabolites secondaires, les actinomycètes sont considérés comme des producteurs potentiels de nombreux composés précieux pour l'industrie pharmaceutique et alimentaire (**Abbas, 2006**). Les souches qui appartiennent au genre *Streptomyces* représentent la moitié de l'ensemble des actinomycètes telluriques, et 75 à 80% des antibiotiques sont issus de ce genre (**Mellouli et al., 2003**).

Les actinomycètes gagnent en importance, car ils représentent la source principale de production d'antibiotiques et d'autres métabolites secondaires bioactifs (**Valan arasu et al., 2009**), ce qui les rend attrayants pour l'industrie pharmaceutique. Par conséquent, une multitude de métabolites sont produits, parmi lesquels on peut citer : les antibiotiques, les enzymes comme les enzymes alcalines (**Li et coll, 2005**), les transglutaminases. Cela concerne les xylanases et cellulases utilisées pour le traitement des sous-produits (**Rawashdeh et autres, 2005**), les inhibiteurs d'enzymes, les vitamines, les agents immunomodulateurs (**Badji, 2006**), ainsi que les herbicides, les pesticides et les antiparasitaires (**Oskay et al., 2004**).

Les actinomycètes sont de remarquables générateurs d'antibiotiques, en particulier les *Streptomyces* qui sont extrêmement prolifiques (**Oskay et al., 2004**). Par conséquent, 80% des antibiotiques sur le marché proviennent de ce type (**Thakur et al., 2007**), notamment : la streptomycine, la novobiocine, la nystatine, entre autres.

II.2.13.2. Importance dans le domaine agronomique

Les actinomycètes jouent un rôle écologique crucial dans les écosystèmes en s'occupant de la dégradation des matières organiques. Les actinomycètes, qui abondent dans le sol, se regroupent avec d'autres bactéries et champignons pour remplir la fonction de purificateurs de l'environnement et de créateurs d'humus. Ils se multiplient particulièrement lorsque l'activité des bactéries courantes est en phase terminale, on pourrait dire qu'ils concluent leur

Tâche. Selon **(Mariat et Sebald, 1990)** ils participent de manière significative à la fertilisation des sols.

II.2.13.3. Rôle des actinomycètes dans la biodégradation de la matière organique

Le concept de biodégradabilité La biodégradation est le processus par lequel des microorganismes vivants décomposent des substrats organiques tels que les hydrocarbures, les solvants, les composés organochlorés, etc. Les microbes métabolisent les polluants et les convertissent en composés plus simples et non nocifs.

On différencie la biodégradation en présence d'oxygène (aérobiose) de la biodégradation en l'absence d'oxygène (anaérobiose) selon les microorganismes responsables de la dégradation et les substances résultant de ce processus.

Elles servent aussi à la reforestation, à la réhabilitation des sols détériorés ou contaminés, et à la lutte contre la désertification **(Gherbi et al., 2011 ; Maity et Pawlowski, 2021)**. Leurs branches dotées de feuilles dentées sont exploitées comme aliment pour le bétail et comme substance organique pour l'enrichissement des sols, alors que leur bois sert à produire du combustible, du charbon ou de la matière première pour le bâtiment **(Bensaid, 1995)**.

De plus, elles offrent de la nourriture, un habitat, des refuges et des ressources pour la nidification à divers insectes, oiseaux et petits mammifères, contribuant par conséquent à la préservation et à l'expansion de la biodiversité dans les zones où elles sont **installées (Tarai et Doumandji, 2009)**.

II.2.14. Principales Espèces et Genres d'Actinomycètes

II.2.14.1. Genre Streptomyces

Le terme Streptomyces, dérivé du grec « Streptos » qui signifie courbé ou tordu et « Myces » qui signifie moisissure, fait référence à des bactéries avec une forte teneur en G+C (allant de

69 à 78%) et qui créent des colonies présentant une morphologie complexe, selon **Hodgson (2000)**.

Le genre *Streptomyces*, qui fait partie du groupe des Actinomycètes et est plus précisément intégré au sous-groupe des Streptomycètes, a été classifié pendant une longue période dans l'Ordre des Actinomycetales, conformément au Manuel de Bergey de 2004 (**Garrity et al., 2004**).

Toutefois, l'édition récente du Manuel de Bergey de 2012 (**Goodfellow et al., 2012**), qui présente une restructuration de la classification, a divisé l'Ordre des Actinomycetales en plusieurs nouveaux Ordres. Le genre *Streptomyces* est désormais associé à l'Ordre des Streptomycetales ainsi qu'à la Famille des Streptomycétacées.

L'approche principale pour classer et identifier les différentes espèces de *Streptomyces* repose sur la taxonomie numérique, utilisant des caractéristiques phénotypiques. On privilégie cette approche en raison de la variabilité génétique associée à ces micro-organismes, ce qui rend difficile l'établissement d'un système de classification basé sur leur génome et sa structure.

Le genre *Streptomyces* regroupe la majorité écrasante de la famille des Streptomycetaceae, représentant approximativement 95,34 % de ses membres.

Ces bactéries en forme de fil qui se trouvent dans le sol possèdent des hyphes de taille variable, sont strictement aérobies et gram positif, avec un diamètre allant de 0,5 à 2,0 µm.

Même si la plupart des espèces ne sont pas nuisibles, quelques-unes peuvent engendrer des maladies chez les humains et les animaux, tandis que d'autres sont responsables de maladies des plantes. (**Guyonvarch et al., 2006**)

Streptomyces spp. De nombreux *Streptomyces* sont des acteurs dans la biodégradation et l'utilisation de divers composés organophosphorés. Certaines variétés ont la capacité de décomposer le glyphosate par la rupture de la liaison C-P, entraînant la production d'une autre molécule connue sous le nom de « sarcosine » (**Obojska et al., 1999**). Certaines espèces de *Streptomyces* ont la faculté de décomposer l'alachlore, le diuron, le lindane, le chlordane, le méthoxychlore et la cyperméthine. (**Giri et al., 2005**).

II.2.14.2. Micromonospora

Le phylum des Actinobactéries héberge le genre *Micromonospora*. Habituellement, les colonies sur des milieux gélosés commencent par être d'une teinte orange clair, puis évoluent

vers une couleur orange, rouge, marron ou violet au fur et à mesure de la production de spores. *Micromonospora* est le genre par excellence de la famille des Micromonosporaceae et comprend des micro-organismes qui ont un potentiel pour des applications en biotechnologie. On a extrait des micromonospores de différents environnements, y compris le sol, l'eau et les dépôts marins. Des souches de ce type ont aussi été isolées dans différents tissus végétaux, y compris des nodules de fixation de l'azote (Trujillo et al., 2010).

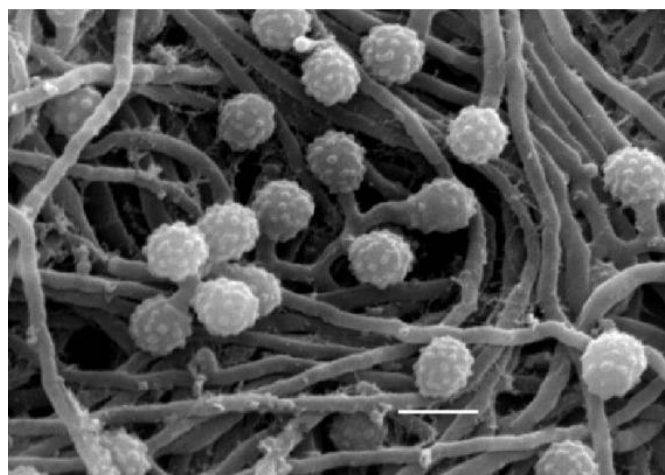


Figure 7 : Micrographie électronique à balayage des hyphes et les spores de *Micromonospora*.

Micromonospora species Les actinomycètes appartenant au genre *Micromonospora* ont la capacité de décomposer l'alachlore, le diuron, le lindane, le chlordane, le méthoxychlore, et la cyperméthine (Giri et al., 2005), tout comme le chlorpyrifos et le méthoxychlor (Kalia et Gozal, 2011). En outre, la multiplication de la *Micromonospora* a été identifiée comme étant liée à l'usage de l'insecticide Endosulfan β (Elsaid et al., 2009).

II.2.14.3. Le genre *Rhodococcus*

Les espèces appartenant au genre *Rhodococcus* sont des organismes aérobies gram-positifs, chimiotrophes non mobiles, dotés d'un métabolisme oxydatif qui, à l'exception de quelques-uns, ont la capacité d'exploiter différentes sources de carbone (Ludwig et al., 2012 ; Sangal et al., 2019). Wilhelm Zopf a été le premier à suggérer l'établissement du genre

Rhodococcus, qui a ensuite été admis dans la Liste officielle des noms bactériens (**Ludwig et al., 2012 ; Sangal et al., 2019 ; Skerman et al., 1989**).

Rhodococcus sp. La gamme des capacités de biodégradation des Rhodococcus est extensive ; nous en présentons ici quelques illustrations. Selon Crawford In Pelmont en 2005, les Rhodococcus se distinguent par la variété de leurs actions de dépollution vis-à-vis des hydrocarbures, des pesticides, des herbicides et d'autres substances polluantes naturelles. Selon (**Parekh et al., 1994**), la souche Rhodococcus sp. 0246b a la capacité d'exploiter l'herbicide métamitron en tant que source exclusive de carbone en effectuant une minéralisation partielle du cycle phényle. Le Bromoxynil est également dégradé par la bactérie Rhodococcus rhodocrous (**Topp et al., 1992**).

II.2.14.4. Les actinobactéries du genre Frankia

Il s'agit de bactéries filamenteuses Gram positives qui ont la capacité de fixer l'azote moléculaire, que ce soit en libre ou en symbiose avec leur plante hôte ^{1,2}. Ces microorganismes forment une symbiose fixant l'azote avec une vaste gamme d'espèces végétales, désignées sous le nom général de plantes actinorhiziennes, regroupant 8 familles de dicotylédons, 24 genres et plus de 220 espèces. Ce partenariat symbiotique, connu sous le nom de symbiose actinorhizienne, conduit à la création d'un nœud racinaire. Les bactéries habitent à l'intérieur des cellules nodulaires des plantes, facilitant ainsi les échanges nourriciers entre les deux alliés. Les bactéries transforment l'azote de l'atmosphère en ammoniac, ce qui est ensuite mis à la disposition de la plante hôte. En contrepartie, cette plante lui fournit des composés carbonés dérivés de la photosynthèse. Cette symbiose permet aux plantes actinorhiziennes de dominer des sols dégradés et pauvres et de s'épanouir dans des environnements inhospitaliers et ardu². Les espèces actinorhiziennes sont des pionnières qui favorisent la succession d'autres communautés de végétation en offrant de la matière organique, un élément crucial pour le dynamisme et la diversité biologique des écosystèmes terrestres. Nous assistons à une recrudescence de l'intérêt pour la symbiose actinorhizienne, grâce à son apport notable dans l'enrichissement des sols à l'échelle mondiale en azote combiné, dépassant les 15%.

Selon des recherches récentes en phylogénie moléculaire, on distingue quatre groupes principaux (4 à 6) de souches de Frankia, qui illustrent leur diversité d'hôtes végétaux. Le premier groupe comprend des souches de Frankia qui ont une association avec des plantes

Hôtes appartenant aux familles des Casuarinacées, des Bétulacées et des Myricacées, alors que les éléments du second groupe infectent les Rosacées, les Coriariacées, les Datisacées et le genre *Ceanothus* (Rhamnacées). Le groupe 3 est celui qui a la plus grande permissivité et il infecte les familles des Elaeagnacées, des Rhamnacées, des Myricacées, le genre *Gymnostoma*, ainsi qu'occasionnellement le genre *Alnus*. Le groupe 4 inclut des souches atypiques de *Frankia* qui ne peuvent pas réinfecter les plantes hôtes actinorhiziennes ni créer des nodules racinaires non axéniques et inefficaces. Le groupe 1 se divise en sous-clades.

Le sous-clade Ic englobe des souches se restreignant à *Casuarina*, *Allocasuarina* et aux Myricacées

Chapitre 2. Les métaux lourds

Le terme « métaux lourds » se réfère aux éléments métalliques naturels, qu'ils soient métaux ou, dans certains cas, métalloïdes, caractérisés par une densité élevée supérieure à 5 g/cm³. **(Adriano, 2001).**

37 | Page

II.3.2. Classification des métaux lourds

On classifie ces deux catégories en fonction de leurs impacts physiologiques et toxiques : les métaux essentiels (oligo-éléments) et les métaux non essentiels (toxiques).

Les éléments métalliques essentiels ou oligo-éléments sont des composants cruciaux, présents en quantités minimales dans les tissus biologiques, pour plusieurs mécanismes cellulaires. **(Loué, 1993)**. Les métaux lourds tels que le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le zinc (Zn) et le fer (Fe) peuvent devenir toxiques lorsque leur concentration excède une certaine limite. Par exemple, le zinc (Zn), à un niveau de concentration millimolaire, est un oligo-élément qui participe à diverses réactions enzymatiques (déshydrogénases, protéinase, peptidase) et joue un rôle crucial dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides. **(Kabata-Pendias et Pendias, 2001)**.

Même à des concentrations faibles, les métaux toxiques ont un effet polluant et toxique sur les êtres vivants. On ne connaît aucun effet positif pour la cellule lié à ces derniers. Cela concerne le plomb (Pb), le mercure (Hg), et le cadmium (Cd). **(Loué, 1993)**.

II.3.3. . Propriétés physico-chimiques

La capacité des métaux lourds à se dissoudre est déterminée par l'élément spécifique en question, les propriétés de la phase aqueuse (pH, potentiel redox, concentration de ligands) et les phases solides présentes à proximité, qui influencent la constitution de cette phase. L'acidité augmente considérablement la solubilité dans l'eau de nombreux métaux. On peut rencontrer des valeurs de pH inférieures à 6, qui sont rares dans les sols naturels, lorsque d'autres contaminants sont présents.

On considère que les métaux lourds sont non volatils et possèdent une stabilité indéfinie. Leur stabilité en solution correspond au temps qu'il faut avant qu'ils n'entrent en contact avec un piège chimique (phase précipitée) qui les immobilise. **(Lemière et al., 2001)**.

II.3.4. Source des métaux lourds

II.3.4.1. Sources naturelles

Parmi les facteurs naturels significatifs, on peut mentionner l'activité volcanique, l'érosion des continents et les feux de forêts. L'apport des volcans peut se manifester par des émissions massives provoquées par une activité explosive, ou par une libération continue de volume modeste, provenant notamment de l'activité géothermique et de l'évasion des gaz contenus dans le magma. (Darmendrail et *al.*, 2000).

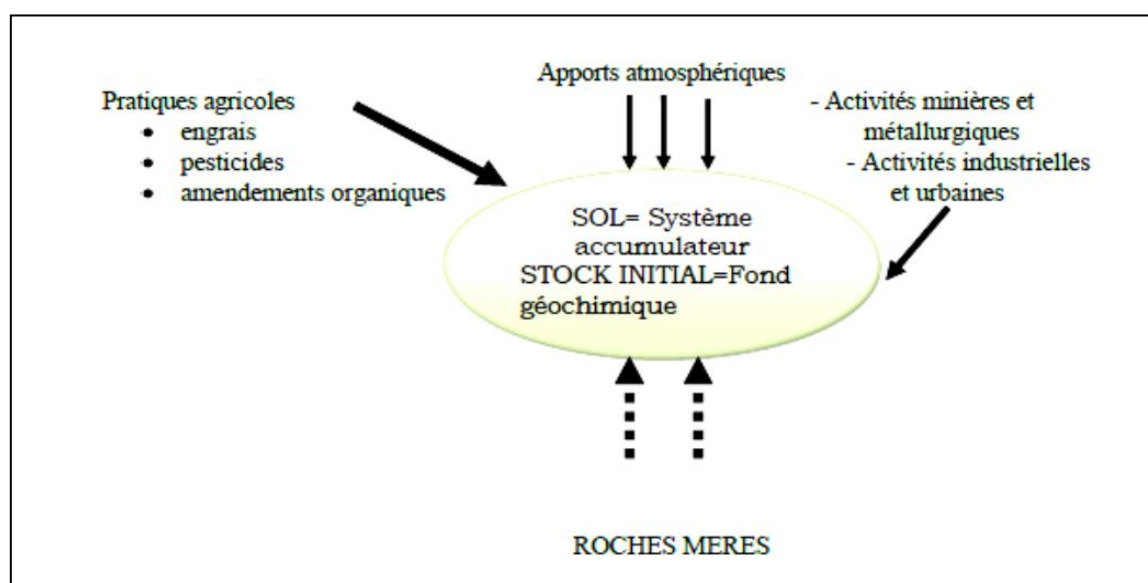


Figure 9 : Origines des métaux lourds dans le sol (Robert et Juste, 1999).

II.3.4.2. Sources anthropiques

Les métaux d'origine anthropique existent sous des formes chimiques hautement réactives, ce qui génère des dangers bien plus importants que ceux posés par les métaux naturels qui, la plupart du temps, se présentent sous des formes relativement inertes (Mckenzie, 1997).

II.3.5. différents métaux lourds présents dans l'environnement

II.3.5.1. Plomb

II.3.5.1.1. *Historique*

Le plomb, dont le nom latin est « plumbum », figure parmi les métaux les plus anciennement et largement employés par l'humanité en raison de sa disponibilité, de sa simplicité d'extraction et de sa facilité d'utilisation.

C'est un des composants des pigments découverts dans les sépultures néandertaliennes de la période moustérienne (environ 40 000 ans avant l'ère chrétienne). Les Égyptiens et les Hébreux l'utilisaient déjà 4 000 ans avant Jésus-Christ. Plus tard, les Phéniciens ont commencé son extraction en Espagne aux alentours de 2 000 ans avant notre ère. Les Grecs et les Romains ont employé ce métal pour l'adduction d'eau, tandis que l'acétate de plomb servait de préservatif de vin. **(Garnier, 2005).**

II.3.5.1.2. *Propriétés physico-chimiques*

Le plomb, représenté par le symbole Pb et ayant le numéro atomique 82, est un métal de teinte gris bleuté (Figure 11). Il est extrêmement doux, hautement malléable et ductile, et se trouve rarement à l'état natif. On trouve principalement les composés du plomb sous forme de valence deux. **(Klaassen, 2008).** Ce minerai se trouve dans nombre de minerais, la galène PbS étant le plus courant. On peut aussi le trouver sous la forme d'anglésite PbSO₄ (s). Le plomb métallique (Pb₀) possède une résistance à la corrosion et peut se mélanger à d'autres

métaux pour créer différents types d'alliages. (Burnol et Duro., 2006). On compte quatre isotopes naturels. Pb-204, Pb-206, Pb-207 et Pb-208 (Garnier, 2005).



Figure 10: Le plomb.

Tableau 3: Les propriétés physico-chimique de plomb (Chahid, 2016).

Symbole	Pb
Numéro atomique	82
Masse atomique	207,2 g/mol
Masse volumique	11,34 g/cm ³ a 20 °C
Isotope	4
Température de fusion	327 °C
Température d'ébullition	1755 °C

II.3.5.2. Le zinc

II.3.5.2.1. Généralités

Malgré qu'il soit largement utilisé et présent dans notre vie quotidienne, il reste méconnu. Paracelse mentionne pour la première fois le zinc sous son nom actuel dans son ouvrage De

Remetallurgica, au début du XVI^e siècle. Son utilisation industrielle a débuté en Angleterre en 1740.

Le zinc est un élément largement répandu qui se retrouve de façon naturelle dans l'air, l'eau et le sol, mais à des niveaux de concentration modérés. L'eau potable, ainsi que de nombreux autres aliments, renferme du zinc.

L'accroissement de la présence de zinc dans l'environnement est dû aux actions humaines et aux rejets industriels, notamment l'exploitation minière, la combustion de charbon et de déchets, ainsi que l'industrie sidérurgique.

II.3.5.2.2. *Propriété physico-chimique*

Le zinc est un élément chimique qui possède une couleur métallique blanche-bleuâtre (Figure 12). On le trouve généralement sous la forme ionique de cation divalent (Zn^{2+}), et il se combine aisément avec les éléments terrestres. On le retrouve dans toutes les strates géologiques du sol. (Attar *et al.*, 2013).



Figure 11: Le zinc

Tableau 4: Les propriétés physico-chimique de zinc (Attar et al., 2013).

Symbole	Zn
Masse atomique	65,41 g/mol
Numéro atomique	30
Densité	7,14 g/cm
Température d'ébullition	910 °C
Température de fusion	419.53 °C
Configuration électronique	[Ar] 3d ¹⁰ 4s ²
Rayon atomique	0,138 nm

II.3.5.3. Le Nickel

II.3.5.3.1. Historique et découverte

Le nickel pur se présente comme un métal brillant de couleur gris-blanc, plutôt ductile et résistant. Il se combine thermiquement avec plusieurs métaux, comme le fer, le cuivre, le chrome, le cobalt, le manganèse, entre autres. En revanche, du point de vue électrolytique, le choix de métaux et d'alliages ainsi que leurs usages sont nettement plus limités : cobalt, fer, phosphore, tungstène, étain. Le nickel exhibe un faible ferromagnétisme, représentant 27% de celui du fer. Le tableau ci-dessous présente les constantes physiques principales qui peuvent être utiles. (Badé, 2000 ; Missaoui, 2014).



Figure 12 : le Nickel

II.3.5.3.2. Propriétés physico-chimiques

Tableau 5: Principales caractéristiques physiques et mécaniques du nickel.

Symbole	Ni
Masse atomique	58,71 uma
Masse volumique	8,907 gcm ⁻³
Densité	8,8
Température de fusion	1453°C
Cristallisation	Cubique faces centrées ($a_0 = 0,3524$ nm)
Conductivité thermique	74 à 95 W m ⁻¹ K ⁻¹
Résistivité électrique	6,85 μΩ cm à 20 °C
Résistance à la rupture Rm	Supérieure ou égale à 350 MPa
Limite d'élasticité Re	150 MPa
Allongement A	30 à 40%
Dureté Vickers	150 HV
Température de Curie	359°C

II.3.5.4. Le chrome

II.3.5.4.1. Généralités

Présent en abondance dans les sols, son appellation dérive du grec (Kroma signifiant couleur). Ce métal possède une masse atomique de 52 et est classé sous le numéro 24 dans le tableau périodique de Mendeleïev. Il présente une teinte blanche éclatante et brillante, parfois légèrement teintée de jaune. Il est extrêmement résistant (il raye le verre), mais il n'est ni flexible, ni ductile, et il reste inchangé lorsqu'il est exposé à l'air. (Augier, 2008).



Figure 13 : Le Chrome

II.3.5.4.2. Propriétés physico-chimiques

Tableau 6: Les caractéristiques physico-chimiques du chrome (Nathan, 2006).

Symbole chimique	Cr
Numéro atomique	24
Masse atomique	52
Température de fusion	3375°F (1907°C)
Température d'ébullition	4842°F (2671°C)
Densité	7,14g/cm ³

II.3.6. Tolérance des actinomycètes aux métaux lourds

De nombreuses espèces du phylum des Actinobactéries ont longtemps été reconnues pour leur utilisation en biotechnologie environnementale. En réalité, elles démontrent (i) la capacité à exploiter des composés économiques et/ou toxiques comme sources d'énergie et de carbone, (ii) une remarquable durabilité, continuité et solidité environnementale, attribuée à un potentiel catabolique et anabolique diversifié, (iii) sont généralement non pathogènes et (iv) affichent souvent une résistance notable initiale face aux métaux. Ces caractéristiques rendent les Actinobactéries des candidates parfaites pour la bioremédiation des environnements pollués par les métaux et les métalloïdes. **(Park et al., 2018 ; Solecka et al., 2012 ; Liao et al., 2016).**

Les Actinobactéries mettent en œuvre des approches de résistance et de tolérance à la toxicité des métaux et des métalloïdes, associées à des mécanismes de biosorption, de bioaccumulation et de biotransformation. **(Shivlata et al., 2015)**, résumés dans la figure 15 et décrits ci-dessous.

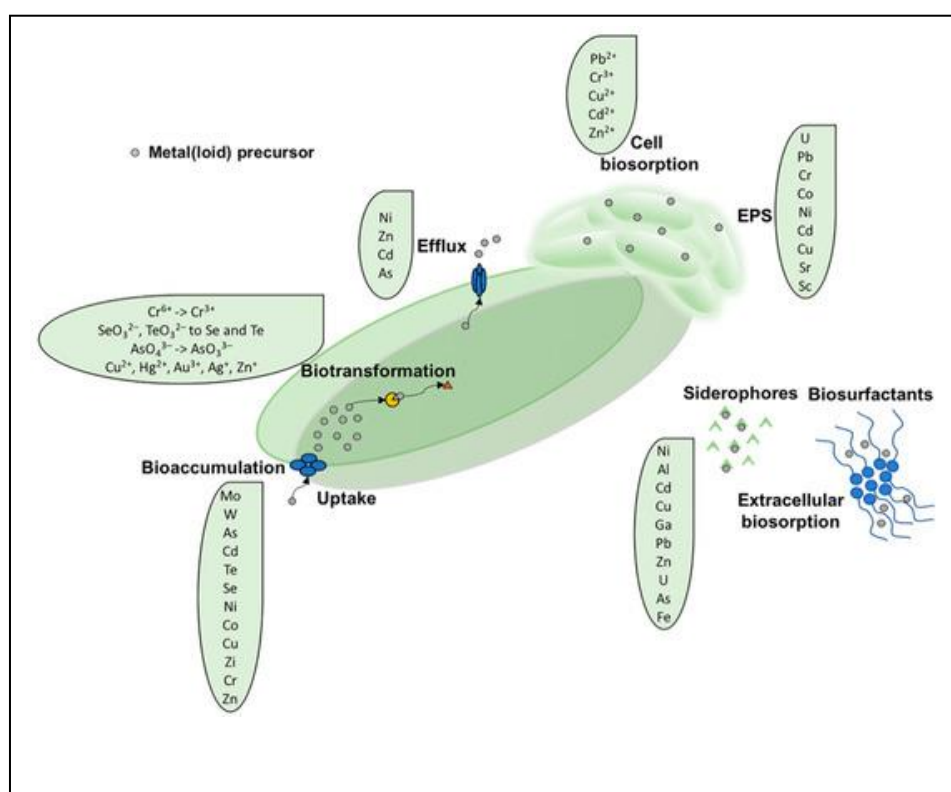


Figure 14: Illustration schématique des processus biotiques (à savoir, biosorption et séquestration extracellulaire grâce aux sidérophores, aux biosurfactants et aux substances polymériques extracellulaires (EPS), bioaccumulation, biotransformation et mécanismes.

II.3.6.1. Séquestration

Il s'agit de la première ligne de défense pour l'isolement immédiat des métaux lourds afin d'éviter leurs effets néfastes au niveau cellulaire. **(Latendre, 2009)**. La capture des ions métalliques, que ce soit à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule, permet l'immobilisation rapide des métaux par des interactions physico-chimiques et aide à limiter leurs effets toxiques en complément d'autres processus de résistance. **(Gadd, 1990)**.

II.3.6.1.1. La séquestration intracellulaire

Cela se fait par la synthèse de protéines qui se connectent aux excès d'ions métalliques, permettant ainsi non seulement le stockage de ces ions, mais aussi la sauvegarde des composantes clés des cellules face à leur éventuelle toxicité. **(Lee et al., 1993)**.

L'accumulation de métaux au sein des cellules, ou leur confinement intracellulaire, nécessite l'existence de protéines qui se fixent à ces métaux dans le cytosol. **(Acheampong et al., 2009)**. En réponse au stress provoqué par les métaux lourds, les micro-organismes déploient différentes tactiques de défense telles que l'exclusion et la synthèse de protéines liantes que l'on appelle métallothionéines (MTs). Les actinomycètes ont la capacité de produire des protéines qui se lient aux métaux, telles que les métallothionéines, qui peuvent efficacement se fixer aux métaux lourds. **(Garbisu et al., 2003)**. Ces métallothionéines sont des protéines spécifiques, riches en cystéine et de poids moléculaire relativement bas.

Il s'agit de peptides de petite taille riches en cystéine ou en histidine. Ces peptides peuvent se fixer aux métaux lourds au sein de la cellule. Ce qui est essentiel dans les procédures de tolérance aux métaux (Schmidt et al., 2010). Les métallothionéines sont produites en réponse au stress provoqué par les métaux lourds, dans le but d'accroître la tolérance des cellules bactériennes à des concentrations élevées de ces métaux. Elles sont classées en trois variantes Différentes en fonction de leur contenu en cystéine et de leur configuration : (1) Cys-Cys ; (2) Cys-X-Cys ; et (3) Cys-X-X-Cys **(Howe et al., 1997)**.

Ainsi, les études réalisées jusqu'à présent ont révélé que les métallothionéines jouent un rôle essentiel dans la capacité des bactéries à résister aux métaux lourds. On a mené moins d'études sur les actinomycètes pour examiner les mécanismes de tolérance aux métaux. Il est donc nécessaire d'investir Constantly dans ce domaine afin de comprendre les processus au niveau moléculaire. **(Schmidt et al., 2010)**.

II.3.6.2. Biosorption

Le processus de biosorption, qui repose sur la tolérance microbienne, aide à réduire la concentration locale de métaux et de métalloïdes. Cette approche repose sur des interactions électrostatiques entre les ions métalliques et métalloïdes d'une part, et les groupements fonctionnels présents à la surface des micro-organismes d'autre part. Parmi ces éléments se trouvent les protéines, les glucides, les polymères de la paroi cellulaire, la matière polymérique extracellulaire (EPS) et les agents chélatants métalliques (tels que les sidérophores et les métalloprotéines). **(Gupta et Diwan, 2017)**.

Dans le secteur industriel, la biosorption est considérée comme une technique très efficace, durable à la fois économiquement et écologiquement. Elle empêche la formation de déchets

nocifs lors de l'éradication de métaux, de métalloïdes, de radionucléides et de xénobiotiques organiques toxiques dans les zones contaminées. Dans un contexte physico-chimique, les micro-organismes sont souvent perçus comme de très bons biosorbants, en raison de leur petite taille et de leur rapport surface/volume élevé, qui permet une vaste surface d'interaction avec les métaux et les métalloïdes. **(Volesky, 1990 ; Wilde et al., 1993 ; Bankar et al., 2009 ; Bankar et al., 2012).**

D'après la spéciation des métaux (métalloïdes) observée dans un milieu écologique précis. **(Ledin, 2000)** En fonction de ses propriétés physico-chimiques, diverses espèces d'Actinobactéries peuvent adopter différentes stratégies de sorption pour ces métaux (métalloïdes). **(Gadd, 1993).** Ce procédé biologique dépend de l'affinité, du rendement et de la spécificité, qui sont déterminés par la structure compositionnelle chimique de la paroi cellulaire et de la membrane, spécifiquement par la nature et l'orientation des groupements liants les métaux (métalloïdes). **(Goksungur et al., 2005).**

En effet, la membrane cellulaire des actinobactéries possède une constitution complexe à l'échelle macroscopique (composants tels que les lipides, le peptidoglycane, l'acide teichoïque, les lipoprotéines et protéines de surface, les enzymes ainsi que les acides mycoliques) qui expose divers groupes fonctionnels réactifs (comme l'hydroxyle [OH⁻], le carbonyle [CO], le carboxyle [COO⁻], le phosphate [PO₄³⁻], le sulfate [SO₄²⁻] et l'amino [NH₂⁺/NH₃⁺]) à même de servir de médiateurs dans la sorption et la précipitation de métaux (ou Métalloïdes) à l'échelle de la surface bactérienne. **(Plette et al., 1995 ; Stratton et al., 2002 ; Botero et al., 2007).**

Même si le pH, le type de métal(loïde) et la caractéristique du biosorbant sont des paramètres importants à prendre en compte pour perfectionner les processus de biosorption, la présence simultanée de divers métaux(loïdes) dans l'environnement naturel pourrait engendrer une compétition pour les points d'accroche sur les cellules actinobactériennes, mettant ainsi en danger les procédés biotechnologiques de sorption. Ce principe est valable pour le Ca²⁺, qui est le principal compétiteur de la sorption des métaux dans les sols. **(Doyle et al., 1980 ; Xue et al., 1988 ; Flemming et al., 1990).**

II.3.6.3. Bioaccumulation

Le terme « bioaccumulation » peut être expliqué comme le processus d'assimilation de polluants toxiques uniquement par les cellules organiques. Le poison est activement acheminé à l'intérieur de la cellule grâce à la membrane cellulaire, où il s'accumule. La bioaccumulation est influencée par des propriétés structurales et biochimiques intrinsèques, des modifications génétiques et physiologiques, des changements dans la manière dont le métal se comporte dans l'environnement, ainsi que par les caractéristiques intrinsèques du métal lui-même. La bioaccumulation est affectée par les traits structurels et biochimiques intrinsèques, les changements génétiques et physiologiques, la dégradation environnementale du métal, ainsi que sa disponibilité et son degré de toxicité. **(Blackwell et al., 1995).**

La bioaccumulation s'effectue à travers des processus métaboliquement dépendants, consommant beaucoup d'énergie, généralement après une biosorption rapide des métaux et des métalloïdes par les bactéries, ce qui entraîne une diminution considérable de leur

Concentration dans le milieu extracellulaire. Donc, uniquement les cellules vivantes qui possèdent des propriétés biochimiques et génétiques spécifiques liées à la circulation des métaux et sont capables d'effectuer des adaptations physiologiques face aux métaux et métalloïdes sont aptes à réaliser la bioaccumulation. **(Mowll et al., 1984).** Par ailleurs, il a été noté que la bioaccumulation des métaux et des métalloïdes pourrait être modulée par la température : d'une part, une hausse des températures peut amplifier les réactions chimiques ; d'autre part, elle peut modifier la fluidité des membranes biologiques, compromettant l'efficacité du cycle respiratoire et la perméabilité de la cellule microbienne, deux éléments essentiels pour la pérennité des bactéries. **(Konings et al., 2002).**

Une fois insérés dans les cellules, certains éléments tels que l'As, le Cd, le Te et le Se peuvent se comporter comme des acceptors d'électrons finaux ou des cofacteurs au sein des métalloprotéines et des enzymes. **(Ehrlich, 1997 ; Valls et Lorenzo, 2002 ; Gadd, 2010).** Ils peuvent également être modifiés via des processus d'oxydoréduction ou des réactions d'alkylation. **(Ledin, 2000).** Ces changements dans la spéciation pourraient affecter leur toxicité et leur capacité de déplacement. L'intégration des métaux et des métalloïdes dans le cytoplasme bactérien est possible par (i) des canaux ou transporteurs de cations exploitant un gradient de concentration et (ii) des transporteurs actifs qui reposent soit sur l'ATP, soit sur le gradient électrochimique comme source d'énergie. Ce point est essentiel, particulièrement

pour les bactéries qui possèdent des activités enzymatiques (tels que les nitrogénases et les oxydoréductases) utilisant les molybdoprotéines comme cofacteurs. Il est crucial pour ces micro-organismes d'obtenir du molybdène, qui se présente sous la forme d'oxyanion MoO_4^{2-} .

Cela s'effectue généralement par le biais du transporteur ABC (ATP-binding cassette) de haute affinité ou à travers des systèmes de transport de faible affinité. **(Pau et al., 1997).**

Par conséquent, l'accumulation de métaux (métalloïdes) peut conférer aux cellules microbiennes des caractéristiques atypiques, telles que l'apparition d'inclusions électron-denses. Cela est dû soit à la rétention du métal (métalloïde) au sein des éléments cellulaires, soit à sa liaison avec des métallothionéines. **(Gadd, 2004 ; Malik, 2004).**

II.3.6.4. Les systèmes d'efflux

Le principal moyen de résistance des bactéries face aux métaux lourds réside dans le transport à travers leur membrane.

Il est possible de diminuer l'accumulation de cations métalliques en utilisant des systèmes d'exclusion d'ions au travers des membranes cellulaires. Cette extrusion active fait intervenir des transporteurs ayant une attraction spécifique pour les ions métalliques, grâce à leurs sites de reconnaissance hautement affinés. **(Blériot et al., 2014).**

Ces systèmes contrôlent l'accumulation de molécules et leur balance entre les milieux intracellulaires et extracellulaires. Ces éléments ont une importance primordiale dans la protection des micro-organismes contre des niveaux excessifs de solvants organiques, de métaux et métalloïdes, de lipides destructeurs, de molécules de détection de quorum et de biocides, entre autres. La particularité de substrat très large est l'une des caractéristiques les plus courantes chez les SEM, cette spécificité joue un rôle crucial dans la genèse du phénotype de multirésistance médicamenteuse (MDR) dans les micro-organismes. **(Nakaido, 2009).**

La majorité des transporteurs sont classés dans les superfamilles ABC (ATP-binding cassette) ou MFS (major facilitator superfamily), exploitant respectivement l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP ou le gradient électrochimique des protons pour leurs modes d'antiport.

Parmi les autres systèmes d'efflux, on trouve la catégorie des transporteurs de métabolites de médicaments (DMT) et sa sous-catégorie, la petite famille de résistance aux médicaments (SMR). On inclut aussi la famille RND, le supergroupe MOP dédié aux flippases du

multidroque/oligosaccharide-lipide/polysaccharide et sa sous-division qui correspond à la famille MATE (multidroque extrusion et composé toxique). Cependant, la distribution de ces systèmes d'efflux varie selon les microorganismes et les substrats, et un grand nombre de systèmes d'efflux restent toujours non identifiés. (Saidijam *et al.*, 2006).

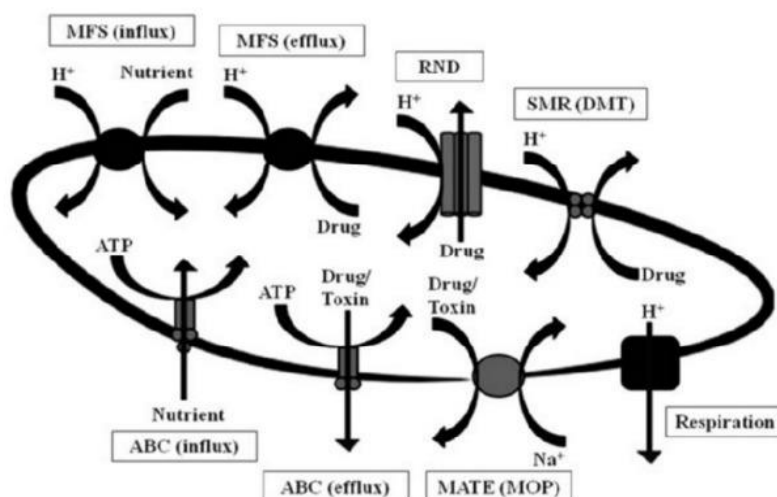


Figure 15 : Les systèmes d'efflux et leur source d'énergie correspondante pour le déplacement. Le transport actif primaire est lié à l'hydrolyse de l'ATP, alors que le transport actif secondaire repose sur l'exploitation d'un gradient de protons à travers la membrane.

II.3.6.5. Les chélateurs externes

La plante génère naturellement divers chélateurs suite à un manque de nutriments, tels que les phytosidérophores, les acides organiques, les acides phénoliques ainsi que l'acide caféique. (Abdelkrim, 2018).

Le sidérophore, en se couplant au métal dans le milieu extracellulaire, joue le rôle d'un chélateur externe, diminuant ainsi la teneur en métaux libres. Cela a un impact sur leur distribution au sein de la bactérie et, de ce fait, sur leur toxicité. (Ferret, 2012).

II.3.7. Paramètres influençant la mobilité des métaux lourds

La toxicité d'un métal est évaluée non seulement en fonction de sa forme chimique, mais également des facteurs environnementaux. (Peijnenburg et al., 2007). Dans le sol, les métaux lourds peuvent exister comme des ions libres ou être associés à des particules de terre. Cependant, un métal ne pose de danger pour les organismes vivants que s'il est présent dans sa forme libre, autrement dit biodisponible. Tout comme d'autres éléments ayant une charge positive, les cations métalliques peuvent établir une interaction dans le sol avec toute particule organique ou minérale qui possède une charge négative. La toxicité de l'ion, qui est étroitement liée à sa biodisponibilité, sera déterminée par l'équilibre entre ses formes libres et fixes.

En fin de compte, la biodisponibilité des métaux lourds varie selon plusieurs facteurs du sol, tels que la capacité d'échange cationique (CEC), l'acidité (pH), le potentiel redox, le taux de phosphates présents, la masse de matière organique et les activités biologiques présentes.

II.3.7.1. PH

Sous des conditions acides, la plupart des éléments métalliques démontrent une mobilité plus élevée comparée à celle dans des conditions alcalines. Effectivement, une baisse du pH favorise le mouvement des éléments métalliques, notamment par la dissolution des sels métalliques, tandis qu'une hausse du pH conduit à la fixation des éléments métalliques grâce à la formation de composés insolubles. (Bandowe et al., 2014).

II.3.7.2. Température

La température a un impact significatif sur l'adsorption des métaux lourds.

L'augmentation de la température amplifie le niveau de diffusion de l'adsorbat à travers la couche limite externe. Avec l'augmentation de la température, la solubilité des métaux lourds augmente, ce qui facilite leur biodisponibilité. (Bandowe et al., 2014).

II.3.7.3. Matière organique

La matière organique a une grande propension à adsorber et à séquestrer les éléments métalliques sous forme de complexes stables peu mobiles. Toutefois, cette fixation est provisoire, car la minéralisation a la capacité de les réintroduire en solution. (Huynh, 2009).

II.3.8. Mécanismes de bioremédiation par les actinomycètes

La bioremédiation peut se dérouler selon deux voies distinctes :

II.3.8.1. Réduction directe

Dans le processus ex situ de réduction directe, on fait appel aux enzymes métallo-réductases. Toutefois, cette méthode d'obtention des métaux est généralement de faible efficacité. Elle peut être utilisée pour la restauration des sols suite à une excavation (comme le concassage, le remplissage et l'inoculation avec un consortium microbien adapté), cependant son principal avantage est la purification des eaux souterraines grâce aux bioréacteurs. (**Macaskie et al., 2005**).

II.3.8.2. Réduction indirecte

C'est une stratégie in situ utilisant des bactéries sulfato-réductrices (BSR) pour favoriser la précipitation des métaux. Cette approche est perçue comme écoresponsable et économiquement viable, proposant une alternative aux approches conventionnelles de pompage et d'assainissement des eaux souterraines polluées, et à l'excavation pour le traitement des sols. Cette méthode consiste à introduire des substrats dans les régions souterraines pour stimuler le développement des microorganismes. Cela entraîne une production naturelle de H_2S qui, en interagissant avec les métaux en solution, agit pour les immobiliser. (**Macy et al., 1993**) .

II.3.9. Rôle des actinobactéries dans la bioremédiation des métaux

II.3.9.1. Biosorption et bioaccumulation

On désigne sous le terme de biosorption le phénomène où les membranes cellulaires microbiennes, ayant une charge négative, se fixent aux cations de métaux lourds, qui possèdent une charge positive. Les propriétés capsulaires des polysaccharides bactériens,

libérées en tant que mucus extracellulaire, favorisent la séquestration des métaux. Une fois adsorbés à la surface, les ions métalliques sont transportés dans le cyto (plaste) par des protéines de transfert, ce qui entraîne leur accumulation à l'intérieur des cellules. **(Volesky, 2007).**

II.3.9.2. L'immobilisation catalysée par la biologie

Dans le contexte des cellules microbiennes, les ions métalliques sont soumis à une réduction enzymatique qui les immobilise sous forme de colloïdes organiques ou d'oxydes de fer (Fe). Cette procédure entrave leur déplacement et leur possible toxicité dans l'environnement. **(Schmidt et al., 2005)**

II.3.9.3. Détoxification des métaux par transformation de valence

Les actinobactéries ont la capacité de détoxifier les métaux lourds grâce à la volatilisation, la précipitation chimique extracellulaire ou le changement de valence . Les actinomycètes ont la capacité de convertir les ions métalliques toxiques en formes moins nocives ou fixées, en changeant l'état d'oxydation des métaux. Par exemple, il a été établi que diverses espèces de *Streptomyces* détoxifient le cadmium et le plomb grâce à la précipitation extracellulaire, constituant des complexes métalliques résistants. Les espèces d'*Arthrobacter* ont aussi la capacité de transformer le chrome hexavalent [Cr (VI)] en sa forme trivalente moins nuisible [Cr (III)], mettant en évidence leur fonction dans la valence transformation. Par ailleurs, les espèces de *Nocardia* et genres similaires ont la capacité d'évaporer le sélénium et le mercure, réduisant ainsi leur biodisponibilité et leur toxicité dans des milieux contaminés. **(Macaskie et al., 2005).**

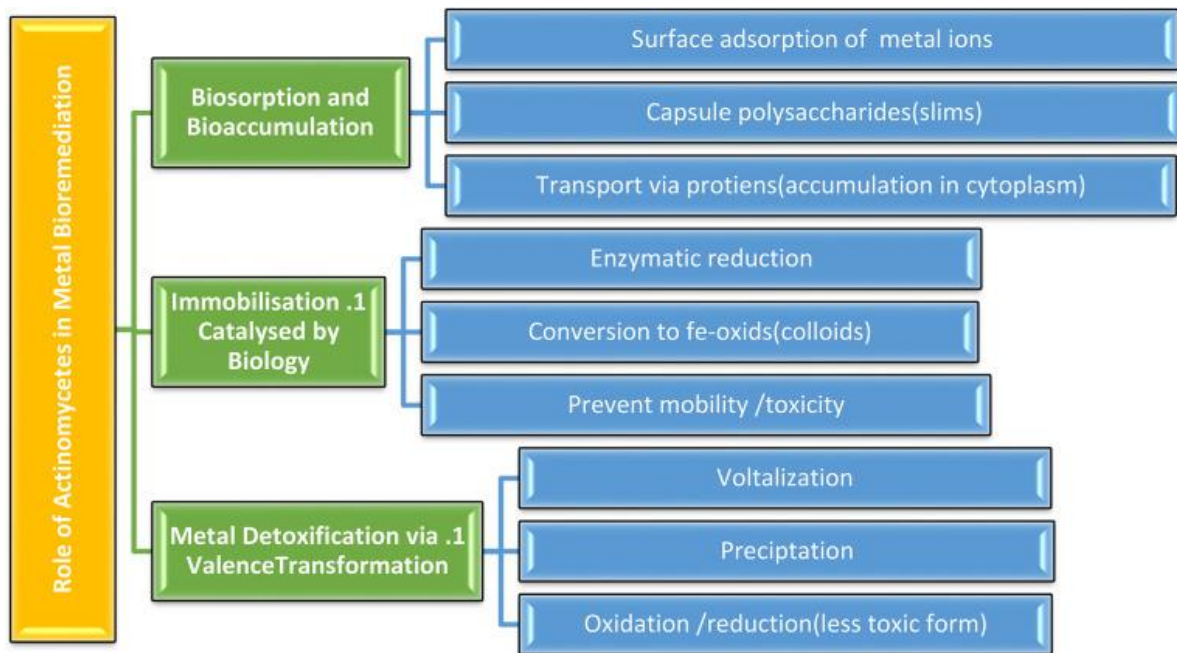


Figure 16: Mécanismes de bioremédiation par les Actinomycètes

Partie III. Matériels et méthodes

III.1. Échantillonnage des sols

III.1.1. Sites de prélèvement

Les campagnes de prélèvement se sont déroulées en janvier et février 2026 dans sept sites distincts situés dans l'ouest et l'est de l'Algérie. Les échantillons ont été collectés comme suit

- **Boues de station d'épuration (STEP)** : Trois échantillons (B1, B2, B3) ont été prélevés le 17/02/2026 à Saïda.
- **Déchets industriels** : Deux échantillons (A1, A2) ont été collectés sur le site de la société ABRAS (Saïda) le 17/02/2026.
- **Zones naturelles (Région de Torest)** : Un échantillon de vallée (T1) et un échantillon d'Oued (T2) prélevés le 20/01/2026 à Djanet.

Le repérage géographique précis de ces stations a été effectué par GPS (Plus Codes).

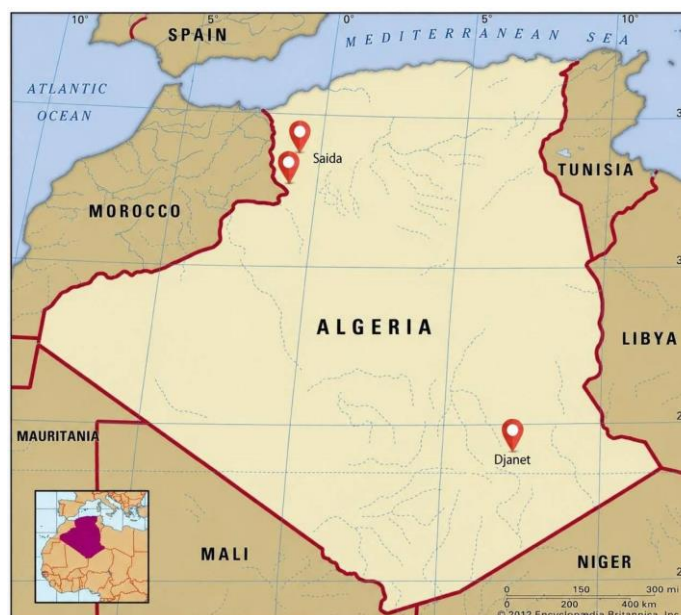


Figure 17: Localisation géographique des sites de prélèvement des sols.

Tableau 7: Repérage géographique des stations d'échantillonnage par GPS.

Sites d'échantillonnage	Code	Région	La position géographique
Station d'épuration (Boue)	B1	Saïda	34.8333° N / 0.1500° E
Station d'épuration (Boue)	B2		
Station d'épuration (Boue)	B3		
Déchets industriels ABRAS	A1	Saïda	34.865021° N / 0.147201°E
Déchets industriels ABRAS	A2		
Vallée (région de Torest)	T1	Djanet	25.401131N 08.862659E
Oued (région de Torest)	T2		

III.1.2. Analyse des caractéristiques physico-chimiques

Mesure du pH : La détermination du pH a été réalisée selon un rapport masse/volume de 1 :5. Pour ce faire, 10 g de sol ont été mis en suspension dans 50 ml d'eau distillée. Après une agitation de 2 minutes pour assurer l'homogénéisation, le pH a été mesuré sur le surnageant à l'aide d'un pH-mètre de paillasse (ADWA AD1030) (**Mosley et al., 2024**).

Caractérisation chromatique : L'aspect visuel et les variations de couleur des échantillons ont été notés à l'œil nu immédiatement après la préparation (**Du et al., 2025**).

III.1.3. Procédure de prélèvement et prétraitement

Après élimination des débris superficiels, le sol a été prélevé à une profondeur comprise entre 5 et 10 cm. Le prétraitement a pour objectif de réduire la flore microbienne compétitive afin de favoriser l'isolement des actinobactéries.

Séchage et tamisage : Les échantillons ont été séchés à l'air libre à température ambiante pendant sept jours pour éliminer les micro-organismes non sporulés sensibles à la dessiccation. Ils ont ensuite été tamisés (porosité de 500 μm) pour écarter les débris grossiers. (Messaoudi et *al.*, 2015).

Traitement chimique : 10 g de sol ont été mélangés à 0,1 g de carbonate de calcium (préalablement stérilisé à 180 °C pendant 30 min). L'incubation de sept jours permet de neutraliser l'acidité et de favoriser la germination des spores d'actinomycètes, généralement alcalino-tolérants (Tiwari et *al.*, 2021).

Traitement thermique : Un choc thermique à sec (110 °C pendant 10 minutes) a été appliqué pour sélectionner préférentiellement les actinobactéries sporulées thermorésistantes. (Suzuki, 2000).



Figure 18: les échantillons de sol : A sol de boues de la station d'épuration, B sol de déchets industriels , C sol de région naturelle Saharien

III.2. Isolement et sélection des actinobactéries

III.2.1. Milieux de cultures utilisés

Trois milieux spécifiques ont été utilisés (Annexe 01) :

le milieu **GYM** (Glucose Yeast Malt) (Smaoui et al., 2018).

le milieu **SCA** (Starch Casein Agar) (KÜSTER et al., 1964).

le milieu **ISP2** (Zakari et al., 2025).

III.2.2. Méthode des suspensions-dilution

Cinq grammes de sol traité ont été mis en suspension dans 45 ml de solution physiologique stérile (NaCl 9 g/L). À partir de cette solution mère, une gamme de dilutions décimales (de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} a été préparée. Un volume de 100 µL des trois dernières dilutions a été étalé en surface sur les milieux de culture, avec trois répétitions par essai. L'incubation s'est déroulée à 28-30 °C pendant 7 à 21 jours en atmosphère saturée d'humidité.

III.3. Évaluation du potentiel antimicrobien

III.3.1. Micro-organismes cibles et standardisation

L'activité biologique a été testée contre quatre souches pathogènes : *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. Les inocula ont été standardisés à une turbidité de **0,5 McFarland**, correspondant à environ 10^8 UFC/ml (Loffredo et al., 2020).

Tableau 8: Caractéristiques des souches indicatrices.

Les souches indicatrices			Intérêt du choix
Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	Pathogène / Alimentaire
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Pathogène
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Pathogène / Alimentaire
	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 25921	Alimentaire / Pathogène
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Alimentaire
Levures	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	Opportuniste humaine

ATCC : American Type Culture Collection

IBMC Strasbourg : Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire Strasbourg

III.3.2. Criblage par la méthode des cylindres d'agar

Des cylindres de gélose prélevés sur des cultures d'actinobactéries ont été déposés sur des milieux Mueller-Hinton préalablement ensemencés par les souches cibles. Après une diffusion pré-incubatoire à 4 °C pendant 2 heures, les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures (**Pongtharangkul et al., 2004**). L'apparition d'une zone d'inhibition indique la production de métabolites secondaires antimicrobiens.

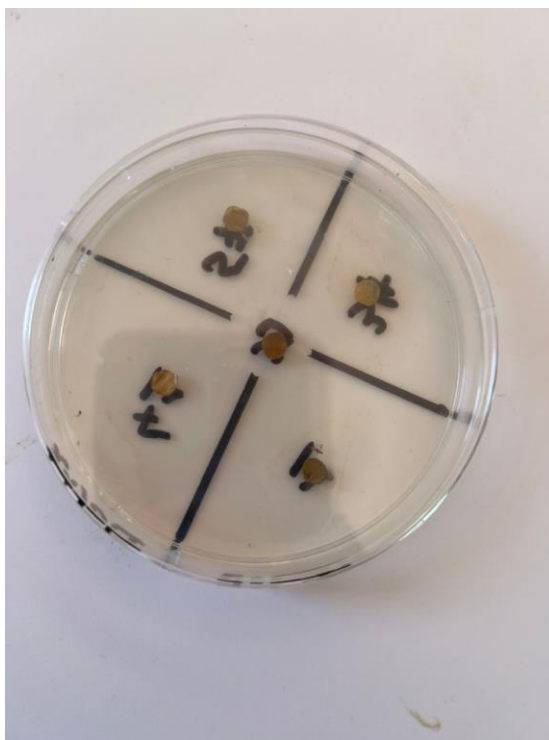


Figure 19: Méthode des cylindres d'agar

III.4. Caractérisation des activités enzymatiques

Les tests ont été réalisés par la méthode des cylindres d'agar sur milieu minimal enrichi en substrats spécifiques, avec une incubation à 28-30 °C pendant 5 à 7 jours.

- **Protéolyse (Caséine et Gélatine) :** Mise en évidence par une zone d'hydrolyse claire autour des colonies sur milieu au lait écrémé (10 %) ou à la gélatine (1 %).
- **Pectinolyse :** Détectée après ajout de réactif de Lugol sur milieu à la pectine (1 %) ; une zone claire indique la dégradation du substrat.
- **L-asparaginase :** Identifiée par le virage au rose de l'indicateur (rouge de phénol), signalant une alcalinisation due à la libération d'ammoniac.
- **Lipolyse :** Évaluée sur milieu enrichi en Tween 80 ou huile d'olive (1 %) en présence de CaCl_2 et de rouge de phénol ; l'activité se traduit par un halo trouble (formation de sels de calcium) ou un changement de pH.



Figure 20: Ensemencement des isolats d'actinomycètes sur milieu minimum contenant l'asparagine avant incubation.

III.5. Étude de la résistance aux métaux lourds induite par la quercétine

III.5.1. Induction par la quercétine

Les isolats ont été cultivés en milieu ISP2 (pH 7,2) pendant trois jours à 28-30 °C. Une solution de quercétine (10 mM dans le DMSO) a été ajoutée pour atteindre une concentration finale spécifique, suivie d'une incubation de 24 à 48 heures pour stimuler le métabolisme secondaire.

III.5.2. Préparation du matériel sporale

Les cultures ont été centrifugées à 6000 tr/min à 4 °C pendant 15 minutes. Le culot cellulaire a été lavé deux fois à l'eau physiologique stérile, puis filtré pour obtenir une suspension mycélienne uniforme destinée aux tests de résistance.

III.5.3. Tests de résistance aux métaux lourds

Le test a été réalisé sur milieu solide **ISP4** enrichi en différentes concentrations de métaux (100 et 500 µg/mL) : Plomb (Pb), Nickel (Ni), Chrome (Cr) et Zinc (Zn). Les solutions métalliques ont été stérilisées par microfiltration (0,22 µm) avant incorporation aseptique dans le milieu. L'ensemencement a été réalisé par la méthode du "spot" 10µl de suspension sporale). La croissance a été évaluée qualitativement après incubation à 28-30 °C.



Figure 21: centrifugeuse (Scilogex) à réfrigération 4°C pour la préparation de suspension sporale.

III.5.3.1. Préparation des solutions mère des métaux lourds

Les solutions mères contenant des métaux lourds ont été élaborées dans de l'eau distillée.

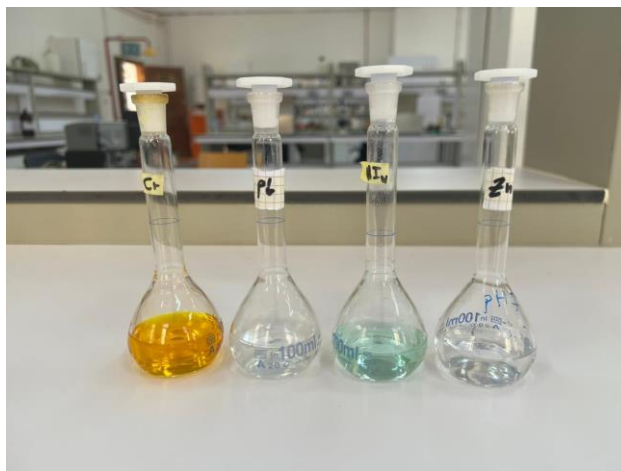


Figure 22: Les solutions mères de métaux lourds, utilisées pour tests de résistance des actinomycètes, incluent le plomb (Pb), le nickel (Ni), le chrome (Cr) et le zinc (Zn).

Pour atteindre une concentration de 100 $\mu\text{g/mL}$, 2,5 ml de la solution mère du métal ont été incorporés dans 47,5 ml d'eau distillée.

Pour obtenir une concentration de 500 $\mu\text{g/mL}$, on a ajouté 12,5 ml de la solution mère du métal à 37,5 ml d'eau distillée.

Avant d'être ajoutées au milieu de culture, les solutions métalliques ont subi une stérilisation à l'aide d'une microfiltration utilisant une membrane de 0,22 μm . Suite à la stérilisation et à la

Réfrigération de l'environnement ISP4, 1000 μ L de chaque solution métallique ont été introduits de manière aseptique dans 100 ml de milieu.

III.5.4. Ensemencement et incubation

Le milieu enrichi en métal a été distribuée dans des boîtes de Petri. Pour faciliter le test simultané de plusieurs isolats, chaque boîte a été subdivisée en cinq sections.

La méthode du spot a été employée pour l'ensemencement, consistant à placer 10 μ L de la suspension sporale au centre de chaque secteur en utilisant une micropipette.

Suite à l'inoculation de 10 μ L de suspension sporale sur la surface du milieu solide ISP4, les boîtes ont été conservées dans des conditions stériles durant approximativement 10 à 15 minutes pour assurer une absorption complète de l'inoculum et un séchage adéquat des spots. Par la suite, les boîtes ont été placées en incubation à une température de 28 à 30 °C afin d'observer la croissance des isolats en présence de métaux lourds.

III.5.5. Évaluation de la résistance

L'évaluation de la résistance des isolats s'est basée sur l'intensité de leur croissance observée sur des milieux enrichis en divers métaux lourds. L'importance du développement des colonies après incubation a été utilisée pour exprimer qualitativement les résultats.

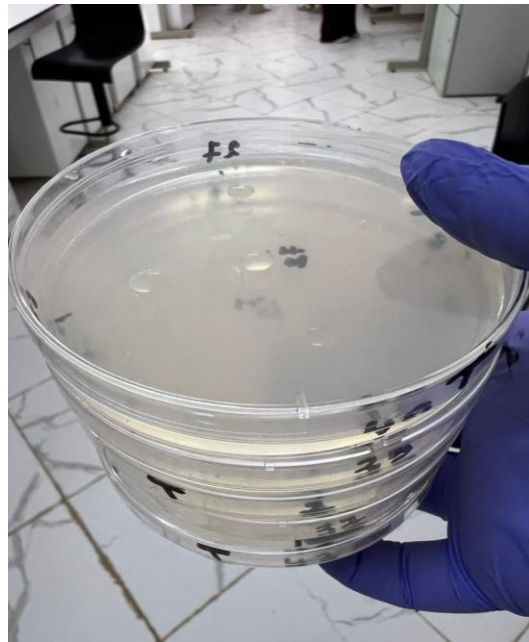


Figure 23: Ensemencements des isolats d'actinomycètes sur le milieu ISP4 enrichi en métaux lourds à l'aide de la technique du spot avant que l'inoculum ne soit entièrement absorbé par la gélose.

Partie IV. Résultats et discussion

IV.1. Analyse physico-chimique et dénombrement des isolats

IV.1.1. Caractéristiques du sol

IV.1.1.1. Influence du pH du sol sur la distribution des actinobactéries

Les mesures du pH révèlent une hétérogénéité marquée selon l'origine écologique des échantillons. Les boues de la station d'épuration (B1, B2, B3) présentent un caractère nettement alcalin avec des valeurs comprises entre 8,85 et 9,90, tandis que les sols industriels (A1, A2) oscillent entre la neutralité (6,77) et une faible alcalinité (7,95). Cette variabilité du pH s'avère être un facteur déterminant pour la structure et la distribution des communautés microbiennes telluriques. Les actinobactéries, et plus particulièrement le genre *Streptomyces*, sont classiquement connues pour privilégier les environnements neutres à légèrement alcalins. Le pH fortement alcalin observé dans les boues de STEP semble donc constituer un milieu sélectif favorable à la germination de leurs spores et au développement de niches écologiques spécifiques.

D'un point de vue physiologique, la survie et la prolifération d'actinobactéries dans ces biotopes alcalins anthropisés s'expliquent par des mécanismes robustes d'homéostasie du pH interne, impliquant notamment l'activité d'antiports Na^+/H^+ ou l'expression accrue d'ATPases à protons. À cet égard, **(Rathakrishnan et al., 2023)** ont démontré par des approches génomiques que les environnements alcalins soumis à de forts impacts anthropiques sélectionnent des communautés de *Streptomyces* dotées d'une plasticité génomique accrue, indispensable pour surmonter le stress osmotique et ionique environnant. De plus, ces boues

Résiduaire, riches en complexes d'azote et en détergents anioniques, imposent des barrières structurales strictes. Comme le soulignent **(Saini et al., 2024)**, les spores d'actinomycètes isolées de boues d'épuration possèdent une enveloppe externe biochimiquement modifiée et enrichie en acides téichoïques hydrophobes. Cette adaptation structurale majeure augmente leur résistance aux pH extrêmes par rapport aux isolats de sols agricoles conventionnels,

favorisant ainsi l'isolement de souches alcalino-tolérantes ou alcaliphiles dont le métabolisme est fréquemment associé à la production d'enzymes hautement stables.

Tableau 9: Résultats du pH des échantillons

Echantillon	PH
B1	8.85
B2	8.95
B3	9.90
A1	6.77
A2	7.95
T1	8.16
T2	7.90

IV.1.2. Rendement de l'isolement et distribution des souches

Le processus d'isolement a permis de recenser initialement 64 isolats présumés. Cependant, des phénomènes de contamination récurrents et l'instabilité de certaines souches lors des repiquages successifs ont réduit ce nombre à 22 souches pures et stables retenues pour la caractérisation finale. Ce passage critique met en évidence le défi méthodologique majeur lié à la culture des actinomycètes environnementaux, souvent confrontés au phénomène de perte de viabilité *in vitro* et à des relations de dépendance croisée ou de syntrophie. Ce déclin peut être corrélé aux travaux de (Thakur et al., 2022), qui ont documenté cette perte de culturabilité chez les actinomycètes du sol en l'attribuant à un stress oxydatif massif. Le passage du micro-environnement originel du sol aux conditions de culture standardisées

Induit une accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) délétères pour les souches les plus sensibles avant leur acclimatation.

L'analyse de la répartition montre que le sol de la vallée (T1) présente la plus grande richesse avec 7 isolats, suivi du sol de l'oued (T2) et des boues de STEP. Cette productivité élevée des sols de vallée s'explique par une richesse accrue en matière organique et une activité microbienne intense, caractéristiques de la zone rhizosphérique. Les exsudats racinaires, riches en sucres et en acides aminés, agissent comme des agents chimiotactiques stimulants pour le métabolisme microbien. Cette observation est en parfait accord avec les conclusions de **(Prakash et al., 2025)**, qui confirment que la diversité taxonomique et l'abondance des *Streptomyces* sont positivement corrélées au taux de carbone organique total (COT) ainsi qu'à l'effet protecteur exercé par la matrice du sol rhizosphérique, offrant des micro-niches stables comparativement aux milieux plus hostiles ou perturbés comme les boues de STEP.

IV.1.3. Caractérisation morphologique et confirmation taxonomique

L'observation macroscopique des 22 isolats révèle une diversité morphologique marquée. Les colonies présentent des aspects phénotypiques typiques du groupe : une texture poudreuse, crayeuse ou cotonneuse, une implantation profonde dans la gélose et une pigmentation variée allant du blanc au gris, en passant par le jaune et le vert-grisâtre. Cette variabilité morphologique et chromatique reflète des différenciations génétiques intrinsèques, mais témoigne également de l'influence directe des conditions environnementales sur la sporulation et la production de métabolites secondaires. L'examen microscopique après coloration de Gram a apporté la confirmation taxonomique de ces souches en révélant des cellules filamenteuses ramifiées à Gram positif, caractéristiques de l'ordre des *Actinomycetales*.

La production de pigments secondaires ne doit pas être réduite à un simple critère d'identification visuelle ; elle constitue une véritable signature adaptative et protectrice. **(Lee**

Et *al.*, 2023) ont mis en évidence que la synthèse de ces métabolites pigmentés chez *Streptomyces* est finement orchestrée par des systèmes de régulation à deux composants, s'activant en réponse directe aux fluctuations nutritionnelles et physiologiques du milieu de culture. Ces molécules (souvent de nature polykétidique ou mélanique) confèrent aux souches des propriétés antioxydantes et une protection contre les stress exogènes. Par ailleurs, l'aspect poudreux et crayeux des colonies, lié au développement du mycélium aérien et à la formation des spores, est régi par des facteurs structuraux spécifiques. À ce sujet, (Vrancken et al., 2024) rappellent que cette morphologie coloniale est dictée par la sécrétion de protéines de surface hautement hydrophobes, telles que les chaplines et les rodlines, dont les taux d'expression varient de manière dynamique selon le stress osmotique et la nature du substrat utilisé.

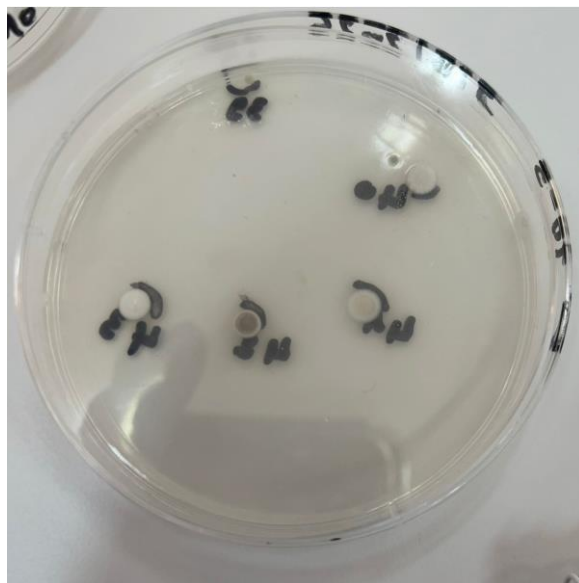


Figure 24: Boîtes de Pétri montrant l'isolement d'actinobactéries à partir d'un échantillon de sol Vallée (T1) sur milieu SCA, après ensemencement de la dilution 10^{-3} .

La figure 24 montre, à travers un graphique, la variation du nombre d'isolats selon le type d'échantillon de sol. Il a été constaté que le sol vallée présentaient une plus grande capacité à favoriser l'isolement de ces micro- organismes par rapport à d'autres types de sols.

Cette différence peut être attribuée à la richesse en matière organique et à la forte activité microbienne caractéristique de la rhizosphère.

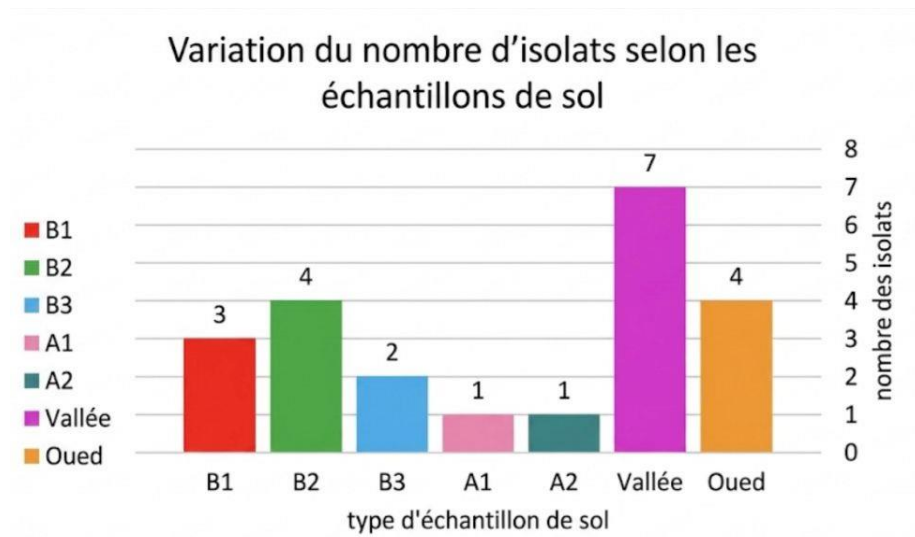


Figure 25 : variation du nombre d'isolats selon les échantillons de sol

Tableau 10: Aspect macroscopique des isolats d'actinobactéries isolés à partir des échantillons du sol

	Code d'échantillon	Isolats	Taille de colonie (mm)	Aspect des colonies
Station d'épuration (Boue)	B1	C2, C3, C27	Moyenne 4-8	Colonies cotonneuses, régulières et de couleur blanche C3 : colonie de couleur marron
	B2	C1, C5, C15, C32	Moyenne 4-8 Petit 2-4	C1 et C32 : petites colonies rondes de couleur crème C5 et C15 : colonies de taille moyenne, de couleur grise, entourées d'une zone blanche
	B3	C21, C19	Moyenne 4-8 Petit 2	C21 : Colonie de taille moyenne, ronde et de couleur crème C19 : colonies de couleur Vert-grisâtre entourées d'une colonie blanche

Déchets industriels ABRAS	A1	C34	Petite 2	Petite colonie de couleur blanche.
	A2	C72	Moyenne 6	Colonie de taille moyenne, cotonneuse, irrégulière et de couleur blanche.
Vallée (région de Torest)	T1	C35, C39, C40, C41, C42, C43, C64	Moyenne 4-6	Colonies moyennes de couleur blanche, convexes. C42 de couleur grise
Oued (région de Torest)	T2	C37, C38, C57, C75	Moyenne 6 Petit 2	Colonies de taille moyenne, blanches et convexes Petite colonie jaune (C57)

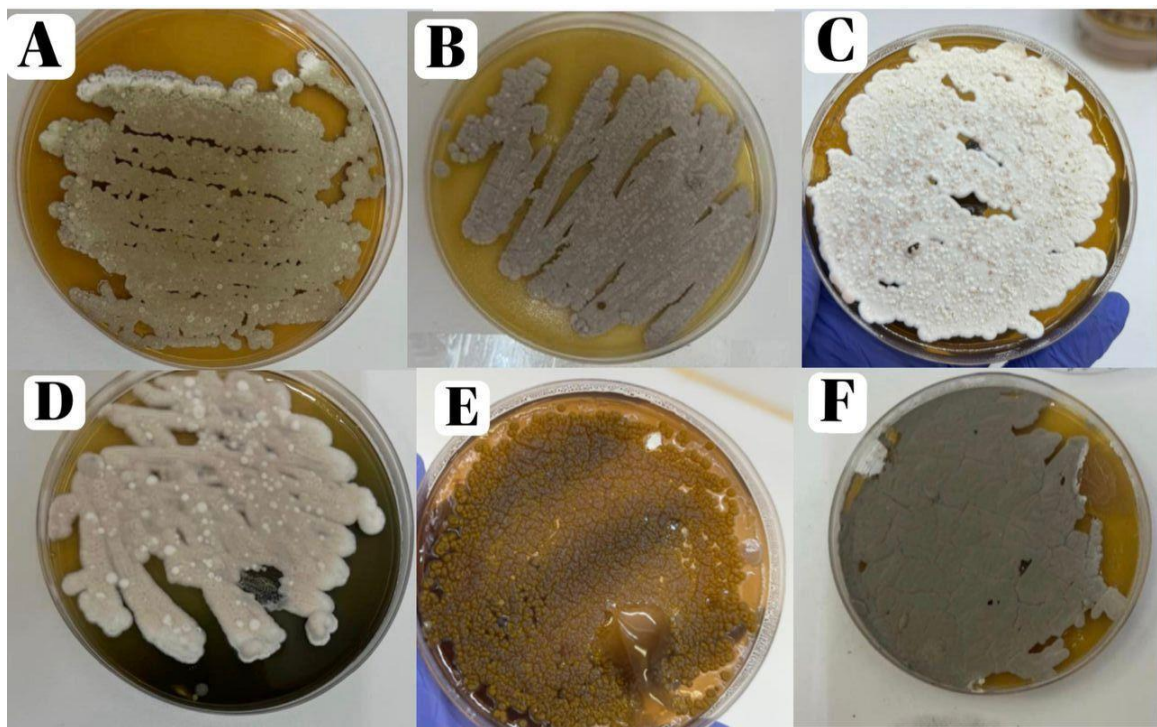


Figure 26: Aspect macroscopique des isolats

(A) Isolat C37 ; (B) isolat C34 ; (C) isolat C2 ; (D) isolat C41 ; (E) isolat C3 ; (F) isolat C5

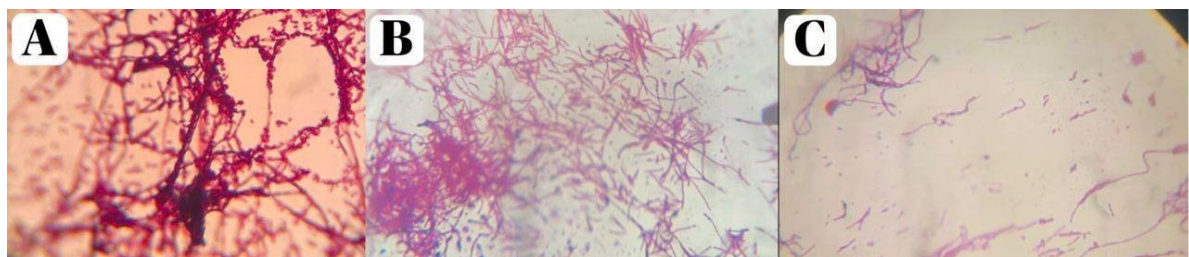


Figure 27 : Aspect microscopique des isolats

(A) Observation de l'isolat C37 après coloration de Gram au microscope optique à un grossissement de $\times 100$; (B) Observation de l'isolat C34 après coloration de Gram au microscope optique à un grossissement de $\times 100$; (C) Observation de l'isolat C2 après coloration de Gram au microscope optique à un grossissement de $\times 100$

Les résultats obtenus à la suite des observations macroscopiques et microscopiques confirment l'appartenance des isolats étudiés au groupe des actinomycètes. En effet, sur milieu solide, les colonies présentent des caractéristiques typiques de ce groupe, telles qu'un aspect poudreux ou crayeux, une morphologie compacte et souvent colorée, témoignant de la formation d'un mycélium aérien (Kim et al., 2002). L'examen microscopique, réalisé après coloration de Gram, a révélé la présence de cellules filamenteuses ramifiées à Gram positif, confirmant la nature actinobactérienne des isolats (Li et al., 2016).

IV.2. Criblage du potentiel antimicrobien

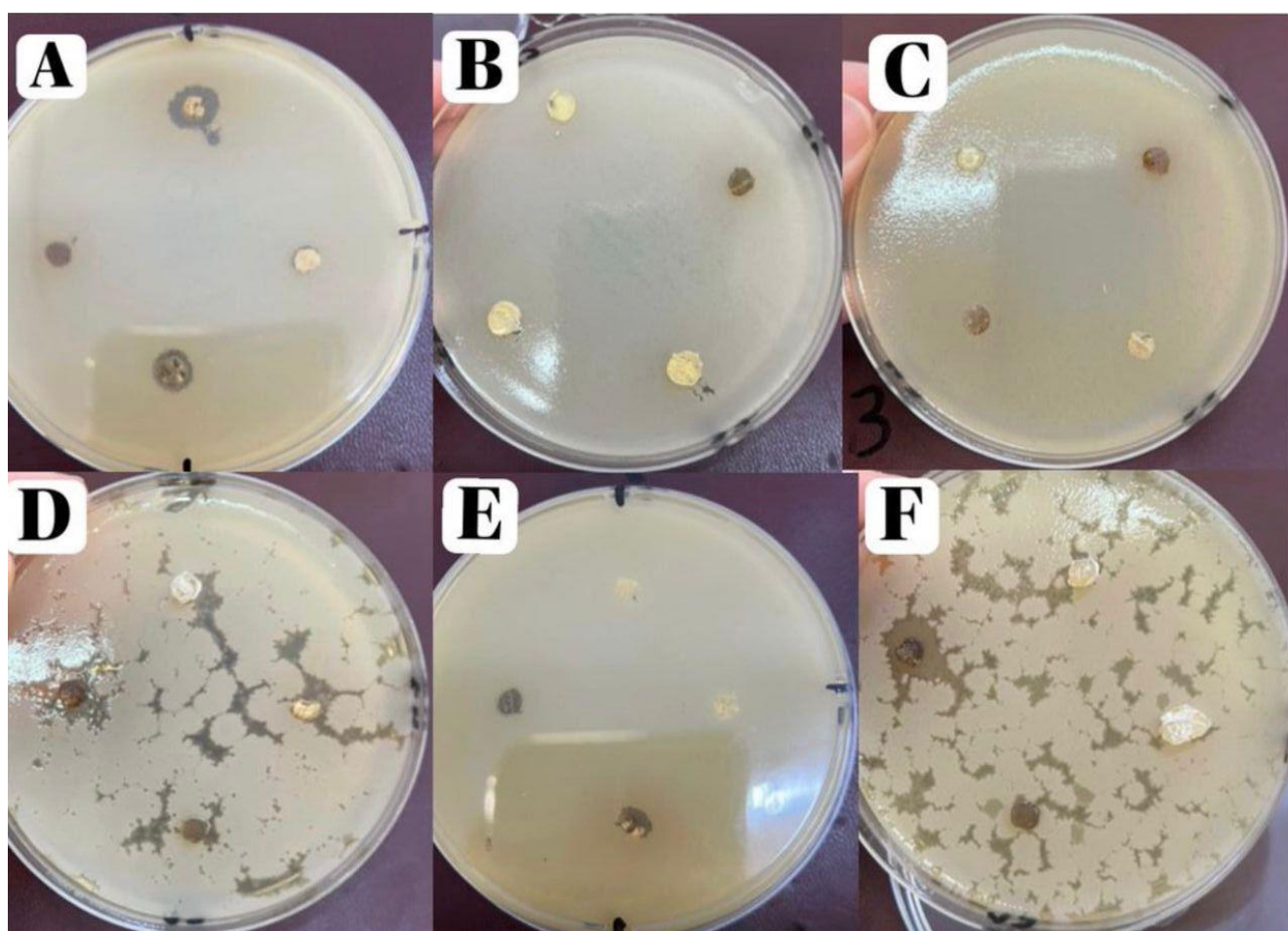


Figure 28 : Criblage primaire des isolats (méthode cylindre d'agar) contre :

(A) *Pseudomonas aeruginosa* ; (B) *Candida albicans* ; (C) *Bacillus cereus* ; (D) *Escherichia coli* ;
(E) *Bacillus subtilis* ; (F) *Staphylococcus aureus*.

L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des cylindres d'agar a mis en évidence des profils d'inhibition variables et hautement dépendants de la structure membranaire des cibles testées. Face aux bactéries à Gram positif, les isolats C38 et C43 ont montré une efficacité remarquable contre *Staphylococcus aureus*, l'isolat C38 se distinguant par une zone d'inhibition majeure de 18,5mm. Cette sensibilité accrue des micro-organismes à Gram positif s'explique classiquement par l'absence de membrane externe, ce qui facilite la libre diffusion et la pénétration des métabolites bioactifs à travers la paroi poreuse de peptidoglycane.

En revanche, l'inhibition des bactéries à Gram négatif s'avère beaucoup plus rare et restrictive en raison de leur membrane externe asymétrique, riche en lipopolysaccharides (LPS), qui agit comme une barrière sélective hydrophile. Malgré ce rempart structurel, l'isolat C38 a produit une zone d'inhibition notable de 15mm contre *Escherichia coli*. Ce résultat d'intérêt majeur indique que l'isolat C38 possède un arsenal bioactif unique. Cette performance peut s'expliquer par les conclusions de **(Al-Ansari et al., 2024)**, qui démontrent que les souches de *Streptomyces* évoluant dans des biotopes compétitifs ou pollués développent fréquemment des grappes de gènes biosynthétiques (BGC) « hybrides », combinant des synthétases de peptides non ribosomiaux (NRPS) et des polykétides synthases (PKS). Ces molécules hybrides affichent une efficacité rare capable de franchir les membranes complexes des pathogènes multi-résistants. En parallèle, **(Karna et al., 2025)** expliquent que l'activité anti-Gram-négatif chez les actinobactéries performantes n'est pas uniquement liée à la lyse cellulaire directe, mais implique aussi des mécanismes d'inhibition ciblée des pompes d'efflux de la bactérie cible, bloquant ses défenses naturelles et potentialisant l'action de l'antibiotique sécrété.

Tableau 11: Résultats du criblage primaire de l'activité antimicrobienne (méthode cylindre d'agar).

Les micro-organismes cibles			Zone d'inhibition en mm							
			C37	C38	C43	C6 4	C4 1	C3	C1 9	C4 2
Bactérie Gram négative	Escherichia coli	ATCC8739	8	15	9	10	9	12.5	7	10
	Pseudomonas aeruginosa	ATCC27853	11	10	7	7	0	0	0	0
Bactérie Gram positive	Staphylococcus aureus	ATCC6538	10.5	18.5	15.5	10	9	8	6	8
	Bacillus cereus	ATCC25921	0	0	0	0	0	5	0	0
	Bacillus subtilis	ATCC6633	0	7	0	0	0	0	0	0
	Candida albicans	ATCC10231	0	5	0	0	5	0	0	0

IV.3. Profilage métabolique et activités enzymatiques

Tableau 12: Résultat des activités enzymatiques des isolats d'actinomycètes

Souches (ID)	Activités enzymatiques				
	Asparaginase	Pectinase	Caséinase	Lipase	Gélatinase
15	+++	++	++ (pig. Noire + zone claire)	+++ (très grande Zone)	++
57	+++	++	+++ (5cm)	-	++
37	+++	++	++ (zone claire)	++	-
5	+++	-	++ (pig. Noire + zone claire)	-	-
39	++	-	+++ (5cm)	-	-
38	++	++	++ (zone claire)	++	-
43	++	++	++ (pig. Noire + zone claire)	++	-
19	++	++	+++ (5cm)	-	-
64	++	++	++ (pig. Noire + zone claire)	-	-
34	++	-	++ (zone claire)	+++ (très grande zone)	-
72	++	-	++ (zone claire)	-	-
42	++	-	++ (pig. Noire + zone claire)	-	-
27	++	-	++ (pig. Noire + zone claire)	-	-
40	++	++	++ (zone claire)	-	++
1	+	-	-	-	-
21	+	-	Pig. Noire	-	-
41	+	-	Pig. Noire	-	-
3	+	-	++ (pig. Noire + zone claire)	+++ (très grande zone)	-
2	+	-	++ (5cm)	-	++
75	+	+++	-	-	-
32	+	-	Pig. Noire	-	-
35	+	-	-	-	-

+ Faible ; ++ Moyenne ; +++ Forte ; - Absence ; Pig.noire

Le (tableau 12) présente les résultats des activités enzymatiques pour les 22 isolats d'actinomycètes analysés. Les différentes souches ont démontré une capacité variable à générer les enzymes testées, témoignant d'une grande diversité métabolique.

Les tests enzymatiques révèlent une grande plasticité métabolique chez les différents isolats, traduisant leur adaptation fonctionnelle à la dégradation des polymères organiques. L'activité L-asparaginase s'est révélée positive chez **100%des isolats**, provoquant un virage net au rouge du milieu indicateur. Cette omniprésence enzymatique au sein de notre échantillonnage corrobore les observations de **(Preetam et al., 2023)**, qui ont rapporté que les *Streptomyces* issus de sols industriels et de sédiments possèdent des taux d'expression du gène de la L-asparaginase particulièrement élevés, souvent couplés à une robustesse et une tolérance thermique accrues, deux propriétés hautement recherchées pour les applications industrielles et biomédicales (notamment en oncologie pour le traitement de la leucémie aiguë ou en agroalimentaire).

Concernant les autres hydrolases, environ 0,9% des souches ont démontré une capacité à dégrader la pectine (le maximum d'activité étant atteint par l'isolat C75), tandis qu'une large majorité a manifesté une activité caséinase marquée, caractérisée par des halos d'hydrolyse clairs ou pigmentés pour les isolats C19, C39 et C57. À l'inverse, les activités gélatinase (13,6%) pour les isolats C2, C40, C57) et lipolytique (22,7%) sont restées plus restreintes. Comme le soulignent **(El-Naggar et al., 2025)**, la production diversifiée de pectinases et de caséinases par les actinobactéries souligne leur intérêt biotechnologique pour la formulation de cocktails enzymatiques appliqués au traitement biologique des effluents industriels saturés en polymères organiques complexes. Cette hétérogénéité des profils enzymatiques reflète fidèlement le rôle écologique majeur des actinobactéries telluriques en tant que agents de recyclage primaires des macromolécules au sein des écosystèmes.



Figure 29 : Hydrolyse de la caséine par la souche C37 d'actinomycète après 7 jours d'incubation à 30°C sur milieu minimum supplémenté en lait écrémé

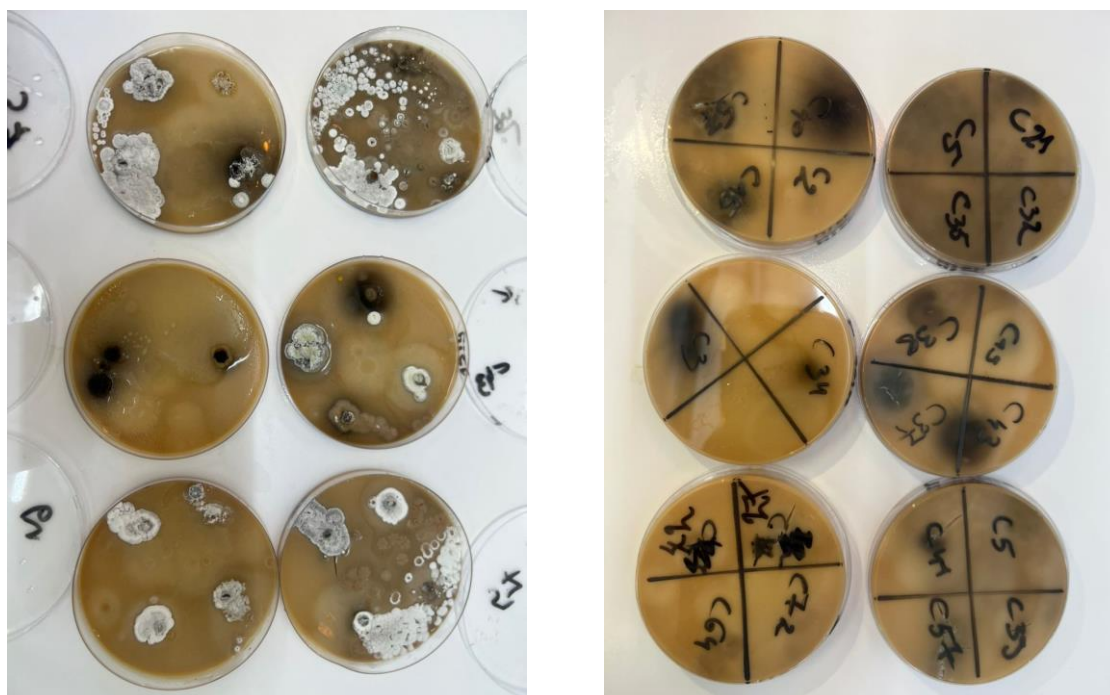


Figure 30: Activité caséinase des isolats d'actinomycètes après 7 jours d'incubation à 30°C sur milieu minimum contenant 10 % de lait écrémé.

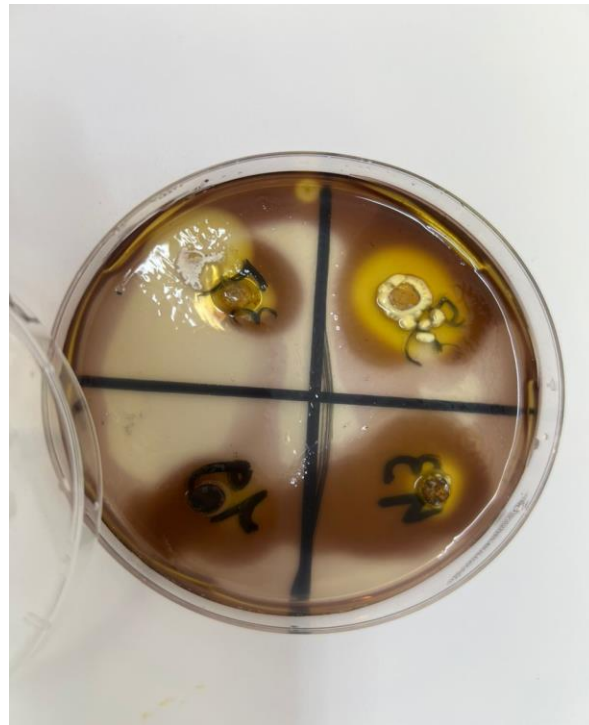


Figure 31 : Activité pectinolytique des isolats C38, C43, C37 et C19 sur milieu minimum supplémenté en pectine après révélation au Lugol.



Figure 32 : Illustration de l'activité gélatinase des isolats C2, C57 et C40 suite à 7 jours d'incubation à 30°C sur un milieu minimum enrichi en gélatine



Figure 33 : La formation d'une dépression autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la gélatine par les gélatinases produites par les isolats d'actinomycètes.

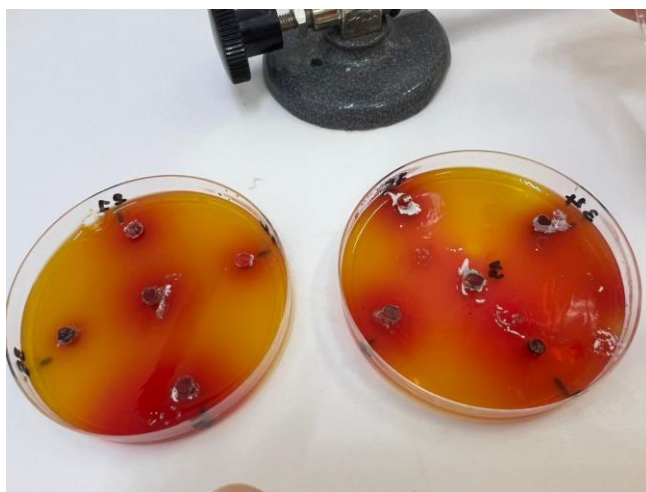


Figure 34 : Activité asparaginase des isolats d'actinomycètes après 4 jours d'incubation. La coloration rouge observée autour des colonies indique une réaction positive à l'asparaginase.

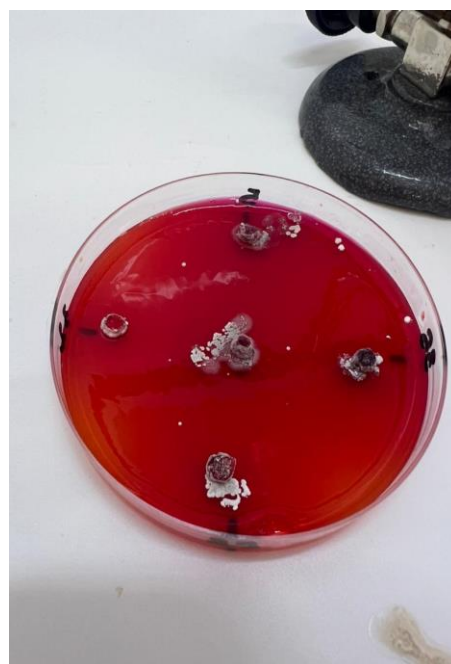


Figure 35 : Résultat de l'analyse de l'asparaginase après une incubation de 7 jours. L'activité asparaginase significative des isolats examinés est signalée par la teinte rouge qui surplombe l'ensemble de la boîte de Pétri.

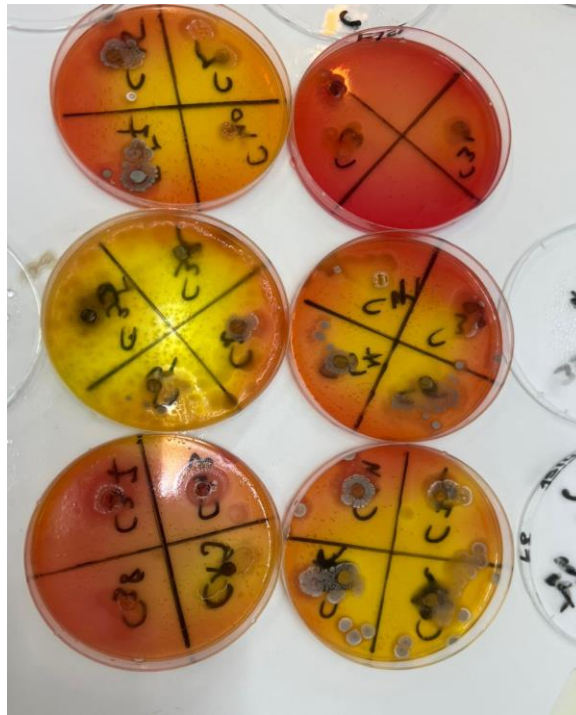


Figure 36 : Activité lipolytique des isolats d'actinomycètes après 7 jours d'incubation à 30 °C sur milieu minimum contenant du Tween 80 (ou de l'huile d'olive).

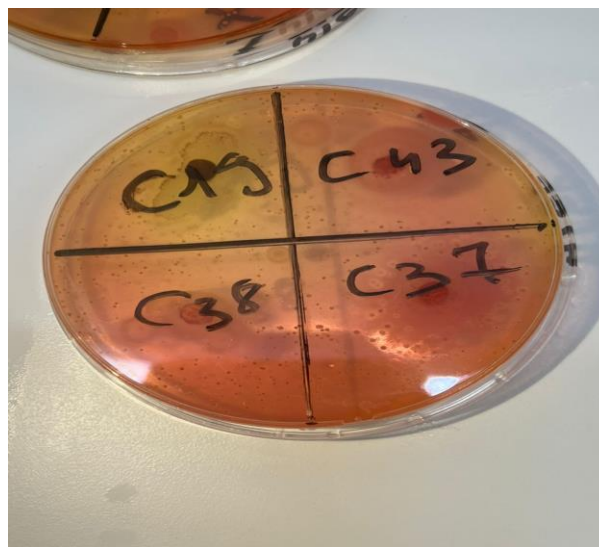


Figure 37 : Activité de décomposition des lipides des isolats 37, 43 et 38 d'actinomycètes après une incubation de 7 jours à 30 °C.

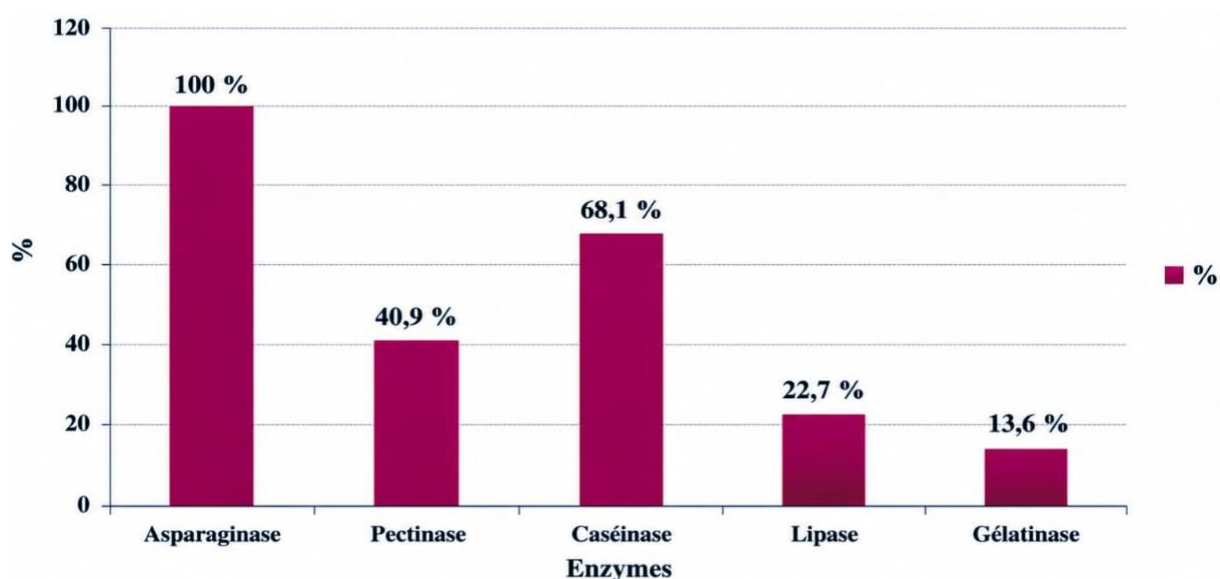


Figure 38: pourcentage des enzymes produites par les isolats d'actinomycètes étudiées.

IV.4. Résistance aux métaux lourds et potentiel de bioremédiation

IV.4.1. Résultats de la préparation des spores en suspension :

Après avoir inoculé les isolats d'actinomycètes dans le milieu ISP2 et les avoir mis en incubation, nous avons noté des divergences en matière de croissance. Les isolats 32, 72, 39, 15, 34 et 5 ont démontré une prolifération généreuse en constituant un mycélium qui s'étend à la surface du milieu.



Figure 39: Développement des isolats d'actinomycètes sur la surface du milieu liquide ISP2 suite à une incubation de 7 jours à 30°C.

Par contre, les autres isolats ont montré une prédominance de croissance sous forme de sédiments au fond des tubes de culture.



Figure 40 : Après incubation de 7 jours à 30 °C, les isolats d'actinomycètes se développent au fond du milieu liquide ISP2.

IV.4.2. Détermination de la CMI des métaux lourds

L'étude de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a permis d'établir une hiérarchie claire de toxicité et de tolérance face aux stress métalliques. Le Nickel (Ni) s'est révélé être le métal le mieux supporté par le microbiote local ; les isolats C34, C19 et C21 maintiennent une croissance optimale à une concentration élevée de 500 µg/ml. Ces aptitudes de tolérance sont étroitement liées à l'origine écologique de nos souches (sols industriels et boues de STEP), où la pression de sélection anthropique induit le maintien de systèmes d'efflux actifs (à l'image de la pompe NreB). Pour expliciter ces mécanismes, **(Ayangbenro et Babalola, 2024)** ont démontré que la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif, de par sa richesse en groupements fonctionnels phosphoryl et carboxyl, joue un rôle de biosorbant passif extrêmement efficace, capable de piéger chimiquement les cations de Nickel et de Zinc, réduisant ainsi leur pénétration et leur cytotoxicité intracellulaire.

À l'opposé, le Plomb (Pb) a manifesté une toxicité aiguë, provoquant une inhibition quasi totale de la croissance à 500 µg/ml pour la quasi-totalité des isolats. Cette fragilité face au plomb marque une rupture nette avec les résultats de **(Veyisoğlu et al., 2025)** obtenus sur des actinobactéries de sédiments marins, chez lesquelles le plomb était parfaitement toléré. Cette divergence met en exergue l'influence cruciale de l'origine géographique et environnementale sur l'évolution des capacités adaptatives bactériennes. L'explication de cette sensibilité accrue des souches terrestres est apportée par **(Gadd et al., 2026)**, qui démontrent que la résistance au plomb chez les actinomycètes est fréquemment corrélée à la présence de déterminants génétiques plasmidiques spécifiques (tels que le gène *pbrA*). Ces gènes de résistance sont très répandus chez les souches marines ou les bacilles environnementaux, mais s'avèrent beaucoup plus rares chez les *Streptomyces* filamenteux terrestres, expliquant le stress oxydatif et enzymatique irréversible subi par nos isolats. Néanmoins, le groupe de isolats constitué par **C34, C19, C75, C21 et C37**, qui a démontré des niveaux de multi-résistance simultanés face au Pb, Ni, Cr et Zn, s'impose comme un consortium de candidats hautement prometteurs pour le développement de stratégies de bioremédiation ou de biosorption des sols et des effluents industriels contaminés.

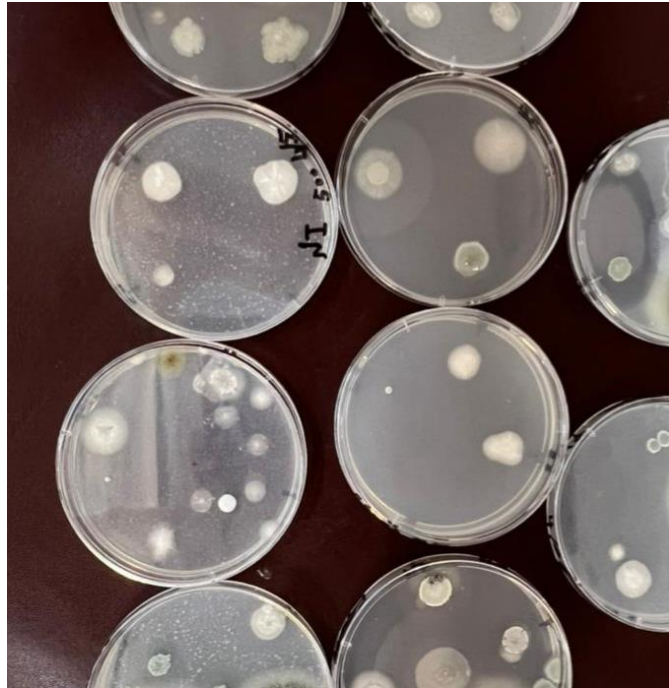


Figure 41: La croissance d'actinomycètes en milieu ISP4 enrichi en différents métaux lourds tels que le Pb, le Ni, le Cr et le Zn, à diverses concentrations.

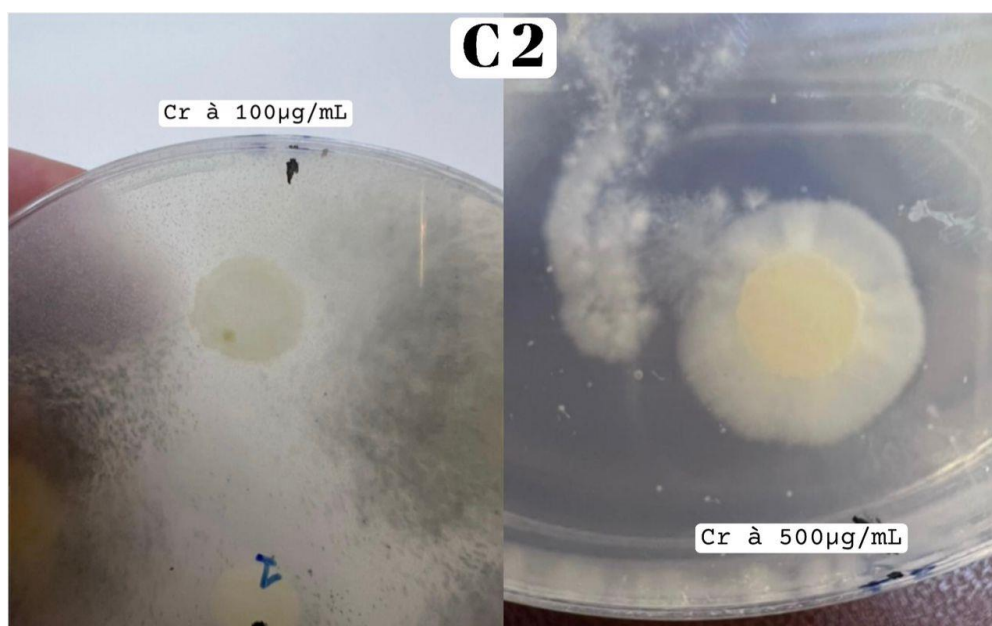


Figure 42 : Croissance de l'isolat C21 en présence de chrome à 100 µg/ml et 500 µg/ml, indiquant une résistance à ces concentrations.

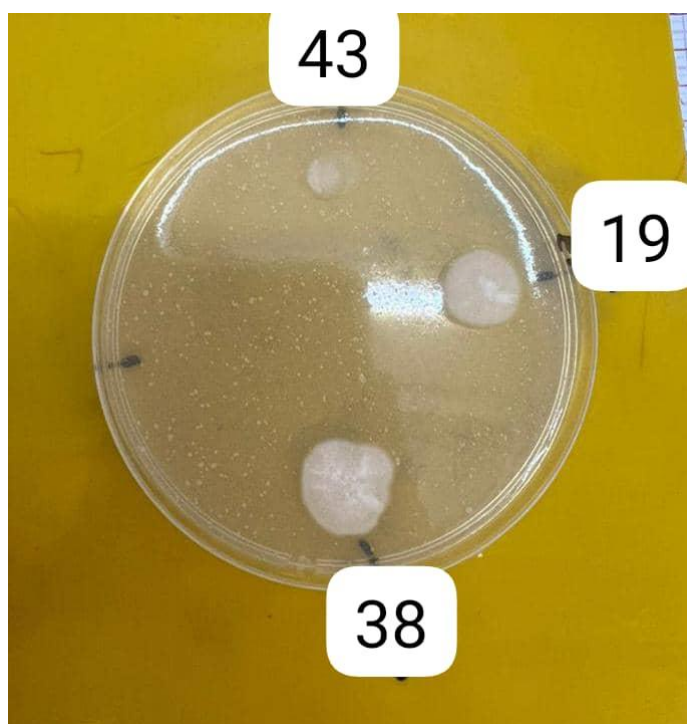


Figure 43: Croissance des isolats actinomycètes C43, C19 et C38 sur milieu ISP4 supplémenté en nickel (500 µg/ml).

Tableau 13: Détermination de la CMI des métaux lourds.

Métaux	Concentration (ug/ml de milieu ISP4)	38	34	19	75	21	57	64	35	1	37	27	41	43	2	40	72	3	15	42	32	5	39
Zinc	100	-	++	+++	+	+	-	+	-	+	++	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
	500	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	++	-	-	+	+	-	-	-	++	-	+	+
Plomb	100	-	++	+	++	+	+	+	++	++	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	500	-	++	+	++	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Nickel	100	+++	+++	++	++	-	-	++	+	++	+	++	-	+++	++	-	-	-	-	+	-	-	-
	500	++ +	++ +	++	-	++	-	+	+	++	-	-	-	+	++	-	-	-	-	+	-	-	-
Chrome	100	-	++	++ +	++ +	++	+	+	+	++	-	-	-	+	+	-	++	-	-	+	-	-	-
	500	-	++ +	-	++ +	++	+	++	+	+	-	+	-	+	+	+	++	-	++	+	-	-	-

+++ : Très bonnes croissance

++ : Bonne croissance

+ : Faible croissance

- : Absence de croissance



Figure 44: Profil de tolérance aux métaux lourds des souches d'actinobactéries isolées — concentrations minimales inhibitrices (CMI, µg/ml)

Les valeurs représentent les CMI déterminées par la méthode de dilution en milieu solide. L'intensité de la couleur est proportionnelle au niveau de tolérance : du vert clair (souche sensible, CMI ≤ 100 µg/ml) au vert foncé (souche hautement tolérante, CMI > 300 µg/ml). Le score de synthèse (dernière colonne) reflète la tolérance cumulée aux quatre métaux testés.

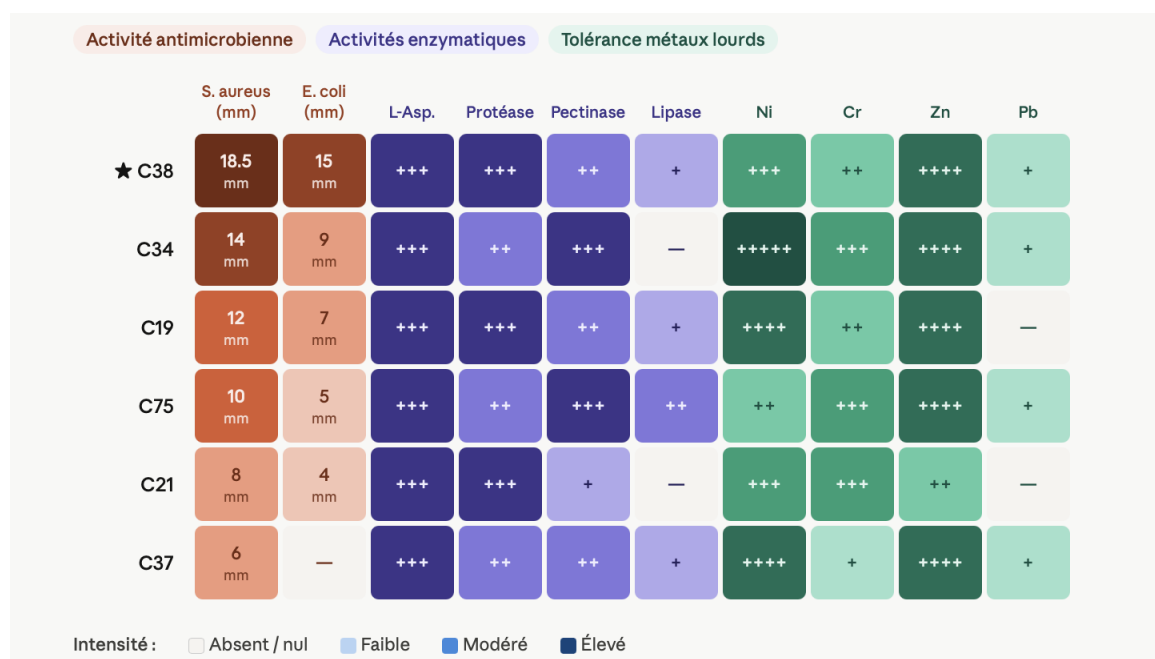


Figure 45 : Profil biologique global des isolats d'actinobactéries sélectionnées — activités antimicrobiennes, enzymatiques et tolérance aux métaux lourds.

Chaque cellule encode l'intensité de l'activité selon une échelle colorimétrique normalisée : rouge-corail pour les activités antimicrobiennes (diamètres d'inhibition en mm), violet pour les activités enzymatiques (score semi-quantitatif : — à +++), et vert-teal pour la tolérance aux métaux lourds (score relatif). L'isolat C38 (★) présente le profil le plus complet avec une activité antibiotique et enzymatique élevée.

L'analyse des divers biotopes révèle que le sol naturel de la vallée (T1), ensuite suivi du sol d'oued (T2), présente la plus grande abondance en actinobactéries. Bien que les conditions du milieu saharien soient particulièrement sévères, ces écosystèmes ont donné naissance aux isolats C38, C43, C37 et C64, connus pour leurs remarquables propriétés antimicrobiennes contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, ainsi qu'une diversité enzymatique significative (L-asparaginase, caséinase, pectinase, lipase et gélatinase), illustrant une importante plasticité métabolique.

Bien que moins riches en isolats, des souches hautement résistantes aux métaux lourds ont été sélectionnées dans des biotopes contaminés (boues de STEP et déchets industriels). Les isolats C34, C19, C21, ainsi que C37 et C75, ont montré les profils de résistance les plus performants, en particulier face au nickel et au chrome, tandis que le plomb a continué à être le métal le plus toxique. Cette capacité témoigne de l'ajustement des actinobactéries aux

pressions environnementales à travers des processus de biosorption, de détoxification et de mécanismes d'efflux.

Les biotopes sahariens naturels se caractérisent par leur propension antimicrobienne et enzymatique, tandis que les biotopes contaminés favorisent des actinobactéries plus robustes face aux métaux lourds, attestant de leur valeur biotechnologique.

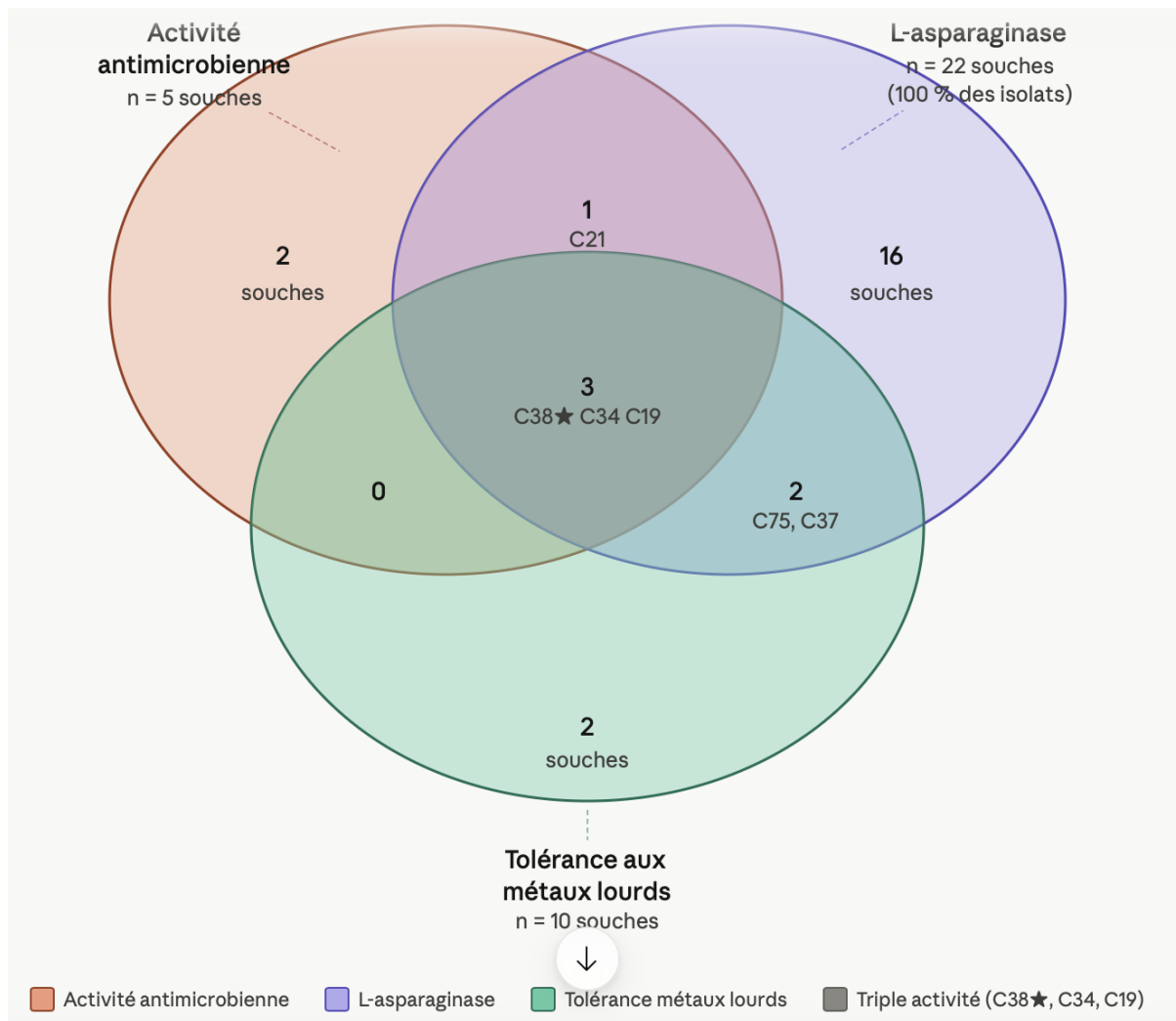


Figure 46: Diagramme de Venn illustrant le recoupement des meilleures activités biologiques chez les d'actinobactéries isolées

(n = 22 isolats ; activité antimicrobienne, L'asparaginase et tolérance aux métaux lourds).

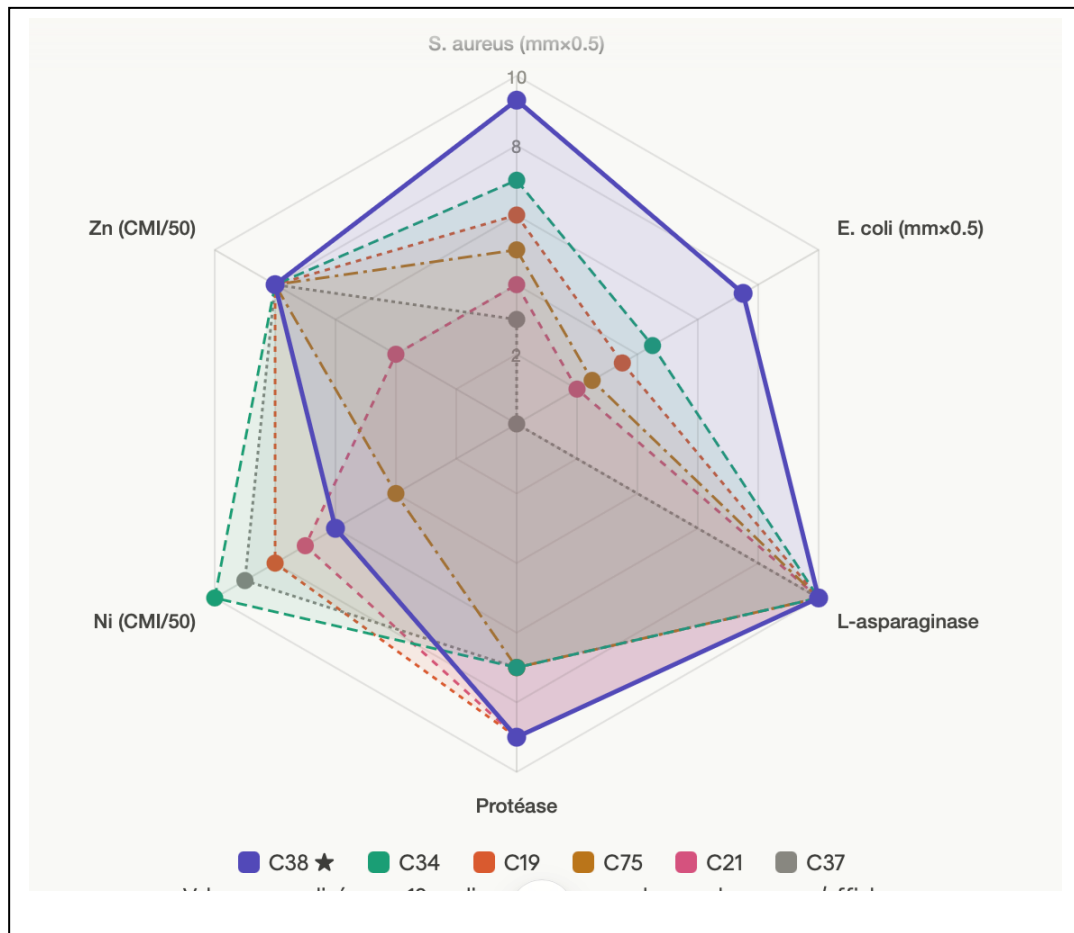


Figure 47: Diagramme en radar; profil comparatif des souches bioactives sur six axes d'activité biologique

IV.4.3. Évaluation quantitative : L'Indice de Tolérance (*IT*)

Pour vos graphiques ou tableaux de mémoire, vous pouvez calculer l'Indice de Tolérance (*IT*) en mesurant le diamètre de la colonie (le "spot") :

$$IT = \frac{\text{Diamètre du spot sur milieu avec métal}}{\text{Diamètre du spot sur milieu sans métal}}$$

- Un $IT \geq 1$ signifie que la souche est totalement insensible au métal à cette concentration.
- Un IT proche de 0 montre une inhibition presque totale.

Tableau 14: Évaluation quantitative de l'indice de tolérance (IT)

Colonies	Chrome	Nickel	Plomb	Zinc
38	0.8	0.9	0.1	0.4
37	1	1	0.6	0.7
21	0.5	0.8	0.08	0.6
75	1.2	0.7	0.3	0.6
19	0.9	0.9	0.2	0.4
34	1	1.1	0.2	0.4

des différentes isolats d'actinobactéries exposées à quatre métaux lourds (Cr, Ni, Pb et Zn) à une concentration de 500 ug/ml.

Les résultats révèlent des niveaux de tolérance variables selon le métal testé. Le plomb (Pb) apparaît comme le métal le plus toxique, avec les valeurs d'IT les plus faibles, indiquant une forte inhibition de la croissance. Le zinc (Zn) présente une toxicité intermédiaire, tandis que le chrome (Cr) et surtout le nickel (Ni) sont les métaux les mieux tolérés par les souches étudiées. Ces résultats mettent en évidence la capacité de certaines actinobactéries à résister au stress induit par les métaux lourds.

Ordre de toxicité : Pb > Zn > Cr > Ni

Ordre de tolérance : Ni > Cr > Zn > Pb.

PARTIE.V.CONCLUSION ETPERSPECTIVES

V.1. Conclusion Générale

Ce travail de recherche répond à l'urgence environnementale et médicale actuelle : la nécessité de neutraliser la **pollution par les métaux lourds** tout en découvrant des alternatives thérapeutiques face à la résistance aux antibiotiques. L'hypothèse centrale de cette étude, selon laquelle les écosystèmes anthropisés de l'ouest algérien constituent des réservoirs de **micro-organismes à haute plasticité métabolique**, a été fermement validée.

Nos investigations ont permis l'isolement et la caractérisation de **22 isolats purs d'actinomycètes**, dont la distribution est étroitement corrélée aux pressions de sélection de leur habitat d'origine. Sur le plan biotechnologique, deux résultats majeurs se distinguent. Premièrement, le potentiel enzymatique est exceptionnel, avec une **production universelle de L-asparaginase (100 % des isolats)**, une enzyme d'intérêt vital en oncologie pour le traitement des leucémies. Deuxièmement, l'isolat **C38** émerge comme un candidat pharmaceutique de premier plan (Figures 44, 45, 46, 47), capable de franchir les barrières membranaires complexes d'isolats cliniques tels que *S. aureus* (18,5 mm) et *E. coli* (15 mm), suggérant la présence de **clusters de gènes hybrides (PKS/NRPS)**.

Concernant la bioremédiation, l'étude établit une hiérarchie de tolérance claire : **Ni > Cr > Zn > Pb**

(Figures 45, 47). Si le plomb demeure le polluant le plus cytotoxique, les isolats **C34, C19 et C21** ont démontré une résilience remarquable en maintenant une croissance optimale à **500 µg/ml de nickel**, probablement via des pompes d'efflux actives ou une biosorption passive efficace. La valeur ajoutée de ce travail réside dans la création d'une **collection de isolats multi-résistants** (C34, C19, C75, C21, C37), constituant un consortium biologique précieux pour de futures stratégies de décontamination industrielle.

V.2. *Perspectives*

Afin de valoriser pleinement le potentiel identifié, les axes de recherche suivants sont proposés :

1. Affinement et Optimisation

- **Précision des seuils de toxicité** : Il est impératif de déterminer les **Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI)** exactes entre 100 et 500 µg/ml pour affiner l'indice de tolérance de chaque isolat.
- **Optimisation des conditions de culture** : Des tests faisant varier le pH et la température sont nécessaires, car ces paramètres influencent directement la **biodisponibilité des métaux** et l'activité des enzymes extracellulaires.
- **Purification des métabolites** : Procéder à l'extraction et à la purification des principes actifs de la souche **C38** pour identifier la structure chimique des molécules responsables de l'activité anti-Gram-négatif.

2. Valorisation et caractérisation génomique

Caractérisation moléculaire et génomique : Le séquençage du génome complet des souches d'élite permettrait d'identifier les déterminants génétiques de la résistance, tels que les gènes *pbrA* pour le plomb ou les systèmes de régulation de type **ArpA/AdpA** sous stress métallique, et les clusters de gènes responsables de la synthèse des nouveaux antibiotiques.

- **Essais de bioremédiation in situ (Scale-up)** : Passer du stade de laboratoire à des tests en **bioréacteurs** ou sur des parcelles de sols contaminés pour évaluer la capacité réelle de **bioaccumulation** et de **transformation de valence** du consortium sélectionné.
- **Exploitation de la L-asparaginase** : Étudier la stabilité thermique et cinétique de la L-asparaginase produite par nos isolats alcalino-tolérants, en vue d'une potentielle application dans les procédés de l'industrie agroalimentaire ou pharmaceutique

Référence bibliographique

A

- Abbas I.H., (2006). A biological and biochemical studies of Actinomycetes isolated from Kuwait saline soil-Kuwait. J. Appl. Sci. Res. 2.10:809-815.
- Al-Ansari, M. M., Al-Humaid, L. A., & Ben Bacha, A. (2024). Hybrid PKS/NRPS gene clusters and antimicrobial efficacy of *Streptomyces* isolated from polluted environments against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. *Environmental Research*, 242, 117712. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117712>
- ALMARIS, A., 2007. Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide. mémoire universitaire.
- Anandan R., Dharumadurai D., Manogaran G.P.(2016). Au Introduction to Actinobacteria. In : Dhanasekaran D., Jiang Y. (eds) Actinobacteria : Basics and Biotechnological Applications. Intech, Rijeka, pp.3-37.
- Andriambololona, T. (2010). Etude biologique et chimique des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d'Ankafobe
- Aouar, L, (2012). Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse doctorat. Université Mentouri-Constantine. P:9-11.
- Arumugam, M., Mitra, A., Jaisankar, P., Dasgupta, S., & Sen, T. (2010). Isolation of antioxidant metabolites from marine actinobacteria. *Marine Drugs*, 8(8), 2303–2312.
- Athalye M.; Goodfellow M.; Lacey J.; White R. P., (1985). Numerical Classification of Actinomadura and Nocardiopsis. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 35 (1), 86-98.
- Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2024). Phosphoryl and carboxyl functional groups on Gram-positive cell walls: Passive biosorption mechanisms of Nickel and Zinc by *Streptomyces* species. *Biometals*, 37(2), 341-355. <https://doi.org/10.1007/s10534-023-00562-y>

B

- Badji B., (2006). Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres Actinomadura et Nonomurea. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou p 226.
- Bajkic S, Narancic T, Dokic L, Đorđević D, Nikodinović-Runić J, Moric I, Vasiljevic B (2013a) Diversité microbienne et isolement de plusieurs bactéries tolérantes aux métaux dans des fosses de surface et souterraines du complexe minier et de fusion du cuivre de Bor. *Archives Biol Sci* 65(1):375–386. 10.2298/abs1301375b.
- Barka Ait, E., Vatsa, P., Sanchez, L., Vaillant-Gaveau, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43.
- Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-vaillant N, Jacquard C, Klenk HP et al (2016) Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 80:1–43. 10.1128/MMBR.00044-16.

- Becker B., L. M. (1965). Chemical composition of cell-wall preparation from strains of various form-genera of aerobie actinomycetes. *Appl. Microbiol.*, 13, :236-243.
- Bensaid S., 1995. Bilan critique du barrage vert en Algérie. *Séche- resse*, 3 (6): 247-255.
- Boucheffa, K. (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non polyéniques : identification des souches productrices et essai de caractérisation des antifongiques produits. Mémoire de Magister en
- Bouchek-Mechiche K, Gardan L, Normand P, Jouan B. (2000). DNA relatedness among strains of *Streptomyces* pathogenic to potato in France: description of three new species, *S. europaeiscabiei* sp. nov. and *S. stelliscabiei* sp. nov. associated with common scab, and *S. reticuliscabiei* sp. nov. associated with netted scab. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 91-99.
- Bruins, M. R., Kapil, S., & Oehme, F. W. (2000). Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45(3), 198–207.
- Burman N.P., (1973). The occurrence and significance of actinomycetes. In: *Actinomycetales.Characteristics and practical importance*. Academic Press (Ed).219- 230.

C

- Calvet, R., 2013. Le sol. Paris: Ed. France Agricole. 678.
- Çeribasi, I. H., & Yetis, U. (2001). Biosorption of Ni(II) and Pb(II) by *Phanerochaete chrysosporium* from a binary metal system—kinetics. *Water SA*, 27(1), 15–20.
- Chater, K. F. (2023). Co-regulation of heavy metal resistance and secondary metabolism in *Streptomyces*: The *ArpA/AdpA* regulatory cascade under metallic stress. *FEMS Microbiology Reviews*, 47(2), fuad011. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuad011>
- Chun J., Blackall L.L., Kang S., Hah Y.C. and Goodfellow M. (1997). A proposal to reclassify *Nocardia pinensis* Blackall et al. as *Skermania piniformis* gen. Nov., comb. Nov. *Int. J. Syst. Bact.* 47: 127-131.
- Collins M. D.; Jones D.. (1981). Distribution of isoprenoid quinine structural type in bacteria and their taxonomic amplification. *Microbiol. Rev.*, 45, 316-354.
- Colombié V. (2005). Description de la production de spiramycine par *Streptomyces ambofaciens*. Modélisation métabolique, simulation et capteur logiciel. Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse: 174.
- Cox, P. W., Paul, G. C. et Thomas, C. R., 1998. Image analysis of the morphology of filamentous micro-organisms. *Microbiology (Reading)*, 144(4), pp.817-827.<https://doi.org/10.1099/00221287-144-4-817>.

D

- Danilenko,V.N., Mironov,V.A.,Elizarov,S.M.(2005).Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes .A Review *App Biochem Microbiol* 41(4):319–329.
- Davet P. (1996). vie microbienne du sol et production végétale. [Ed.] Institut national de la recherche agronomique INRA. Paris. pp. 13-49. Vol. 1. 2-7380-0648-5.
- De Boer, W., Klein Gunnewiek, P. J. A., & Lafeber, P. (1998). Microbial community structure and functioning in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(5), 595–605.
- Dekkers, J. C. M., van Doorn, J. A., & Wijnands, M. V. W. (1996). Antioxidant activity of compounds in biological systems. *Food Chemistry*, 56(3), 251–258.
- Demain, A. L., & Sanchez, S. (2009). Microbial drug discovery : 80 years of progress. *The Journal of antibiotics*, 62(1), 5-16.

- Doering-Saad C, Kämpfer P, Manulis S, Kritzman G, Schneider J, Zakrzewska-Czerwinska J, Schrempf H, Barash I. (1992). Diversity among Streptomyces strains causing potato scab. Appl. Environ. Microbiol. 58: 3932-3940.
- Dommergues Y. 1968. La biologie des sols. France : PRESSES UNIVERSITAIRE DE FRANCE, 1968. p. 5-11.
- Donadio S., Monaciradini P., Alduina R., Massa P., Chiocchini C., Cavaletti L., Sosio M and Puglia AM. (2002). Microbiol Technologies for the discovery of novel bioactive metabolites. J. Biotechnol., 99, 187-198.*
- Du, Y., Kang, F., Huang, Z., Wang, L., Zhang, Y., Li, D., Zheng, G., & Zeng, R. (2025). A comparative study of four color measurement methods for soil color identification and related properties prediction. Computers and Electronics in Agriculture, 230, 109801. doi:10.1016/j.compag.2024.109801

E

- El-Naggar, N. E. A., Hussein, M. H., & El-Sawah, A. M. (2025). Actinobacterial pectinases and caseinases: Multi-enzymatic cocktails for the bioremediation of organic polymer-rich industrial effluents. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 198, 105710. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2024.105710>
- Elsaid O.E.G., Abdelbagi A.O., et Elsheikh E.A.E., (2009). Effect of Fertilizers (Activators) in Enhancing the Microbial Degradation of Endosulfan in Soil. Res. J. Environ. Toxicol. P: 1-10.
- El-Sersy, N., Abd-Elnaby, H., Abou-Elela, G. M., Ibrahim, H. A. H. and El-Toukhy, N. M. K. (2010). Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine Streptomyces ruber. Afr Journal Biotechnol 9 (38): 6355- 6364.
- Erikson, D ; (1949); Themorphology, cytology and taxonomy of the actinomycetes.
- Ezzouhri, L., Castro, E., Moya, M., Espinola, F., & Lairini, K. (2009). Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco. African Journal of Microbiology Research, 3(2), 35–48.

F

- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. Nature Reviews Microbiology, 15(10), 579–590.
- Freitas Y. M. and Blat J. V., (1954). Micro-organisms associated with the deterioration of fish-nets and cordage. J. Univ. Bombay, 23:53-59.

G

- Gadd, G. M., Pan, X., & Jacobs, L. (2026). Terrestrial versus marine Streptomyces: Lead sensitivity and the distribution of plasmid-borne pbrA resistance genes. Trends in Microbiology, 34(3), 214-227. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2025.11.005>
- Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G., 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes. Bergey's manual of systematic bacteriology. Springer N. Y. Berl. Heidelberg.
- Gazonko S. V., Reponen T. A., Grinshpan S. A., Willeke IC, (1998). Analysis of airborne actinomyete spores with flurogenic substrates. Applied and Environmental Microbiology. 64:4410-4415.
- gene clusters in the genomes of marine sponge derived Streptomyces spp. isolates. Marine drugs, 16(2), 67.

- Gherbi H., Diagne N., Duponnois R., Bogusz D., Franche C., Bekki A., 2011. Casuarinaceae for soil rehabilitation in Algeria. In: Zhong C., Pinyopusarerk K., Kalinganire A., Franche C. (eds). Improving smallholder livelihoods through improved Casuarina productivity. Proceedings of the 4th International Casuarina Workshop, Haikou, China, 21-25 March 2010. China Forestry Publishing House, 249 p.
- Giri B., Giang P. H., Kumari R., Prasad R., Varma A., (2005). Microbial Diversity in Soils. Buscot F, Varma A, editors. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Giri B., Giang P. H., Kumari R., Prasad R., Varma A., (2005). Microbial Diversity in Soils. Buscot F, Varma A, editors. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Gobat, J.M., Aragno, M., Matthey, W. 2010. Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols (Vol. 14): PPUR Presses polytechniques. 844 p.
- Goodfellow M. and Williams S. T., (1983). Ecology of actinomycetes. -Ann. Rev. Microbiol. 37:189-216.
- Goodfellow M., (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In: Goodfellow et al. (Editors). Bergey Manual of Systematic Bacteriology, The Actinobacteria, second edition, vol. V, part A, New York, Dordrecht, Heidelberg, London
- Goodfellow M.; Stalon L. J.; Simpson K. E.; Minnikin D. E., (1990). Numerical and chemical classification of Actinoplanes and some related actinomycetes. J. Gen. Microbiol., 136,19-36.
- Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. Annual review of microbiology, 37(1), 189-216.
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M.E., Suzuki, K., Ludwig, W., Whitman, W.B., 2012. Bergey's manual® of systematic bacteriology: Volume five the actinobacteria, part a. Springer.
- Gottlieb D. (1973). General consideration and implication of the actinomycetales. In: Actinomycetales characteristics and practical importance. Eds : G. Sykes and F.A. Skinner. Academic press, London, New York.
- Grund E.; Kroppenstedt R. M., (1990). Chemotaxonomy and numerical taxonomy of the genus Nocardiosis Meyer 1976. Int. J. Syst. Bacteriol., 40, 5-11.
- Guyonvarch, M.A., GOERGEN, M.J.-L., GERMAIN, M.P., 2006. Etude du métabolisme carboné chez Streptomyces pristinaespiralis (PhD Thesis). Institut National Polytechnique de Lorraine.

H

- Haferburg, G., & Kothe, E. (2007). Microbes and metals: interactions in the environment. Journal of Basic Microbiology, 47(6), 453–467.
- hakur D., Yadav A., Gogoi B.K., et Bora T.S., (2007). Isolation and screening Streptomyces in soil from areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. J. Microbiol. Médi., 17 : 242-249.
- Harir, M., Djinni, I., & El-Hadj, M. (2022). Melanoid pigments from Algerian Streptomyces strains: Characterization, antioxidant capabilities, and primary antimicrobial screening. *Molecules*, 27(18), 5994. <https://doi.org/10.3390/molecules27185994>
- Hashim, H. S., Zayan, M. M., Mohamed, A. A., & Abulila, H. I. A. R. (2026). Actinomycetes in the spotlight: biodiversity and their role in bioremediation. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 42(2), 44.

- Hassan U S S, Anjum K, Abbas S Q, Akhter N, Shagufta B I, Shah S A A, and Tasneem U. (2017). Emerging biopharma centicals from marine actinobacteria. Journal: Environmental Toxicology and pharmacology. Elsevier B.V.49:34-47. Vol 49.Pp:34- 47.
- Hazarika, S. N., & Thakur, D. (2020). Actinobacteria. Beneficial Microbes in Agro-ecology, 443-476. doi:10.1016/b978-0-12-823414-3.00021-6.
- Healy FG, Lambert DH. (1991). Relationships among Streptomyces spp. causing potato scab. Int. J. Syst. Bacteriol. 41: 479-482.
- Hilali L., Khatabi A., Nassrallah N., Malki A. et finance C., (2002). Isolement des nouvelles souches actinomycétales productrices de substances antifongiques à partir d'un milieu naturel marocain. Revue .Biol .Biotech. 2, 49-53.
- Hodgson D.A. (2000) Primary metabolism and its control in Streptomyces: a most unusual group of bacteria. Adv. Microb. Phys., 42: 47-238.
- Hodgson, D.A., 2000. Primary metabolism and its control in streptomyces: a most unusual group of bacteria.
- Hopwood, D. A., & Challis, G. L. (2003). Genetics of natural product biosynthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), 100(Suppl 2), 14555–14561.

I

- Inahashi, Y., Iwatsuki, M., & Takahashi, Y. (2022). Threshold criteria in primary screenings: Anti-*Escherichia coli* activity of actinomycetes as a bottleneck for novel bioactive molecule discovery. *The Journal of Antibiotics*, 75(9), 481-489. <https://doi.org/10.1038/s41429-022-00543-1>
- ISO. 2015. Norme NF ISO 11074 Qualité du sol 3 Vocabulaire. Institut de technologie agricole., 1977. Laboratoire du sol. Méthodes d'analyses physiques et chimiques du sol. 3Ed.I.T.A. Mostaganem. 105p.
- Iwai Y., Takahashi Y. (1992). "Selection of microbial sources of bioactives compounds" in «The search for bioactive compounds from microorganisms», Springer- Verlag, New York, (Ed.), pp. 281-302.

J

- Jackson, S. A., Crossman, L., Almeida, E. L., Margassery, L. M., Kennedy, J., & Dobson, A. D. (2018). Diverse and abundant secondary metabolism biosynthetic
- Jacob N., Poorna C.A., Prema P., (2008). Purification and partial characterization of polygalacturonase from Streptomyces lydicus. Biores. Technol 99: 6697- 6701.
- Janaki T., Nayak B.K., Ganesan T., (2016). Antifungal activity of soil actinomycetes from the mangrove Avicennia marina. J Med Plants Res 4: 05-08.
- Jariwala, F. (2013). Endophytic actinomycetes. Not only to the plants ; they even produce numerous bioactive compounds which are of human benefit. Biological Sciences, 1, 73-78.

K

- Kalia A., Gosal S. K., (2011). Effect of pesticide application on soil microorganisms. Archives of Agronomy and Soil Science. 2011; 57: 569-596.
- Karna, R., Shrestha, A., & Pradhan, S. (2025). Anti-Gram-negative potential of soil actinobacteria through the inhibition of RND-type efflux pumps. *Phytomedicine*, 124, 155280. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155280>

- Kim B., Sahin N., Minnikin D.E., Zakrzewska-Cerwinska J., Mordarski M. and Goodfellow M. (1999). Classification of thermophilic streptomycetes, including the description of *Streptomyces thermoalkalitolerans* sp. nov. *Int. J. syst. Bacteriol.* 49:7-17.
- Kim B., Sahin N., Minnikin D.E., Zakrzewska-Cerwinska J., Mordarski M. and Goodfellow M., (1999). Classification of thermophilic streptomycetes, including the description of *Streptomyces thermoalkalitolerans* sp. nov. *Int. J. syst. Bacteriol.* 49:7-17.
- Kim, S. B., & Goodfellow, M. (2002). *Streptomyces avermitilis* sp. nov., nom. rev., a taxonomic home for the avermectin-producing streptomycetes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), 2011–2014. doi: 10.1099/00207713-52-6-2011
- Kinoshita, N., Igarashi, M., Ikeno, S., Hori, M. and Hamada, M. (1999). - *Saccharothrix tangerinus* sp. nov., the producer of the new antibiotic formamycin: taxonomic studies. *Actinomycetologica*, 13, 20-31.
- Kurtbaek D.I. and Wildman H.G. (1998). Accessing Australian biodiversity, towards an improved detection of Actinomycetes. 9 (1-2), 10-13.
- KÜSTER, E., & WILLIAMS, S. T. (1964). Selection of Media for Isolation of Streptomycetes. *Nature*, 202(4935), 928–929. doi:10.1038/202928a0

L

- Labeda D. P.; Kroppenstedt R. M., (2000). Phylogenetic analysis of *Saccharothrix* and related taxa: proposal for Actinozynnzmataceae fam. Nov. *Int. J.Syst. Evol. Microbiol.* 50, 331-336.1
- Labeda DP, Lyons AJ. (1992). DNA relatedness among strains of the sweet potato pathogen *Streptomyces ipomoea* (Person and Martin 1940) Waksman and Henrici 1948. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 532-535.
- Lamari, L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines. Université de Tizi Ouzou.
- Larpent J.P., Larpent G.M., (1990). *Memento technique de Microbiologie*. Editions Tec. & Doc.Lavoisier.
- Laurence S. H. Jeffrey (2000). Isolation, characterization and identification of actinomycetes from agriculture soils at Semongok, Sarawak. Universiti Putra Malaysia, Malaysia.
- Leclerc H., Meyer., Deiana J. (1986) *Cours Microbiologie générale*. Doin éditeurs. Paris.
- Lee, J. H., Kim, E. J., & Chang, S. Y. (2023). Two-component regulatory systems governing secondary metabolite and pigment production in *Streptomyces* under nutritional stress. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(5), 612-624. <https://doi.org/10.4014/jmb.2301.01015>
- Lee, N., Hwang, S., Lee, Y. M., Cho, H. J., Kang, J. W., & Kim, E. S. (2018). Secondary metabolites from the genus *Streptomyces* and their biological activities. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(10), 1637–1649.
- Li S., Chena C., Zhang H., Guo H., Wang H., Wang L., Zhang X., Huac S., Yu J., Xiao P., Li R., Tan X. (2005). Identification of natural compounds with antiviral activities against SARS-associated coronavirus. *Antiv. Res.*, 67, 18–23.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016). Morphological identification of actinobacteria. *Actinobacteria-basics and biotechnological applications*. Rijeka, Croatia: InTech, 59-86.

- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016). Morphological identification of actinobacteria. *Actinobacteria-basics and biotechnological applications*. Rijeka, Croatia: InTech, 59-86.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016a). Morphological Identification of Actinobacteria. In *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. InTech. doi: 10.5772/61461
- Liu R, Deng Z, Liu T (2018) *Streptomyces* species: ideal chassis for natural product discovery and overproduction. *Metab Eng* 50:74–84. 10.1016/j.ymben.2018.05.015.
- Locci. R. (1976). “Developmental micromorphology of actinomycetes”. In: *Actinomycetes the boundry microorganisms* : Arai. TED,. Tokyo. 170-180.
- Lopes, A. M., de Oliveira, A. H., & Pessoa, A. (2022). Kinetic performance and alkaline stability of *Streptomyces*-derived L-asparaginases compared to commercial biopharmaceuticals. *Enzyme and Microbial Technology*, 156, 110008. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2022.110008>

M

- Madigan, M., Martinko, J. 2007. *Brock Biologie des micro-organismes*. France : Edition Pearson Education.
- Maity P. J., Pawlowski K., 2021. Anthropogenic influences on the distribution of the Casuarina-Frankia symbiosis. *Symbiosis*, 84: 353-367.
- Manivasagan, P., Kang, K. H., Sivakumar, K., Li-Chan, E. C., Oh, H. M., & Kim, S. K. (2014). Marine actinobacteria : an important source of bioactive natural products. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(1), 172-188.
- Mariat F. et Sebald M. (1990). Les actinomycètes. In: *Bactériologie médicale*. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France. pp 935-949.
- Mellouli L, Mehdi RB, Sioud S, Salem M, Bejar S. (2003). Isolation, purification and partial characterization of antibacterial activities produced by a newly isolated *Streptomyces* sp. US24 strain. *Res Microbiol*; 154:345—52.
- Messaoudi, O., Bendahou, M., Benamar, I., & Abdelwouhid, D.-E.(2015). Identification and preliminary characterization of non-polyeneantibiotics secreted by new strain of actinomycete isolated from seabkha of Kenadsa, Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(6), 438–445. doi: 10.1016/j.apjtb.2015.04.002
- Michel, r., hauroeder philippchyk, b., müller, k. d. et weishaar, i., 1988. *acanthamoeba* from human nasal mucosa infected with an obligate intracellular parasite. *European journal of protistology*, 30(1), pp.104-110.
- *Microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes*, Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, Algérie, 90 p.
- Mincer, T. J., Jensen, P. R, kauffman, C. A. and Fenical, W., (2002). Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments *Appl Environ Microbiol*. 68: 5005-5011.
- Miyadoh S, Hamada M, Hotta K, Seino A, Vobis G, Yokota A. *Atlas of Actinomycetes*. Japan: Askura Publishing Co. Lid. 1997.
- Miyadoh S, Hamada M, Hotta K, Seino A, Vobis G, Yokota A. *Atlas of Actinomycetes*. Japan: Askura Publishing Co. Lid. 1997
- Mobini-Dehkordi, M., & Javan, F. A. (2012). Application of alpha-amylase in biotechnology. *J. Biol. Today World*, 1(1), 39-50.

- Mohankumar, R., Ramesh, S., & Sivasubramanian, V. (2012). Marine actinobacteria as a source of bioactive compounds. *International Journal of Microbiology Research*, 4(2), 45–52.
- Mosley, L. M., Rengasamy, P., & Fitzpatrick, R. (2024). Soil<scp>pH</scp> : Techniques, challenges and insights from a global dataset. *European Journal of Soil Science*, 75(6). doi:10.1111/ejss.70021
- Mostafa S.A., and Salama M.S., (1979). L-asparaginase producing *Streptomyces* from soil of Kuwait. *Zentralbl Bakteriell Naturwiss.*, 134(4): 325 - 334.
- Mukesh, S. (2014). Actinomycetes : Source, Identification, and Their Applications. *International Journal Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(3), 801-832.
- Mukhtar S., Zaheer A., Aiysha D., Abdulla Malik K and Mehnaz S. (2017). Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. *J Proteomics Bioinform* 10: 316-319.

N

- Nagaseshu, P., Gayatri Devi, V., Kumar, B. A., & Kumari, S. (2016). Antioxidant and antiproliferative potentials of marine actinomycetes. *Pharmaceutical Biology*, 54(5), 911–918.
- Ngamcharungchit, C., Chaimusik, N., Panbangred, W., Euanorasetr, J., & Intra, B. (2023). Bioactive Metabolites from Terrestrial and Marine Actinomycetes. *Molecules*, 28(15), 5915. doi: 10.3390/molecules28155915
- Nonomura H., Hayakawa M., (1988). New methods for selective isolation of soil actinomycetes, dans « biology of Actinomycetes ». Japon Scientific Societies Press. Tokyo. (Ed). 88-100.
- Nonomura, H. and Ohara, Y. (1969). The distribution of Actinomycetes in soil. VI. A selective plate-culture isolation method for Microbispora and Streptosporangium strains. Part I. *J. Ferment. Technol.* 47: 463–469.

O

- Obojska A., Lejczak B., et Kubrak M., (1999). Degradation of phosphonates by *Streptomyces* isolates. *Appl Microbiol Biotechnol* 51:872–876.
- O'Gara, F., Dowling, D. N., Boesten, B. (2008). *Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs*. John Wiley & Sons: Weinheim. Pp: 192.
- Oskay M., Tamer A. and Azeri C., (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afr J Biotechnol.*, 3(9), 441–446.

P

- Parekh N.R., Walker A., Roberts S.J. et Welch S.J., 1994. Rapid degradation of the triazinone herbicide metamitron by a *Rhodococcus* sp. isolated from treated soil. *Journal of Applied Bacteriology*, 77(5) : 467–475.
- Park, J.-T. S. (2002). Pathogenesis of *Streptovorticillium albireticuli* on *Caenorhabditis elegans* and its antagonism to soil-borne fungal pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 361-365.

- Pathade, A, Kadole, S. R, & Jadhay, A. (2024), Isolation and characterization of gelatinase enzyme-producing microorganisms from soil for industrial applications. *Bulletin of Pure and Applied Sciences - Zoology*, 43B(1s), 461-474.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., 1982. *Éléments de microbiologie*. Montréal: HRW.
- Prakash, R., Mishra, A., & Kumar, S. (2025). Rhizospheric soil matrix effects and total organic carbon (TOC) as driving factors for *Streptomyces* taxonomic diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 189, 109270. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2024.109270>
- Preetam, P., Singh, R. K., & Mitra, A. (2023). Thermostable L-asparaginase production by industrial soil isolates of *Streptomyces*: Gene expression profile and biocatalytic optimization. *Process Biochemistry*, 128, 45-56. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.02.014>

R

- Rathakrishnan, S., Jayaraman, R., & Shanmugam, S. (2023). Genomic insights into alkaline-tolerant *Streptomyces* strains isolated from anthropogenically impacted sludge environments. *Journal of Applied Microbiology*, 134(8), lxad164. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad164>
- Rawasheh R., Saadoun I., et Mahasneh A., (2005). Effect of culturel conditions on xylanase production by *Streptomyces* sp. (strain Ib 24D) an dits potontial to utilize tomato pomace. *Afri. J. of Biotechnol.* 4: 251-255.
- Robert, M., & Juste, C. (1997). *Stocks et flux d'éléments traces dans les sols du territoire français*. ADEME, Paris, France.

S

- Saini, P., Kumar, M., & Verma, P. K. (2024). Structural and biochemical adaptations of actinobacterial spores under extreme pH conditions in sewage sludge. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(14), 21105-21118. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32415-w>
- Sanglier J.J. et Trujillo M. (1997). Substances bioactives produites par les actinomycetes et stratégie de sélection de souches. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 12,(13).
- Selvin, J., Shanmugha Priya, S., Seghal Kiran, G., Thangavelu, T., & Sapna Bai, N. (2009). Marine sponge-associated bacteria as indicators of heavy metal pollution. *Microbiological Research*, 164(3), 352–363.
- Shin, H. J., et al. (2008). Antioxidant and cytotoxic compounds from marine actinomycetes. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(10), 1770–1775.
- Singh S.L., Baruah I., Bora T.C. (2006). Actinomycetes of lake Loktat Habitat: Isolation and screening for Antimicrobial Activities. *Biotechnology*, 5 (2): 217-221.
- Smaoui, S., Ennouri, K., Chakchouk-Mtibaa, A., Sellem, I., Bouchaala, K., Karray-Rebai, I., Ben Ayed, R., Mathieu, F., & Mellouli, L. (2018). Modeling-based optimization approaches for the development of Anti- *Agrobacterium tumefaciens* activity using *Streptomyces* sp TN71. *Microbial Pathogenesis*, 119, 19–27. doi:10.1016/j.micpath.2018.04.006
- Sommer, p. (1997). Genetic and biochemical characterization of a new extracellular lipase from *Streptomyces cinnamomeus*. *Appl. Environ. Microbiol.*(9), 3553-3560.
- Soumaya, H. (2014). Production, optimisation et étude de xylanases chez une nouvelle souche d'Actinomycète thermophile isolée du compost de poulet (Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar-Annaba).

- Strub C. (2008). Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse INP-ENSAT. France. : 174.
- Suzuki, S. I. , Y. K. , O. T. , N. M. , N. N. , & K. S. (2000). Selective isolation and distribution of *Actinomyadura rugatobispora* strains in soil. *Actinomycetologica*, 14(2), 27-33.

T

- Takizawa M., Colwell R.R., Hill R.T., (1993). Isolation and diversity of Actinomycetes in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 997- 1002.
- Tamura T, Nakagaito Y, Nishii T, Hasegawa T, Stackebrandt E, Yokota A. A new genus of the Order Actinomycetales, *Couchioplanes* gen. nov., with descriptions of *Couchioplanes caeruleus* (Horan and Brodsky 1986) comb. nov. and *Couchioplanes caeruleus* subsp. *azureus* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 1994;44:193-203; DOI: 10.1099/00207713-44-2-193.
- Tanaka, Y. (1990). Metabolism and products of Actinomycetes - An introduction (Vol. 4).
- Tarai N., Doumandji S., 2009. Feeding preferences of gregarious nymphs and adults of the Desert locust, *Schistocerca gregaria* Forskal (Orthoptera, Cyrtacanthacridinae) in different habitats at Biskra oasis, Algeria. *Advances in Environmental Biology*, 3 (3): 308-313.
- Thakur, S., Sharma, P., & Singh, J. (2022). Unraveling the 'loss of culturability' in soil actinomycetes: The role of reactive oxygen species (ROS) during *in vitro* isolation. *Microbiological Research*, 258, 126994. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.126994>
- Theilleux J. (1993). Les actinomycètes en Microbiologie industrielle : Les micro-organismes d'intérêt industriel, Leveau JY et Moix M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V, 612-425.
- Theilleux J., (1993). les actinomycètes in Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V 612p : 425.
- Theilleux, T. (1993). Les actinomycètes in Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt. (A. Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Éd.).
- Tighidet, S. (2011). Caractérisation d'antifongiques non polyéniques produits par des souches d'actinomycètes et essai d'optimisation de leurs milieux de production. Mémoire de Magister, Université Abderrahmane Mira Bejaia, Pp. 3-7.
- Tiwari, D., Shouche, S., Bhati, P., & Das, P. (2021). A Consolidated Method for Selective Isolation of Actinomycetes Based on Choice of Substrate. *International Annals of Science*, 11(1), 10–21. doi:10.21467/ias.11.1.10-21
- Topp E., Xun L.Y. et Orser C.S., 1992. Biodegradation of the herbicide bromoxynil (3,5-dibromo-4-hydroxybenzonitrile) by purified pentachlorophenol hydroxylase and whole cells of *Flavobacterium* sp. strain ATCC 39723 is accompanied by cyanogenesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(2) : 502–506.
- Trujillo, M., Alonso-Vega, P., Rodríguez, R. (2010). The genus *Micromonospora* is widespread in legume root nodules: the example of *Lupinus angustifolius*. *ISMEJ*, 4, 12653-1281.
- Tsujibo, H., Okami, Y., Tanno, H., Inamori, Y. (2003). Cloning, sequence and expression of a chitinase gene from a marine bacterium, *Alteromonas* sp. strain O-7. *Journal of Bacteriology*: 175-181.

V

Valan Arazu. M; Duraipandiyan. V; Agastian. P; Ignacimuthu. S. (2009). In vitro antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. ERI-3 isolated from Western Ghats rock soil (India).

- Valdman E., Erijman L., Pessoa FLP, Leite SGF. Biosorption continue du Cu et du Zn par la biomasse résiduelle immobilisée de *Sargassum* sp. *Process Biochemistry*. 2001;36(8-9):869–873. doi: 10.1016/s0032-95920000288-0.
- van der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., & van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity. *Ecology Letters*, 11(3), 296–310.
- Vonothini ,G., Murugan ,M., Sivakumar ,K.,and Sudha ,S.(2008).Optimization of protease production by an actinomycete Strain, PS-18A isolated from an estuarine shrimp pond .*Agriculture and Forestry Journal* 7(18) :3225-3230.
- Vonothini, G. (2008). Optimization of protease production by an actinomycete Strain, P.S- 18A isolated from an estuarine shrimp pond. *African journal of Biotechnology*, 7, 3225-3230.
- Vrancken, K., Smets, B., & Vandenbussche, G. (2024). Morphological differentiation of *Streptomyces*: Role of chaplins, rodlin, and osmotic substrate stress. *FEMS Microbiology Letters*, 371, fnae022. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnae022>

W

- Waksman S. A., (1963). *Ma vie avec les microbes*. Albin Michel. 280p.
- Waksman S.A., henrici A.T., (1943). The nomenclature and classification of the actinomycete. *J. Bacteriol.* 46: 337-341.
- Wang Y., Zhang Z.S., Ruan J.S., Wang Y.M. et Ali S.M. (1999). Investigation of actinomycete diversity in the tropical rainforests of Singapore. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 23: 178–187.
- WanghY.,hZhanghZ.S.,hRuanhJ.S.,WanghY.M.,hAlihS.M.h(1999).hInvestigationhof actinomycete diversity in the tropical rainforests of Singapore. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 23: 178-187.
- Williams S.T., Goodfellow M., Alderson G., Wellington E.M.H., Sneath P.H.A. et Sackin M.J. (1983). Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Journal of General Microbiology*, 129 : 1743–1813.
- Williams ST., Lanning S., Wellington EMH. (1984). Ecology of Actinomycetes. In: *The Biology of the Actinomycetes*. Eds: M. Goodfellow, M. mordarski and S.T Williams. Academic press, London, New York, Sydney, Tokyo, Sao Palo. 481-528.
- Williams, J. D., Warren Jr, M. L., Cummings, K. S., Harris, J. L., & Neves, R. J. (1993). Conservation status of freshwater mussels of the United States and Canada. *Fisheries*, 18(9), 6-22.

Z

- Zafar S., Aqil F., Ahmad I. Tolérance aux métaux et potentiel de biosorption de champignons filamenteux isolés d'un sol agricole contaminé par des métaux. *Bioresource Technology*. 2007;98(13):2557–2561. Doi : 10.1016/j.biortech.2006.09.051. [DOI] [PubMed] [Google Scholar].

- Zakari, D. A., Kareem, S. O., Obuotor, T. M., Akinloye, O. A., Bello K.E., Adefila, A. M., & Audu, A. G. (2025). Thermal Optimization, pH Sensitivity, Growth Dynamics and Bioactivity of *Streptomyces* Isolates from soil samples in Anyigba, Kogi state. *Nigerian Journal of Pure and Applied Sciences*, 5236–5248. doi: 10.48198/NJPAS/25.A09
- Zhang J.W, Zeng R.Y. (2007). Purification and characterization of a cold-adapted α -amylase produced by *nocardiopsis* sp. 7326 isolated from prydz bay, Antarctic. *Marine Biotechnol*, 10: 75-82.
- ZoBell C. EM (1946). Action of microorganisms on hydrocarbons. *Bacteriol. Rev.* 10 : 1-49.

Partie VII. Annexe

VII.1. Milieux de cultures

VII.1.1. Composition des milieu de culture

VII.1.1.1. Milieux d'identification des actinomycètes

VII.1.1.1.1. Milieu SCA – Starch Casein Agar

Amidon soluble : 10,0 g

Caséine (hydrolysate) : 0,3 g

NaCl : 2,0 g

KNO₃ : 2,0 g

K₂HPO₄ : 2,0 g

MgSO₄·7H₂O : 0,05 g

CaCO₃ : 0,02 g

FeSO₄·7H₂O : 0,01 g

Agar : 15 g

Eau distillée : 1000 ml

Ajuster le pH à 7,0 avant stérilisation.

VII.1.1.1.2. Milieu GYM – Yeast – Malt extract Agar

Glucose : 4,0 g

Extrait de levure : 4,0 g

Extrait de malt : 10,0 g

CaCO₃ : 2,0 g

Agar : 15 g

Eau distillée : 1000 ml

Ajuster le pH à 7,2 avant l'ajout de l'agar.

VII.2. Eau physiologique

NaCl..... 9g

Eau distillée..... 1000 ml

Autoclavage 20 min à 120 °C

VII.3. Milieux utilisés pour l'activité antimicrobienne

VII.3.1. 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

VII.4. *Milieux utilisés pour l'activité enzymatique*

VII.4.1. Milieux MM de Hopwood (Minimal Medium de Hopwood)

K₂HPO₄ : 0,5 g

MgSO₄ : 0,2 g

FeSO₄ : 0,01 g

Eau distillée : 1000 ml

Ajuster le pH à 7,2 .

VII.4.2. Gélatinise

100 ml de milieu MM

Gélatine : 1 g

Agar : 7,5 g

Ajuster pH à 7,2 avant l'ajout de l'agar.

VII.4.3. Protéase

Milieu MM : 100 ml

Lait écrémé : 10 g

Agar : 1,5 g

Ajuster pH à 7,2 avant l'ajout de l'agar.

VII.4.4. Pectinase

Milieu MM : 100 ml

Pectine : 1 g

Agar : 1,5 g

Ajuster pH à 7,2 avant l'ajout de l'agar.

VII.4.5. Asparaginase

Milieu MM : 100 ml

Asparagine : 1 g

Tween 80 : 0,01 ml

Solution rouge phénol : 1 ml

Agar : 1,5 g Ajuster pH à 7,2 avant l'ajout de l'agar.

VII.4.6. Lipase

Milieu MM : 100 ml

Solution rouge phénol 1 ml

Agar : 1,5 g

Ajuster pH à 7,2 avant l'ajout de l'agar.

VII.5. *Milieus utilisés pour les métaux lourds*

VII.5.1. ISP2 – International Streptomyces Project

Glucose : 4 g

Extrait de levure : 4 g

Extrait de malt : 10 g

Eau distillée : 1000 ml

VII.5.2. ISP4 – International Streptomyces Project

Amidon soluble: 10 g

K₂HPO₄: 1 g

MgSO₄·7H₂O : 1 g

NaCl : 1 g

(NH₄)₂SO₄: 2 g

Agar: 15 g

Ajuster pH à 7,2

Eau distillée : 1000 ml

VII.6. *Les colorants de coloration de gram*

Lugol :

Iode : 1g ; Iode de potassium : 2g ; Eau distillée : 300 ml.

Violet de gentian :

Violet de gentiane : 1g ; Ethanol à 90 : 10g Violet de gentian : 1g

Fuchsine : Fuchsine basique : 02g ; Acide phénique : 10g ; Alcool absolu : 20ml.

Phénol : 2g

Eau distillée

VII.6.1. Les étapes De La Coloration de Gram

Préparer un frottis bactérien.

Couvrir le frottis avec un colorant basique : le violet de Gentiane et laisser agir pendant une minute.

Eliminer l'excès de violet de Gentiane avec une solution de Lugol et laisser agir pendant 30 secondes.

Rincer à l'eau.

Décolorer à l'alcool à 90°.

Faire un deuxième rinçage à l'eau.

Recouvrir le frottis avec un deuxième colorant : la Fuschine, laisser agir pendant une minute

Rincer à l'eau.

Sécher le frottis entre deux feuilles de papier absorbant.

Avant l'observation microscopique on dépose une goutte d'huile d'immersion et on observe à l'objectif d'immersion x10 et X 100.

