

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme de Master en
Science de la nature et de la vie
Option : Microbiologie



Sous le thème

**Influence des milieux de culture sur la production
d'antibiotiques antifongiques par la souche AD8
d'actinobactérie**

Soutenu le 09/09/2020

Présenté par:

- Assen Abderraouf
- Mokretari Fella

Devant le jury composé de:

Mr.	Guetarni D.	Professeur	à l'USDB 1	Président
Mme.	Meklat A.	M.C.A	à l'USDB 1	Examinatrice
Mme.	Merrouche R.	M.C.A	E.N.S., Kouba, Alger	Promotrice

Année universitaire: 2019-2020

Remerciements

Remerciant tout d'abord le tout puissant de nous avoir aidés à réaliser ce modeste travail.

*Nos vifs remerciements vont au monsieur le **professeur Zitouni Abdelaghani**. De nous avoir accueillis dans le Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) au sien de l'école normale supérieure d'enseignement (ENS), kouba (Alger) et pour nous avoir mis à la disposition les produits et le matériel nécessaires à la réalisation de notre travail.*

*Nous tenons à remercier très chaleureusement notre encadrante **Mme Merrouche Rabia**. et de lui exprimer notre profonde gratitude pour nous avoir encadrés pendant la durée de ce mémoire, pour sa gentillesse, sa patience, son encouragement, ses conseils constructifs, sa disponibilité et sa détermination dans la réalisation de ce travail malgré toutes les circonstances difficiles que nous avons rencontré, nous nous estimons chanceux d'avoir travaillé avec vous Madame.*

Nous tenant à remercier sincèrement toute l'équipe du laboratoire LBSM, pour leurs conseils, leur sympathie, et leurs encouragements tout au long de notre stage.

*Nos remerciements sont également adressés à notre chef département **professeur Saidi Laila**. Et notre chef d'option **professeur Hamaidi Fella**. ainsi qu'à toute l'équipe pédagogique et tous les enseignants de la faculté de biologie Blida 1 pour leurs efforts fournis durant l'année scolaire afin d'assurer notre formation et Notre Succès".*

*Nous tenant à remercier chaleureusement Mme **Meklat Atika**. De nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail, veuillez accepter madame l'expression de notre profond respect.*

*Nos vifs remerciements vont également à notre enseignant et instructeur monsieur **Guitarni Djamal** par l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider notre jury.*

Nous remercions également madame youcefi kheira d'avoir accepté notre invitation.

Enfin, dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos remerciements vont à toutes les personnes qui de près ou de loin ont permis la réalisation de ce mémoire.

Assen Abderraouf et Mokretari Fella



Je dédie affectueusement ce travail,

*A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux.
Qui m'ont soutenu toute ma vie sans la moindre
hésitation et qui ont fourni pour mon succès tout leur temps et leurs
énergies et qui ont crus en moi depuis mon enfance. Que dieu les
protège et les accorde une longue et heureuse vie **papa, maman** je
suis très reconnaissante et chanceuse d'être votre enfant.*

*A mes grands-parents paix à leurs âmes, que Dieu le tout puissant et
Miséricordieux les accueille dans son vaste paradis.*

*A ma très chère sœur aînée **Nesrine** pour tous ses sacrifices son aide,
et son amour pour nous.*

*A mon adorable sœur **Meriem** pour sa coopération sa compréhension
et surtout son dorlotement.*

*Un dédicace très particulier à ma chère jumelle **Yasmine**, mon âme
sœur, ma meilleure amie, avec laquelle j'ai passé toute ma vie et je
compte en passer encore. Que Dieu réalise tes rêves, qu'il change tes
échecs en victoires et tes peines en joies.*

*A mon frère aîné **Sofain** pour son soutien, son aide, sa disponibilité et
son encourageant incessant.*

*A mon frère **Rabah** pour son aide et pour tous ses conseils
constructifs dans ma vie.*

*Un dédicace et une pensée à mes deux chères frères **Ismail** et **Yacine**
hors pays pendant cette pandémie, pour tout ce qu'ils font pour moi,
d'avoir assuré mes arrières et d'être un vrai soutien pendant toute ma
vie.*

*A toute la famille **مختاري** partout dans le monde*

*A mes chers meilleurs amis : **jeff, Nabil djaouida, Zohor, Amel.***

*A mon Binôme **Assen Abbedraouf** et à toutes personnes qui me
sont chères.*

Fella

Dédicace

Je remercie Dieu le Généreux pour m'avoir guidé vers la lumière de la recherche, du savoir et de la science.

A mes très chers parents que j'aime plus que tous au monde, pour leur amour, leurs encouragements incessants et leur soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite. Que dieu les protège et leur donne la bonne santé et qu'ils trouvent ici la preuve de ma reconnaissance infinie.

A mes chers sœurs: ZAHRA, HASSNA, HIBA (biba ma petite fille) et ma cousine Rahma.

A tous mes amis surtout Amine, Salim, Abdelmomen, Hicham et Ayoub riadh et Walid.

A ma deuxième famille: revolution Reader قراءة النهضة .

A tous mes collègues de la promotion de microbiologie 2020 surtout Sarrah, Narita (Dalila), Meriem et Nesrine, Ikram, Nadja et Zahra.

A Mme Merrouche pour sa patience, sa générosité et son énorme contribution C'est grâce à vous madame qu'on a pu accomplir ce travail. J'avais l'honneur de vous reconnaître et travailler avec vous.

A Mme youcefi pour sa patience, sa gentillesse et son aide.

A tous ma famille et à tous ceux que j'aime.

Abderraouf



Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

ملخص

Abstract

Introduction..... 1

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1	Généralités sur les actinobactéries	3
2	Écologie des actinobactéries	6
3	Intérêt des actinobactéries	7
3.1	Intérêt en agronomie	7
3.2	Intérêt dans le domaine médicale.....	8
3.3	Intérêt dans d'autres domaines	9
4	Le genre <i>Streptomyces</i>	9
4.1	Taxonomie du genre <i>Streptomyces</i>	9
4.2	Métabolites secondaires sécrétés par les espèces de <i>Streptomyces</i>	11
5	Les antibiotiques	13
5.1	Définition.....	13
5.2	Microorganismes producteurs d'antibiotiques.....	13
5.2.1	Les actinobactéries.....	13

Sommaire

5.2.2	Les bactéries non mycéliennes et champignons	13
6	Classification générale des antibiotiques	14
6.1	Les antibiotiques antifongiques	15
6.1.1	Les antifongiques d'origine naturels	16
α	Les antifongiques polyéniques	16
β	Les antifongiques non-polyéniques	16
6.1.2	Les antifongiques de synthèse	17
7	Mode d'action des antifongiques	17
8	Facteurs influençant la production d'antibiotiques	17
8.1	Les facteurs nutritionnels.....	18
8.1.1	Influence des sources de carbone	18
8.1.2	Influence des sources d'azote	19
8.1.3	Influence des éléments minéraux et des oligoéléments.....	20
8.2	Les facteurs physico-chimiques.....	20
8.2.1	Influence du pH	20
8.2.2	Influence de la température.....	20
8.2.3	Influence de l'agitation et du temps d'incubation	21

II. Matériel et méthodes

Matériel :

1	Origine de la souche AD8.....	22
1.1	Conservation de la souche	22
2	Microorganisme cibles.....	22

Sommaire

3	Milieux de culture	22
----------	---------------------------------	-----------

Méthodes :

1	Recherche de l'activité antifongique de la souche AD8 sur milieux solides	23
1.1	Test d'antagonisme par la méthode des cylindres d'agar	23
2	Cinétique de croissance, de pH et de la production des antibiotiques par la souche AD8 en milieux liquides	24
2.1	Préparation de l'inoculum de la souche AD8	24
2.2	Préparation des pré-cultures.....	25
2.3	Préparation des cultures	25
2.4	Prélevments.....	25
2.5	Evolution du pH et de la croissance de la souche AD8	27
2.6	Evolution de l'activité antifongique.....	27
3	La recherche du meilleur solvant d'extraction d'antibiotiques antifongiques de la Souche AD8	28
3.1	Production d'antibiotiques en milieu liquide.....	28
3.2	Extraction des antibiotiques.....	29
3.2.1	Extraction à partir du filtrat de culture.....	29
3.2.2	Extraction à partir du mycélium	30
4	Antibiogramme	30

Sommaire

III. Résultats et discussion

1	Recherche de l'activité antifongique de la souche AD8 sur milieux solides ...	33
2	Cinétique de croissance, de pH et de production des antibiotiques en milieux liquides	34
2.1	Milieu Bennett.....	35
2.2	Milieu MSSD	37
3	Extraction des composés actifs et antibiographie.....	39
3.1	Activité antifongique des extraits des filtrats de culture	39
3.2	Activité antifongique des extraits mycéliens.....	41
	DISCUSSION	42
	CONCLUSION.....	46
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	48

Liste des Figures

N° de la Figure	Titre	page
1	Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries mycéliennes sporulantes.	03
2	Représentation schématique de la micromorphologie de quelques genres d'actinobactéries.	05
3	Secteur angulaire montrant la répartition de la production des molécules bioactives entre le genre de <i>Streptomyces</i> , et d'autre genre d'actinobactéries.	09
4	Types de chaînes de spores rencontrés chez les espèces de <i>Streptomyces</i> .	10
5	Mise en évidence de l'activité antagoniste antifongique de la souche AD8 de <i>Streptomyces</i> par la méthode des cylindres d'agar	24
6	Schéma général de cinétique de pH, de croissance et de la production des antibiotiques par la souche AD8 en milieu liquide.	26
7	Test d'activité antifongique par la méthode des puits.	28
8	Les étapes de l'extraction liquide-liquide.	29
9	Schéma représentatif de la méthode des disques de papier.	31
10	Schéma général des étapes d'extraction de la souche AD8 de <i>Streptomyces</i> .	32
11	Spectre d'activité antifongique de la souche AD8 de <i>Streptomyces sp.</i> Contre les champignons cibles, sur 5 milieux de culture différents.	33
12	Activité antifongique de la souche AD8 sur milieu Bennett solide par la méthode des disques d'agar, contre: <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Ciceris</i> (Foc), <i>Pg: Penicillium glabrum</i> (Pg) et <i>Aspergillus flavus</i> (Af).	34
13	Cinétique de pH, de croissance et de production des antibiotiques par la souche AD8 sur milieu complexe Bennett liquide	36
14	Activité antifongique de la souche AD8 sur milieu Bennett liquide, contre: <i>Penicillium glabrum</i> (Pg) et <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i> (Foa), au meilleur jour de la production des molécules antifongiques J1.	37
15	Cinétique de pH, de croissance et de production des antibiotiques par la souche AD8 sur milieu semi-synthétique MSSD liquide.	38
16	Activité antifongique de la souche AD8 sur milieu semi synthétique MSSD liquide, contre: <i>Penicillium glabrum</i> (Pg) et <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i> (Foa) au meilleur jour de la production des molécules antifongiques J1.	39
17	Révélation par antibiographie des activités antifongiques des quatre phases organiques et la phase aqueuse du filtrat de culture du milieu Bennett de la souche AD8 contre: <i>Penicillium glabrum</i> (Pg) et <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>Albedinis</i> (Foa).	41

Liste des Figures

18	Révélation par antibiographie des activités antifongiques des extraits mycéliens de la souche AD8 contre: Pg et Foa dans le milieu Bennett.	42
-----------	---	-----------

Liste des Tableaux

N° du tableau	Titre	page
I	Distribution de certains genres d'actinobactéries dans la nature.	06
II	Exemples de molécules bioactives produites par les <i>Streptomyces</i> .	11
III	Classification des antibiotiques d'après leur structure chimique.	15
IV	Activités antifongiques des phases organiques et de la phase aqueuse des filtrats de culture de la souche AD8 de <i>Streptomyces</i> sp.	40
V	Activités antifongiques des extraits mycéliens de la souche AD8 de <i>Streptomyces</i> sp. contre: Pg et Foa.	41

Liste des abréviations

- **LBSM:** Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens
- **ADN:** acide désoxyribonucléique
- **ARN:** acide ribonucléique
- **ARNr:** acide ribonucléique ribosomique
- **DAP:** Diaminopimelic acid
- **RA:** *Retinaculum Apertum*
- **RF:** *Rectus Flexibilis*
- **Rpm:** Rotation par minute
- **S:** *Spira*
- **UFC:** Unité Formant Colonie
- **UV:** ultra-violet
- **CH.V:** chitine-vitamines B
- **ISP2 :** International *Streptomyces* Project 2
- **MA:** mycélium aérien
- **MS:** mycélium de substrat
- **MSS:** Milieux semi-synthétique
- **MSSA:** Milieux semi-synthétique additionné de amidon
- **MSSD:** Milieux semi-synthétique additionné de dextrine
- **MSSG:** Milieux semi-synthétique additionné de glucose
- **PDA:** Potato Dextrose Agar
- **Di:** dichloromethane
- **He:** n-hexane
- **Bu-A:** butanol (phase aqueuse).
- **Bu-O:** butanol (phase organique)
- **Ac:** acétate d'éthyle
- **AF:** *Aspergillus flavus*
- **Foa:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*
- **Foc:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*
- **Pe:** *Penicillium expansum*
- **Pg:** *Penicillium glabrum*

Résumé

L'étude que nous avons effectuée porte sur l'influence des milieux de culture sur la production des antibiotiques antifongiques par une souche d'actinobactérie, du genre *Streptomyces* sp. Notée AD8, isolée à partir d'un sol saharien.

D'abord l'isolat AD8 de *Streptomyces* sp. a été ensemencée sur 5 différents milieux de culture dont deux complexes (ISP2, Bennett) et 3 semi synthétiques (MSSA, MSSD, MSSG) et incubée dans des conditions optimales pendant dix jours. Ensuite et à partir des 5 cultures mures, des cylindres d'agar ont été scindés et déposés sur des boîtes Pétri contenant le milieu PDA semi solide, les boîtes ont été ensemencées auparavant chacune par un champignon cible (5 champignons toxigènes ont été utilisés), afin d'évaluer l'activité antibiotique antifongique de la souche. Cette méthode est appelée "la méthode des cylindres d'agar".

Les deux milieux de culture Bennett et MSSD ont montrés une meilleure production des substances antifongiques par la souche AD8 de *Streptomyces* sp. Par rapport aux autres milieux, et donc ils ont été retenus pour la suite du travail.

Afin de trouver le milieu idéal et le jour optimale à la production des molécules antifongiques sécrétées par la souche AD8, une cinétique a été réalisée pendant 10 jours sur les deux milieux de culture déjà choisis et en utilisant comme germes cibles les deux champignons les plus sensibles *Penicillium glabrum* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedini*. La croissance de la souche AD8 sur le milieu Bennett (à base glucose, de peptone, d'extrait de levure et d'extrait de viande) est cryptique et au cours de laquelle, le pH a subit de légères variations. Quant à l'activité antifongique, la meilleure production est notée au 1^{er} jour.

L'extraction des molécules antifongiques sécrétées par la souche AD8 sur le milieu Bennett qui a présenté les meilleures activités par rapport au milieu MSSD, a été réalisée par 4 solvants organiques de polarité croissante au jour optimal de la production (jour 1). Une activité antifongique moyenne a été détectée dans la phase organique extraite par l'acétate d'éthyle, par contre une très forte activité a été notée dans la phase aqueuse résiduelle de l'extraction effectuée avec le butanol donnant une idée sur l'acétate d'éthyle comme meilleur solvant d'extraction pour les molécules hydrophobes et une idée sur la production des molécules antifongiques de nature hydrophile par la souche AD8 étudiée dans ce travail.

Mot clés: actinobactéries, milieux de culture, molécules bioactives, champignons toxigènes, cinétique de production, Extraction

Abstract

The study that we had done focuses on the influence of the culture media on the production of antifungal bioactive molecules produced by an actinobacterial strain, the genus of *Streptomyces* sp. named AD8, isolated from a Saharan soil.

First, the strain AD8 of *Streptomyces* sp. was seeded on 5 different culture media (ISP2, Bennett, MSSA, MSSD, and MSSG) and incubated in optimal conditions for ten days. Then and from the 5 mature cultures, cylinders of agar were cut off and deposited on Petri dishes filled with PDA semi-solid culture media, the dishes were already seeded each with a target fungus (5 different toxic fungus were used), in order to assess the antibiotic antifungal activity of the strain and test its antagonistic power. This method is called "the agar cylinders method".

The two culture media (Bennett and MSSD) have shown improved production of bioactive substances by the strain of *Streptomyces* AD8, compared to the other culture media used, so they were adopted for the end of the work.

In order to find the perfect culture media and the optimal day of antifungal molecules production by the strain AD8, a kinetic has been assessed for ten days on both of culture media already chosen against the most sensitive fungus, *Penicillium glabrum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedini*.

The growth of the strain AD8 on the culture media Bennett (made of glucose, peptone, yeast extract, meat extract) is cryptic and over it the pH had slight variations. As to the antifungal activity, the best day of production is noted on the first day.

At the end of this study, the extraction of the bioactive molecules secreted by the strain AD8, on the culture media Bennett, which presented the best activities relative to the culture media MSSD, was made by 4 solvents of increasing polarity at the optimal day of production (day1). An average antifungal activity was detected in the organic phase extracted with ethyl acetate, however a very high activity was noted in the aqueous phase residual of the extraction carried out with the butanol, giving an idea about the ethyl acetate as the best extraction solvent for the hydrophobic molecules, and also an idea about the production of hydrophilic antifungal molecules by the strain AD8 used in this study.

Key words: actinobacteria, culture media, bioactive molecules, toxic fungus, kinetic of production, Extraction.

إن العمل الذي قمنا به يدرس تأثير تركيب الأوساط الزراعية (أوساط النمو) على إنتاج المضادات الحيوية ضد الفطرية من قبل سلالة من البكتيريا الهيفية تنتمي إلى جنس *Streptomyces sp.* والمسماة *AD8* والمعزولة من تربة صحراوية. أولاً تم زرع السلالة المعزولة في خمسة أنواع من الأوساط الزراعية مختلفة التركيب: (*ISP2, Bennett, MSSA, MSSD, MSSG*)، ثم تمكنا في فترة حضانتها مدتها عشرة أيام.

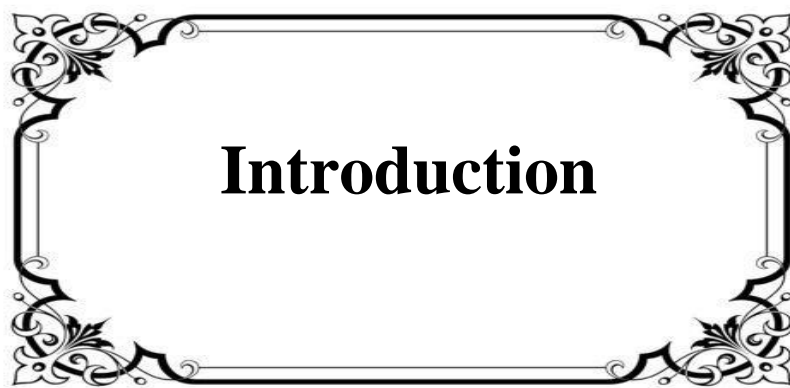
زرعت أسطوانات من الاجار من خلال الخمس أوساط المستعملة، ووضعت على سطح اطباق بتري مملوءة بالوسط الزراعي شبه الصلب *PDA*، الذي تمت زراعته سابقا بالفطريات المستهدفة المستعملة في هاته الدراسة (5 أنواع من الفطريات ذات القدرة السامة) و هذا لتقييم النشاط المضاد لسلالة *AD8* ومعرفة قدرتها الإنتاجية للمضادات الحيوية ضد فطرية. تسمى هاته الثقبية بقتية أسطوانات الاجار.

إن السلالة المدروسة أظهرت أفضل إنتاج للجزيئات البيولوجية النشطة ضد الفطريات في كل من الوسط الزراعي *MSSD* و *Bennett* وبالتالي فقد تم اختيارها لإتمام الدراسة.

تهدف معرفة أفضل وسط زراعي لتركيب الجزيئات البيولوجية النشطة ضد الفطريات من قبل السلالة المدروسة *AD8* و لمعرفة أفضل يوم إنتاج لها تمنا بتتبع حركتها لمدة 10 أيام وذلك بالاستعانة بالأوساط الزراعية المختارة سابقا و باستعمال اضعف الفطريات وهي: *Fusarium oxysporum f. sp. albedini* و *Penicillium glabrum*

تميزت السلالة *AD8* على الوسط الحيوي *Bennett*، (المكون من الغلوكوز، البيون، مستخلص الخميرة ومستخلص اللحم) بنمو حرج وعرفت من خلاله الحموضة تغيرات طفيفة، أما بالنسبة للنشاط الحيوي للسلالة البكتيرية فقد بلغ قمته اليوم الأول من الحركية. تم استخراج الجزيئات البيولوجية النشطة المنتجة من قبل السلالة المدروسة *AD8* على الوسط الزراعي *Bennett* كونه الوسط الذي أظهر أفضل نشاط حيوي ضد فطري بالنسبة لباقي الأوساط. تم الاستعانة بأربعة مذيبيات عضوية ذات قطبية متصاعدة وتم ذلك في أفضل يوم للإنتاج الموافق لليوم الأول. لوحظ أن النشاط الحيوي ضد فطري الملاحظ في المستخلص العضوي المستخرج بواسطة اسينات الأثيل متوسط نوعا ما، في حين سجل نشاطا حيويا قويا جدا في الجزء المائي الناتج عن الاستخراج بواسطة البوتانول، مما يعطي فكرة على ان اسينات الأثيل هو أفضل مذيب عضوي للجزيئات الكارهة للماء ويعطي فكرة أيضا عن إنتاج جزيئات ذات طبيعة محبة للماء بواسطة السلالة المدروسة *AD8*.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا هيفية، اوساط زراعية، الجزيئات البيولوجية النشطة، فطريات سامة، حركية الإنتاج، استخلاص.



Introduction

Introduction

Au cours de ces dernières décennies, le monde de la santé a été marqué par une émergence des infections fongiques en particulier chez les patients immunodéprimés et par l'augmentation inquiétante du nombre de bactéries pathogènes multirésistantes aux antibiotiques (**Boughachiche et al., 2005; Thakur et al., 2007**). L'apparition croissante des cas de résistance, qui a réduit ainsi la durée de vie des antibiotiques est due principalement à l'utilisation abusive des antibiotiques en médecine, ainsi que leur emploi comme additif alimentaire en élevage agricole (**Emerson et al., 2012; Barlam et al., 2016**).

Contrairement à l'antibiothérapie bactérienne, l'antibiothérapie fongique est encore très insuffisante, notamment en raison de la toxicité relativement élevée des antifongiques sur les cellules humaines et la résistance des champignons pathogènes aux antifongiques. Le nombre de molécules antifongiques utilisées dans les traitements est ainsi très réduit. Les infections fongiques peuvent être à l'origine des taux élevés de morbidité et de mortalité observés ces dernières années. (**Delarze & Sanglard (2015)**) ont rapporté qu'environ 1,7 milliard de personnes dans le monde sont infectées par des champignons pathogènes, dont 1,5 million meurent chaque année. Les champignons toxigènes et phytopathogènes provoquent également de sérieux problèmes dans de nombreux secteurs économiques (agriculture, alimentaire, élevage d'animaux), en produisant des mycotoxines, ou encore en contaminant les cultures agricoles et les animaux d'élevage, entraînant ainsi une baisse du rendement (**Viaene et al., 2016**).

Actuellement, plusieurs stratégies dans le monde ont été entreprises, dont celles qui reposent sur la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques naturels dans l'espoir de trouver de nouveaux composés plus efficaces et moins toxiques afin de continuer la lutte contre les microorganismes pathogènes. Plusieurs auteurs ont rapporté que les antibiotiques naturels présentent des caractéristiques prometteuses permettant le contrôle des maladies infectieuses, car ils sont facilement et rapidement biodégradables et faiblement toxiques. De plus, la diversité de leurs activités biologiques et de leurs structures chimiques fournit des modes d'action intéressants (**Kim et al., 2000 ; Thiele-Bruhn, 2003 ; Harvey, 2008**).

Parmi les microorganismes, les actinobactéries constituent la principale source naturelle d'antibiotiques, avec près de 50% de molécules sécrétées, dont plusieurs sont utilisés dans les domaines thérapeutique, médicale, vétérinaire et agronomique, tels que, les antibiotiques antibactériens et antifongiques, les antiviraux, les antiparasitaires, etc. (**Solecka et al., 2012; Manivasagan et al., 2013; Hug et al., 2018**). Parmi les actinobactéries, le genre *Streptomyces*

Introduction

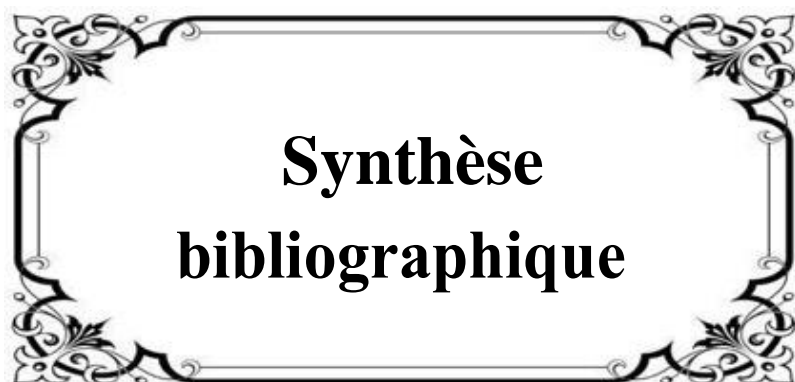
est le plus exploité pour ses nombreuses propriétés importantes dans la production d'antibiotiques d'origine naturelle, avec une activité biologique intensément exploitée dans plusieurs domaines (Solecka *et al.*, 2012; Kemung *et al.*, 2018; Harir *et al.*, 2018).

Dans l'espoir d'augmenter la probabilité de découverte de nouveaux antibiotiques, l'équipe de microbiologie du laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de l'école normale supérieure de Kouba, a isolé sélectivement plusieurs souches d'actinobactéries et beaucoup d'entre-elles se sont révélées être de nouvelles espèces capables de produire un grand nombre de molécules antimicrobiennes (Lamari *et al.*, 2002; Zitouni *et al.*, 2004; Boudjella *et al.*, 2010; Merrouche *et al.* 2010, 2011, 2018 et 2019; Boubetra *et al.*, 2013; Yekkour *et al.* 2015; Khebizi *et al.* 2018; Lahoum *et al.*, 2019; Tata *et al.*, 2019).

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la souche d'actinobactérie AD8 qui a été isolée d'un sol saharien et identifiée au genre *Streptomyces*, l'étude de l'activité antifongique de la souche et l'étude de l'influence des milieux de culture sur la production d'antibiotiques antifongiques dans le but de déterminer un milieu de culture qui permettrait une production optimale de l'activité antifongique par la souche AD8.

Ce mémoire est présenté en trois parties :

- La première partie fait l'état des connaissances générales sur les actinobactéries et un aperçu sur leur capacité à produire des molécules bioactives ainsi que l'influence des milieux de cultures sur la production de ces derniers.
- La seconde partie de ce manuscrit est consacrée à la description du matériel et des méthodes utilisées.
- La dernière partie est relative à la présentation des résultats obtenus et à leurs discussions.



**Synthèse
bibliographique**

I. Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les actinobactéries

Le terme utilisé précédemment pour désigner les actinobactéries est “actinomycètes”. Etymologiquement, le mot actinomycète a été dérivé des mots grecs «Aktis» qui veut dire rayon et «mykes» qui veut dire champignon «Champignons à rayons» ou «Champignons rayonnants» (**Gottlieb, 1973**). Les actinobactéries sont depuis longtemps classées parmi les procaryotes et définies selon l'édition 2012 du **Manuel de Bergey** comme regroupant les bactéries à Gram positif ayant un pourcentage de guanine-cytosine supérieur à 55%, le plus souvent compris entre 60 et 75% (**Chun et al., 1997**).

Physiologiquement, les actinobactéries sont, en général, des bactéries aérobies mais certaines sont aérobies facultatives ou même anaérobies. Ces bactéries sont chimio-hétérotrophes, et la plupart sont capables d'utiliser une grande variété de source d'énergie, y compris les polymères complexes (**Zimmerman, 1990**). Leur cycle biologique est semblable à celui de certains champignons, mais leur structure procaryotique, sans noyau distinct, les a classées parmi les bactéries (Figure 01).

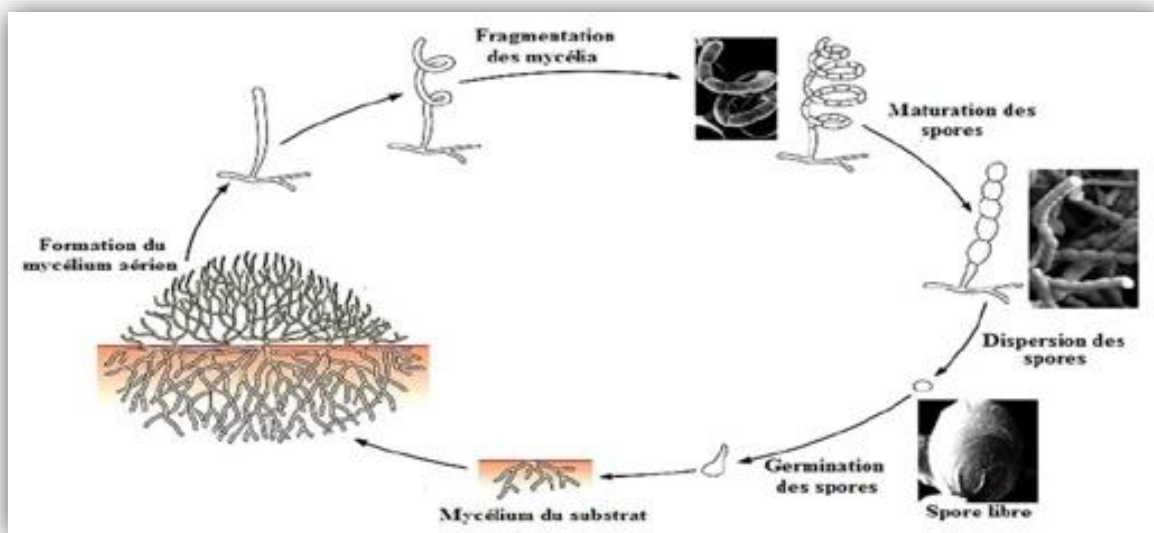


Figure 01. Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries Mycéliennes Sporulantes (**Ait Barka et al., 2016**).

Synthèse bibliographique

Actuellement, l'identification taxonomique des actinobactéries est basée sur une approche polyphasique qui est la résultante d'une combinaison de critères. Ainsi, la plupart des genres peuvent être définis par des critères morphologiques et chimiques, tandis que la détermination des espèces repose sur les critères physiologiques et moléculaires.

Les critères morphologiques sont les premiers utilisés, et continuent jusqu'à maintenant à être considérés comme un critère important pour orienter l'identification. Concernant les critères macromorphologiques, il s'agit d'observer, à l'œil nu, la présence ou l'absence du mycélium aérien, la couleur du MA et du mycélium du substrat, la production et la couleur des pigments diffusibles et la production ou non de pigments mélanines. La détermination des couleurs s'effectue grâce à l'utilisation de chartes de couleurs. La micromorphologie des principaux genres d'actinomycètes est illustrée dans la figure 02.

Les caractères chimiques (chimiotaxonomie) consistent à mettre en évidence les constituants majeurs des actinobactéries qui se trouvent au niveau de la paroi cellulaire (présence des formes LL ou DL de l'acide diaminopimélique et présence ou non de glycine), de la membrane plasmique (phospholipides, ménaquinones et acides gras) et des cellules entières (sucres taxonomiquement importants: arabinose, galactose, madurose, rhamnose et xylose) (**Jones et Krieg, 1989**).

Les tests physiologiques sont déterminés par l'étude de la capacité des actinomycètes à dégrader différents composés glucidiques, lipidiques et protidiques, polymères complexes, stéroïdes, etc. D'autres tests interviennent parfois dans la détermination des espèces, comme la résistance à certains agents antimicrobiens et la tolérance à certaines conditions (température, pH, salinité, etc.). Ces tests physiologiques (en nombre élevé) ont été utilisés dans le cadre d'une taxonomie numérique (**Athalye et al., 1985**).

Les études moléculaires sont très importantes pour retracer les parentés phylogénétiques des souches et pour déterminer les espèces. Les principales techniques moléculaires utilisées en taxonomie sont l'analyse des séquences de l'ADN codant pour l'ARN ribosomique 16S (ARNr 16S), l'hybridation ADN-ADN, la détermination du pourcentage de guanine-cytosine, et à un degré moindre, l'analyse des séquences des protéines ribosomiques. Ces techniques ont permis de tracer la phylogénie des actinobactéries (**Stackebrandt et Woese, 1981; Stackebrandt et al., 1981a et 1983; Stackebrandt, 1894**). L'identification des genres est facilitée par les études morphologiques et chimiques tandis que les critères physiologiques et moléculaires séparent les espèces.

Synthèse bibliographique

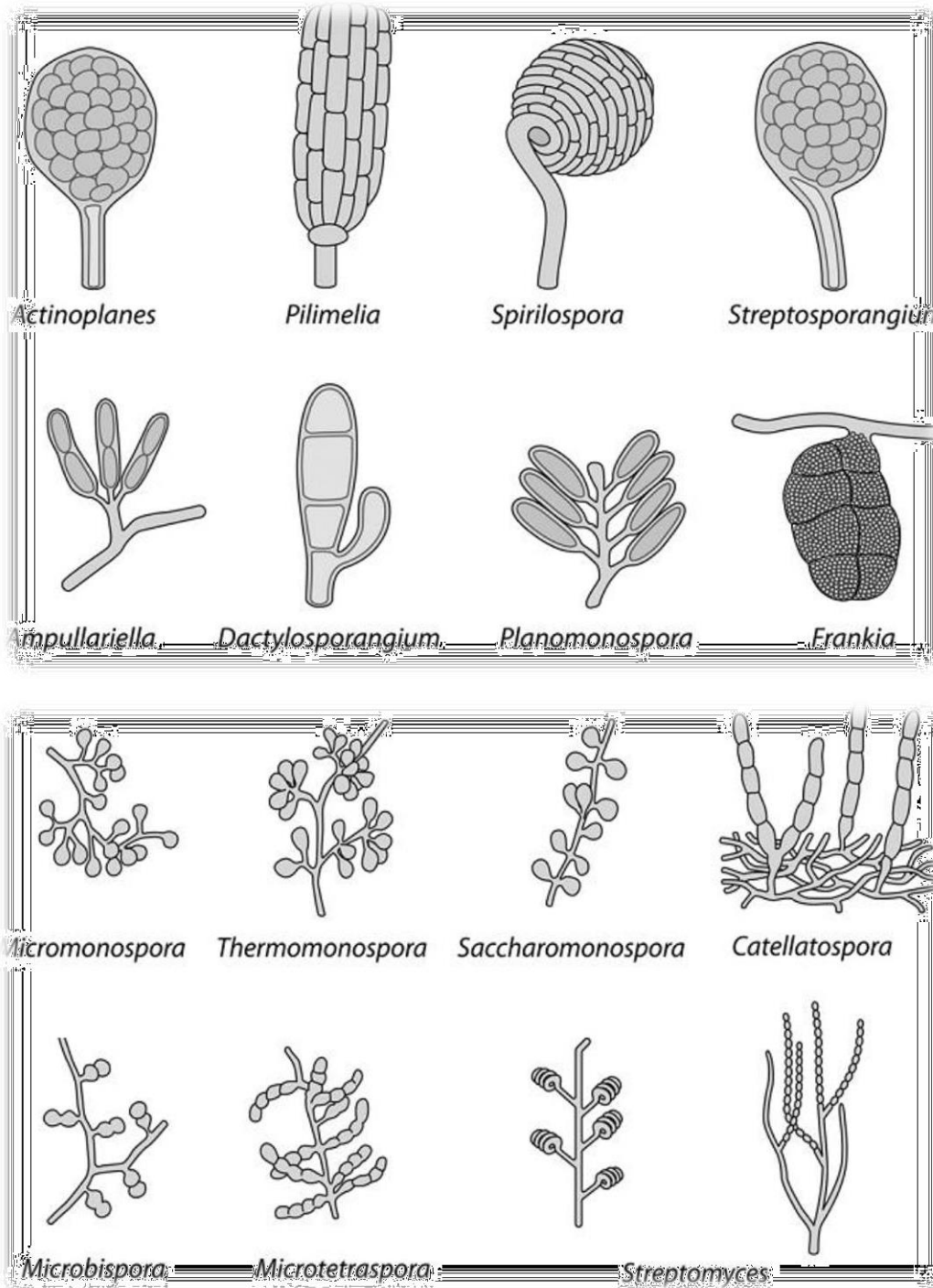


Figure 02. Représentation schématique de la micromorphologie de quelques genres d'actinobactéries (Ait Barka *et al.*, 2016).

Synthèse bibliographique

2. Écologie des actinobactéries

Du fait de leur grande capacité adaptative, les actinobactéries sont des organismes ubiquitaires retrouvés dans différents habitats naturels (Tableau I). On les retrouve dans le sol, l'air, les eaux douces, les eaux de mer, les composts, les débris végétaux, le pollen, les abeilles mellifères, les plantes en culture (endophytes), les lichens et plusieurs autres substrats (Weyland 1981; Goodfellow et Williams 1983; Lacey, 1997; Kim *et al.*, 1998; Taechowisan *et al.*, 2003; González *et al.*, 2005; Promnuan *et al.*, 2011). Ces microorganismes ont également la faculté de coloniser d'autres biotopes particuliers tels que les déserts chauds, les glaciers, les sites pollués par des hydrocarbures ou par des métaux lourds, les grottes naturelles, les lacs extrêmement alcalins, certains milieux très salés ou encore les sédiments marins profonds (Lechevalier 1981; Groth *et al.*, 1997; Sabaou *et al.*, 1998; Moncheva *et al.*, 2002; Pathom-aree *et al.*, 2006; Okoro *et al.*, 2009; Santhanam *et al.*, 2012).

Les actinobactéries sont en majorité saprophytes, mais quelques formes sont pathogènes pour l'homme (*Mycobacterium tuberculosis*, *Nocardia asteroides*), les plantes (*Streptomyces scabies*) ou les animaux (*Actinomyces bovis*) (Goodfellow et Williams, 1983).

Tableau I. Distribution de certains genres d'actinobactéries dans la nature (Manuel de Bergey, 2012).

Genre	Habitat
<i>Amycolatopsis</i>	Sol.
<i>Actinoplanes</i>	Eau, sol.
<i>Aeromicrobium</i>	Sol, plantes, air, habitats aquatiques.
<i>Brevibacterium</i>	Produits laitiers, peau, matériel clinique.
<i>Micromonospora</i>	Eau, sol.
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eaux douces, sédiments marins.
<i>Saccharomonospora</i>	Matière en décomposition, sol.
<i>Salinispora</i>	Eaux marines tropicales et subtropicales.
<i>Streptomonospora</i>	Sols hypersalins.
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière, etc.

Synthèse bibliographique

Le sol représente le réservoir le plus important en actinobactéries (10 à 20% de la microflore tellurique). Typiquement, elles sont présentes dans le sol avec des densités de l'ordre de 10^6 à 10^9 UFC (Unité Formant Colonie) par gramme de sol sec (Goodfellow et Williams, 1983), avec une dominance évidente du genre *Streptomyces* qui représente entre 80 et 95 % des isolats actinobactériens d'origine tellurique (Lechevalier et Lechevalier, 1970). Cependant, l'abondance des actinomycètes au niveau du sol est fortement influencée par certains facteurs tels que la profondeur, le pH, la température, l'humidité, l'aération, le taux de matière organique et sa qualité, la charge microbienne, etc. (Sabaou *et al.*, 1998). Les actinobactéries préfèrent un pH compris entre 7 et 8 et une humidité réduite de l'ordre de 5 à 25%. La majorité des actinobactéries sont mésophiles, basophile ou neutrophiles. Certaines espèces sont acidophiles ou halophiles (Hagedorn, 1976; Meklat *et al.*, 2011). Certains genres, tels que les *Thermomospora*, sont thermophiles (Sabaou *et al.*, 1998).

En Algérie, les sols sahariens se sont révélés être relativement assez riches en actinomycètes, aussi bien du point de vue quantitatif que qualitatif (Sabaou *et al.*, 1980, 1992 et 1998). Différents travaux d'isolement menés par Sabaou et ces collaborateurs ont permis, *via* l'utilisation des méthodes sélectives, d'isoler un nombre important de souches appartenant à des genres considérés comme peu fréquents à rares, et ont également permis la découverte de nouvelles espèces (Sabaou *et al.*, 1998, Zitouni *et al.*, 2004; Meklat *et al.*, 2012; 2013; 2014; Boubetra *et al.*, 2012; Lahoum *et al.*, 2015; Chaouch *et al.*, 2017) et même de deux nouveaux genres (*Mzabimyces* et *Bounagaea*) (Saker *et al.*, 2014; Meklat *et al.*, 2015).

3. Intérêt des actinobactéries

Si quelques espèces d'actinobactéries sont pathogènes, la majorité, sont cependant très utiles. Leur hétérogénéité métabolique et leur diversité écologique assez exceptionnelles font d'eux des producteurs potentiels de nombreuses molécules à propriétés très diverses et intéressantes dans les domaines médical, vétérinaire, agronomique et industriel (Peczynska-Czoch et Mordarski, 1988; Sanglier *et al.*, 1993).

3.1 Intérêt en agronomie

Les actinobactéries sont connues pour leur rôle important dans le domaine agronomique. Elles sont très utiles dans l'amélioration de la qualité des sols agricoles par la biodégradation des substances peu ou non dégradables par les autres microorganismes comme les polymères

complexes, les polysaccharides, les lignocelluloses et la chitine (**Goodfellow et Williams, 1983; Cragg et al., 2015**).

Les actinobactéries ont également la capacité de solubiliser certains minéraux insolubles dans la rhizosphère comme le phosphore (**Hamdali et al., 2008; Jog et al., 2014; Tamreiha et al., 2016**), de produire des phytohormones, l'acide indole acétique par exemple, et des sidérophores (**Macagnan et al., 2008**). De plus, la relation symbiotique endophytique du genre *Frankia* avec plusieurs plantes dicotylédones autres que les légumineuses assure la fixation de l'azote gazeux, et par la suite, l'enrichissement du sol en ammoniac (**Perrine et al., 2011**).

Le pouvoir antagoniste des actinobactéries peut être exploité dans le domaine agronomique pour remédier à certaines maladies des plantes. En effet, ces microorganismes sont préconisés dans le cadre de la lutte biologique contre de nombreux agents phytopathogènes d'origine tellurique ou foliaire (**El-Tarabily et al., 2010; Yekkour et al., 2015; Goudjal et al., 2016; Toumatia et al., 2016; Merrouche et al., 2017**) tels que les *Fusarium* qui peuvent être combattus par un fongicide, le mycostop, dont *Streptomyces griseoviridis*, une actinobactérie, est le microorganisme producteur.

3.2 Intérêt dans le domaine médicale

De nombreuses molécules bioactives sont produites par les actinobactéries et certaines ont trouvé une application en thérapie humaine. Ces bactéries ont fourni des composés anti-tumoraux, des vitamines, des substances vasodilatatrices, des antihistaminiques, des antioxydants, et surtout des antibiotiques (**Baltz, 2008 ; Chang et al., 2011,; Kang et al., 2012; Karthik et al., 2013; Mohammadipanah et Wink, 2016; Ait Barka et al., 2016**). En effet, plus de 45% des molécules bioactives d'origine microbienne sont produits par les actinobactéries (**Solecka et al., 2012**). Parmi ces molécules, environ 80% sont produites par les espèces du genre *Streptomyces* (Figure 03). le genre le plus répandu dans l'environnement (**Bull et Stach, 2005; Mohamed et Galal, 2005; Jose et al., 2011**). Les antibiotiques sécrétés par ce genre peuvent être à activités antibactériennes et/ou antifongiques (aminoglycosides, aromatiques, glycopeptides, macrolides, polyènes, etc.), ou encore, avoir des propriétés antitumorales et cytostatiques (adriamycine, anthramycine, daunomycine, rebeccamycine, etc.) (**Mann, 2001; Butler, 2004**). Plusieurs d'entre eux ont trouvé une application thérapeutique assez importante (**Jose et Jebakumar, 2013**).

D'autres molécules sont très utilisées en médecine vétérinaire. C'est l'exemple de l'ivermectine produite par *Streptomyces avermitilis*, qui est un antihelminthique (contre les nématodes chez les animaux) (**Ait Barka et al., 2016**).

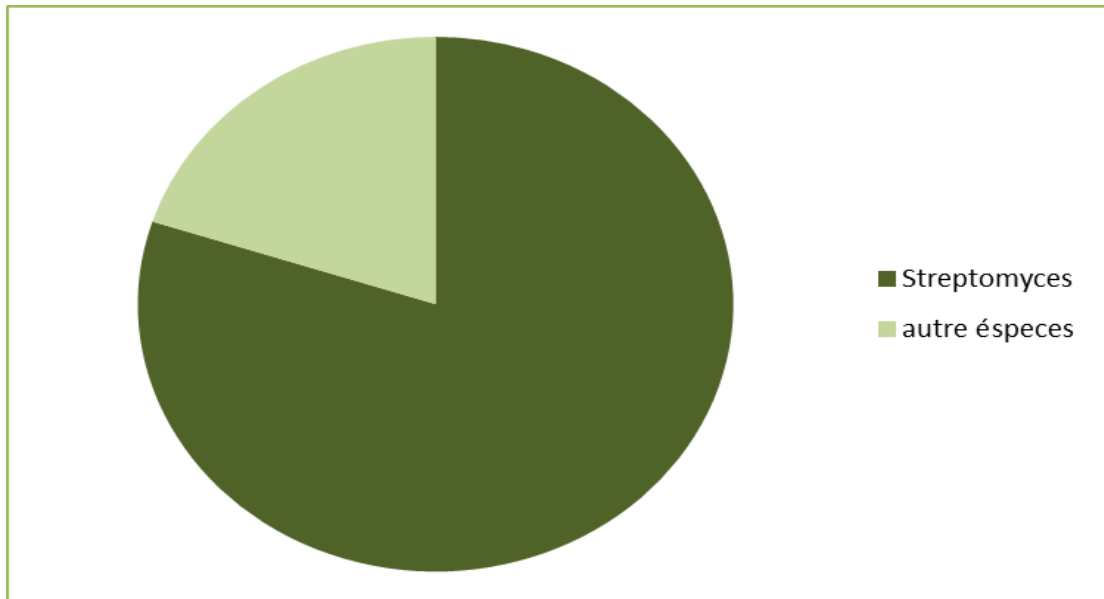


Figure 03. Secteur angulaire montrant la répartition de la production des molécules bioactives entre le genre de *Streptomyces*, et d'autre genre d'actinobactéries.

3.3 Intérêt dans d'autres domaines

Les actinobactéries ont un rôle écologique important, comme par exemple dans la dégradation des hydrocarbures (Essien et Udosen, 2000) et la minéralisation du phénol et des déchets industriels (Bhatena *et al.*, 2002). Ils interviennent aussi dans l'industrie alimentaire comme protecteurs de certains fromages, et pour le traitement des emballages (ex: pimaricine) (Wolfe *et al.*, 2014). Dans l'industrie des détergents, ils interviennent comme producteurs de protéases (Moreira *et al.*, 2002).

4. Le genre *Streptomyces*

4.1 Taxonomie des du genre *Streptomyces*

Le genre *Streptomyces* a été très longtemps inclus dans l'ordre des *Actinomycetales* (Bergey's Manual, 2004). Cependant, dans l'édition du Manuel de Bergey de 2012 et sur la base des données de la biologie moléculaire, Goodfellow *et al.* (2012) ont subdivisé cet ordre en plusieurs ordres. Le genre *Streptomyces* appartient actuellement à l'ordre des *Streptomycetales* et à la famille des *Streptomycetaceae*. Il fait partie du domaine *Bacteria*, du phylum *Actinobacteria* et de la classe *Actinobacteria*.

Le genre *Streptomyces* englobe actuellement plus de 843 espèces définies sur la base du gène codant pour l'ARN 16S et de l'hybridation ADN-ADN (Kemung *et al.*, 2018). Les espèces appartenant à ce genre appartiennent en majorité à la famille des *Streptomycetaceae*.

Synthèse bibliographique

Morphologiquement, les espèces appartenant au genre *Streptomyces* possèdent un mycélium du substrat abondamment ramifié, généralement non sporulé, surmonté par un mycélium aérien produisant des sporophores qui donnent naissance à des chaînes de spores (jusqu'à 50 spores ou plus par chaîne) de formes variées: droites à flexueuses (type RF = *Rectus Flexibilis*), en crochets ou en boucles (type RA = *Retinaculum Apertum*) ou encore spiralées (type S = *Spira*). (Figure 04). Les spores ne sont pas mobiles et ont une surface lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue.

Chimiquement, la paroi du genre *Streptomyces* est caractérisée par la présence de l'isomère LL de DAP avec glycine et absence de sucres caractéristiques. C'est-à-dire, une paroi de type IC (Holt *et al.*, 1994). Les acides gras de type ramifiée iso et antéiso, parfois insaturés et cyclopropaniques (Rezenka *et al.*, 1984) et les phospholipides membranaires sont de type PII (Lechevalier *et al.*, 1977). Le pourcentage de GC des espèces de *Streptomyces* est compris entre 68 et 78% (Bergey's Manual, 2012).

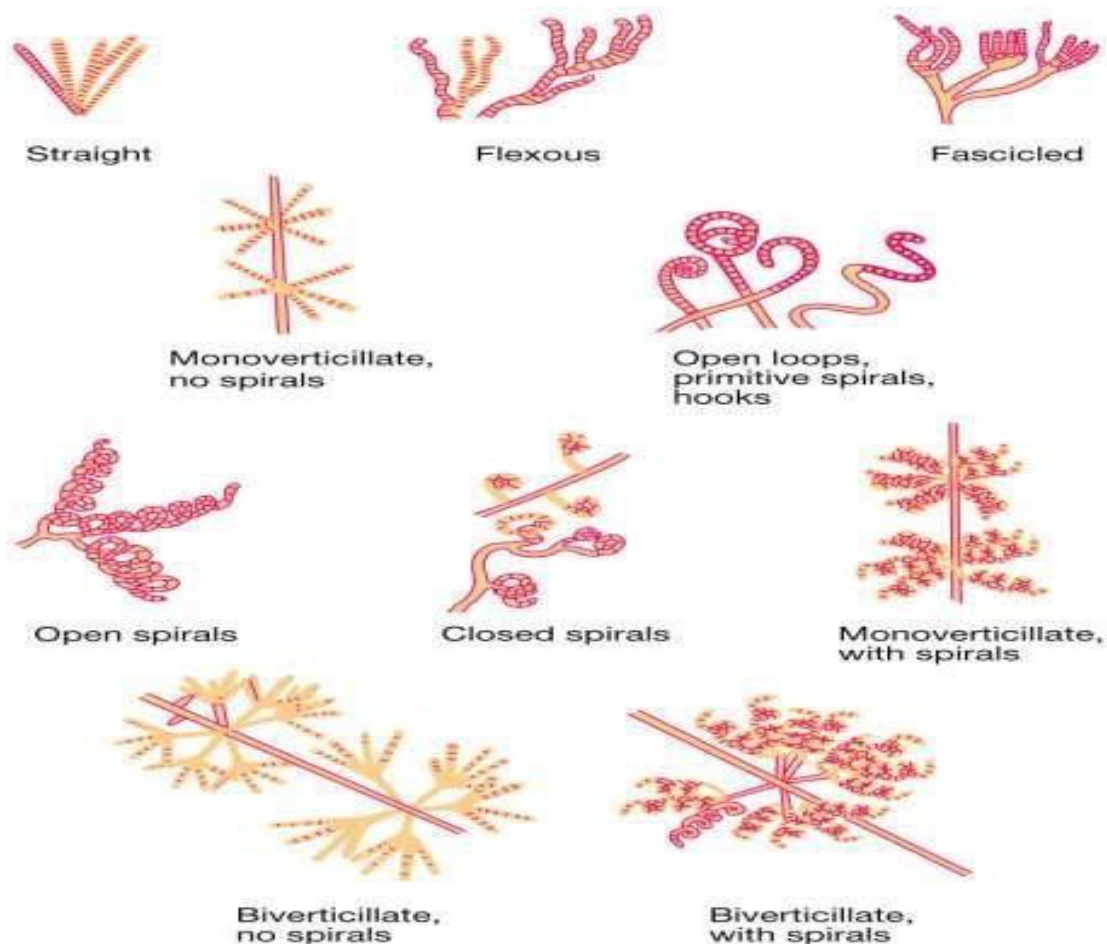


Figure 04. Types de chaînes de spores rencontrés chez les espèces de *Streptomyces* (Bergey's Manual, 2012).

4.2 Métabolites secondaires sécrétés par les espèces de *Streptomyces*

Les *Streptomyces* sont exceptionnels pour la production des métabolites secondaires bioactifs, produisant ainsi plus d'un tiers des antibiotiques disponibles dans le commerce. Leurs métabolites secondaires possèdent des activités biologiques très variées (Tableau II).

Le premier antibiotique identifié chez les *Streptomyces* est la streptomycine, produit par *S. griseus* (Schatz *et al.*, 1944), qui a été utilisé à l'époque comme traitement contre la tuberculose.

Par ailleurs, l'espèce *S. ambofaciens* a été découverte dans les années 50 et est connue pour la production de congocidine (Cosar *et al.*, 1952) et de spiramycine (Pinnert-Sindico, 1954). Par la suite, d'autres antibiotiques ont été isolés à partir de cette souche, telles que la kinamycine (Pang *et al.*, 2004), la stambomycine (Laureti *et al.*, 2011) et l'antimycine qui est un antifongique (Schoenian *et al.*, 2012).

Les souches de *Streptomyces* sont capables de synthétiser des molécules à propriétés diverses (composés antifongiques, antibactériens, insecticides, herbicides, antiparasitaires, acaricides, nématocides, antiviraux, antitumoraux, anti-allergéniques, antioxydants, enzymes, vitamines, etc.) (Maciej, 2005; Hopwood, 2007; Kämpfer *et al.* 2014).

En effet, ce genre bactérien est à l'origine d'environ 70 à 80% des molécules antibiotiques naturelles utilisées en médecine (Harir *et al.*, 2018) et 60% des antifongiques utilisés en agriculture (Sujatha *et al.*, 2005).

Plusieurs travaux ont été menés pour augmenter la production de métabolites d'intérêts à partir de ce genre bactérien. Il a été démontré l'importance majeure et l'implication de l'influence des conditions de culture de la bactérie productrice sur la production des métabolites recherchés (Tata, 2020).

Synthèse bibliographique

Tableau II. Exemples de molécules bioactives produites par les *Streptomyces*.

Antibiotique	Activité	Streptomycète producteur	Références bibliographiques
Streptomycine	Antibactérien	<i>S. griseus</i>	Aung (1997)
Spiramycine	Antibactérien	<i>S. ambofaciens</i>	Colombié (2005)
Néomycine	Antibactérien	<i>S. fradiae</i>	Aung (1997)
Acide clavulanique	Inhibiteur enzymatique	<i>S. clavuligerus</i>	Birnbaum et al. (1978)
Nystatine	Antifongique	<i>S. noursei</i>	Aung (1997)
Antimycine A	Antifongique	<i>S. antibioticus</i>	Aung (1997)
Ara-A	Antiviraux	<i>S. antibioticus</i>	Larpen et Larpen Gourgaud (1997)
Tunicamycine		<i>S. chartreusis</i>	
Daunorubicine	Anticancéreux	<i>S. peucetius</i>	
Actinomycine D		<i>S. antibioticus</i>	
Mitomycine C	Immunosuppresseurs	<i>S. caespitosus</i>	
FK-506		<i>S. tsukubaensis</i>	
Avermectine	Insecticides	<i>S. avermitilis</i>	
Milbémycine		<i>S. hygrosopicus</i>	
Hygromycine B	Antiparasitaires	<i>S. hygrosopicus</i>	
Monensine		<i>S. cinnamomensis</i>	
Phosphonothricine	Herbicides	<i>S. viridochromogenes</i>	
Bialaphos		<i>S. hygrosopicus</i>	
N-[2-(1H-in- dol-3-yl)-2oxoethyl] Acétamide	Antibactériens et antifongiques	<i>Streptomyces</i> sp. TN256	Smaoui et al. (2011)
1-Nonadécène			
Cyclo (L-Pro-L-Tyr), diketopiperazine (DKP) derivative			
Streptophénazine	Antibactériens + anticancéreux	<i>Streptomyces</i> sp. BCC21835	Bunbamrung et al. (2014)
1, 2- benzene dicar- boxylic acid, mono 2- ethylhexyl ester (DMEHE)	Anticancéreux	<i>Streptomyces</i> sp. VITSJK8	Krishnan et al. (2014)
Validamycine A	Antifongique	<i>S. hygrosopicus</i>	Zhou et Zhong (2015)

5. Les antibiotiques

5.1 Définition

Etymologiquement, le terme “antibiotique” est dérivé des mots grecs “anti” qui veut dire contre et “bios” qui signifient la vie, c’est-à-dire, “contre la vie. Au sens large, un antibiotique est une substance qui peut être naturelle, synthétique ou semi- synthétique (obtention par modifications chimiques ou enzymatiques des molécules naturelles) inhibant la croissance d’autres microorganismes ou les détruisent (**Bugnicourt, 1995**).

En plus des microorganismes, les antibiotiques ont été isolés également à partir des plantes et des animaux (**Lazzarini et al., 2000**).

Les antibiotiques d’origine microbiens sont synthétisés généralement à la fin de la phase exponentielle (trophophase). Cependant, en ce qui concerne les actinobactéries et les *Streptomyces* en particulier, les métabolites secondaires peuvent parfois être produits durant les phases exponentielle, stationnaire et de déclin (**Zitouni, 2005; Badji, 2006**).

5.2 Microorganismes producteurs d’antibiotiques

5.2.1 Les actinobactéries

De tous les microorganismes, les actinobactéries occupent la première place comme fournisseurs d’antibiotiques, avec 45% de molécules d’origine microbienne à leur compte, soit environ 10 100 de ces composés. le genre *Streptomyces* produit à lui seul plus de 7 600 antibiotiques, soit environ 36% de toutes les molécules d’origine microbienne, et 80% de toutes les molécules d’origine actinobactérienne (**Solecka et al., 2012**).

Parmi les antibiotiques élaborés par les espèces appartenant au genre *Streptomyces*, nous pouvons citer de nombreuses molécules commercialisées tels que le streptomycine, la kanamycine, l’oxytétracycline, le chloramphénicol, l’érythromycine, la néomycine, la novobiocine et la nystatine, etc. (**Yassour et al., 2016; Singh et al., 2017**).

5.2.2 Les bactéries non mycéliennes et champignons

Les bactéries non mycéliennes produisent environ 17% des antibiotiques d’origine microbienne (**Solecka et al., 2012**). La plupart sont élaborés par les *Bacillaceae* (ex.: *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*) et les *Pseudomonadaceae* (ex.: *Pseudomonas*). La plupart des molécules bioactives produites par les *Bacillus* sont de nature peptidique. D’autres bactéries appartenant à des genres très divers tels que *Micrococcus*, *Chromobacterium*, *Proteus*, etc., produisent également quelques antibiotiques (**Breton et al., 1989; Bonmatin et al., 2003**).

Synthèse bibliographique

Environ 38% des champignons décrites sont productrices d'antibiotiques (**Solecka et al., 2012**). La plupart des champignons producteurs de molécules bioactives sont des ascomycètes ou des formes imparfaites telles que *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cephalosporium* et *Fusarium*, ou encore certains basidiomycètes et zygomycètes (**Laskin et Lechevalier, 1984; Barrett, 2002**). Les antibiotiques sécrétés les plus connus sont la pénicilline, la céphalosporine, l'acide fusidique et la griséofulvine (**Barrett, 2002**).

6. Classification générale des antibiotiques

Les antibiotiques constituent un groupe de molécules bioactives hétérogène qui peuvent être classés selon plusieurs critères: la structure chimique, l'origine, le mécanisme d'action et le spectre d'action (**Berdy et al., 1987; Bycroft, 1988; Yala et al., 2001**). La classification la plus utilisée en recherche fondamentale est celle de **Berdy et al. (1987)** qui repose sur la nature chimique des antibiotiques (Tableau III). Près de 7000 molécules ont été classées dans 9 grandes familles chimiques.

Tableau III. Classification des antibiotiques d'après leur structure chimique (**Berdy et al., 1987**).

Familles d'antibiotiques	Sous-familles	Exemples
Antibiotiques glycosilés	Glucides purs	Nojirimycine.
	Aminoglycosides	Streptomycine, gentamicine, kanamycine.
	Glycosides	C-glycosides: vancomycine. N-glycosides: streptothricine.
	Glycolipides	Moenomycine.
Lactones macrocyclo- cliques	Macrolides	Spiramycine, érythromycine.
	Polyènes	Amphotéricine, nystatine, candididine.
	Macrotétrolidés	Tetranactine, nonactine.
	Macrolactames	Rifamycine.
Quinones et apparentés	Polycycliques accolés linéairement	Tétracyclines.
	Dérivés naphthoquinoniques	Anthracyclines.
	Dérivés benzoquinoniques	Mitomycine.

Synthèse bibliographique

Acides aminés et peptides	Dérivés d'acides aminés	Cyclosérine, pénicilline, nocardicine.
	Homopeptides	Bacitracine, cyclosporine.
	Hétéropeptides	Aculéacine.
	Depsipeptides	Valinomycine.
Hétérocycles à azote	Hétérocycles non accolés	Caerulomycine, mildiomy-cine.
	Hétérocycles accolés	Phénazines, herbicidine.
Hétérocycles à oxygène	Polyéthers	Monensine, nigéricine.
Composés alicycliques	Dérivés du cycloalcane	Cycloheximide.
	Terpènes	Acide marasmique.
	Oligoterpènes	Acide fusidique.
Composés aromatiques	Dérivés benzéniques	Chloramphénicol.
	Aromatiques accolés	Griséofulvine.
	Composés non benzéniques	Fusariocine.
	Autres dérivés aromatiques	Novobiocine.
9- Composés alipha-tiques	Dérivés des alcanes	Élaiomycine.
	Dérivés d'acides carboxy-liqués	Cérulénine.
	Composés contenant du phosphore ou du soufre	Fosfomycine.

6.1 Les antibiotiques antifongiques

L'obtention de molécules antifongiques intéressantes est plus difficile que celles des molécules antibactériennes à cause de leur cible qui a une structure eucaryote tout comme les cellules humaines, excepté pour la paroi qui leur est spécifique. Les antifongiques dont le mode d'action n'est pas ciblé sur les parois fongiques seront également potentiellement toxiques pour l'hôte. En raison de cette similitude, les antifongiques qui ne ciblent pas une composante de la paroi ne sont pas privilégiés en thérapie antifongique (**Georgopapadakou et walsh, 1996**).

6.1.1. Les antifongiques d'origine naturels

Près de 40% des antibiotiques produits par l'ensemble des microorganismes possèdent une activité antifongique (**Berdy *et al.*, 1987**). Ces molécules sont surtout synthétisées par des actinobactéries ou des champignons (**Breton *et al.*, 1989**). En outre, plus de la moitié de ces antifongiques possèdent également des activités antibactériennes (**Berdy *et al.*, 1987**). Selon leur structure, les antifongiques naturels sont classés selon leur structure dans deux grands groupes: les molécules polyéniques (actifs principalement contre les champignons) et les molécules non polyéniques (ayant souvent une activité antibactérienne en plus) (**Berdy, 2005**).

α . Les antifongiques polyéniques

La structure chimique des antifongiques polyéniques est caractérisée par la présence d'un grand cycle lactone (comprenant 12 à 37 atomes de carbone) possédant une partie hydrophile (6 à 14 fonctions hydroxyles) et une partie du squelette carboné hydrophobe ayant entre trois et sept doubles liaisons conjuguées (**Brautaset *et al.*, 2000**). Malgré l'action forte des antifongiques polyéniques contre les champignons, très peu sont utilisés pour traiter les infections fongiques, en raison des problèmes liés à leur toxicité, à leur instabilité et à leur insolubilité. L'amphotéricine B et la nystatine sont les plus utilisés en thérapie (**Gupte *et al.*, 2002**), et la natamycine en industrie alimentaire (comme conservateur en fromagerie et en charcuterie) (**Farid *et al.*, 2000**).

β . Les antifongiques non-polyéniques

Les antifongiques non-polyéniques possèdent des structures chimiques très variées et appartiennent à plusieurs familles d'antibiotiques: aromatiques, hétérocycles azotés, quinones, composés alicycliques, aminoglycosides, peptides, polyéthers, aglycones, etc. (**Berdy *et al.*, 1987**; **Walsh et Giri, 1997**). Ils présentent en générale une toxicité moindre que les polyènes, ce qui leur donne une place importante dans la thérapie humaine et vétérinaire. Parmi Les antifongiques non-polyéniques commercialisés, il existe la griséofulvine, bénanomicine, la flucytosone, les échinocandines, etc. (**Gozalbo *et al.*, 2004**). Cependant, d'autres molécules ont trouvé une application dans le domaine agricole comme biopesticide: l'antimycine A, l'auréofungine, la blasticidine S, le cycloheximide, l'ézomycine, la kasugamycine, la mildiomyicine, les polyoxines B et D, la gramicidine, la phytoactine, la validamycine, etc. (**Misato, 1982**; **Deacon, 1984**; **Bauer, 1986**).

6.1.2 Les antifongiques de synthèse

La synthèse chimique a fourni aussi quelques molécules antifongiques utilisées actuellement en thérapie humaine ou vétérinaire, ainsi qu'en agriculture, tels que les analogues des nucléosides (ex., la flucytosine qui est un analogue de la pyrimidine), les allylamines (ex., la terbinafine), les azolés (ex., tébuconazole, imidazoles, fluconazole, benzimidazole), les échinocandines et pneumocandines (ex., caspofungine, micafungine), ou encore les carbamates et dérivés (ex., thiocarbamates) (**Andriole, 2000; Balmas *et al.*, 2005; Dupont, 2007**).

7. Mode d'action des antifongiques

Les substances antifongiques affectent le cycle de vie normal des champignons en causant des interférences métaboliques au niveau cellulaire, en visant, plusieurs cibles:

- la paroi et/ou la membrane cellulaire par inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol nécessaire à la formation de la membrane cellulaire (exemple, dérivés azolés), inhibition de la synthèse des phospholipides membranaires (exemple, amphotéricine B), inhibition de la synthèse des glucanes de la paroi cellulaire (exemple, échinocandines).
- la cible peut être intracellulaire, telle que la perturbation du métabolisme respiratoire cellulaire (exemple, carboxamides), inhibition de la synthèse des acides (ex, Flucytosine), inhibition de la division cellulaire (exemple, griséofulvine), inhibition de la synthèse des protéines (exemple, Kasugamicine et cycloheximide).
- des cibles variées (exemple, dithiocarbamates ayant des actions inhibitrices sur divers systèmes enzymatiques de type sulfhydryle et métal-dépendante) (**Miller, 1982; Carle, 2003; Odds *et al.*, 2003; Hulin *et al.*, 2005; Horsefield *et al.*, 2006**).

8. Facteurs influençant la production d'antibiotiques

La production d'antibiotiques (métabolites secondaires) chez les actinobactéries est conditionnée par trois éléments: la présence de la biomasse, la quantité des précurseurs disponibles et l'activité enzymatique relative à la voie métabolique concernée (**Rafieenia, 2013**). Ces trois paramètres sont sous l'influence de plusieurs facteurs nutritionnels (sources de carbone et d'azote, de phosphate inorganique, d'oligoéléments, etc.) et physico-chimiques et environnementaux (pH, température, aération et vitesse d'agitation) (**Ruiz *et al.*, 2010; Sánchez *et al.*, 2010**).

8.1 Les facteurs nutritionnels

La production d'antibiotiques est souvent contrôlée par des mécanismes dus au métabolisme des sources de carbone, d'azote et de phosphate (induction et répression de la biosynthèse) (Souagui *et al.*, 2015; Souagui *et al.*, 2019). En effet, plusieurs travaux ont montré que la nature et la concentration de certains composés dans le milieu de culture ont un effet important sur la production des antibiotiques (Bouras *et al.*, 2005; Merrouche, 2012; Hasani *et al.*, 2014; Falzone *et al.*, 2017; Leulmi *et al.*, 2019; tata, 2020). De plus, l'origine d'une même source de carbone peut parfois affecter la production d'antibiotiques (Adinarayana *et al.*, 2003).

8.1.1 Influence des sources de carbone

Le carbone est une source d'énergie, il présente un élément structural des cellules microbiennes. Le type de la source carbonée utilisée et sa disponibilité dans le milieu de culture influence fortement le métabolisme secondaire et par conséquent la production d'antibiotiques (Spížek et Tichý, 1995; Rafieenia, 2013; Leulmi *et al.*, 2019). La source de carbone peut être simple ou complexe. Son effet dépend de sa concentration, du temps de son addition, de la composition du milieu de culture (synthétique ou complexe) et de la souche cultivée (Singh et Rai, 2012; Ababutain *et al.*, 2013; Souagui *et al.*, 2015).

La production des antibiotiques s'avère souvent meilleure sur une source de carbone complexe, plus lentement catabolisables comme les polysaccharides (ex: dextrine, amidon) (Ababutain *et al.*, 2013; Siddique *et al.*, 2013) que sur une source de carbone rapidement assimilable (ex: glucose), qui peut diminuer la production des antibiotiques malgré son effet positif sur la croissance (répression catabolique glucidique) (Bouras, 2005).

D'autres sources de carbone peuvent exercer un effet à la fois inhibiteur et répresseur sur certains systèmes enzymatiques participant au métabolisme secondaire, tels que le glycérol qui a inhibé la Dcyclosérine synthétase chez *Streptomyces ambofaciens* (Svensson *et al.*, 1983; Lounes *et al.*, 1995). Par ailleurs, les acides organiques et les acides gras constituent des sources de carbone intéressantes (Rafieenia, 2013). Les travaux de Bouras *et al.* (2007 et 2008) ont montré que l'ajout des acides organiques à une concentration optimale de 5 mM dans un milieu semi-synthétique influence la production des antibiotiques appartenant à la famille des dithiopyrrolones chez *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. Merrouche *et al.* (2010, 2011, 2018 et 2019) ont montré que cette souche de *Saccharothrix* synthétise 14 nouvelles dithiopyrrolones en présence de certains acides organiques. Khebizi (2018), a également constaté que la production des antibiotiques sécrétés par la souche de *Streptomyces*

sp. HG29 est nettement meilleure avec les acides organiques en tant que sources de carbone au lieu des glucides.

En général, plusieurs chercheurs ont constaté que la variation des paramètres de culture permis la modification des voies de biosynthèse, aboutissant ainsi à la production des nouvelles molécules (Waites *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2019).

8.1.2 Influence des sources d'azote

L'azote est indispensable pour la biosynthèse de nombreuses biomolécules telles que les acides aminés et les bases azotées. La plupart des antibiotiques comptent au moins un atome d'azote dans leur structure (Lebrihi *et al.*, 1992; Khaliq *et al.*, 2013). La forme sous laquelle l'azote est apporté aux cultures peut influencer sur les rendements de production des antibiotiques. L'influence peut situer sur le taux de croissance et au niveau plus direct sur le fonctionnement des enzymes responsables du métabolisme secondaire (Aharonowitz, 1980).

Les sources d'azote sont divisées en deux principales groupes: les sources d'azote organique simple (acides aminés) ou complexe (extrait de levure, peptone, tryptone, etc.) et les sources d'azote inorganique (sels d'ammonium, nitrates). Les sources d'azote organique sont des sources d'azote durables, qui sont bénéfiques pour la croissance ainsi que la biosynthèse des métabolites (Baoxin *et al.*, 2011). En revanche, les sources d'azote inorganique sont des sources rapidement catabolisées, qui sont bénéfiques pour la croissance rapide des microorganismes (Manikkam *et al.*, 2015).

Les sources les plus favorables à la production d'antibiotiques sont les sources d'azote organiques telles que les acides aminés et les sources d'azote complexes qui permettent une croissance lente et une assimilation progressive de l'azote. L'importance des acides aminés comme sources d'azote dans la régulation de la biosynthèse des antibiotiques a été démontrée par plusieurs chercheurs. Bouras *et al.* (2006a et b), ont montré que certains acides aminés additionnés au milieu de culture augmente la production des dithiopyrrolones chez *Saccharothrix algeriensis*. Les résultats obtenus par Merrouche (2012), ont montré que cette souche d'actinobactérie produit de nouvelles molécules de dithiopyrrolones après addition de la cystine et de l'arginine au milieu de culture semi-synthétique. Tata (2020), a signalé que l'addition du tryptophane au milieu de culture permet la biosynthèse de nouveaux antibiotiques nommés mzabimycin A et mzabimycin B par la souche de *Streptomyces* sp. PAL114.

Les sources d'azote inorganique rapidement assimilables, en particulier les ions d'ammonium, peuvent parfois réprimer la biosynthèse des antibiotiques (Brana et demain, 1988). Il a été montré qu'une concentration trop importante en ions ammonium pouvait

inhiber leur production (**Brana et Demain, 1988; Khaliq et al., 2013**). La répression catabolique par les ions ammonium est due à un effet régulateur sur les enzymes de la voie de biosynthèse métabolites secondaires.

8.1.3 Influence des éléments minéraux et des oligoéléments

plusieurs travaux ont montré l'implication des éléments minéraux (comme le potassium, le magnésium et le phosphore), ainsi que les oligoéléments (comme le fer, le cobalt, le cuivre, le zinc, le manganèse, le molybdène et le Nickel) à des faibles concentrations dans la stimulation de la croissance et la production des antibiotiques (**Strub et al., 2008; Song et al., 2012**).

Les éléments les plus couramment étudiés sont le manganèse, le cuivre, le fer et le zinc. Ils auraient une influence sur la proportion des différents types d'antibiotiques produits (**Siddique et al., 2013**). Selon plusieurs chercheurs, l'addition du CaCO₃ augmente la biomasse cellulaire et la production des antibiotiques, tout en maintenant le pH aux environs de la neutralité (**Lamsaïf, 1992, Lamari et al., 2002a et b; Bouras, 2005**).

8.2 Les facteurs physico-chimiques

8.2.1 Influence du pH

La production des antibiotiques peut être influencée par les conditions de pH. Par exemple, les résultats obtenus par **Elibol (2002)** montrent que la production de l'undécylprodigiosine chez la souche de *Streptomyces coelicolor* se fait à pH 7,2, mais dans les mêmes conditions de culture, lorsque le pH n'est pas contrôlé, la souche produit un autre métabolite, l'actinorhodine. **Augustine et al. (2005)**, a montré que la production d'un antibiotique antifongique chez *Streptomyces rochei*, est soit stimulée ou inhibée en fonction des variations du pH. De même, **Boubetra (2013)** a montré que la production des antibiotiques chez *Saccharothrix tamanrassetensis* est meilleure à pH 7.

D'une manière générale, la production des antibiotiques est optimale à pH neutre ou légèrement basique, par contre les pH alcalins ou acides, ne favorisent pas la production (**Wang et al., 2010; Oskay, 2011**).

8.2.2 Influence de la température

La température est un facteur qui influence fortement sur la production des antibiotiques et la croissance. Plusieurs chercheurs ont rapporté que les températures optimales permettant une synthèse des antibiotiques sont généralement plus basses que celles permettant la croissance (**Larpent et Sanglier, 1989; Lu et al., 2019**). Les travaux réalisés par **Sujatha et al.,**

(2005) ont montré qu'une souche de *Streptomyces* pouvait croître entre 20°C et 40°C, mais produisait l'antibiotique polykétide SBR-22 uniquement entre 25°C et 33°C avec un optimum de production à 30°C. De même, **Zitouni et al. (2004)** ont rapporté que *Saccharothrix algeriensis* possède une gamme assez large de température de croissance, entre 18 et 45°C avec un optimum à 30°C, mais la gamme correspondant à la production des antibiotiques est beaucoup plus étroite.

8.2.3 Influence de l'agitation et du temps d'incubation

Concernant, l'agitation, celle-ci affecte non seulement l'aération mais aussi le mélange des éléments nutritifs dans le milieu de fermentation et par conséquent la production des antibiotiques (**Wadetwar et al., 2013; van Dissel et van Wezel, 2017**). Ainsi, les résultats obtenus par **Mellouli et al. (2004)** ont montré, que la meilleure production d'antibiotiques chez une souche de *Streptomyces* est obtenue à une agitation comprise entre 200 et 250 rpm.

Le temps est un facteur déterminant pour l'évolution de la production des antibiotiques. Chez les *Streptomyces*, elle est variable d'une espèce à une autre, voire même d'une souche à une autre (**Oskay, 2011; Prasad, 2015**). A titre d'exemple, la production d'un métabolite antifongique par la souche *Streptomyces rochei* AK39 commence après 4 jours d'incubation pour atteindre un maximum après 8 jours (**Augustine et al., 2005**). Cependant, pour la souche *Streptomyces* TN58, la production des antibiotiques commence après 60 h d'incubation pour atteindre un maximum après 72 h (**Mellouli et al., 2004**).



Matériel et Méthodes

II. Matériel et Méthodes

* Matériel

1. Origine de la souche AD8 de *Streptomyces*

Dans ce travail, la souche d'actinobactérie utilisée marquée AD8 appartient au genre *Streptomyces*, issu du Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de Kouba-Alger. Elle a été isolée par la méthode de suspensions-dilutions (**Rapilly, 1968**), sur milieu «chitine-vitamines B agar» (CH.V) (**Hayakawa et Nonomura, 1987**), depuis un échantillon de sol saharien.

1.1 Conservation de la souche

La souche AD8 de *Streptomyces* sp. est conservée à 4°C par repiquages successifs sur milieu solide ISP2 (International *Streptomyces* Project 2) (**Shirling et Gottlieb, 1966**).

1. Microorganismes-cibles

Dans le but d'évaluer les propriétés antagonistes et pour tester l'activité antifongique de la souche AD8 de *Streptomyces* sp., cinq champignons toxigènes ont été utilisés comme germes cibles. Ces microorganismes appartiennent à la collection de Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de Kouba-Alger.

Les champignons cibles utilisés pour l'évaluation des propriétés antagonistes et de l'activité antifongique de l'isolat AD8 de *Streptomyces* sont: *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, *Penicillium expansum* et *Penicillium glabrum*.

2. Milieux de cultures

Cinq milieux de cultures sont utilisés, deux milieux complexes (ISP2 et Bennett) et trois milieux semi-synthétiques (MSSG, MSSD et MSSA).

- **Le milieu ISP2** est composé de: 4g glucose, 4 g extrait de levure, 10 g extrait de malt, 20 g agar et 1000 ml eau distillée.

- **Le milieu Bennett** est composé de: 10 g glucose, 2 g peptone, 2 g extrait de levure, 1 g extrait de viande, 20 g agar et 1000 ml eau distillée.

- **Le milieu semi-synthétique (MSS)** de base contient: 2 g Na Cl, 1g K₂HPO₄, 0,5 g KH₂PO₄, 0,2 g MgSO₄·7H₂O, 2 g CaCO₃, 2 g (NH₄)₂SO₄, 20 g agar et 1000 ml eau distillée.

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

- Les milieux MSSG, MSSD et MSSA sont ajoutés de 10 g de glucose, 10 g de dextrine et 10 g d'amidon respectivement. Le pH des milieux a été ajusté à 7,2 en utilisant le NaOH (2 M) avant autoclavage.

* Méthodes

1. Recherche de l'activité antifongique de la souche AD8 sur milieux solides

1.1. Test d'antagonisme par la méthode des cylindres d'agar

L'activité antifongique de l'isolat AD8 de *Streptomyces* sp., a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar (Patel et Brown, 1969). Cette dernière consiste à ensemencer la souche d'actinobactérie à tester (AD8) en stries serrées sur les cinq milieux solides cités ci-devant, puis incuber pendant 10 jours à 30°C.

Consécutivement et dans des conditions aseptiques, des cylindres d'agar de dix millimètres de diamètre sont scindés depuis chaque culture mûre par un emporte-pièce, puis déposés à la surface des boîtes comportant le milieu PDA semi solide (500 ml filtrat de pomme de terre, 20 g de glucose, 12 g agar, 500 ml eau distillée, pH 6,5), ensemencé auparavant par les champignons cibles qui sont prélevés d'une suspension fongique apprêtée suivant la méthode de Bouznada (2018).

D'abord et avant l'incubation à 28°C, les boîtes sont maintenues à 4°C pendant 2 h, pour permettre une bonne diffusion de la substance antibiotique, et freiné temporairement la croissance des microorganismes cibles. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après 48 h à 72 h d'incubation. La figure 05 illustre les étapes de cette méthode.

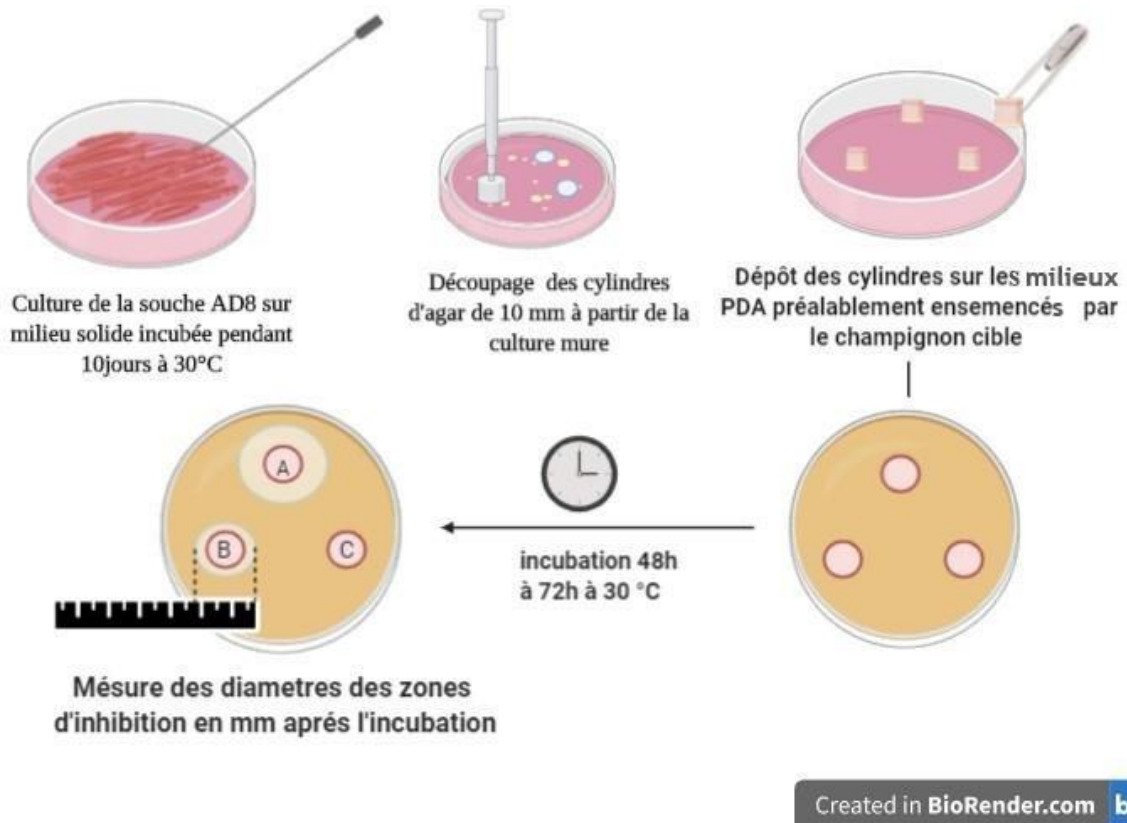


Figure 05. Mise en évidence de l'activité antagoniste antifongique de la souche AD8 de *Streptomyces* sp. par la méthode des cylindres d'agar.

2. Cinétique de croissance, de pH et de la production des antibiotiques par la souche AD8 en milieux liquides

La cinétique de croissance, de pH et de la production des antibiotiques par la souche AD8 a été effectuée pour comparer entre deux milieux de culture et choisir le milieu qui approuve une production idéale des substances antifongiques et d'estimer le jour optimal de leurs production dans des conditions spécifiques pour chaque milieu on suivant quotidiennement et pendant 10 jours l'évolution de pH, du poids sec du mycélium et de l'activité antifongique de la souche AD8.

2.1 Préparation de l'inoculum de la souche AD8

L'ensemencement de la souche étudiée AD8, se fait en stries serrés sur 2 milieux solides (Bennett, MSSD) dans le but d'obtenir des cultures mûres qui aideront à la préparation des pré-cultures, ensuite les boîtes ensemencées sont incubées à 30°C pendant dix jours.

2.2 Préparation des pré-cultures

Des fioles d'Erlenmeyer de 250 ml, contenant chacune 50 ml de milieu de culture liquide (Bennett, MSSD), sont inoculées par des cylindres de six millimètres pris par un emporte-pièce stérile à partir des cultures mûres de la souche AD8 âgée de 10 jours (chaque fiole inclut 2 cylindres de la culture mûre de la souche AD8 poussée sur les mêmes milieux solides). Après 48 h d'incubation sur un agitateur rotatif (250 rpm; 30°C), les pré-cultures sont fortement vortexées, puis adoptées pour inoculer les milieux de production (**Xinxuan *et al.*, 2010**).

2.3 Préparation des cultures

Des fioles d'Erlenmeyer de 500 ml, contenant chacune 100 ml de milieu de culture liquide (Bennett, MSDD), sont inoculées avec 3 ml (soit $1 \pm 0,2$ mg) de pré-cultures en phase exponentielle de croissance (âgées de 48 h, chacune avec la pré-culture correspondante). L'incubation a lieu dans un shaker, dans des conditions d'agitation permanente à 250 rpm, à une température de 30°C pendant 10 jours (**Aouiche, 2011; Merrouche *et al.*, 2012**).

2.4 Prélèvement

A l'aide d'une micropipette, 4 ml de chaque milieu de culture sont prélevés, et partagés aseptiquement sur deux eppendorfs (2 ml en deux répétitions). Les prélèvements sont effectués aseptiquement à des intervalles de temps de 24 h pendant 10 jours d'incubation. Le premier eppendorf, contenant 2 ml qui sert pour l'estimation des variations de pH et de la biomasse, et le second est destiné à l'évaluation de l'activité antifongique vis-à-vis les champignons cibles.

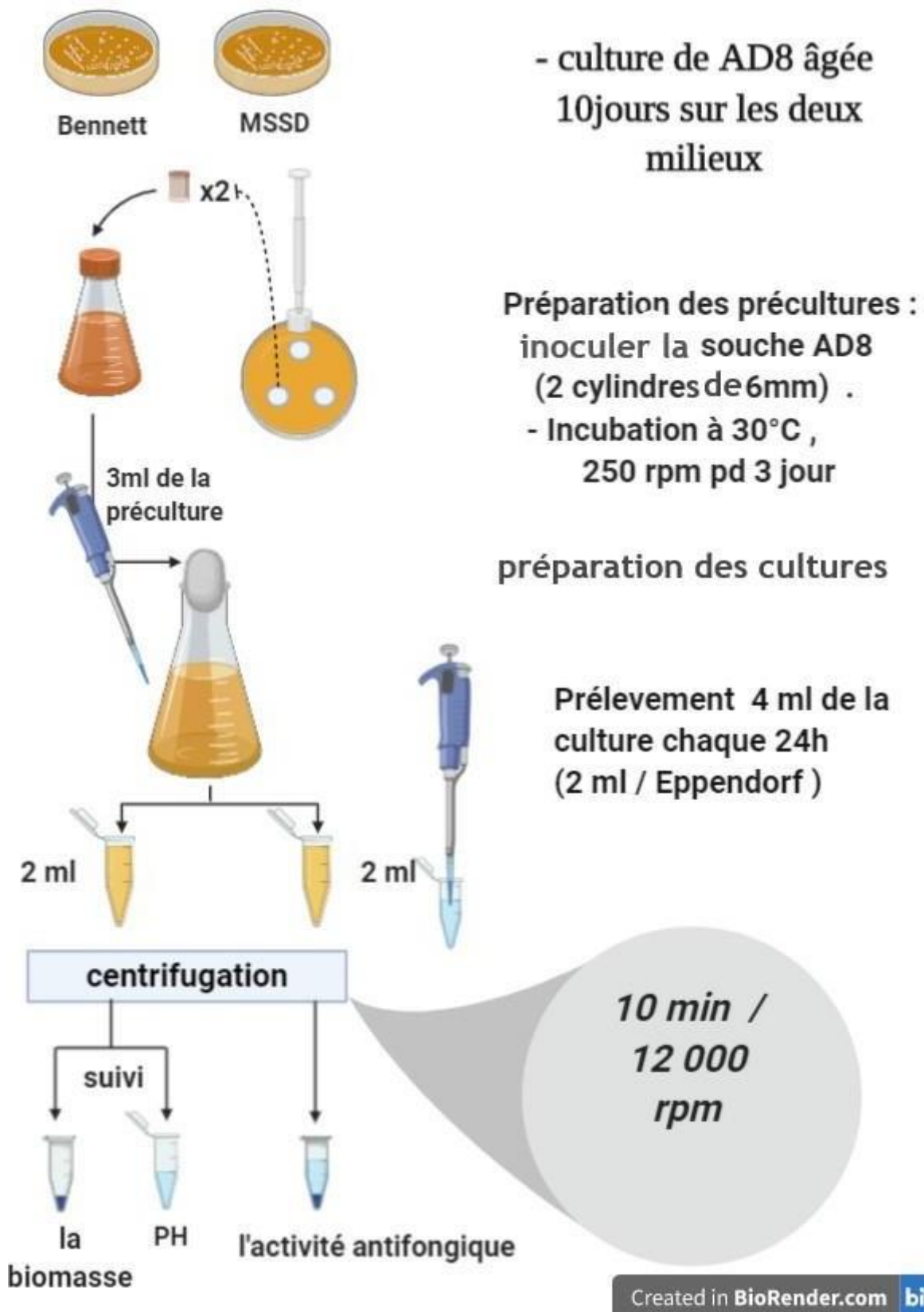


Figure 06. Schéma général de cinétique de pH, de croissance et de la production des antibiotiques par la souche AD8 en milieu liquide.

2.5 Evolution du pH et de la croissance de la souche AD8

L'estimation de la croissance cellulaire pendant la fermentation, se fait par la mesure du poids sec de la biomasse contenue dans un volume de culture connu. Cette mesure est effectuée par la méthode de **Pfefferle et al. (2000)**. Chaque jour et dans des conditions aseptiques, 4 ml de culture (des deux milieux Bennett et MSSD) sont prélevés et partagés dans deux Eppendorfs (2 ml en deux répétitions) tarés auparavant. Les Eppendorfs sont ensuite centrifugés pendant 10 min à 12 000 rpm. Les surnageant sont récupérés et utilisés pour calculer le pH des milieux de culture à l'aide d'un pH mètre, pour suivre quotidiennement son évolution durant la fermentation.

Les culots des milieux contenant le CaCO₃ (MSSD), sont doublement lavés, la 1^{er} fois avec 1,5 ml de HCl, dans le but d'éliminer le CaCO₃, et la 2^{ème} fois avec 1,5 ml d'eau distillée (**Bouras, 2005**), les culots des milieux sans CaCO₃ (bennett) sont doublement lavés par l'eau distillée seulement, l'excès d'eau est totalement éliminé. Les Eppendorfs contenant les culots sont mis dans une étuve à 105°C, puis pesés après 24 h. Le poids sec est obtenu en soustrayant le poids de l'Eppendorf contenant le mycélium sec à celui de l'Eppendorf vide. Ce poids sec est ensuite rapporté au litre de volume de fermentation (exprimé en gramme de matière sèche par litre de milieu de culture).

2.6 Evolution de l'activité antifongique

Pour évaluer l'activité antibiotique antifongique de la souche AD8, on fait appel à la méthode de diffusion des puits (**Aszalos, 1986**). L'activité est testée contre deux champignons cibles différents: *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa) et *Penicillium glabrum* (Pg). Cette méthode stipule que les deux germes cibles, prélevés des suspensions fongiques (préparées selon la méthode de Bouznada, 2018) sontensemencés chacun à raison de 100 µl dans un flacon qui contient 100 ml de milieu PDA semi solide (12 g/l d'agar) maintenu en surfusion à 45°C. Par la suite, le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri stériles et laisser refroidir. Après solidification du milieu, des puits de 10 mm de diamètre sont créés à leur intérieur à l'aide d'un emporte-pièce stérile.

A partir de surnageant de l'eppendorf d'activité de j1 jusqu'au j10, 10 µl sont prélevés aseptiquement par une micropipette à embout stérile et mis à l'intérieur de chaque puits. Les boîtes sont maintenues au réfrigérateur (4°C pendant 2 h), afin de permettre une bonne diffusion des antibiotiques dans la gélose, en freinant temporairement la croissance des germes cibles.

Matériel et méthodes

A la fin, les boîtes sont incubées à 28°C. La lecture des résultats s'effectue en mesurant les diamètres des zones d'inhibition à l'entour des puits après 48 h à 72 h d'incubation (Bouznada, 2018) (Figure 07).

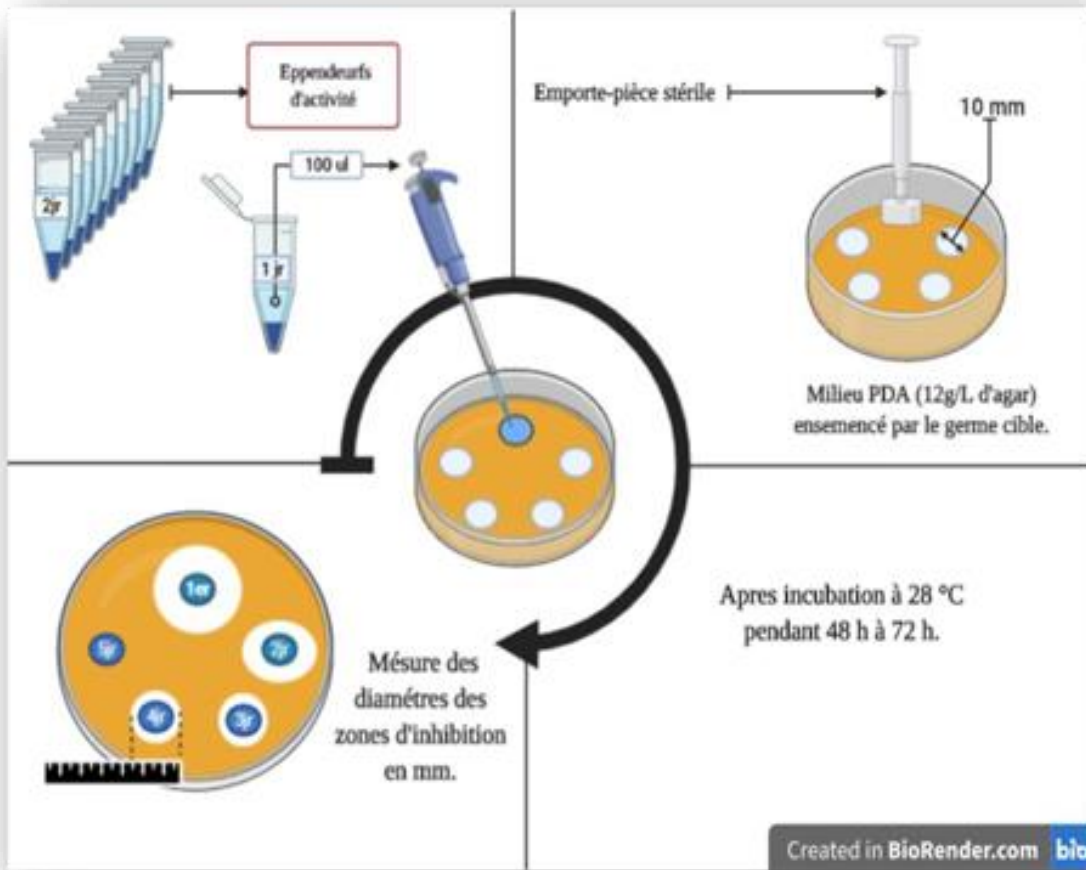


Figure 07. Test d'activité antifongique par la méthode des puits.

3. La recherche du meilleur solvant d'extraction d'antibiotiques antifongiques de la souche AD8

3.1 Production d'antibiotiques en milieu liquide

Cinq Erlenmeyers de 500 ml, comportant chacun 100 ml de milieu de culture (Bennett) ont été inoculés par 3 ml de pré-cultures, puis incubés dans un shaker à 30°C sous agitation permanente à 250 rpm, jusqu'au jour optimal de la production obtenu lors des cinétiques.

3.2 Extraction des antibiotiques

L'extraction des antibiotiques antifongiques à partir des filtrats de culture et de la biomasse mycélienne est réalisée au jour optimal de production défini lors de la cinétique, à l'aide de solvants organiques de polarités différentes.

3.2.1 Extraction à partir du filtrat de culture

Au jour optimal de la production d'antibiotique, 4 solvants de polarité graduelle sont éprouvés (index de polarité): le n-hexane, le dichlorométhane, le n-butanol et l'acétate d'éthyle. Les filtrats de culture sont ainsi partagés en 4 portions de 100 ml extraites chacune avec 100 ml de solvant organique.

Les phases organiques sont séparées des phases aqueuses, puis déshydratées par passage à travers un papier filtre (Whatman n° 1) contenant du sulfate de sodium anhydre, en vue d'éliminer les traces d'eau résiduelles et les contaminants hydrophiles. Les phases organiques et aqueuses obtenues sont concentrés à 40°C et 50°C respectivement, par un évaporateur rotatif sous vide, ensuite repris dans 1 ml de méthanol et testés pour leur activité antibiotique antifongique via la méthode des disques de papier (antibiographie). La figure 08 montre les étapes de l'extraction.

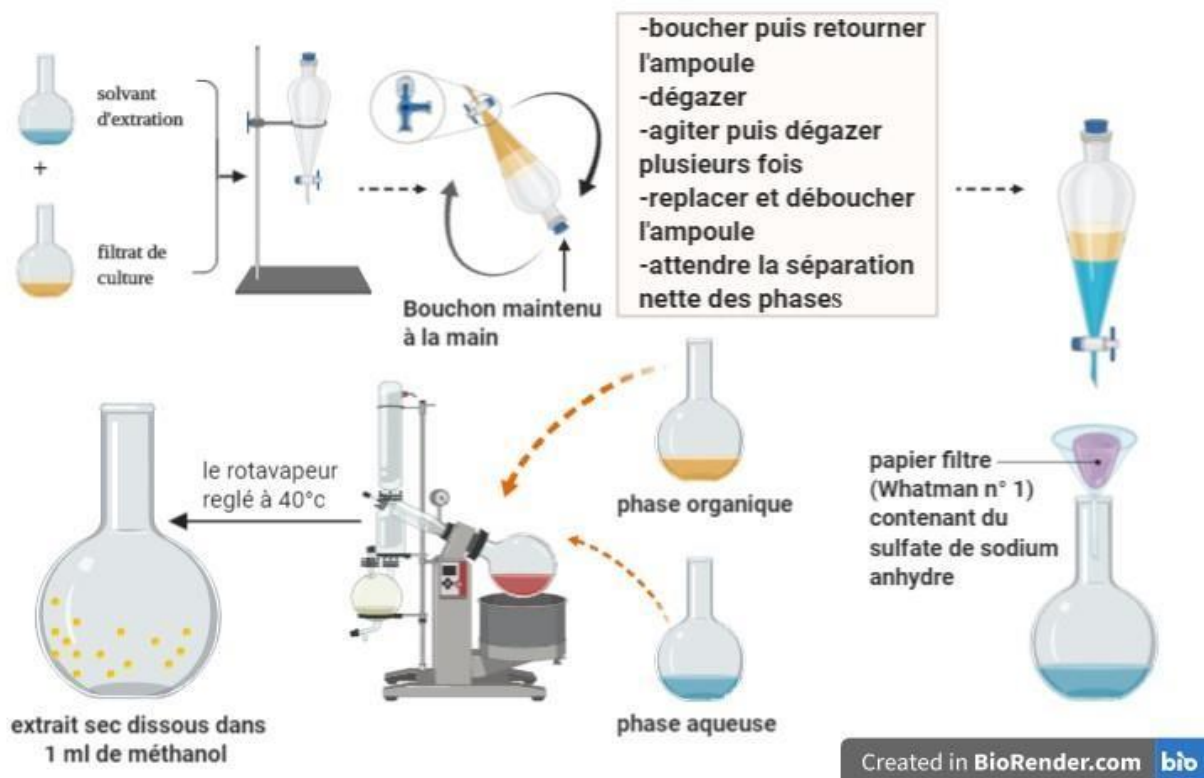


Figure 08. Les étapes de l'extraction liquide-liquide.

3.2.2 Extraction à partir du mycélium

L'extraction à partir du mycélium a été réalisée selon la méthode de **Mechlinski (1978)**. Le mycélium recueilli après centrifugation des cultures, est lavé triplement à l'eau distillée par centrifugation, puis égoutté. Un gramme de mycélium humide est extrait par 50 ml de méthanol, sous agitation permanente durant 2 h à température ambiante. Après filtration, l'extrait méthanolique est évaporé à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide, puis récupéré dans 1 ml de méthanol afin de le tester par antibiographie.

4. Antibiogramme

Dans le but de tester l'activité contre les champignons cibles (Foa et Pg), des disques de papier de 06 millimètres de diamètre, sont imprégnés à l'aide d'une micro seringue, par 100 µl des extraits, postérieurement ces disques sont séchés afin de faire évaporer le solvant, puis stérilisés sous UV à 245 nm, pendant 45 min. Les disques imprégnés sont déposés dans des conditions stériles à la surface du milieu PDA semi solide, ensemencé au préalable par le champignon cible (Figure 08). Les boîtes sont mises pendant 2 h à 4°C, ensuite incubées à 28°C pendant 48 h à 72 h (**Khebizi, 2018**). La lecture des résultats s'effectue en calculant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques. Le solvant donnant le diamètre d'inhibition le plus important est estimé comme le meilleur solvant d'extraction. Un schéma représentatif de la méthode des disques de papier et un schéma général des différentes étapes d'extraction sont illustrés par les figures 09 et 10.

Matériel et méthodes

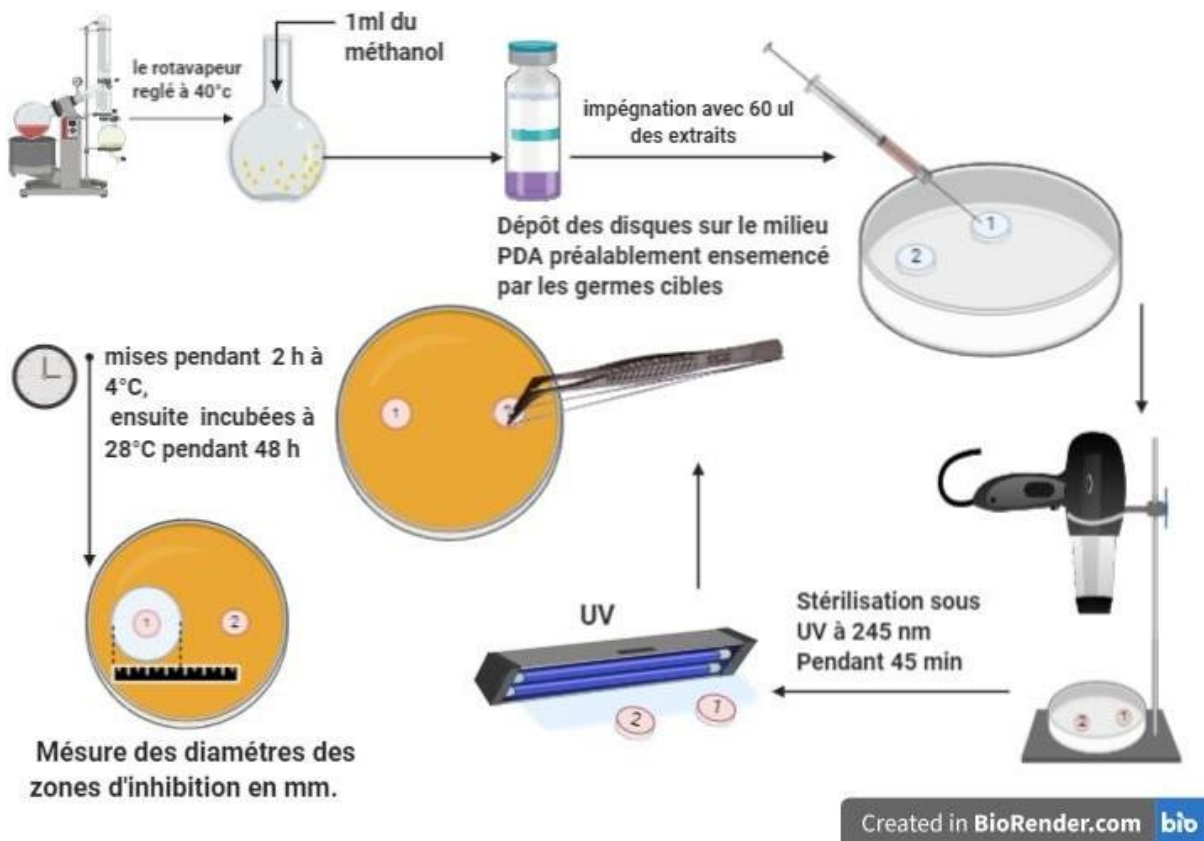


Figure 09. Schéma représentatif de la méthode des disques de papier.

Matériel et méthodes

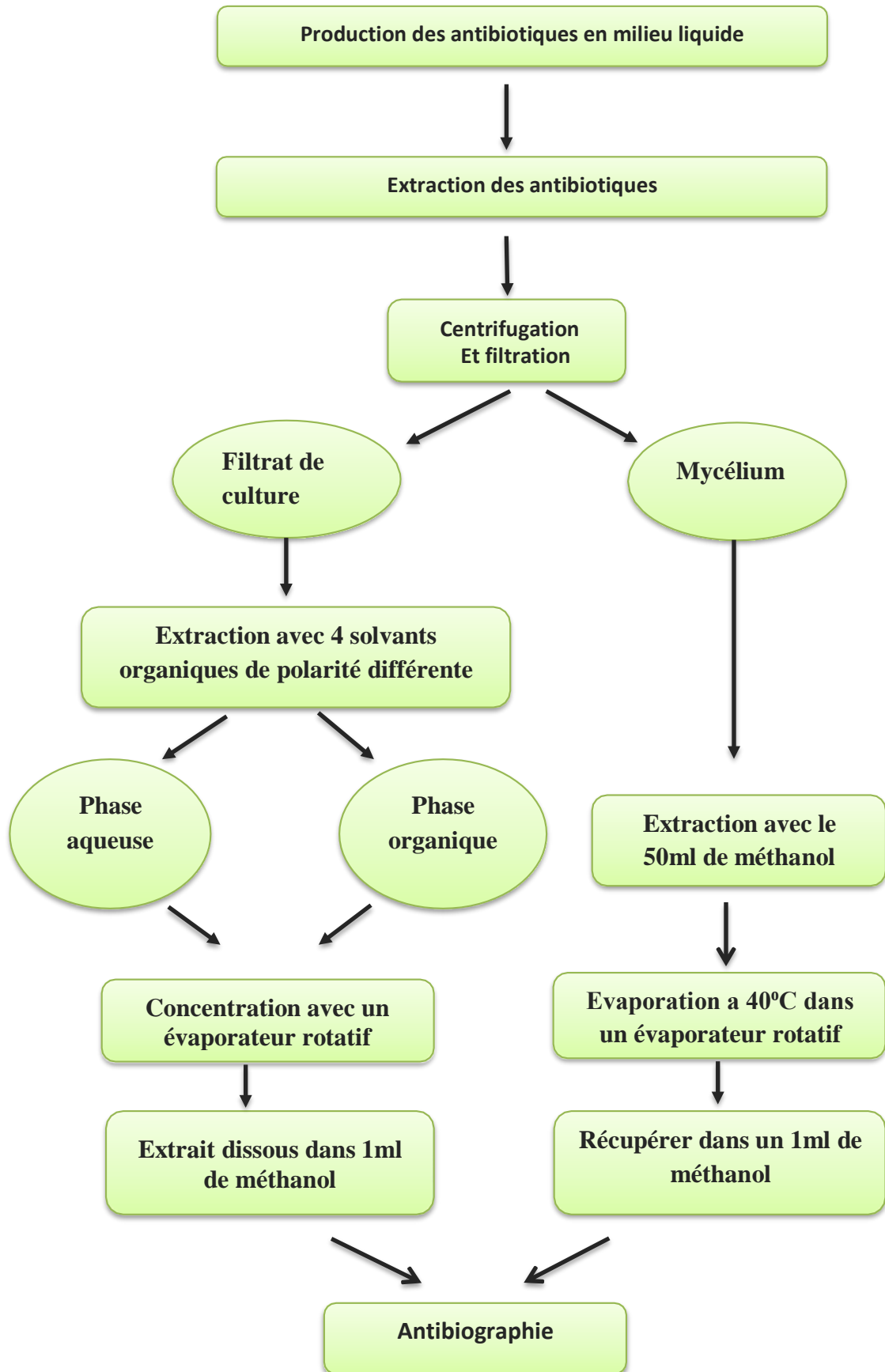


Figure 10. Schéma général des étapes d'extraction de la souche AD8 de *Streptomyces* sp.

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork patterns at each corner and along the sides, framing the central text.

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

* Résultats

1. Recherche de l'activité antifongique de la souche AD8 sur milieux solides

Le pouvoir antifongique de La souche AD8 de *Streptomyces* sp. isolée à partir du sol saharien de la région d'Adrar a été testé par la méthode des cylindres d'agar, contre cinq champignons toxigènes (*Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, *Penicillium expansum* et *Penicillium glabrum*, sur cinq milieux de culture, deux complexes (ISP2 et Benett) et trois semi-synthétiques (MSSG, MSSD et MSSA). Les résultats des tests d'antagonisme *in vitro* sont illustrés par la figure 11 et figure 12.

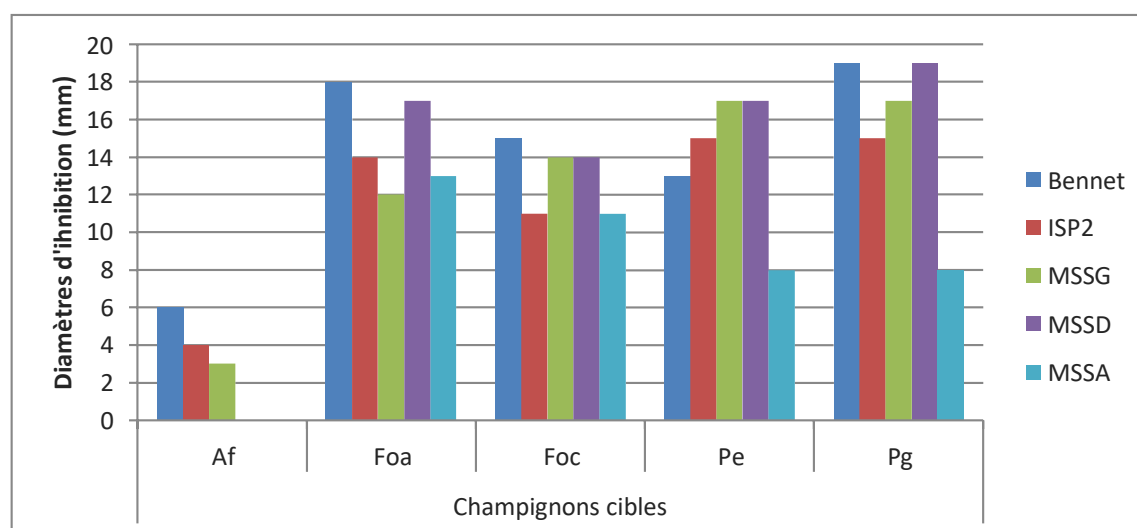


Figure 11. Spectre d'activité antifongique de la souche AD8 de *Streptomyces* sp. Contre les champignons cibles, sur 5 milieux de culture différents.

Note: * Le diamètre du cylindre d'agar (8 mm) n'est pas pris en compte.

AF: *Aspergillus flavus*, **Foa:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, **Foc:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, **Pe :** *Penicillium expansum*, **Pg :** *Penicillium glabrum*, **MSSG:** milieu semi-synthétique additionné du glucose, **MSSD:** milieu semi-synthétique additionné de la dextrine, **MSSA:** milieu semi-synthétique additionné d'amidon.

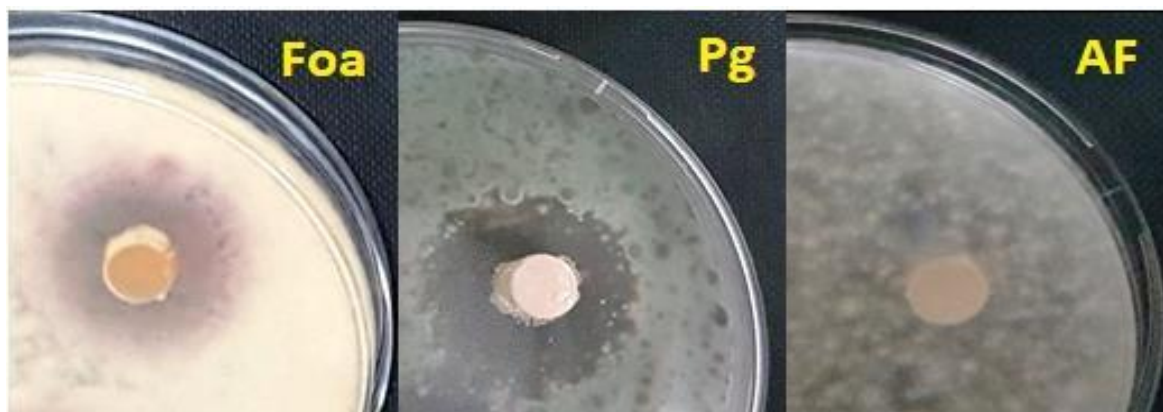


Figure 12. Activité antifongique de la souche AD8 sur milieu Bennett solide par la méthode des disques d'agar, contre: *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (Foa), *Penicillium glabrum* (Pg) et *Aspergillus flavus* (Af).

Les résultats obtenus ont révélé une activité plus au moins variable de la souche AD8 contre les champignons cibles. Cette souche a montré un effet antifongique notable contre les champignons Pg, Foa, Pe et Foc respectivement, avec des zones d'inhibition qui varient entre 8 et 19 mm. L'activité antifongique contre Af, était faible à nulle selon les milieux de cultures utilisés.

La plupart des milieux de culture employés ont permis une production des substances antifongiques par la souche AD8. Néanmoins, les milieux les plus favorables sont: le milieu complexe Bennett au regard du milieu complexe l'ISP2 et le milieu semi synthétiques additionné de la dextrine (MSSD) comparativement aux deux autres milieux semi synthétiques (MSSA et MSSG).

En tenant compte ces résultats, les deux champignons cibles, Pg et Foa et les deux milieux de cultures, Bennett et MSSD ont été adopté pour la suite du travail.

2. Cinétique de croissance, de pH et de production des antibiotiques en milieux liquides

Afin de trouver le milieu idéal à la production des molécules antifongiques par la souche AD8 et pour déterminer le jour optimal de leur production, une cinétique de croissance, de pH et de production a été suivie pendant 10 jours de fermentation, sur les deux milieux de cultures liquides Bennett et MSD. L'activité antifongique a été testée contre les deux champignons les plus sensibles, à savoir, *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (Foa) et *Penicillium glabrum* (Pg).

2.1 Milieu Bennett

La courbe de croissance de la souche AD8 de *Streptomyces* sp. sur le milieu Bennett, est initialisée par une brève phase d'accélération entre le j0 et j1, suivie par une phase exponentielle de 24 h (j1 à j2), puis une phase de déclin est clairement notée entre le j2 et j4 jour. S'ensuit de nouveau une croissance additive (ou croissance cryptique) est observée entre le j5 et j6, puis une phase de déclin est notée jusqu'au dernier jour de la cinétique.

Au cours de cette croissance, le pH a subi une augmentation entre J0 et J3 (de 7.2 à 8.1), suivi d'une diminution (8,06 à 6,98) entre j3 et j7, puis de nouveau une légère augmentation en fin de cinétique.

La production des molécules antifongiques contre Foa et Pg, commence dès le 1^{er} jour de la cinétique, qui représente le jour de la production maximal (26 mm pour Foa et 23 mm pour Pg). Une diminution remarquable est notée à partir du 1^{er} jour jusqu'à une valeur de 2 mm au 5^{ème} jour (contre Foa et Pg). Deux autres maximums de production sont notés contre le Foa et Pg au 4^{ème} et au 7^{ème} jour (Figure13 et 14).

Résultats et discussion

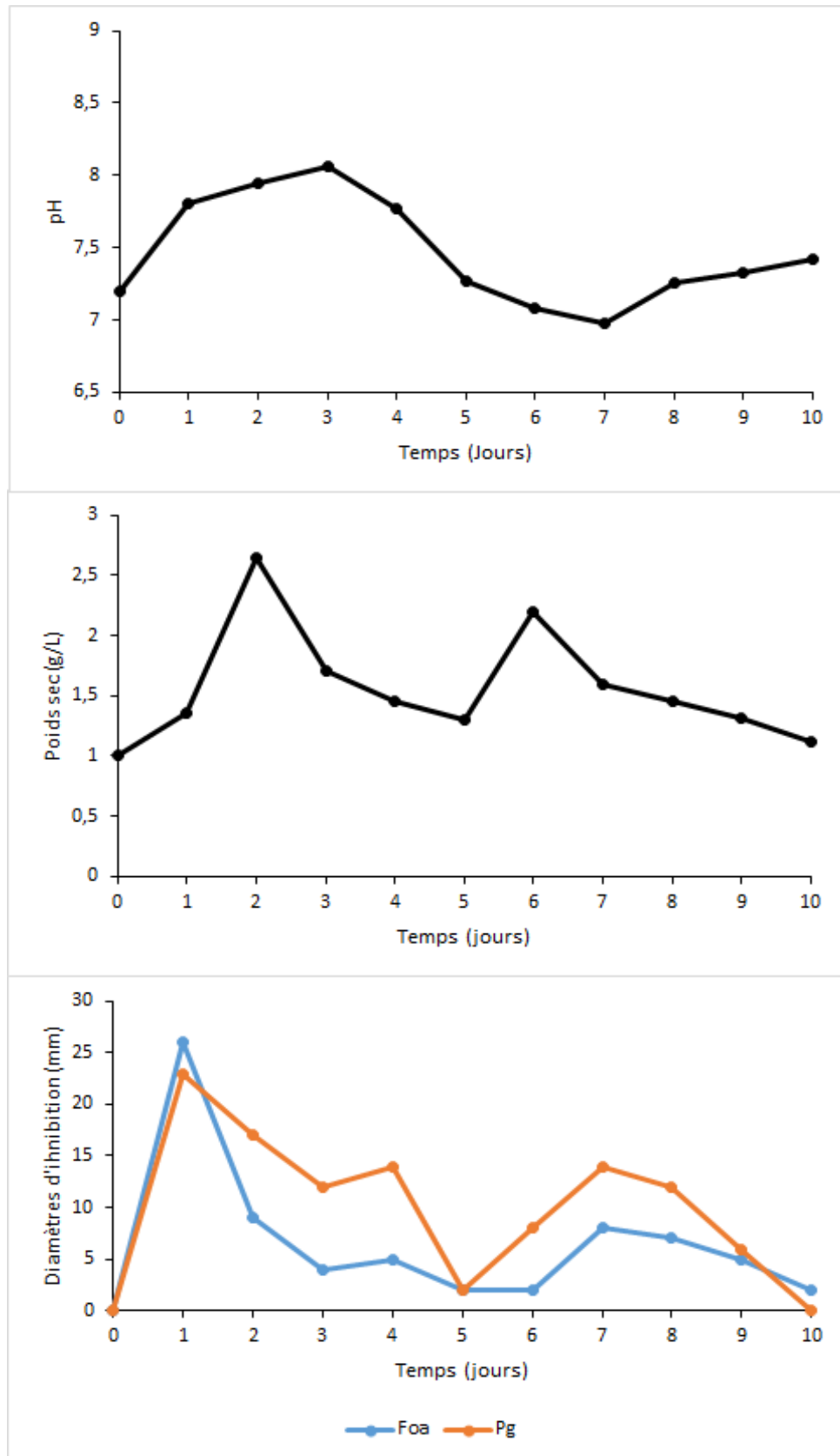


Figure 13. Cinétique de pH, de croissance et de production des antibiotiques par la souche AD8 sur milieu complexe Bennett liquide.

-Le diamètre des puits (8 mm) n'est pas inclus dans les valeurs des zones d'inhibition.

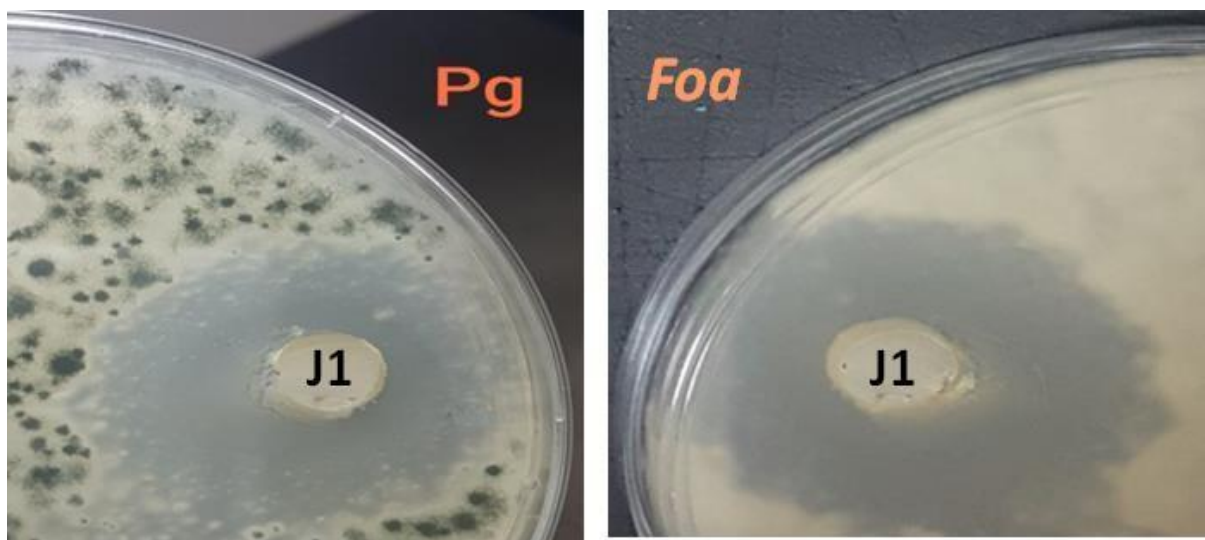


Figure 14. Activité antifongique de la souche AD8 sur milieu Bennett liquide, contre: *Penicillium glabrum* (Pg) et *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa), au meilleur jour de la production des molécules antifongiques **J1** (jour 1).

2.2 Milieu MSSD

La courbe de croissance de la souche AD8 en milieu semi synthétique additionné a la dextrine (MSSD), débute directement par une phase exponentielle d'une durée de 24 h, puis un ralentissement assez prononcé de la croissance est noté entre j1 et j2, par la suite une deuxième phase exponentielle est observée entre le j2 et j3, ce qui rappelle le phénomène de diauxie (croissance bi-phasique), suivie par une phase stationnaire qui dure 2 jours (entre j3 et j5). Au-delà du 5^{ème} jour, une phase de déclin est notée, qui persiste jusqu'au dernier jour de la cinétique.

Le pH du milieu augmente légèrement au cours de la cinétique avec des valeurs pour plus au moins stables (pH entre 7,2 et 7,65).

La production des molécules antifongiques contre Pg et Foa, débute le 1^{er} jour de cinétique, qui représente également le jour de la production maximale, tout comme dans le milieu Bennett, avec des zones d'inhibition de 16 mm et 12 mm respectivement. L'activité contre Foa diminue à partir du 1^{er} jour et disparu entre le j2 et j5, pour augmenter de nouveau avec un deuxième maximum noté le 7^{ème} jour (14 mm), ensuite elle diminue jusqu'à la fin de la cinétique. Quant à l'activité contre Pg, une diminution est notée entre (2^{ème} et 5^{ème}) avec une valeur de (0 mm) au 5^{ème} jour, puis une augmentation est observée avec un deuxième maximum de production noté le 8^{ème} jour, suivi d'une diminution jusqu'à la fin de la fermentation (Figure 15 et 16).

Résultats et discussion

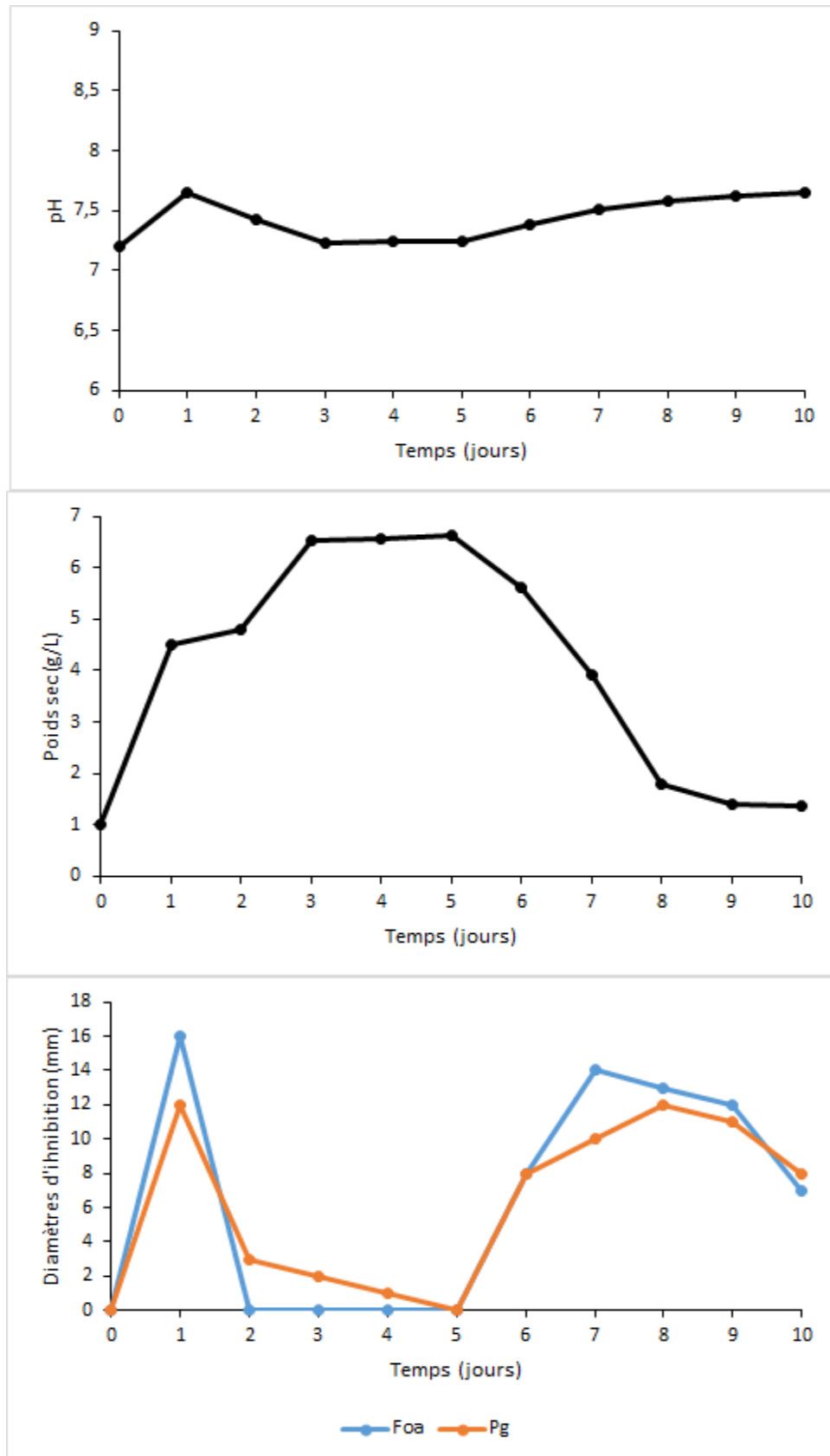


Figure 15. Cinétique de pH, de croissance et de production des antibiotiques par la souche AD8 sur milieu semi-synthétique (MSSD).

- Le diamètre du puits (8 mm) n'est pas inclus dans les valeurs des zones d'inhibition.

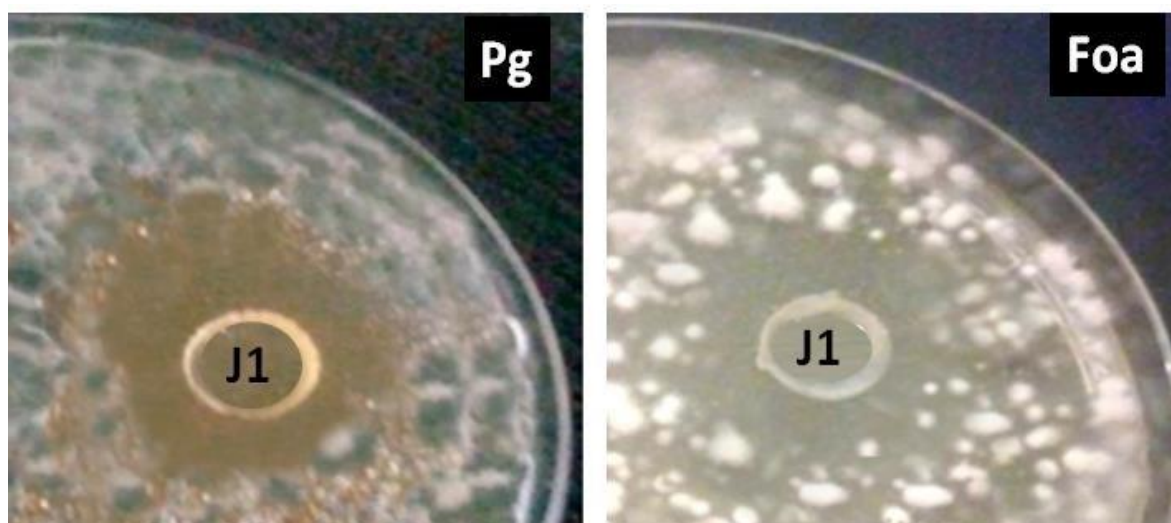


Figure 16. Activité antifongique de la souche AD8 sur milieu semi synthétique (MSSD) liquide, contre: **Pg**: *Penicillium glabrum*, **Foa**: *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* au meilleur jour de la production des molécules antifongiques **J1** (jour 1).

Après avoir déterminé le jour optimal (1^{er} jour) et le meilleur milieu de production (Bennett) de molécules antifongiques par la souche AD8 de *Streptomyces* sp., l'étape suivante sera de laisser l'actinobactérie produire les molécules antifongiques jusqu'à ce jour optimal, de les extraire par divers solvants organiques et de déterminer le meilleur solvant d'extraction.

3. Extraction des composés actifs et antibiographie

C'est à partir des filtrats de culture et du mycélium que l'extraction des molécules antifongiques a été réalisée, ensuite les extraits obtenus ont été testés par antibiographie.

3.1 Activité antifongique des extraits des filtrats de culture

L'extraction des antibiotiques antifongiques sécrétés par la souche AD8 sur milieu Bennett a été réalisée par 4 solvants organiques de différentes polarités (*n*-hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et *n*-butanol) au jour optimal de la production qui correspond au 1^{er} jour de la cinétique. Les extraits organiques et la phase aqueuse résiduelle de l'extraction effectuée avec le butanol, ont été testés par la méthode des disques de papier (antibiographie) contre les deux champignons cibles Pg et Foa.

Les résultats de l'activité antifongique des phases organiques et aqueuse sont représentés dans le tableau IV et la figure 17.

Résultats et discussion

Des activités antifongiques généralement nulles ont été notées dans les phases organiques de la majorité des solvants utilisés (des ralentissements de la croissance sont parfois notés), à l'exception de de la phase organique extraite par l'acétate d'éthyle, où une activité moyenne a été repérée avec des zones d'inhibitions de 17 mm contre Foa et 16 mm contre Pg. Cependant, une très forte activité a été détectée dans la phase aqueuse résiduelle de l'extraction effectuée avec le butanol, qui possède une capacité d'extraction très élevée. L'activité était meilleure contre Pg avec une zone d'inhibition de 65 mm.

Tableau IV. Activités antifongiques des phases organiques et de la phase aqueuse des filtrats de culture de la souche AD8 de *Streptomyces* sp.

Milieu	Solvants		Diamètres d'inhibition (mm)	
			contre:	
			Foa	pg
Bennet	N-hexane		R	0
	Dichlorométhane		R	0
	Acétate d'éthyle		17	16
	Butanol	Phase organique	R	0
		Phase aqueuse	46	65

- Le diamètre du disque de papier (6 mm), n'est compris dans les mesures.

Note: Foa : *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis*, Pg : *Penicillium glabrum*.

R: ralentissement de croissance.

Résultats et discussion

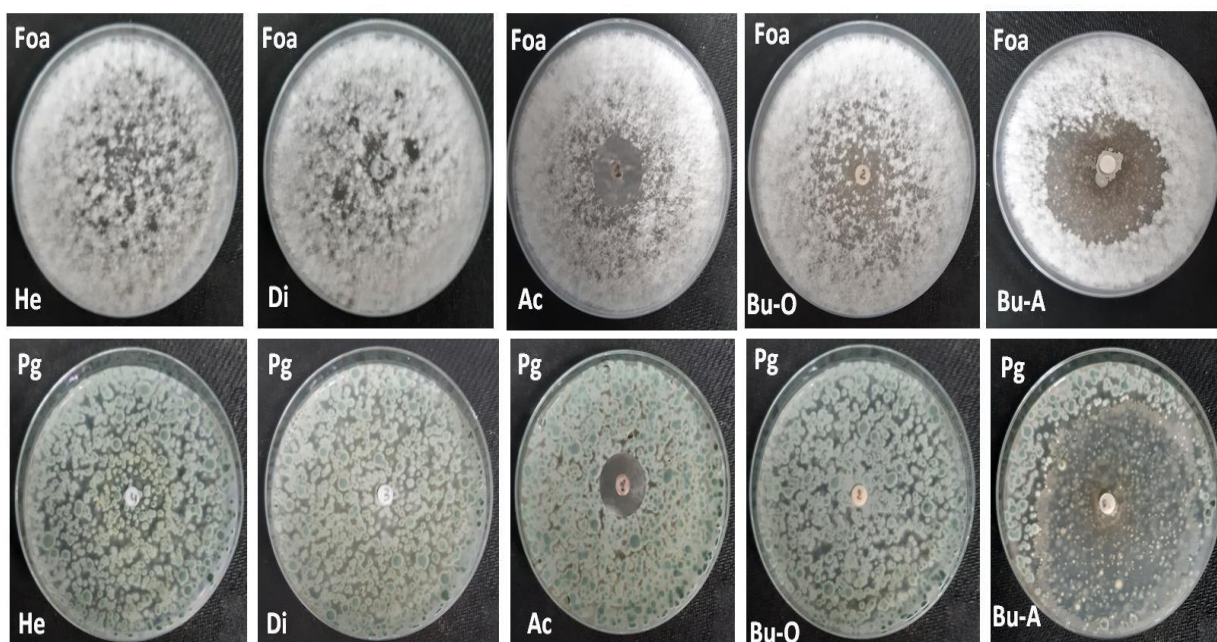


Figure 17. Révélation par antibiographie des activités antifongiques des quatre phases organiques et la phase aqueuse du filtrat de culture du milieu Bennett de la souche AD8 contre: *Penicillium glabrum* (Pg) et *F. oxysporum* f. sp. *Albedinis* (Foa).

Note: **He:** n-hexane, **Di:** dichloromethane, **Ac:** acétate d'éthyle, **Bu-O:** butanol (phase organique), **Bu-A:** butanol (phase aqueuse).

3.2 Activité antifongique des extraits mycéliens

L'extraction des antibiotiques antifongiques à partir du mycélium est réalisée avec le méthanol. Les extraits obtenus sont analysés par la méthode des disques de papier.

L'activité antifongique des extraits mycéliens était nulle contre les 2 souches de champignons cible testés (**Tableau V et Figure 18**).

Tableau V. Activités antifongiques des extraits mycéliens de la souche AD8 de *Streptomyces* sp. Contre: Pg et Foa.

Milieu	Solvants d'extraction	Diamètres d'inhibition (mm) contre :	
		FOC	FOA
MSSG	Méthanol	0	0



Figure 18. Révélation par antibiographie des activités antifongiques des extraits mycéliens de la souche AD8 contre: Pg et Foa dans le milieu Bennett.

Note: m: méthanol.

* Discussion

La souche AD8 de *Streptomyces* sp. étudiée, a été évaluée pour son pouvoir antifongique par la méthode des cylindres d'agar contre six champignons toxigènes, en utilisant cinq milieux de culture, à savoir, deux milieux complexes (ISP2 et Bennett) et trois milieux semi-synthétiques (MSSG, MSSD et MSSA), dont la composition est précédemment donné. La souche AD8 a montré une activité variable contre tous les champignons testés, selon le milieu culture utilisé.

Les résultats obtenus dans ce travail ont montré, que les milieux Bennett et MSSD ont donné une meilleure activité antifongique par la souche AD8 de *Streptomyces* sp., avec cependant une préférence pour le milieu Bennett. En effet, plusieurs travaux ont noté que le milieu complexe Bennett, riche ne nutriments, est considéré parmi les milieux les plus favorable à la production des substances antifongiques chez les *Streptomyces* (Boudjella, 2007; Toumatia, 2010; Aouiche, 2011; yekkour, 2013). Ce genre est connu pour sa grande capacité à produire des antibiotiques (Kumbhar *et al.*, 2014). Cette capacité a été déjà décelée dans les travaux précédents au sein du Laboratoire de Biologie des Systèmes microbiens (LBSM) de Kouba, sur la production d'antibiotiques antibactériens et

Résultats et discussion

antifongiques par des souches de *Streptomyces* des sols sahariens (**Aouiche et al., 2014; Driche et al., 2015; Toumatia et al., 2015; Belghit et al., 2016; khebizi et al., 2018**).

La croissance de la souche AD8 de *Streptomyces* sp. sur les deux milieux Bennett et MSSD liquides en condition agitée, est caractérisée par l'absence d'une phase de latence. Cette phase est connue pour correspondre au temps d'adaptation des microorganismes aux nouvelles conditions de culture. Elle est observée surtout lorsque l'inoculation est réalisée avec des spores ou des pré-cultures âgées ou préparées dans des conditions différentes. L'absence de cette phase est donc expliquée par le fait que nos pré-cultures soient menées dans les mêmes conditions que les cultures et qu'elles soient prises en phase exponentielle de croissance.

La croissance de la souche AD8 sur milieu Bennett débute une phase d'accélération suivie par une phase exponentielle. Cette croissance est cryptique, ce phénomène est expliqué par la survie de quelques cellule d'actinobactéries à la fin de la phase de croissance, ces même cellules entament une nouvelle phase de croissance au dépend des substances nutritives libérées par les bactéries lysées, des actinobactéries lysées durant la phase de déclin. Cette croissance est signalée chez plusieurs microorganismes, notamment les entérobactéries (Prescott et al., 2002), ou encore chez quelques souches de *Streptomyces* tel que *Streptomyces* PAL 114 (**Aouiche, 2011**) et *Streptomyces* IA1 (**Tomatia, 2015**).

Quant à la croissance de la souche AD8 sur milieu MSSD qui débute directement par une phase exponentielle, est caractérisée par le phénomène de diauxie avec une présence d'une deuxième phase exponentielle. Ce phénomène est généralement observé dans les milieux comportant deux sources de carbone osidique, le glucose et le lactose ou galactose ou xylose (**Prescott et al., 2013**). Cependant, il peut également se manifester, parfois dans des cultures avec une seule source osidique et une source azotée. Les travaux réalisés par **Strub (2008)**, ont montré que la croissance de *Saccharothrix algeriensis* se caractérise par deux phases exponentielles. Dans la première phase, ce sont les acides aminés du milieu de culture qui sont utilisés comme source de carbone et d'azote avec une très faible consommation du glucose comme source d'énergie. Après une petite phase stationnaire, la croissance reprend (une seconde phase exponentielle) en utilisant cette fois-ci le glucose comme source de carbone et d'énergie. Des croissances diauxiques ont également été rapportées chez certaines souches de *Streptomyces* (**Driche, 2010; Aouiche, 2013; Tomatia, 2015**). Il se pourrait que le phénomène de diauxie observé pour la souche AD8 de *Streptomyces* sp. soit dû aussi à la consommation précoce des acides aminés de l'extrait de levure ajouté au milieu MSSD, et que

Résultats et discussion

le glucose ne soit consommé en tant que source de carbone qu'au cours de la seconde phase exponentielle.

L'évolution du pH du milieu Bennett, au cours de l'incubation subit (une basification, puis une acidification et enfin une remontée du pH). L'acidification serait due à la dégradation des glucides présents dans Les milieux (dextrine/glucose) et à la dégradation des sources azotées organiques tels que les acides aminés présents dans l'extrait de levure et la peptone, qui sont désaminés pour libérer de l'ammonium. L'accumulation de ce dernier induit la basification du milieu. De telles constatations ont été énoncées par **Strub (2008)** pour expliquer l'augmentation du pH par l'apparition des ions ammonium dans la culture de *Saccharothrix algeriensis* lors de la croissance et de la synthèse des antibiotiques. Cependant le pH du milieu MSSD était plus au moins stable au cours de la cinétique. Le milieu MSSD est un milieu semi-synthétique qui contient le CaCO_3 . Certains chercheurs ont signalé que le CaCO_3 joue un rôle de tampon lorsqu'il est présent dans un milieu synthétique, empêchant ainsi les écarts importants et défavorables qui peuvent surgir sur la valeur du pH (**Bouras, 2005; Strub, 2008**).

En général, les microorganismes produisent les métabolites secondaires tels que, les antibiotiques, durant les phases de ralentissement et stationnaire, cependant dans le cas des actinobactéries, cette production peut avoir lieu en phase exponentielle, stationnaire ou de déclin (**Zitouni, 2005; Badji, 2006 ; Merrouche, 2012**). Dans cette étude La production des molécules antifongiques par souche AD8 a été observée au cours de toutes les phases de sa croissance, avec une production maximale noté dès le début de la phase exponentielle (1^{er} jour). Le milieu Bennet (contenant de la peptone, l'extrait de levure et du glucose) s'est révélé être meilleur pour la production des molécules antifongiques que le milieu MSSD (l'extrait de levure et du glucose). **Bouras (2005)** a montré que plusieurs facteurs intrinsèques et/ou extrinsèques influencent la production des métabolites secondaires par les souches bactérienne tels que les facteurs physicochimiques (pH, température, agitation et aération) et les facteurs nutritionnels (source de carbone, d'azote, de phosphate et les sels minéraux et les oligoéléments). Dans ce contexte, **Merrouche et al. (2020)**, ont montré que la souche d'actinobactérie *Saccharothrix algeriensis*, produits 10 dérivés des antibiotiques appartenant à la famille des dithiopyrrolones, selon les acides organiques et aminés additionnés comme précurseurs à un milieu semi-synthétique.

Résultats et discussion

Les courbes de suivi des activités, présentent deux à trois pics (maxima) de production, ce qui peut être expliqué donc par la production de plusieurs antibiotiques antifongiques simples ou complexes regroupant des dérivés proches, comme c'est souvent le cas, soit des groupes d'antibiotiques différents. Plusieurs maxima de productions d'antibiotiques ont également été observés lors des cinétiques de certaines souches de *Streptomyces*, qui se sont avérées par la suite être chacun un complexe de 3 à 4 antibiotiques (**Driche, 2010; Toumatia, 2010**).

L'extraction des molécules antifongiques du filtrat de culture de la souche AD8, a été réalisée par quatre solvants organiques de polarité croissante: *n*-hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et *n*-butanol. Après antibiographie, une moyenne activité antifongique a été mise en évidence dans la phase organique extraite par l'acétate d'éthyle (extraction nulle pour les autres solvants), tandis que, une très forte activité a été détectée dans la phase aqueuse résiduelle de l'extraction effectuée avec le butanol. Ceci montre que l'extrait à l'acétate d'éthyle, ayant une couleur jaune à l'état concentré, a pu extraire une partie des molécules antifongiques sécrétées par la souche AD8, cependant, une partie reste toujours dans la phase aqueuse. Le même résultat a été obtenu par **Driche (2010)**, qui a montré que les antibiotiques sécrétés par l'isolat GB1 de *Streptomyces* ont été extraits, une partie par l'acétate d'éthyle et une autre partie a été détectée dans la phase aqueuse. Plusieurs antibiotiques hydrophiles (antibiotiques nucléotidiques, antibiotiques glucidiques, etc.) ont déjà été mis en évidence chez des souches de *Streptomyces*, de *Streptosporangium* et de *Saccharothrix* d'origine saharienne (**Zitouni et al., 2005; Boudjella, 2007; Driche, 2010; Auiche 2011; yekkour, 2013 et Lahoum, 2017**). Aucune activité antifongique n'a été retrouvée dans l'extrait méthanolique de la biomasse mycélienne de la souche AD8 de *Streptomyces* sp.

L'extraction a permis de confirmer les résultats des cinétiques et d'orienter la suite du travail en proposant l'acétate d'éthyle comme meilleur solvant d'extraction pour les molécules hydrophobes et d'étudier également la nature chimique de molécules hydrophiles sécrétées dans la phase aqueuse.



Conclusion

Conclusion et perspectives

Un taux très important en actinobactéries dans les sols sahariens a été prouvé par plusieurs auteurs qui ont même signalé la production de métabolites secondaires d'intérêt par des genres très répandus comme les *Streptomyces*, ainsi que par des genres rares comme *Saccharothrix*, *Nocardiopsis*, *Planomonospora*, *Nonomuraeae*, *Streptosporangium*, *Actinomadura*, etc. (Sabaou *et al.*, 1992 et 1998; Boudjella, 1994; Zitouni *et al.*, 2005; Merrouche *et al.*, 2018; 2020).

En effet, plus de 45% des molécules bioactives d'origine microbienne sont produits par les actinobactéries (Solecka *et al.*, 2012).

Ces dernières années ont été marquées par une augmentation alarmant du nombre de bactéries et champignons pathogènes multérisants aux antibiotiques, encore plus dans les pays en voie de développement, sans parler sur les insuffisances remarquables de la thérapie fongique, ce qui finira parfois par un blocage thérapeutique des traitements de diverses infections parfois assez graves (Boughachiche *et al.*, 2005; Thakur *et al.*, 2007).

La souche de *Streptomyces* étudiée notée AD8, a présenté de très bonnes activités antagonistes contre la majorité des champignons testés. En effet l'activité antifongique de la souche éprouvée par le test d'antagonisme en milieux solides par la méthode des cylindres d'agar est très importante contre *Penicillium glabrum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*.

Les cinétiques de croissance ont montré que la croissance de la souche AD8 peut être cryptique (Bennett) ou diauxique c'est-à-dire une présence de deux phases exponentielles et une phase stationnaire (MSSD).

Les cinétiques de production des molécules antifongiques par la souche AD8 menées en fioles d'Erlenmeyers sur les deux milieux de cultures Bennett et MSSD, ont montré que le milieu Bennet est le meilleur milieu de production des antifongiques par cette souche avec des maxima qui sont notés le 1^{er} jour de cinétique.

L'extraction des molécules antifongique secrétés par la souche AD8 a été réalisée en utilisant quatre solvants organiques de polarité croissante, dont les résultats ont montré que le l'acétate d'éthyle est le meilleur solvant d'extraction des molécules hydrophobes. En outre, une forte activité a été également détectée dans la phase aqueuse résiduelle de l'extraction effectuée avec le butanol, ce qui montre que la souche AD8 de *Streptomyces* sp. possède la capacité de produire des molécules antifongiques de nature hydrophiles.

A la fin de cette étude, nous pouvons dire que la souche *Streptomyces* sp. Étudiée notée AD8 semble être prometteuse pour la production des antibiotiques antifongiques et que la production de ces derniers est influencée de façon directe par la composition des milieux de culture utilisés, ce qui fait découler plusieurs perspectives y compris:

Conclusion et perspectives

- L'optimisation de la production des antibiotiques en milieu liquide, par la recherche des meilleures conditions (sources carbonées et azotées, éléments minéraux, aération, etc.).
- Effectuer les révélations microbiologiques et chimiques des antibiotiques, et avant de procéder à la purification finale par HPLC, il serait nécessaire d'effectuer des semi-purifications par chromatographie sur colonne et/ou sur couche épaisse de gel de silice.
- La réalisation analyses spectrométriques (masse) et spectroscopiques (UV-visible, Infra-Rouge, RMN du proton et du carbone 13), afin d'élucider la structure chimique des antibiotiques antifongiques sécrétés par cette souche de *Streptomyces* sp.
- La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de chaque antibiotique purifié.
- L'entreprendre des essais de lutte biologique contre les maladies fongiques de certaines plantes, en particulier le flétrissement vasculaire du pois chiche et du palmier dattier causé par *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* et *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* respectivement.
- Tester cette souche contre d'autres genres bactériens à Gram positif et à Gram négatif qui posent d'énormes problèmes de santé à cause de leur multirésistance.

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork patterns at each corner and along the sides, framing the central text.

Références

Références bibliographiques

A

- **Ababutain I. M., Zeinab K., Abdul A. and Nijla A. A., (2013).** Optimization of environmental and nutritional conditions to improve growth and antibiotic productions by *Streptomyces* Sp. Isolated from Saudi Arabia Soil. *International Research Journal of Microbiology (IRJM)* ,4(8), 179-187.
- **Adinarayana K., Ellaiah P., Srinivasulu B., Bhavani Devi R., Adinarayana G., (2003).** Response surface methodological approach to optimize the nutritional parameters for neomycin production by *Streptomyces marinensis* under solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 38 ,1565–1572.
- **Aharonowitz Y., (1980).** Nitrogen metabolite regulation of antibiotic biosynthesis. *Annual Review of Microbiology*, 34, 209-233.
- **Ait Barka E., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard S., Klenk H. P., Clément C., Ouhdouch Y. and van Wezel G. P., (2016).** Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80, 1-43.
- **Andriole V.T., (2000).** Current and future antifungal therapy: new targets for antifungal therapy. *International Journal of Antimicrobial agents* ,16, 317–321.
- **Aouiche A., (2010).** Recherche sur les actinomycètes des sols de Ghardaïa antagonistes de microorganismes pathogènes et toxigènes pour l’homme : isolement, taxonomie et caractérisation des molécules actives. Mémoire de Magister en microbiologie, Université Djillali Liabès de Sidi Bel-abbès. 127p.
- **Aouiche A., (2013).** Taxonomie et antibiotiques de quelques souches de *Streptomyces* et de *Saccharothrix* des sols de Ghardaïa actives contre des microorganismes pathogènes et toxigènes pour l’homme. Thèse de Doctorat. École Normale Supérieure de Kouba, Alger.159 p.
- **Aouiche A., Bouras N., Mokrane S., Zitouni A., Schumann P., Spröer C., Sabaou N. & Klenk H.P., (2015).** *Actinokineospora mzabensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from Saharan soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107: 291–296.
- **Aszalos A., (1986).** Modern analysis of antibiotics. *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, Vol. 27. Ed., MarcelDekker, Inc.
- **Athalye M., Goodfellow M., Lacey J. and White R.P., (1985).** Numerical classification of *Actinomadura* and *Nocardopsis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **35**, 86-98.

Références bibliographiques

- **Augustine S. K., Bhavsar S. P. and Kapadnis B. P., (2005).** Production of a growth dependent metabolite active against dermatophytes by *Streptomyces rochei* AK 39. Indian Journal of Medical Research ,121, 164-170.

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 *Nonomuraea*. Thèse de Doctorat Es-Sciences, option Microbiologie, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. 226 p.
- **Balmas V., Delogu G., Sposito S., Rau D. and Migheli Q., (2005).** Use of a complexation of tebuconazole with b-cyclodextrin for controlling foot and crown rot of durum wheat incited by *Fusarium culmorum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 480–484.
- **Baltz RH., (2008).** Renaissance in antibacterial discovery from actino- mycetes. *Current Opinion in Pharmacology*, 8,557-563.
- **Baoxin Z., Xiangjing W. and Wensheng X., (2011).** Optimization of fermentation medium for enhanced production of milbemycin by a mutant of *Streptomyces bingchenggensis* BC-X-1 using response surface methodology. *African Journal of Biotechnology* ,10, 7225-7235.
- **Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, et al. (2016).** Implementing an antibiotic stewardship program: guidelines by the infectious diseases society of America and the society for healthcare epidemiology of America. *Clinical Infectious Diseases*, 62, 1197-1202.
- **Barrett D., (2002).** From natural products to clinically useful antifungals. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1587:224–233.
- **Bauer M., Baughtry C., Biell L., Kanemasu E., Hall F., (1986).** Field spectroscopy of agricultural crops. *IEEE transaction on geoscience and remote sensing*, GE, 1, 65-75.
- **Belghit S.,Driche EH.,Bijani C.,Zitouni A., Sabaou N.,Badji B. et Mathieu F., (2016).** Activity of 2, 4-Di-tert-butylphenol produced by a strain of *Streptomyces mutabilis* isolated from a Saharan soil against *Candida albicans* and other pathogenic fungi. *Journal de mycologie medicale* , Ed. Elsevier masson , 26, 2, 160-169.
- **Berdy J., (2005).** Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotics*, 58, 1-26.

Références bibliographiques

- **Berdy J., Aszalos A. and Mc Nitt K.L., (1987).** CRC Handbook of Antibiotic Compounds. Vol XIII. Microbial metabolites. Parts 1, 2, 3. Florida, USA. CRC Press. Boca Raton.
- **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (2004).** Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG (Eds). vol 4:Taxonomic Outline of the Procaryotes. 2ème édition, Springer-Verlag, New York. 401 p.
- **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (2012).** Whitman WB, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Ludwig W, Suzuki Ki, Parte A (Eds). vol 5: The Actinobacteria. 2ème édition, Springer, New York. 1750 p.
- **Bhatena ZP., Vora C., Kadam K., (2002).** Rapid bioremediation of phenolic effluent through use of actinomycal consortium. *Pollution Research*, 21,3,265-275.
- **Bonmatin JM., Laprevote O., Peypoux F., (2003).** Diversity among microbial cyclic lipopeptides: iturins and surfactins. Activity-structure relationships to design new bioactive agents. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*, 6,541-556.
- **Boubetra D., Sabaou N., Zitouni A., Bijani C., Lebrihi A. and Mathieu F., (2012).** Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Saharan soil. *Microbiological Research*, 168,223-30.
- **Boubetra, D., Sabaou, N., Zitouni, A., Bijani, C., Lebrihi, A. and Mathieu F., (2013).** Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Saharan soil. *Microbiological research*, 168, 223-230.
- **Boudjella H., (1994).** Influence des milieux de culture, des antibiotiques et du pré-traitement des échantillons à la chaleur sur la sélection des genres et des espèces d'actinomycètes rares de quelques sols sahariens. Magister de Microbiologie, Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger. 177 p.
- **Boudjella H., (2007).** Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens. Caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par ces derniers. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger. 188 p.
- **Boughachiche F., Reghioua S., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A., Boulahrouf A., (2005).** Isolement d'actinomycétales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la Sebkhha de Ain Mlila. *Sciences Technologie*, 23,5-10.

Références bibliographiques

- **Bouras N., (2005).** Régulation de la production d'antibiotiques dithiolopyrrolones chez *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, France.121 p.
- **Bouras N., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A., (2006a).** Effect of amino acids containing sulfur on dithiolopyrrolone antibiotic productions by *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Journal of Applied Microbiology* ,100, 390-397.
- **Bouras N., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A., (2006b).** Nutritional requirements for the production of dithiolopyrrolones antibiotics by *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 1423-1429.
- **Bouras N., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A.,(2007).** Influence on dithiolopyrrolone antibiotic production by organic acids in *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Process Biochemistry*, 42, 925-933.
- **Bouras N., Merrouche R., Lamari L., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A., (2008).** Recursor directed biosynthesis of new dithiolopyrrolone analogs by *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Process Biochemistry* ,43, 1244-1252.
- **Bouznada k., (2018).** *Saccharothrix* et genres apparentés des sols de la région du M'zab: isolement, taxonomie, mise en évidence de nouvelles espèces et production d'antibiotiques contre divers microorganismes pathogènes .Thèse de doctorat , l'école normale supérieure de kouba, Alger.
- **Brana A. F. and Demain A. L. (1988).** Nitrogen control of antibiotic biosynthesis in actinomycetes. Nitrogen source control of microbial processes. Ed. Sanchez-Esquivel. Boca Raton, FL. CRC press.
- **Brautaset T., Sekurova O.N., Sletta H., Ellingsen T.E., Strom A.R., Valla S. and Zotchev S.B., (2000).** Biosynthesis of the polyene antifungal antibiotic nystatin in *Streptomyces noursei* ATCC 11455: analysis of the gene cluster and deduction of the biosynthetic pathway. *Chemistry and Biology*, 7, 395-403.
- **Breton A., Theilleux J., Sanglier J. J. and Vobi G., (1989).** Organismes producteurs : biologie, taxonomie et écologie. Biotechnologie des antibiotiques. Larpent J. P. et Sanglier J. J. (Eds.). Paris, Masson. pp. 33-70.
- **Bugnicourt M., (1995).** Dictionnaire de microbiologie générale : la vie racontée par les bactéries, ellipses (Eds), PP. 191.
- **Bull AT., Stach JEM., (2005).** Marine actinobacteria: perspectives, challenges, future directions. *Antonie Van Leeuwenhoek*,87,65–79.

Références bibliographiques

- **Butler MS., (2004).** The role of natural product chemistry in drug discovery. *Journal of Natural Products* ,67,2141–2215.
- **Bycroft B. W., (1988).** Dictionnary of antibiotics and related substances. London: Chapman and Hall, p. 944.

C

- **Carle S., (2003).** Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmactuel*, 36, 25–41.
- **Chaabane Chaouch F., Bouras N., Mokrane S., Bouznada K., Zitouni A., Pötter G., Spröer C.,Klenk H. P. et Sabaou N., (2017).** *Planomonospora algeriensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from a Saharan soil of Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110, 245-252.
- **Chang C. C., Chen W. C., Ho T. F., Wu H. S. et Wei Y. H., (2011).** Development of natural anti- tumor drugs by microorganisms. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111, 501-511.
- **Chun J., Youn H. D., Yim Y. I., Lee H., Kim. M. Y., Hah Y. C. and Kang S. O., (1997).** *Streptomyces seoulensis* sp. Nov.. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47,492-498.
- **Cosar C., Ninet, L., Pinnert-Sindico S. and Preud'homme J., (1952).** Trypanocide action of an antibiotic produced by a *Streptomyces*. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Séances de l'Académie Des Sciences* ,234, 98-99.
- **Cragg S. M., Beckham J. T., Bruce N. C., Bugg T. D., Distel D. L., Dupree P., Etxabe A. G., Goodell B. S, Jellison J., McGeehan J. E., McQueen-Mason S. J., Schnorr K., Walton P. H., Watts J. E. Watts J. E. et Zimmer M., (2015).** Lignocellulose degradation mechanisms across the Tree of Life. *Current Opinion in Chemical Biology*, 29, 108-119.

D

- **Deacon J.W., (1984).** Fungi as saprophytes; microbial interactions. Introduction to Modern Mycology. *Basic Microbiology Vol.7* (Ed. Wilkinson, J.F.). Blackwell Scientific Publications, London. 167-182pp.
- **Delarze E. & Sanglard D., (2015).** Defining the frontiers between antifungal resistance, tolerance and the concept of persistence. *Drug Resistance Updates*, **23**, 12-19.

Références bibliographiques

- **Dinya Z. M., Sztaricskai F. J., (1986).** Ultraviolet and light absorption spectrometry. Modern analysis of antibiotics (Aszalos A. Editor), Marcel Dekker, New-York, 535p.
- **Driche E., (2010).** Recherche des *Streptomyces* actifs contre quelques bactéries pathogènes multirésistantes aux antibiotiques. Mémoire de Magister en microbiologie, Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger. 121p.
- **Dupont B., (2007).** Utilisation des antifongiques topiques. *Thérapie*, 61, 251–254.

E

- **El Tarabily K. A., Hardy G. E. St. J. and Sivasithamparam K., (2010).** Performance of three endophytic actinomycetes in relation to plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber under commercial field production conditions in the United Arab Emirates. *European Journal of Plant Pathology*, 128, 527-539.
- **Elibol M., (2002).** Product shifting by controlling medium pH in immobilised *Streptomyces coelicolor* A3(2) culture. *Process Biochemistry* ,37,12, 1381-1386.
- **Emerson R, Procópio DL, Reis I, Kassawara M, Lúcio J, Azevedo D, Magali J & Araújo D., (2012).** Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* ,16, 466-471.
- **Essien J. P. and Udosen E. D., (2000).** Distribution of actinomycetes in oil contaminated ultisols of the Niger Delta (Nigeria). *Journal of Environmental Sciences*, 12 ,3, 296-302.

F

- **Falzone M., Crespo E. and Jones K., (2017).** Nutritional control of antibiotic production by *Streptomyces platensis* MA7327: importance of l-aspartic acid. *The Journal of Antibiotics*, 70, 828-831.
- **Farid M.A., EL-Enshasy H.A., EL-Diwany A.I. and EL-Sayed A.E., (2000).** Optimization of the cultivation medium for natamycin production by *Streptomyces natalensis*. *Journal of Basic Microbiology*, 40, 157-166.

G

- **Georgopapadakou N.H. et Walsh T.J., (1996).** Antifungal agents: chemotherapeutic targets and immunologic strategies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 279-291.

Références bibliographiques

- **González I., Ayuso-Sacido A., Anderson A., Genilloud O., (2005).** FEMS Microbiology Ecology, 54, 3, 401–415.
 - **Goodfellow M, Whitman W., Kämpfer P, Busse H., Ludwig W, Trujillo M. & Suzuki K., (2012).** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (G et Al., Ed.). Springer New York Dordrecht Heidelberg London.
 - **Goodfellow M. and Williams S.T., (1983).** Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 37, 189-216.
 - **Gottlieb D., (1973).** General considerations and implications of the actinomycetes. *In: Actinomycetales: Characteristics and practical importance.* Sakes G., Skinner F. A. (Eds). Academic Press. New York. pp. 1-10.
 - **Goudjal Y., Zamoum M., Meklat A., Sabaou N., Mathieu F. and Zitouni A., (2016).** Plant-growth promoting potential of endosymbiotic actinobacteria isolated from sand truffles (*Terfezia leonis* Tul.) of the Algerian Sahara. *Annals of Microbiology*, 66, 91-100.
 - **Gozalbo D, Roig P, Villamón E and Gil ML., (2004).** *Candida* and candidiasis: the cell wall as a potential molecular target for antifungal therapy. *Current drug targets. Infectious disorders* ,4, 117-135.
 - **Gupte M., Kulkarni P. and Ganguli B.N., (2002).** Antifungal antibiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58, 46-57.
- *H*
- **Hagedorn, C., (1976).** Influences of soil acidity on *Streptomyces* populations inhabiting forest soils. *Applied and Environmental Microbiology* , 32, 368–375.
 - **Hamdali H., Bouizgarne B., Hafidi M., Lebrihi A., Virolle M. J. and Ouhdouch Y., (2008).** Screening for rock phosphate solubilizing actinomycetes from Moroccan phosphate mines. *Applied Soil Ecology*, 38,12-19.
 - **Harir M., Bellahcene M., Baratto M. C., Pollini S., Rossolini G. M., Trabalzini L., Fatarella E. et Pogni R., (2018).** Isolation and characterization of a novel tyrosinase produced by Sahara soil actinobacteria and immobilization on nylon nanofiber membranes. *Journal of Biotechnology* ,10, 54-64.
 - **Harvey AL., (2008).** Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today* ,13, 894-901.

Références bibliographiques

- **Hasani A., Kariminik A. and Issazadeh K., (2014).** Streptomycetes: Characteristics and their antimicrobial activities. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research* ,2, 63-75.
- **Hayakawa M. and Nonomura H., (1987).** Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *Journal of Fermentation Technology*, 65, 501-509.
- **Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T. and Williams S. T., (1994).** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9ème édition, Williams and Wilkins editors, Baltimore. 816 p.
- **Hopwood DA., (2007).** *Streptomyces in nature and medicine: the antibiotic makers*. Oxford University Press, New York.
- **Horsefield R., Yankovskaya V., Sexton G., Whittingham W., Shiomi K., Omura S., Byrne B., Cecchini G. and Iwata S., (2006).** Structural and computational analysis of the quinone-binding site of complex II (succinate-ubiquinone oxidoreductase): a mechanism of electron transfer and proton conduction during ubiquinone reduction. *Journal of Biological Chemistry*, 281, 7309-7316.
- **Hug J., Bader D., Remskai M., Cirnski, Mueller R., (2018).** Concepts and methods to access novel antibiotics from actinomycetes. *Antibiotics* ,7,2,44.
- **Hulin A., Deguillaume A.M., Bretagne S. and Bézie Y., (2005).** Bon usage des antifongiques dans le traitement des candidoses et aspergilloses invasives. *Journal de Pharmacie Clinique*, 24, 125-138.

J

- **Jog R., Pandya M., Nareshkumar G. and Rajkumar S., (2014).** Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. *Microbiology*, 106, 778-788.
- **Jones D. and Krieg R., (1989).** Bacterial classification. V. Serology and chemotaxonomy. *In: Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 4. Williams S.T., Sharpe M.E. and Holt J.G. (Eds.). Williams and Wilkins Co. Baltimore, pp. 2313-2316.
- **Jose PA., Jebakumar SRD., (2013).** Non-streptomycete actinomycetes nourish the current microbial antibiotic drug discovery. *Frontiers in Microbiology*,
Doi:10.3389/fmicb.2013.00240.

Références bibliographiques

- **Jose PA., Santhi VS., Jebakumar SRD., (2011).** Phylogenetic-affiliation, antimicrobial potential and PKS gene sequence analysis of moderately halophilic *Streptomyces* sp. inhabiting an Indian saltpan. *Journal of Basic Microbiology* ,51,348-356.

K

- **Kämpfer P., Glaeser SP., Parkes L., van Keulen G. & Dyson P., (2014).** The family Streptomycetaceae. In: Rosenberg E, DeLong E, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F (ed), *The prokaryotes*. Springer Verlag, Heidelberg, Germany.
- **Kang DG., Bae H., et Kim H., (2011)** . isolation and antibacterial activity of actinomycetes producing growth inhibition compounds against multi-antibiotic resistant *pseudomonas aeruginosa* . the korean society for biotechnology and bioengineering , 26, 1, 19-26.
- **Karthik L., Kumar G. and Rao K. V. B., (2013).** Antioxidant activity of newly discovered lineage of marine actinobacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6,325-332.
- **Kemung H. M., Tan L. T.-H., Khan T. M., Chan K.-G., Pusparajah P., Goh B.-H. and Lee L.-H., (2018).** *Streptomyces* as a Prominent Resource of Future Anti-MRSA Drugs . *Frontiers Microbiology*, 9, 2221.
- **Khaliq S., Ghauri M. A. and Akhtar K., (2013).** Isolation, identification and optimization of fermentation parameters for improved production of antimicrobial compounds from indigenous *Streptomyces* isolates. *African Journal of Microbiology Research* ,7,18,1874-1887.
- **Khebizi N., (2018).** Etude taxonomique de trois souches de *Streptomyces* isolées des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques produits par *Streptomyces* sp. HG29. Thèse de Doctorat de L'Ecole Normale Supérieure de Kouba. Algérie. 163p.
- **Khebizi N., Boudjella H.,Bijani C.,Bouras N.,Klenk H. P.,Pont F.,Mathieu F., Sabaou N., (2018).** Oligomycins A and E, major bioactive secondary metabolites produced by *Streptomyces* sp. strain HG29 isolated from a Saharan soil. *Journal de Mycologie Médicale*, 28, 150-160.
- **Kim B. S., Lee J. Y., & Hwang B. K. (1998).** Diversity of actinomycetes antagonistic to plant pathogenic fungi in cave and sea-mud soils of Korea. *Journal of Microbiology*, 36,2, 86-92.

Références bibliographiques

- **Kim W.S., Wang Y., Fang A. and Demain A.L., (2000).** Methionine interference in rapamycin production involves repression of demethylrapamycin methyltransferase and Sadenosylmethionine synthetase. *Antimicrob Agents Chemother* ,44, 2908-2910.
- **Kumbhar C., Mudliar P., Bhatia L., Kshirsagar A. & Watve M., (2014).** Widespread predatory abilities in the genus *Streptomyces*. *Archives of microbiology*,196, 235–248.

L

- **Lacey J., (1997).** Actinomycetes in composts. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* ,4,113–121.
- **Lahoum A., Bouras N., Bouznada K., Holtz M. D., Spröer C., Klenk H. P. and Sabaou N., (2015).** *Saccharothrix* sp. ABH26, a new actinobacterial strain from Algerian Saharan soil: isolation, identification and antimicrobial activity. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*,4, 415-420.
- **Lahoum A. (2017).** Souches d'actinobactéries mycéliennes des sols sahariens: mise en évidence de nouvelles espèces et de nouveaux antibiotiques et réduction de la concentration en aflatoxine B1. Thèse de doctorat. École Normale Supérieure (ENS) de Kouba, Alger. 269 p.
- **Lamari L., Zitouni A., Dob T., Sabaou N., Lebrihi A., Germain P., Seguin E. and Tillequin F., (2002).** New Dithiolopyrrolone Antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. II. Physicochemical Properties and Structure Elucidation. *Journal of Antibiotics* ,55, 702-706.
- **Lamsaïf D., (1992).** Effects des sources d'azote sur la biosynthèse de la spiramycine chez *Streptomyces ambofaciens*. Etude des enzymes impliquées dans l'assimilation des ions ammonium. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine de Nancy, France.
- **Larpent J. P. and Sanglier J. J., (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Edition Masson, 496p.
- **Laskin A.I. and Lechevalier H., (1984).** Handbook of Microbiology. Vol. 3, CRC Press.
- **Laureti L., Song L., Huang S., Corre C., Leblond P., Challis G. L. and Aigle B. (2011).** Identification of a bioactive 51-membered macrolide complex by activation of a silent polyketide synthase in *Streptomyces Ambofaciens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 15,6258-6263.

Références bibliographiques

- **Lazzarini A., Cavaletti L., Toppo G. and Marinelli F., (2000).** Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. *Antonie van Leeuwenhoek*, 78, 399-405.
- **Lebrihi A., Lamasaiif D., Lefebvre G. and Germain P., (1992).** Effect of ammonium ions on spiramycin biosynthesis in *Streptomyces ambofaciens*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37, 382-387.
- **Lechevalier MP., de Bievre C., Lechevalier HA., (1977).** Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochemical Systematics Ecology*, 5, 249-260
- **Lechevalier M. P. & Lechevalier H., (1970).** Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 20, 435-443.
- **Lechevalier M.P., (1981).** Ecological associations involving actinomycetes. *Actinomycetes*. Shaal and Pulverer (Eds.). *Zbl. Bakt. suppl.*, 11, 159-166.
- **Leulmi N., Sighel D., Defant A., Khenaka K., Boulahrouf A. and Mancini I., (2019).** Enhanced production and quantitative evaluation of nigericin from the algerian soil-living *Streptomyces youssoufiensis* SF10 strain. *Fermentation*, 5, 13-22.
- **Lounès A., Lebrihi A., Benslimane C., Lefebvre G. and Germain P., (1995).** Glycerol effect on spiramycin production and valine catabolism in *Streptomyces ambofaciens*. *Current Microbiology*, 31, 304-311.
- **Lu S., Xie B., Liu B., Lu B. and Xing D., (2019).** Neglected effects of inoculum preservation on the Start-Up of psychrophilic bioelectrochemical systems and shaping bacterial communities at low temperature. *Frontiers in Microbiology*, 10, 935.

M

- **Macagnan D., Romeiro R. da S., Pomella A. W. V. and de Souza J. T., (2008).** Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora* (ex *Crinipellis*) *perniciosa* by phylloplane actinomycetes. *Biological Control*, 47, 309-314.
- **Maciej K., (2005).** Glucose isomerase from *Streptomyces rubiginous* - potential molecular weight standard for small-angle X-ray scattering. *Journal of Applied Crystallography*, 38, 3, 555-558.

Références bibliographiques

- **Manikkam R., Venugopal G., Ramasamy B. and Kumar V., (2015).** Effect of critical medium components and culture conditions on antitubercular pigment production from novel *Streptomyces* sp D25 isolated from Thar desert, Rajasthan. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* ,5,15-19.
- **Manivasagan P., Venkatesan J., Sivakumar K. & Kim SK., (2013).** Marine actinobacterial metabolites: Current status and future perspectives. *Microbiological Research*, 168,311–332.
- **Mann J., (2001).** Natural products as immunosuppressive agents. *Natural Product Reports* ,18,417–430.
- **Mechlinski W., (1978).** The polyene antifungal antibiotics. *In: Handbook of microbiology*. Vol. 3. Laskin A.I. and Lechevalier H.A. (Eds). CRC Press. 93-107.
- **Meklat A., (2012).** Taxonomie et potentiel antagoniste des actinomycètes halophiles des sols sahariens et mise en évidence de nouvelles espèces d'*Actinopolyspora*. Thèse de Doctorat, Ecole Normale Supérieure de Kouba , Alger, 211p.
- **Meklat A., Bouras N., Riba A., Zitouni A., Mathieu F., Rhode M., Schumann P., Spröer C., Klenk HP., Sabaou N., (2014).** *Streptomonospora algeriensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from soil in Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106, 287-292.
- **Meklat A., Sabaou N., Zitouni A., Mathieu F. and Lebrihi A., (2011).** Isolation, taxonomy, and antagonistic properties of halophilic actinomycetes in Saharan soils of Algeria. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 6710–6714.
- **Meklat A., Bouras N., Mokrane S., Zitouni A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.-P. & Sabaou N., (2015).** *Bounagaea algeriensis* gen. nov., sp. nov., an extremely halophilic actinobacterium isolated from a Saharan soil of Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 108, 473-482.
- **Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Sproer C., Klenk H.-P. & Sabaou N., (2013a).** *Actinopolyspora mzabensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from an Algerian Saharan soil. *International Journal of Systematique and Evolutionary Microbiology*, 63, 3787-3792.
- **Merrouche R., Yekkour A., Coppel Y., Bouras N., Lamari L., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N., (2019).** Effective biosynthesis of benzoyl-pyrrothine dithiolopyrrolone antibiotic by cinnamic acid-precursor addition in culture of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Letters in Applied Microbiology*, 68,165-172.

Références bibliographiques

- **Merrouche R., Yekkour A., Lamari L., Zitouni A., Mathieu F., Sabaou N., (2017).** Efficiency of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137 and its produced antifungal dithiopyrrolones compounds to suppress *Fusarium oxysporum*-induced wilt disease occurring in some cultivated crops. *Arabian Journal in Science and Engineering* ,42,2321-2327.
- **Merrouche R., (2012).** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des dithiopyrrolones par *Saccharothrix algeriensis* après addition de précurseurs dans le milieu de culture. Thèse de Doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique. El-Harrach. 197 p.
- **Merrouche R., Bouras N., Coppel Y., Mathieu, F. Monje M. C., Sabaou N. and Lebrihi A., (2010).** Dithiopyrrolone Antibiotic formation induced by adding valeric acid to the culture broth of *Saccharothrix algeriensis*. *Journal of Natural Products* ,73, 1164-1166.
- **Merrouche R., Bouras N., Coppel Y., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A., (2011).** New dithiopyrrolone antibiotics induced by adding sorbic acid to the culture medium of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *FEMS Microbiology Letters* ,318, 41- 46.
- **Merrouche R., Yekkour A., Coppel Y., Bouras N., Lamari L., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N., (2018).** Effective biosynthesis of benzoyl-pyrrothine dithiopyrrolone antibiotic by cinnamic acid-precursor addition in culture of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Letters in Applied Microbiology* ,68, 165-172.
- **Merrouche R., Yekkour A., Coppel Y., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F. & Sabaou N., (2020).** *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137, the first non-*Streptomyces* actinobacterium, produces holomycin after cystine feeding. *Archives of Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01971-3>
- **Miller D.B., (1982).** Neurotoxicity of the pesticidal carbamates. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 4, 779–787.
- **Misato T., (1982).** Recent status and future aspects of agricultural antibiotics, p. 241-246. Miyamoto J. and Kearney P.C. (eds.). *Pesticide chemistry: Human welfare, the environment and natural products*. Pergamon Press, New York.
- **Mohamed SH., Galal AM., (2005).** Identification and antiviral activities of some halotolerant *Streptomyces* isolated from Qaroon Lake. *International Journal of Agriculture and Biology* ,5,747-753.

Références bibliographiques

- **Mohammadipanah F. and Wink J., (2016).** Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity. *Frontiers in Microbiology*, 6,1541.
- **Moncheva P., Tishkov S., Dimitrova N., Chipeva V., Antonova-Nikolova S.,Bogatzevska N., (2002).** Characteristics of soil actinomycetes from antarctica. *Journal of Culture Collections*, 3, 3-14.
- **Moreira KA., Albuquerque BF., Teixeira MFS., Porto ALF., Lima JL., (2002).** Application of protease from *Nocardioopsis* sp. as a laundry detergent additive. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* ,18,307–312.

O

- **Odds F.C., Brown A.J.P. and Gow N.A.R., (2003).** Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends in Microbiology*, 11, 272–279.
- **Okoro C. K., Brown R., Jones A. L., Andrews B. A., Asenjo J. A., Goodfellow M. & Bull A. T., (2009).** Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek*, 95, 121–133.
- **Oskay M., (2011).** Effects of some environmental conditions on biomass and antimicrobial metabolite production by *Streptomyces* sp., KGG32. *International Journal of Agriculture and Biology* ,13, 317-324.

P

- **Pang X., Aigle B., Girardet J. M., Mangenot S., Pernodet J. L., Decaris B. and Leblond P., (2004).** Functional Angucycline-like Antibiotic Gene Cluster in the Terminal Inverted Repeats of the *Streptomyces ambofaciens* linear Chromosome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* ,48,2,575-588.
- **Patel A.B., Pennington S.N. and Brown H.D. (1969).** *Biochimica et Biophysica Acta* ,178, 626.
- **Pathom-aree W., Stach J.E.M., Ward A.C., Horikoshi K., Bull A.T., and Goodfellow M., (2006).** Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10 898 m) from the Mariana Trench. *Extremophiles* ,10, 181–189.
- **Perrine-Walker F., Gherbi H., Imanishi L. Hoher V., Ghodhbane- Gtari F., Lavenus J., Benabdoun F. M., Nambiar-Veeti M., Svistoonoff S. and Laplaze L., (2011).** Symbiotic signaling in actinorhizal symbioses. *Current Protein and Peptide Science*, 12, 156-164.

Références bibliographiques

- **Pfefferle C., Theobald U., Gürtler H. and Fiedler H., (2000).** Improved secondary metabolite production in the genus *Streptosporangium* by optimization of the fermentation conditions. *Journal of Biotechnology*, 80, 135–142.
- **Pinnert-Sindico S., (1954).** A new species of *Streptomyces* producing antibiotics *Streptomyces ambofaciens*. sp., cultural characteristics. *Annales De l'Institut Pasteur*, 87,6, 702-7.
- **Prasad M. P., (2015).** Optimized bioreactor techniques in the production and purification of tetracycline from '*Streptomyces aureofaciens*. *World journal of pharmaceutical research*, 4,1349-1357.
- **Prescott L. M., Willey J. M., Sherwood L. and Woolverton C. J., (2013).** *Microbiologie*, 4ème édition. De Boeck Supérieur.
- **Promnuan Y., Kudo T., Ohkuma M., and Chantawannakul P., (2011).** *Actinomadura apis* sp. nov., isolated from a honey bee (*Apis mellifera*) hive in Thailand and the Peptidoglycan Structure reclassification of *Actinomadura cremea* subsp. *rifamycini* Gauze et al. 1987 as *Actinomadura rifamycini* (Gauze et al. 1987) sp. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61, 22712277.

R

- **Rafieenia R., (2013).** Effect of nutrients and culture conditions on antibiotic synthesis in Streptomycetes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*, 3, 810-821.
- **Rapilly F., (1968).** Techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annals of Epiphyties*, 19, Numéro hors série.
- **Rezenka T, Klanova K, Podojil M, Vanek Z., (1984).** Fatty acids of *Streptomyces cinnamomensis*, producer of monensin. *Folia Microbiologica*, 29,217.
- **Ruiz B., Chávez A., Forero A., García-Huante Y., Romero A., Sánchez M., Rocha D., Sánchez B., Rodríguez-Sanoja R., Sánchez S. and Langley E., (2010).** Production of microbial secondary metabolites: Regulation by the carbon source. *Critical Reviews in Microbiology*, 36,146- 167.

S

- **Sabaou N., Amir H. and Bounaga N., (1980).** Le palmier dattier et la fusariose. X. Dénombrement des actinomycètes de la rhizosphère: leur antagonisme vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Annals in Phytopathology*, 12, 253-257.

Références bibliographiques

- **Sabaou N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A, Lamari L., Bennadji H., Lefebvre G. et Germain P., (1998).** Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Sécheresse*, 9, 147-153.
- **Sabaou N., Hacène H., Bennadji A., Bennadji H. & Bounaga N., (1992).** Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne. *Canadian Journal of Microbiology*, 38, 1066–1073.
- **Saker R., Bouras N., Zitouni A., Ghoul M., Rohde M., Schumann P., Spröer C., Sabaou N. and Klenk H.-P., (2014).** *Mzabimyces algeriensis* gen. nov., sp. nov., a halophilic filamentous actinobacterium isolated from a Saharan soil, and proposal of *Mzabimycetaceae* fam. nov. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106, 1021-1030.
- **Sanchez S., Chavez A., Forero A., Garcia-Hunte Y., Romero A., Sanchez M., Rocha D., Sanchez B., Avalos M., Guzman-Trampe S., Rodriguez-Sanoja R., Langley E. and Ruiz B., (2010).** Carbon source regulation of antibiotic production. *Journal of Antibiotics*, 63, 442-459.
- **Santhanam R., Okoro CK., Rong X., Huang Y., Bull AT., Weon H-Y., Andrews BA. et al., (2012).** *Streptomyces atacamensis* sp. nov., isolated from an extreme hyper-arid soil of the Atacama Desert, Chile. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 2680-2684.
- **Schatz A., Bugle E. and Waksman S. A., (1944).** Streptomycin, a Substance Exhibiting Antibiotic Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 55, 66-69.
- **Schoenian I., Paetz C., Dickschat J. S., Aigle B., Leblond P. and Spiteller D., (2012).** An Unprecedented 1,2- Shift in the Biosynthesis of the 3-Aminosalicylate Moiety of Antimycins. *Chembiochem A European Journal of Chemical Biology*, 13, 6, 769-773.
- **Shirling B. and Gottlieb D., (1966).** Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16, 3313-3340.
- **Siddique S., Syed Q., Adnan A., Nadeem M., Muhammad., I. and Qureshi F. A., (2013).** Production of Avermectin B1b from *Streptomyces avermitilis* 41445 by Batch Submerged Fermentation. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6, 8, 71-98.

Références bibliographiques

- **Singh B. P., Rateb M. E., Rodriguez-Couto S., Polizeli, M. d. L. T. d. M. and Wen-Jun L., (2019).** Editorial: Microbial Secondary Metabolites: Recent Developments and Technological Challenges. *Frontiers in Microbiology* ,10, 914.
- **Singh N. and Rai V., (2012).** Optimization of cultural parameters for antifungal and antibacterial metabolite from microbial isolate; *Streptomyces rimosus* MTCC 10792 from soil of Chhattisgarh. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* ,4, 94-101.
- **Singh R., Kumar M., Mittal A. and Mehta P. K., (2017).** Microbial metabolites in nutrition. healthcare and agriculture 3 *Biotechnology* ,7, 15.
- **Solecka J., Zajko J., Postek M. & Rajnisz A. (2012).** Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. *Open Life Sciences*, 7,373-390.
- **Song Q., Huang Y. and Yang H., (2012).** Optimization of Fermentation Conditions for Antibiotic Production by Actinomycetes YJ1 Strain against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Agricultural Science* ,4,7, 95-102.
- **Souagui S., Djoudi W., Boudries H., Béchet M., Leclère V. and Kecha M., (2019).** Modeling and statistical optimization of culture conditions for improvement of antifungal compounds production by *Streptomyces albidoflavus* S19 strain of wastewater origin. *Anti-Infective Agents*, 17, 39-49.
- **Souagui Y., Tritsch D., Grosdemange-Billiard C. and Kecha M., (2015).** Optimization of antifungal production by an alkaliphilic and halotolerant actinomycete, *Streptomyces* sp. SY-BS5, using response surface methodology. *Journal of Medical Mycology* ,25, 108-115.
- **Spížek J. and Tichý P., (1995).** Some aspects of overproduction of secondary metabolites. *Folia Microbiologica* ,40, 43-50.
- **Stackebrandt E., (1986).** The significance of 'wall-types' in phylogenetically based taxonomic studies on actinomycetes. *In: Szab G., Bit S. and Goodfellow M. (Eds.) Biological, Biochemical and Biomedical Aspects of Actinomycetes.* Akaddmiai Kiad, Budapest, pp 497-506.
- **Stackebrandt E. and Woese C.R., (1981).** The evolution of prokaryotes. *Symposia of the Society for General Microbiology*, 32, 1-31.
- **Stackebrandt E., Ludwig W., Seewaldt E. and Schleifer K.H., (1983).** Phylogeny of sporeforming members of the order *Actinomycetales*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 33, 173-180.

Références bibliographiques

- **Stackebrandt E., Wunner-Fiissl B., Fowler V.J. and Schleifer K.H., (1981).** Deoxyribonucleic acid homologies and ribosomal ribonucleic acid similarities among sporeforming members of the order *Actinomycetales*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 31, 420-431.
- **Strub C., (2008).** Modélisation et optimisation de la production de thiolutine Chez *Saccharothrix algeriensis*. Thèse doctorat en Génie des Procédés et de l'environnement de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 221 p.
- **Strub C., Brandam C., Meyer X. and Lebrihi A., (2008).** Investigations of *Saccharothrix algeriensis* growth on synthetic media. *Journal of bioscience and bioengineering*, 106, 148-153.
- **Sujatha P., Bapi-Raju K. and Ramana T., (2005).** Studies on a new marine streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiological Research* ,160, 119-126.
- **Svensson M.-L., Prodyut R. and Gatenbeck S., (1983).** Glycerol catabolite regulation of Dcycloserine production in *Streptomyces garyphalus*. *Archives of Microbiology* ,135, 191-193.

T

- **Taechowisan T., Peberdy J.F. and Lumyong J., (2003).** S. Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* ,19, 381-385.
- **Tamreihao K., Ningthoujam D. S., Nimaichand S., Singh E. S., Reena P., Singh S. H. and Nongthomba U., (2016).** Biocontrol and plant growth promoting activities of a *Streptomyces corchorusii* strain UCR3-16 and preparation of powder formulation for application as biofertilizer agents for rice plant. *Microbiological Research*, 192, 260-270.
- **Tata S., Aouiche A., Bijani C., Bouras N., Pont F., Mathieu F., Sabaou N., (2019).** Mzabimycins A and B, novel intracellular angucycline antibiotics produced by *Streptomyces* sp. PAL114 in synthetic medium containing L-tryptophan. *Saudi Pharmaceutical Journal* ,27, 907-913
- **Tata S., (2020).** Production d'antibiotiques par *Streptomyces* sp. PAL114 en fonction des sources d'azote et de carbone, mise en évidence de nouvelles molécules et activités biologiques. Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquées, Ecole Normale Supérieure de kouba, Alger. 156 p.

Références bibliographiques

- **Thakur D., Yadav A., Gogoi BK. and Bora TC., (2007).** Isolation and screening of *Streptomyces* in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. *Journal Mycology Medical* ,17, 242-249.
- **Thiele-Bruhn S., (2003).** Pharmaceutical antibiotic compounds in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* ,166, 145-167.
- **Toumatia O., (2010).** Actinomycetes sahariens producteurs d'antifongiques: isolement, taxonomie, caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre les maladies de plantes. Magister de Microbiologie, Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger. 115 p.
- **Toumatia O., (2015).** Étude de quelques souches de *Streptomyces* des sols arides d'Algérie antagonistes de *Fusarium culmorum*: taxonomie, caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre la fusariose du blé. Thèse de doctorat. École Normale Supérieure de Kouba, Alger. 266 p.
- **Toumatia, O., Compant, S., Yekkour, A., Goudjal, Y., Sabaou, N., Mathieu, F., Sessitsch, A. & Zitouni, A., (2016).** Biocontrol and plant growth promoting properties of *Streptomyces mutabilis* strain IA1 isolated from a Saharan soil on wheat seedlings and visualization of its niches of colonization. *South African Journal of Botany*, 105, 234-239.

V

- **Van Dissel D. and Wezel G. P. v., (2017).** Morphology-driven downscaling of *Streptomyces lividans* to micro-cultivation. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1-13.
- **Viaene T., Langendries S., Beirinckx S., Maes M. & Goormachtig S., (2016).** *Streptomyces* as a plant's best friend?. *FEMS microbiology ecology* ,92, 1-42.

W

- **Wadetwar R. N., Chaturvedi J. L., Building Z. and Road H., (2013).** Production of antibiotic from actinomycetes isolated from nagpur. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* ,4, 3094-3098.
- **Waites M.J., Morgan N.L., Rockey J.S. and Higon G., (2001).** *Industrial Microbiology-An Introduction*, Blackwell Science, London.
- **Walsh T.J. and Giri N., (1997).** Pradimicins: a novel class of broad-spectrum antifungal compounds. *European journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 16, 93-97.

Références bibliographiques

- **Wang X., Huang L., Kang Z., Buchenauer H. and Gao X., (2010).** Optimization of the Fermentation Process of Actinomycete Strain Hhs.015T. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 141876-141886.
- **Weyland H., (1981).** Distribution of actinomycetes on the sea floor. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene Abt originale B hygiene* .
- **Wolfe B. E., Button J. E., Santarelli M. and Dutton R. J., (2013).** Cheese rind communities provide tractable systems for in situ and *in vitro* studies of microbial diversity. *Cell*, 158, 422-433.

X

- **Xinxuan W., Lili, H., Zhensheng, K., Heinrich B. and Xiaoning G., (2010).** Optimisation of the fermentation process of actinomycete strain hhs. 015. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 10.

Y

- **Yala D, Merad AS, Mohamedi D, Ouar Korich MN (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb* ,91,5-12.
- **Yassour M., Vatanen T. and Siljander H., (2016).** Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Science Translational Medicine*, 8, 1-11.
- **Yekkour A., (2013).** Implication de quelques souches de Streptomyces antagonistes de Fusarium culmorum dans le biocontrôle de la fusariose de l'orge et effets de l'antibiotique sécrété par Streptomyces sp. Thèse de Doctorat. L'Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger.
- **Yekkour A., Meklat A., Bijani C., Toumatia O., Errakhi R., Lebrihi A., Mathieu F., Zitouni A. and Sabaou N., (2015).** A novel hydroxamic acid-containing antibiotic produced by a Saharan soil-living Streptomyces strain. *Letters in Applied Microbiology* ,60, 589-596.

Z

- **Zimmerman W. (1980).** Degradation of lignin by bacteria. *International Journal of Biotechnology*, 13, 199-230.

Références bibliographiques

- **Zitouni A., (2005).** Taxonomie et antibiotiques des *Saccharothrix* et des *Nocardiopsis* des sols sahariens et nouvelles molécules bioactives sécrétées par *Saccharothrix* sp. SA 103. Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, 230 p.
- **Zitouni A., Boudjella H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N., (2005).** *Nocardiopsis* and *Saccharothrix* genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. Research journal Microbiology, 156 ,10, 984-993.
- **Zitouni A., Lamari L., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Gaouar A., Mathieu F., Lebrihi A. & Labeda D. P., (2004a).** *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54, 1377–1381.