



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire des microorganismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Biotechnologie des actinobactéries et des *Bacillus*

"Essai d'isolement, élimination des contaminants et tests de biodégradation de certains pesticides"

Présenté par : Rouabah Rayane

Le : 13/06/2024

Terchi Marwa Souha

Jury d'évaluation :

Président : Mme. LIFA M. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Mr. BOUDEMAGH A. (Pr – U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur : Melle. BOUFERCHA O. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire
2023 - 2024**

Remerciements

Remerciant tout d'abord **Dieu** tout puissant de nous avoir donné la force afin de réaliser ce travail.

Nous remercions notre encadreur **Mr. BOUDEMAGH A.** Professeur à l'UFM Constantine pour le privilège et la confiance qu'il nous a accordés durant le stage pratique, pour son aide, le temps qu'il nous a consacré et pour ses précieux conseils.

Nous souhaitons exprimer nos remerciements à **Mme. LIFA Maroua** Doctor à l'Université des Frères Mentouri Constantine d'avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions également **Melle. BOUFERCHA Oumaima** Doctor à l'UFM Constantine qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier tous les doctorantes du Laboratoire Biologie moléculaire et cellulaire, et surtout l'ingénieure de laboratoire « **Houda** » qui nous a chaleureusement accueillies et aussi pour ses encouragements durant la période de notre stage.

Aussi nous remercions la doctorante « **Rebai Hadjer** » pour son soutien, ses encouragements et ses précieux conseils.

Sans oublier, **Mme. ARABET Dallel**, pour son soutien, ses encouragements et ses précieux conseils durant la deuxième année de Master.

Ainsi que tous ceux et celles qui ont participés de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

À ma grand-mère défunte « **HANANA** »

Qui a toujours été dans mon esprit et dans mon cœur, et à qui je dois ce que je suis devenu aujourd'hui, je regrette qu'elle ne soit plus là pour partager ma joie. Que Dieu l'accueille dans Son vaste paradis.

À celle qui est mon exemple de la réussite, que j'ai tant aimé et respecté, qui m'a donné de l'amour ; de la tendresse, du soutien et de la force, **ma très chère mère**, que Dieu te protège et te prête longue et heureuse vie.

À mon père, Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse. Qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, que Dieu le garde et le protège.

À ma jumelle, ma sœur « **SAFA CHAHINEZ** », qui a été toujours là pour moi et n'a pas cessé de m'encourager et soutenir, qui a cru en moi et ne m'a jamais abandonné un instant.

À mes frères « **AMINE** » et « **CHARAF** » et à leurs femmes, qui ont cru en moi, qui m'ont encouragé et m'ont donné la force d'aller jusqu'au bout. Qu'Allah les protège, et surtout à mon frère « **MOUAD** » pour son soutien et d'être à mes côtés.

À mes neveux « **MOUHAMED DJAD** », « **MAZEN ACIL** » et surtout à ma fille « **DJENA** ».

À ma chère deuxième sœur « **HIBA** », qui n'a jamais cessé de m'encourager et de croire en moi, et qui a été à mes côtés dans tous les moments difficiles.

À mes amies « **NADA** », « **OUMAIMA** » et « **HADIL** », qui ont été toujours là pour moi, merci pour être le meilleur soutien dans la vie, et surtout à mon binôme « **RAYANE** » Merci d'être là quand les moments étaient difficiles et pour tous ces bons moments passés avec toi.

MARWA

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

À Mon cher père **Noureddine**

Qui peut être fier et de trouver ici le résultat de longues années de sacrifice et pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit. Merci pour les valeurs nobles l'éducation et le soutien permanent venu de moi.

À mon adorable mère **Nadira**

À l'être le plus cher à ma vie à la femme qui a souffert sans me laisser souffrir qui n'a épargné aucun effort pour rendre heureuse.

À ma belle-sœur : **Anissa**

À la fleur de ma vie ma très chère sœur

À mes chers frères : **Abd El Djalil et Mohamed EL Mahdi**

Qui ont été et ils seront toujours mon plus grand soutien dans cette vie.

À femme de mon frère : **Oumaima Lina**

Au mari de ma sœur : Youcef

À mes neveux et nièces : **Amani Aridj et Ritedj katr EL Nada**

Que dieu les protèges.

À mes chers **Grand-père et Grand-mère**

*À tous mes amies surtout à mon binôme **Marwa** pour nos souvenirs inoubliables. Que notre amitié dure à jamais*

À tous qui me connaissent de près ou de loin

Merci à tous

Rayane

Résumé

Notre travail s'intéresse en premier lieu, à l'isolement des actinobactéries et des *Bacillus* à partir de deux échantillons extrêmes (la sebkha de Ain M'Lila et le lixiviats). Les échantillons prélevés sontensemencés sur trois milieux sélectifs (le GLM, l'amidon-caséine et l'ISP2), tous additionnés d'un antifongique «la fungizone» pour éviter la croissance des champignons. Un nombre de quatre d'actinobactérie et *Bacillus* ont été isolés. Des essais d'optimisation d'isolement sélectifs des actinobactéries ont permis d'affirmer que l'emploi de la gentamycine additionnée au milieu d'isolement (GLM), conduit à la réduction significative de la propagation des contaminants à croissance rapides et facilite l'isolement des actinobactéries à temps de génération lent. En plus, des tests de cet antibiotique sur une collection d'actinobactéries ne présentent aucun effet négatif sur leurs croissances. L'emploi de cette technique dans une seconde tentative d'isolement à partir des mêmes échantillons, nous a permis d'obtenir un nombre plus important d'actinobactéries. La deuxième étape a été consacrée à la mise en évidence de l'aptitude des souches isolées à biodégrader quatre pesticides qui sont un herbicide «glyphosate», deux fongicides «horizon, Aliette flash» et un insecticide «Decis». Les résultats montrent que la majorité de ces pesticides sont dégradés par nos isolats. Le glyphosate est le pesticide le plus dégradé.

Mots clés

Actinobactéries, *Bacillus*, Isolement sélectif, Biodégradation, Pesticides.

Abstract

Our work focuses primarily on isolating actinobacteria and *Bacillus* from two extreme samples (the Ain M'Lila sebkha and leachate). The samples taken are seeded on three selective mediums (GLM, starch-casein, and ISP2), all supplemented with the antifungal «fungizone» to prevent fungal growth. A total of four actinobacteria and *Bacillus* were isolated. Selective isolation optimization experiments for actinobacteria confirmed that the use of gentamicin added to the isolation medium (GLM) significantly reduces the propagation of fast-growing contaminants and facilitates the isolation of slow generation time actinobacteria. Additionally, tests of this antibiotic on a collection of actinobacteria showed no negative effects on their growth. Implementing this technique in a second isolation attempt from the same samples allowed us to obtain a larger number of actinobacteria. The second step focused on demonstrating the ability of the isolated strains to biodegrade four pesticides, including an herbicide (glyphosate), two fungicides (horizon, Aliette flash), and an insecticide (Decis). The results show that the majority of these pesticides are degraded by our isolates, with glyphosate being the most degraded pesticide.

Keywords

Actinobacteria, *Bacillus*, Selective isolation, Biodegradation, Pesticides.

ملخص

يتناول عملنا في المقام الأول عزل *Bacillus* و *actinobactéries* من عينتين متطرفتين (سبخة عين مليلة ومستخلصات النفايات). يتم زرع العينات المأخوذة على ثلاثة أوساط انتقائية (Amidon-caséine, GLM وISP2)، جميعها مضافة بمضاد فطري "fungizone" لتجنب نمو الفطريات. تم عزل أربعة *Bacillus* و *actinobactéries*. أظهرت اختبارات تحسين عزل *actinobactéries* أن استخدام الجنتاميسين مضاف إلى وسط العزل (GLM) يؤدي إلى تقليل ملحوظ في انتشار الملوثات ذات النمو السريع ويسهل عزل *actinobactéries* ذات تكاثر بطيء. بالإضافة إلى ذلك، لم تظهر اختبارات هذا المضاد الحيوي على مجموعة من *actinobactéries* أي تأثير سلبي على نموها. استخدام هذه التقنية في محاولة عزل ثانية من نفس العينات، سمح لنا بالحصول على عدد أكبر من *actinobactéries*. كانت الخطوة الثانية مكرسة لإظهار قدرة السلالات المعزولة على تحلل أربعة مبيدات حشرية وهي مبيد أعشاب "Glyphosate" ومبيدات فطرية اثنتان "horizon, Aliette flash" ومبيد حشرات "Decis". تُظهر النتائج أن معظم هذه المبيدات تتحلل عن طريق عزلتنا. Glyphosate هو المبيد الأكثر تحللاً.

الكلمات الرئيسية

Bacillus، *Actinobactéries*، العزل الانتقائي، التحلل الحيوي، المبيدات.

Liste des figures

N°	Titre	page
1	Cycle de vie des actinobactéries.	6
2	Taxonomie du genre <i>Bacillus</i> .	23
3	Cycle de développement de <i>Bacillus</i> .	25
4	Aspect macroscopique des souches de <i>Bacillus</i> .	38
5	Aspect macroscopique des souches d'actinobactéries.	39
6	Aspect microscopique des souches de <i>Bacillus</i> et actinobactéries sous microscope optique avec un grossissement X100 : (B1, B2) souches de <i>Bacillus</i> ; (A1, A2) souches d'actinobactéries.	40
7	Effet des concentrations variables de la gentamycine de la souche «SG» d'actinobactéries.	43
8	Effet de 1 mg/l de la gentamycine sur la croissance d'actinobactéries (A) et de <i>Bacillus</i> (B).	43
9	Test de biodégradation des pesticides par les actinobactéries A1 et A2.	46
10	Test de biodégradation des pesticides par les deux souches de <i>Bacillus</i> .	48

Liste des tableaux

N°	titre	page
01	Principaux critères utilisés pour la taxonomie des actinobactéries.	4
02	Fréquence de divers genres d'actinobactéries dans le sol.	7
03	Salinité et microorganismes appropriés.	9
04	Température et microorganismes appropriés.	10
05	pH et microorganismes appropriés.	11
06	Exemples d'antibiotiques produits par des actinobactéries.	14
07	Exemples d'enzymes produits par des actinobactéries.	16
08	Classification des antifongiques selon la structure moléculaires.	17
09	Classification des antifongiques selon le mode d'action.	18
10	Classification du genre <i>Bacillus</i> selon la morphologie de la spore et du sporange.	24
11	Caractéristiques des produits testés.	33
12	Caractéristiques des pesticides testés.	35
13	Isolement sur les deux milieux GLM et amidon caséine additionnées d'un antifongique.	37
14	Etude macromorphologique de <i>Bacillus</i> .	38
15	Etude macromorphologique des actinobactéries.	39
16	Isolement sur milieu ISP2 additionnées d'antifongique.	40
17	Effet de différentes concentrations de la Gentamycine et de l'azide de sodium sur la croissance des bactéries contaminantes.	42
18	Dénombrement des actinobactéries sur milieu GLM additionnées d'un antifongique et de 1mg/l de gentamycine.	44
19	Test de la biodégradation des pesticides par deux actinobactéries sélectionnées.	45
20	Test de la biodégradation des pesticides par certaines souches de <i>Bacillus</i> dans les différentes concentrations.	47

Liste des abréviations

NaCl : chlorure de sodium.

p/v : poids/volume.

M : Molaire.

Kg : kilogramme.

H⁺ : Cation d'hydrogène.

Asp : acide aspartique.

Glu : acide glutamique.

Arg : Arginine.

Lys : lysine.

Asn : asparagine.

Gln : glutamine.

Ser : serine.

The : threonine.

ATPase : adénosine triphosphatases.

MDR : multi-resistant drug (multirésistance aux médicaments).

C : carbone.

N : azote.

P : phosphore.

S : soufre.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

C14 : carbone 14.

ADNr 16S : la sous-unité 16 S de l'ADN ribosomal.

SG : *Streptomyces bacillaris*.

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Table des matières	
Introduction.....	1

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Caractères des actinobactéries dans les écosystèmes naturels et extrêmes

1. Généralités sur les actinobactéries.....	3
2. Caractères cultureux.....	3
3. Caractères morphologiques	3
4. Critères de classification des actinobactéries.....	4
5. Taxonomie.....	5
6. Cycle de développement	5
7. Les actinobactéries des milieux naturels.....	6
7.1. Dans le sol.....	6
7.2. Dans les milieux aquatiques.....	7
7.2.1. Dans les eaux douces.....	7
7.2.2. Dans les milieux marins.....	7
8. Les actinobactéries des milieux extrêmes.....	8
8.1. Les actinobactéries halophiles et halotolérantes.....	8
8.1.1. Mécanisme de l'halotolérance.....	9
8.2. Les actinobactéries thermophiles.....	9
8.3. Les actinobactéries alcalophiles et acidophiles.....	10

8.3.1. Les actinobactéries alcalophiles.....	10
8.3.2. Les actinobactéries acidophiles.....	11

Chapitre 2 : Intérêt biotechnologique des actinobactéries

1. Métabolisme des actinobactéries.....	12
1.1. Métabolisme primaire.....	12
1.2. Métabolisme secondaire.....	12
2. Facteurs qui influencent le métabolisme secondaire des actinobactéries.....	12
2.1. La nature de l'inoculum.....	12
2.2. Influence des sources nutritionnelles.....	13
2.2.1. Source de carbone.....	13
2.2.2. Source d'azote.....	13
2.2.3. Source de phosphate.....	13
2.2.4. La teneur en oxygène.....	13
2.2.5. Le pH	13
3. Substances bioactives produites par les actinobactéries.....	14
3.1. Les antibiotiques.....	14
3.2. Les enzymes.....	15
3.3. Les antifongiques.....	16
3.4. Les vitamines.....	18
3.5. Les pigments	19
3.6. Les biosurfactants.....	19
3.7. Les actinobactéries dans la bioremédiation.....	19
3.8. La biodégradation des pesticides par les actinobactéries.....	20
3.8.1. Les mécanismes microbiens de la dégradation	20
3.8.1.1. Le métabolisme direct	20
3.8.1.2. Le cométabolisme.....	21
3.8.1.3. La conjugaison et la condensation	22

Chapitre 3: Les bactéries sporulantes du genre *Bacillus*

1. Généralité.....	23
2. Taxonomie.....	23
3. Habitat.....	24
4. Cycle de développement.....	25
5. Espèces du genre <i>Bacillus</i> les plus rencontrées dans la nature.....	25
5.1. <i>Bacillus subtilis</i>	25
5.2. <i>Bacillus cereus</i>	26
5.3. <i>Bacillus licheniformis</i>	26
6. Intérêt biotechnologique du genre <i>Bacillus</i>	27

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

1. Matériel	29
2. Méthodes	29
2.1. Prélèvement des échantillons	29
2.1.1. Le sol	29
2.1.2. Le lixiviat	29
2.2. Isolement des colonies de <i>Bacillus</i> et d'actinobactérie	29
2.2.1. Préparation des dilutions décimales	29
2.2.1.1. Pour le sol	29
2.2.1.2. Pour le lixiviat	29
2.2.2. Milieux d'isolement	29
2.2.3. Isolement des actinobactéries	30
2.2.3.1. Ensemencement et incubation	30
2.2.3.2. Dénombrement	30
2.2.3.3. Purification et conservation des souches d'actinobactéries	30
2.2.4. Isolement des <i>Bacillus</i>	30
2.3. Caractérisation des actinobactéries et des <i>Bacillus</i>	31
2.3.1. Caractérisations macroscopiques.....	31

2.3.2. Caractérisations microscopiques (Coloration de Gram).....	31
2.4. Mise en évidence de l'effet de certains antibiotiques et antiseptiques sur l'inhibition des germes contaminants.....	32
2.5. Effet de la gentamycine et de l'azide de sodium sur la croissance des actinobactéries.....	33
2.6. Test de tolérance des souches performantes à des concentrations différentes	34
2.7. Mise en évidence de la capacité des actinobactéries et des <i>Bacillus</i> isolées à dégrader certains pesticides.....	34
2.8. Milieu de culture utilisé pour l'étude de la biodégradation.....	34
2.8.1. Caractéristiques des pesticides testés.....	34
2.8.2. Test de la biodégradation des pesticides.....	35
2.8.2.1. Stérilisation des pesticides.....	35
2.8.2.2. Culture des bactéries sur milieux minimums.....	35

Chapitre 5 : Résultats et discussions

1. Isolement des actinobactéries et des <i>Bacillus</i>	37
2. Caractérisation des souches d'actinobactéries et <i>Bacillus</i> isolées.....	38
2.1 Etude morphologiques.....	38
2.1.1. Macromorphologie.....	38
2.1.2. Micromorphologie.....	39
2.1.2.1. Pour <i>Bacillus</i>	39
2.1.2.2. Pour les actinobactéries.....	39
3. Isolement des actinobactéries sur milieu ISP2.....	40
4. Effet d'un antibiotique et d'un antiseptique sur l'inhibition des contaminants...41	
5. Effet de la gentamycine et de l'azide de sodium sur les actinobactéries	42
6. Isolement des actinobactéries en présence de 1mg/l de gentamycine.....	43
7. Test de la biodégradation des pesticides.....	44
Conclusion et perspectives.....	50
Références bibliographiques	52
Annexes	62

Introduction

Les écosystèmes extrêmes sont des environnements qui se caractérisent par une faible diversité bactérienne (milieux qui ne favorisent pas le développement des formes communes). Ils se caractérisent par la présence de communautés microbiennes indigènes spécifiques adaptées à ces milieux. Les microbes présents dans ces milieux ont suscité une grande curiosité en raison de leur capacité à produire divers composés naturels et de leurs mécanismes spécialisés d'adaptation aux conditions extrêmes. On peut citer parmi ces communautés microbiennes les actinobactéries et les *Bacillus* (Merabet *et al.*, 2021).

Les actinobactéries, anciennement connus sous le nom d'actinomycètes, sont parmi les microbes qui ont un grand intérêt biotechnologique dans différents domaines. Ces bactéries n'étaient pas considérées comme des microorganismes très utiles jusqu'à la fin des années 1940. Mais avec la streptomycine découverte en 1943, l'intérêt pour ces organismes s'accroît de manière spectaculaire dans les secteurs pharmaceutique, médical, vétérinaire, agricole et écologique (Bouaouni *et al.*, 2022).

Les actinobactéries sont parmi les microorganismes qui jouent un rôle essentiel dans la biodégradation des divers xénobiotiques tels que les pesticides et plusieurs autres polluants. Ils sont aussi de très bons producteurs d'enzymes variées utilisées dans divers domaines, tels que la dépollution, la bioremédiation etc.,. Les études utilisant les actinobactéries dans ces domaines des biotechnologies sont moins apportés dans la littérature comparativement aux autres microorganismes (Ouis et Mezaili , 2019).

Les bactéries du genre *Bacillus* sont également un exemple prometteur de microorganismes ayant un potentiel biotechnologique considérable. Elles sont responsables par leur croissance dans les conditions extrêmes (à cause de leurs spores de résistances) de la production de métabolites innovants très intéressants. *Bacillus* a également des caractéristiques physiologiques remarquables qui lui permettent de survivre dans de nombreux habitats extrêmes. Ils peuvent être thermophiles, alcalophiles, acidophiles, halotolérantes, psychrophiles, ou halophiles. Les espèces actives de *Bacillus* sont isolées des écosystèmes extrêmes non ou peu exploités, ce qui peut éventuellement permettre la découverte de souches rares ou de nouvelles souches taxonomiques, pouvant présenter un potentiel de production élevé ou inexploité (Nas, 2012).

L'objectif principal de notre étude consiste d'une part à l'isolement sélectif des actinobactéries et des *Bacillus* à partir de deux écosystèmes très rarement explorés à savoir la sebkha d'Ain M'Lila et le lixiviat. Et d'autre part à l'étude de la biodégradation de certains pesticides par ces bactéries isolées.

Notre travail est structuré en trois phases :

- La première partie consiste à l'isolement des actinobactéries et *Bacillus* provenant de nos deux échantillons.
- La deuxième partie consiste à déterminer les conditions favorables pour l'isolement sélectif des actinobactéries soit par le changement du milieu de culture ou l'élimination des contaminants (par l'utilisation des agents antimicrobiens).
- La troisième partie consiste à étudier la capacité des bactéries isolées à utiliser quelques pesticides comme seule source de carbone.

Le manuscrit est structuré comme suit :

- Première partie est une synthèse bibliographique qui contient trois chapitres :
 - Chapitre 1 : Caractères des actinobactéries dans les écosystèmes naturels et extrêmes.
 - Chapitre 2 : Intérêt biotechnologique des actinobactéries.
 - Chapitre 3 : Les bactéries sporulantes du genre *Bacillus*.
- Deuxième partie est une partie expérimentale qui contient deux chapitres :
 - Chapitre 4 : Matériel et méthodes.
 - Chapitre 5 : Résultats, discussion et conclusion.

Revue
Bibliographique

Chapitre 1

Caractères des actinobactéries dans les écosystèmes naturels et extrêmes

1. Généralités sur les actinobactéries

Dans la nature, les actinobactéries sont très communes et font partie des groupes les plus diversifiés de bactéries (Lewin *et al.*, 2016). Ce sont des micro-organismes procaryotes à coloration de Gram positive, avec des filaments septés et des ramifications, c'est la raison pour laquelle ils sont appelés «actinomycètes», nom qui provient de deux mots grecs : *aktis*, qui signifie «rayon», et *mykes*, qui signifie «champignon». Ainsi, ils ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre les champignons et les bactéries (Cedah et Boudekique, 2016).

En général, elles présentent un coefficient de Chargaff (GC%) supérieur à 55 %, habituellement compris entre 60 et 75 % (Derouiche *et al.*, 2011). Ces organismes sont généralement hétérotrophes, immobiles (leurs spores se propagent par le vent ou en adhérant à des animaux) (Moudja et Lakloul, 2015), mésophiles, aérobies et neutrophiles. Le groupe est nommé d'après le genre *Actinomyces*, qui est l'un des premiers organismes étudiés dans ce groupe (Bousbia et Kider, 2012).

2. Caractères cultureux

Il arrive parfois que les caractères cultureux contribuent à la différenciation entre les genres d'actinobactéries, parmi les caractères cultureux essentiels il existe :

- La production ou non d'un mycélium aérien (MA) (cas de nombreux genres) par exemple : *Actinoplanes*, *Micromonospora* et *Rhodococcus* ;
- La présence ou non de mycélium du substrat (MS) ;
- La couleur du MS et du MA ;
- La couleur et la production des pigments diffusibles dans le milieu de culture (Boukhalfa, 2018).

3. Caractères morphologiques

Deux groupes d'actinobactéries peuvent être observés en fonction de la morphologie :

- Le premier groupe : sont des organismes simples qui forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium), sans aucuns caractères morphologiques particuliers.

- Le second groupe : sont les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier comme les bacilles et les coccobacilles exemple : *Rhodococcus* et *Mycobactérium* (Bousbia et Kider, 2012).

4. Critères de classification des actinobactéries

L'identification des genres et des espèces est basée sur un ensemble de caractères morphologiques, chimio-taxonomiques, moléculaires et physiologiques (Tab. 01).

Tableau 01 : Principaux critères utilisés pour la taxonomie des actinobactéries.

Critères taxonomiques		Références
Critères Morphologique	<ul style="list-style-type: none"> - mycélium fragmenté ou non. - présence ou non de mycélium aérien. - production des spores. - production ou non de pigments mélanoïdes. - La production ou non de structures spéciales comme les sporanges, les sclérotés et les zoospores. 	(Ibrahimi, 2020)
Critères chimio-taxonomiques	<ul style="list-style-type: none"> - La composition de la paroi cellulaire en acides aminés, glucides et lipides. - Production d'antibiotiques. - Tests biochimiques : Réduction du nitrate ; Hydrolyse de l'urée ; Hydrolyse de l'acide hyppurique ; Synthèse de mélanine (<i>Streptomyces</i>). 	(Boukhalfa, 2018) (Ibrahimi, 2020)
Critères Moléculaires	<ul style="list-style-type: none"> - l'analyse des séquences de l'ADN codant pour l'ARN ribosomique 16 S (ADNr 16 S). - l'hybridation ADN-ADN. - la détermination du pourcentage guanine-cytosine (GC)%. 	(Oulad hadj youcef, 2021)

	- l'analyse des séquences des protéines ribosomiques.	
Critères Physiologiques	<ul style="list-style-type: none"> - Tolérance au NaCl. - Résistance à certains antimicrobiens. - tolérance à certaines conditions extrêmes (température, pH et salinité). - Tests de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques, protéiques et polymères complexes. 	<p>(Arar, 2019)</p> <p>(Boukhalfa, 2018)</p>

5. Taxonomie

Les actinobactéries sont rattachés au phylum d'*Actinobacteria* qui comprend six classes : *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria*, *Thermoleophilia*, vingt-trois ordres, cinquante-deux familles et deux cent cinquante-deux genres (Moudja et Laklouk, 2015).

6. Cycle de développement

Les actinobactéries possèdent une structure des procaryotes, mais un cycle biologique complexe semblable à certain champignons. Sur un milieu solide (sol naturel ou gélose en laboratoire), le cycle de vie débute par la germination d'une spore qui dans des conditions favorables, produisent un ou plusieurs mycéliums de substrat (mycélium primaire) formé des hyphes et se développent par croissance apicale. Le mycélium de substrat se développe vers la partie superficielle et donne la naissance de mycélium secondaire (aérien), par la suite les extrémités de ce mycélium différencient pour former des spores, qui sont considérer comme des agents de dissémination (Cedah et Boudekique, 2016).

Généralement le mycélium aérien est plus épais et moins ramifié que le mycélium de substrat (Fig. 1) (Moudja et Laklouk, 2015).

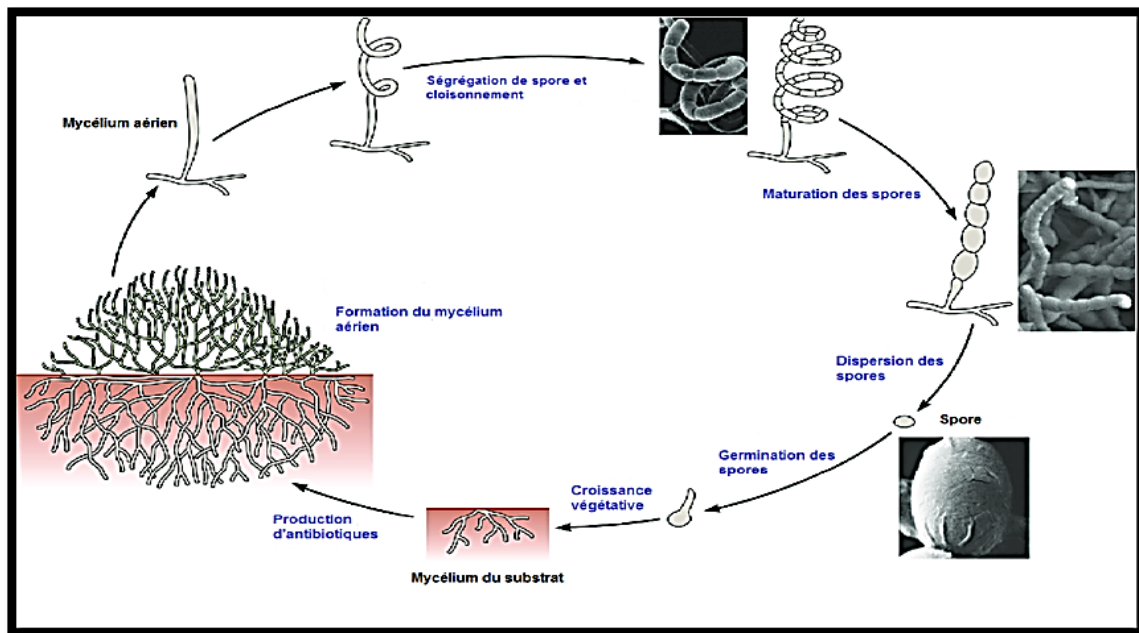


Figure 1 : Cycle de vie des actinobactéries (Ait Barka *et al.*, 2016).

7. Les actinobactéries des milieux naturels

Les actinobactéries peuvent se trouver dans différents environnements écologiques. Il s'agit de microorganismes présents dans les eaux salines ou douces, les sols et même dans l'air, ce qui les rend étendus et présents sur tous les substrats naturels (Grini *et al.*, 2022).

7.1. Dans le sol

Les actinobactéries constituent une composante importante de la population microbienne dans la plupart des sols et des comptages de plus d'un million par gramme sont couramment obtenus (Goodfellow et Williams, 1983). À la surface du sol, ils se trouvent jusqu'à plus de 2 mètres de profondeur, le rapport microorganismes totaux / Actinobactéries diminue à mesure que la profondeur augmente, tandis que la couche superficielle renferme au moins 80 % de bactéries actinomycétales par rapport au nombre total de microorganismes. En revanche, la couche située à une profondeur de 80 centimètres ne renferme que 40 % ou beaucoup moins, jusqu'à seulement 16 %.

En règle générale, les actinobactéries sont plus nombreux que les champignons, mais sont moins fréquents que les autres bactéries (Boutoutta, 2019).

Tableau 02 : Fréquence de divers genres d'actinobactéries dans le sol (Adrar, 2009).

Genres	%
<i>Streptomyces</i>	95,34 %
<i>Nocardia</i>	1,98 %
<i>Micromonospora</i>	1,40 %
<i>Thermomonospora</i>	0,22 %
<i>Actinoplanes</i>	0,20 %
<i>Microbispora</i>	0,18 %
<i>Mycobacterium</i>	0,14 %

7.2. Dans les milieux aquatiques

Les actinobactéries ont également été découvertes dans divers milieux aquatiques. Elles ont été extraites des eaux de mer et des sédiments marins, des eaux douces et des marécages salés (Boukhalfa, 2018).

7.2.1. Dans les eaux douces

Les genres les plus fréquemment rencontrés dans les eaux douces sont *Micromonospora*, *Streptosporangium*, *Nocardia* et *Streptomyces*. Les actinobactéries suscitent l'intérêt des hydrobiologistes qui leur attribuent la responsabilité des goûts et des odeurs terreuses qui se manifestent parfois dans les eaux de consommation. Plusieurs composés volatils complexes ont été identifiés et étudiés, les plus fréquemment cités sont la géosmine, la mucidone et la 2-méthylisoborneol (Chouchi et Laouar, 2010).

7.2.2. Dans les milieux marins

Diverses espèces d'actinobactéries ont été observées dans l'environnement marin où elles évoluent lentement. La salinité marine est bien tolérée par ces organismes, mais ils ne semblent avoir un impact sur la décomposition des substances organiques qu'à des profondeurs faibles.

Dans cet habitat, les actinobactéries ne constituent généralement qu'une faible proportion de la microflore totale et sont moins nombreux que dans les sols et les eaux douces (Alliouch-Kerboua, 2016).

8. Les actinobactéries des milieux extrêmes

Un milieu extrême fait référence à tout milieu qui offre des conditions de vie néfastes ou mortelles pour les organismes supérieurs.

Quant à ses caractéristiques physicochimiques, notamment le pH, la température, la pression, les concentrations salines et le rayonnement. Les milieux extrêmes principaux sont les milieux acides (pH < 5), alcalins (pH > 9), hypersalines (salinité > 35 %), pressurisés (> 0,1 MPa), chauds (> 40 C), froids (<5 C), secs (aw < 0,80) et à rayonnement élevé. En général, ces environnements contiennent des organismes adaptés, appelés extrémophiles. Ils peuvent être classés en acidophiles, alcalophiles, thermophiles, psychrophiles, xérophiles et organismes radiorésistants (Thiel, 2011).

Le terme extrémophile a été utilisé en 1974 pour la première fois par MacElroy (Bousbia et Kider, 2012). La plupart des extrémophiles sont des organismes unicellulaires, c'est-à-dire des protistes, des archées et des bactéries par exemple les actinobactéries (Thiel, 2011).

8.1. Les actinobactéries halophiles et halotolérantes

Le mot «halophile» fait référence aux microorganismes qui nécessitent la présence de sel (NaCl) dans le milieu pour leur croissance. D'autre part, le mot «halotolérant» indique que les microorganismes peuvent tolérer diverses concentrations de sel pendant leur croissance (Saker, 2015).

En 1975, Gochnauer a été isolée la première souche d'actinobactérie halophile extrême à partir d'une contamination d'une culture d'halobactérie cultivée dans un milieu à 25 % de chlorure de sodium et fut nommée *Actinopolyspora halophila*. A partir de cette date, les actinobactéries halophiles et halotolérants présentent une grande diversité phylogénétique. Ils font partie des trois domaines du vivant : Archaea, Bacteria, Eucarya (Saker, 2015).

Les actinobactéries halophiles et halotolérantes sont présentes dans différents environnements : déserts, marais salants, mines salées, mangliers, aliments, étangs, lacs hypersalés, etc (Boudjelal-Bencheikh, 2012). Ils sont classés selon le tableau 03.

Tableau 03 : Salinité et microorganismes appropriés (Nas, 2012).

Types de microorganismes	Description des microorganismes
• Halotolérants	Croissance sans sel avec tolérance à des concentrations élevées.
Légèrement halotolérants Halotolérants modérés Halotolérants extrêmes	<ul style="list-style-type: none"> • Tolérance de 6 à 8% (p/v) de NaCl. • Tolérance de 18 à 20% (p/v). • Tolérance de 20% jusqu'à saturation.
• Halophiles	Nécessitent le sel pour la croissance.
Légèrement halophiles Halophiles modérés Halophiles extrêmes	<ul style="list-style-type: none"> • 2- 5% NaCl (0.2 - 0.85M). • 5 - 20% NaCl (0.85- 3.4M). 3 - 15% NaCl (0.5 - 2.5M). • 20 - 30% NaCl (3.4 – 5.1M). 15 et 30 % (2.5 - 5.1 M). ≥ 10% (1.7 M).
• Les non halophiles	Nécessitent moins de 2% de NaCl (p /v).

8.1.1. Mécanisme de l'halotolérance

Les bactéries halophiles ont développé diverses stratégies pour maintenir leur structure et leurs fonctions cellulaires afin de s'adapter aux conditions salines. Il s'agit notamment de l'accumulation de glycine-bétaine et d'osmolytes tels que l'ectoïne et l'hydroxyectoïne. Dans cette situation, le chlorure de sodium est éliminé du milieu extracellulaire et, simultanément, la synthèse de substances osmorégulatrices a lieu. Ces derniers sont accumulés dans le cytoplasme à des concentrations supérieures à 1 mole/kg d'eau. La machinerie enzymatique est ainsi préservée car elles n'interagissent pas avec les métabolites cellulaires mais s'occupent exclusivement d'une fonction osmotique, permettant une rapide adaptation aux différentes concentrations de chlorure de sodium (**Boudjelal-Bencheikh, 2012**).

8.2. Les actinobactéries thermophiles

Les actinobactéries thermophiles peuvent être trouvées dans de nombreux habitats, tels que les sols, les résidus de plantes auto-chauffantes, le fumier et les composts. Ils sont également présents dans des environnements extrêmement spécialisés, tels que les nids d'oiseaux, les cheminées volcaniques et les sources chaudes.

D'autres groupes d'actinobactéries peuvent être trouvés à des températures modérées ou extrêmes froides (Tab. 04) (Shukla *et al.*, 2013).

Tableau 04 : Température et microorganismes appropriés (Nas, 2012).

Types de microorganismes	Description des microorganismes
Thermophiles	<ul style="list-style-type: none"> • Optimum aux alentours de 60°C.
Hyperthermophiles	<ul style="list-style-type: none"> • Optimum entre 80 et 110°C.
Psychrophiles	<ul style="list-style-type: none"> • Optimum $\leq 15^{\circ}\text{C}$ et un max à 20°C, pas de croissance $\geq 20^{\circ}\text{C}$.
Psychrotrophes	<ul style="list-style-type: none"> • Croissance à $\leq 15^{\circ}\text{C}$ optimum à $\geq 18^{\circ}\text{C}$.

Les actinobactéries thermotolérants/thermophiles ont développé une variété de stratégies d'homéostasie, notamment un niveau GC comparativement plus élevé dans leurs génomes, la substitution d'acides aminés dans les protéines et la présence de composants spécifiques dans les parois cellulaires. La plupart des thermophiles intègrent plus d'acides aminés chargés (Asp, Glu, Arg et Lys) dans leur protéine que les acides aminés polaires (Asn, Gln, Ser et Thr) (Tulasi et Shivlata, 2015).

Le phylum *Actinobacteria* contient une variété d'espèces thermophiles et thermotolérantes. Parmi eux, seules les espèces thermophiles, y compris les espèces mésophiles et thermophiles, sont incluses dans les genres tels que *Thermopolyspora*, *Thermomonospora*, *Thermotunica*, *Thermocatellispora*, *Thermobispora*, *Acidothermus*, *Acidimicrobium* et *Thermoleophilum*. Ces genres font partie des quatre classes d'actinobactéries : *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Rubrobacteria* et *Thermoleophilia* (Tulasi et Shivlata, 2015).

8.3. Les actinobactéries alcalophiles et acidophiles

8.3.1. Les actinobactéries alcalophiles

De nombreux actinobactéries alcalophiles et alcalotolérants vivent depuis longtemps dans divers habitats, y compris des milieux neutres et alcalins. Ces actinobactéries peuvent se développer dans des sols alcalins, des lacs alcalins salés, des lacs alcalins et des lacs de soude. Ce groupe d'actinobactéries peut être divisé en trois grandes catégories : les actinobactéries alcalophiles, modérément alcalophiles et alcalotolérants, qui se développent optimalement à pH

10–11 et pH 7–10, mais montrent une croissance faible à pH 7,0 et pH 6-11, respectivement (Meklat *et al.*, 2020).

Plusieurs actinobactéries alcalophiles ont été répertoriées. Elles appartiennent aux genres *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardioides*, *Microcella*, *Cellulomonas*, *Nesterenkonia*, *Streptosporangium*, *Corynebacterium*, *Georgenia*, *Nocardiosis*, *Isophtericola*, *Nesterenkonia*, *Saccharomonospora*, *Saccharothrix* et *Arthrobacter* (Tulasi et Shivilata, 2015).

8.3.2. Les actinobactéries acidophiles

Les bactéries acidophiles se développent dans une plage de pH de 3,5 à 6,5, avec une croissance optimale entre pH 4,5 et 5,5. Les actinobactéries acidophiles font partie de deux groupes, Principalement, un groupe modérément acidophile qui se développe de 4,5 à 7,5 avec un pH optimal d'environ 6,0 et un groupe d'actinobactéries obligatoirement acidophiles qui se développe de 3,5 à 6,5 avec un pH optimal d'environ 4,5. Le genre *Streptomyces* comprend les actinobactéries acidophiles/acidotolérantes les plus courantes. Les membres du genre *Streptacidiphilus* sont strictement acidophiles, contrairement aux *Streptomyces*.

Les bactéries acidophiles et/ou acidotolérantes utilisent divers mécanismes pour résister ou tolérer les environnements acides. Ils utilisent généralement des mécanismes de résistance aux acides tels que l'utilisation de systèmes anti-port H⁺ par exemple : l'activité H⁺-ATPase, l'efflux de produits finaux acides, la réduction de la perméabilité aux protons pour maintenir une faible concentration de protons intracellulaire et la synthèse de produits alcalins pour neutraliser l'acide produit lors du métabolisme extracellulaire. Pour protéger les cellules contre le choc acide extracellulaire, des bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Streptococcus mutans* forment des biofilms denses (Tamreihao *et al.*, 2018).

Tableau 05 : pH et microorganismes appropriés (Nas, 2012).

Types de microorganismes	Description des microorganismes
Les acidophiles	• Optimum à pH égale 2.
Les alcalophiles	• Croissance à pH 9, avec un optimum entre 10 et 12.

Chapitre 2

Intérêt biotechnologique des actinobactéries

1. Métabolisme des actinobactéries

Le rôle des actinobactéries dans la production de métabolites primaires et secondaires est reconnu dans différents domaines. Les métabolites secondaires bioactifs sont estimés à 23 000, dont 10 000 sont produits par des microorganismes.

Les actinobactéries produisent des métabolites microbiens, qui représentent 45% de tous les bioactifs découverts, comme : L'espèce *Streptomyces* produit environ 7 600 composés et est considérée comme le principal producteur d'antibiotiques par l'industrie pharmaceutique (Sharma *et al.*, 2014). Elles peuvent passer d'un métabolisme primaire (trophophase) à un métabolisme secondaire (idiophase) au cours de leur développement (Boukhalfa, 2018).

1.1. Métabolisme primaire

Les actinobactéries ont un métabolisme primaire similaire à celui des autres organismes. Les métabolites primaires ou généraux essentiels constituent la structure cellulaire et assurent le bon déroulement du métabolisme global (Ibrahimi, 2020). Ils sont produits pendant les réactions cataboliques et anaboliques. Ces chemins permettent aux cellules de recevoir des métabolites intermédiaires et de fournir l'énergie nécessaire à la production de macromolécules essentielles comme les lipides et les protéines, les acides nucléique ou les polysaccharides (Grini *et al.*, 2022).

1.2. Métabolisme secondaire

Le métabolisme secondaire se distingue du métabolisme primaire par le fait qu'il concerne des métabolites qui ne participent pas directement à la croissance et à la vie de l'organisme (Ibrahimi, 2020). Il s'agit de composés qui sont généralement fabriqués plus tard dans le cycle de vie, pendant que les micro-organismes vieillissent par exemple les antibiotiques (Boukhalfa, 2018). Ils sont fabriqués en utilisant des molécules précurseurs et des éléments constitutifs fournis par les métabolites primaires (Grini *et al.*, 2022).

2. Facteurs qui influencent le métabolisme secondaire des actinobactéries

2.1. La nature de l'inoculum

La nature de l'inoculum peut influencer la croissance et/ou la production des métabolites secondaires en fonction des souches utilisées (Chouchi et Laouar, 2010).

2.2. Influence des sources nutritionnelles

2.2.1. Source de carbone

Les milieux de production sont généralement constitués d'une source de carbone qui peut être rapidement métabolisée, Comme le glucose. Ce carbone peut, dans certaines circonstances, entraîner une répression catabolique qui a un impact sur la croissance et la production des métabolites secondaires. L'expression des gènes de biosynthèse des enzymes impliquées ou des activités enzymatiques impliquées dans la synthèse des métabolites est régulée par cette répression (**Chouchi et Laouar, 2010**).

2.2.2. Source d'azote

Les ions d'ammonium, les acides aminés et, dans une moindre mesure, les nitrates sont les principales sources d'azote dans les milieux de culture utilisés pour la production d'antibiotiques (**Chouchi et Laouar, 2010**).

2.2.3. Source de phosphate

La présence de phosphate dans le milieu de culture semble encourager de manière générale le métabolisme primaire, l'ajout de phosphate dans une culture en cours de production d'antibiotique entraîne une pause dans la biosynthèse de l'antibiotique et une reprise de la croissance. Beaucoup d'antibiotiques fabriqués par les actinobactéries nécessitent des niveaux de phosphate faibles pour favoriser la croissance (**Chouchi et Laouar, 2010**).

2.2.4. La teneur en oxygène

Le niveau d'oxygène dissous dans l'environnement peut jouer un rôle crucial. La limitation de l'oxygène dissous va agir de manière similaire aux limitations de substrat et peut stimuler ou inhiber la production de métabolites secondaires (**Chouchi et Laouar, 2010**).

2.2.5. Le pH

Le pH a un impact sur la synthèse de divers métabolites organiques du métabolisme Secondaire des actinobactéries. Cette observation a été constaté lors de la fabrication de divers métabolites secondaires, tels que la production d'un antifongique par la souche *Streptomyces rocher AK39*. La variation du pH pendant la fermentation peut stimuler ou inhiber la production de cet antifongique, cela peut entraîner des modifications de l'équilibre entre la production de chlortétracycline (CTC) et de tétracycline (TC) dans le milieu de culture. Un pH acide favorise la production de CTC tandis qu'un pH basique favorise la production de TC (**Derouiche et al., 2011**).

3. Substances bioactives produites par les actinobactéries

3.1. Les antibiotiques

Les actinobactéries sont considérées comme la source principale d'antibiotiques. Les actinobactéries sont à l'origine des deux tiers des antibiotiques actuels, ils génèrent différents antibiotiques tels que les aminosides, les anthracyclines, les glycopeptides, les β -lactams, les macrolides, nucléosides, les peptides, les polyéthers et les tétracyclines qui possèdent différentes activités (Chavan *et al.*, 2013).

La recherche de nouveaux antibiotiques a été lancée récemment dans des actinobactéries rares tels qu'*Actinomadura*, *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Actinosynnema* et *Dactylosporangium*.

Les antibiotiques peuvent être attribués à différents critères tels que:

- L'origine ;
- La composition chimique ;
- Le mécanisme d'action ;
- Le spectre d'action (Bouaziz, 2018).

Tableau 06 : Exemples d'antibiotiques produits par des actinobactéries (Arar, 2019).

Principales Classes d'antibiotiques	Exemples d'antibiotiques	Actinobactéries productrices	Mode d'action
Aminocyclitols	Streptomycine	<i>Streptomyces griseus</i>	Inhibent la synthèse protéique au niveau de la sous unités 30S du ribosome.
Tétracycline	Chlortétracycline	<i>Streptomyces aureofaiens</i>	Inhibent la synthèse protéique au niveau de la sous unités 30S du ribosome.

B-lactamines	Céphamycine	<i>Streptomyces</i>	inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, ce qui entraîne une lyse bactérienne.
Macrolides	Tylosine	<i>Streptomyces fradiae</i>	Inhibent la synthèse protéique au niveau de la sous unités 50S du ribosome.
Rifamycines	Rifampicines	<i>Nocardia mediteranei</i>	Inhibent la synthèse des acides nucléiques (forment un complexe avec l'ARN polymérase).

3.2. Les enzymes

Les actinobactéries sont l'un des groupes de micro-organismes les plus variés, bien définis et renommés pour leur capacité à métaboliser de manière polyvalente. L'importance des actinobactéries réside dans leur capacité à produire et à sécréter diverses enzymes hydrolytiques extracellulaires qui ne présentent aucun risque pour l'environnement, comme les protéases, les chitinases, les amylases, les cellulases, les xylanases et les lipases (**Itim et Khellaf, 2021**).

Tableau 07 : Exemples d'enzymes produits par des actinobactéries (Derouiche *et al.*, 2011).

L'enzyme	Exemples d'Actinobactéries productrices	Applications
Péctinase	<i>Micromonospora sp</i>	Dans le traitement des eaux usées.
Cellulase	<i>Streptomyces spp</i>	la production durable de biocarburants.
Amylase	<i>Saccharomonospora viridis</i>	utilisées dans l'industrie de la boulangerie.
Xylanases	<i>Streptomyces spp</i>	l'hydrolyse des résidus agricoles comme les déchets, les tourteaux.
Lipases	<i>Micromonospora chalcea</i>	utilisées dans la bioremédiation et dans la synthèse d'arômes.
Protéases	<i>Actinomadura</i>	le traitement des déchets agro-industriels comme les cheveux.

3.3. Les antifongiques

Le terme antifongique fait référence à un composé qui a la capacité de tuer ou d'inhiber la croissance d'un champignon (Itim et Khellaf, 2021).

La griséofulvine est une substance antifongique, synthétisée par *Penicillium griseofulvum*, découverte pour la première fois en 1939. Le cycloheximide est produit par *Streptomyces griseus* et a une activité antifongique contre *Cryptococcus neoformans*. Il ne s'en tient cependant pas seulement à l'action antifongique, car il a aussi une action antibactérienne. En 1945, *Streptomyces noursei* réalise la biosynthèse de la nystatine, en 1957, les fluoropyrimidines sont fabriquées et en 1959, Dutcher et ses collègues ont fait la découverte d'un antifongique fabriqué par *Streptomyces nodosus*, l'amphotéricine B.

Malgré la présence d'un grand nombre de molécules antifongiques, seules quatre catégories d'antifongiques qui ciblent trois voies métaboliques différentes sont employées dans le traitement des maladies humaines, à savoir les azolés, Les composés fluoropyrimidines, Les polyènes et les échinocandines (Alliouch-Kerboua, 2016).

Les antifongiques sont répartis selon leur structure moléculaire et leur mécanisme d'action selon les tableaux suivants (Tab. 08,09) :

Tableau 08 : Classification des antifongiques selon la structure moléculaires (Bouaziz, 2018).

Les antifongiques d'origine naturels		Les antifongiques de synthèse
De structure polyéniques	De structure non polyéniques	<p>Les composés initialement employés pour leur efficacité antifongique étaient soit minéraux (tels que les sels de métaux lourds ou les métalloïdes), soit organiques (tels que les acides gras, composés phénoliques, dérivés benzoïques, colorants, et les ammoniums quaternaires, les dérivés triazoliques et les dérivés de la quinoléine.</p> <p>Aujourd'hui, certaines de ces molécules sont employées dans le domaine de la thérapeutique humaine ou vétérinaire, mais aussi dans l'agriculture, comme les analogues des nucléosides (ex., la flucytosine) et les allylamines (ex., la terbinafine).</p>
<p>ils sont principalement actifs contre les champignons, les polyènes, présentent une absorption spécifique en lumière ultraviolette et visible, allant de 260 à 405 nm, avec généralement trois maxima comme exemple la nystatine et l'amphotéricine B.</p>	<p>ils peuvent souvent être antibactériens. Ils ont des structures chimiques extrêmement diverses Prenons l'exemple des aminoglycosides (kasugamycine), des aromatiques (griséofulvine).</p>	

Tableau 09 : Classification des antifongiques selon le mode d'action (Hamimed et Bouabida, 2020).

La structure	Exemple d'antifongique	Mode action
Polyènes	Nystatine	Exerce leur action sur la membrane fongique, il Stimule la perméabilité membranaire grâce à la formation de Complexes avec l'ergostérol.
Azols	Voriconazole	Exerce leur action sur la membrane fongique, il réprime la production de l'ergostérol.
Fluoropyrimidines	Flucytosine	Exerce leur action sur les acides nucléiques, Il entraine une perturbation de la synthèse protéique.
les échinocandines	Caspofungine	Exerce leur action sur la paroi fongique, il inhibe la synthèse du glucanes.

3.4. Les vitamines

Les actinobactéries offrent des méthodes efficaces pour synthétiser diverses vitamines. La production microbienne de la vitamine B12 (cobalamine), de la riboflavine, de l'acide ascorbique et du β -carotène est considérée comme plus lucrative (Grini *et al.*, 2022). Ainsi, la présence de sels de cobalt dans les médias semble être un élément clé pour toutes les actinobactéries dans la production de vitamine, Puisqu'il s'agit d'un agent bactéricide assez efficace, il faut ajouter ce précurseur avec précaution (Itim et Khellaf, 2021). La vitamine B12 est produite en industrie par la fermentation de différentes bactéries, dont *Propionibacterium freudenreichii* et *Rhodopseudomonas protamicus* qui peuvent produire chacun environ 206 mg/L. *Streptomyces olivaceus* et *Propionibacterium shermanii* produisent également 135 mg/L, ainsi que dans une moindre mesure *Micromonospora sp*, *Nocardia gardneri* et *Nocardia sp* (Grini *et al.*, 2022). D'autres vitamines hydrosolubles ont été synthétisées par les actinobactéries, telles que la thiamine et le dérivé d'acide ptéroylglutamique qui stimule la

croissance de certaines souches de *Leuconostoc citrovorum* et de la coenzyme A (Itim et Khellaf, 2021).

3.5. Les pigments

Les actinobactéries génèrent des pigments naturellement et artificiellement, avec les couleurs les plus fréquentes étant le bleu, violet, rouge, rose, jaune, vert, marron et noir. Ils contribuent à l'identification des actinobactéries selon les espèces (Abbes et Bouteraa, 2017). L'actinobactérie *Streptomyces* hygrosopique produit des pigments qui possèdent des propriétés antibactériennes contre diverses souches MDR, telles que le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), le *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine (VRSA) et les β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Une autre famille de *Streptomyces spp* génère une substance jaunâtre qui élimine les bactéries pathogènes (Alenazi et al., 2023).

3.6. Les biosurfactants

Un biosurfactant est un tensioactif chimique principalement produit par des micro-organismes, qui a un impact sur les surfaces. En raison de leur sélectivité ; la capacité à se dégrader biologiquement, avec une toxicité faible, les biosurfactants présentent différents bénéfices. En outre, ces biosurfactants peuvent agir à des températures élevées, ainsi qu'à des conditions de pH et de salinité. L'actinobactérie joue un rôle crucial dans la production d'émulsifiants. De nombreux biosurfactants ont également été produits par *Streptomyces griseoflavus* et *Nocardiosis A17* (Alenazi et al., 2023), ils sont classés en composés à faible poids moléculaire (glycolipides, lipopeptides) et en composés à haut poids moléculaire (polysaccharides, protéines, lipopolysaccharides, lipoprotéines), ils servent de substitut aux produits chimiques tensioactifs et sont extrêmement bénéfiques dans les secteurs de l'agriculture, de l'alimentation, de l'industrie des soins de santé et des cosmétiques (Boudjelal-Bencheikh, 2012).

3.7. Les actinobactéries dans la bioremédiation

Les actinobactéries présentent de nombreuses caractéristiques qui en font des candidats idéaux pour être utilisées dans la bioremédiation des sols contaminés par des substances biologiques polluantes. Dans certaines zones infectées, les actinobactéries constituent le principal groupe d'agents dégradants, exemple : les *streptomyces* jouent un rôle essentiel dans le recyclage du carbone organique et ont la capacité de décomposer des polymères complexes (Grini et al., 2022).

Les différentes espèces d'actinobactéries ont la capacité de se développer et de survivre dans des milieux riches en pétrole, ce qui pourrait être utilisé dans la bioremédiation afin de diminuer les contaminants pétroliers (Abbes et Bouteraa, 2017).

3.8. La biodégradation des pesticides par les actinobactéries

Les pestes sont un terme général utilisé pour désigner les organismes qui causent des dommages direct ou indirect à l'homme, aux insectes, aux champignons, aux nématodes etc (Achab *et al.*, 2022). Un pesticide est un produit, ou un mélange de produits, employé pour empêcher l'action, la destruction ou la neutralisation d'un ravageur, d'un vecteur de maladie humaine ou animale, d'une espèce végétale ou animale dangereuse. Ils garantissent une stabilité accrue du rendement et la diminution de la perte des récoltes par les maladies fongiques, les insectes et les rongeurs pendant leur entreposage aussi la préservation des infrastructures agricoles et des équipements d'élevage (Hocinat, 2018).

Les actinobactéries font partie des groupes les plus importants qui dégradent les substrats les plus complexes et les plus divers parmi les pesticides grâce à leurs systèmes enzymatiques riches. Ces bactéries ubiquistes dégradent entièrement ou partiellement les pesticides de diverses structures chimiques, tels que les organochlorines, les s-triazines, les triazinones, les carbamates, les organophosphates, les organophosphonates, les acétanilides et les sulfonyleureas (Hocinat, 2018).

3.8.1. Les mécanismes microbiens de la dégradation

3.8.1.1. Le métabolisme direct

D'un point de vue biochimique, les micro-organismes nécessitent des nutriments (C, N, P, S, élément en traces), de l'eau et de l'énergie pour leur croissance et leur activité. En l'absence d'adsorption d'énergie lumineuse, la production d'énergie est produite par des échanges d'électrons entre des donneurs d'électrons (composés organiques et inorganiques oxydables) et des accepteurs d'électrons (oxygène moléculaire, nitrates, sulfates, composés ferriques et composés organiques) (Bensalhia *et al.*, 2008).

De nombreux pesticides ont la capacité de fournir des éléments et de l'énergie aux micro-organismes en réalisant différentes réactions chimiques cataboliques et catalytiques par des enzymes. Les bactéries, qui représentent la majorité des micro-organismes, ont la capacité de réaliser toutes les réactions chimiques, depuis la molécule initiale jusqu'aux molécules

inorganiques finales. Certains, cependant, ne sont capables de réaliser qu'une partie des modifications, ce qui demande la combinaison de plusieurs espèces pour obtenir la minéralisation, chacune offrant des transformations chimiques successives comme sources d'élément et d'énergie, est connue sous le nom de "consortium" de micro-organismes. Le rôle positif d'un consortium dans la dégradation ne se limite pas à la présence de toutes les enzymes nécessaires à la dégradation, mais peut également découler d'échanges de nutriments et de l'élimination de substances inhibitrices des micro-organismes dégradants (**Bensalhia et al., 2008**).

Il existe de nombreux pesticides de différentes familles chimiques qui peuvent être minéralisés. Cependant, ils le font plus ou moins aisément en fonction de la nature de leurs groupes fonctionnels, mais également en fonction du matériel enzymatique des micro-organismes. Ces réactions entraînent la création de substances inorganiques (dioxyde de carbone, ammoniac, eau, anions sulfates et phosphates) et sont responsables de la destruction totale des pesticides, ce qui rend l'élimination des pesticides des milieux naturels très importante. L'expérimentation de la production de CO₂ est également utilisée pour étudier la minéralisation en utilisant des molécules marquées avec C14 (**Bensalhia et al., 2008**).

3.8.1.2. Le cométabolisme

Le cométabolisme consiste en une activité où des micro-organismes s'entretiennent et se multiplient en utilisant un substrat organique, tout en dégradant des pesticides sans qu'ils ne soient pour eux une source d'énergie et d'éléments nutritifs. Les réactions initiales sont catalysées par des enzymes peu spécifiques, ce qui a été décrit pour la première fois par Leadbetter et Foster en 1959 et a été appelé pour la première fois le cométabolisme par Jensen en 1963 (**Bensalhia et al., 2008**).

La dégradation très intense des pesticides n'est généralement pas causée par le cométabolisme, lorsque seulement une seule souche est concernée et génère des métabolites qui sont des molécules plus ou moins modifiées par rapport à la molécule initiale de pesticide. D'autre part, plusieurs souches peuvent interagir en séquences pour dégrader et produire des métabolites, voire même en utiliser certains comme substrats énergétiques et les minéraliser (**Bensalhia et al., 2008**).

3.8.1.3. La conjugaison et la condensation

La production d'enzymes par la microflore peut favoriser des réactions de conjugaison et de condensation des molécules de pesticides, que ce soit entre elles ou avec des métabolites ou autres composés organiques présents naturellement dans le sol (**Bensalhia et al., 2008**).

L'union de deux molécules se produit lors de la conjugaison. La microflore du sol produit deux réactions de conjugaison, à savoir la méthylation et l'acétylation. C'est ainsi que des cultures de *Trichoderma viride* ont observé la méthylation du pentachlorophénol et l'acylation de dérivés de l'aniline, métabolites courants de la dégradation de pesticides, par des cultures de *Talaromyces wortmanii* et de *Fusarium oxysporium* (**Bensalhia et al., 2008**).

La condensation entraîne la formation d'environ 2 à 5 molécules et de polycondensats de plus grande taille moléculaire lorsque plusieurs molécules sont réunies. À titre d'exemple, une enzyme telle que la laccase peut entraîné la création de produits de condensation à partir de 2,4-dichlorophénol (un métabolite du 2,4-D) et de polychlorophénols avec l'acide syringique ou ses dérivés. De plus, des réactions de condensation catalysées par des enzymes ont été observées entre des amines aromatiques, des métabolites des pesticides et différents acides phénoliques présents dans les substances humiques. Plus précisément, les micro-organismes sont responsables des réactions de polycondensation qui contribuent à l'incorporation des pesticides dans les substances humiques du sol et à la formation des résidus associés (**Bensalhia et al., 2008**).

Chapitre 3

Les bactéries sporulantes du genre *Bacillus*

1. Généralité

Bacillus est un nom masculin, issu du latin *Bacillus* [*bacille*, *Bacillus*], qui désigne un petit bâton (**Bechibchi et al., 2008**). C'est un genre de bactéries aérobies, endospore-formantes, Gram-positives. Il a été introduit en 1872 par Ferdinand Cohn, qui a modifié le nom de *Vibrio subtilis* d'Ehrenberg (1835) en *Bacillus subtilis*. La souche Cohn, *B. subtilis* Cohn 1872, 174, demeure l'espèce type du genre (**Harwood, 1989**).

Ce genre est l'un des groupes de micro-organismes les plus diversifiés et les plus utiles commercialement (**Harwood, 1989**). Il existe des espèces acidophiles, tandis que d'autres sont basophiles, mésophiles ou thermophiles (**Amour et Houfaf, 2019**). *Bacillus* se distingue des autres *Bacillaceae* (tous les endospore-formers) par sa nature aérienne, stricte ou facultative, par sa forme de bâtonnets et par sa propension à produire de la catalase (**Slepecky et Hemphill, 2006**).

2. Taxonomie

Au cours de l'année 2004, le groupe des bactéries endospore-formantes aérobies a accueilli plus de 25 genres et plus de 200 espèces, tandis que la dernière version du *Manuel de Bergey* a recensé 142 espèces de *Bacillus*, dont 95 étaient attestées. À l'heure actuelle, la liste des noms procaryotique enregistrés inclut 377 espèces, dont des synonymes pour le genre *Bacillus*, et huit sous-espèces avec des synonymes.

Traditionnellement, une méthode polyphasique est utilisée pour diagnostiquer des souches de *Bacillus* inconnues. Cette méthode comprend une évaluation basique, une analyse partielle de la séquence ADNr 16S, une analyse des acides gras cellulaires et une différenciation des tests phénotypiques pour chaque individu (**Borriss, 2020**).

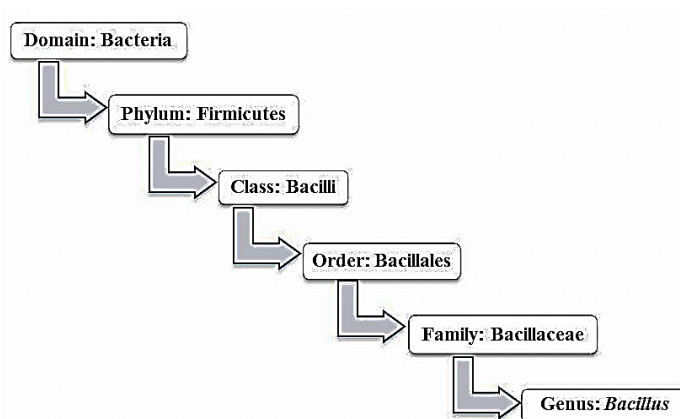


Figure 2 : Taxonomie du genre *Bacillus* (Garrity et al., 2009).

Le tableau 10, montre les espèces du genre *Bacillus* classées en trois groupes en fonction de la morphologie de la spore et du sporange.

Tableau 10 : Classification du genre *Bacillus* selon la morphologie de la spore et du sporange (Farah et al., 2020).

Groupes		Caractère	Forme de spore	Exemples d'espèces
Groupe I	Groupe IA	<ul style="list-style-type: none"> • Diamètre supérieur à 1 µm. • Contenant des inclusions de poly-bêta-hydroxybutyrate 	Spore centrale, sphérique ou ovoïde, ne déformant pas la cellule.	<i>Bacillus anthracis</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus mycoides</i> <i>Bacillus pseudomycoides</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Bacillus weihenstephanensis</i>
	Groupe IB	<ul style="list-style-type: none"> • Diamètre inférieur à 1 µm. • Dépourvus d'inclusions de poly-bêta-hydroxybutyrate 		<i>Bacillus coagulans</i> <i>Bacillus firmus</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus pumilus</i>
Groupe II		<ul style="list-style-type: none"> • Gram variable 	Spore ovoïde, centrale ou terminale, déformante.	<i>Bacillus circulans</i> <i>Bacillus stearothermophilus</i>
Groupe III		<ul style="list-style-type: none"> • Gram variable 	Spore sphérique, déformante, terminale ou sub-terminale	<i>Bacillus globisporus</i> <i>Bacillus insolitus</i>

3. Habitat

Les *Bacillus* sont des micro-organismes ubiquitaires. Ceux-ci se rencontrent dans différents milieux tels que les plantes et les sols, les environnements extrêmes, les événements hydrothermaux, l'eau de mer, etc (Bouzeraib et Mekiou, 2022).

L'endospore joue un rôle crucial dans l'écologie de *Bacillus* pour diverses raisons. Tout d'abord, car le traitement thermique est la méthode d'isolation sélective la plus répandue. La majorité des recherches portent sur l'endospore, à l'exception des cellules végétatives. Ensuite, étant donné que la spore est une structure dormante avec une grande longévité, les études écologiques sont souvent basées sur des estimations de l'accumulation de spores dans un environnement (Priest, 1993).

4. Cycle de développement

Le processus de transformation d'une spore en cellule végétative se déroule en trois étapes : l'activation, la germination et l'excroissance.

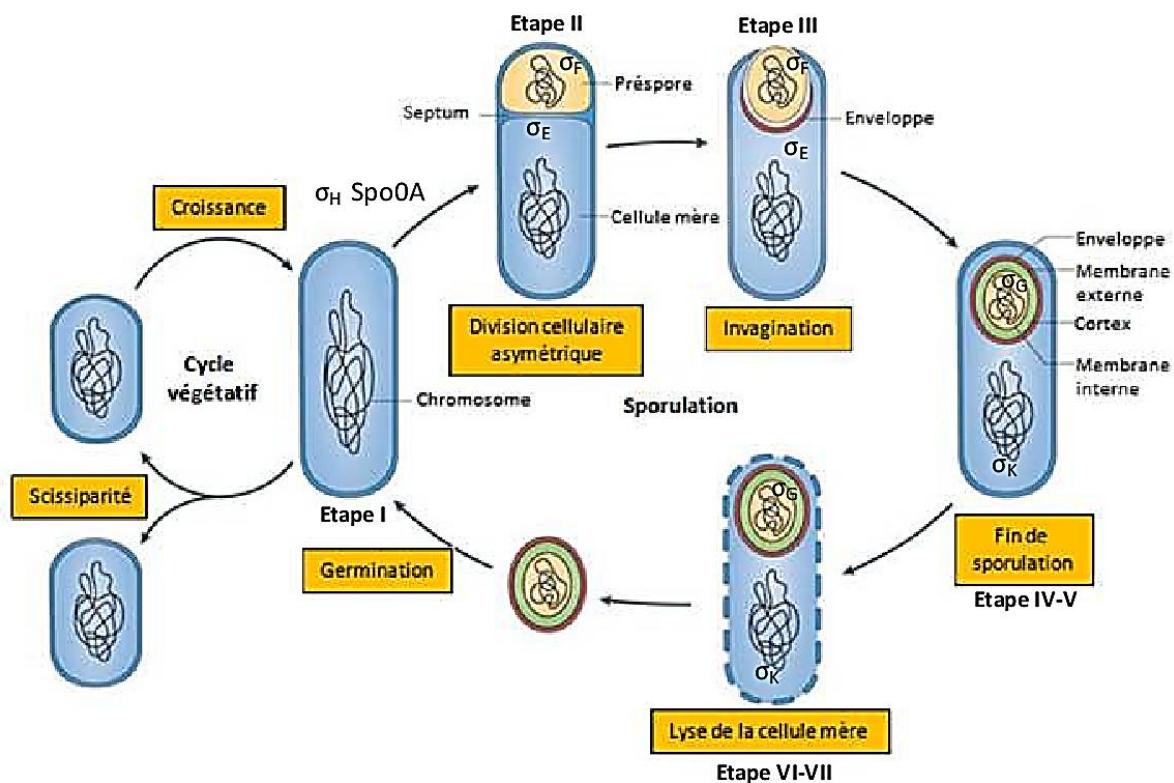


Figure 3 : cycle de développement de *Bacillus* (Loison, 2013).

5. Espèces du genre *Bacillus* les plus rencontrées dans la nature

5.1. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est une bactérie à gram +, aérobic stricte, mésophile (température optimale est de 40 °C), chimiohétérotrophe et mobile grâce à une ciliature péritriche (un système de flagelle qui recouvre tous les côtés de la surface d'une bactérie). Comme d'autres espèces, *Bacillus subtilis* a la capacité de se former une coque protectrice solide (endospore) qui lui

permet de supporter des conditions environnementales difficiles ou extrêmes (Température élevée, dessiccation, rayonnement UV et rayonnement γ).

Il est courant d'utiliser *Bacillus subtilis* comme outil génétique, tout comme *Escherichia coli* et les levures. Grâce à son étude approfondie en tant que modèle des bactéries Gram+, il a été possible de déterminer les mécanismes de métabolisme cellulaire et de régulation cellulaire. Son génome a été séquencé en entier pour la première fois en 1997 par Kunst, puis révisé en 2008 par Zeigler. Cela a donné lieu à l'introduction de nouvelles méthodes expérimentales appelées "globales", telles que la transcriptomique et l'analyse des 4 200 gènes présents dans son génome.

Bacillus subtilis est un modèle idéal pour l'analyse de bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis* (responsable de la maladie du charbon), *Bacillus cereus* (responsable d'infections alimentaires) ou encore *Listeria monocytogenes* (**Tout sur la botanique, 2024**).

5.2. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus sensu lato (groupe *B. cereus*) est un groupe de six espèces bactériennes, dont les trois plus connues pour leur pathogénicité sont *Bacillus cereus sensu stricto* (*B. cereus*), *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus anthracis*. Il s'agit de bactéries Gram positif, aéro-anaérobie facultatif et sporulantes. Les toxines spécifiques de ces bactéries, qui ont de très fortes similitudes entre elles, leur permettent de coloniser des hôtes aussi variés que les insectes et les mammifères.

Bacillus cereus est une bactérie saprophyte qui se rencontre dans divers environnements, notamment à toutes les étapes de la chaîne alimentaire, et qui est responsable de toxi-infections alimentaire collectives (TIAC), elle est mobile grâce à une ciliature péritriche et mésophile. Cependant, il existe des souches thermophiles ou psychrophiles qui peuvent pousser respectivement à des températures supérieures à 50 °C ou inférieures à 10 °C (**Ramarao, 2012**).

5.3. *Bacillus licheniformis*

Bacillus licheniformis est l'une des plus anciennes bactéries dénitrifiantes, car elle a été décrite en 1910 par Beijerinck et von Minkman. Cette espèce se présente sous la forme de bâtonnets, à Gram-positif, mobiles, avec des spores ovales non déformantes, ce qui la place dans le premier groupe morphologique du genre *Bacillus* (**Pichinoty et al., 1978**). Il s'agit d'une

espèce saprophyte très répandue dans l'environnement et très proche de *Bacillus subtilis* qui est le deuxième organisme étudié en détail après *Escherichia coli* (Rey et al., 2004).

Contrairement à la plupart des autres bacilles, principalement aérobies, *B. licheniformis* est une anaérobie facultative, ce qui lui permet de se développer dans des niches écologiques supplémentaires (Murase et al., 2021).

Bacillus licheniformis présente un grand intérêt biotechnologique avec de nombreuses applications actuelles et potentielles, telles que la fabrication de composés bioactifs qui sont utilisés dans divers domaines, tels que l'aquaculture, l'agriculture, les industries alimentaires, biomédicales et pharmaceutiques. Certains isolats de *B. licheniformis* peuvent dénitrifier, mais cette caractéristique peut être peu utile pour la dénitrification environnementale, car l'espèce reste généralement dans le sol sous forme d'endospores (Rey et al., 2004).

6. Intérêt biotechnologique du genre *Bacillus*

Bacillus est un genre bactérien qui revêt une grande importance en biotechnologie. Il est bien connu que les bactéries du genre *Bacillus* sont capables de générer des molécules qui ont différentes utilisations industrielles, comme la fabrication d'enzymes. Ce type de bactéries génère des enzymes connues sous le nom de protéases intra et extracellulaires, qui sont l'une des familles d'enzymes les plus étudiées et les plus couramment utilisées dans les processus industriels.

Elles sont largement utilisées dans la fabrication industrielle de divers produits, tels que les détergents, les aliments, les médicaments, le cuir, les diagnostics, la gestion des déchets et la récupération de l'argent. Par exemple, la bactérie *Bacillus safensis* est capable de synthétiser différentes enzymes telles que l'amylase, la cellulase, la protéase, la lipase, la xylanase et la chitinase.

Bacillus participe également à la synthèse de métabolites primaires (vitamines, ribonucléosides) et de métabolites secondaires (bactériocines, biosurfactants). Par exemple, les biosurfactants fabriqués par *Bacillus spp* qui sont employés dans les secteurs pétrolier, pharmaceutique et alimentaire, tels que ; Les glycolipides, les lipopeptides, les lipopolysaccharides et les glycoprotéines.

La production de surfactine par *B. pumilus* a également été rapportée, ce qui suggère que cette bactérie possède également des propriétés dans les domaines thérapeutiques. Elle peut donc être utilisée comme une bactérie qui favorise la croissance des plantes. Les *Bacillus* ont

également démontré des performances fermentaires et probiotiques satisfaisantes, ce qui peut être bénéfique pour créer un ferment pour la bioconversion des feuilles de manioc (**Bouzerai et Mekiou, 2022**).

Matériel et Méthodes

1. Matériel

Le matériel utilisé dans ce travail est résumé en Annexe I et II.

2. Méthodes

2.1. Prélèvement des échantillons

2.1.1. Le sol

Pendant le mois de février, les prélèvements de sol de sebkha ont été effectués à partir de quatre sites distincts de la Sebkha de Ain M'lila, située dans le nord-est de l'Algérie dans des conditions d'asepsie strictes. Les échantillons de sol sont prélevés en utilisant la méthode de Pochon et Tardieux (1962). Les échantillons sont placés dans un flacon stérile, puis au laboratoire à une température de 4°C avant d'être analysées (**Rafai, 2019**).

2.1.2. Le lixiviat

Les échantillons de lixiviat ont été collectés en février 2024. Ils sont récupérés dans des tubes stériles de 50 ml. Par la suite, les échantillons prélevés sont transportés au laboratoire dans une glacière à une température basse (**Doukali et Kaid Kasbah, 2023**).

2.2. Isolement des colonies de *Bacillus* et d'actinobactérie

2.2.1. Préparation des dilutions décimales

2.2.1.1. Pour le sol

L'isolement est effectué en utilisant la méthode de suspension-dilution. En premier lieu, il est nécessaire de préparer la solution mère du sol en ajoutant 1g de sol (non traité) dans 9 ml d'eau physiologique stérile, ce qui constitue la dilution 10^{-1} . Après avoir homogénéisé au vortex, des dilutions décimales sont effectuées dans l'eau physiologique stérile jusqu'à 10^{-10} (**Hamimed et Bouabida, 2020**).

2.2.1.2. Pour le lixiviat

Pour préparer la solution mère du lixiviat on ajoute 1 ml de lixiviat dans 9 ml d'eau physiologique stérile, ce qui constitue la dilution 10^{-1} . Après avoir homogénéisé au vortex, des dilutions décimales sont effectuées dans l'eau physiologique stérile jusqu'à 10^{-10} .

2.2.2. Milieux d'isolement

Quatre milieux d'isolement sont utilisés dans cette étude à savoir :

- Milieu GLM (Glucose extrait de malt et de levure),

- Milieu Amidon caséine,
- ISP2 normal (International *Streptomyces* Project),
- GN (gélose nutritive). (**Annexe III**). Les trois premiers sont des milieux sélectifs pour les actinobactéries, le dernier est utilisé pour l'isolement des *Bacillus*.

2.2.3. Isolement des actinobactéries

Après autoclavage et refroidissement des milieux à une température d'environ 45°C, 1ml d'antifongique (fungizone) est ajouté aseptiquement, afin de limiter la croissance des champignons envahissants (**Itim et Khellaf, 2021**).

2.2.3.1. Ensemencement et incubation

Les solutions diluées ont été utilisés pour l'ensemencement des milieux d'isolement. La technique d'ensemencement en surface a été utilisée pour cette fin. Elle consiste à déposer 0,1 ml de chaque dilution à la surface du milieu de culture correspondant, puis de le disperser à l'aide d'une pipette Pasteur stérile préparée sous forme de râteau. Les boîtes sont placées en incubation pendant une période de 7 à 30 jours à une température de 28 °C (**Itim et Khellaf, 2021**).

2.2.3.2. Dénombrement

Les colonies obtenues dans chaque boîte correspondant aux différentes dilutions, ont été dénombrées.

2.2.3.3. Purification et conservation des souches d'actinobactéries

Les colonies présentant les critères des actinobactéries sont reconnus, puis repiquées et purifiées sur le milieu de culture GN additionné du même antifongique (**Annexe III**). Cette dernière étape est répétée jusqu'à ce que les cultures soient pures. Les isolats qui poussent sont rapidement conservés à 4 °C sur une gélose inclinée en tubes à essai (**Itim et Khellaf, 2021**).

2.2.4. Isolement des *Bacillus*

Les dilutions ont été utilisées pour l'ensemencement du milieu GN par technique d'ensemencement en surface. Les boîtes sont placées en incubation pendant une période de 48 h à une température de 28 °C (**Itim et Khellaf, 2021**).

Les colonies présentant les caractères macroscopiques des *Bacillus* sont reconnues et repiquées sur le milieu de culture GN (**Annexe III**), jusqu'à purification. Les isolats sont

rapidement conservés à 4 °C sur une gélose inclinée en tubes à essai (Itim et Khellaf, 2021). Les colonies obtenues dans chaque boîte correspondant aux différentes dilutions, ont été ensuite dénombrées.

2.3. Caractérisation des actinobactéries et des *Bacillus*

2.3.1. Caractérisations macroscopiques

Les isolats de *Bacillus* et d'actinobactéries ont été caractérisés en premier lieu, morphologiquement à l'œil nu. Cette étude vise à observer directement l'aspect morphologique des colonies de *Bacillus* obtenues en prenant en compte les critères suivants : forme, taille, pigmentation, consistance des colonies et le contour de chaque colonie (Kaya-Ongoto, 2018). Pour les actinobactéries, Les examens concernent la croissance des isolats, l'aspect et la couleur des mycéliums aériens et de substrat, ainsi que la production et la couleur des pigments diffusibles dans les milieux (s'ils sont sécrétés) (Itim et Khellaf, 2021).

2.3.2. Caractérisations microscopiques (Coloration de Gram)

Dans une seconde étape, les isolats sont examinés au microscope optique par coloration de Gram qui est une méthode permettant de séparer les bactéries en deux groupes : les bactéries à coloration de Gram positive et les bactéries à coloration de Gram négative. Elle permet également de déterminer entre autres, les formes et la manière dont les cellules sont regroupées (Hamimed et Bouabida, 2020).

Les principales étapes de cette coloration sont :

- Des frottis sont réalisés à partir des colonies des actinobactéries et de *Bacillus* bien isolés à l'aide d'une anse de platine dans des conditions aseptiques.
- Préparer une émulsion des bactéries en utilisant une goutte d'eau distillée.
- Placer les frottis sur une flamme en utilisant un bec bunsen pour les fixer.
- Faire couler la solution de Violet de Gentiane sur la lame jusqu'à ce que tout le frottis soit recouvert ; laisser en contact 1 minute.
- Rincer à l'eau et finir de la chasser par la solution de Lugol ; laisser l'agir environ 1 minute.
- Jeter le Lugol et faire couler l'alcool goutte à goutte pendant 10 secondes sur la lame inclinée.

- Rincer immédiatement à l'eau (ne pas diriger le jet d'eau directement sur le frottis).
- Recouvrir la préparation de la Fuchsine (ou Safranine), laisser agir 1 minute.
- Rincer abondamment la lame à l'eau distillée, ou à l'eau du robinet jusqu'à élimination du colorant en excès.
- Sécher la lame au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen, ou la sécher délicatement entre deux feuilles de papier filtre fin (ou buvard), sans frotter.
- Examiner au microscope en utilisant l'objectif à immersion (x100).

Après avoir été décolorées par l'alcool, les bactéries «Gram positif» conservent leur couleur violette et les bactéries «Gram négatif» sont décolorées par l'alcool, elles sont teintées par la fuchsine et sont donc roses (Itim et Khellaf, 2021).

2.4. Mise en évidence de l'effet de certains antibiotiques et antiseptiques sur l'inhibition des germes contaminants

Dans le but d'éliminer les bactéries à croissance rapide, qui contaminent les cultures dans l'isolement des actinobactéries (à croissance lente), deux produits ont été testés. Il s'agit d'un antibiotique (Gentamycine) et un antiseptique (Azide de sodium) (Tab. 11). Ce test permet de proposer l'un ou les deux produits comme additifs dans les travaux d'isolement sélectif des actinobactéries.

Le milieu de culture utilisé dans cette étude, est le GLM qui est un milieu sélectif pour la croissance des actinobactéries. Des boîtes contenant ce milieu stérile ont été additionnées séparément par la gentamycine et par l'azide de sodium. Les isolats purifiés précédemment sont ensuite ensemencées par des stries serrées sur la surface du milieu. Par la suite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48 heures. Parallèlement, des milieux témoins sans antibiotique ont été préparés dans les mêmes conditions.

Après la fin de l'incubation, la croissance des bactéries a été évaluée. Lorsqu'il y a croissance, l'antibiotique ou l'antiseptique n'a pas d'action sur les bactéries, tandis que si la croissance n'existe pas, ces produits auront un effet bactéricide sur ces bactéries.

Tableau 11 : Caractéristiques des produits testés.

Le produit	La nature	La famille	Mode action	Références
Gentamycine	antibiotique	Des aminosides	Un effet bactéricide sur les bactéries du genre <i>Bacillus</i> en autres. Son action se caractérise par sa liaison aux sous-unités 30 S des ribosomes bactériens, ce qui provoque une « fausse lecture » de l'ARNm.	(Base de données publique des médicaments, 2024)
Azide de sodium	antiseptique	Des azotures	Un effet bactéricide qui inhibe la croissance des Gram négatif et plusieurs autres Gram positifs.	(Azoture de sodium, 2024)

2.5. Effet de la gentamycine et de l'azide de sodium sur la croissance des actinobactéries

Afin de déterminer l'effet négatif de ces deux produits (Gentamycine et l'azide de sodium) sur la croissance des actinobactéries, des cultures de certaines souches actinobactériennes ont été testées. Des boîtes contenant le milieu GLM ont été additionnées chacune, par la gentamycine et par l'azide de sodium. Ces deux produits ont été testés sur des actinobactéries référenciées qui ont été aimablement fournies par Le Dr. BOUFERCHA Oumeima et deux souches isolées à partir de nos échantillons. Ces souches sont ensuiteensemencées par des stries serrées sur la surface du milieu. Les boîtes ainsi préparées sont incubées à 28°C pendant 7 jours pour les actinobactéries. Des témoins sans produits inhibiteurs ont été préparés dans les mêmes conditions.

2.6. Test de tolérance des souches performantes à des concentrations différentes

Afin de trouver la plus petite concentration efficace des produits testés, plusieurs concentrations ont été testées sur les isolats bactériens inhibés. Ils ont été ensemencés dans le même milieu avec des concentrations de 0.134 mg/l, 0.268 mg/l, 0.40 mg/l, 1 mg/l, 3.12 mg/l, pour la gentamycine et 0.1 g/l, 0.05 g/l, 0.01 g/l, pour l'azide de sodium (**Benjama et al., 1996**). Les résultats sont observés après 10 jours d'incubation à une température de 28°C pour les actinobactéries et 48h d'incubation à une température de 37°C pour les *Bacillus*, Ils peuvent être évalués selon la croissance des bactéries, qui peut être soit positive (+) ou négative (-).

2.7. Mise en évidence de la capacité des actinobactéries et des *Bacillus* isolées à dégrader certains pesticides

Dans cette étude, nous avons voulu déterminer une aptitude métabolique très importante en biotechnologie environnementale, qui concerne la capacité des microorganismes à dégrader certains polluants xénobiotiques comme les pesticides, qui sont largement utilisés dans l'agriculture moderne.

2.8. Milieu de culture utilisé pour l'étude de la biodégradation

Le milieu minimum utilisé dans cette étude, est :

Le milieu de Vandermesse en 1996. Ce milieu est sélectionné de manière à être totalement dépourvu d'une source de carbone (**Ouis et Mezaili , 2019**).

2.8.1. Caractéristiques des pesticides testés

Nous avons choisi, deux fongicides, un herbicide et un insecticide. Leurs différentes caractéristiques sont indiquées dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Caractéristiques des pesticides testés.

Pesticides	Catégorie	Matière active	Mode d'action
Aliette Flash	Fongicide	Fosétyl- aluminium	Agit préventivement et curativement en inhibant la germination des spores bloquant le développement du mycélium.
Decis	Insecticide	Deltaméthrine	Caractérisé par une action très rapide et un effet répulsif sur les insectes nuisibles et doté d'une excellente persistance d'action.
Horizon	Fongicide	Tébuconazole	Il se caractérise par ses propriétés systémiques originales : pénétration rapide dans les feuilles puis migration lente et régulière à l'intérieur du végétal.
Fortin Green	Herbicide	Glyphosate (N- phosphono- méthylglycine)	Fortin Green avec un large spectre contre les mauvaises herbes à feuilles étroites (monocotylédones) et à feuilles larges (dicotylédones) annuelles ou vivaces.

2.8.2. Test de la biodégradation des pesticides

2.8.2.1. Stérilisation des pesticides

Les pesticides en solution et les solutions mères des pesticides sont stérilisés par filtration sur des membranes de type millipore (de porosité de 0,22 μm) (Ouis et Mezaili, 2019).

2.8.2.2. Culture des bactéries sur milieux minimums

Les solutions initiales des pesticides stériles ont été incorporées à différents concentrations (60 mg/l, 100 mg/l et 200 mg/l) (Ouis et Mezaili, 2019) dans le milieu minimum (Vandermesse 1996) en tant que source de carbone.

Des stries serrées sur la surface des milieux minimums sont utilisées pour ensemercer les bactéries. Ensuite, pendant une période de 15 jours, les boîtes sont incubées à une température de 28°C, en même temps, des milieux témoins dépourvus de pesticides ont été préparés dans les mêmes conditions.

Les résultats concernant la tolérance des bactéries observés à différentes concentrations des pesticides est appréciée après 10 jours d'incubation, Ils peuvent être évalués selon la croissance des bactéries, qui peut être positive (+) ou négative (-) (**Ayadi et Merabet, 2020**).

Résultats et discussion

1. Isolement des actinobactéries et des *Bacillus*

Les souches ont été isolées à partir de deux échantillons de sol provenant de la sebka d'Ain M'Lila et un échantillon de lixiviat de la région de Constantine. Des colonies typiques d'actinobactéries et de *Bacillus* ont été observées. Par la suite, elles ont été purifiées en les transférant sur milieu GN et incubées à une température de 28 °C pendant 15 jours pour les actinobactéries et à une température de 37°C pendant 48h pour les *Bacillus* (Tab. 13).

Tableau 13 : Isolement sur les deux milieux GLM et amidon caséine additionnées d'un antifongique.

Les échantillons	Milieux de culture	Dilutions	Nombres de colonies
Sel 1	GLM	10 ⁻⁴	130
		10 ⁻⁵	222
	Amidon caséine	10 ⁻⁴	170
Sel 2	GLM	10 ⁻²	110
	Amidon caséine	10 ⁻²	244
Sol 1	GLM	10 ⁻³	200
	Amidon caséine	10 ⁻²	300
Sol 2	GLM	10 ⁻²	222
	Amidon caséine	10 ⁻³	90
Lixiviat	GLM	10 ⁻²	120
	Amidon caséine	10 ⁻²	70

En raison du tapis bactérien présent dans la plupart des boîtesensemencées dans les milieux GLM et amidon caséine seule deux isolats d'actinobactéries ont été purifiés ainsi que deux isolats de *Bacillus*.

Il est possible que le faible nombre d'actinobactéries isolés soient dû aux facteurs environnementaux. Les résultats que nous avons obtenus sont en accord avec plusieurs études qui montrent que le nombre d'actinobactéries est en relation positive avec plusieurs facteurs. Selon l'étude de (**Rodriguez-Valera et al., 1985**), le niveau élevé de salinité entraîne un stress environnemental, qui est responsable du nombre limité d'espèces d'actinobactéries isolées. En outre, les conditions climatiques des sites de prélèvement jouent un rôle dans le développement des actinobactéries. L'humidité, est l'un des éléments les plus importants qui influencent la croissance et l'activité des actinobactéries (**El- Fiky et al., 2003**) (**Manucharova et al., 2008**).

D'après **Lee et Hwang (2008)**, la diversité des actinobactéries dans le sol est influencée par trois facteurs écologiques essentiels : le pH, la matière organique et l'humidité.

2. Caractérisation des souches d'actinobactéries et *Bacillus* isolées

2.1 Etude morphologiques

À la fin de la purification, les colonies de *Bacillus* (Fig. 4 ; Tab. 14) et d'actinobactéries (Fig. 5 ; Tab. 15), sont repérées à partir de leurs caractéristiques morphologiques à la fois à l'échelle macroscopique et microscopique.

2.1.1. Macromorphologie

Plusieurs caractéristiques macroscopiques sont utilisées pour identifier les souches, les plus étudiées sont :

Texture : lisse, rugueuse, poudreuse ou floconneuse.

Couleur : Variations de blanc, crème, jaune pâle, jaune, rouge, brun ou noir.

Forme : Circulaire, ovale, irrégulière ou en étoile.

Texture de surface : lisse, granuleuse, ridée, bosselée ou fibrillaire.

Opacité : Transparente, translucide ou opaque (**Hachana et Halilou, 2023**).

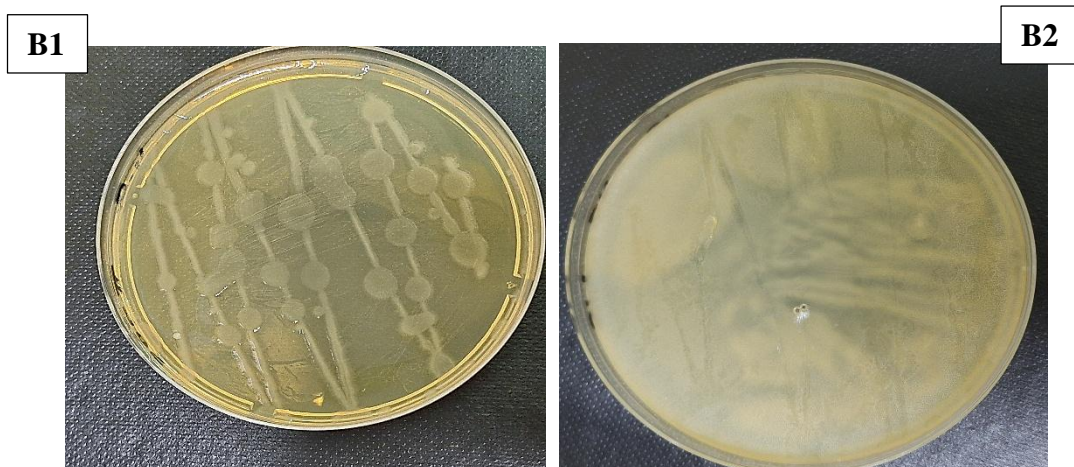


Figure 4 : Aspect macroscopique des souches de *Bacillus*.

Tableau 14 : Etude macromorphologique de *Bacillus*.

Souches	Taille	consistance	opacité	surface	couleur
B1	moyenne	crémeuses	translucide	lisse	beige
B2	Ne donne aucune taille	Sèche	opaque	lisse	beige

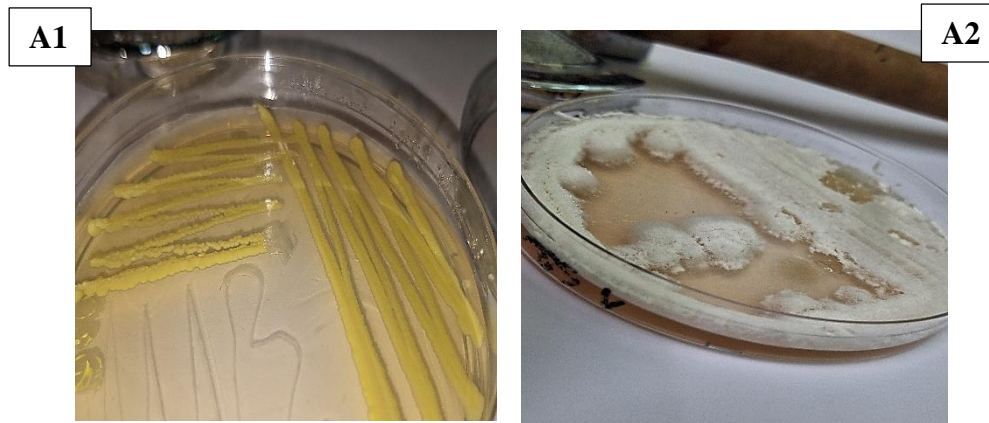


Figure 5 : Aspect macroscopique des isolats d'actinobactéries.

Tableau 15 : Etude macromorphologique des actinobactéries.

souches	taille	forme	Contour	surface	couleur	opacité	consistance
A1	Moyenne	circulaire	Régulier	lisse	jaune	opaque	crémeuses
A2	Moyenne	filamenteuse	filamenteux	rugueuse	blanche	opaque	Sèche

2.1.2. Micromorphologie

2.1.2.1. Pour *Bacillus*

La coloration de Gram nous a renseignés sur la structure des cellules bactériennes et de la composition de leurs parois. L'étude microscopique de quelques isolats de *Bacillus* après coloration de Gram (Fig. 6), montre que les souches de *Bacillus* étaient présentées sous la forme de bâtonnets droits à extrémités arrondies, de taille variable à Gram positif. Ces résultats correspondent à ceux de Abe *et al.*, (2018), qui décrivent les diverses caractéristiques microscopiques du genre *Bacillus*.

2.1.2.2. Pour les actinobactéries

L'analyse microscopique après coloration de Gram montre que toutes les souches d'actinobactéries présentaient une structure filamenteuse et parfois sphérique à coloration de Gram positive (Fig. 6).

D'après l'étude de Kitouni (2007), l'analyse microscopique des actinobactéries met en évidence une structure filamenteuse en présence de spores isolées ou regroupées en amas. Ces spores peuvent être enchaînées de manière courte ou longue. Le phylum des *Actinobacteria* est composé de bactéries Gram positives, ce qui confirme que nos isolats font partie de ce groupe.

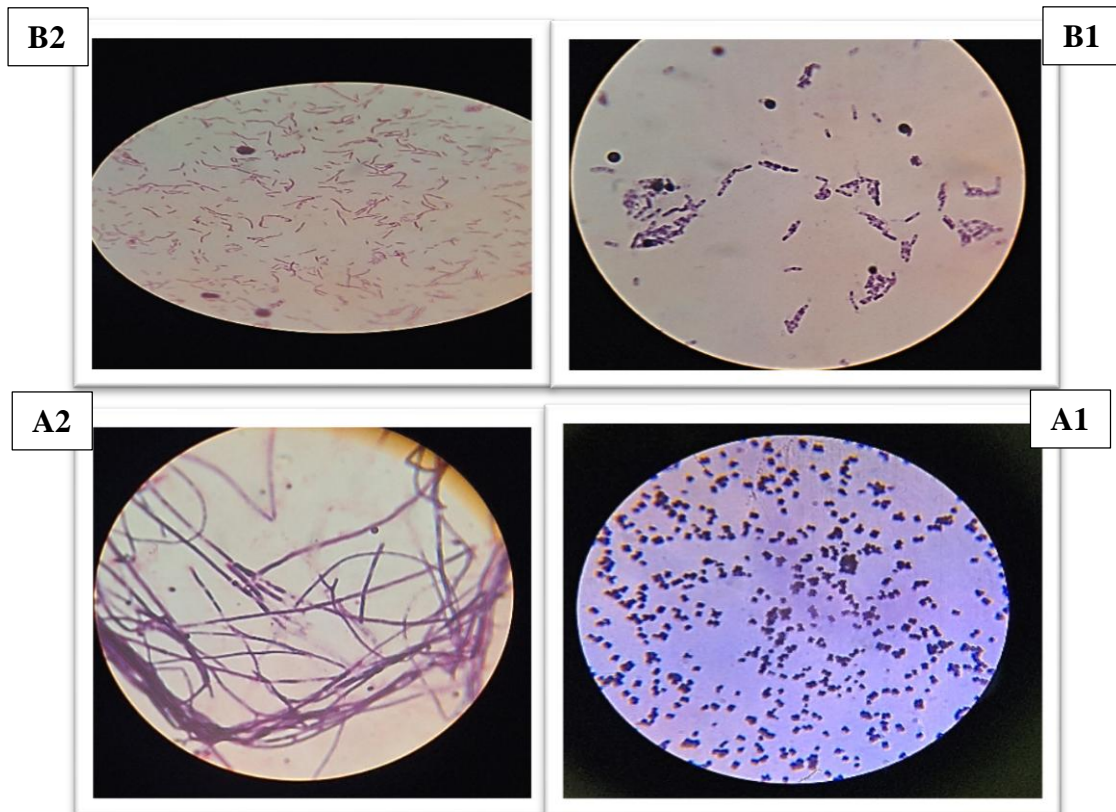


Figure 6 : Aspect microscopique des isolats de *Bacillus* et d'actinobactéries sous microscope optique avec un grossissement X100 : (B1, B2) souches de *Bacillus* ; (A1, A2) souches d'actinobactéries.

3. Isolement des actinobactéries sur milieu ISP2

Nous avons pensé que le faible nombre d'actinobactéries pourrait être lié au milieu de culture utilisé lors de l'isolement. C'est pourquoi nous entamons une nouvelle approche d'isolement sur le milieu ISP2.

Tableau 16 : Isolement sur milieu ISP2 additionnées d'antifongique.

Echantillons	Les dilutions	Nombre de contaminants
Sol II	SM	Indénombrable
	10^{-1}	Indénombrable
	10^{-2}	64
	10^{-3}	61
	10^{-4}	60

	10^{-5}	55
	10^{-6}	42
Sel 1	SM	139
	10^{-1}	Indénombrable
	10^{-2}	Indénombrable
	10^{-3}	77
	10^{-4}	45
	10^{-5}	Indénombrable
	10^{-6}	Indénombrable

Nos résultats signifient que l'utilisation de milieu ISP2 pour l'isolement des actinobactéries favorise aussi la prolifération d'autres micro-organismes indésirables (*Bacillus* et d'autres contaminants comme les champignons). Cela complique l'isolement des actinobactéries et augmente le risque de contamination.

4. Effet d'un antibiotique et d'un antiseptique sur l'inhibition des contaminants

Dans le but d'éliminer les contaminants deux produits ont été testés. Il s'agit d'un antibiotique (Gentamycine) et un antiseptique (Azide de sodium). Les résultats obtenus à différentes concentrations (3.12 mg/l et 1 mg/l) pour la gentamycine, (0.1g/l et 0.01g/l) pour l'azide de sodium sont présentés dans le tableau 17.

Tableau 17 : Effet de différentes concentrations de la Gentamycine et de l'azide de sodium sur la croissance des bactéries contaminants.

Souches	Produits utilisés	Concentration	Croissance
B1	antibiotique (gentamycine)	1mg/l	-
		3.12mg/l	-
	azide de sodium	0.1 g/l	-
		0.01g/l	+
B2	antibiotique (gentamycine)	1mg/l	-
		3.12mg/l	-
	azide de sodium	0.1 g/l	-
		0.01g/l	+
A1	antibiotique (gentamycine)	1mg/l	-
		3.12mg/l	-
	azide de sodium	0.1 g/l	-
		0.01g/l	+
A2	antibiotique (gentamycine)	1mg/l	+
		3.12mg/l	-
	azide de sodium	0.1 g/l	-
		0.01g/l	+

5. Effet de la gentamycine et de l'azide de sodium sur les actinobactéries

Afin de suivre l'effet de la gentamycine et de l'azide de sodium sur les actinobactéries, d'autres concentrations de la gentamycine (1 mg/l, 0.134 mg/l, 0.268 mg/l, 0.40 mg/l) et d'azide de sodium (0.05 g/l) ont été testées sur des souches d'actinobactéries fournis aimablement par le Dr. BOUFERCHA Oumaima. Nous remarquons que l'azide de sodium à un effet négatif sur la croissance des actinobactéries testées, tandis que la gentamycine à 1 mg/l, favorise la croissance des actinobactéries et inhibe la croissance des *Bacillus* et d'autres contaminants (Fig. 7 et 8).

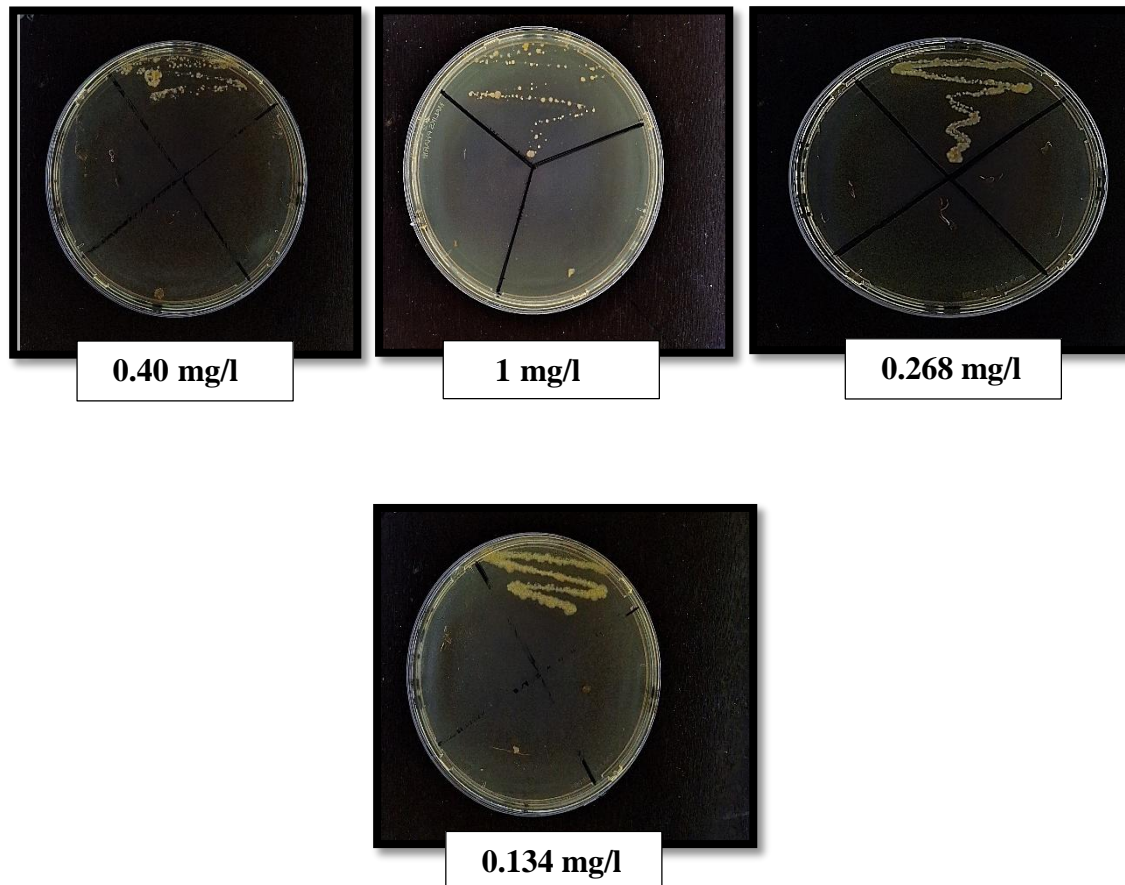


Figure 7 : Effet des concentrations variables de la gentamicine sur la souche «SG» d'actinobactéries.

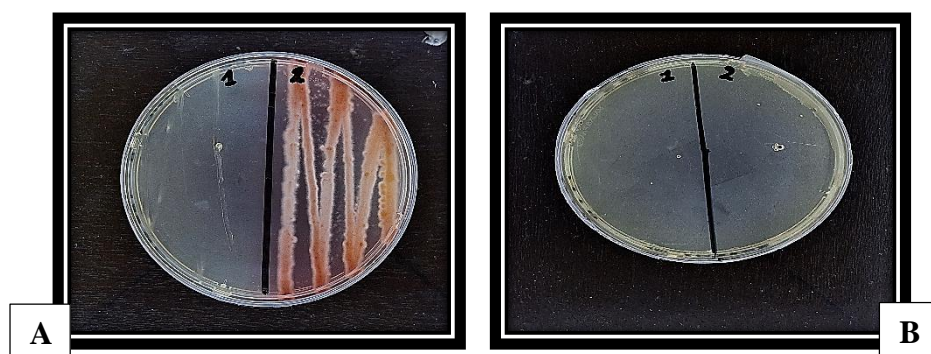


Figure 8 : Effet de 1 mg/l de la gentamicine sur la croissance d'actinobactéries (A) et de *Bacillus* (B).

6. Isolement des actinobactéries en présence de 1mg/l de gentamicine

Un nouvel isolement sur un milieu GLM additionné de fungizone et de 1mg/l de gentamicine a été réalisé sur le même échantillon. Les résultats sont présentés dans le tableau 18.

Tableau 18 : Dénombrement des actinobactéries sur milieu GLM additionnées d'un antifongique et de 1mg/l de gentamycine.

Echantillons	Les Dilutions	Nombre de colonies
Sol II	10^{-3}	2
	10^{-4}	0
	10^{-5}	3
	10^{-6}	1
Sel 1	10^{-3}	0
	10^{-4}	0
	10^{-5}	0
	10^{-6}	1

Nos résultats indiquent que l'antibiotique gentamycine permet l'isolement de sept actinobactéries. Nos résultats ne s'accordent avec ceux de **Rabia et Rahmouni (2015)**, l'antibiotique (gentamycine) à une concentration de 10 µg inhibe la croissance d'actinobactéries.

D'après les résultats de **Benjama et al., (1996)**, Toutes les souches de *Bacillus* ont été inhibées par l'antibiotique (gentamycine) à des doses respectives de 1 mg/l et de 3,12 mg/l, tandis que l'antiseptique (azide de sodium) est aussi efficace contre la croissance des *Bacillus*.

7. Test de la biodégradation des pesticides

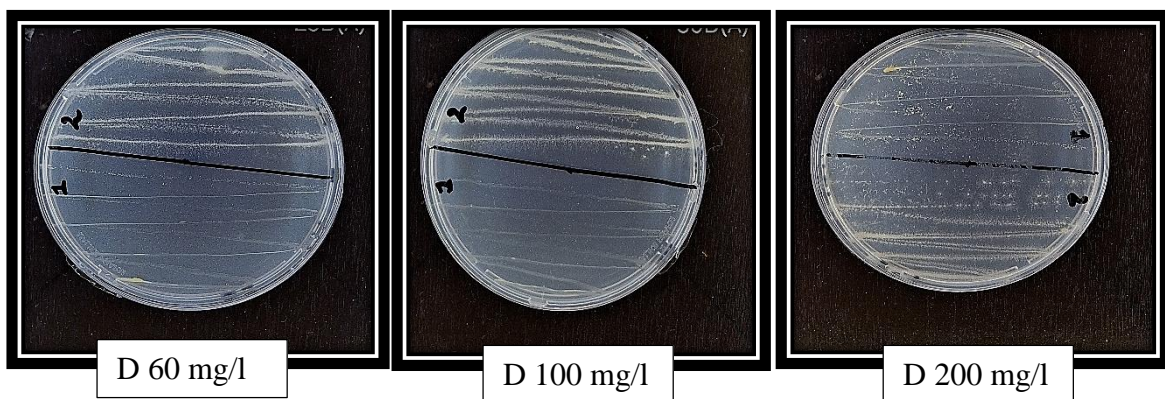
Les isolats d'actinobactéries et de *Bacillus* purifiés ont montrés leurs capacités à se développer dans un milieu minimum de Vendermess, en ajoutant différents pesticides comme seule source de carbone et d'énergie. Par comparaison avec un témoin, la capacité des isolats à biodégrader les pesticides se manifeste par une croissance bactérienne positive. Si au contraire, il n'y a pas de croissance bactérienne, cela signifie que l'isolat ne peut pas dégrader biologiquement le pesticide testé. Les résultats de la biodégradation des pesticides par les deux actinobactéries sélectionnées, sont représentés dans le tableau 19 et la figure 9.

Tableau 19 : Test de la biodégradation des pesticides par deux actinobactéries sélectionnées.

Le nom du pesticide	Les concentrations	Souche A1	Souche A2
Décis	60	++	+++
	100	++	+++
	200	++	+++
Aliette flash	60	+ -	+++
	100	+ -	+++
	200	+ -	+++
Horizon	60	-	-
	100	-	-
	200	-	-
Glyphosate	60	+ -	+++
	100	++	+++
	200	++	+++

(+++) **: Bonne croissance.** / (++) **: Croissance modérée** / (+/-) **: croissance faible.** / (-) **: Absence de croissance**

Selon les résultats obtenus, il a été observé que l'herbicide «Glyphosate» et l'insecticide «Decis» sont les plus dégradables par rapport aux autres pesticides, alors que les deux souches d'actinobactéries ne dégrade pas le fongicide «Horizon».



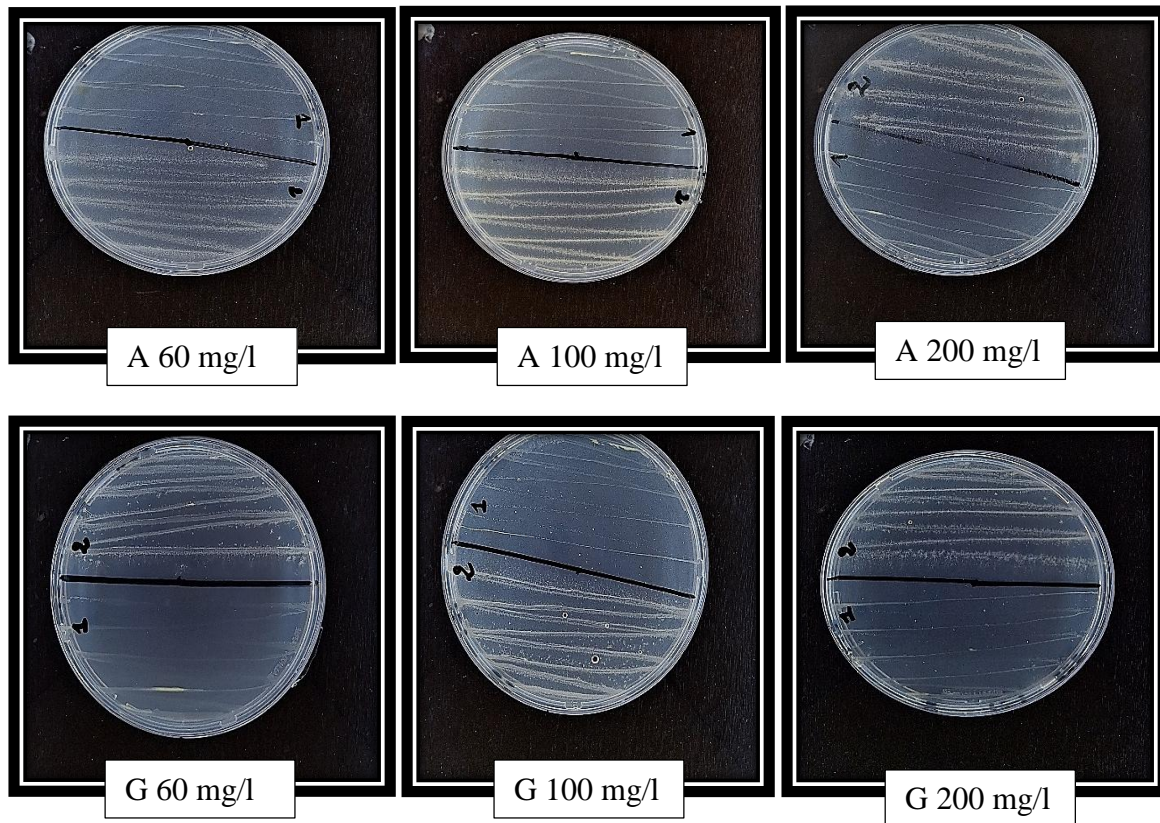


Figure 9 : Test de biodégradation des pesticides par les deux souches d'actinobactéries A1 et A2.

Les actinobactéries sont parmi les groupes les plus importants qui ont une activité significative dans la dégradation des composés naturels et de synthèse tels que les pesticides et autres xénobiotiques dans l'environnement. Ils jouent donc un rôle essentiel dans la bioremédiation des sols contaminés par ces composants.

La capacité des souches à dégrader les pesticides se manifeste par une croissance significative dans les boîtes de Pétri. Cependant, une dégradation faible se manifeste par un nombre assez limité de colonies. Cela est dû à la production d'enzymes de biodégradation. Le fait que ces bactéries ne puissent pas se développer en milieu minimum est dû à leur incapacité à produire des enzymes de biodégradation et à utiliser ces pesticides comme seule source de carbone. La difficulté à dégrader les pesticides peut être attribuée aussi à la composition complexe des pesticides.

Ramdani et Hadroug (2017) ont remarqué que toutes les souches d'actinobactéries ayant la capacité de dégrader les divers pesticides mais a des périodes différentes en fonction de la souche et du pesticide.

Selon Araùjo *et al.*, (2003) ; Wardle et Parkinson (1990), le glyphosate peut être utilisé par le microbiote du sol comme seule source de carbone. Cette substance active est dégradée par les actinobactéries. Duke (2011) dans son étude il a fait référence à la possibilité que les souches de *Streptomyces* sp. puissent utiliser le glyphosate comme seule source de carbone et de phosphore. D’après Souza *et al.*, (1999), le glyphosate est dégradé rapidement après dix jours d’incubation, alors que Nomura et Hilton (1977), en rapportée que le glyphosate se dégrade rapidement lors des premiers jours d’incubation.

Les tests de biodégradation des pesticides par deux isolats de *Bacillus* sélectionnés, sont représentés dans le tableau 20 et la figure 10.

Tableau 20 : Test de la biodégradation des pesticides par certaines souches de *Bacillus* dans les différentes concentrations.

Le nom du pesticide	Concentration	Souche B1	Souche B2
Decis	60	-	-
	100	-	-
	200	-	-
Aliette flash	60	+-	-
	100	++	-
	200	++	-
Horizon	60	+-	-
	100	-	-
	200	-	-
Glyphosate	60	++	-
	100	++	-
	200	++	-

Selon les résultats obtenus, il a été observé que l'herbicide «Glyphosate» et le fongicide «Aliette flash» sont les plus dégradables par rapport aux autres pesticides, alors que les deux souches de *Bacillus* ne dégradent pas l'insecticide «Decis». La souche B2 de *Bacillus* ne dégrade aucun pesticide.

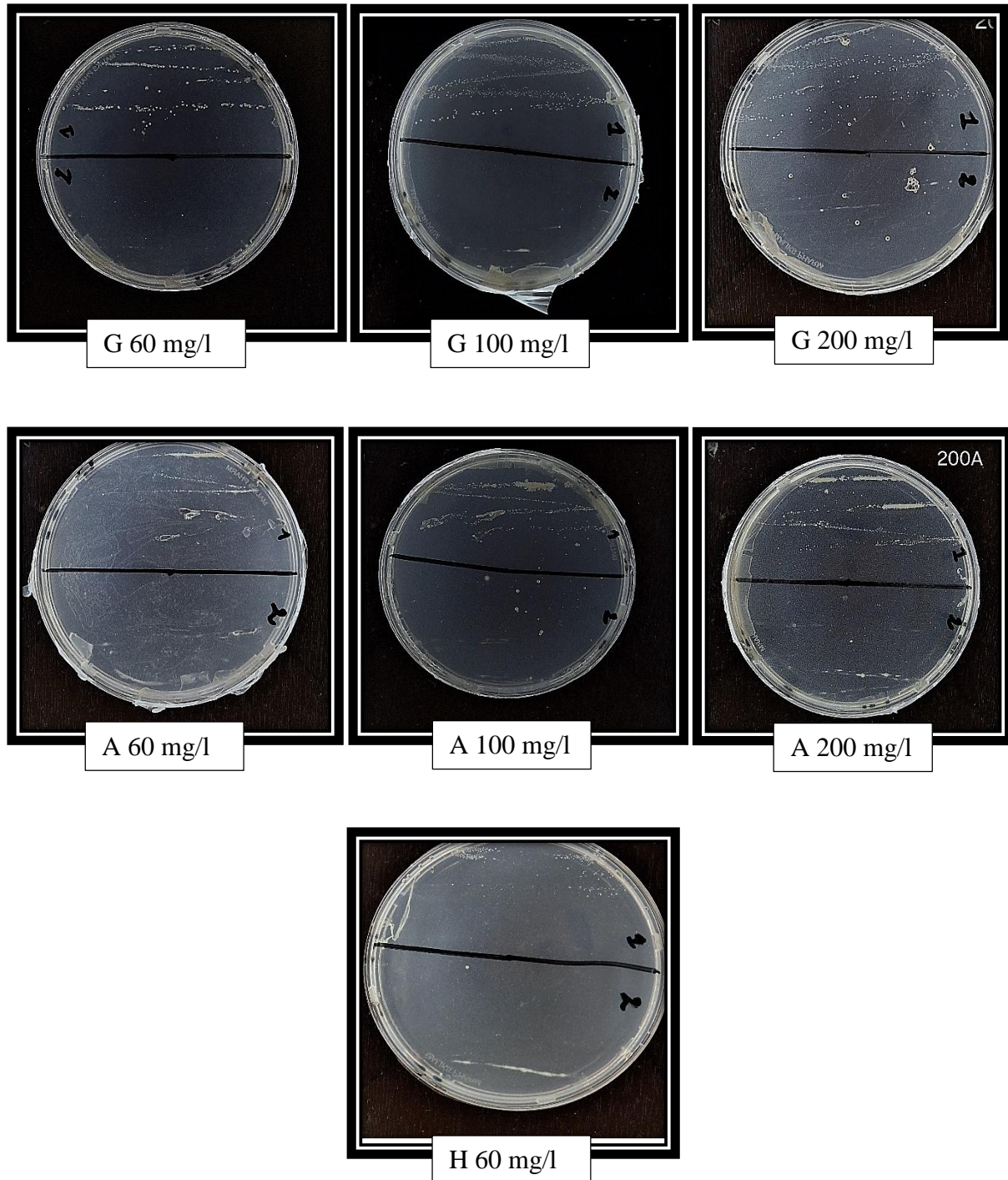


Figure 10 : Test de biodégradation des pesticides par les deux souches de *Bacillus*.

D'après l'étude **d'Arora (2020)**, le genre *Bacillus* a un grand potentiel pour dégrader biologiquement plusieurs pesticides.

Conclusion

Dans le domaine de la bioremédiation, les actinobactéries et les *Bacillus* sont employés pour décomposer divers polluants environnementaux, tels que les hydrocarbures, les pesticides, les métaux lourds et les composés organiques toxiques. La raison principale de l'utilisation de ces bactéries, réside dans leurs capacités à résister par leurs spores, aux conditions environnementales difficiles. En outre, ils sont des candidats parfaits pour la décontamination des sols, des eaux et des milieux industriels pollués en raison de leur capacité à métaboliser les différents polluants. Plusieurs régions du monde, sont des zones rudes. Ils sont représentés par de grandes étendues, comme les sols salins, les sols arides chauds et froids. Ces écosystèmes à apparence inhospitalières regorgent pourtant de microorganismes variés. Les actinobactéries et les *Bacillus* extrêmophiles et natives de ces écosystèmes extrêmes, sont les plus adaptées pour ces endroits et trouvent leurs emplois, dans la décontamination de ces sols pollués.

Suite aux résultats obtenus, nous pouvons conclure :

- D'après ces investigations, les actinobactéries et les *Bacillus* sont présents dans deux écosystèmes extrêmes à savoir les lixivias, les eaux et les sédiments des sebkhas.
- Les extrêmophiles sont d'une grande importance, non seulement par ce qu'ils peuvent nous renseigner sur la recherche fondamentale concernant la biodiversité, mais aussi par leur immense potentiel en tant que sources d'enzymes et d'autres molécules ayant des applications biotechnologiques.
- L'emploi des agents antimicrobiens pour l'isolement sélectifs des actinobactéries est une stratégie essentielle qui permet de limiter la propagation des contaminants dans les cultures de ces microorganismes. La gentamycine est un antibiotique très efficace contre les *Bacillus* et d'autres bactéries à croissance rapide qui généralement peuplent les écosystèmes extrêmes et contaminent les cultures d'actinobactéries dans leurs isolement.
- Les actinobactéries et les *Bacillus* isolées à partir des milieux extrêmes, ont montrés des aptitudes dans la dégradation des pesticides. Ces bactéries peuvent ainsi être employées comme des agents de dépollution dans les sols contaminés par ces produits chimiques.

Finalement, nous pensons que ce travail mérite d'être poursuivi car différentes perspectives peuvent être prises en compte, telles que :

- l'utilisation de l'antibiotique «la gentamycine» ou un mélange de «gentamycine» avec un autre antibiotique «la novobiocine» pendant l'isolement sélectif des actinobactéries afin de résoudre le problème de la prolifération des contaminants.
- changement des concentrations de l'antiseptique «l'azide de sodium» et l'antibiotique «la gentamycine» pour l'amélioration des résultats.
- Tester la capacité des bactéries extrêmophiles à dégrader les pesticides sur champ.

*Références
bibliographiques*

A

- Abbes S., Bouteraa I. (2017). Identification phénotypique de quelques isolats d'actinobactéries présentant une activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes pathogènes. Mémoire Master Recherche : Biotechnologie Végétale et Métagénomique. Université Mohamed Boudiaf - M'sila, 28-29 p.
- Abe A., Assanvo J., Sanogo M., Koffi K. (2018). Caractérisation phénotypique de 52 souches des *Bacillus* isolées à partir de racines fraîches de manioc cultivées en Côte d'Ivoire. *international journal of biological and chemical sciences*, 12(5), p : 2284-2293
- Achab S., Bouchemal C., Gheribi S., Zeghidi S. (2022). Biodégradation des pesticides par les micro-organismes. Mémoire Master Recherche : Toxicologie. Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED, 5 p.
- Adrar N. S. (2009). Sélection d'actinomycètes halotolérants producteurs de substances antimicrobiennes. Mémoire Magistère : Biologie moléculaire. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, 8 p.
- Ait Barka E., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Klenk H. P., Clément C., Ouhdouch Y., Wezel G. P. V., Meier-Kolthoff J. P. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 80(1), p : 1-43
- Alenazi A. M., Yasir A., Abo-Aba S., Bataweel N. (2023). A review on Actinomycetes distribution, isolation, and their medical applications. *Novel Research in Microbiology Journal*, 7(2), p : 1918-1931
- Allouch-Kerboua C. (2016). Isolement et identification d'Actinomycètes productrices de molécules antimicrobiennes et bioactives des eaux salées (cas du lac Mellah). Thèse de Doctorat : Microbiologie Appliquée. Université Badji Mokhtar-Annaba, 26-40 p.
- Amour Y., Houfafa A. (2019). *Bacillus* sp. : Effet antagoniste et stimulation de la croissance des plantes. Mémoire Master Recherche : Microbiologie Appliquée. Université Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A., 11 p.
- Arar H. (2019). Caractérisation phénotypique et étude préliminaire des activités enzymatiques et inhibitrices des actinomycètes du sol de Touggourt et Biskra. Mémoire

Master Recherche : Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Université Mohammed Kheidre de Biskra, 8-9 p.

- Araujo A. S. F., Monteiro R. T. R., Abarkeli R. B. (2003). Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere*, 52(5), p : 799–804
- Arora P. K. (2020). Bacilli-Mediated Degradation of Xenobiotic Compounds and Heavy Metals. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, p : 1-28
- Ayadi F., Merabet S. (2020). Biodégradation des pesticides par la microflore du sol. Mémoire Master Recherche : Microbiologie et Contrôle de qualité. Université de Tlemcen, 45-50 p.

B

- Base de données publique des médicaments. GENTAMICINE PANPHARMA 160 mg, solution injectable [en ligne]. (Page Consulté le 15/05/2024). <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=68868512&typedoc=N>
- Bechibchi H., Boubidi N., Bettache M. (2008). Les espèces de *Bacillus* et leur rôle dans la production industrielle. Mémoire Master Recherche : Microbiologie. Université de Jijel, 2 p.
- Benjama A., Cherkaoui B., Samson R. (1996). Effets de certains antibiotiques et antiseptiques sur les *Bacillus* contaminant les cultures in vitro de tissus de palmier dattier. *AL Awamia*, 93, p : 53-61
- Bensalhia S., Mezhoud N., Laribi N. (2008). La biodégradation des pesticides. Mémoire Master Recherche : Microbiologie. Université de Jijel, 25-28 p.
- Borriss R. (2020). *Bacillus*. Dans : Senthil Kumar M., Amaresan N., Annapurna K., Sankaranarayanan A., Kumar K. Beneficial Microbes in Agro-Ecology. Amsterdam : Academic Press, p : 861-912.
- Bouaouni R., Charef M., Fatmi N. (2022). Actinobactéries provenant à partir des sols arides et semi-arides : Une source importante d'enzymes. Mémoire Master Recherche : Biologie Moléculaire des Microorganismes. Université frères Mentouri Constantine 1, 1 p.

- Bouaziz S. (2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de Doctorat : Biologie. Université Kasdi Merbah Ouargla, 16-26 p.
- Boudjelal-Bencheikh F. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. Thèse de Doctorat : Sciences agronomique. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach Alger, 30-33 p.
- Boukhalfa R. K. (2018). Isolement d'actinomycètes à partir de deux échantillons de sol et la mise en évidence de quelques activités enzymatiques. Mémoire Master Recherche : Microbiologie générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Université des Frères Mentouri Constantine 1, 2-12 p.
- Bousbia F., Kider H. (2012). Résistance des actinomycètes aux conditions extrêmes. Mémoire Master Recherche : Microbiologie. Université de Jijel, 2-13 p.
- Boutoutta M. (2019). Isolement des Actinomycètes productrices des substances antimicrobiennes à partir des sols des zones arides de la région d'El Naama. Mémoire Master Recherche : Microbiologie Appliquée. Université « Dr. Moulay Tahar » de Saïda, 6-7 p.
- Bouzeraib A., Mekiou M. (2022). *Bacillus* une potentiel rhizobactérie favorisant la croissance de plantes. Mémoire Master Recherche : Bio-industrie, Analyse et Contrôle (BAC). Université frères Mentouri Constantine 1, 16-18 p.

C

- Cedah M., Boudekique K. (2016). Étude de quelques activités enzymatiques d'une collection d'actinomycètes. Mémoire Master Recherche : Microbiologie générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Université des Frères Mentouri Constantine 1, 2-6 p.
- Chavan D. V., Mulaje S. S., Mohalkar R. Y. (2013). A review on actinomycetes and their biotechnological application. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(5), p : 1730-1742

- Chouchi A., Laouar F. (2010). Isolement des bactéries actinomycétales productrices de substances bioactives à partir des écosystèmes extrêmes et identification préliminaire de quelques souches. Mémoire Master Recherche : Microbiologie Appliquée. Université de Jijel, 14-30 p.

D

- Derouiche K., Ferkhi H., Rouina R. (2011). Les substances bioactives produites par les actinomycètes des milieux extrêmes. Mémoire Master Recherche : Microbiologie. Université de Jijel, 6-43 p.
- Doukali H., Kaid Kasbah K. M. (2023). Etude d'élimination des polluants organiques des lixiviats des centres d'enfouissement technique par des procédés biotiques et abiotiques. Mémoire Master Recherche : Biologie Moléculaire des Microorganismes. Université frères Mentouri Constantine 1, 45 p.
- Duke S. (2011). Glyphosate Degradation in Glyphosate-Resistant and -Susceptible Crops and Weeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), p : 5835–5841

E

- El- Fiky Z., Mansour S., El- Zawhary Y., Ismail S. (2003). DNA-fingerprints and Phylogenetic Studies of Some Chitinolytic Actinomycete Isolates. *Biotechnology*, 2(2), p : 131-140

F

- Farah C., Nadji F., Daghboudj I. (2020). Potentiel enzymatique et antimicrobien des bactéries des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. Mémoire Master Recherche : Microbiologie Appliquée à la santé et l'environnement. Université de Larbi Tébessi-Tébessa, 18-19 p.

G

- Garrity G., Vos P., Jones D., Krieg N. R., Fred A., Rainey F. A., Ludwig w., Schleifer k. H., Whitman W. B. (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology : The Firmicutes*. New York : Springer. P : 1-1450.
- Goodfellow M., Williams S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *annual review of microbiology*, 37, P : 189-216
- Grini I., Hafsa S., Bouali H. (2022). Les actinomycètes des écosystèmes naturels algériens (Une mise à jour). Mémoire Master Recherche : Microbiologie Appliquée. Université de Larbi Tébessi –Tébessa, 13-31 p.

H

- Hachana M., Halilou I. (2023). Isolement et caractérisation des Actinomycètes des sols arides (Touggourt, Illizi et Tendouf). Mémoire Master Recherche : Microbiologie Appliquée. Université mohamed khider biskra, 19 p.
- Hamimed R., Bouabida N. E. H. (2020). Taxonomie et potentiel antimicrobien des actinomycètes halophiles. Mémoire Master Recherche : Microbiologie Appliquée. Université de Tébessa, 45-56 p.
- Harwood C. R. (1989). *Bacillus*. New york : spinger. P : 1-414
- Hocinat A. (2018). Biodégradation de quelques composés organiques volatils et certains pesticides par des actinomycètes provenant d'un sol agricole et de boues activées. Thèse de Doctorat : Biotechnologies Microbiennes, Génomes et Environnement. Université frères Mentouri Constantine 1, 35-43,116 p.

I

- Ibrahimi M. (2020). Extraction et caractérisation de nouveaux antibactériens produits par les actinobactéries prédatrices d'origine marine. Thèse de Doctorat : Biochimie, biologie moléculaire. Université de Poitiers, 32-39 p.

- Itim R., Khellaf D. (2021). Production de métabolites bioactifs par des actinomycètes : Etude de Synthèse. Mémoire Master Recherche : Microbiologie Appliquée. Université de Saida-Dr. Moulay Tahar, 43-60 p.

K

- Kaya-Ongoto M. (2018). Identification rapide des bactéries du genre *Bacillus* en utilisant une nouvelle génération des gènes de ménage codant pour les enzymes fibrinolytiques. Mémoire Master Recherche : Biochimie et Microbiologie Appliquée. universite marien ngouabi, 28 p.
- Kitouni M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification Moléculaire Des Souches Actives Et Caractérisation Préliminaire Des Substances Elaborées. Thèse de Doctorat : Microbiologie Appliquée. Université Mentouri-Constantine 1, 97-98 p.

L

- Lee J., Hwang B. (2008). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(5), p : 407-417
- Lewin G. R., Carlos C., Chevrette M. G., Horn H. A., McDonald B. R., Stankey R. J., Fox B. G., Currie, C. R. (2016). Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenergy Applications. *The Annual Review of Microbiology*, 70, p : 235-254
- Loison P. (2013). Etude de la spore de *Bacillus subtilis* : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Université de Bourgogne, 14 p.

M

- Manucharova N. A., Vlasenko A. N., Tourova T. P., Panteleeva A. N., Stepanov A. L., Zenova G. M. (2008). Thermophilic chitinolytic microorganisms of brown semidesert soil. *EXPERIMENTAL ARTICLES*, 77(5), p : 610-614
- Meklat A., Bouras N., Mokrane S., Zitouni A., Djemouai N., Klenk H-P., Sabaou N., Mathieu F. (2020). Isolation, Classification and Antagonistic Properties of Alkalitolerant Actinobacteria from Algerian Saharan Soils. *Geomicrobiology Journal*, 37(9), p : 826-836
- Merabet M., Sebbagh S., Touil C. (2021). Potentiel antimicrobien et biocatalytique des Actinobactéries halophiles. Mémoire Master Recherche : Microbiologie Appliquée. Université Mohammed Seddik Benyahia -Jijel-, 1 p.
- Moudja A., Laklouk F. (2015). Isolement, à partir des milieux extrêmes, d'actinomycètes producteurs d'antibiotiques. Mémoire Master Recherche : Microbiologie environnementale et infectieuse. Université Amar Thelidji- Laghouat, 4-11 p.
- Muras A., Romero M., Mayer C., Otero A. (2021). Biotechnological applications of *Bacillus licheniformis*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(4), p : 609-627

N

- Nas F. (2012). Étude de molécules antibiotiques biosynthétisées par une bactérie extrémophile B1 isolée d'une sebkha d'EL Goléa (Algérie). Mémoire Magistère : Microbiologie Appliquée. Université de Tlemcen, 14 p.
- Nomura N. S., Hilton H. W. (1977). The Adsorption and Degradation of Glyphosate in Five Hawaiian Sugarcane Soils. *Weed Research*, 17(2), p : 113-121

O

- Ouis K., Mezaili S. (2019). Etude préliminaire de la biodégradation des pesticides parmi les plus utilisés à Constantine par une collection d'actinobactéries. Mémoire Master Recherche : Biologie moléculaire des Microorganismes. Université des Frères Mentouri Constantine 1, 45-48 p.
- Oulad hadj youcef k. (2021). Identification et activités biologiques de quelques souches d'actinobactéries. Mémoire Master Recherche : Biochimie appliquée. Université de Ghardaia, 11 p.

P

- Pichinoty F., Garcia J-L., Job C., Durand M. (1978). La dénitrification chez *Bacillus licheniformis*. *Canadian Journal of Microbiology*, 24(1), p : 45-49
- Priest F. G. (1993). SYSTEMATICS AND ECOLOGY OF *BACILLUS* SPP. Dans : Sonenshein A. L., Hoch J. A., Losick R. *Bacillus subtilis* and Other Gram-Positive Bacteria: Biochemistry, Physiology, and Molecular Genetics. Washington : American Society for Microbiology, p : 1-16.

R

- Rabia F., Rahmouni S. (2015). Isolement, caractérisation et optimisation de la production de molécules bioactives d'une souche d'actinomycète : *Streptomyces* sp. SRC3. 27. Mémoire Master Recherche : Biotechnologie Microbienne. Université A. MIRA - Bejaia, 27 p.
- Rafai F. (2019). Caractérisation phénotypique des actinomycètes du sol des régions arides. Mémoire Master Recherche : Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Université Mohamed Khider de Biskra, 11 p.
- Ramarao N. (2012). *Bacillus cereus* : caractéristiques et pathogénie. *EMC - Biologie médicale*, 7(4), p : 1-2

- Ramdani T., Hadroug H. (2017). Influence des pesticides sur la croissance des Rizobium. Mémoire Master Recherche : Ecologie microbienne. Université A. MIRA - Bejaia, 15-32 p.
- Rey M. W., Ramaiya P., Nelson B. A., Brody-Karpin S. D., Zaretsky E. J., Tang M., Xiang H., Gusti V., Clausen I. G., Lopez de Leon A., Olsen P. B., Rasmussen M. D., Andersen J. T., Jørgensen P. L., Larsen S. T., Sorokin A., Bolotin A., Lapidus A., Galleron N., Ehrlich S. D., Berka R. M. (2004). Complete genome sequence of the industrial bacterium *Bacillus licheniformis* and comparisons with closely related *Bacillus* species. *Genome Biology*, 5(10), p : 1-12
- Rodriguez-Valera F., Ventosa A., Juez G., Imhoff J. F. (1985). Variation of Environmental Features and Microbial Populations with Salt Concentrations in a Multi-Pond Saltern. *microbial ecology*, 11(2), p : 107-115

S

- Saker R. (2015). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Université Ferhat Abbas Sétif 1, 21-22 p.
- Sharma M., Dangi P., Choudhary M. (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), p : 801-832
- Shukla R. J., Kikani B. A., Singh S. P. (2013). Molecular Diversity and Biotechnological Relevance of Thermophilic Actinobacteria. Dans : Satyanarayana T., Littlechild J., Kawarabayasi Y. Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology. New York : Springer, p: 459-479.
- Slepecky R. A., Hemphill H. E. (2006). The Genus *Bacillus*—Nonmedical. Dans : Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K-H., Stackebrandt E. The Prokaryotes. New York : Springer, p : 530-562.
- Société chimique de France. Azoture de sodium [en ligne]. (Page consulté le 15/05/2024). <https://new.societechimiquedefrance.fr/produits/azoture-de-sodium/?fbclid=IwZXh0bgNhZW0CMTAAAR3yKruoq082TM6nSs6CUnLEP8Z59L>

B6t21gRwl_bNgiqvIDAeuDPJBWSc_aem_Acc3lfznjJQRgBBUNhwHTvEB1EsSw
W6Rr-yIWYozSsKUREKcGBUHpqIg1_YfNoEhbN7yhznnoYCYjGenQwcxuIcg6

- Souza A. P., Ferreira F. A., Silva A. A., Cardoso A. A., Ruiz H. A. (1999). Respirac_ao microbiana do solo sob doses de glyphosate e de imazapyr. *Planta Daninha*, 17(3), p : 387–398

T

- Tamreihao K., Salam N., Ningthoujam D. S. (2018). Use of Acidophilic or Acidotolerant Actinobacteria for Sustainable Agricultural Production in Acidic Soils. Dans : Egamberdieva D., Birkeland N-K., Panosyan H., Li W-J. *Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications*. Singapore : Springer, p : 453-464.
- Tout sur la botanique. LA BOTANIQUE [en ligne]. (Page consulté le 15/05/2024). <https://www.jean-marc-gil.toutsurlabotanique.fr/#:~:text=La%20botanique%2C%20ou%20phytologie%2C%20est,plantes%20mortes%20est%20la%20pal%C3%A9obotanique>.
- Tulasi S., Shivlata L. (2015). Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria:biology and potential applications. *Frontiers in Microbiology*, 6, p : 1-29
- Thiel V. (2011). Extreme Environments. Dans : Thiel V., Reitner J. *Encyclopedia of Geobiology*. Dordrecht : Springer, p : 362–366.

W

- Wardle D. A., Parkinson D. (1990). Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and Soil*, 122, p : 21–28

Annexe

Annexe I

Matériel utilisé

- Anse de platine
- Autoclave
- Balance analytique
- Barreaux magnétique
- Bec bunsen
- Boîtes de Pétri
- Etuve à 28°C, à 37 °C
- Entonnoir
- Lames
- Microscope optique
- Micropipettes
- Plaque chauffante agitatrice
- Portoirs
- pH mètre
- Parafilm
- Pissette
- Pipettes Pasteur
- Réfrigérateur
- Spatule
- Vortex
- Verreries : béchers gradués, éprouvettes graduées, tubes à essai stériles, les flacons, et les earlens.

Annexe II

Solutions et colorants utilisés

- Alcool
- Eau distillée stérile
- Eau physiologique stérile
- Fuchsine
- Huile à immersion
- Lugol
- Violet de Gentiane

Annexe III**Milieux de culture utilisée****Milieu GLM (Glucose-Extrait de levure-Malt)**

- ❖ Extrait de levure.....3g
- ❖ Extrait de malt.....3 g
- ❖ Peptone.....5 g
- ❖ Glucose.....10 g
- ❖ Agar.....18 g
- ❖ Eau distillée.....1000 ml
- ❖ pH= 7

Milieu Amidon-caséine

- ❖ Amidon soluble.....10g
- ❖ Caséine.....1g
- ❖ K₂HPO₄.....0.5g
- ❖ Agar.....15g
- ❖ Eau distillée.....1000ml
- ❖ pH=7-7.5

Milieu ISP2

- ❖ Extrait de levure..... 4 g
- ❖ Extrait de malt..... 10 g
- ❖ Glucose.....4 g
- ❖ Agar.....18 g
- ❖ Eau distillée..... 1000ml
- ❖ pH= 7.2

Milieu GN (Gélose nutritive)

- ❖ Amidon.....10g
- ❖ Peptone.....5g
- ❖ Extrait de viande.....1g
- ❖ Extrait de levure.....2g
- ❖ NaCl.....5g
- ❖ Agar.....15g
- ❖ Eau distillée.....1000ml
- ❖ pH=7.5

Milieu minimum (Vandermesse 1996)

- ❖ KNO₃13,76 g/l
- ❖ KH₂PO₄.....1,78 g/l
- ❖ Na₂HPO₄, 2H₂O.....4,66 g/l
- ❖ Na₂SO₄.....9,68 g/l
- ❖ EDTA.....10 mg/l
- ❖ FeSO₄, 7 H₂O.....5 mg/l
- ❖ MnCl₂, 4 H₂O.....1,22 mg/l
- ❖ ZnSO₄, 7 H₂O.....0,25 mg/l
- ❖ CuSO₄, 5 H₂O.....0,2 mg/l
- ❖ CaCl₂, 2 H₂O.....1 mg/l
- ❖ Na₂MoO₄, H₂O.....0,2 mg/l
- ❖ pH = 7

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : Rouabah Rayane
Terchi Marwa Souha

Biotechnologie des actinobactéries et des *Bacillus*

"Essai d'isolement, élimination des contaminants et tests de biodégradation de certains pesticides"

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé

Notre travail s'intéresse en premier lieu, à l'isolement des actinobactéries et des *Bacillus* à partir de deux échantillons extrêmes (la sebkha de Ain M'Lila et le lixiviat). Les échantillons prélevés sontensemencés sur trois milieux sélectifs (le GLM, l'amidon-caséine et l'ISP2), tous additionnés d'un antifongique «la fungizone» pour éviter la croissance des champignons. Un nombre de quatre d'actinobactérie et *Bacillus* ont été isolés. Des essais d'optimisation d'isolement sélectifs des actinobactéries ont permis d'affirmer que l'emploi de la gentamycine additionnée au milieu d'isolement (GLM), conduit à la réduction significative de la propagation des contaminants à croissance rapides et facilite l'isolement des actinobactéries à temps de génération lent. En plus, des tests de cet antibiotique sur une collection d'actinobactéries ne présentent aucun effet négatif sur leurs croissances. L'emploi de cette technique dans une seconde tentative d'isolement à partir des mêmes échantillons, nous a permis d'obtenir un nombre plus important d'actinobactéries. La deuxième étape a été consacrée à la mise en évidence de l'aptitude des souches isolées à biodégrader quatre pesticides qui sont un herbicide «glyphosate», deux fongicides «horizon, Aliette flash» et un insecticide «Decis». Les résultats montrent que la majorité de ces pesticides sont dégradés par nos isolats. Le glyphosate est le pesticide le plus dégradé.

Mots-clés : Actinobactéries, *Bacillus*, Isolement sélectif, Biodégradation, Pesticides.

Laboratoires de recherche : laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Président du jury : Dr LIFA M. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Pr BOUDEMAGH A. (PROF - UFM Constantine 1).

Examineur : Dr BOUFERCHA O. (MCB - UFM Constantine 1).