REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIREMINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

Soutenue le : 06/07/2024

N° d'ordre :45/D3C/2024
N° de série :01/MiBio/2024

Thèse de Doctorat

Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat 3ème cycle

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie

Spécialité : **Microbiologie générale et appliquée**

Présentée et soutenue par :

Cherifa LEFAIDA

Intitulée :

Biodiversité des actinobactéries isolées à partir des eaux thermales de certaines régions de l'Algérie et étude de quelques aptitudes métaboliques

Membres du Jury :

Président :	**KITOUNI Mahmoud**	**Pr. Univ. Constantine 1 FM**
Directeur de thèse :	**BOUDEMAGH Allaoueddine**	**Pr. Univ. Constantine 1 FM**
Examinateurs :	**BENHIZIA Yacine**	**Pr. Univ. Constantine 1 FM**
	CHERIF SILINI Hafsa	**Pr. UFA sétif 1**
	SILINI Alaoua	**Pr. UFA sétif 1**
	HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid	**Pr. Univ. Abbas Laghrour Khenchela**

2023-2024

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien

et leurs prières tout au long de mes études, que Dieu leur procure bonne santé et longue vie….je vous aime

A mon très cher époux Said, qui m'a accompagné tout au long

de mon chemin, qui m'a encouragé et donner la force et la volonté de surmonter tous les obstacles et les difficultés...

A mes adorables fils : Teim ; Barae et Hatem

À mes sœurs, leurs époux et leurs enfants

À ma belle famille

À toute ma famille et toutes mes amies

En témoignage de ma profonde affection

Cherifa

Remerciements

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

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon Directeur de thèse le Professeur BOUDEMAGH Allaoueddine pour avoir accepté de diriger ce travail et pour avoir participé activement à la correction de ce manuscrit. Ses compétences techniques et son efficacité ont fortement contribué à la réalisation de cette thèse.

Je voudrais également exprimer toute ma gratitude et mes remerciements à Mr. le Professeur KITOUNI Mahmoud qui nous a permis de réaliser une partie de ce travail au nivau du laboratoire de Génie-microbiologique et applications à l'université Constantine 1, Frères Mentouri.

J'exprime mes vifs remerciements à Mr. le Professeur ATAC UZEL (Department of Biologie Basic and Industrial Microbiology Section, Ege University, Faculty of Science, 35100, Bornova, İzmir, TURKEY), pour m'avoir permis de réaliser une partie de mon travail pratique au niveau de son laboratoire.

Je remercie beaucoup Mr. le Professeur BAHRI Laid d'avoir accepter que je puisse tester mes solutions sur les souris au niveau de l'animalerie à l l'université Constantine 1, Frères Mentouri.

J'exprime ma gratitude envers le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche d'avoir financé une partie de mon travail réalisée dans le laboratoire de Gene Life Science à Sidi Belabbes et de réaliser l'observation microscopique par le MEB au niveau de PTAPC OUARGLA dans le cadre de IBTIKAR.

Remerciements

Je tiens à remercier vivement les membres du jury de ma thèse qui ont honoré et accepté avec amabilité d'évaluer mon travail. Je cite le Professeur KITOUNI Mahmoud (Président), le professeur BENHIZIA yacine (Examinateur), le professeur HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid (Examinateur), le professeur CHERIF SILINI Hafsa (Examinatrice) et le professeur SILINI Alaoua (Examinateur).

Résumé

46 souches d'actinobactéries ont été isolées à partir de cinq sources thermales situées dans l'est Algériens. Des milieux sélectifs (AIA, SCA, ISP5 et le milieu de Kenknight et Munaier) additionnés par un antifongique et un antibactérien contre les bactéries Gram négatif, ont été utilisés dans ce travail. La caractérisation morphologique par techniques culturales, observations microscopiques, ont été réalisée sur l'ensemble des isolats sélectionnés. Des études physiologiques biochimiques, ont été également réalisées sur ces bactéries. Le séquençage du gène de l'ARNr16S, a permis d'identifier nos isolats et de les assigner aux genres : *Streptomyces, Thermoactinomyces, Rhodococcus* et *Gordonia*. L'étude métabolique concernant les activités enzymatiques de l'ensemble des isolats nous a permis de détecter plusieurs activités enzymatiques hydrolytiques à savoir (les amylases, les protéases, les pectinases, les lécithinases, les lipases, les cellulases et bien d'autres). Ces enzymes ont montré des activités à des températures élevées de 50, 55 et 60°C. Ces résultats montrent clairement que ces écosystèmes sont peuplés d'actinobactéries producteurs d'enzyme hydrolytiques thermostables. La capacité des isolats à biodégrader certains pesticides (Tachigazole, Teldor, Rustile, Deltamight, Karateka, Prowl aqua, Zoom, Granstar et le glyphosate a été testés sur ces actinobactéries. Les résultats montrent que la plupart de ces bactéries sont capable de dégrader au moins un pesticide. Nous avons testé dans ces travaux, la capacité de biodégradation du tartre dentaire par ces bactéries. Les résultats innovants montrent qu'une souche identifiée moléculairement à *Streptomyces cavourensis* GA3C, est capable de dégrader le tartre dentaire. Des essais préliminaires montrent que le produit secrété par cette souche est sans effet sur la flore buccale. Les tests réalisés sur les souris de laboratoire n'indiquent aucun effet toxique sur ces animaux. Ces résultats sont très encourageants et montrent d'abord, que les actinobactéries sont présents dans ces sources d'eaux chaudes et que ces bactéries sont des producteurs d'enzymes thermostables très demandées en biotechnologie. En outre, plusieurs de ces actinobactéries ont d'autres aptitudes métaboliques très intéressantes.

Mots clés : Biodiversité, actinobactéries, enzymes thermostables, biodégradations.

Abstract

46 strains of actinobacteria were isolated from five thermal springs in eastern Algeria. Selective media (AIA, SCA and ISP5) supplemented with an antifungal and an antibacterial agent against Gram-negative bacteria were used in this work. Morphological characterization using culture techniques, microscopic observations was carried out on all the isolates selected. Physiological and biochemical studies have also been carried out on these bacteria. Sequencing of the 16S rRNA gene enabled us to identify our isolates and assign them to the genera *Streptomyces, Thermoactinomyces, Rhodococcus* and *Gordonia*. The metabolic study of the enzymatic activities of all the isolates enabled us to detect several hydrolytic enzymatic activities, namely (amylases, proteases, pectinases, lecithinases, lipases, cellulases and many others). These enzymes showed activity at high temperatures of 50, 55 and 60°C. These results clearly show that these ecosystems are populated by actinobacteria that produce thermostable hydrolytic enzymes. The ability of isolates to biodegrade certain pesticides (Tachigazole, Teldor, Rustile, Deltamight, Karateka, Prowl aqua, Zoom, Granstar and glyphosate) was tested on these actinobacteria. The results show that most of these bacteria are capable of degrading at least one pesticide. In this work, we tested the capacity of these bacteria to biodegrade dental tartar. The innovative results show that a strain molecularly identified as *Streptomyces cavourensis* GA3C, is capable of biodegrading dental tartar. Preliminary tests have shown that the product secreted by this strain has no effect on oral flora. Tests carried out on laboratory rats show no toxic effect on these animals. These results are very encouraging and show that actinobacteria are present in these hot springs. These bacteria produce thermostable enzymes that are in great demand in biotechnology. Finally, several of these actinobacteria have very interesting metabolic abilities.

Key words: Biodiversity, actinobacteria, thermostable enzymes, biodegradation.

ملخص

تم عزل 46 سلالة من البكتيريا الشعاعية من خمسة ينابيع حارة في شرق الجزائر، باستخدام اوساط انتقائية (AIA، SCAو ISP5) مضاف إليها مضاد للفطريات ومضاد للبكتيريا سالبة الجرام. تم إجراء التوصيف المورفولوجي باستخدام تقنيات الزرع، والملاحظات المجهرية. كما أجريت دراسات فسيولوجية كيميائية حيوية على هذه البكتيريا. استُخدم تسلسل جين S rRNA16 لتحديد هوية العزلات وتعيينها إلى أجناس *Streptomyces* و*Thrmoactinomyces* و*Rodococcus* و*Gordonia*. مكّنتنا الدراسة الأيضية للأنشطة الأنزيمية لجميع العزلات من اكتشاف العديد من الأنزيمات (الأميلاز ،البروتياز ،البكتيناز ،الليسيثيناز ،الليباز ،السيليولاز وغيرها). وقد أظهرت هذه الإنزيمات نشاطاً عند درجات حرارة عالية بلغت 50 و55 و60 درجة مئوية. وتُظهر هذه النتائج بوضوح أن هذه النظم البيئية مأهولة ببكتيريا الشعاعية تنتج إنزيمات تتحمل الحرارة. وقد تم اختبار قدرة المعزولات على التحلل الحيوي لبعض المبيدات الحشرية (Tachigazole, Teldor, Rustile, Deltamight, Karateka, Prowl aqua, Zoom Granstar , glyphosate) على هذه البكتيريا. أظهرت النتائج أن معظم هذه البكتيريا قادرة على تحلل مبيد واحد على الأقل من المبيدات الحشرية. في هذا العمل، اختبرنا قدرة هذه البكتيريا على التحلل الحيوي لجير الأسنان. تُظهر النتائج المبتكرة أن السلالة التي تم تحديدها جزيئيًا باسم GA3C (*Streptomyces cavourensis*) قادرة على تحلل جير الأسنان. كما أظهرت الاختبارات الأولية أيضًا أن المنتج الذي تفرزه هذه البكتيريا ليس له أي تأثير سلبي على الكائنات الحي الدقيقة الموجودة في الفم. لم تظهر الاختبارات التي أجريت على الفئران المخبرية أي تأثير سام على هذه الحيوانات. هذه النتائج مشجعة للغاية وتظهر أن البكتيريا الشعاعية موجودة في هذه الينابيع الحارة. وتُعد هذه البكتيريا منتجة للإنزيمات المتحملة للحرارة والمطلوبة بشدة في مجال التكنولوجيا الحيوية. وأخيراً، تمتلك البكتيريا الشعاعية العديد من القدرات المثيرة للاهتمام.

الكلمات المفتاحية: التنوع البيولوجي، البكتيريا الشعاعية، الإنزيمات المتحملة للحرارة، التحلل البيولوجي.

Liste des figures

Figure 1	**Cycle de développement des *Streptomyces* sur milieu solide (Hopwood *et al.*, 2007)**	**18**
Figure 2	**Sites des stations d'eaux thermales étudiées**	**38**
Figure 3	**Colonies d'actinobactéries sur milieux d'isolement**	**59**
Figure 4	**Aspects culturaux de quelques isolats sur milieux d'isolement ISP**	**64**
Figure 5	**Exemples des isolats TA6 et TA3 observés à l'état frait X100**	**65**
Figure 6	**Exemples des isolats GS2 et KS2 obsrvés après coloration de Gram X100**	**65**
Figure 7	**Observation par microscopie électronique à balayage (SEM). X15000**	**66**
Figure 8	**Arbres phylogéniques des isolats d'actinobacteries basée sur les séquences de l'ARNr 16S**	**72**
Figure 9	**Production des différentes enzymes par les actinobactéries isolées à partir des sources thermales**	**79**
Figure 10	**Zones d'hydrolyse de l'amidon sur milieu solide**	**80**
Figure 11	**Activité activité amylolytique à 55°C par les isolats d'actinobactéries**	**80**
Figure 12	**Effet de température et du pH sur l'activité de l'amylase produite par les isolats TA3 et TA4**	**81**
Figure 13	**Tolérence des isolats performants à différentes concentrations de Tachigazole**	**84**
Figure 14	**Tolérence des différentes isolats performants à différentes concentrations des insecticides (Rustile ; Deltamight ; Karateka et Prowl aqua)**	**85**
Figure 15	**Tolérence des différents isolats performants à différentes concentrations des herbicides (Zoom ; Granstar 75DF ; Glyphosate)**	**86**
Figure 16	**Croissance des souches d'actinobactéries dans un milieu minimum en présence du tartre dentaire**	**90**
Figure 17	**Effet des isolats SEA et GA3C sur la flore buccale**	**90**

.

Liste des tableaux

Tableau 1	**Répartitions de quelques genres d'actinobactéries dans la**	**19**
Tableau 2	**nature**	**22**
	Enzymes commercialement pertinentes produites par des actinobactéries thermophiles et alcaliphiles et leurs utilisations	
Tableau 3	**potentielles**	**23**
	Quelques antibiotiques d'importance clinique provenant	
Tableau 4	**d'actinobactéries**	**24**
Tableau 5	**Variétés de pigments produits par les actinobactéries**	**35**
	Exemples des espèces actinobactériennes thermophiles et	
Tableau 6	**thermotolérantes**	**37**
Tableau 7	**Situation géographiques des sites d'échantillonnage données**	**53**
Tableau 8	**GPS**	**57**
Tableau 9	**Répartition et traitement des souris**	**60**
	Caractéristiques physico-chimiques des eaux thermales	
Tableau 10	**Nombre d'actinobactéries isolées selon les milieux de culture,**	**67**
	la température d'incubation et la technique d'isolement	
	Résultats du BLAST du gène 16S rRNA des séquences des	
Tableau 11	**actinobactéries isolées à partir des sources thermales de l'est**	**91**
Tableau 12	**Algérien et numéros d'accessions**	**92**
	Test de totoxicité sur des souris	
Tableau 13	**Résultats de la concentration de TGP et TGO des souris**	**92**
	témoins et traités avec le poids du foie de chaque souris	
	Résultats FNS des souris témoins et traités	

Table des matières

Dédicace ix

Remerciement ix

Résumé ix

Abstract ix

ملخص ix

Liste des figures ix

Liste des tableaux ix

Table de matières ix

Introduction 1

Revue Bibliographique

Chapitre1: Les sources thermales en Algérie 3

1. Définition 3

2. Historique 3

3. Classification 5

3.1.**Origine géologique** 5

3.2.**Composition chimique** 5

3.3.**Classification thérapeutique** 6

3.4.**Température** 6

3.4.1. **Eaux hypothermales** 6

3.4.2. **Eaux métriothermales** 6

3.4.3. **Eaux mésothermales** 6

3.4.4. **Eaux hyperthermales** 6

4. **Liste des sources thermales réglementées en Algérie** 6

4.1. Région Algéroise 6

4.1.1 Hammam Righa 7

4.1.2. Hammam Melouane 7

4.1.3. Hammam Tellat 7

4.1.4. Hamman Ksenna 7

4.1.5. Hammam Ibainem 7

4.1.6. Hammam Berrouaghia 8

4.1.7. Hammam Sidi Yahiya 8

4.1.8. Hammam Sillal 8

4.2 L'est Algérien 8
4.2.1. Hammam et Biban 8
4.2.2. Hammam sidi M'Cid 8
4.2.3. Hammam Guergour 8
4.2.4. Hammam sokhna 9
4.2.5. Hammam Meskhotine 9
4.2.6. La source thermale de Hammam Belhachani 9
4.2.7. Hammam Guerfa 10
4.2.8. Hammam N'Bails 10
4.2.9. Hammam Mansourah 10
4.2.10. Hammam Sidi Trad 10
4.2.11. Hammam Beni Salah 10
4.2.12. Hammam Latrèch 10
4.2.13. Hammam Zatout 11
4.2.14. Hammam Zid 11
4.2.15. Hammam Galaya W 11
4.2.16. Hammam Galaya E 11
4.2.17. Hammam Essalhine 11
4.2.18. Hammam El Keria 11
4.2.19. La source thermale de L'Oued Hmimine 12
4.2.20. La source d'El Hamma 12
4.3. L'ouest Algérien 12
4.3.1. **Hammam Bouhadjar** 12
4.3.2. **Hammam Bouhanifia** 12
4.3.3. **Bain de la Reine** 12
4.3.4. **Hammam Boughrara** 13
4.3.5. **Hammam Rabbi** 13
4.4. Le sud Algérien 13
4.4.1. **La station thermale de Zelfana** **13**
4.4.2. **Hammam Serguine** 13
4.4.3. **Hammam Belaribi (KSOB)** 13
4.4.4. **Hammam Delaa** 14
4.4.5. **Hammam Salhin** 14

5. Microoganismes dans les eaux thermales 14
5.1. Les archébactéries 14
5.2. Les champignons 15
5.3. Les protozoaires 15
5.5. Les bactéries 15
5.6. Les actinobactéries 17
Chapitre 2: Les Actinobactéries 17
1. Généralités 18
2. Habitats 19
3. Biologie moléculaire des actinobactéries 20
4. Intérêts biotechnologiques des actinobactéries 20
5. Importances commerciales des actinobactéries en tant que producteurs de métabolites secondaires 21
5.1. Enzymes 23
5.2. Antibiotiques **24**
5.3. Pigments **25**
5.4. Bioherbicides **25**
5.5. Vitamines **26**
5.6. Autres molécules bioactives **28**
Chapitre 3: Les actinobactéries des écosystèmes extrêmes **28**
1. Les actinobactéries extrémophiles et extrémotolérantes **30**
2. Actinobactéries thermophiles **31**
3. Habitats chauds en tant que réservoir d'actinobactéries **31**
3.1. Le sol désertique **32**
3.2. Déchets industriels thermiques **33**
3.3. Les croûtes volcaniques **33**
3.4. Les sources thermales **34**
4. **I**solement des actinobactéries thermophiles
Matériel et méthodes **37**
PARTIE 1 : Etude de la biodiversité des actinobactéries dans les sources thermales de l'est Algérien **37**
1. Sites d'échantillonnage **38**
2. Isolement purification et conservation des actinombactéries **38**

2.1. Milieux d'isolements 39
2.2. Techniques d'isolements 39
2.2.1. Ensemencement directe après dilutions 39
2.2.2. Ensemencement après filtration 39
3. Purification et conservation des souches 39
3.1. Conservation pour courte durée 39
3.2. Conservation pour longue durée 39
4. Caractérisation macro et micromorphologie des isolats 39
4.1. Caractéristiques culturales 40
4.2. Microscopie 40
4.2.1. Microscopie optique à l'état frais 40
4.2.2. Coloration de Gram 40
4.2.3. Technique de lamelle 40
4.2.4. Observation par microscope électronique à balayage 41
5. Identification moléculaire des isolats 41
5.1. Conditions de culture des souches bactériennes et extraction d'ADN 41
5.2.Amplification par PCR 41
5.3. Séquençage 42
5.4. Extraction de l'DNA et amplification par PCR 42
5.5. Électrophorèse sur gel d'agarose 42
5.6. Séquençage 43
5.7. Analyse phylogénétique 43
5.8. Numéros d'accession des séquences nucléotidiques 43
6. Caractérisation physiologiques et biochimiques 43
6.1. Préparation de l'inoculum 44
6.2. Croissance à différentes températures 44
6.3. Croissance à différents pH 44
6.4. Croissance à différentes concertations de NaCl 44
6.5. Production de pigments mélanoides 44
6.6. La recherche de la catalase 44
6.7. Recherche de l'oxydase 45
6.8. Utilisation des glucides 46
PARTIE 2 : Etude de la biodiversité métaboliques des actinobactéries 46

1. Hydrolyse de la gélatine 46
2. Hydrolyse de la caséine de lait 46
3. Hydrolyse du Tween 80 46
4. La recherche de lécithinase et lipoprotéinase 47
5. L'hydrolyse de la pectine 47
6. L'hydrolyse de l'urée 47
7. La recherche de nitrate réductase 47
8. L'hydrolyse de cellulose 48
9. Hydrolyse de l'amidon 49
PARTIE 3 : Mise en évidence de la biodégradation des composés organiques de synthèse 49
1. Biodégradation de l'amidon et étude de l'activité amylolytique à température de 55°C 49
1.1. Préparation de l'inoculum 49
1.2. Culture en batch 49
1.3. Dosage de l'α-amylase 50
1.4. Effet de la température et du pH sur l'activité de l'α-amylase 50
2. Biodégradation des pesticides 50
2. 1. Mise en culture 51
1.2. Test de tolérance des souches performantes à des concentrations des pesticides 51
3. Biodégradation du tartre dentaire 51
3.1. Tests de biodégradation 51
3.1.1. Préparation de l'inoculum bactérien 52
3.1.2. Récupération et stérilisation des dents 52
3.1.3. Ensemencement des isolats en présence des dents tartrés 52
3.2. Effet des isolats performantes sur la flore buccale 52
3.3. Essai de culture en fiole contenant le tartre 52
3.4. Tests de toxicité 52
3.4.1. Préparation de la solution testée 53
3.4.2. Recherche de la quantité injectable à l'animal 53
3.4.3. Préparation du matériel animal 53
3.4.4. Répartition et traitement des animaux 54

3.4.5. Paramètres biochimiques mesurés
Résultats et discussion **57**
PARTIE 1 : Etude de la biodiversité des actinobactéries dans les sources thermales de l'est Algérien **57**
1. Caractéristiques physico-chimique des sites d'échantillonnage **58**
2. Isolement des actinobactéries **63**
3. Caractéristiques culturaux et microscopiques des isolats **63**
3.1. Caractéristiques culturales **64**
3.2. Observation microscopique **66**
4. Identification moléculaires des isolats actinobactériens **73**
5. Caractérisation physiologiques et biochimiques des isolats **76**
PARTIE 2 : Etude de la biodiversité métabolique **des actinobactéries** **76**
1. Production de certaines enzymes par les isolats des actinobactéries **79**
2. Hydrolyse de l'amidon **79**
2.1. Activité amylolytique à 55°C **80**
2.2. Effet de la température et du pH sur l'activité de l'α-amylase par les isolats TA3 et TA4 **84**
PARTIE 3 : Mise en évidence de la biodégradation des composés organiques de synthèse et des composés naturels **84**
1. Test de biodégradation des pesticides **84**
2. Test de biodégradation des pesticides à différentes concentrations par les souches performantes **84**
2.1. Cas des fongicides (Tachigazole) **84**
2.2.Cas d'insecticides (Rustile ; Deltamight ; Karateka et Prowl aqua) **85**
2.3.Cas d'herbicides (Zoom ; Granstar 75DF ; Glyphosate) **89**
3. Tests de biodégradation du tartre dentaire par les actinobactéries **90**
3.1. Test de l'effet des isolats performantes sur la flore buccale **90**
3.2. Tests de toxicité sur le comportement animal **91**
3.3. Paramètres biochimiques mesurés **94**
Conclusion et perspectives **97**
Références bibliographique **126**
Annexe

Introduction

Les sources chaudes représentent des eaux initialement souterraines qui ont été chauffées par l'énergie géothermique et qui remontent à la surface. Ce processus apporte des minéraux et des nutriments du fond de la terre, créant ainsi un environnement riche en nutriments avec des propriétés physiques et chimiques particulières. Ces eaux, abritent une grande biodiversité de microorganismes thermophiles et thermotolérants (Chan *et al*., 2017 ; Msarah *et al.*,2018). Cette population microbienne se développe de manière optimale à des températures comprises entre 45-80℃ (Alrumman *et al.,* 2018). D'après des études antérieures, ces microorganismes sont dotés de capacités d'acclimatation spéciales, qui leur permettent de résistent à de nombreux solvants, détergents et aux pH acides et basiques (Mohammad *et al*., 2017 ; Adiguzel *et al*.,2009).

Les actinobactéries font partie de cette population microbienne (Zhaoqi *et al*., 2009 ; Medjemadj *et al.*, 2020). Ces bactéries sont connues pour leurs modes de croissance essentiellement filamenteux. Les rares actinobactéries isolées à partir des sources chaudes, présentent des caractéristiques de thermophilie spéciales. Cela est du principalement à la présence des lipides membranaires qui contiennent plus d'acides gras saturés à chaînes droites que leurs analogues mésophiles. Grâce à cette caractéristique lipidique, ces bactéries peuvent se développer à des températures élevées en offrant le niveau de fluidité adéquat à leur fonction membranaire. (Agarwal et Mathur, 2016).

Les actinobactéries de ces écosystèmes, possèdent divers systèmes enzymatiques qui leur permettent de décomposer et de métaboliser des composés organiques les plus complexes. Ces enzymes sont impliquées dans des processus tels que l'hydrolyse, l'oxydation, la réduction, conduisant à la dégradation et à la détoxification de ces molécules xénobiotiques. La dégradation des pesticides par ces bactéries peut être influencée par divers facteurs environnementaux, tels que la température, le pH, la teneur en eau, la disponibilité des nutriments et la concentration des pesticides. Des conditions optimales doivent être maintenues pour faciliter une biodégradation efficace. (Prakash *et al*., 2001 ; Benimeli *et al.*, 2003).

A partir de ces bactéries, de nombreux produits à intérêt biotechnologique comme les antibiotiques, des sidérophores, des antitumeurs antinflamatoires, les antioxydants, des pigments et bien d'autres molécules ont été découverts (Sayeh *et al*., 2010 ; Verma *et al.,* 2016 : Fitri *et al.,* 2019). Aujourd'hui, les biotechnologistes sont orientés vers la production des thermozymes tel que les protéases thermostables (Aksoy *et al.,* 2012 ; Verma *et al.,* 2016 ;

Fitri *et al.*, 2019), les amylases qui peuvent être thermostables (Jadoon *et al.*, 2014), ainsi que les cellulases (Chaudhary et Pabhu, 2016). On les désigne sous le nom des thermozymes en raison de leur activité optimale et de leur stabilité qui dépassent 60°C. Selon Li *et al*. (2005), les enzymes qui ont une activité maximale au-dessus de 80°C sont qualifiées d'hyperthermophiles. Malgré les similitudes entre les mécanismes d'action des thermozymes et des enzymes mésophiles, leur structure diffère légèrement, ce qui leur permet d'améliorer leur stabilité (Zeikus *et al.,* 1998). Une stabilité accrue des thermozymes est également observée pour une plus grande diversité de pH, de salinité, de concentrations en solutés, etc. Il est donc possible d'utiliser les thermozymes dans diverses applications industrielles où elles sont parfaitement substituables aux mésozymes.

Les études sur la biodiversité des actinobactéries et la production d'enzymes thermostables provenant des sources thermales, sont en majorités récentes (Khaled *et al*., 2022 ; Peng *et al*., 2022 ; Al-rasheedi *et al.,* 2022 ; AlSediy *et al*., 2022). Elles restent insuffisantes et incomplètes, car ces écosystèmes cachent encore des secrets surtout concernant leurs métabolites thermostables (Hovik, 2019 ; Fitri *et al.*, 2019). Les travaux sur les sources Algériennes, sont encore plus rares (Medjemadj *et al*., 2020).

A ce titre, nous nous sommes fixés comme objectifs principaux d'isoler et purifier les actinobactéries à partir de certaines sources thermales situées dans l'est Algérien. Les caractérisations phénotypiques, physiologiques et moléculaires des isolats obtenus, sont également prévus afin d'identifier ces bactéries. Il s'agit aussi dans la partie pratique de cette thèse, de tester certaines aptitudes métaboliques de ces bactéries. Nous avons mis l'accent sur les biodégradations des pesticides et certaines activités enzymatiques. Dans la revue bibliographique, nous exposant un inventaire plus ou moins exhaustif des sources thermales Algériennes répertoriées. Des chapitres sur les actinobactéries en générale et spécialement les thermophiles, sont présentés.

Revue bibliographique

Chapitre 1 : Sources thermales en Algérie

1. Définition

Les sources chaudes, existent depuis la formation de l'océan primordial il ya 3.7 milliards d'années. Cet environnement exceptionnel n'a pas beaucoup changé au fil du temps. Les sources hydrothermales profondes sont le résultat de la dérive des continents. Les sept plaques qui constituent la croute terrestre s'éloignent les unes des autres provoquant des zones de fractures. Ces zones de fractures sont caractérisées par une activité volcanique intense. La lave qui monte en surface se refroidit et se solidifie, formant ainsi les principaux sites hydrothermaux. L'eau de mer s'infiltre dans les fissures et se réchauffe au contact des roches basaltiques en fusion, qui peuvent atteindre des températures très élevées (jusqu'à 400°C). Par d'autres fissures, l'eau remonte en surface (Laubier, 1991). Ces sources sont riches en composés réduits tels que le sulfure d'hydrogène, le méthane et l'ammoniac, ainsi qu'en éléments métalliques tels que le manganèse, le fer, le lithium, le cadmium, le cuivre et le zinc (Minic *et al.,* 2006).

En Algérie existe plus de 200 sources thermales, dont 80 sont reconnues par l'Etat. La plupart de ces sources se trouvent dans l'est du pays et les températures mesurées à l'émergence varient de 19°C à Beni Haroune à 98°C à Hammam Meskoutine. (Ouali, 2008).

Le programme Phreeqc est un outil utilisé pour modéliser les interactions chimiques entre les eaux souterraines et les minéraux présents dans les sédiments (Guigue, 1947). Il permet de calculer l'indice de saturation (IS) des minéraux évaporitiques tels que, l'anhydrite, le gypse, ainsi que des minéraux carbonatés et le CO_2 dissous. L'indice de saturation permet de déterminer si un minéral est susceptible de se former ou de se dissoudre dans une solution donnée. (Parkhurst *et al.,*1980). Le programme Phreeqc a permis de déterminer que la minéralisation des eaux est principalement influencée par la présence des sédiments Gypso-salins du Trias. Ces sédiments, sont largement répandus en Algérie et contiennent des minéraux évaporitiques tels que le gypse et l'anhydrite, qui peuvent se dissoudre dans l'eau et contribuer à sa minéralisation.

2. Historique

Les sources thermales de l'Algérie ont une longue histoire et ont été fréquentées par différentes civilisations au fil du temps. Les Romains ont laissé des traces de leur occupation dans certains sites, tels que les fontaines chaudes de Khenchela et Youks-les-Bains dans le

département de Constantine, ainsi que les Aqua Calidae, mentionnées par Antonin dans son Itinéraire en l'an 44 avant J.C, qui sont maintenant connues sous le nom de Hammam Righa. Ces sources thermales étaient très appréciées par les Romains, qui les utilisaient à la fois pour leurs propriétés curatives et pour les plaisirs de la baignade. Ces eaux chaudes étaient considérées comme bénéfiques pour la santé et étaient utilisées pour traiter diverses affections. Parmi celle-ci, les douleurs musculaires et articulaires, les problèmes de peau et les troubles digestifs. Au fil des siècles, les sources thermales ont continué à être utilisées et appréciées par les populations locales. Aujourd'hui, de nombreux sites thermaux en Algérie sont encore fréquentés par les habitants et les touristes à la recherche de bien-être et de détente. L'architecture typiquement romaine de certains monuments, situés à proximité des sources chaudes, est une preuve irréfutable de l'utilisation de ces eaux pour leurs effets médicinaux.

Les Turcs (1515-1830) ont également profité et ont contribué à l'amélioration de l'exploitation de ces plans d'eau qui se traduit par l'apparition de bains Turcs.

Au fil du temps, de nombreux chercheurs ont établi un certain nombre d'inventaires souvent incomplets et certaines sources restées complètement oubliées malgré leur importance. Cette étude a commencé en 1823 lorsque les premières recherches scientifiques sur le thermalisme en Algérie et les premières réglementations efficaces ont été introduites en précisant de nombreuses données médicales. Après cette étude, M. Ville a publié ses recherches sur (Pierre, eau et autres mines minérales des provinces d'Oran et d'Alger), en 1852, puis les docteurs Rotureau et Bertherand en 1860, étudient et classent 90 sources chaudes en Algérie. En 1880, Bails fit des recherches sur les sources thermales et minérales du département d'Oran. Après 9 ans de ces recherches, M. Ville publia une autre annonce sur les sources thermales et minérales d'Algérie. En 1911 le professeur Hanriot (médecin de la ville) a étudié avec d'autres détailles, plus de 60 sources chaudes en Algérie. Il existe également d'autres publications détaillées sur le même sujet qui parlent de la radioactivité de ces eaux. En 1923, les sources minérales thermales de l'Algérie dans le cadre de la carte géologique de l'Algérie durant la période 1940 et 1947. La même année, G. Charles a mené des recherches sur les eaux minérales chaudes de Hammam Righa. Au cours de cette période, les travaux sur les services miniers ont commencé et se sont achevés en 1949, Conduisant à la captation de la quasi-totalité des eaux de diverses sources chaudes d'Algérie.

En 1950, Guigue, chimiste et chef du laboratoire du service des mines, publie les résultats de ses analyses prouvant la qualité de ces eaux chaudes. Après cette période, de nombreux auteurs ont contribué à des travaux en Algérie dans ce domaine tel que :

- Carte des eaux minérales, eaux chaudes et chaleur minérale au 1/500 000 en Algérie par Verdeilen 1974.
- Les travaux de Dib Adjoulen 1985 sur le thermalisme en Algérie de l'Est, dans le cadre de sa thèse de doctorat de troisième cycle.
- Les travaux de Nedjai en 1987 sur l'hydrogéologie et l'hydrochimie des thermales de la région centre Algérie (Nord), dans le cadre de sa thèse de doctorat.
- Les recherches d'Issaâdien 1992 sur l'hydrothérapie géostructurale, faisant partie de sa thèse de doctorat d'Etat.
- La publication de Hacène et Christiansen 2007 sur les propriétés physico-chimiques des eaux thermales minérales des montagnes de Cheffia.
- La publication de Ouali *et al*. en 2007sur la faisabilité d'utilisation des eaux thermales de Zalfana dans la production d'hydrogène.
- L'article de Oualien 2008 sur les sources thermales en Algérie.
- La publication de Boudoukha et Athamenaen 2012 sur Caractérisation des eaux thermales de l'ensemble Sud Sétifien Est Algérien.
- La publication de Bekkouche en 2013 sur caractérisation des sources thermales de la région d'Azzaba.

3. Classification

Les eaux thermales peuvent être classées de différentes façons en se basant sur différents critères comme :

3.1. Origine géologique

3.2. Composition chimique

il ya trois types de classifications :

- Un classement qui repose sur les représentations graphiques des eaux sur le schéma piper.
- Une classification qui se base sur la concentration des ions dépassant 20% établit trois catégories : les eaux sulfatées, les eaux bicarbonatées et les eaux chlorurées.

- Une classification qui est proposée par Vuataz,1979 qui est basée sur la prédominance des anions ou cations.

3.3. Classification thérapeutique

Selon cette classification, les eaux thermales sont soit hypotoniques ou hypertoniques.

3.4. Température

Elle constitue un critère essentiel sur laquelle plusieurs classifications ont été élaborées, et plusieurs méthodes sont utilisés ce paramètre (Scholler, 1962 ; Castany, 1967 ; Verdeil, 1980). En basant sur ce critère, les sources thermales peuvent être classées en :

3.4.1. Eaux hypothermales

Les eaux émergent avec une température inférieure à celle de la partie supérieure de la zone d'homothermie ou à la température moyenne annuelle du lieu d'émergence supérieure à 4°C.

3.4.2. Eaux métriothermales

Ce sont des eaux qui émergent avec une température inférieure à 30 °C mais qui est supérieure à celle des eaux hypothermales.

3.4.3. Eaux mésothermales

Il s'agit d'eaux qui émergent avec une température comprise entre 30 °C et 50 °C.

3.4.4. Eaux hyperthermales

Il s'agit d'eaux dont la température à l'apparition dépasse les 50 °C et ne dépasse pas 100 °C.

4. Les sources thermales en Algérie

Cette liste contient les sources les plus connues et les plus utilisées

4.1. Région Algéroise

4.1.1. Hammam Righa

Il est situé à 60 Km de Blida et 100 Km au Sud-Ouest d'Alger à la wilaya de Ain Defla. la température de cette source est entre un maximum de 60°C et un minimum de 43°C, selon les mesures de Pouget et Chouchak, son pH est de 6.18 et une conductivité de 5600 µmho/cm. Les eaux de cette source sont de nature hypersulfatées calciques.

4.1.2. Hammam Melouane

Il est situé à 15Km au Sud-Ouest d'Alger à Wilaya de Blida dans la Daira de l'Arabaa. la température de cette source est de 30°C, et le pH égale à 6.44 et une conductivité de 20000µmho/cm, cette forte conductivité a cause de fortes teneurs en sel. Selon les mesures de Pouget et Chouchak en 1967, on observe également une radioactivité de 0,02 nanocuries/l dans cette source. On la distingue par une forte présence de chlorures, de sodium et de strontium.

4.1.2. Hammam Tellat

Il se trouve à quelques dizaines de kilomètres au Nord-Nord-Est de la ville de Lakhdaria. la température de cette source est de 32°C, le pH est de 6.7, une conductivité de 2800µmho/cm et un débit de 5 l/s. ces eaux sont de nature hypersulfatées calciques.

4.1.3. Hamman Ksenna

Ce Hammam est situé à environ 60 kilomètres d'Alger dans la commune d'Ain-Bassem. La température de cette source est de 62°C selon les mesures de Simon GUIGUE (chef de laboratoire du service des Mines et de la carte géologique de l'Algérie) en 1952, la valeur du pH est variée entre 6.43 – 6.53, La conductivité de cette source est de 17680µmho/cm, le débit est de 3000 l/min et la radioactivité est de 0,45 millimicrocuries/l. D'après Guigue en 1952, ces eaux présentent une concentration élevée de chlorure de sodium et de potassium, entraînant la production de H_2S provenant de la réduction des sulfates par les bactéries, ainsi que de CO_2.

4.1.4. Hammam Ibainem

Situé à environ dix kilomètres au Sud-Est de la ville d'Akbou, il se trouve là-bas. Les eaux présentent une température allant de 50 à 58°C, un pH de 6,2, une conductivité de 20000 µmho/cm et une radioactivité de 0,8 nanocuries. Selon Nedjai (1987), ces eaux renferment des niveaux élevés de calcium, de chlorures, de sulfate et de bicarbonates, ainsi qu'une émission importante de CO_2.

4.1.5. Hammam Berrouaghia

Il se trouve à seulement 6 km de la gare de Berouaghia. La température de cette source est de 44°C, le pH est de 7, le débit est de 60 l/min et sa conductivité est de 2875µmho/cm. De plus, selon les mesures de Pouget et Chouchak est, sa radioactivité est de 0,21 nanocuries/l.

Ces eaux présentent une composition carbonatée sodique. Elles ont une grande efficacité dans les problèmes de peau (Nedjai, 1987).

4.1.6. Hammam Sidi Yahiya

Situé dans le village d'Akbou. Il y a une température de 42°C, un pH de 06, une conductivité de 20000 µmho/cm et une radioactivité de 0,94 nanocuries/l dans ces eaux. Son taux de circulation est de quelques litres par minute. Ces eaux sont riches en chlorure de sodium.

4.1.7. Hammam Sillal

Situé dans la commune d'Akfadou, ce Hammam se trouve en grande kabyle, à environ 16 km au nord-ouest de Sidi Aich. Selon Pouget et Chouchak en 1967, la température de cette source varie de 46°C à 48°C, avec un pH de 6, une conductivité de 6430 µmho/cm et une radioactivité de 0.16 à 0.2 nanocuries/l. Ces eaux ont la composition de chlorure sodique.

4.2. L'est Algérien

4.2.1. Hammam et Biban (les portes de fer)

Situé à 6 kilomètres de la gare de Constantine, il se trouve ici. Selon Savornin en 1913, il se distingue par une température élevée (90°C), un pH de 6, une conductivité de 20000µmho/cm et une radioactivité de 0,12 nanocurites/l. Selon Nedjai (1987), les eaux se distinguent par leur odeur sulfureuse, qui est sodique et potassique.

4.2.2. Hammam sidi M'Cid

Vous trouverez ce Hammam à l'entrée du ravin de Rulmel, juste à l'entrée de Constantine. Il est chauffé à 30°C et a un débit de 4 litres par minute. Les informations demeurent toutefois très restreintes.

4.2.3. Hammam Guergour

Située à 60 km au Nord-Ouest de Sétif, cette station se trouve à la sortie des gorges traversées par l'Oued Boussellem. Dans ce Hammam, la température est de 44°C, le pH est de 6.9, le débit varie de 2500 à 2800 litres par minute et la radioactivité est élevée (122-150 millimicrocuries/l) (Boudoukha et Athemna, 2012). On regroupe ces eaux en tant qu'eaux Sulfatées-Calciques et Chlorurée Sodique.

4.2.4. Hammam sokhna

Le Hammam Sokhna est situé dans le sud de Sétif, dans l'Est algérien. À son émergence, la température de l'eau oscille entre 25°C et 43°C (Boudoukha et Athamna, 2012). On observe

une légère alcalinité du pH (7,25<pH<7,65) et une salinité moyenne, car la conductivité électrique oscille entre 3200 et 3710 µS.cm-1. Selon (Boudoukha *et al.*, 2015), les eaux présentent une forte teneur en anhydrite, aragonite, calcite, calcedoine, chrysotile, dolomite, gypse, sépiolite, talc et silice.

4.2.5. Hammam Meskhotine

Les eaux hyperthermales de cette station thermale sont les plus chaudes du monde, après les Geysers de l'Islande, avec des températures allant de 90 à 98°C. Située à l'Est de Constantine, à 110 km de Constantine et à 20 km de Guelma, son emplacement à 320 mètres d'altitude est particulièrement étonnant, entouré de collines et de montagnes boisées, à proximité de cascades solidifiées à l'apparence lunaire. Les Turcs ont construit ce Hammam. Selon Boudoukha et Athemna (2012), cette source se distingue par un pH de 7.75, un débit constant et persistant de 1650l/s, ainsi qu'une radioactivité de 13 millimicrocuries/l.

Selon (Lahlou *et al.*, 1998 ; Dib, 2004 ; Bouannane *et al.*, 2011), cette source est composée de saline et de calcaire, elle renferme du sodium (240 mg/l), du chlore (370 mg/l), du calcium (130 mg/l), du SO_4 (385 mg/l), du potassium (46 mg/l) et du HCO_3 (183mg/l), ainsi que du magnésium (37.4 mg/l) avec une libération d'hydrogène sulfuré (6.80 mg/l). Ces eaux ont une grande efficacité pour traiter les rhumatismes, l'arthrite et les problèmes respiratoires.

4.2.6. La source thermale de Hammam Belhachani

Située au Sud de Guelma, cette source se trouve à 10 km d'Aïn Makhlouf et à 10 km d'Aïn El Arbi. Il s'agit d'une Mechta située à 2 km à droite de la route Aïn Mekhlouf - AïnEl Arbi. Selon Bekkouche (2016), les eaux provenant de cette source se distinguent par un débit bas (0,5 l/s) et une température élevée qui oscille entre 63 et 72°C, ainsi qu'une composition chimique de type sulfaté calcique.

4.2.7. Hammam Guerfa

Situé à 37 km au Sud de Guelma, sur la route Aïn Mekhlouf – Aïn El Arbi, le Hammam se trouve à 500 mètres de la rive gauche de l'Oued Cheniour. La source offre une température allant de 60 à 68°C et ses eaux se distinguent par un débit de 1,1 l/s. et une odeur d'hydrogène sulfaté. Selon Bekkouche (2016), il est composé de sulfate calcique, ce qui entraîne la production de gaz H_2S (Dib, 2004).

4.2.8. Hammam N'Bails

Située à 40 km au Sud-Est de Guelma, Hammam N'Baïls se trouve au cœur de la commune de Hammam N'Baïls et à seulement 2 km de la mine du Nador. Il se distingue par un débit stable et constant de 5.33 l/s et une température de 45°C, et il est composé de sulfate sodique.

4.2.9. Hammam Mansourah

À environ 29 km à l'Ouest de la ville de Bordj Bou Arréridj, sur la route nationale N°5, se trouve cette source dans le village de Manssourah. On la distingue par une température de 29°C, un pH de 7.12 et une conductivité de 300µmho/cm, ce qui indique que ces eaux sont chlorurées sodiques.

4.2.10. Hammam Sidi Trad

Les Romains ont construit ce Hammam. Il se trouve à une distance d'environ 1 km de la frontière Algéro-Tunisienne, à environ 40 km au sud d'El Tarf et à environ 20 km au Sud-Est de Zitouna. Selon Hacene et Christian (2007), cette source se distingue par une température de 60°C, un pH faiblement basique (7.57), un débit de 0,9 l/s et une conductivité de 0,5mS/cm. Elle est de nature bicarbonatée calcique.

4.2.11. Hammam Beni Salah

Situé dans le Sud-Est d'El Tarf, à environ 10 km à l'Est du Chef-lieu de la Daïra de Bouhadjar, ce Hammam se trouve. La température des eaux provenant de cette source est de 45°C, le pH est de 7,43, le débit est de 0.71 l/s et la conductivité est de 1,5 mS/cm. Elles sont composées de bicarbonate sodique (Hacene et Christian, 2007).

4.2.12. Hammam Latrèch

Cette source se trouve dans les monts de Cheffia et se distingue par une température de 37°C, un pH de 7,47, un débit de 0.05 l/s et une conductivité de 1,9 mS/cm. Selon Hacene et Christian (2007), ces eaux présentent une composition bicarbonatée sodique avec une libération de CO_2 libre.

4.2.13. Hammam Zatout

Situé près de la frontière entre l'Algérie et la Tunisie, il se trouve au Sud-Ouest d'El Tarf et à 7 km à l'Est de Bouhadjar. Sa température est de 46°C, son pH est de 7.32, son débit est de 0.36 l/s et sa conductivité est de 2.2mS/cm. Selon Hacene et Christian (2007), ces eaux présentent une composition bicarbonatée sodique.

4.2.14. Hammam Zid

Situé dans le Sud-Ouest d'El Tarf. Sa température est de 40°C, son pH est de 6,72, son débit est de 0,09 l/s et sa conductivité est de 2,3mS/cm. Selon Hacene et Christian (2007), ces eaux présentent une composition bicarbonatée sodique.

4.2.15. Hammam Galaya W

Situé dans le Nord-Algérien, à la Wilaya d'El Tarf, ce Hammam se distingue par une température de 68°C, un pH de 6.35 et une conductivité de 2,7mS/cm. Selon Hacene et Christian (2007), ces eaux sont essentiellement chlorurées sodiques.

4.2.16. Hammam Galaya E

Il se trouve dans la Wilaya d'El Tarf, dans la localité de Hammamest, avec une température de 69°C, un pH de 6,59 et une conductivité de 2,7mS/cm. Selon Hacene et Christian (2007), ces eaux sont composées de chlorure sodique.

4.2.17. Hammam Essalhine

Il se trouve dans la région d'El Hamma, à une distance de 7 kilomètres de Khenchela. Leur température est de 70°C, leur pH est de 7,41 et leur débit est de 1400 litres par minute. Il y a principalement du Cl, du HCO_3 et du calcium dans cette source. Grâce à sa composition chimique, cette eau possède des propriétés thérapeutiques recommandées pour les affections rhumatismales, respiratoires et dermatologiques.

4.2.18. Hammam El Keria

À seulement quelques kilomètres de la route qui relie la ville de Béjaya au village de Yakouren, se trouve cette source. Selon Pouget et Chouchak (1967), sa température est de 44°C, son pH est de 7.10 et sa radioactivité est de 0.25 nanocuries/l. Ces eaux présentent une faible minéralisation et ont une conductivité d'environ 400µmho/cm. Selon Nedjai (1987), elles ont une composition bicarbonatée calcique.

4.2.19. La source thermale d'Oued Hmimine

Située à proximité de la commune d'Ain Cherchar, au Sud-Est de la ville de Skikda, cette source se trouve à 7 km d'Azzaba. Selon Bekkouche (2013), cette source présente une température qui oscille entre 42°C et 47°C, un débit de 2,25 l/s, un pH acide et une conductivité moyennement élevée à importante. La nature de cette source est sulfatée.

4.2.20. La source d'El Hamma

Selon Bekkouche (2009), elle se trouve à 15 km au Nord-Est d'Azzaba, à proximité de la commune de Ben Azzouz, à 5 km au Nord du village Oued El Kebir, et à 2 km de la route nationale Constantine-Annaba.

4.3. L'ouest Algérien

4.3.1. Hammam Bouhadjar

Situé à une distance de 21 km de la ville d'Aïn Témouchent, il s'élève à une altitude de 150 mètres et s'étend sur une superficie de 603 240 m^2. La mise en service de cette station thermale a eu lieu en 1974. Selon Boudoukha et Athemna (2012), cette source présente une température de 70°C et une radioactivité de 22,8 nanocuries/l. Ces eaux sont composées de sodium chlorure. Il existe également une quantité significative de Sulfate. Les rhumatismes et les conséquences de traumatismes ostéoraticulaires sont les principales indications thérapeutiques.

4.3.2. Hammam Bouhanifia

Situé à 25 kilomètres au Sud-Ouest de Mascara, il se trouve dans un paysage sauvage dans le Tell Oranais, le long de l'Oued El Hammam. La station thermale, située à une altitude de 230 mètres, est entourée de montagnes qui atteignent des sommets de 800 mètres.

La température de ces eaux est de 70°C, le débit est de 23 l/s et la radioactivité est de 27 millimicrocuries/litre. Selon Boudoukha et Athemna (2012). Ces eaux ont une nature Chloro-Sulfatée et sont délicieuses à savourer, d'autant plus qu'elles renferment une importante quantité de gaz carbonique en dissolution, ce qui les rend extrêmement digestibles. Le rhumatisme dégénératif (arthrose), le rhumatisme inflammatoire chronique, les conséquences de traumatismes et tous les autres problèmes liés aux troubles de la sphère ORL sont les principales maladies traitées.

4.3.3. Bain de la Reine

Situé à Mers-el-Kébir, à seulement 3 kilomètres d'Oran. La température de ces eaux est de 55°C, ce qui les rend efficaces contre le rachitisme

4.3.4. Hammam Boughrara

Le site se trouve à une altitude de 282 mètres à l'extrême Ouest du pays, près de la ville frontalière de Maghnia, sur les rives de l'Oued Tafna. Sa température est de 45°C. Ces eaux présentent une composition sulfatée et bicarbonatée de sodium. Les recommandations

médicales concernent les domaines de la rhumatologie, de la dermatologie, de la gynécologie et de la respiration.

4.3.5. Hammam Rabbi

Situé à 20 km de la ville de Saîda sur l'axe Saida - Oran, ce site est situé dans un environnement d'une beauté impressionnante. Sa vitesse est de 8 l/s et sa température est de 40°C. Les eaux thermales du hammam Rabbi sont utilisées pour traiter différentes affections telles que la dermatologie, les douleurs rhumatismales aiguës, les articulations, les fièvres anémiques, les affections cutanées et respiratoires.

4.4. Le sud Algérien

4.4.1. La station thermale de Zelfana

Situé au Sud-est de Ghardaïa, à une distance de 100 km du centre de la Wilaya. Selon l'Agence de Bassin Hydrographique Sahara (ABHS), cette région est située à une altitude de 480 mètres et s'étend sur une superficie de 2220 kilomètres carrés. Selon Ouali (1996), les eaux provenant de cette source se distinguent par un débit élevé (0.36 m^3/s) et une température de 46°C. Selon Ouali *et al.* (2007), ces eaux sont de nature chlorurée sodiques.

4.4.2. Hammam Serguine

Il se trouve dans la vaste plaine de Sidi Ladjel, à environ 64 km au Sud-Ouest de la ville d'Ain Ouassera. La température de ces eaux est de 38°C, le pH oscille entre 7 et 7,8, et la conductivité est de 8800µmho/cm. Ces eaux sont composées de sodium chlorurée.

4.4.3. Hammam Belaribi (KSOB)

Situé à environ 13 kilomètres au Nord de M'Sila, ce Hammam se trouve à quelques centaines de mètres de la route nationale N°5. La source présente une température de 31°C, un pH compris entre 7 et 7,8 et une conductivité de 2000 µmho/cm. La nature des eaux provenant de cette source est sulfatée calcique.

4.4.4. Hammam Delaa

Il est situé à une distance d'environ 15 km à vol d'oiseau du Sud de Mansourah et à environ trente kilomètres au Nord-Ouest de M'Sila. La température de cette source est de 41°C, le pH est de 6.9 et sa conductivité est de 3800µmho/cm. Il s'agit d'une source sulfatée sodique.

4.4.5. Hammam Salhine

Situé à environ 8 kilomètres de Biskra. Selon les informations du cahier du centenaire de l'Algérie n°V en 1930, il présente une température de 45°C et un débit d'environ 1,4 l/min.

5. Microorganismes des eaux thermales

Les eaux thermales ne sont pas inoffensives, elles renferment une flore microbienne locale qui est liée aux caractéristiques physiques et chimiques de ces milieux. En 1969, à travers ses recherches, Thomas Brock a démontré que des micro-organismes peuvent survivre à des températures proches et même supérieures à 100°C. Au voisinage des sources chaudes terrestres et sous-marines, ces bactéries thermophiles se multiplient. Les scientifiques ont observé que ces micro-organismes ont créé des structures moléculaires extrêmement spécifiques pour leurs protéines et leurs acides nucléiques, dans le but de faire face aux pressions et aux températures élevées de leur milieu. On retrouve parmi les microorganismes présents dans ces sources thermales :

5.1. Les Archaebactéries

Le groupe des Archea a été isolé des sources hydrothermales océaniques profondes et côtières. On trouve aussi dans cette catégorie l'espèce *Pyrolobus fumarii* isolée d'une cheminée hydrothermale de la dorsale medio atlantique qui détient le record de la température de croissance la plus élevée qui est de 113°C. Une autre espèce dénommée *Pyrococcus abyssi*présente des aptitudes à se développer à des températures qui arrivent jusqu'à 106°C (Zoran *et al*., 2006). Le groupe des Archébactéries les plus répondus dans ces sources sont les genres suivants *Beggiatoa, Pyrodictium, Thermococcus, Pyrococcus, Thiothrix* (White, 1991 ; Zoran *et al.,* 2006).

5.2.Les champignons

Les champignons thermophiles issus des sources thermiques ont été cependant très mal étudiés et restent inexplorés. Ils ont développé des mécanismes leur permettant de prospérer dans de larges plages de températures, en fonction de leurs besoins optimaux de croissance. Parmi les champignons isolés à partir des sources thermales, on trouve l'espèce *Thermoascus aurantiacus* (Hicks *et al.,* 2003) et le genre *Myceliophthora* qui sont connus pour leur thermophilie.

L'étude de la diversité des champignons dans les deux sources thermales du nord du Sikkim ; située au nord-est de l'Inde, montre la dominance des genres suivants : *Fusarium Colletotrichum, Pochonia, Pyricularia, Neurospora, Trichoderma* et *Aspergillus* (Das *et al.,*

2021). La présence des genres des champignons thermotolérantes est prouvée dans les travaux de Salano *et al.*, 2018, où ils ont réussi à isoler les genres ; *Penicillium, Aspergillus, Alternaria* and *Fusarium* à partir de la source thermale de Bogoria à Kenya. Les levures sont très rares dans les sources thermales on trouve le genre *Saccharomyces* isolée à partir de la source thermale de Bogoria. (Salano *et al.*, 2018).

5.3.Les protozoaires

Les protozoaires thermophiles et thermotolérants sont très mal étudiés par rapport aux autres microorganismes. Un protozoaire prédateur de bactéries thermophiles, appelé *Vorticella*, prospère dans les eaux chaudes et acides du ruisseau Obsidian en (Anatolie orientale). Les eucaryas thermophiles comprennent une forme dangereuse pour l'homme : *la Naegleria* est un type d'amibe, qui peut provoquer des maladies et la mort chez l'homme s'il est inhalé par le nez.

5.4. Les bactéries

On trouve les bactéries sulfato réductrices comme le genre *Archaeglobus* (Lampreia *et al.*, 1991 ; Zoran *et al.*, 2006). D'autres bactéries comme les bactéries méthanogènes du genre *Methanococcus* ont été également isolés à partir de ces eaux (Bartlett, 1995 ; Zoran *et al.*, 2006). L'espèce *Thermus aquaticus* vivant à proximité des sources du parc de Yellowstone présentait des capacités à vivre à des températures allant de 50 à 80 °C (Brock, 1969). C'est une bactérie Gram négative, aérobie et hétérotrophe, présentant des caractéristiques très importantes. La bactérie *Aquifex aerolicus* est une autre espèce thermophile qui a été isolée à partir de sources thermales sous-marines dans la région de Vulcano, en Italie. Elle est capable de survivre et de se développer à des températures allant jusqu'à 95°C (Huber, 1986).

5.5.Les actinobactéries

Dans la littérature, les études sur la communauté actinobactérienne présentes dans les stations thermales sont très rares. Une ancienne étude en Chine, montre la présence d'une nouvelle espèce dénommée *Streptomyces thermogriseus* isolée à partir des sédiments près de la source thermale de Yunnan en Chine (Li-Hua *et al.*,1998). Des espèces hyperthermophiles ont été isolées et identifiées à partir d'une autre source thermale dénommée « Tengchong Frog Mouth, Yunnan-chine ». Cette source chaude exhibe des caractéristiques physico-chimiques particulières avec une température de 81°C et un pH de 7.5. Ce sont les espèces *Nakamurella multipartita, Frankia* sp et *Sporichthya polymorpha*, qui ont été isolées à partir de ces sources.

Cependant et d'après ces chercheurs, les espèces isolées peuvent provenir des sols proches de cette source. Les auteurs ont confirmé cela par la présence de ces mêmes espèces dans les sols adjacents (Zhaoqi *et al.*, 2009). Contrairement à ces travaux et dans la même source thermale, les travaux de Zhang *et al*., 2007, ont affirmés la présence de ces bactéries dans cette ces eaux chaudes. Dans ces travaux, une nouvelle souche nommée LA5, *Plinifilum yunnanense* sp. nov a été officiellement décrites (Zhang *et al*., 2007). Deux autres actinobactéries, *Thermoactinomyces thalpophilus* et *T. sacchari* ont été isolés à partir des sédiments et sol d'une source thermale située à West Anatolia (Uzel *et al*., 2011). *Thermoactinomyces* sp. JIR-004 et *Thermoactinomyces daqus* DSM 45914T, sont deux autres actinobactéries avec des aptitudes de produire des enzymes thermostables qui ont été décrites dans les eaux d'une station thermale en Armenie (Hovik, 2019). En Algérie, les investigations de Mokrane *et al.*, 2016, ont été réalisées sur les sédiments à proximité de la station thermale de Khenchela. Ils ont permis de décrire une autre nouvelle souche nommée *Thermoactinomyces khenchelensis* Plus récemment, les travaux de Medjmadj *et al.*,2020, ont ouvert des voix de recherches très intéressantes dans ce domaine. Plusieurs actinobactéries provenant des eaux chaudes de l'est Algérien et présentant des aptitudes métaboliques importantes ont été isolées et identifiées.

Chapitre 2 : Actinobactéries

1. Généralités

Le nom "Actinomycètes" est dérivé du grec "atkis" (rayon) et "mykes" (champignon). Des bactéries et des champignons (Das *et al.,* 2008). Comme les champignons, ils forment des mycéliums, des réseaux de filaments ramifiés et des spores asexuées (Williams *et al.,* 1993 ; Sanglier et Trujillo,1997).

Pour la première fois, Cohn a isolé les actinobactéries ou actinomycètes à partir de sources humaines en 1875. En 1943, S. Waksman a réussi à extraire un type d'actinomycètes à partir du sol. On peut classer l'histoire des actinomycètes en quatre catégories principales. L'une des premières concerne la découverte de leur rôle dans la pathologie, qui s'étend de 1874 à 1990. La deuxième période (1900-1919) concerne la découverte et l'analyse des actinobactéries présentes dans le sol, grâce aux études menées par Dekraisky, Cohn, Waksman et Curtis. Par la suite, la période (1919-1940) a été marquée par une meilleure compréhension des germes grâce aux études menées par Waksman, Lieske et Krassilinkov, entre autres. La période historique la plus récente concerne la production d'antibiotiques par les actinobacteries. En 1940, elle débute et le nom de Selman Waksman est intrinsèquement associé à elle (le minor, 1989).

Selon la classification de Bergey en 2007, les actinomycètes appartiennent à la classe *Actinobacteria* (Règne : Bactéries, Phylum : *Actinobacteria*, Classe : *Actinobacteria*) et 5 sous classes, 6 ordres (les ordres principaux sont : Actinomycetales, Bifidobacteriales, Corynebacteriales, Micrococcales, Propionibacteriales), 41 familles et 193 genres et 1711 espèces. (Bouizgarne et Ben Aouamar, 2014).

Ces bactéries constituent un groupe très hétérogène. Ce sont des Gram-positives, vivant librement, saprophytes, aérobies, filamenteuses en général, à forte teneur en G+C de leur ADN (70%) (Larpent et Sanglier, 1989 ; Enseigne, 1992 ; Chun *et al.,* 1997). Elles forment des filaments ramifiés ou des hyphes qui peuvent persister en tant que mycélium stable ou se fragmenter en éléments de forme bâtonnets ou coccoïdes. Lorsqu'ils sont cultivés sur une surface d'agar, les actinobactéries se ramifient pour former un réseau d'hyphes se développant à la fois à la surface et sous la surface de l'agar. Le réseau d'hyphes à la surface est appelé mycélium aérien et les hyphes sous la surface sont appelés mycélium du substrat.

La composition de la paroi cellulaire des actinomycètes varie considérablement entre les différents groupes. Cette caractéristique est facilement exploitée pour identifier les nouveaux

genres d'actinobactéries (Prescott *et al*., 2008). Elles se développent lentement avec un temps de génération moyen d'environ 2 à 3 heures donnant des filaments ramifiés de 0,5-1,0 µm de diamètre (Ottow et Glathe, 1968 ; Eunice, 1983). Le diamètre des hyphes est plus petit que celui des champignons (Gottlieb, 1973).

Selon Tighidet (2011) et Danilenko *et al.* (2005), le cycle de vie des actinobactéries est complexe, avec trois processus physiologiques principaux : la croissance végétative, la différenciation cellulaire et la mort. La germination des spores débute leur cycle de vie lorsque les ions de calcium sont présents, ce qui donne naissance à un mycélium primaire ramifié (O'Gara *et al*., 2008). **(Fig. 1).**

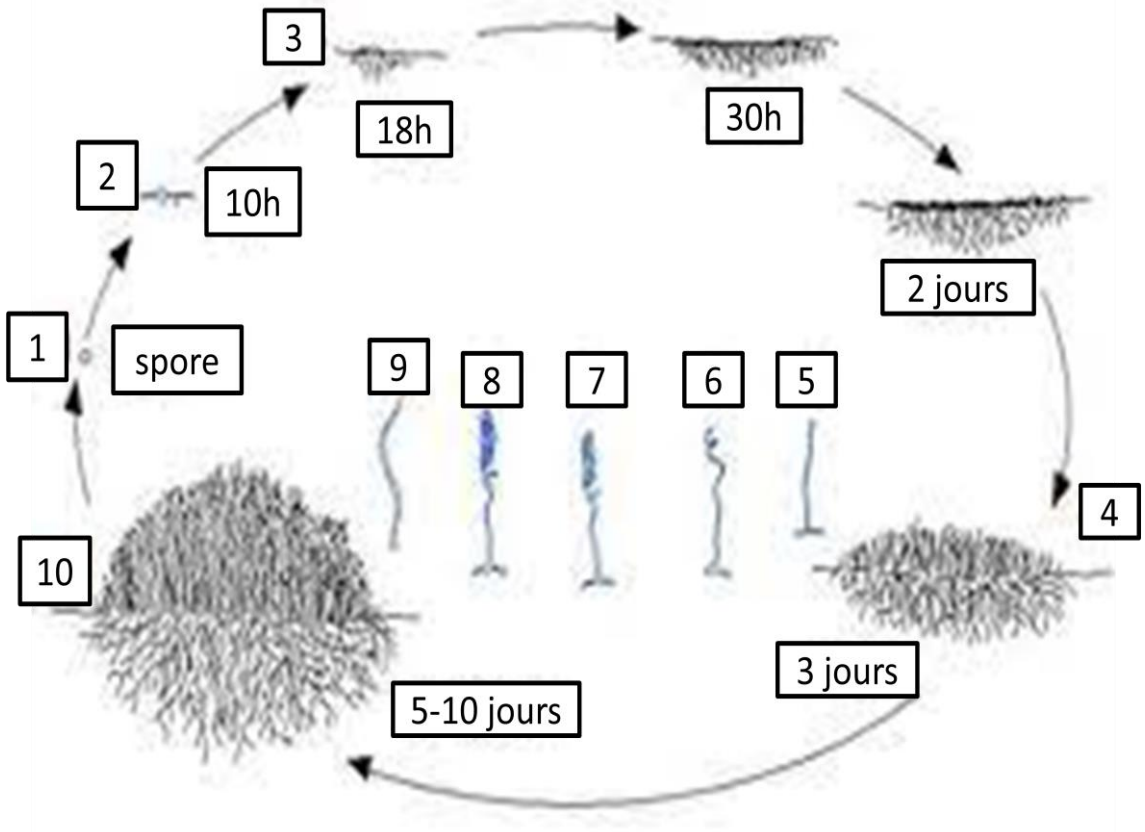


Figure 1 : Cycle de développement des *Streptomyces* sur milieu solide (Hopwood *et al.*, 2007)

2. Habitats

Les actinobactéries font partie des groupes de micro-organismes les plus répandus dans la nature Très peu d'habitats naturels en sont totalement dépourvus (Goodfellow et Williams,1983). Dans certains de ces habitats, tels que les sols, l'eau et le fond des lacs, les

composts, elles mènent une existence normale (Loqman, 2009). Dans d'autres substrats, comme l'eau de mer et la poussière, il semblerait qu'elles sont que dans un état transitoire. Les actinobactéries se trouvent en abondance dans tous les sols dans le monde entier, tels que les sols alcalins, les sols désertiques, les sols des marais salants jusqu'à ceux situés sous les écosystèmes glaciers. Elles sont également présentes sur les résidus végétaux et dans diverses denrées alimentaires, telles que les fruits, les légumes, le lait et les produits laitiers, ainsi que les produits de la mer et le cacao.

Les actinobactéries ont été également isolées dans de nombreux environnements aquatiques (Jensen *et al.,* 1991 ; Ghanem *et al.,* 2000), d'eau douce (Kitouni *et al.,* 2007) et dans les marécages salés (Al-Zarban *et al.,* 2002 ; Boughachiche *et al.,* 2005).

Tableau1 : Répartitions de quelques genres d'actinobactéries dans la nature (Goodfellow, 1983).

Genre	Habitat
Actinomodura	Sol
Actinoplanes	Sol, eau et litière
Frankia	Nodule de racine
Microbispora	Sol
Micromonospora	Sol et eau
Nocardia	Sol et eau
Rhodococcus	Sol, eau, fumier et litière
Sacharomonospora	Matière en décomposition
Streptomyces	Sol, eau et litière
Streptosporangium	Sol
Thermomonospora	Matière en décomposition et fermentation

3. Biologie moléculaire des actinobactéries

A cause de leur importance économique, ce sont surtout les *Streptomyces* qui ont été étudiés sur le plan génétique et biologie moléculaire (Goodfellow *et al.,* 1987). La taille de

leur génome est de 1.5 à deux fois plus grande que celle d'*Escherichia coli*. Elle varie de 5 à 10^3 kilobases. L'acide désoxyribonucléique des actinobactéries est riche en guanine et cytosine de (60 à 75 %), les *Streptomyces* possèdent le plus haut pourcentage de (73 à 75 %). Ils ont un chromosome unique en plus des plasmides. Les *Streptomyces* sont génétiquement très instables, ils sont caractérisés par des taux de mutations particulièrement élevés (Birch *et al.*, 1990).

4. Intérêts biotechnologiques des actinobactéries

Les actinobactéries sont d'excellentes candidates pour la production de substances aux propriétés intéressantes. Ces bactéries sont connues par leur rôle important dans la minéralisation et la décomposition des matières organiques (Amidon, cellulose, lignine...), grâce à la production de nombreuses enzymes lytiques extra cellulaires comme par exemple les xylanases, amylases, les lipases. Il y a une demande croissante au niveau industriel pour des enzymes d'origine microbienne afin d'améliorer certains procédés de fabrication. Il existe différents domaines d'applications d'enzymes microbiennes tel que les industries de textile (décoloration de jeans), papeterie (procédé de blanchiment de la pâte à papier), dépollution (attaque des substances phénoliques), industrie alimentaire (boulangerie, ...) etc.,. Les Actinobactéries en général, et plus particulièrement les *Streptomyces*ont ont une importance médicale et industrielle parce qu'ils caractérisés par la production des antibiotiques de structures très diverses et en quantité abondante. En effet, plus de cinquante antibiotiques différents ont été détectés seulement dans le genre *Streptomyces*, y compris la streptomycine, la néomycine, le chloramphénicol et les tétracyclines.

5. Importance commerciale des actinobactéries en tant que producteurs de métabolites secondaires

Les métabolites secondaires microbiens sont les produits de faible masse moléculaire du métabolisme secondaire. J.D. Bu "Lock 1961 est le premier à introduire explicitement le terme "métabolite secondaire" en microbiologie. Les métabolites secondaires microbiens ne sont pas essentiels à l'organisme producteur. Ils sont biosynthétisés à partir d'un ou plusieurs métabolites généraux (primaires) par une plus grande variété de voies. Ils sont principalement produits par un groupe relativement restreint de bactéries et de champignons, mais leur variation intergénérique, interspécifique et intraspécifique est extrêmement élevée. Les actinobactéries sont des bactéries précieuses sur le plan commercial car elles sont bien

exploitées pour leurs métabolites secondaires, notamment les enzymes, les antibiotiques, les pigments et bien d'autres biomolécules.

5.1. Enzymes

Dans la nature, il existe une grande variété de micro-organismes qui sécrètent des enzymes extracellulaires qui peuvent dégrader de nombreux composés polymères. Les actinobactéries font partie intégrante de cette microflore. Ces enzymes ont trouvé applications en biotechnologies, en chimie clinique et en thérapie médicale. Traditionnellement, les actinobactéries sont bien connus en tant que producteurs d'antibiotiques, aujourd'hui elles sont explorées à grande échelle pour la production d'enzymes industrielles. Une variété d'enzymes d'importance commerciale est connue pour être produites par les actinobactéries comme les protéases, les amylases, la cellulose etc., Toutes ces enzymes sont généralement des hydrolases (Prakash *et al.*, 2001). Les actinomycètes peuvent fournir des enzymes pour de nombreux processus biotechnologiques. Ainsi, les glycosidases de toutes sortes sont exploitées pour la dégradation de la biomasse végétale et les protéases sont très actives et servent d'additifs aux détergents et sont même utilisées dans l'industrie du tannage. Les glucose-isomérases ont été utilisées avec succès pour obtenir des sirops à forte teneur en fructose. En outre, les enzymes bactériolytiques des actinobactéries peuvent être utilisées pour la clarification de la bière et du vin et servent aussi de conservateurs alimentaires non toxiques. Les enzymes produites par les actinobactéries semblent très prometteuses en tant que préparation immobilisée pour les tests de diagnostic clinique de routine (Abdullah *et al.*, 2008).

Les industries des détergents, de textile, de la pâte de papier, de la synthèse organique et des biocarburants sont les principaux consommateurs d'enzymes hydrolytiques thermorésistantes. La demande d'enzymes plus stables (notamment produites par les microorganismes thermotolérants ou thermophiles) dans de nombreuses applications industrielles croît rapidement aujourd'hui **(tableau 2).**

Tableau 2 : Enzymes commercialement pertinentes produites par des actinobactéries thermophiles et alcaliphiles et leurs utilisations potentielles

Enzyme	Souches d'actinobactéries	Température etpH optimaux	Applications industrielles	Les références
Amylase	*Thermomonospora viridis* TF-35	60 ° C et 6,0	Détergent Cuisson Papier et pâte	Takahashi *et al.*, 1992
	Thermomonospora curvata	65 ° C et 5,5–6,0	Industrie textile	Glymph et Stutzenberger, 1977
Protéase	*Saccharomonospora viridis SJ-21*	70 ° C et pH 9	Détergents Pharmaceutique	Jani *et al.*, 2012
	Nocardiopsis prasina HA-4	55 ° C et pH 7–10	Cuir Brassage	Ningthoujam *et al.*, 2009
Keratinase	*Actinomadura keratinilytica* souche Cpt29	70 ° C et pH 10	L'industrie du cuir	Habbeche *et al.*, 2014
	Thermomonospora curvata	65 ° C et pH 6	Utilisations pharamaceutiques	Stutzenberger, 1971
Xylanase	*Thermomonospora fusca*	60 ° C et 7,0	Papier et pâte Cuisson	McCarthy *et al.*, 1985
	Kocuria sp. RM1	30–85 ° C et pH 4,5–9	L'alimentation animale	Krishna et al., 2008
	Streptomyces sp. Ab 106	60 ° C et pH 9,0		Techapun *et al.*, 2002
Acétylxylane estérase	*Thermobifida fusca* NTU22	80 ° C et 8,0	Papier et pâte	Yang et Liu, 2008
Dextranase	*Streptomyces* sp. NK458	60 ° C et 9,0	Moulins à sucre	Purushe *et al.*, 2012
Nitrile hydratase	*Pseudonocardia thermophila* JCM 3095	Thermostable (50–80 ° C)	Production d'acrylamide	Martinez *et al.*, 2014
Laccase	*Thermobifida fusca* BCRC 19214	Stable à 50 ° C et pH 10,0	Traitement des déchets	Chen *et al.*, 2013
			Traitement de teinture textile	
Monoxyde de carbone déshydrogénase	*Streptomyces* sp. souche G26	69 ° C	Génération de bioénergie Biofiltres	Bell *et al.*, 1988

5.2. Les antibiotiques

Parmi les genres des actinobactéries, *Streptomyces* est une bactérie star dans la production d'antibiotiques. En effet, plus de deux tiers des antibiotiques cliniquement utiles d'origine naturelle, proviennent de ce genre. La streptomycine, est un exemple d'antibiotique amino-glycoside produit par *Streptomyces griseus* (Schatz and Waksman, 1944). Le **tableau 3** résume des exemples de molécules à activités anti-cellulaires qui sont produites majoritairement par les *Streptomyces*.

Tableau 3 : Quelques antibiotiques d'importance clinique provenant d'actinobactéries (Aditi and Nupur, 2017)

Antibiotiques	Organismes	Active contre
Amphotericine B	*Streptomyces nodosus*	Champignons
Erythromycine	*Streptomyces erythreus*	Bactéries Gram positif
Neomycine	*Streptomyces fradiae*	Large spectre
Streptomycine	*Streptomyces griseus*	Bactéries Gram négatif
Tetracycline	*Streptomyces rimosus*	Large spectre
Vancomycine	*Streptomyces orientalis*	Bactéries Gram positif
Gentamicine	*Micromonospora purpurea*	Large spectre
Rifamycine	*Streptomyces mediterranei*	Tuberculose
Tetracycline	*Streptomyces aureofaciens*	Large spectre
Actinomycine	*Streptomyces chrysomallus*	Large spectre
Actinorhodine Methylenomycine Undecylprodigiosine Perimycine	*Streptomyces coelicolor*	Large spectre
Chloramphenicole	*Streptomyces venezuelae*	Large spectre

5.3. Les pigments

Les pigments peuvent être définis comme des substances colorantes naturelles produites par les plantes, les animaux et les micro-organismes (bactéries, champignons, algues). Bien que les pigments étaient principalement utilisés comme agents colorants dans diverses industries, les chercheurs se sont concentrés, au cours de la dernière décennie, sur l'utilisation de pigments issus de l'agriculture biologique en tant qu'antioxydants dans les industries pharmaceutiques et alimentaires (Prakash *et al.*, 2001). Naturellement, ce sont des organismes colorés qui produisent une variété de pigments intracellulaires et extracellulaires. La mélanine et d'autres colorants en sont des exemples. Elles ont aussi différentes fonctions biologiques. Les actinobactéries avec leurs colorations naturelles multiples, sont connus pour produire une grande variété de pigments (**tableau 4**). Ces colorants sont de deux types : les pigments diffusibles (les pigments qui diffusent de l'organisme dans le milieu gélosé) et les pigments non-diffusibles (les pigments restent dans l'organismes et ne diffusent pas dans le milieu gélosé).

Tableau 4 : Variétés de pigments produits par les actinobactéries

Pigments produits	Genres d'actinobactéries	Références
Mélanine	*Streptomyces*	(Conn and Conn, 1943)
Carotenoids	*Streptomyces griseus, Streptomyces setonii, Streptomyces coelicolor*	(Takano, 2006)
Prodigiosine	*Serratia, Streptoverticillium rubrireticuli, Streptomyces longisporus*	(Venil and Lakshmanaperumalsamy, 2009)
Anthracycline glycoside	*Streptomyces galilaeus, Streptomyces melanogenes, Streptomyces peucetius*	(Cassinelli *et al.*, 1982)
Naphthoquinone	*Streptomyces coelicolor*	(Gerber and Wieclawek, 1966)
Phenoxazinone	*Streptomyces parvullus*	(Smith *et al.*, 2004)

5.4. Les bioherbicides

Les actinobacteries sont capable de produire d'autres types de métabolites secondaires comme herbicides contre les herbes indésirables et les mauvaises herbes. Nous citons à titre d'exemple, *Streptomyces saganonensis* qui produit des herbimycines qui contrôlent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones. Une autre souche *Streptomyces* sp. Produit un herbicide appelé l'anisomycine, qui est un type d'inhibiteur de croissance pour les mauvaises herbes herbacées annuelles telles que le gazons de crabe et les mauvaises herbes à feuilles larges. L'anisomycine peut produire les petites molécules de barnyardness et crabe commun mort au-dessus de 50 ppm et inhiber la croissance de radicelle inférieure à 12,5 ppm. Il provoque la mort de la plante par l'accumulation de l'ammoniac et contrôler phosphorylation photosynthétique (Xiliang, 1994). Le bialaphos, c'est un métabolite produit par *Streptomyces viridochromogenes* ; elle est très utilisée pour tuer les mauvaises herbes à feuilles larges et les mauvaises herbes herbacées annuelles et pérennes en inhibant la synthèse de la glutamine. Une autre espèce du même genre *S. hygroscopicus* est capable de produire de la coformycine, carbocyclique et de l'hydantocidine, ce qui peut réduire la synthèse de l'aclenylosuccinate en augmentant le contenu de l'ATP et en retenant la synthèse des proyéines. De plus, la phthoxazoline, l'hydantocidine et l'homoalanosine produites par *Streptomyces* sp. Peut contrôler plusieurs mauvaises herbes (Yan Chu, 1993). La même souche a la capacité d'inhiber la croissance d'*Echinochilora crusgalli*. Aussi bien, *Streptomyces* sp. KA1-3, KA1-4, KA1-7 et KA23A ont été trouvés hautement efficace contre *E. rotundus* (Dhanasekaran *et al.,* 2010 ; Dhanasekaran *et al.,* 2012). L'activité herbicide des composés bioactifs N (naphtalène-1-yl) propanamide et N-phénylpropanamide de *Streptomyces* sp. KA1-3 (Priyadharsini *et al.,*2013) a également été évalué.

5.5. Les vitamines

La vitamine B12 est une vitamine produite par des actinobactéries (Rickes *et al.,* 1948 ; Lichtman *et al.,* 1949). Il a été remarqué, que la production de la vitamine B12 par les actinobactéries est doublement bénéfique en industrie. En effet, les fermentations produisant les antibiotiques comme la streptomycine, l'auréomycine, la griseine et la néomycine produisent aussi de la vitamine B12 si le milieu est complété par du cobalt sans affecter les rendements des substances des antibiotiques (Lichtman *et al.*,1949). Autres recherches ont montré que certains actinobacteries qui ne produise pas des antibiotiques sont capable de produire plus de cette vitamine que celles qui produisent des antibiotiques. Des études ont

suggéré que les actinobactéries produisaient d'autres vitamines hydrosolubles, comme les dérivés d'acide pteroylglutamique et la thiamine favorisant la croissance de certaines souches de *Leuconostoc citrovorum* (Anandan.,2016).

5.6. Autres molécules bioactives

D'autres molécules bioactives tel que les Alcaloides, les lynamicine et les marinopyrroles sont produits par des actinobactéries terrestres ou marines (Vandecasteele, 2005). Beaucoup des composés anticancéreux sont dérivés des actinobactéries citons comme exemple :la chinikomycine A qui est une nouvelle molécule anticancéreuse isolée du genre *Streptomyces* sp. (Manivasagan *et al.*,2014), les marinomycines qui sont isolées de la souche *Marinispora* sp. (Asolkar *et al.,* 2017) et les pipérazimycines isolées d'un *Streptomyces* sp. Strain CNQ-593 (Hassan *et al.,* 2017).

Parmi les halométabolites produites par les actinobactéries, plusieurs présentent une activité anti-inflammatoire . Les Cyclomarines et les Cyclomarazine en des exemples. Elles sont produites par *Streptomyces arenicola* CNS-205. Les Diazépinomicine issus de la souche *Micromonospora* sp. (Choudhury *et al*.,2020).

Chapitre 3 : Actinobactéries des écosystèmes extrêmes

1. Actinobactéries extrémophiles et extrémotolérantes

Les actionobactéries sont connues pour se produire non seulement dans des environnements normaux, mais aussi dans des environnements extrêmes, caractérisés par un pH acide ou alcalin, des températures basses ou élevées, la salinité, un rayonnement élevé, de faibles niveaux d'humidité disponible et des nutriments (Zenova *et al.,* 2011). La capacité des actinobactéries extremophiles et extremotolérants de survivre dans des conditions hostiles et défavorables est a cause de leurs diversité physiologique et la flexibilité. La forte abondance d'espèces d'actinobactéries a été enregistrée dans tous les environnements extrêmes (Bull, 2010). Ce constat avait brisé le paradigme traditionnel de la prédominance des actinobactéries dans le sol et les habitats d'eau douce. D'énormes données ont été rapportées sur des actinobactéries isolées à partir des environnements normaux (pH neutre et température allant de 20 à 40°C). Seules quelques recherches ont été menées pour comprendre la diversité des actinobactéries dans les environnements extrêmes, leur rôle écologique et leurs mécanismes d'adaptation. Les polyextrémophiles et les espèces d'actinobactéries polyextrémotolérantes existent également dans des environnements présentant deux conditions extrêmes ou plus. Les polyextrémophiles peuvent s'adapter à des environnements soumis à de multiples contraintes (Gupta *et al.,* 2014), notamment les actinobactéries alcalithermophiles, thermoacidophiles, thermophiles radiotolérantes, haloalkaliphiles et thermoalcalitolérantes. Leur incidence a été documentée dans des niches extrêmes géographiquement distincts tels que les régions arctique (Augustine *et al.,* 2012), antarctique (Gousterova *et al.,* 2014), les océans (Raut *et al.,* 2013), les sources chaudes (Chitte et Dey, 2002 ; Medjmadj *et al.* 2020)et les déserts (Boudemagh *et al*., 2005 ; Boudemagh, 2007 ; Kurapova *et al.,* 2012).

L'adaptation des actinobactéries extrémophiles aux conditions environnementales défavorables s'effectuée par plusieurs stratégies telles que l'antibiose, la commutation entre différents modes métaboliques (c.-à-d. L'autotrophie, l'hétérotrophie et le saprophytisme) et la production d'enzymes spécifiques. La thermotolérance est attribuée à la présence d'interactions électrostatiques et hydrophobes élevées et de liaisons disulfures dans les protéines des thermophiles (Ladenstein et Ren, 2006). Ils ont certaines protéines spéciales appelées chaperons qui aident à replier les protéines partiellement dénaturées (Singh *et al.,* 2010). Plusieurs autres protéines sont également synthétisées qui se lient à l'ADN et empêchent leur dénaturation à des températures élevées. Certaines actinobactéries ont acquis de multiples mécanismes adaptatifs pour survivre dans des environnements à deux stress ou

plus. L'enzyme CODH facilite la croissance microbienne dans un état dépourvu de nutriments en oxydant le composé inorganique disponible tel que le monoxyde de carbone en CO_2 qui est ensuite fixé par l'enzyme RuBisCO dans la biomasse microbienne via le cycle de Calvin-Benson (King et Weber, 2007). Le chimiolithoautotrophe, *Acidithiomicrobium* sp., isolé de l'environnement géothermique, utilise le soufre comme source d'énergie (Norris *et al.*, 2011). L'antibiose est une autre stratégie principale par laquelle les actinobactéries se maintiennent en tuant d'autres flores microbiennes dans des conditions limitées en nutriments. Les acidophiles et les alcaliphiles ont acquis des pompes à protons pour réguler les concentrations de H^+ à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule pour maintenir le pH physiologique à l'intérieur (Kumar *et al.*, 2011). Les alcaliphiles contiennent les polymères de paroi cellulaire chargés négativement qui stabilisent la membrane cellulaire en réduisant la densité de charge à la surface cellulaire (Wiegel et Kevbrin, 2004). La stratégie adaptative des haloalcalolphiles comprend des tolérances supplémentaires à l'environnement salin en synthétisant et en accumulant une grande quantité de solutés compatibles (Roberts, 2005) qui empêchent la dessiccation par osmorégulation. Ils ont également un antiporteur Na^+ / H^+ pour exclure la teneur excessive en sel de l'intérieur de la cellule.

La tolérance des actinobactéries aux radiations extrêmement nocives telles que les rayons gamma et UV est également notée. Les trois espèces thermophiles du genre *Rubrobacter* telles que *R. radiotolerans, R. xylanophilus* (Ferreira *et al.*, 1999) et *R. taiwanensis* (Chen *et al.*, 2004) auraient été radiotolérantes. Le mécanisme de résistance n'a pas été bien compris, mais l'analyse complète du génome complet de *R. radiotolerans* RSPS-4 a révélé la présence de gènes codant pour des protéines impliquées dans le système de réparation de l'ADN.

L'adaptation des actinobactéries extrémophiles et extrémotolérantes leur confèrent un avantage compétitif sur les autres microbes. En plus de les aider à survivre dans des conditions extrêmes, la physiologie et la flexibilité métabolique les poussent également à produire des composés de valeur industrielle (Singh *et al.*, 2013). La fermentation par les extrémophiles atténue les risques d'autres contaminations microbiennes, en plus de fournir des composés thermostables, alcalinistables et halotolérants. Les enzymes produites par les actinobactéries extrémophiles et extrémotolérantes sont fonctionnelles dans des conditions extrêmes, ce qui en fait des candidats appropriés pour une application dans des processus industriels, où des méthodes de traitement difficiles sont utilisées.

2. Actinobactéries thermophiles

Bien que les habitats à température élevée ne soient pas aussi répandus que les habitats tempérés ou froids, il existe une variété d'habitats naturels et artificiels à température élevée. Il s'agit notamment des zones volcaniques et géothermiques où les températures sont souvent supérieures à l'ébullition. Certaines litières, eaux, sols et sédiments chauffés par le soleil et des environnements biologiques auto-chauffés tels que le compost, le foin, l'herbe, les plantes, la sciure de bois et les tas de déchets de charbon qui sont aussi des exemples d'écosystèmes chauffés, mais la température est variable au cours du temps.

Les sources thermales, présentent des températures supérieures à 60°C, maintenues généralement constante par l'activité volcanique continue. D'autres paramètres environnementaux tels que le pH, les sources d'énergie disponibles, la force ionique et les nutriments, influencent la diversité des populations microbiennes thermophiles. Les zones géothermiques les plus connues et les mieux étudiées se trouvent en Amérique du Nord (Yellowstone), en Islande, en Nouvelle-Zélande, le Japon, l'Italie et l'Union soviétique. Les sources d'eaux chaudes sont situées dans toute l'Inde, à des endroits où l'eau est bouillante (par exemple Manikaran, Himachal Pradesh). (Satyanarayana *et al.,* 2005).

Un organisme thermophile est un organisme capable de vivre à des températures égales ou proches de la température maximale du groupe dont il fait partie. (Brock, 1969). Certaines actinobactéries thermophiles peuvent survivre à des températures allant jusqu'à 70°C, quelque fois plus (Tortora *et al.,* 2007 ; Medjmadj *et al*., 2020). De telles conditions sont retrouvées dans les zones proches des volcans et des sources chaudes. Selon la classification de Jiang et Xu, 1993, il ya deux types des actinobactéries thermophiles : les actinobactéries strictement thermophiles et les modérément thermophiles. Les premiers peuvent croître dans la plage de température entre 37 et 65°C, mais la prolifération optimale a lieu à 55–60°C. Les actinobactéries modérément thermophiles se développent à 28–60°C et nécessitent 45–55°C pour une croissance optimale. Un autre groupe connu sous le nom d'actinobactéries thermotolérantes peut survivre à des températures allant jusqu'à 50°C (Lengeler *et al.,* 1999). Cependant d'autres actinobactéries ont été isolées à partir d'eaux très chaudes. Parmi les actinobactéries thermophiles les plus connus on trouve les espèces *Streptomyces thermoautotrophicus* (Gadkari *et al.,* 1990) et *Acidithiomicrobium* sp. (Norris *et al.,* 2011) qui sont des chimioautotrophes obligatoires, poussant uniquement sur le $CO_2 + H_2$ et le soufre, respectivement, la souche *Streptomyces* G26 (Bell *et al.,* 1988) et *Amycolatopsis*

methanolica (Boer *et al.*, 1990) et bien d'autres (Medjmadj *et al.*, 2020). Les actinobactéries présentes dans ces environnements sont principalement à croissance rapide et forment des spores. Ces spores sont de type thermodurique et sont stables à des températures plus élevées pour une durée plus longue. Cela semble fournir un avantage écologique supplémentaire par rapport aux autres bactéries, ce qui les rend plus faciles à réadapter à leurs formes végétatives avec l'avènement de conditions favorables.

3. Habitats naturels des actinobactéries thermophiles

Certains habitats biologiquement diversifiés sont adaptés à la croissance des actinomycètes thermophiles les exemples sont multiples nous citons les suivantes.

3.1.Le sol désertique

Les déserts apparaissent comme étant stériles et semble dépourvus de vie en raison de l'aridité extrêmes et le manque d'humidité. Pourtant, il existe un certain nombre de microhabitats habités par des micro-organismes. Le stress ne permet qu'aux formes tolérantes de se développer. Outre le sol, il existe d'autres sources telles que la patine (vernis du désert), les croûtes cryptobiotiques, les playas et les rhizosphères sont riches en populations microbiennes dans les habitats désertiques. Les souches NT202 et NT303 ont été isolées à partir d'échantillons de sols broussailleux et arides prélevés à Madurai, en Inde et à Van, en Turquie, respectivement. Les positions taxonomiques de deux actinobactéries thermophiles ont été établies dans le cadre d'une étude taxonomique polyphasique. Il a été démontré que les organismes avaient des propriétés phénotypiques typiques des actinobactéries des membres du genre *Amycolatopsis*. Les données génotypiques et phénotypiques montrent que les deux souches doivent être classées dans le genre *Amycolatopsis* en tant que nouvelle espèce, *Amycolatopsis eurytherma* sp. Nov. (Kim *et al.*, 2003).

Le désert d'Atacama, au Chili, en Amérique du Sud, est l'un des environnements les plus extrêmes de la planète. Okoro *et al.*, 2009 ont rapporté les premiers isolements importants d'actinobactéries provenant de sols situés à différents endroits de ce désert. L'utilisation de procédures d'isolement sélectif a permis de récupérer des actinobactéries dans des environnements arides, hyper-arides et même hyper-arides extrêmes en nombre et en diversité significatifs. La majorité des isolats appartenaient aux genres *Amycolatopsis*, *Lechevalieria* et *Streptomyces*. Les résultats de cette étude confirment que les sols arides constituent un réservoir largement inexploré de nouvelles bactéries (Okoro *et al.*, 2009).

Les sols des steppes désertiques de Mongolie sont périodiquement chauffés à des températures élevées (50-60°C) et sont caractérisés par des modes intermittents d'humidification et d'alimentation en nutriments. Les actinobactéries thermotolérantes et thermophiles ont été trouvés en grande abondance dans cette région. Parmi les membres thermotolérants de l'ordre des *Actinomycétales, Streptomyces, Micromonospora, Actinomadura et Streptosporangium* sont les espèces les plus répandues dans les sols désertiques. (Kurapova et *al.*, 2012).

Les positions taxonomiques de deux actinobactéries thermophiles isolés d'un échantillon de sol australien aride ont été classées au genre *Amycolatopsis* en tant que *Amycolatopsis thermophila* sp. nov. et *Amycolatopsis viridis* sp. Nov. (Zucchi *et al.*, 2011).

De même, les positions taxonomiques de trois actinobactéries thermophiles isolés à partir d'échantillons de sol aride du Royaume-Uni ont été classées dans le genre *Amycolatopsis* en tant que *Amycolatopsis granulosa* sp. nov, *Amycolatopsis ruanii* sp. nov. et *Amycolatopsis thermalba* sp. Nov. (Zucchi *et al.*, 2012).

3.2.Déchets industriels thermiques

Certaines industries rejettent leurs déchets en même temps qu'un flux d'eau très chaude. Cette boue chauffée des industries pourrait être d'une grande importance pour trouver des espèces thermophiles. Cependant, les études menées sur ces déchets industriels pour l'isolement d'actinobactéries, sont inexistantes.

La position taxonomique d'un groupe d'actinobactéries modérément thermophiles isolées de la poussière de sol d'une usine de chanvre à Lucknow, en Inde, a été déterminée comme étant typique des membres du genre *Amycolatopsis*. Une nouvelle espèce *Amycolatopsis sacchari* a été proposé (Goodfellow *et al.*, 2001).

Dix souches d'actinobactéries thermophiles ont été isolées de déchets et de composts de champignons, ainsi que de l'air d'usines de compostage et d'une usine d'incinération d'ordures ménagères en Allemagne. Les données relatives à la séquence de l'ADN ribosomique 16s indiquent que ces organismes représentent un nouveau genre de l'ordre des *Actinomycetales*, pour lequel le nom *Thermocrispum* a été proposé. (Korn-Wendisch *et al.*, 1995).

3.3.Les croûtes volcaniques

Un volcan est une rupture de la croûte d'un objet de masse planétaire, comme la Terre, qui permet à la larve chaude, aux cendres volcaniques et aux gaz de s'échapper d'une chambre magmatique située sous la surface de la terre. Les croûtes formées à la suite d'éruptions volcaniques sont les suivantes : partie chauffée de la terre et constituent un environnement très propice à l'évolution des microbes thermophiles. De nombreuses études ont montrés la présence d'actinobactéries dans ces zones. Les investigations dans ce domaine restent cependant très insuffisantes et mérite d'être poursuivit. La position taxonomique de deux souches d'actinobactéries, LC2T et LC11T, isolées à partir d'un substrat de filtration fabriqué à partir d'un sol volcanique japonais, a été menée. Il apparait que les souches peuvent se développer à des températures allant de 5 à 45°C. Un arbre phylogénétique basé sur les séquences du gène 16S rRNA a montré que les deux souches formaient une lignée évolutive distincte au sein du genre *Amycolatopsis*. Il est proposé que les isolats représentent deux nouvelles espèces pour lesquelles les noms *Amycolatopsis echigonensis* sp. nov. et *Amycolatopsis niigatensis* sp. Nov. ont été proposés (Ding et *al.*, 2007).

3.4. Les sources thermales

Une source chaude est une source qui est produite par l'émergence de l'eau souterraine chauffée géothermiquement à partir de la croûte terrestre. En général, la température des roches terrestres augmente avec la profondeur. Le taux d'augmentation de la température avec la profondeur est connu sous le nom de gradient géothermique. Si l'eau s'infiltre profondément dans la croûte terrestre, elle se réchauffe au contact des roches chaudes. Une actinobactérie thermophile, la souche $LA5^T$, a été isolée d'une source thermale dans la province de Yunnan, en Chine. L'isolat s'est développé en aérobiose à des températures de 50-75°C. Les analyses phylogénétiques basées sur les séquences du gène 16S rRNA ont indiqué que cette souche appartenait au genre *Planifilum*. La souche représente une nouvelle espèce sous le nom *Planifilum yunnanense* sp. Nov. (Zhang *et al.*, 2007).

Des échantillons de sédiments et de sols de sources chaudes, soit vingt échantillons au total, provenant de l'Anatolie occidentale en Turquie, ont été étudiés. Les cultures ont été incubées à 55°C. Soixante-sept isolats d'actinobactérie thermophiles ont été classés dans les catégories suivantes *Thermoactinomyces thalpophilus* et *T. sacchari*. Parmi ces isolats, le plus grand nombre s'est avéré être producteurs de protéases extracellulaires (Uzel *et al.*, 2011).

4. Isolement des actinobactéries thermophiles

Une nouvelle espèce d'actinobactérie monosporique thermophile a été isolée de la bagasse de canne à sucre, elle a été décrite comme *Thermoactinomyces sacchari* sp. nov. (Lacey, I971). Dans une étude ancienne, plusieurs actinobactéries ont été isolées à 40°C et/ou à 60°C, à partir d'échantillons de foin provenant de Harpenden, Hertfordshire, comprenaient *Micrornonospora vulgaris, Thernopolyspora polyspora, T. glauca* sp. nov. *Streptomyces therrnoviolaceus, S. fradiae, S. griseojlavus, S. olivaceus* et *S. griseus* (Corbaz *et al.*, 1963). *Thermoactinomyces candidus* est une nouvelle espèce d'actinobactérie thermophiles isolée de l'environnement domestique et d'autres sources de New Brunswick, New Jersey. (Kurup *et al.*, 1975).

Une nouvelle bactérie filamenteuse, la souche SCSIO 10219T, a été isolée à partir d'un échantillon de sédiments prélevé dans la mer de Chine méridionale à une profondeur de 2105 m. La croissance a été observée à une température de 25-35 °C (optimum de 30°C). La croissance a été observée à 25-35 °C (optimum 30 °C) et pH 5.0-8.0 (pH optimal 6,0-7,0). La caractérisation phénotypique et l'analyse de la séquence du gène de l'ARNr 16S ont indiqué que la souche appartenait à la famille des *Thermoactinomycetaceae*, une nouvelle espèce d'un nouveau genre, *Marininema mesophilum* gen. Nov. sp. nov. a été proposée. (Li *et al.*, 2005). Une nouvelle souche, IMMIB L-1269Tprovient d'expectorations de patients suspectés de tuberculose pulmonaire. Sur la base de ses caractéristiques morphologiques, biochimiques et chimiques, la souche n'a pas été confirmée son appartenance à un taxon reconnu. Sur la base de preuves phénotypiques et moléculaires, elle représente un nouveau genre et une nouvelle espèce, pour lesquels le nom *Desmospora activa* gen. nov. et sp. nov. a été proposé. (Yassin *et al.*, 2009). Une souche thermophile, appelée I3T s'est développée à des températures comprises entre 35 et 62°C, avec une croissance optimale à 50-55°C. Aucune croissance n'a été observée en dessous de 29°C ou au-dessus de 65°C. L'analyse de la séquence du gène de l'ARNr 16S a attribué cet actinobactérie à la famille des *Nocardioidaceae*, la souche représente une nouvelle espèce, pour laquelle le nom *Thermasporomyces composti* gen. nov. (Yan *et al.*, 2011). Une nouvelle souche a été isolée à partir des sédiments de la source thermale de khenchela en Algérie appartient au genre *Thermoactinomyces* (*Thermoactinomyces khenchelensis*) de (Mokrane, *et al*., 2016).

Tableau 5: Exemples d'actinobactéries thermophiles et thermotolérantes, isolées à partir de certains écosystèmes

Actinobactéries	Conditions de croissance		Lieu d'isolement	Les références
	Température (° C)	**pH**		
Microbispora siamensis DMKUA 245 T	25–50	-	Échantillon de sol, Thaïlande	Boondaeng *et al.*, 2009
Georgenia sediminis SCSIO 15020 T	24–60	6–10	Sédiments de mer, Autriche	Yu *et al.*, 2013
Actinokineospora soli YIM 75948 T	25–55	7–9	Échantillon de sol, Chine	Tang *et al.*, 2012
Marinactinospora thermotolerans SCSIO 00652 T	10–55	6–9	Sédiments de mer, nord de la Chine du Sud	Tian *et al.*, 2009
Saccharomonospora viridis SJ-21	35–60	7-10	Source d'eau chaude, Inde	Jani *et al.*, 2012
Actinomadura miaoliensis BC 44T-5 T	22–55	7.0	Échantillon de sol, Taiwan	Tseng *et al.*, 2009
Streptosporangium sp.	-	-	Sol de la zone de steppe désertique de Mongolie	Kurapova *et al.*, 2012
Streptomyces Calidiresistens YIM 7808 T	40–65	7.0	Sédiment de source chaude, sud-ouest de la Chine	Duan *et al.*, 2014
Nocardiopsis yanglingensis A18	25–55	6,5 à 8,5	Compost de champignons de Paris	Yan *et al.*, 2011
Amycolatopsis ruanii NMG112 T	20–50	4–10	Échantillon de sol	Zucchi *et al.*, 2012
A. thermalba SF45 T	N.s	N.s	N.s	N.s
A. granulosa GY307 T	N.s	N.s	N.s	N.s
Pseudonocardia thermophila JCM3095	-	-	-	Yamaki *et al.*, 1997
Thermomonospora curvata B9T	40–65	7,5–11	Fumier stable composté	Chertkov *et al.*, 2011
Thermobifida fusca (anciennement *Thermomonospora fusca*)	35-53	10-11	-	McCarthy et Cross, 1984
Thermotunica guangxiensis	37–65	6–9	Compost de résidus de champignons, Chine	Wu *et al.*, 2014b
Thermopolyspora flexuosa DSM 41386 T	40–60	6–9	Sol des montagnes du Pamir	Krasilnikov et accords, 1964

Thermocatellispora tengchongensis	28–58	6–8	Échantillon de sol, sud-ouest de la Chine	Zhou *et al.*, 2012
Saccharopolyspora thermophila 216 ^{T}	45–55	-	Échantillon de sol, Chine	Lu *et al.*, 2001
Thermobispora bispora R51 ^{T}	50–65	-	Le fumier en décomposition, Berlin	Henssen, 1957
Thermoleophilum album ATCC 35263	45–70	6,5 à 7,5	Échantillons de boue	Zarilla et Perry, 1984
Acidothermus cellulolyticus 11B	37–70	4–6	Sources chaudes acides, Parc National de Yellowstone	Barabote *et al.*, 2009
Acidimicrobium ferrooxidans TH3	45–50	2	Site géothermique islandais	Clark et Norris, 1996
Aciditerrimonas ferrireducens IC-180 ^{T}	35–58	2,0 à 4,5	Champ solfatarique, Japon	Itoh *et al.*, 2011
Acidithiomicrobium s p.	50	3	Environnements géothermiques	Norris *et al.*, 2011
Ferrithrix thermotolerans Y005 T	43	1,3	Site minier, Royaume-Uni	Johnson *et al.*, 2009
Rubrobacter taiwanensis LS-28	30–70 (optimum 60)	6–11	Sources chaudes de Lu-shan, Taiwan	Chen *et al.*, 2004
Rubrobacter radiotolerans	46–48	7.0–7.4	Sources chaudes, Centre du Portugal	Ferreira *et al.*, 1999
R. xylanophilus	60	7,5–8,0	N.s	N.s

N.s : non spécifié

Matériel et méthodes

PARTIE 1 : Etude de la biodiversité des actinobactéries dans les sources thermales de l'est Algérien

1- Sites d'échantillonnage et prélèvement

Les cinq sources thermales situées dans le Nord-est de l'Algérie **(Fig. 2),** constituent les sites des échantillons testés dans ces investigations. La situation géographique des stations thermales étudiées, est représentée dans **le tableau 6**.

Les périodes du 15 mai 2018 et du 23 juillet 2018, sont les moments de la récupération des prélèvements. Ils ont été réalisés à l'aide de flacons en verre de 500 ml de volume préalablement stérilisés au four Pasteur pendant 3 heures à 150°C (Rodier, 1984). Une quantité de 500 ml a été prélevée, ensuite les flacons sont hermétiquement fermés pour empêcher l'entrée de l'air. Les échantillons sont transportés au laboratoire dans une glacière. Au laboratoire, les flacons ont été entreposés à l'obscurité et à une température de 4°C, jusqu'aux analyses (Andrews *et al*., 1966).

Tableau 6 : Situation géographiques des sites d'échantillonnage (données GPS).

Code de l'échantillon	Région	Altitude	Latitude	Longitude
E.1	Hammam Debagh (Guelma)	320 m	36 ° 27 ′ 35 ″ N	7 ° 16 ′ 10 ″E
E.2	Hammam El Salihine (Khenchela)	1650m	35 ° 26 '20 .12 " N	7 ° 05′ 08.46 "E
E.3	Hammam Knif (Khenchela-Ain el-baida)	1016m	35 ° 29 ′11,63 "N	7 ° 15′ 08,64"E
E.4	Hammam Freres Chaouch (Tleghma, Mila)	1286m	36 ° 06 ′ 55 ″N	6 ° 21 ′ 51 ″E
E.5	Hammam Beniharoune (Mila)	1600m	36 ° 33 ′ 19 ″N	6 ° 16 ′ 11 ″E

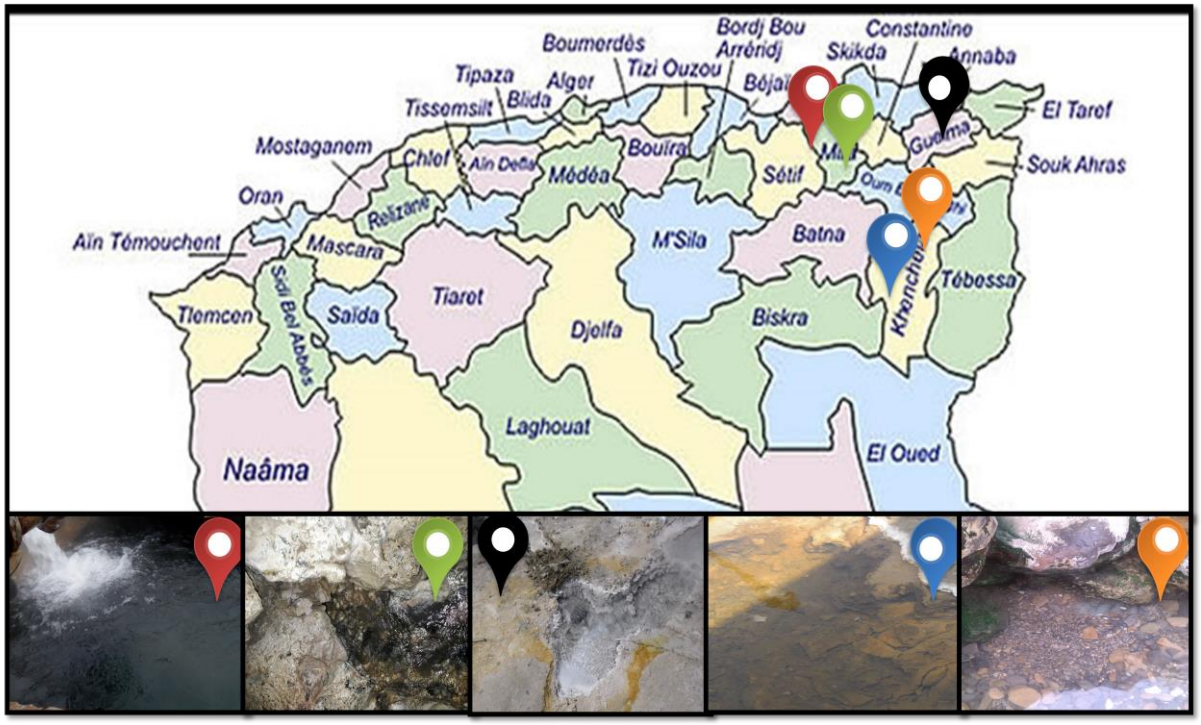


Figure 2 : Sites des stations d'eaux thermales étudiées

Source chaude des frères Chaouche Tleghma Mila

Source chaude de Hammam Beni Haroune Mila

Source chaude de Hammam Debagh Guelma

Source chaude de Hammam Knif (Khenchela-Ain el-baida)

Source chaude de Hammam El Salihine Khenchela

2. Isolement purification et conservation des actinombactéries

2.1.Milieux d'isolements

Quatre milieux de cultures sélectifs ont été utilisés pour l'isolement et le dénombrement des actinobactéries. Il s'agit de « AIA » (Actinomyces Isolation Agar) (Uzel *et al*., 2009), «SCA» (Starch Casein Agar) (Uzel *et al.*,2009), Glycerol asparagines agar ISP5 (International Streptomyces Project) (Shirling et Gottlieb, 1966) et le milieu de Kenknight et Munaier (Chaudhary et Prabhu. 2016) **(Annexe 1).** L'amphotéricine B à (50µg/l) et l'acide

nalidixique à (10µg/l), ont été respectivement utilisés comme antifongiques et anti-Gram négatif, afin d'empêcher la croissance des germes indésirables. Ils ont été stérilisés par filtration et ajoutés aux milieux de culture (Larpent et Sanglier, 1989). L'incubation des contenants est réalisée à 30 et 55°C pendant 02 -08 semaines.

2.2. Techniques d'isolements

Deux techniques d'isolement ont été adoptées dans ces investigations.

2.2.1. Ensemencement directe après dilutions

Après préparation d'une série de dilution décimales dans l'eau physiologique stérile jusqu'à 10^{-3} (Bastide, 1986), 0.1ml de chaque suspension ont été étalées sur chaque boite, puis mises en incubation à 30 et 55°C pendant 02 - 08 semaines (Hirsch et Christensen, 1983).

2.2.2. Ensemencement après filtration

Pour concentrer le nombre de germes présents dans les échantillons, une quantité d'environ 500 ml est filtrée à travers filtre de 0.22 µm de diamètre type cellulosique. La membrane est ensuite placée sur le milieu de culture puis incubé 4 heures à 22-30°C. Après cela, la membrane est enlevée et la boite est incubée de nouveau à 30 et 55°C pendant 02 -08 semaines (Hirsch et Christensen, 1983).

3. Purification et conservation des souches

A l'aide d'un binoculaire, les colonies caractéristiques des actinobactéries ont été repérées et soigneusement repiquées dans le milieu ISP2 **(annexe 1)** jusqu'à purification.

3.1.Conservation des isolats

Deux méthodes de conservation ont été utilisées :

3.1.1. Conservation de courte durée

Les actinobactéries sont ensemencées sur gélose ISP2 inclinée en tubes, après croissance les tubes sont conservés à une température ambiante. Cette technique permet de conserver les actinobactéries pour une période de deux mois et repiquage est nécessaire.

3.1.2. Conservation longue durée

Les actinobactéries sont conservées à une température de -20°C en suspension additionnée de glycérol à 50% (v/v).

4. Caractérisation macro et micromorphologie des isolats

4.1.Caractéristiques culturales

Les caractéristiques macroscopiques et culturales des actinobactéries isolées ont été étudiés aux directives de (Shirling et Gottlieb, 1966). Les isolats ont été ensemencées sur les milieux : ISP1, ISP2, ISP3, ISP4 et ISP5. (**Annexe 1**). Les observations sont réalisées après

10 à 15 jours d'incubation à une température de 30°C.L'examen morphologique des bactéries nous renseigne sur plusieurs caractères : la couleur de mycélium aérien et celui de substrat, la présence et l'absence de sporulation et la présence ou non des pigments diffusibles. Un code de couleur est effectué pour chaque isolat, selon les recommandations de Kenneth, 1958.

4.2.Microscopie

4.2.1. Microscopie optique à l'état frais

Une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité et la présence des spores. Pour réaliser cette observation une petite goutte d'eau distillée stérile et une goutte de suspension bactérienne à l'aide de pipette Pasteur sont déposées sur une lame. La lame est protégée par une lamelle et l'observation se fait à l'objectif X40 puis à l'objectif à immersion X100.

4.2.2. Coloration de Gram

Elle est effectuée selon la méthode classique. Des frottis de chaque culture bactérienne sont préparés, colorés puis observés par microscopie optique au grossissement X100. Les Gram positif apparaissent en violet tandis que les Gram négatif en rose.

4.2.3. Technique de lamelle

L'observation de la disposition des spores, la morphologie du mycélium aérien et celle du mycélium de substrat ont été effectués selon la technique décrite par Cross,1989. Cette technique consiste à introduire subtilement une lamelle préalablement stérilisée (à 180°C), dans le milieu ISP2, de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec la surface de celui-ci. Une goutte de l'inoculum est ensuite déposée entre la lamelle en contacte avec le milieu. Après 7 jours d'incubation, les lamelles sont minutieusement retirées puis placées sur une lame propre pour une observation au grossissement X40 puis X100.

4.2.4. Observation par microscopie électronique à balayage

L'observation des bactéries par microscope électronique à balayage (SEM) a été réalisée dans *Scientific and Technical Research Center in Physico-Chemical Analysis* (CRAPC) à Ouargla. Ce microscope permet l'observation des échantillons directement dans leur état naturel sans un prétraitement de métallisation. Une fraction de la colonie a été bien étalé sur une lamelle stérile et recouverte par une autre lamelle et envoyer au centre d'analyse.

5. Identification moléculaire des isolats

Les 13 souches isolées à partir de la source thermale de Tleghma ont été identifiées selon le protocole suivant au niveau de l'université Ege, Faculté des Sciences, Département of Biologie Basique et Microbiologie Industriel en Turquie. L'identification a été réalisée selon les étapes suivantes :

5.1.Conditions de culture des souches bactériennes et extraction d'ADN

Les isolats d'actinomycètes ont été cultivés dans le milieu ISP2 complétée par 5ml/Lde glycérol (Difco™) en aérobiose à 25°C pendant 3 jours. L'ADN a été obtenu à partir des isolats à l'aide du kit Presto™ Mini gDNA Bacteria (Geneaid, Taiwan), en suivant les instructions du fabricant. Les ADN extraits ont été élués dans 50µL de tampon d'élution. La quantité et la pureté de l'ADN ont été évaluées par un Nanodrop (Thermo Scientific 2000c, États-Unis). Les ADN présentant une valeur d'absorbance A280/A260 proche de 1,80 ont été considérés comme purs. L'extrait a été utilisé immédiatement ou stocké à -20° C pour une utilisation ultérieure.

5.2. Amplification par PCR

Toutes les réactions PCR ont été réalisées avec le système Gene Amp® PCR (Applied Biosystems). Les réactions PCR ont été réalisées dans des mélanges de 50 µL contenant 10 ' de tampon PCR, 1,5 mM de MgCl2, 0,4 mM de dNTP, 0,2 mM d'amorce, 1,25 U d'ADN Taq polymérase (Amplitaq Gold, Applied Biosystems) et 50 à 500 ng de matrice d'ADN génomique. Les amorces utilisées pour l'amplification de l'ADNr 16S étaient FC27 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3) et RC1492 (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT- 3'). Les conditions de PCR pour les réactions de l'ADNr 16S étaient les suivantes : 1 cycle de dénaturation pendant 5 minutes à 94 °C ; 30 cycles d'amplification consistant en une dénaturation (94 °C pendant 30 s), un recuit de l'amorce (49 °C pendant 30 s) et une primer extension (72 °C pendant 90 s) ; et une extension finale de 7 minutes à 72 °C.

5.3.Séquençage

Le séquençage du produit PCR a été effectué par la méthode de séquençage de Sanger (Sanger, 1977) par Eurofins genomics (Germany), avec l'utilisation des amorces suivants : 16S rRNA primer (27F).

Un lot composé de 33 souches ont été identifiées au niveau du laboratoire de GENE LIFE SCIENCE à Sidi Belabbes selon le protocole suivant :

5.4.Extraction de l'ADN et amplification par PCR

L'extraction de l'ADN bactérien a été réalisée à l'aide d'un kit d'extraction provenant de (Vivantis Technologies Sdn Bhd, Selangor DE, Malaisie) conformément aux instructions du fabricant. L'ADN a été mis au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à utilisation.

L'amplification par PCR a été réalisée à l'aide du jeu d'amorces du gène de l'ARNr 16S (27F: 5' –AGAGTTTGATCCTGGCTCAG – 3' and 1492R 5'–CCGTCAATTCCTTTGAGTTT- 3') (Edwards, Rogall, Blöcker, Emde etBöttge, 1989). Le mélange de réaction PCR contenait 50 µl de master mix (1,25 U Hot Start Taq DNA Polymerase (SolisBiodyne, Estonie), 25-50 ng/µl de matrice ADN, 0,3 µM µl de chaque amorce, 1,5 µM MgCl2 chlorure de magnésium (Solis Biodyne, Estonie), et complété à 50 µl de volume de réaction avec de l'H20 distillé. Les cycles de PCR se sont déroulés comme suit :

Dénaturation initiale à 94 °C (12 minutes), Dénaturation à 94 °C (30 sec), Recuit à 55 °C (30 sec), Extension à 72 °C (1 minute 40 sec), réalisée moyennant un thermocycleur (iCycler Bio-Rad, USA). Dans ce travail, les concentrations d'ADN ont été vérifiées à l'aide d'un spectrophotomètre Nanodrop (Nano Drop TM 2000, USA).

5.5. Électrophorèse sur gel d'agarose

Après PCR, le produit obtenu a été séparé dans un gel d'agarose à 1,5 % (Sigma-Aldrich, États-Unis). Une échelle d'ADN de 100 pb (Solis Biodyne, Estonie) a été utilisée comme marqueur de poids moléculaire de l'ADN. L'électrophorèse a été réalisée à 80 V pendant 1 h 30 min puis visualisé sous une lumière UV après coloration avec Midori Green Advance (Nippon Genetics, Japon) et inspecté à l'aide d'un transilluminateur UV.

5.6.Séquençage

Les produits PCR ont été électrophorisés et purifiés (Clean-Up kit, Vivantis), puis envoyés à Apical scientific Sdn. Bhd., pour séquençage. Les produits PCR purifiés ont été séquencés dans les directions sens et antisens dans des réactions distinctes et en double. Chaque réaction contenait 40 µg d'ADN matrice, 2 µl de l'amorce PCR appropriée, 10 µl d'eau et 2 µl de Big Dye Terminator v3.1 Ready Reaction Mix (Applied Biosystems). Chaque réaction a été chauffée à 96 °C pendant 1 min, suivie de 25 cycles à 96°C pendant 10s, 50°C pendant 5s et 60°C pendant 4s. Une purification des produits de séquençage a été réalisée par

précipitation à l'éthanol afin d'éliminer les réactifs non incorporés et de garantir une charge neutre. En bref, les produits de séquençage ont été lavés dans 80 µl de mélange de précipitation à l'éthanol (3 µl de Na Ac, 62,5 µl d'éthanol à 95 % et 14,5 µl d'eau) et l'ADN a été regroupé par centrifugation (13 000, 15 min). Le culot a de nouveau été lavé dans 200 µl d'éthanol à 75 % et centrifugé (13 000, 5 min). L'ADN concentré a été séché à l'air et réhydraté dans 15 µl de formamide, puis chargé sur une matrice capillaire 3130 Genetic Analyzer pour la détection (Applied Biosystems). Deux séquences avant et deux séquences arrière pour chaque échantillon ont été alignées à l'aide de Bionumerics v3.5 (Applied Maths) pour obtenir une séquence composite. La qualité de chaque trace de séquence a été évaluées visuellement, et les séquences de mauvaise qualité ont été éditées et supprimées. Les organismes ont été identifiés pour chaque essai en comparant les séquences consensus à une base de données.

5.7.Analyse phylogénétique

Les séquences du gène ARNr 16S obtenues sont analysées et comparées par l'utilisation du BLAST disponible sur le site internet http://www.ncbi.nih.gov. Avec les séquences homologues des espèces de références répertoriées dans les banques génomiques.

L'arbre phylogénétique est construit à l'aide du logiciel MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2004 ; Kumar *et al.*, 2018) et par l'utilisation de l'algorithme Neighbor-joining (Saitou et Nei, 1987), pour la construction des arbres phylogénétiques. La validation statistique des liens phylogénétiques établis est effectuée par le test du Bootstrap (Felsenstein, 1985).

5.8. Numéros d'accession des séquences nucléotidiques

Les séquences du gène de l'ARNr 16S des souches ont été déposées dans la base de données GenBank du NCBI pour obtenir les numéros d'accession de tous les isolats.

6. Caractérisation physiologique et biochimiques

6.1. Préparation de l'inoculum

Des boites contenant le milieu ISP2 ont été ensemencées par les souches d'actinobactéries isolées et purifiées puis incubées pendant 21 jours à 30° C. Une quantité d'environ 10 ml d'eau physiologique est versée dans chaque boite. La surface des colonies est ensuite raclée à par une anse de platine, afin de préparer une suspension dense de fragments mycéliens et de spores. La solution obtenue homogénéisée par le vortex, puis récupérée dans des tubes stériles et conservée à 4°C (Shirling et Gottlieb, 1966 ; Suutari *et al.,* 2002). Pour chaque souche,

l'inoculum est préparé de telle manière à obtenir une DO de (0.08 à 0.1), à une ʎ de 660 nm. Cette valeur correspond à une charge cellulaire égale à 10^8 cellules/ml.

6.2.Croissance à différentes températures

La croissance à différentes températures a été réalisée en fioles contenant 100 ml du milieu ISP2 liquide et une quantité de 1 ml de l'inoculum bactérien, sous agitation de 120 tr/m. Le pH de cette préparation est fixé à 7, pour toutes les fioles. L'incubation à été effectuée à différentes températures (10,20,30,40,50, 60, 70 et 80°C) pendant 5-10 jours. L'évaluation de la croissance bactérienne est estimée par le suivi de la turbidité à 540 nm par un spectrophotomètre de type UV-1800A, Shimadzu, Japon.

6.3.Croissance à différents pH

La croissance à différent pH a été réalisée dans des fioles contenant 100 ml du milieu ISP2 liquide et 1 ml de l'inoculum, sous agitation de 120 tr/m. Les souches sont incubées à 30°C pendant 5-10 jours. Les valeurs de pH testés sont (3,4,5,6,7,8,9, 10 et 11). L'évaluation de la croissance bactérienne est estimée de la même manière que la section **6.2.**

6.4.Croissance à différentes concertations de NaCl

La tolérance des souches au NaCl, a été testée et évaluée de la même manière décrite dans la section 6.2, pour des concentrations allant de 0 à 5% w/v. Le pH et la température ont été fixés pour tous les essais, à 7 et 30 °C respectivement.

6.5.Production des pigments mélanoides

La mise en évidence des pigments mélanoides est réalisé sur milieu ISP7, les boites sont incubées à 30°C pendant une semaine, la production des pigments mélanoides est traduite par la présence d'une auréole noir autour des colonies (Margalith, 1992).

6.6. Recherche de la catalase

La mise en évidence de la catalase est réalisée par contact de la culture avec l'eau oxygénée. Pour chaque souche une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame stérile sur laquelle quelques colonies sont dispensées. Des gaz abondants sous forme de mousse ou de bulles d'air traduit la présence de la catalase.

6.7.Recherche de l'oxydase

L'oxydase est recherchée par la méthode des disques Une pipette Pasteur boutonnée, sert à prélever une colonie à partir d'un milieu solide est déposée sur un disque oxydase placé sur une lame, (Guenoune, 2009). Après environ 10 minutes, si le disque prend une teinte rose ou violette qui vire ensuite au noir, le test est considéré positif. Si la réaction est tardive ou la

colonie reste incolore, le germe est exempt d'oxydase et le test est considéré négatif. (Tabak et Bensoltane, 2012).

6.8. Utilisation des glucides comme seule source de carbone

L'utilisation des glucides comme seule source de carbone est testée sur milieu ISP9. Les sucres testés sont : D-glucose ; D-lactose ; D-fructose ; D-arabinose ; D-mannitol ; saccharose; maltose et glycérol. Selon la méthode de Pridham et Gottlieb, 1948 ; les glucides sont stérilisés par filtration et ajoutés au milieu juste avant l'inoculation. Les bactéries testées sont ensemencées sur le milieu minimum ISP9 contenant une seule source de carbone. Les boites sont examinées après 10 à 15 jours d'incubation à 30°C. (Pridham et Gottlieb, 1948).

PARTIE 2 : Etude de la biodiversité métabolique des actinobactéries

1. Hydrolyse de la gélatine

Ce test a été réalisé en ensemençant les isolats dans des tubes qui contiennent de la gélatine nutritive et puis incubées à 30, 45, 55 et 60°C pendant 21 jours à pH 7. Après incubation, les tubes sont mis à 4°C. Si la gélatine devient solide cela implique qu'elle n'a pas était attaquée, si elle présente un aspect liquide, cela indique qu'il y a production de la gélatinase (Larpent et Larpent-Ghourgoud, 1985).

2. Hydrolyse de la caséine du lait

Une quantité de 10 g de lait écrémé est dissoute dans 100 ml d'eau distillée à (pH 7,5), puis stérilisés à l'autoclave à une température de 121 °C pendant 20 min.100 ml d'eau distillée contenant 3,6g d'agar sont parallèlement autoclavés dans les mêmes conditions. Ces deux solutions sont mélangées aseptiquement puis coulées en boites de Pétri stériles. Les boites ainsi préparées, sont ensemencées par les actinobactéries puis incubées à 30,45, 55 et 60°C pendant 7 jours, L'apparition d'une auréole claire autour des colonies indique un résultat positif (Gordon *et al.*,1974).

3. Production de l'estérase

La recherche de l'estérase est réalisée sur le milieu Sierra (**annexe 1**), ajouté de tween 80. Cette préparation est versée aseptiquement dans des boites de Pétri. Les isolats sont ensuite ensemencés par stries serrées et incubées à des températures de 30, 45, 55 et 60°C pendant 5 à 10 jours. L'apparition d'une couronne opaque autour des colonies traduit la présence d'une estérase (Camille., 2007).

4. La recherche de lécithinase et lipoprotéinase

La gélose au jaune d'œuf **(annexe 1)**, permet de détecter trois enzymes : la lécithinase, la lipase et les lipoprotéinases. Les isolats sont ensemencés dans des boites de pétri contenant de la gélose au jaune d'œuf puis incubées pendant 1 à 5 jours à 30, 45, 55et 60°C. L'apparition d'une auréole opaque, blanc jaunâtre à bord de la colonie ou dans les limites des colonies, indique la présence d'une lécithinase. En plus la présence d'un halo d'éclaircissement autour des colonies qui apparaissent en premier indique la présence des lipoproteinases.

5. L'hydrolyse de la pectine

Les actinobactéries sont ensemencées sur le milieu pectine-agar **(annexe 1).** Après incubation aux températures de à 30, 45, 55 et 60°C pendant 5 jours, les boites sont inondées par une solution d'acétate de cuivre (Camille, 2007). Les boites sont ensuite laissées à température ambiante pendant quelques minutes. L'activité pectinolytique est mise en évidence par l'apparition de zone claire autour des colonies.

6. L'hydrolyse de l'urée

L'uréase est recherchée sur milieu urée indole. Ce milieu de culture permet la mise en évidence de l'uréase et de l'indole. L'ensemencement s'effectue par une goutte de l'inoculum dans ce milieu et l'incubation pendant 1 à 5 jours et réalisée aux températures de 30, 45, 55 et 60°C. Si le milieu devient rouge violacé, cela indique la présence d'une uréase. Le test indole est révélé par l'apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de 4 à 5 gouttes de réactif de Kovacs (Camille, 2007).

7. La recherche de nitrate réductase

La recherche de la nitrate réductase est effectué sur bouillon nitraté (Marchal et Bourdon,1973). La mise en évidence de la réduction des nitrates est effectuée à l'aide de deux réactifs NR1 et NR2. Après 7 à 10 jours d'incubation. Le test positif se manifeste par la présence d'une coloration rouge. En l'absence de cette coloration, quelques milligrammes de poudre de zinc sont ajoutés ; s'il ya :

-Couleur rouge : le Zn a réduit NO_3^- encore présents en NO_2^- en N_2 ; donc nitrate réductase négative.

-Absence de coloration : pas de présence de NO_2^- ISSUS DES no_3^-. Les NO_3^- été réduits en N_2 par la bactérie. Donc nitrate réductase positive.

8. L'hydrolyse de cellulose

L'activité cellulolytique est réalisée sur le milieu ISP9, additionné 1% de CMC (carboxyméthyl cellulose). Les cultures ont été inoculées et incubées à 30, 45, 55 et 60°C pendant 7 jours. Pour la visualisation de la zone claire on utilise la solution de rouge Congo à 0,1% pendant 15 min suivie d'une décoloration en utilisant de NaCl 1 M pendant 15-20 min (Das *et al.,* 2012).

9. Hydrolyse de l'amidon

Une GN solide contenant 1% d'amidon soluble a été ensemencée par chaque isolat d'actinobactéries. Après 07 jours d'incubation à 30, 45 et 55 et 60°C, la gélose a été couverte d'une solution de lugol. L'hydrolyse est mise en évidence par l'absence de coloration aux alentours des colonies, à l'inverse, les zones contenants de l'amidon se colorent en brun (Jeffrey, 2008). Les isolats présentant une large zone d'éclaircissement dans la température 55°C ont été utilisés pour le dosage de l'α-amylase.

PARTIE 3 : Etude de la biodégradation de certains composés organiques et de synthèse

1. Biodégradation de l'amidon et étude de l'activité amylolytique à température de 55°C

Cette recherche s'intègre dans la nouvelle vision adoptée en biotechnologie microbienne, qui s'oriente vers les microorganismes extrêmophiles. En effet, les organismes thermophiles, par exemple, offrent plusieurs avantages en industrie (comme celle des lessives et pour bien d'autres produits).

1.1. Préparation de l'inoculum

Les colonies de chaque isolat ont été ensemencées dans des fioles contenant un bouillon nutritif liquide contenant 1% d'amidon. Les cultures ont été incubées à 55°C jusqu'à arriver à une DO égale à 0.05 à 550nm (Chaudhary et Prabhu. 2016).

1.2. Culture en batch

1ml de chaque culture précédament préparée sert à inoculer des Erlenes de 250 ml contenant 100 ml du milieu « Starch fermentation Broth » (**Annexe 1**), le pH a été ajusté à 7. Les cultures sont ensuite incubées sous agitation (75 tr/min) et incubées à 55°C pendant 5 à 6 jours (Naif, *et al.,* 2020).

1.3. Dosage de l'α-amylase (Ahmed *et al*., 2011)

Un volume de 2 ml de chaque isolat mis en culture, sont déposés dans des tubes Eppendorf. Ce volume est ensuite centrifugé à 3000 tr/min pendant 20 min à 4°C. Un volume de 0.5 ml du surnageant est ajouté avec un volume de 0.5 ml d'une solution tampon de 0,1M de phosphate, contenant l'amidon à une concentration de 1g/l. Le pH de la solution est ajusté à 7. Ce mélange est incubé à 55°C pendant 20 min. La réaction est ensuite stoppée par l'ajout de 1ml du réactif DNSA. Les tubes sont portés à ébullition pendant 5 minutes, puis refroidis à la température ambiante. Le mélange est ensuite complété à 5 ml par de l'eau distillée. L'estimation du taux de sucre réducteurs est mesurée par la l'absorbance à une longueur d'onde de540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type UV-1800A, Shimadzu, Japon (Bernfeld, 1955). Les résultats obtenus sont exprimés en U/ml. Une unité d'activité amylase est définie comme étant la quantité d'enzyme qui produit une µmole de glucose **Annexe 2** (Ahmed *et al*., 2011).

1.4. Effet de la température et du pH sur l'activité de l'α-amylase

Deux paramètres clés affectant la production de l'α-amylase ont été testés. Ce sont la température et du pH. Le milieu de culture liquide Starch fermentation Broth est inoculé par la suspension bactérienne des isolats performants et incubé à 4°C, 20°C, 30°C, 40°C, 55°C, 60°C et 70°C pendant 6 jours. Pour le pH, le même milieu de culture est ajusté à différent pH en utilisant différents tampons. Nous avons utilisé le tampon acétate (pour le pH 4), le phosphate (pour le pH 7), le Tris-amine méthane tampon (pour le pH 9) et le borate (pour le pH 10,2). Un volume de 1 ml est récupéré dans des Eppendorfs à partir de cultures de 5 à 6 jours. Le surnageant est récupéré par centrifugation à une vitesse de 3000 tours/min pendant 20 minutes. L'activité amylolytique est ensuite mesurée par la méthode DNSA avec la variation de la température et du pH de la réaction enzymatique.

2. Biodégradation des pesticides

Cette étude vise à mettre en évidence l'aptitude des isolats d'actinobactéries isolées à partir des eaux chaudes à dégrader des molécules pesticides. Ainsi, neuf pesticides ont été testés. Il s'agit de deux fongicides, quatre insecticides et trois herbicides parmi les plus utilisés en agriculture dans la wilaya de Constantine. Ces données ont été aimablement fournies par la maison d'agriculture (Service des inspections phytosanitaires et vétérinaires), la station de protection des plantes (INPV) et la coopérative de céréales et légumes secs (CCLS) de la Wilaya de Constantine.

2.1. Mise en culture

Des solutions mères, de tous les pesticides testés ont été préparés en ajoutant les pesticides commercialisés à l'eau distillée pour la solubilité de matière active ; et stérilisés par filtration sur membranes de type millipore (de 0,22 µm de porosité).L'herbicide *Prowl aqua* dont la matière active (PENDIMETHALINE) est formulée sous forme de capsules. Ce pesticide est difficile à filtré car il est visqueux, il a été stérilisée par tyndallisation.

Deux milieux minium ont été utilisés. Il s'agit de milieu M1. Ce milieu est complètement exempt de source de carbone (Vandermesse 1996). Le deuxième dénommé M2 est un milieu minéral minimum exempt de source d'azote et additionné de 1% de glucose (Bano et Musarrat 2004). 0.2 g/L de chaque solution mère de pesticide stériles ont été ajoutées aux milieux minimum M1 et M2, afin d'étudier respectivement la source de carbone et la source

d'azote. (Vandermesse, 1996, Bano et Musarrat, 2004 et Rozo *et al.*, 2013). Des boites de Pétri sont préparées et ensemencées chacune en stries par tous les isolats d'actinobactéries, puis incubées à 30°C pendant 15 jours. Parallèlement des boites dépourvus de pesticides ont été préparées et incubées dans les mêmes conditions, ce sont des boités témoins. La croissance des actinobactéries est évaluée par l'observation de croissance après 48 h,72 h, 7 jours puis 15 jours. Les isolats d'actinobactéries sont décrites actives, si la croissance est importante par rapport au témoin. Elles sont inactives, si la croissance est moins importante que le témoin.

2.2. Test de tolérance des souches performantes à différentes concentrations des pesticides

Les actinobactéries positifs, sont ensemencés sur les mêmes milieux additionnés du même pesticide à concentration (0.5 g/l, 1 g/l, 3g/l, 6g/l, et 12 g/l) (Benslama et Boulahrouf, 2013). Après 10 jours d'incubation à 30°C. la croissance bactérienne est évaluée soit positive (+) ou nulle (-).

3. Biodégradation du tartre dentaire

Le tartre dentaire est un dépôt dur de couleur jaune ou brunâtre qui se forme sur les dents. Il est causé essentiellement par la minéralisation de la plaque dentaire et par les bactéries de la flore buccale qui produisent une substance adhésive qui colle aux dents formant une plaque dentaire. Au fil du temps, les minéraux présents dans la salive, tel que le calcium et le phosphate se lient à la plaque et durcissent formant ainsi le tartre. Ce dernier, est composé principalement de 75 % de substances minérales (carbonate de calcium, phosphates de calcium et de magnésium, sels de zinc, manganèse et cuivre, etc.) et de 15 % de substances organiques (Hazen, 1995 ; Souchay *et al*., 1995). Deux types de tartre sont rencontrés, le tartre supra-gingival (tartre salivaire) et le tartre sous-gingival (plus difficile à enlever) (Roberts et Clerehugh, 2000 ; Ronderos *et al.,* 2000). Dans cette étude, nous avons voulu tester la capacité des actinobactéries longtemps familiarisés et acclimatés au monde minérale des eaux thermales, à dégrader ce tartre.

3.1. Tests de biodégradation

3.1.1. Préparation de l'inoculum bactérien

La préparation de l'inoculum bactérien est réalisée de la même manière que celle décrite dans la section 6.1.

3.1.2. Récupération et stérilisation des dents

Les dents qui présentent de visu, un aspect tartré, ont été aimablement fournies par le Docteur Bouzid wassim cabinet dentaire El-Khroub Constantine Elles ont été stérilisées au moment de l'étude, par autoclavage à 121°C pendant 15 minutes.

3.1.3. Ensemencement des isolats en présence des dents

Une quantité de deux colonies de chaque souche, constitue l'inoculum qui sert à ensemencer un tube contenant 9 ml du milieu minimum ISP9 en présence de deux dents. Les tubes ainsi préparés, sont incubés à 37°C pendant 7 à 10 jours avec une observation et lecture quotidienne.

3.2. Effet des isolats performants sur la flore buccale

Les souches qui présentent un résultat positif sur le tartre dentaire sont choisies pour la suite de l'étude. A l'aide d'écouvillons stérile, des prélèvements buccales, ont été réalisés sur des volontaires puis ensemencées d'écouvillon stérile dans des boites de Pétri contenants de (GN)et incubées à 37°C pendant 24 à 48h. Les colonies obtenues, constituent les bactéries tests. Elles ont été purifiées et conservées dans le même milieu à 4°C. Des puits de 2 mm de diamètre ont été préparés à l'aide d'un emporte pièce stérile sur des boites contenant de la GN préalablement ensemencée en surface, par les bactéries tests. Dans chaque puits 50µl des inocula d'actinobactéries sont déposés. Les boites sont incubées à 37°C pendant 3-7 jours.

3.3. Essai de culture en fiole contenant le tartre

1ml de l'inoculum actinobactéries en est déposé dans des fioles de 100 ml de volume, contenant 50 ml du milieu minimum ISP9 et 1 mg de tartre dentaire stérile auparavant récupéré chez le même médecin dentiste. Les cultures sont ensuite incubées sous agitation de 75 rpm à 37°C pendant 5-6 jours. 1 ml est prélevé dans des Eppendorfs à partir des cultures en batch âgées de 5 à 6 jours. Le surnageant est récupéré par centrifugation à une vitesse de 3000 tours/min pendant 20 minutes, afin d'écarter les bactéries et ne laisser que la solution qui contient la ou les molécules bioactives qui dégrade le tartre.

3.4. Test de toxicité

3.4.1. Dessiccation de la solution tester

Une quantité de 100 µl de la solution à tester, a été déposées dans une boite de Pétri stérile en verre et mise dans une étuve réglée à une température de 30°C pendant 24 heures, pour dessiccation. Afin de mesurer le poids sec du ou des composés chimiques à intérêt que

contient 100 µl de la solution active, la boite a été pesée à vide (x) et après dessiccation (y). Cette étape est répétée 3 fois et le poids sec est calculée par l'équation suivante : P = y – x dont : P est le poids de la molécule dans 100µl de la solution.

3.4.2. Recherche de la quantité injectable à l'animal

La dose recommandée pour tester l'efficacité d'une molécule injectée aux souris de laboratoire est de 2000 mg /kg. La recherche de la quantité nécessaire à injecter aux souris, doit d'être calculer selon le poids de chaque souris. Les doses de 1000 et 500 mg/ kg ont été également testés.

3.4.3. Préparation du matériel animal

Les animaux utilisés sont des souris de souche Wistar albinos de sexe femelle dont le poids varie entre 16 et 25 grammes. Ces animaux ont été reçus de l'Institut Pasteur (Alger ; Algérie) et hébergés dans l'animalerie de l'université Mentouri Constantine 1. Les souris ont été installées dans des gites en plastiques et nourris de la même manière avec un aliment standard. Les souris peuvent se nourrir librement et placés dans les conditions de température ambiante (25°C +/- 1°C) avec une alternance diurne et nocturne normale.

3.4.4. Répartition et traitement des animaux

Pour déterminer la dose létale médiane et les effets indésirables de notre produit, nous l'avons testé sur 12 souris femelles adultes en bonne santé, partagées en 4 lots de trois souris chacun. Le premier groupe est conservé comme témoin tandis que les trois autres recevront par voie orale, les doses adéquates de notre solution à raison de 500, 1000 et 2000 mg/kg de poids corporel **(Tableau 7)** (Shekar *et al.*,2019).

Tableau 7 : Répartition et traitement des souris

Lots	**Traitements**
Lot 1 : (témoin négatif)	Souris non traités
Lot 2 :	Souris traitées par 500 mg /kg
Lot 3 :	Souris traitées par1000 mg /kg
Lot 4 :	Souris traitées par2000 mg /kg

Les souris ont été mises sous une alternance de 12 h de lumière et 12 h d'obscurité. Les quatre lots ont été nourris de la même manière. 18 à 24h avant l'essai, les animaux ont été mis à jeun, en recevant uniquement de l'eau. Les souris témoins ont reçu une solution saline normale, 18 heures avant l'administration de la solution. La solution est administrée par voie orale à l'aide d'une aiguille munie d'une sonde à gavage à bout rond.

Après administration, les animaux ont été observés pendant : 15, 30 et 60 minutes afin de déceler des signes éventuels de toxicité puis après 4,6, 24 heures et quotidiennement pendant 5 jours. Les paramètres observés pendant les 5 jours étaient les suivants : Le poids (diminution ou augmentation), la salivation, la prise alimentaire qui concerne l'appétit (elle augmente ou elle diminue), les tremblements, le sommeil, les convulsions, la diarrhée, la léthargie, le coma, la survenue de la mort. Le nombre de souris décédés dans chaque groupe est compté et le pourcentage de mortalité est calculé.

Une DL_{50} approximative est déterminée en observant la mortalité subie pour les souris dans différents groupes au bout de 24 heures. Les souris ont été sacrifiées et le poids du foie de chacun a été observé (Shekar *et al.*,2019).

3.4.5. Paramètres biochimiques mesurés

Des échantillons de sang des souris survivants sont prélevés et soumis à des tests de la fonction hépatique. Des analyses FNS ont été réalisé par l'automate d'hématologie GENIUS. Les paramètres mesurés sont les globules rouges, globules blancs, l'hémoglobine, hématocrite et les plaquettes (Corre, 2016). Les enzymes aspartate amino-tranférases (AST) et l'alaninamino-transférases (ALT) sont réaliser comme divers indices biochimiques de la fonction hépatique par le spectrophotomètre Mindray BA-88A. Les paramètres TGO et TGP (UI/L) ont été déterminés par dosage colorimétrique selon les réactions suivantes :

TGO : Aspartate + a cétoglutarate $\xrightarrow{\text{TGO}}$ oxaloacetate+ glutamate

TGP : Alanine + a cétoglutarate $\xrightarrow{\text{TGP}}$ pyruvate + glutamate

Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4 dinitrophénylhydrazones (Sacoti, 2012). Après avoir mis 1000 µl de réactif dans un tube à essai, 100 µl de sérum ont été ajouté. Immédiatement a été mesurée à une λ = 505 nm. Chaque échantillon reste 3 min pour donner la valeur de A (Gabriela *et al.,* 2005).

Résultats et discussion

PARTIE 1 : Etude de la biodiversité des actinobactéries dans les sources thermales de l'est Algérien

1. Caractéristiques physico-chimique des sites d'échantillonnage

Les propriétés physico-chimiques des eaux thermales étudiées sont résumées dans le **tableau 8**.

Tableau 8 : Caractéristiques physico-chimiques des eaux thermales

Sources / **Paramètres**	H. Debagh	H. Salhine	H. Knif	H. beni haroune	H. tleghma
Température	98°C	70°C	50°C*	42°C*	58°C
pH	7.45	7.26	7.52*	7.5*	7.16
Na^+ (mg/l)	240	507	340*	932*	120
K^+ (mg/l)	46	19	37*	26.9*	03
Ca^{+2} (mg/l)	130	146	110*	98*	118.39
Mg^{+2} (mg/l)	37.4	27	22*	55.68*	31
Cl^- (mg/l)	820	370	297*	199.8*	190
Bicarbonate (mg/l)				414.8*	274.5
SO_4^{-2} (mg/l)	385	274	230*	154.2*	164
NO_3^- (mg/l)				12.2*	08
H_2S (mg/l)	6.80	-			6.80

* : Valeur mesurés sur site

Les températures de l'eau dans toutes les sources thermales étudiées, sont élevées comparativement aux températures moyennes de l'air au moment la saison d'échantillonnage. Ce déséquilibre thermique entre l'atmosphère et l'aquifère indique que les eaux ont une origine très profonde. Ces températures sont influencées par le gradient géothermique d'une part, et l'activité sismique, la désintégration radioactive et les réactions chimiques endogènes productrices d'énergie d'autre part (Houha, 2007). Il est à noter également que les frottements entre les couches géologiques lors de l'activité sismique produit de la chaleur qui réchauffe l'eau des aquifères. Dans l'hypothèse d'un réchauffement des eaux météoriques sous l'influence du gradient géothermique, il faut supposer que l'eau s'infiltre lentement pour avoir la possibilité de se réchauffer et qu'elle doit remonter rapidement pour éviter de perdre sa chaleur au contact du sol. La perte de chaleur au contact des roches plus froides, bien qu'en régime permanent ces pertes soient faibles (Boucharebe *et al*.,1994).

Les valeurs mesurées des cinq sources indiquent un pH basique. Ces eaux thermo-minérales sont caractérisées par la présence d'ions hydroxyde OH^- qui résultent de la perte d'un proton H^+ par une molécule d'eau. Une solution aqueuse est considérée comme basique lorsqu'elle renferme plus d'ions OH^- que l'eau pure. Ceci est dû à l'échange de gaz atmosphérique (Patrick, 2011). Le pH est avant tout déterminé par la teneur en acide carbonique libre. Cependant, il peut aussi être influencé par l'utilisation du sol (utilisation d'engrais ammoniacaux) ou par des processus naturels (échange de matières entre les plantes et le sol, formation d'acides humiques lors de la dégradation de la matière organique). En outre, les pluies acides (H^+) peuvent abaisser le pH des eaux souterraines dans les sols à faible tampon. (Patrick, 2011).

La minéralisation des eaux est déterminée par la nature chimique et minéralogique des sédiments traversés. Les eaux testées dans cette étude, sont (thermo-minérales) car très minéralisées. Elles sont directement liées aux sédiments gypso-salins du Trias si répandus en Algérie (Houha, 2007).

2. Isolement des actinobactéries

Dans des essais préliminaires d'isolement sans ajout d'antifongique et d'antibactériens, nous avons constaté que les champignons étaient les micro-organismes contaminants les plus abondants. Cette situation rend impossible la détection des colonies des actinobactéries dans le milieu d'isolement. Effectivement, la croissance des actinobactéries est longue, avec une

durée de génération d'environ une heure, ce qui rend leurs isolements impossibles à réaliser par rapport aux champignons à croissance relativement rapide. L'ajout de l'antifongique amphotéricine B (50 µg/l) dans les milieux d'isolement considérablement diminué la croissance de ce contaminant. L'utilisation de l'antibactérien acide nalidixique à une concentration de 10 µg/ml ; a également été efficace contre la croissance des bactéries Gram négatif.

La communauté scientifique ne partage pas tous les avis sur l'utilisation des antibiotiques comme additifs dans les milieux d'isolement. Effectivement, d'après les chercheurs, la majorité des antibactériens utilisées inhibent de nombreuses actinobactéries (Porter et *al*.,1960). Toutefois ; Dulaney *et al*.,1955 ; Williams et Davies, 1965 suggèrent l'emploi d'un mélange d'antifongiques et d'antibactériens pour isoler sélectivement les actinobactéries.

Après une incubation de 20 à 50 jours, les colonies caractéristiques des actinobactéries apparaissent. Elles se présentent sous les aspects macroscopiques connus de ce genre de bactéries. Qui se présentent sous forme de colonies dures, poudreuses et incrustées dans le milieu de culture. L'aspect microscopique caractéristique de ces bactéries est un Gram positif et aspect filamenteux. Les petites colonies qui ne se présentent pas sous un aspect mycélien sont pas écartées car elles peuvent êtres des cultures de certains genres rares d'actinobactéries (Goodfellow *et al.*,1987). Toutes les actinobactéries obtenues sont repiquées jusqu'à purification dans le milieu ISP2 (**Fig. 3).**

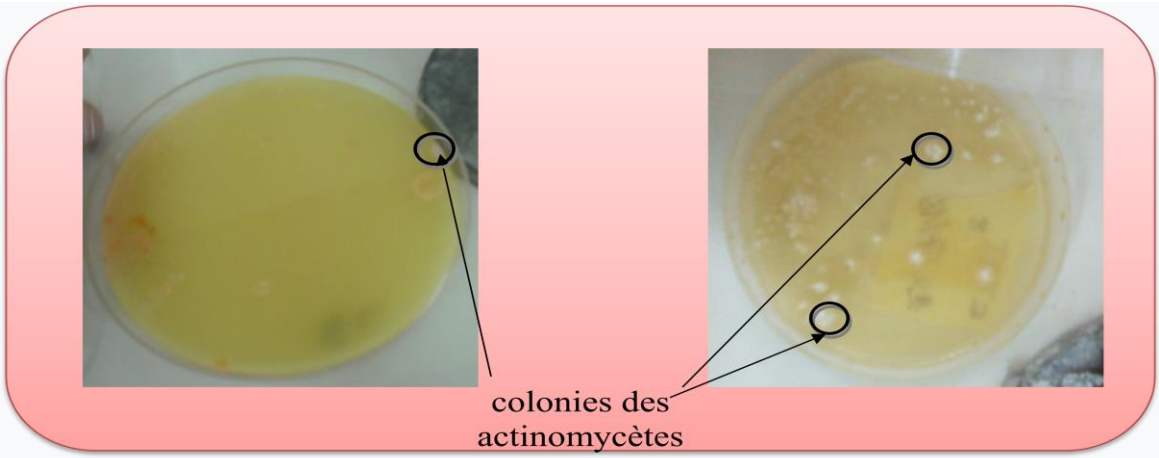


Figure 3 : Colonies d'actinobactéries sur milieux d'isolement

L'isolement des actinobactéries à partir des cinq échantillons de sources thermales Hammam TLEGHMA, Hammam BENI HAROUNE (Wilaya de Mila), Hammam DEBAGH (Wilaya de Guelma), Hammam EL SALIHINE et Hammam KNIF (Wilaya de Khenchela), sur les quatre milieux de cultures et par les deux techniques d'isolement, à conduit aux résultats rassemblés dans le **tableau 9**.

Tableau 9 : Nombre d'actinobactéries isolées selon les milieux de culture, la température d'incubation et la technique d'isolement

Sites d'échantillonnage		H. Debagh	H. El Salihine	H. Knif	H. Tleghma	H. Beni Haroune	**total**
Nombre d'isolats obtenus par milieux de cultures	AIA	GA1. GA2. GA3. GA4 GA5. GA3C	SA6. SEA	0	TA1.TA3. TA4.TA5. TA6. TA10	BA1. BA2. BA3	**17**
	SCA	GS1. GS2	SSS1.SS2. SS1	KS5. KS2	TS2. TS3.TS4. TS6.TS8	BS2. BIT1	**14**
	ISP5	GI3. GI4	SSI. SI8	0	TS1. TA12	BIO.BI3. BI4.BI5	**10**
	Kenknight and Munaier	G	SKM	KM2	0	BKM. BK8.	**5**
Nombre d'isolats obtenus par température d'isolement	30°C	7	6	3	9	11	**36**
	55°C	4	2	0	4	0	**10**
Nombres d'isolats obtenus par techniques d'isolements	par dilutions	3	7	3	10	7	**30**
	Par filtration	8	1	0	3	4	**16**

Un total de **46** isolats d'actinobactéries ont été isolés à partir des cinq sources d'eau thermale. **11** isolats proviennent de Hammam Debagh, **8** isolats de Hammam El Salihine, **3** isolats de Hammam Knif, **13** de Hammam Tleghma et **11** de Hammam Beni Haroune. Les colonies obtenues sont de tailles différentes (petites à moyennes) et de formes variables (aplaties, bombées, …etc), la plupart sont incrustées dans la gélose. Elles sont caractérisées par des couleurs variés entre blanchâtre, verdâtre, grisâtre, l'orangé et le jaune, il ya des colonies qui présentent des pigments diffusibles dans le milieu.

A travers ces résultats les sources thermales de Hammam Tleghma, Hammam Debagh et Hammam Beni Haroune sont les plus riches en actinobactéries. En revanche, le nombre des isolats obtenus à partir des autres sources était plus ou moins faible ne dépasse pas les **8** colonies.

L'existence des actinobactéries dans les sources thermales a été démontrée dans quelques études. Dans les travaux de Medjemadj*et al*., 2020, trois genres d'actinobactéries ont été sélectionnés à partir des eaux thermales de l'est de l'Algérie. Ce sont les genres *Rathayibacter, Streptomyces* et *Rhodococcus*. En revanche, Arshia. 2016, a réussi à isoler une nouvelle espèce à partir des échantillons d'eau d'une source thermale située au Pakistan. Elle a été dénommée (*Nocardioides pakistanensis). Planifilum yunnanense* sp. Nov est une nouvelle souche récoltée à partir de la source thermale à la province du Yunnan, en Chine. Cette actinobactérie thermophile est capable de croitre dans une plage de température allant de 50 à 75°C (Zhang *et al*., 2007).

Dans les sédiments d'une source thermale située à l'ouest de l'Anatolie en Turquie, deux actinobactéries : *Thermoactinomyces thalpophilus* et *T. sacchari*s, qui poussent à 55°C, ont été isolés (Uzel *et al*. 2009). L'approche métagénomique dans les travaux de Zhaoqi *et al*., 2009 a montré une diversité surprenante d'actinobactéries cultivable et non cultivable dans trois sources thermales géographiquement très éloignées.

Dans une étude plus récente 10 actinobactéries ont été isolées à partir d'une source thermale de Bora (Central Sulawesi) (Sapa *et al.*, 2023).

Il est à signaler, que dans la littérature, nous avons trouvé que peu de recherches sur l'isolement des actinomycètes à partir des eaux thermales comparativement à celles réalisées sur les sédiments proches des sources.

Dans ces travaux, la présence des actinobactéries dans la source thermale de Hammam Debagh (wilaya de Guelma) a été mise en évidence pour la première fois, contrairement aux travaux de Medjmadj *et al.,* 2020. Cela peut être expliqué par la durée d'incubation. En effet, dans ces investigations, le temps d'incubation des milieux de culture est de 50 jours, contrairement aux travaux de Medjmadj qui ne dépassent pas les 30 jours. Cependant, l'absence des actinobactéries dans cette source a été démontrée dans le travail de Gomri *et al*., 2018 qui ont utilisé une approche métagénomique pour la recherche des bactéries thermophiles aérobies formants des endospores dans deux sources thermales Algérienne, Hammam Ouled Ali et Hammam Debagh.

Les résultats montrent aussi que les quatre milieux utilisés dans ces investigations, sont favorables pour l'isolement des actinobactéries à partir des eaux thermales. D'après certains chercheurs, la présence de l'asparagine dans le milieu AIA favorise la croissance des actinobactéries par rapport aux autres microorganismes (Uzel *et al*., 2009 ; Akhagari *et al* ,2014). Dans ce travail, ce milieu nous a permis d'isoler 17 actinobactéries. Il en est de même dans les travaux de Medjemadj *et al.*, 2020, ce même milieu a permis d'isoler le plus grand nombre d'actinobactéries à partir des eaux thermales. Le deuxième milieu utilisé dans ces recherches, est le Starch Casein Agar (SCA), qui nous a permis d'isoler sélectivement 14 actinobactéries. La présence de l'amidon et de la caséine dans sa composition, permet une croissance sélective des actinobactéries. Ce milieu a été utilisé avec sucée dans les travaux de Suzuki, 2001, où plusieurs genres rares comme *Actinomonospora, Actinopolyspara, Planomonospora et Planobispora*, ont pu être isolés. Les *Streptomyces* et d'autres genres ont été isolés par Medjemadj *et al*., 2020, il est utilisé comme seule milieu d'isolement des actinobactéries à partir de la source thermale de Bora (Sapa *et al.,* 2023). Il est utilisé aussi dans des nombreux travaux d'isolement des actinobactéries à partir des écosystèmes variés. Williams et Davies, 1965, ont utilisés ce milieu pour un isolement sélectif des actinomycètes à partir des sols. De même, Hagedorn, 1976 a pu isoler une variété du genre *Streptomyces* à partir des sols arides. Ce milieu a été également utilisé par Benimeli *et al.,* 2003 dans ses

travaux, afin d'isoler des actinomycètes à partir des eaux usées contaminées par les pesticides organochlorés.

L'utilisation du milieu ISP5 pour l'isolement sélectif a permis l'obtention de 10 isolats actinobactériens, qui s'explique par sa composition riche en glycérol, connu pour être favorable pour les actinobactéries (Jihani *et al*., 2012 ; Siddique *et al.,* 2014), qui est utilisé par la plupart des actinobactéries comme source de carbone (Oskay *et al*., 2004).

Le milieu de culture Kenknight et Munaier nous a permis d'isoler 5 colonies d'actinobactéries. Ce milieu est utilisé pour l'isolement des actinobactéries du sol (Subba Rao, 2015). La présence de dextrose dans sa composition constitue une source de carbohydrate essentiel pour la croissance des actinobactéries, aussi la présence de nitrate de sodium constitue une source de nitrogène. Ce milieu est utilisé par Chaudhary and Prabhu, 2016, qui ont isolés des actinobactéries à partir d'une source thermale située à Akoli, Vajreshwari en Inde.

La température d'incubation est importante. dans la variation du nombre des actinobactéries. En effet, parmi les **46** isolats, **36** colonies sont issues d'une incubation de 30°C et **10** colonies de la température de 55°C malgré que les échantillons proviennent des écosystèmes à températures très élevées (de 42°C jusqu'à 98°C).

3. Caractères culturaux et microscopiques des isolats

3.1.Caractéristiques culturales

Les caractères culturaux des isolats obtenus ont été déterminés sur les différents milieux ISP (ISP1, ISP2, ISP3, ISP4et ISP5). La croissance, la présence ou l'absence du mycélium aérien, le développement et la couleur du mycélium aérien et du substrat ainsi la présence ou non des pigments diffusibles dans la gélose, ont été notés dans les **tableaux illustrés en Annexe 2** et dans la **fig. 4.**

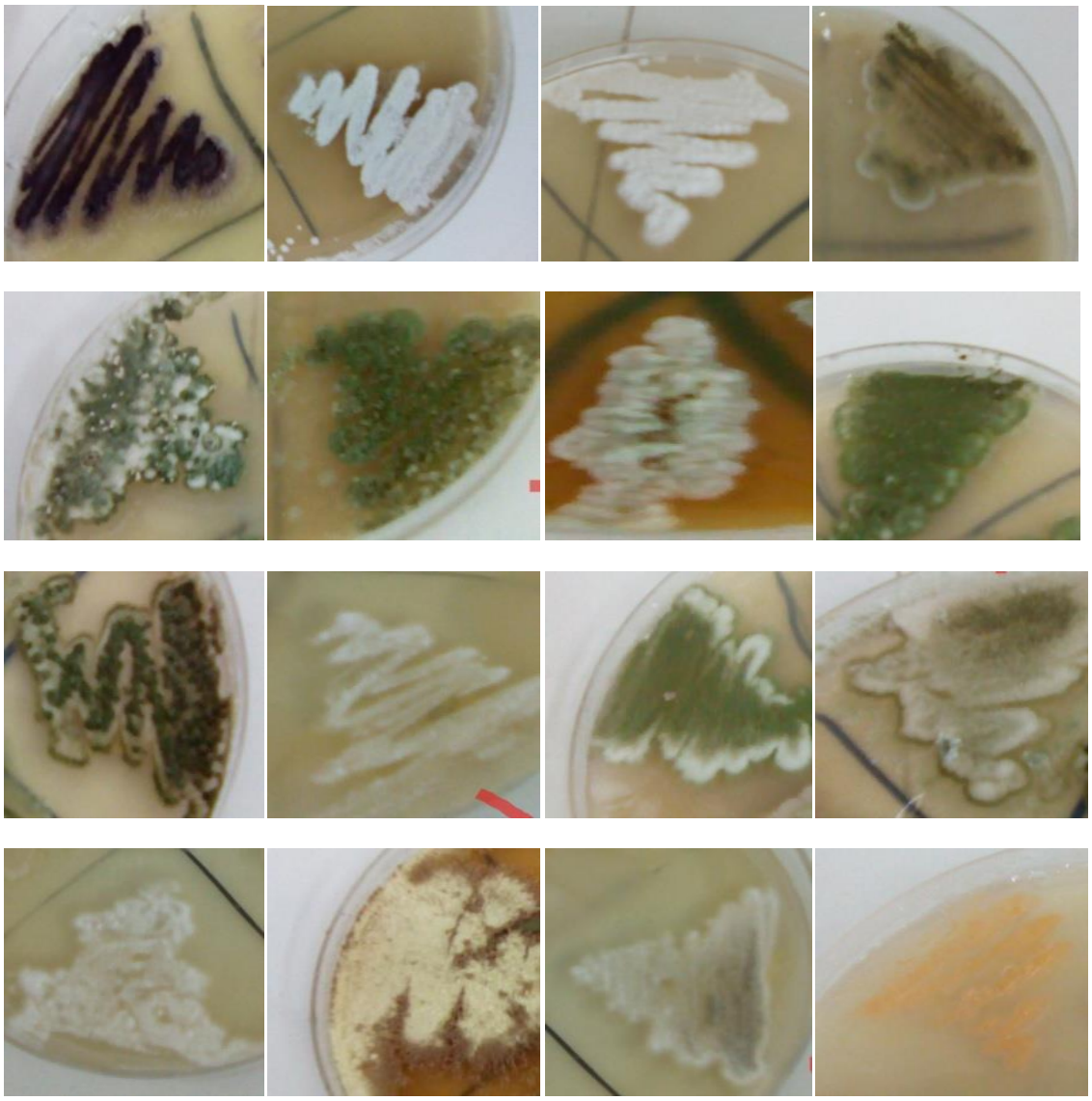


Figure 4: Aspets culturaux de quelques isolats sur milieux d'isolement ISP

3.2. Observations microscopiques

Plusieurs types d'observations microscopiques ont été réalisés pour l'ensemble des isolats obtenus. Les observations à l'etat frais, montrent des aspects filamenteux de presque la totalité des isolats **(Fig. 5)**. Les observations après coloration de Gram des isolats, montrent qu'ils sont tous Gram + **(Fig. 6).** La technique des lamelles indique que la majorité des actinobactéries présentent un aspect filamenteux des mycéliums aériens et un aspect de filaments qui se fragmentent (pour certain isolat et pas pour d'autres) en petits bacilles du mycélium du substrat. Ces apparences sont caractéristiques du genre *Streptomyces*. Les observations des isolats par le MEB indiquent que ce sont des filaments composés de cocco-

bacilles d'un nombre d'environ (5 à 8) par filaments dans le mycélium aérien, qui se fragmente ou non en plusieurs unités dans le mycélium du substrat **(Fig.7).**

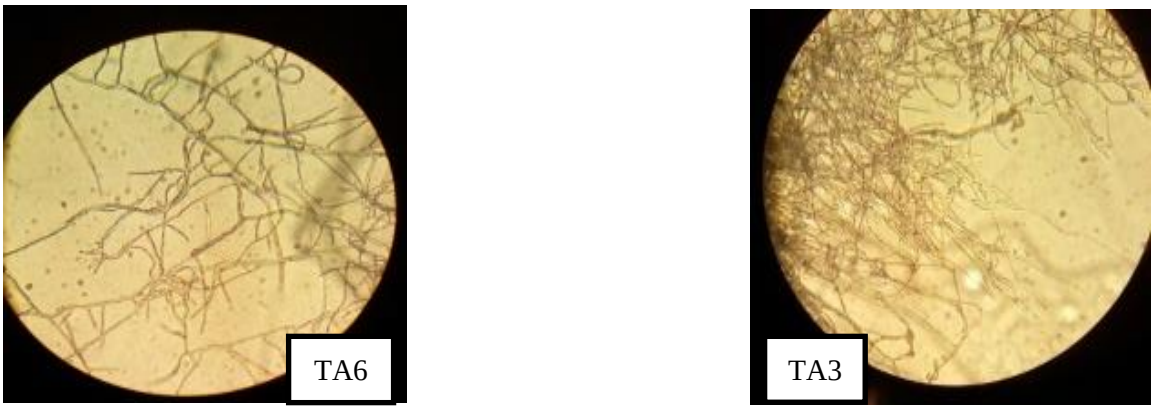


Figure 5 : Exemples des isolats TA6 et TA3 observés à l'état frais X100.

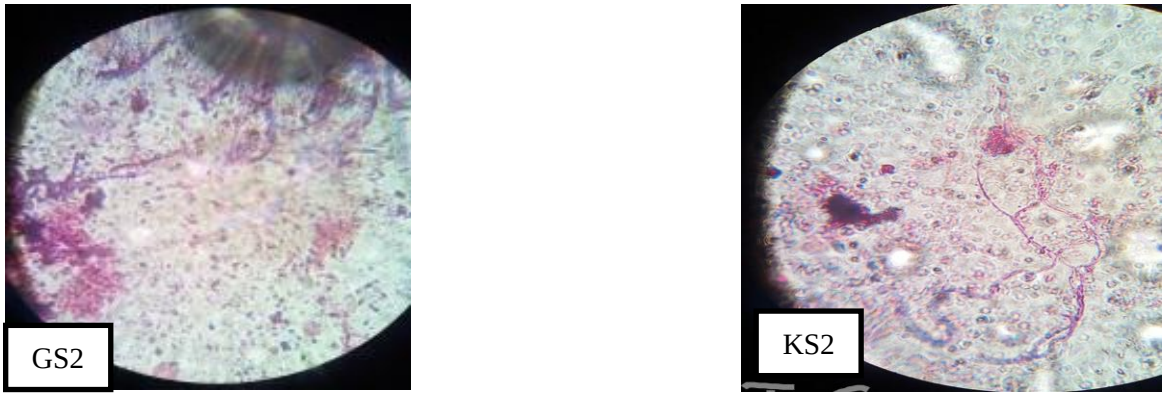
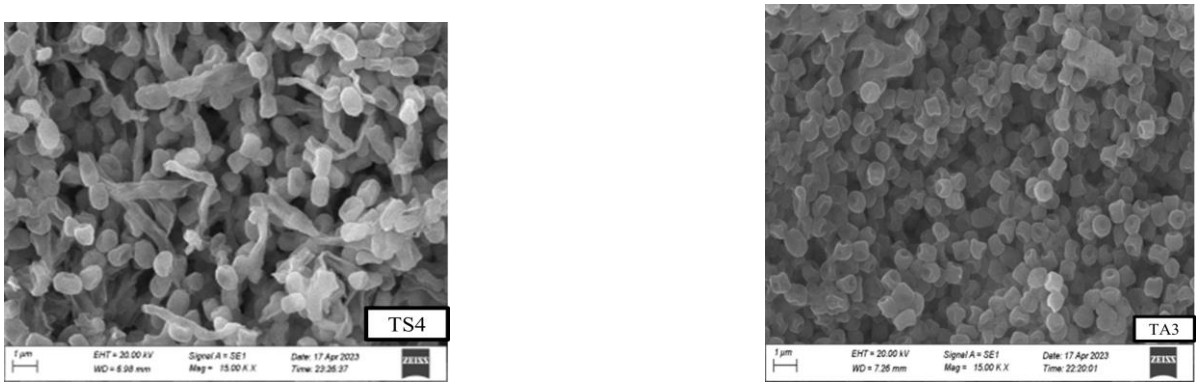


Figure 6 : Exemples des isolats GS2 et KS2 obsrvés après coloration de Gram X100.



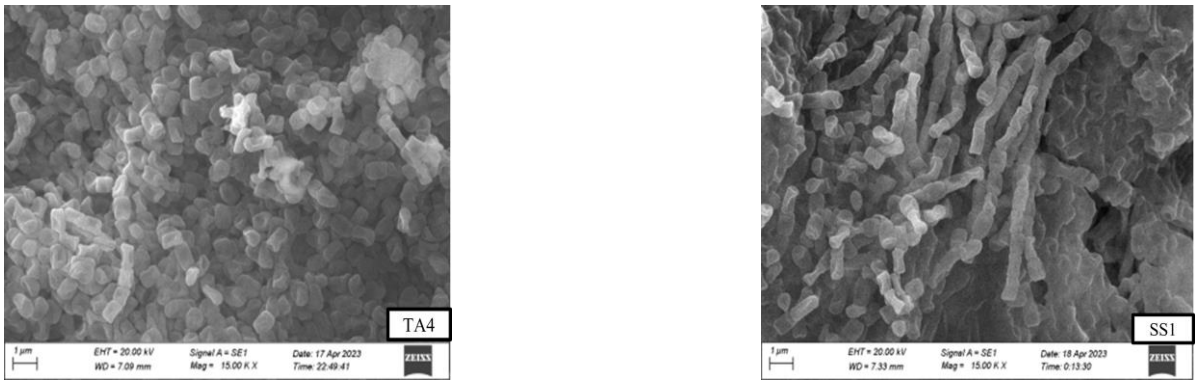


Figure 7 : Observation microscopique par microscopie électronique à balayage (SEM) X 15000.

4. Identification moléculaire des isolats actinobactériens

D'après les résultats du séquençage de l'ARNr16S, représentés dans le **tableau 10**, quatre genres sont isolés à partir des sources thermales étudiées. Il s'agit de *Streptomyces, Rhodococcus, Thermoactynomyces* et *Gordonia.* Le genre dominant est de loin *Streptomyces* avec un nombre de **37** sur les **46** isolats actinobactériens identifiés, soit plus de 80% des actinobactéries isolées. Il faut rappeler que ce genre est très représenté dans la classe des *Actinobacteria.* En effet, d'après une étude récente, 975 espèces ont été répertoriées dans tous les écosystèmes confondus (Euzeby, 2021). Quatre souches du genre *Thermoactinomyces* ont été isolées dans cette étude. Ce genre est considéré comme le genre le plus souvent isolé après les *Streptomyces* à partir des habitats similaires. Dans les sédiments d'une source thermale située à l'ouest de l'Anatolie en Turquie, deux actinobactéries : *Thermoactinomyces thalpophilus* et *T. saccharis*, qui poussent à 55°C, ont été isolés (Uzel *et al.,* 2009). Les travaux de Mokrane *et al*., 2016 ont réussi à isoler et identifier une nouvelle souche *Thermoactinomyces khenchelensis* à partir des sédiments de la source thermale de khenchela en Algérie. Deux espèces du genre *Thermoactinomyces* ont été isolées à partir de source géothermale à Armenia (Hovik, 2019).

Dans ces investigations, 3 souches appartenant au genre *Rhodococcus* ont été isolées à partir de la source thermale de Beni Haroune. Ce résultat s'accorde parfaitement avec les recherches de Medjemadj *et al*.,2020. Deux espèces appartenant au genre *Gordonia* ont été récupérées à partir des écosystèmes étudiés dans ces travaux. Ce genre est relativement rare dans ces environnements chauds. Ces résultats sont selon notre avis très intéressants et contribuent beaucoup à enrichir le registre des actinobactéries thermophiles des eaux chaudes.

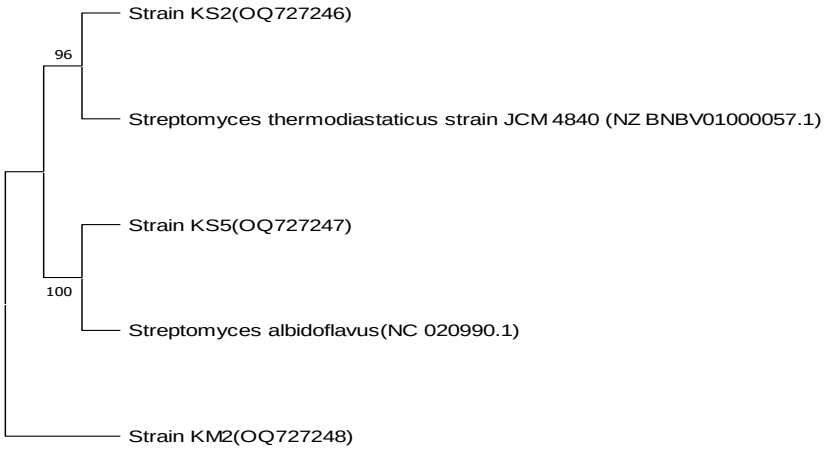
Tableau 10 : Résultats de BLAST du gène 16S rRNA des séquences des actinobactéries isolées à partir des sources thermales de l'est Algérien et leurs numéros d'accessions.

Code des isolats	**Les séquences les plus proches avec le BLAST et (numéros d'accessions)**	**Pourcentage de Similarité**	**Numéros d'accessions**
TA1	*Streptomyces rhizosphaericola* 1AS2c (NZ_SRZK01000437.1)	99.72¨%	OP456977
TA3	*Streptomyces albidoflavus* (NC_020990.1)	99,44%	MW301212
TA4	*Streptomyces cavourensis* strain 1AS2a (NZ_CP024957.1)	99,32%	MW301210
TA5	*Streptomyces albidoflavus* (NC_020990.1)	99.53%	OP003989
TA6	*Streptomyces rhizosphaericola* strain 1AS2c (NZ_SRZK01000437.1)	98.03%	OP003990
TA10	*Streptomyces albidoflavus* (NC_020990.1)	99.64%	OP003991
TA12	*Streptomyces rhizosphaericola* strain 1AS2c (NZ_SRZK01000437.1)	99.77%	OP003992
TS1	*Streptomyces griseoflavus* strain JCM 4479 (NZ_BMUC01000046.1)	98.51%	OP480010
TS2	*Streptomyces azureus* strain ATCC 14921 (NZ_DF968281.1)	99.14%	OP480011
TS3	*Streptomyces torulosis* strain NRRLB-3889 (NZ_LIRK01000400.1)	99.02%	OP003986
TS4	*Streptomtces melanogensis* strain JCM4398 (NZ_BMTS01000080.1)	99.39%	OP003987
TS6	*Streptomyces calvus* strain DSM41452 (NZ_CP022310.10)	99.06%	OP480012
TS8	*Streptomtces aurantiogriseus* strain JCM4346 (NZ_BMSX01000069.1)	98.39%	OP003988
BA1	*Streptomyces scabiei* (NC_013929.1)	99.43%	OQ780365
BA2	*Streptomyces griseochromogenes* (NZ_CP016279.1)	99.58%	OQ780366
BA3	*Streptomyces griseochromogenes* (NZ_CP016279.1)	99.76%	OQ780367
BS2	*Streptomyces avermitilis MA-4680* (NC_003155.5)	99.61%	OQ780368
BIT1	*Streptomyces avermitilis MA-4680* (NC_003155.5)	99.20%	OQ780369
BIO	*Rhodococcus qingshengii* (NZ_AP023172.1)	99.38%	OP458558
BI3	*Streptomyces bottropensis* ATCC 25435 (NZ_KB911581.1)	100%	OQ780370

BI4	*Rhodococcus erythropolis* (NZ_CP007255.1)	98.26%	OP458556
BI5	*Rhodococcus ruber* (NZ_CP044211.1)	98.85%	OP458557
BKM	*Gordonia oryzae RS15* (NZ_RKMH01000030.1)	99.49%	OQ733166
BK8	*Gordonia polyisoprenivorans* VH2(NC_016906.1)	99.52%	OQ733165
GA1	*Thermoactinomyces daqus* (NZ_JPST01000070.1)	98.51%	OP456983
GA2	*Thermoactinomyces vulgaris* (NZ_CP039710.1)	98.62%	OQ733167
GA3	*Thermoactinomyces intermedius* (NZ_JACEIR01000006.1)	99.06%	OP457077
GA4	*Thermoactinomyces vulgaris* (NZ_CP039710.1)	98.63%	OP456984
GA5	*Streptomyces thermocarboxydus* (NZ_CP058273.1)	99.86%	OQ733168
GA3C	*Streptomyces cavourensis* strain 1AS2a (NZ_CP024957.1)	99.22%	MW301211
GS1	*Streptomyces griseoviridis* (NZ_CP034687.1)	99.24%	OQ733169
GS2	*Streptomyces albidoflavus* (NC_020990.1)	99.49%	OP456974
GI3	*Streptomyces griseus* subsp. griseus NBRC 13350 (NC_010572.1)	99.09%	OQ733170
GI4	*Streptomyces griseus* subsp. griseus NBRC 13350 (NC_010572.1)	98.96%	OQ733171
G	*Streptomyces violaceoruber* souche S21 (NZ_CP020570.1)	98.74%	OQ733172
SA6	*Streptomyces cellulosae* strain NBC_01681 (NZ_JAPEQI010000001.1)	99.76%	OQ730102
SEA	*Streptomyces cellulosae* strain NBC_01681 (NZ_JAPEQI010000001.1)	99.75%	OQ730103
SSS1	*Streptomyces griseorubens* strain JSD-1 (NZ_KL503830.1)	98.65%	OP456976
SS1	*Streptomyces formicae* souche 1H-GS9 (NZ_CP071872.1)	99.03%	OQ730104
SS2	*Streptomyces albidoflavus* (NC_020990.1)	98.77%	OP456975
SSI	*Streptomyces formicae* souche 1H-GS9 (NZ_CP071872.1)	99.76%	OQ730105

SI8	*Streptomyces calvus* strain DSM 41452 (NZ_CP022310.1)	99.52%	OQ730106
SKM	*Streptomyces calvus* strain DSM 41452 (NZ_CP022310.1)	99.76%	OQ730107
KS2	*Streptomyces thermodiastaticus* strain JCM 4840 (NZ_BNBV01000057.1)	98.75%	OQ727246
KS5	*Streptomyces albidoflavus* (NC_020990.1)	98.99%	OQ727247
KM2	*Streptomyces thermodiastaticus* strain JCM 4840 (NZ_BNBV01000057.1)	98.70%	OQ727248

Les arbres phylogénétiques construits de ces souches **(fig.8)**, montrent l'histoire de l'évolution des souches isolées et les relations phylogénétiques entres ces séquences et celles des souches références. On remarque plusieurs clades dans les cinq arbres phylogénétiques obtenus qui signifie la grande similarité entre la plupart des isolats et les souches références. Tandis qu'il ya d'autres isolats qui présentent des pourcentages de similarité inferieur de 99% ; ces isolats ont une grande probabilité d'être des nouvelles espèces selon Meier-Kolthor *et al.,* 2013. Il est également envisageable que la taille du fragment d'ADN amplifié soit adéquate pour une identification précise de ces souches.



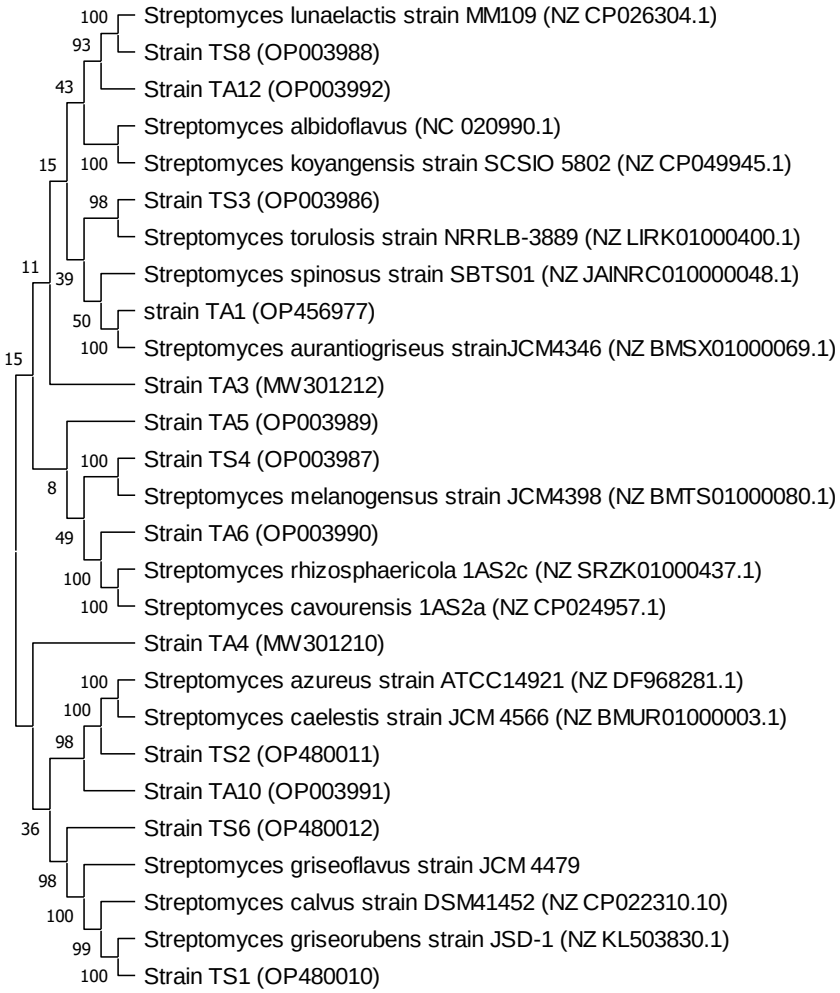
A

Strain BI4(OP458556)
Rhodococcus erythropolis(NZ CP007255.1)
Rhodococcus qingshengii (NZ AP023172.1)
Strain BIO(OP458558)
Strain BKM(OQ733166)
Gordonia oryzae RS15(NZ RKMH01000030.1)
Strain BK8(OQ733165)
Gordonia polyisoprenivorans VH2 (NC 016906.1)
Strain BI5(OP458557)
Rhodococcus ruber (NZ CP044211.1)
Strain BA1(OQ780365)
Streptomyces scabiei (NC 013929.1)
Strain BI3(OQ780370)
Streptomyces bottropensis ATCC 25435(NZ KB911581.1)
Strain BA2(OQ780366)
Strain BA3(OQ780367)
Streptomyces griseochromogenes(NZ CP016279.1)
Strain BS2(OQ780368)
Streptomyces avermitilis MA-4680(NC 003155.5)
Strain BIT1(OQ780369)

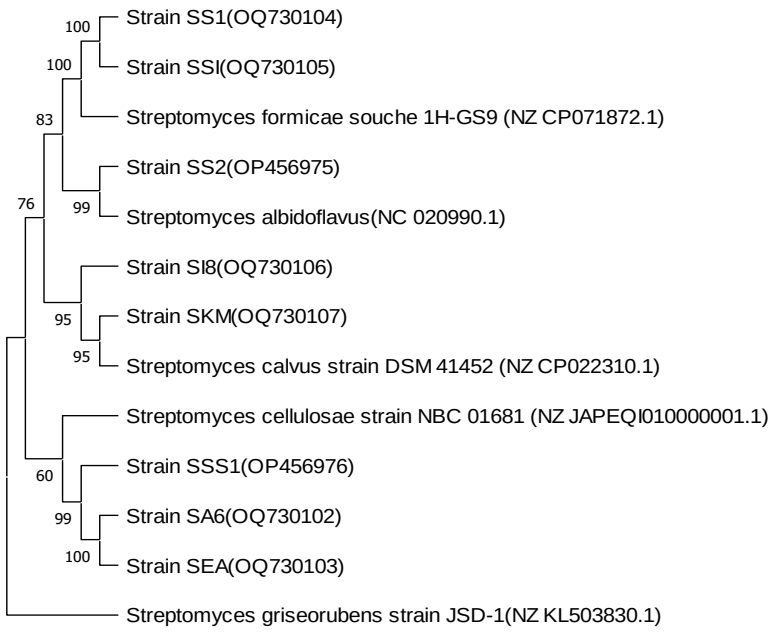
B

Streptomyces albidoflavus(NC 020990.1)
Strain GI3(OP456974)
strain GS2 (OP456974)
Streptomyces griseoviridis(NZ CP034687.1)
Strain GS1(OQ733169)
Strain GA5(OQ733168)
Streptomyces thermocarboxydus (NZ CP058273.1)
Strain GA3C(MW301211)
Streptomyces cavourensis strain 1AS2a (NZ CP024957.1)
Streptomyces griseus subsp. griseus NBRC 13350 (NC 010572.1)
Strain GI4(OQ733171)
Strain G(OQ733172)
Streptomyces violaceoruber souche S21 (NZ CP020570.1)
Strain GA3(OP457077)
Thermoactinomyces intermedius(NZ JACEIR01000006.1)
Strain GA1(OP456983)
Thermoactinomyces daqus(NZ JPST01000070.1)
Strain GA2(OQ733167)
Thermoactinomyces vulgaris(NZ CP039710.1)
Strain GA4(OP456984)

C


100
Streptomyces lunaelactis strain MM109 (NZ CP026304.1)
93
Strain TS8 (OP003988)
43
Strain TA12 (OP003992)
Streptomyces albidoflavus (NC 020990.1)
15
100
Streptomyces koyangensis strain SCSIO 5802 (NZ CP049945.1)
98
Strain TS3 (OP003986)
Streptomyces torulosis strain NRRLB-3889 (NZ LIRK01000400.1)
11
39
Streptomyces spinosus strain SBTS01 (NZ JAINRC010000048.1)
50
strain TA1 (OP456977)
15
100
Streptomyces aurantiogriseus strainJCM4346 (NZ BMSX01000069.1)
Strain TA3 (MW301212)
Strain TA5 (OP003989)
100
Strain TS4 (OP003987)
8
Streptomyces melanogensus strain JCM4398 (NZ BMTS01000080.1)
49
Strain TA6 (OP003990)
100
Streptomyces rhizosphaericola 1AS2c (NZ SRZK01000437.1)
100
Streptomyces cavourensis 1AS2a (NZ CP024957.1)
Strain TA4 (MW301210)
100
Streptomyces azureus strain ATCC14921 (NZ DF968281.1)
100
Streptomyces caelestis strain JCM 4566 (NZ BMUR01000003.1)
98
Strain TS2 (OP480011)
Strain TA10 (OP003991)
36
Strain TS6 (OP480012)
98
Streptomyces griseoflavus strain JCM 4479
100
Streptomyces calvus strain DSM41452 (NZ CP022310.10)
99
Streptomyces griseorubens strain JSD-1 (NZ KL503830.1)
100
Strain TS1 (OP480010)

D



E

Figure 8 : Arbres phylogénétiques des isolats d'actinobacteries basées sur les séquences de l'ARNr 16S (A: actinobacteries isolées à partir de Hammam Knif ; B: actinobacteries isolées à partir de Hammam Beni Haroune; C: actinobacteries isolées à partir de Hammam Dbegh;; D: actinobacteries isolées à partir de Hammam Tleghma et E: actinobacteries isolées à partir de Hammam El Salihine).construit à l'aide du logiciel MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) version11 (Tamura *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2018) et par l'utilisation de l'algorithme Neighbor-joining (Saitou et Nei, 1987). les valeurs figurants à l'origine des nœuds indiquent les pourcentages supérieurs à 40% de 1000 bootstrap (Felsenstein ;1985). Les distances évolutives ont été calculées à l'aide de la méthode de p-distance (Nei and Kumar ;2000). Toutes les positions contenant des lacunes et des données manquantes ont été éliminées (option de suppression complète).

5. Caractérisation physiologiques et biochimiques

Les résultats des caractères physiologiques et biochimiques de tous les isolats obtenus, sont rassemblés dans le tableau correspondant signaler en **annexe 2**.

La température exerce un effet très important sur la croissance des isolats d'actinobactéries. Dans nos travaux, la majorité des isolats sont des thermophiles, qui sont capables de croitre à 55°C avec un optimum de croissance entre 40 et 55°C. Ces résultats reflètent l'écosystème choisi (sources thermales avec des températures qui peuvent atteindre des températures élevées). Cependant, les résultats indiquent l'isolement de deux catégories particulières d'isolats. La première comporte sept souches mésophiles, dénommés (BS2, BKM, BK8, GS2, GI3, SI8 et SKM), qui ont un optimum de croissance de 30°C, la seconde catégorie est représentée par six isolats (GA2, GI4, SSI, KS5, TA3 et TA4), qui résistent à une température très élevée qui atteint 70°C.

Selon Tortora *et al*., 2007, les actinobactéries thermophiles se développent à des températures relativement élevées de 40 à 80°C. Une classification plus détaillée a été proposée par Lengeler *et al.,* 1999, qui distingue deux catégories : les actinobactéries strictement thermophiles, qui peuvent croître dans la plage de température entre 37 et 65°C, mais la prolifération optimale à lieu à 55–60°C et les actinobactéries modérément thermophiles qui se développent à 28–60°C mais nécessitent 45–55°C pour une croissance optimale (Jiang et Xu, 1993). Un autre groupe connu sous le nom d'actinobactéries thermotolérantes peut survivre à des températures allant jusqu'à 50°C.

L'adaptation des actinobactéries aux températures élevées est due à la présence des lipides membranaires qui contiennent plus d'acides gras saturés à chaîne droite, que ceux des mésophiles. Cela permet aux thermophiles de se développer à des températures plus élevées en leur apportant le degré de fluidité nécessaire à la fonction membranaire. En plus, la présence des protéines de type histone-like qui lient l'ADN ont été identifiées chez les hyperthermophiles qui ont pour but de protéger l'ADN de la dénaturation (Agarwal and Mathur, 2016). Une nouvelle espèce thermophile dénommée *Streptomyces thermoautotrophicus* sp. Nov. a été isolée à partir d'un tas de charbon de bois brulant.

Cette souche produit des enzymes de la voie métabolique autotrophique comme le monoxyde de carbone déshydrogénase « CODH » qui facilite la croissance dans un état chaud dépourvu de nutriments en oxydant le composé inorganique disponible tel que le monoxyde de carbone en CO_2 qui est ensuite fixé par l'enzyme RuBisCO dans la biomasse microbienne via le cycle de Calvin-Benson (Gadkari *et al.,* 1990). Ce résultat a été trouvé aussi dans les travaux de King et Weber, 2007.

La plupart des isolats obtenus dans nos investigations, présentent une bonne croissance dans un intervalle de pH allant de 6 à 8. Ces résultats sont logiques en comparants avec le pH des sites d'échantillonnage qui est 7.26 à 7.52. Cependant, certains isolats (BS2, BIT1, GA4, GA5, GS2, GI3, GI4, SSI et KS5), ont présentés une croissance optimale dans des pH acide égale à 4 et 5. Ce sont d'après la classification de Jiang et Xu en 1993, des actinobactéries acidophiles. D'autres isolats (BA1, BA2, GA2, SEA, TA3 et TA4) poussent à des pH égaux à 9 et 10. Ils sont considérés selon la même classification comme étant des basophiles (Jiang et Xu, 1993). Les actinobactéries acidophiles et alcaliphiles ont acquis toutes les facultés des pompes à protons qui régulent les concentrations des ions H^+ à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule (Kumar *et al.,* 2011). Les alcaliphiles contiennent les polymères de paroi cellulaire chargés négativement qui stabilisent la membrane cellulaire en réduisant la densité de charge à la surface cellulaire (Wiegel et Kevbrin, 2004).

La tolérance au NaCl est très faible, pour la majorité des isolats sélectionnés dans ce travail. Ce sont seulement les isolats BA2 et BA3 qui ont une croissance optimale dans un intervalle de 0 à 3% de NaCl et ils tolèrent une concentration jusqu'à 5%. Aussi, les isolats GS2, BK8, TA5 et BIT1 qui présentent une croissance optimale dans un intervalle de 0 à 2%. Selon la classification proposée par Kushner et Kamekura, 1988, ces isolats sont des halophiles légers. Le reste des souches sont considérées comme des non-halophiles. Ces résultats ressemblent avec ceux de Kinjal *et al*.,2017, qui signalent la présence de certaines souches d'actinobactéries dans les eaux thermales, qui tolèrent le NaCl. La stratégie adaptative des halophiles au sel, comprend l'accumulation d'une grande quantité de solutés compatibles qui empêchent la dessiccation par osmorégulation. Ils ont également un antiporteur Na^+/H^+ pour exclure la teneur excessive en sel de l'intérieur de la cellule vers l'extérieur (Roberts, 2005).

Les caractères biochimiques des isolats indiquent une production de pigments mélanoides par les isolats GA5, SSI, KS2, KS5 et TA4.Cette caractéristique est considérée par Shirling et Gottlieb, 1972 comme une clé d'identification des espèces du genre *Streptomyces*. En outre, cette production implique la présence de tyrosinase capable de dégrader la tyrosine en un composé de couleur jaune : l'acide 5,6 dihydroxyindol qui forme de la mélanine de couleur brune noir par un processus de condensation (Margalith, 1992).

Tous les isolats ont montré des résultats positifs pour la catalase, la majorité des souches sont oxydase positive. L'utilisation des sucres montre que la plupart des isolats préfèrent l'utilisation du glucose et du fructose comme seule source de carbone par rapport aux autres sucres. Cette variété métabolique change selon les genres et les espèces chez les actinobactéries (Goodfellow *et al.*, 2010).

PARTIE 2 : Etude de la biodiversité métabolique des actinobactéries

1. Production de certaines enzymes par les isolats d'actinobactéries

Les différentes enzymes produites par les actinobactéries isolées à partir des eaux thermales étudiées, sont representées dans le tableau correspondant mis en **annexe 2**. Il apparait que ces bactéries sont dotées de capacités surprenantes à produire une grande variété d'enzymes.Ces composés bioactifs sont d'une grande valeur commerciale qui sont très recherchées pour des applications en industries des biotechnologies et en médecine. Les actinobactéries ont été souvent utilisées pour la production des protéases, des cellulases, des chitinases, d'amylases, de xylanases et dans d'autres enzymes Remya et Vijayakumar,2008).

Les enzymes thermostables sont de plus en plus recherchées et sont employées sur les sucres, les lipides, les esters et sur d'autres substrats. Les différents domaines d'application sont multiples surtout en alimentation humaine et animale, dans l'industrie des détergents, l'industrie des pâtes de papier, dans le tannage, etc. (Pantazaki *et al.,* 2002 ; Kirk *et al.*, 2005). Les micro-organismes trouvés dans les environnements extrêmes sont devenus la solution pour la production de ces biomolécules très sollicitées (Jameel et *al.,* 2016). L'avantage majeur de l'utilisation de thermozymes en fermentations industrielle, est la conservation de leurs activités enzymatiques dans les conditions de hautes températures. Les contaminants pathogènes ou non, présents dans le milieu de fermentation sont totalement inhibés à des températures élevées (Bruins *et al.,* 2001).

La presque totalité des isolats sont capables de produire des enzymes contre plusieurs substrats à la température de 30°C **(Fig. 9)**. Nous enregistrons par ailleurs, que 79% des actinobactéries isolées présentent une **activité protéasique** dégradant les protéines testées dans cette étude (gélatinase et caséinase) à la température de 45°C, 53% à une température de 55°C et seulement 34% à la température de 60°C **(Annexe 2)**. La demande de protéases et de leurs formulations, pour les différentes industries (détergents, aliments pour animaux et les brasseries), se fait ressentir de plus en plus.Ces enzymes ont été largement produites par les actinobactéries. La plupart des protéases signalées chez *Streptomyces* spp, sont tolérantes au pH alcalin et certaines d'entre elles sont tolérantes au sel (Horikoshi, 1999). Les protéases de

Nocardiopsis spp. sont employées comme additifs des détergents (Moreira *et al.*,2002)et pour l'épilation des peaux de chèvre dans l'industrie du cuir (Mitra et Chakrabartty, 2005).

La production de protéase a été réalisée en cultivant *Microbispora* sp (Jaouadi *et al.,* 2010). Les produits finaux de l'hydrolyse des protéines, riches en acides aminés et en peptides, sont utilisés comme source d'énergie et d'aliments bon marché pour animaux.

La production des protéases thermostbales par les actinobactéries est prouvée par de nombreux travaux comme ceux de Siddique *et al.,* 2001, qui ont produit des protéases thermostables à partir de *Streptomyce thermoviolaceus*. Différents genres d'actinobactéries *Actinomadura, Micromonospora, Nocardiopsis, Planomonospora, Planobispora* et *Streptomyces rimosus* sont capable de dégrader les protéines à une température de 70°C (Beppu, 1992 ; Bell *et al.,* 1998 ; Tsuchiya *et al.,* 1999). D'autres travaux récents ont été signalés dans la littérature. Ils montrent la capacité des actinobactéries thermophiles à produire les protéases. *Thermoactinomyces* sp. AkhA-12 et *T. vulgaris* Tatev 35a, sont deux souches actinobactériennes, capables de produire des protéases thermostables à des températures de 50, 55 et 60°C. La production de protéase thermostable à 45°C a été prouvé dans les travaux de Fitri *et al.*, 2019, avec un pourcentage de 100% des actinobactéries isolés. En outre, la souche *Streptomyces sp.* Al-Dhabi-49 présente une bonne activité protéolytique à une température de 40°C (Al-Dhabi *et al.*,2019).

Les cellulases transforment la cellulose en sucres simples utilisés pour la consommation humaine et les plus grands producteurs connus sont issus du genre *Streptomyces* (Jang et Chang, 2005). La production de cellulase par nos isolats à la température de 45°C est de 89.13%. Elle chute à 39.13% pour la température 55°C et 21.73% pour la température 60°C. Les cellulases de *Streptomyces* sp. sont réputées avoir un pouvoir alcalin sur l'hydrate de carbone. L'enzyme a été utilisée comme complément aux détergents pour le nettoyage. Elle a été également utilisée pour le traitement des textiles, le traitement du papier et de la pulpe. D'autres genres telles que *Thermobiida* et *Micromonospora* produisent des cellulases recombinantes qui peuvent être exploitées commercialement (Zhang *et al.*,2011).

Des cellulases thermostables présentant une stabilité thermique élevée, sont signalées chez *Streptomyces thermoviolaceus*. Ces enzymes maintiennent leurs activités, en présence de détergents commerciales, ce qui souligne leur supériorité par rapport aux cellulases commerciales existantes (Jones *et al.*,2003). La cellulase qui provient de *Thermomonospora*

fusca a été utilisée pour la dégradation du coton et l'avoine (George *et al.,* 2001). Le genre *Streptomyces* isolé à partir de la source thermale en l'Inde est capable de produire de cellulase thermostable à la température de 55°C (Chaudhary et Prabhu, 2016).
Ces enzymes sont non seulement prometteuses du point de vue technologique, mais peuvent être économiques en raison de leur faible coût de production. Leur production peut être réalisée sur des substrats bon marché, comme le riz et la paille de blé (El-Sersy *et al.,* 2010) et les pelures de fruits (Rathan et Ambili, 2011).

Les enzymes **lipolytiques** (estérase, licéthinase et lipoprotéinase) produites par nos isolats à la température de 45°C sont très nombreuses avec un pourcentage de 73.91% et environ 44% à la température de 55°C, pour atteindre 25%à la température de 60°C **(Annexe 2)**. Nos résultats s'accordent avec ceux de Gousterova *et al.,* 2014, qui ont trouvés que 81% des actinobactéries isolées à partir des écosystèmes chauds de l'île Livingston, Antarctique, présentent une activité lipolytique à une température de 45°C. Dans les travaux de Hovik en 2019, les deux souches *Thermoactinomyces* sp. AkhA-12 et *T. vulgaris* Tatev 35a sont capable de produire des lipases thermostables à des températures de 50, 55 et 60°C.

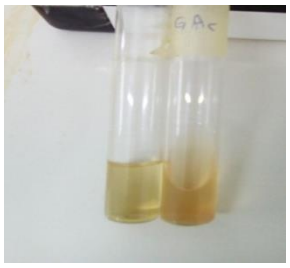
Les estérases de *Nocardia* sp. ont été utilisées pour augmenter l'hydrophilie des fibres de polyéthylène téréphtalate et de polyamide. Ce qui peut constituer une méthode conviviale et rentable dans le domaine de l'industrie textile.

L'industrie alimentaire utilise les **pectinases**, en particulier pour l'acidification des jus de fruits, l'ingestion de fibres, la vinification et la décantation des bastides. Les pectinases de *Streptomyces* sp. sont très utilisés par rapport aux pectinases d'autres genres d'actinobactéries. La production des pectinases par nos isolats est très faible dans les quatres températures étudiées. Ces résultats ne sont pas en accord avec d'autres travaux qui montrent que l'activité pectinasique est présente dans de nombreuses actinobactéries tel que *Micromonospora, Microbispora, Actinoplanes, Streptosporangium et Streptomyces* (Hopper et Kemp,1980 ; Beppu, 1992 ; Tahtamouni *et al.,* 2006).

La producion de **l'uréase** par nos isolats à température de 60°C est très faible seulement cinq isolats sont uréase positif. Selon Nazina *et al.,* 2001 ; Mahilrajan *et al.,* 2012 ; Selim *et al.,* 2014 ; l'absence de l'uréase et de l'enzyme responsable de la l'hydrolyse de l'indole chez la majorité des souches c'est un caractère fréquent chez les bactéries thermophiles.

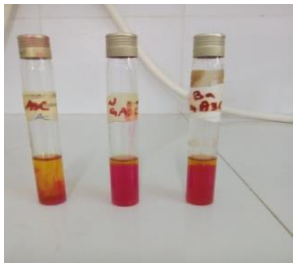
Nos résultats, montrent que 10 souches sont capables de produire de la **nitrate réductase** à la température de 60°C et 22 souches à la température de 55°C. Ces résultats s'accordent avec les travaux de Lensi *et al.*,1990, qui a montre que *Frankia* sp. est productrice de nitrate réductase, la même chose pour *Streptomyces akiyoshiensis* (Shoun *et al.*, 1998).

Caséinase



Gélatinase

Lécithinase et lipoprotéinase



Urée

indol Estérase

Pectinase

Figure 9 : Production de différentes enzymes par les actinobactéries isolées à partir des sources thermales.

2. Hydrolyse de l'amidon

La recherche de la dégradation de l'amidon se traduit par l'apparition d'une zone d'hydrolyse claire autour de la colonie, après inondation de la boite par le Lugol (**Fig. 10).** Les isolats présentant une large zone d'éclaircissement à la température de 55°C ont été utilisés pour la suite des analyses pour le dosage de l'α-amylase.

2.1.Activité amylolytique à 55°C

L'activité amylolytique est calculée et représentée dans le tableau mis en **annexe 2**. Les résultats montrent que parmi les 46 isolats présentant une activité amylasique, 22 isolats sont capables de produire de l'α-amylase à la température 55°C. Ce sont les isolats suivants : (BA2, BA3, BIT1, BIO, BI4, SEA, SSI, GA1, GA2, GA4, GA5, GA3C, KS5, TA3, TA4, TA5, TA6, TA10, TA12, TS3, TS4 et TS8). Les isolats TA3 et TA4 ont donné une meilleure activité enzymatique **(Fig. 11).**

Figure 10 : Zones d'hydrolyse de l'amidon sur milieu solide (a) : TA3, (b) : TA5, (c) : TS4, (d) :TA4.

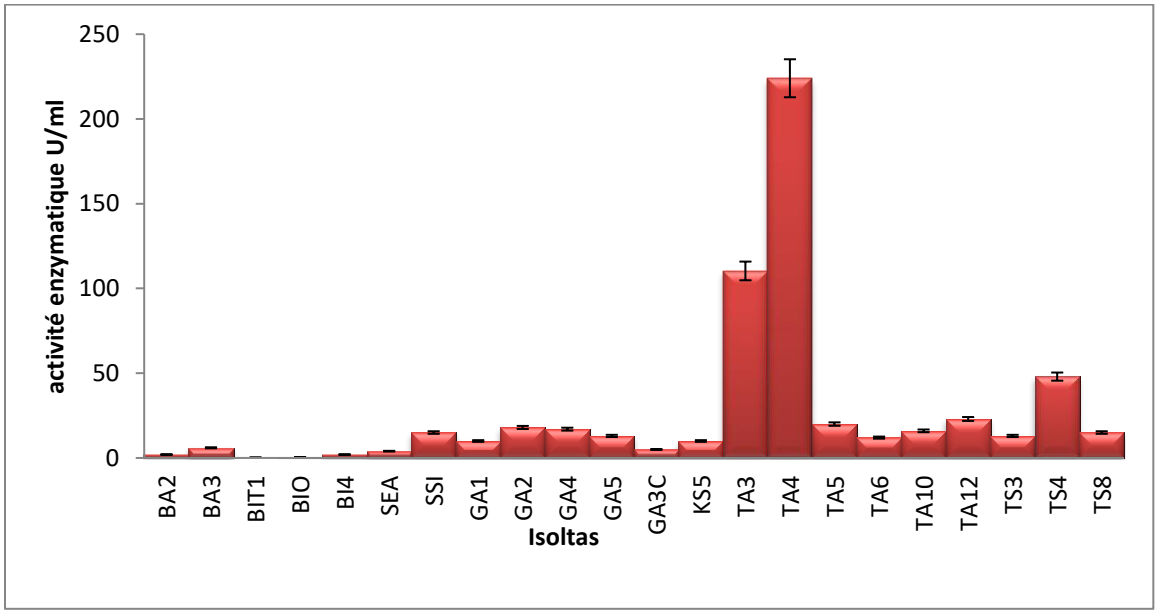
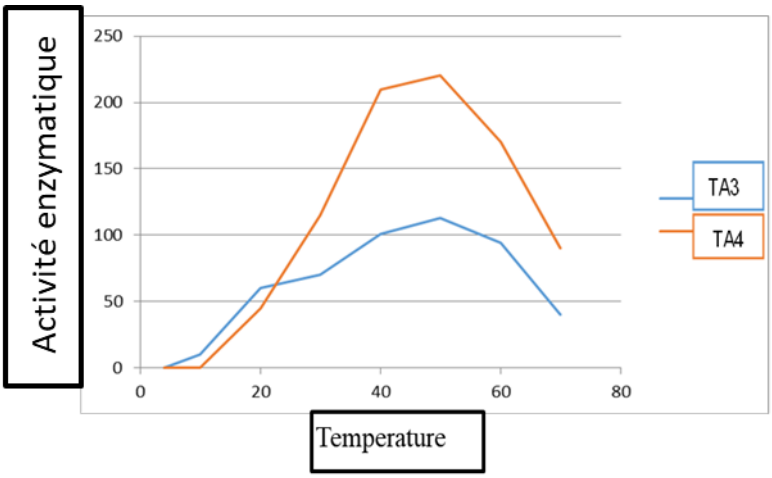


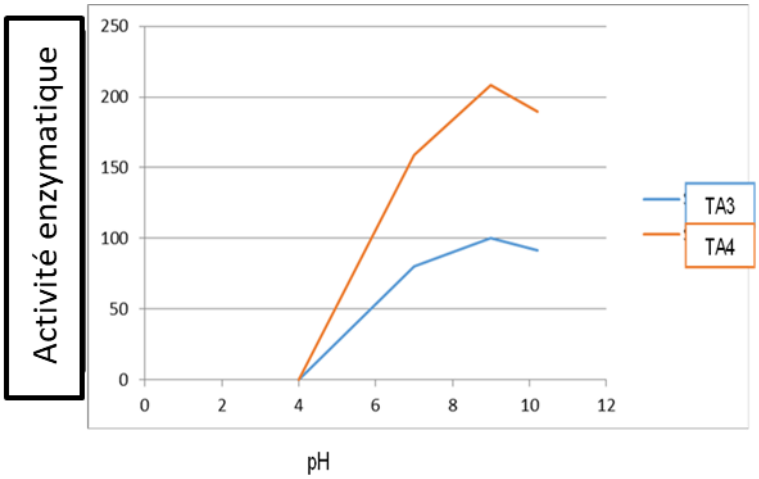
Figure 11 : Activité amylolytique à 55°C des isolats d'actinobactéries.

2.2. Effet de la température et du pH sur la production de l'α-amylase par les isolats TA3 et TA4

Le test de l'activité enzymatique à différentes températures révèle une activité importante dans l'intervalle de 40 à 60°C. Les deux isolats TA3 et TA4 sont les plus performants. Ils ont manifesté une activité amylolytique optimale à une valeur de température de 55°C **(Fig. 12. a).** Concernant le pH, l'activité amylolytique est très appréciable dans l'intervalle de 7 à 10, avec un optimum de 9 pour les deux isolats **(Fig. 12. b).** Ces résultats montrent que l'amylase produite par les deux actinobactéries résiste à des températures élevées et à un pH basique.



(a)



(b)

Figure 12 : Effet de la température (a) et du pH (b) sur l'activité de α-l'amylase produite par les isolats TA3 et TA4.

L'hydrolyse de l'amidon par les enzymes d'origine microbienne a remplacé les méthodes chimiques fastidieuses et très couteuses (Vidyalakshmi *et al*., 2009). Cette enzyme à trouver de vastes applications dans les différents domaines industriels. Parmi le large éventail d'espèces microbiennes qui sécrètent l'α-amylase, sa production à partir de bactéries est moins chère et plus rapide que celle d'autres micro-organismes. De plus, les études de génie

génétique sont plus faciles à réaliser avec les bactéries et elles se consentent également très bien à la production d'enzymes recombinantes (Nielsen *et al*., 2000).

Les actinobactéries et surtout le genre *Streptomyces* sont caractérisés par la production de plusieurs enzymes (Hang *et al.*,1996). Elles sont très utilisées dans le domaine industriel a cause de leurs capacités à survivre dans des différents environnements, en plus de leurs stabilité contres certaines conditions extrêmes comme la température et le pH (Al-Dhabi *et al.*, 2016 ; Krishnasamy, 2017).

L'α-amylase thermostable, est très utilisée dans la biotechnologie parce que la majeure étape de la transformation de l'amidon, y compris la saccharification, la gélatinisation et liquéfaction, ont besoin de haute température, donc l'α-amylase thermostable est utile pour progresser dans ces étapes dans des conditions aussi difficiles (Gazali. 2018).

Dans cette étude, les 46 isolats ont été testés pour la production de l'α-amylase thermostable dans une température de 55°C. Parmi ce lot testé, 22 isolats présentent une zone de lyse dans cette température (55°C). Ces derniers ont été testés pour la production de l'amylase en milieu liquide. Le calcul de l'activité enzymatique permet d'estimer les isolats les plus performants. Les résultats montrent que les deux isolats TA3 et TA4 assignés respectivement à *Streptomyces rhizosphaericola* et *Streptomyces cavourensis,* présentent une bonne activité amylolytique, égale à 110.33 et 224 U/ml respectivement. Le reste des isolats, ont présentés une activité amylolytique allant de 0.2-48U/ml.

La variation de température et du pH du milieu de fermentation ont été testé sur les deux isolats performants TA3 et TA4. Ces deux paramètres physico-chimiques jouent un rôle important dans la production d'α-amylase (Pandey *et al.,* 2000). Dans cette étude, la production maximale d'α-amylase a été trouvée à pH 9 pour les deux isolats (TA3 et TA4) par une activité enzymatique égale à 100.5 et 208.33 U/ml respectivement. L'augmentation ou la diminution du pH à partir du niveau optimal a entraîné une baisse progressive de la production d'α-amylase, probablement en raison d'une faible croissance microbienne dans des conditions acides et très alcalines.

L'intervalle de température pour une bonne activité se situe entre 40-60°C, pour les deux souches TA3 et TA4 avec une activité amylolytique optimale à la température 55°C avec 113.33 U/ml pour la souche TA3 et 224 U/ml pour la souche TA4.

Ces résultats importants s'accordent parfaitement avec ceux de Gommez et Steiner, 2004, qui ont montrés que les thermo-enzymes ne sont généralement pas seulement thermostables, mais elles sont aussi actives à des pH extrêmes.

Les études de la production de l'α-amylase thermostable par les *Streptomyces* sp. thermophiles isolés à partir des sources thermales sont très rares et cette étude est la première en Algérie. Parmi les travaux effectués dans le même thème ceux de Sabita et *al.*,1999, qui ont trouvés une activité amylolytique optimale égale à 52.534U/ml dans un pH de 6 et une température égale à 60°C et ce, après optimisation des conditions avec l'ajout de DEAE Cellulose. Cette enzyme est produite par la souche *Streptomyce megasporus* strainSD12 isolée à partir de la source thermale de Maharashtra occidetale. Chaudhary and Prabhu, 2016 ont trouvé une activité amylolytique optimale chez deux isolats du genre *Streptomyces* thermophiles isolées à partir d'une source thermale située à Vajreshwari, Inde. Environ 2U/ml dans une température de 55°C et un pH égal à 4.8 pour le premier isolat et pH7 pour le deuxième isolat. Les résultats obtenus dans cette étude, ont largement dépasséces valeurs. La souche thermophile *Streptomyces fragilis* DA7-7 isolée à partir d'un sol désertique dans la province de Riyad en Arabie saoudite, présente une activité amylolytique maximale après optimisation des conditions, égale à 940,36 U/ml dans un pH 6 et 923,12 U/ml dans une température de 28°C.Cette activité diminue avec l'augmentation de température (Krishnasamy. 2017).

Dans une étude plus récente, la souche *Streptomyces sp.* Al-Dhabi isolée à partir du sol de la région Jazanen Saudi Arabia est capable de produire une α-amylase thermostable avec un maximum d'activité égale à 124 ± 12,1 U/ml à la température de 40°C et à un pH égale à 8 (Naif *et al*.,2020).

PARTIE 3 : Mise en évidence de la biodégradation des composés organiques de synthèse et des composés naturels

1. Test de biodégradation des pesticides

Après incubation à 30°C des isolats dans les deux milieux de cultures minimums M1 de Vendermess et M2 de (Bano et Mussarat, 2004). Les observations ont été faites après 15 jours d'incubations et les résultats sont notés dans le tableau mis en **annexe 2.**

2. Test de biodégradation des pesticides à différentes concentrations par les souches performantes

Les actinobactéries présentant un résultat positif, sont ensemencés sur le même milieu avec des différentes concentrations du pesticide (0,5g/l, 1g/l, 3g/l, 6g/l, 12g/l) et ce pour déterminer la concentration maximale tolérée. Les résultats obtenus concernant la biodégradation du fongicide, des insecticides et des herbicides sont représentés dans les figures 13, 14 et 15 respectivement.

2.1. Cas du fongicide (Tachigazole)

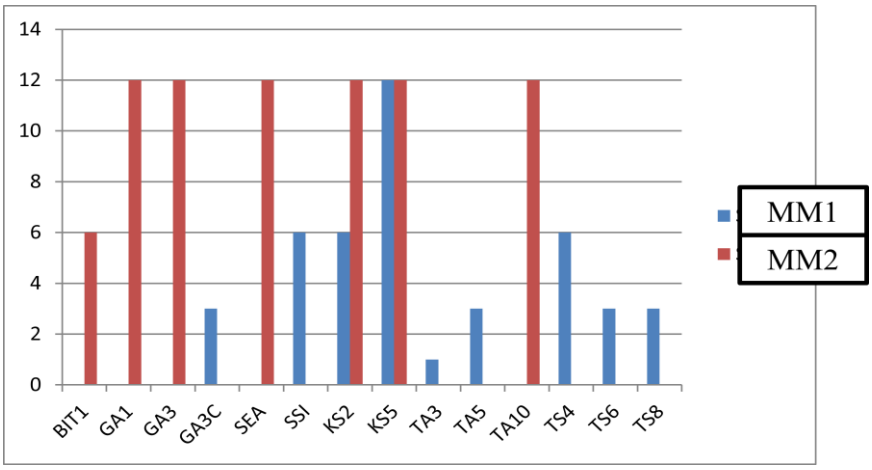
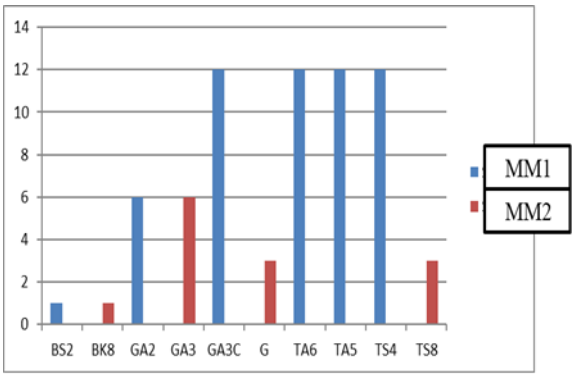
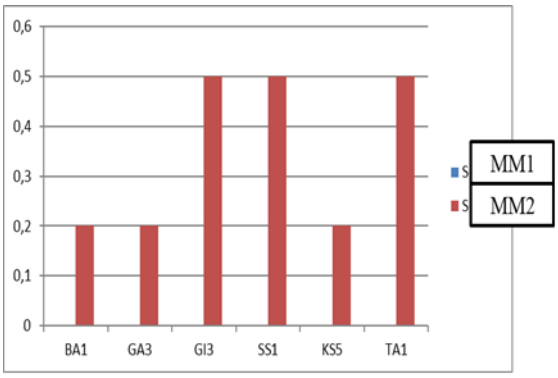


Figure 13 : Tolérence des isolats performants à différentes concentrations de Tachigazole

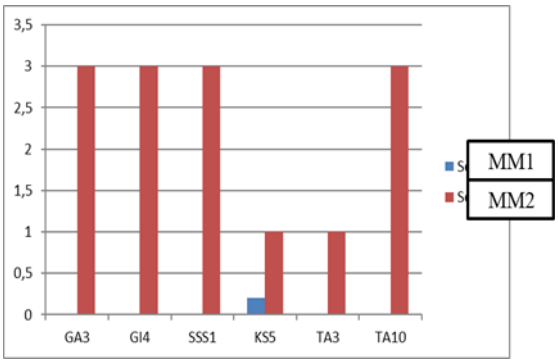
2.2.Cas d'insecticides (Rustile ; Deltamight ; Karateka et Prowl aqua)



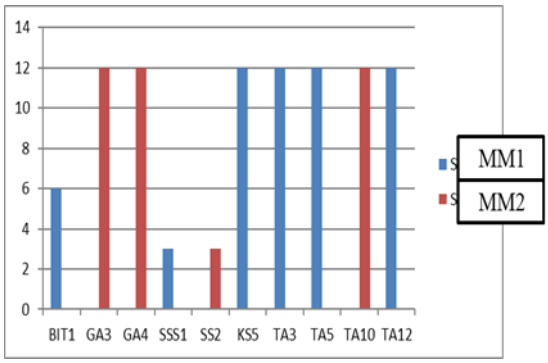
Rustile



Deltamight



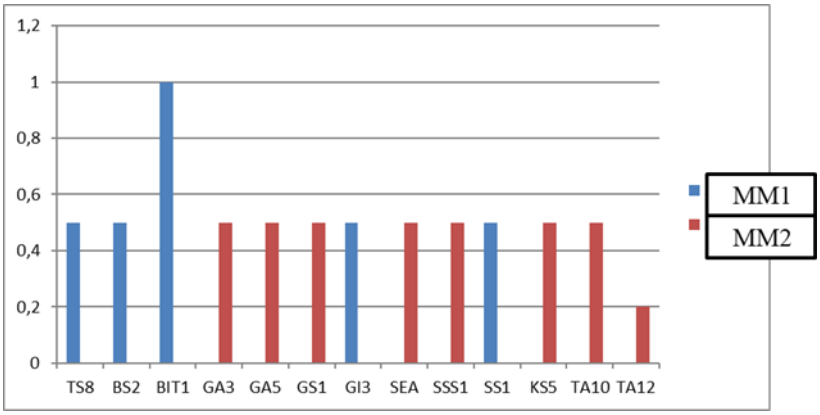
Karateka



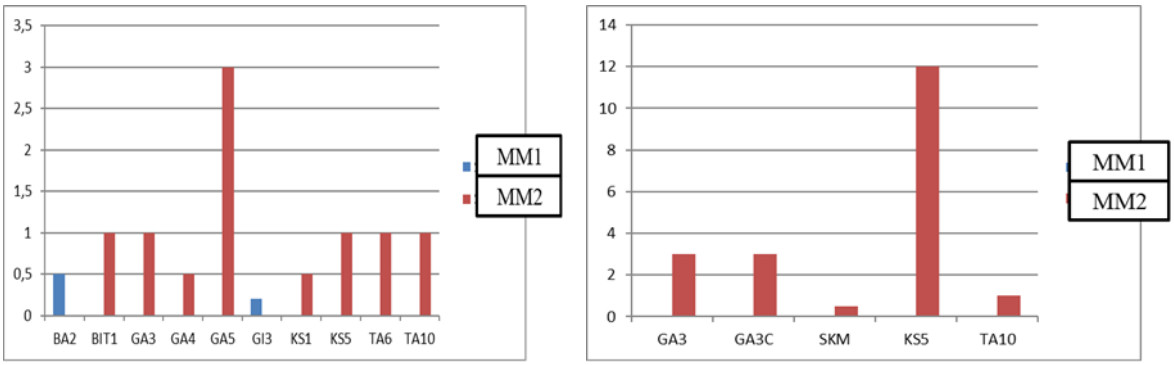
Prowl aqua

Figure 14: Tolérence des isolats performants à différentes concentrations des insecticides (Rustile ; Deltamight ; Karateka et Prowl aqua).

2.3.Cas d'herbicides (Zoom ; Granstar 75DF ; Glyphosate)



Zoom



Granstar 75DF Glyphosate

Figure 15 : Tolérence des isolats performants à différentes concentrations des herbicides (Zoom ; Granstar 75DF ; Glyphosate)

La biodégradation des pesticides par les bactéries est un processus naturel qui permet la dégradation et la décomposition des composés chimiques présents dans les pesticides. Les bactéries sont capables de décomposer ces substances en éléments plus simples tels que le carbone ; l'azote et le phosphore qui peuvent être utilisés par d'autres organismes vivants. Les actinobactéries jouent un rôle important dans la biodégradation de ces polluants. Elles sont capables de dégrader une large gamme de composés chimiques ; en utilisant des enzymes spécifiques.

En ce qui concerne les fongicides, seuls 9 isolats (GA3C, SSI, KS2, KS5, TA3, TA5, TS4, TS6 et TS8) présentent une croissance sur le milieu de culture 1, et 7 isolats (BIT1, GA2, GA3, SEA, KS2, KS5 et TA10) sur le milieu 2. Cependant, aucune souche d'actinobactérie ne présente de croissance sur les deux milieux additionnés du fongicide testé, Teldor. Pour les insecticides, un pourcentage de 28,26 % des isolats est capable de croître sur le milieu M1, et 41,30 % sur le milieu M2. Pour ce qui est des herbicides, seulement 15,21 % des souches capables de croître dans le milieu M1, et jusqu'à 47,82 % présentent une croissance dans le milieu M2.

La croissance des isolats sur les deux milieux de culture peut être expliquée par la capacité à utiliser dans leurs métabolismes, ces pesticides comme seule source de carbone ou d'azote. Une autre possibilité est également envisageable, il peut s'agir simplement d'une bioaccumulation du pesticide. Afin de déterminer avec plus de certitude, une gamme de concentrations (0,5 g/l, 1 g/l, 3 g/l, 6 g/l, 12 g/l) de chaque pesticide a été utilisée pour

les deux milieux. Les résultats indiquent que pour le milieu contenant le fongicide Tachigazole comme source de carbone, 5 isolats nommés (GA3C, TA3, TA5, TS6 et TS8) tolèrent des concentrations de (0,5-3 g/l), 3 isolats (SSI, KS2 et TS4) tolèrent des concentrations allant de 0,5 à 6 g/l et la seule souche nommée KS5 tolère toutes les concentrations testées (0,5-12 g/l). Ces isolats sont donc capables d'utiliser ces fongicides comme unique source de carbone. Pour le deuxième milieu minimum M2, les isolats (GA1, GA3, SEA, KS2, KS5 et TA10) tolèrent les concentrations (0,5-12 g/l) et seule la souche BIT1 est capable de dégrader le fongicide jusqu'à une concentration de 6 g/l. Dans ce cas, ces isolats sont capables d'utiliser le Tachigazole comme source d'azote **(Fig. 13).**

Concernant les insecticides, dans le cas de Rustile, 4 isolats tolèrent les concentrations (0,5-12 g/l) comme seule source de carbone, et la souche GA2 tolère jusqu'à 6 g/l. En ce qui concerne l'utilisation de Rustile comme source d'azote, elle est observée chez les isolats GA3 pour les concentrations (0,5-6 g/l) et chez BK8, G et TS8 pour les concentrations (0,5-3 g/l). Pour l'insecticide Deltamight, un faible nombre d'isolats présentent une tolérance à cet insecticide comme source d'azote avec une concentration de 0,5 g/l et aucune souche ne présente de croissance dans le milieu minimum M1. La même situation se produit pour l'insecticide Karateka, où aucun isolat n'utilise cet insecticide comme source de carbone. Cependant, 3 isolats nommés GA3, GI et TA10 tolèrent les concentrations (0,5-3 g/l), et 2 isolats (SSS1 et TA3) tolèrent les concentrations (0,5-1 g/l), ce qui signifie que ces 5 isolats sont capables d'utiliser l'insecticide Karateka comme source d'azote. Pour le dernier insecticide testé, Prowl Aqua, seule la souche GA5 présente une tolérance envers cet insecticide jusqu'à la concentration de 3 g/l comme seule source d'azote. En revanche, les isolats (GA3, GA4, KS2, KS5, TA6 et TA10) présentent une tolérance jusqu'à 1 g/l. Pour l'utilisation de cet insecticide comme source de carbone, seule la souche BIT1 tolère la faible concentration de 0,5 g/l **(Fig. 14).**

Dans le cas des herbicides, les isolats performants présentent une faible tolérance à l'herbicide Zoom, dont la majorité tolère jusqu'à la concentration de 0,5 g/l dans les deux milieux minimums. Seule la souche BIT1 tolère les concentrations de Zoom (0,5-1 g/l) comme source de carbone. Pour l'herbicide Granstar 75DF, une seule souche, BA2, tolère uniquement la concentration de 0,5 g/l de l'herbicide comme source de carbone. En

revanche, 7 isolats (BIT1, GA3, GA4, KS2, KS5, TA6 et TA10) tolèrent les concentrations (0,5-1 g/l), et la souche GA5 est capable d'utiliser l'herbicide Granstar comme source d'azote jusqu'à la concentration de 3 g/l. Pour le dernier herbicide testé, le Glyphosate, seule la souche nommée KS5 est capable de l'utiliser comme source d'azote, tolérant toutes les concentrations (0,5-12 g/l). Les isolats (GA3, GA3C et TA10) tolèrent les concentrations (0,5-3 g/l) de Glyphosate comme source d'azote, tandis qu'aucun isolat n'est capable d'utiliser cet herbicide comme source de carbone **(Fig. 15)**.

Les Actinobactéries sont connus par leurs capacités à dégrader presque tous les substrats même les plus complexes et les plus variés comme les pesticides, car elles détiennent un système enzymatique très riche (Subhajit, 2012). Nos résultats s'accordent avec d'autres travaux tel ceux de (Castillo *et al.,* 2006) qui montre que le genre *Streptomyces* possède un pouvoir de dégradation considérable. Il a été démontré que 17 souches, identifiées comme *Streptomyces* sp. ont été capables de dégrader le Diuron, qui est un puissant désherbant plusieurs espèces aussi appartiennent à ce genre sont capables de dégrader: le lindane, le DDT, la simazine (Anurag *et al.,* 2005 ; Benimeli *et al.,* 2007). La souche *Streptomyces* sp. SRH22 isolé à partir d'un sol saharien en Algérie ; est capable de dégrader le glyphosate (Rebai *et al.,* 2023). Ce pesticide a été dégradé aussi par des souches d'actinobactéries isolées à partir des sols agricoles d'Ain M'Lila des boues actives d'Ibn Ziad (Hocinat, 2018).

Jayabarath *et al.,* 2010 ; ont trouvé que certains actinobactéries capable de résister à la présence des pesticides ; il ya Sept espèces différentes sont capables de vivre normalement en présence de l'insecticide Carbofuran. Il s'agit de *Streptomyces atratus, Streptoverticillium album, Streptomyces alanosinicus, Nocardia vaccini, Nocardia farcinia, Nocardia amarae* et *Micromonospora chalcea.* Le genre *Rhodococcus* est capable de cataboliser certains pesticides persistants comme le Thiocarbamate et le S-triazine (De Mot et De Schrijver, 1999). La capacité de ce genre est prouvée aussi dans les travaux de Kimura et Urushigawa, 2001 ; ou ils ont trouvé que la souche *Rhodococcus opacus* SAO101 pousse sur les milieux contenant le phénol, 4-nitrophénol, biphényl, naphthalène, dibenzofurane et dibenzo-p-dioxin qui font partie de la composition de certains pesticides ; cette capacité de dégradation des pesticides est due à la présence de larges plasmides linéaires portants des gènes codant pour la dégradation de différents composés (Konig *et al.,* 2004).Le genre *Nocardia* est capable de

dégrader certains pesticides, tel que : l'herbicide Dalapon (Martin *et al.,* 1998)et le fongicide Ortiva (Hocinat et Boudemagh, 2016).

3. Tests de biodégradation de tartre dentaire par les actinobactéries

La santé bucco-dentaire est problème de santé grave qui peut aller vers les maladies des gencives, de la carie dentaire qui peuvent provoquer des maladies rhumatismales et du cœur. Les bactéries de la flore buccale produisent une substance adhésive qui leur permet de coller aux dents et de former une plaque. Au fil du temps ; les minéraux présents dans la salive comme le calcium et le phosphate se lient à la plaque et durcissent pour former le tartre (Roberts et Clerehugh, 2000 ; Ronderos *et al.,* 2000). Le tartre est composé à 75 % de substances minérales (carbonate de calcium, phosphates de calcium et de magnésium, sels de zinc, manganèse et cuivre, etc.), 15 % de substances organiques (produits par les bactéries (34 espèces différentes), éléments d'origine sanguine et salivaire et d'eau (Hazen, 1995 ; Souchay *et al*., 1995).

Les études qui s'orientent sur l'effet de certaines molécules naturelles sur l'élimination du tartre dentaire, intéressent certains chercheurs. La majorité des travaux portent sur les effets de différentes plantes sur le tartre. Il s'agit principalement d'herbes ou mixtures d'herbes, de certaines plantes comme *Acacia nilotica*, la menthe et bien d'autres (Shekar *et al.,*2019; Tanko *et al.,* 2014). Les études qui s'intéressent aux biomolécules à partir des microorganismes, sont très rares.

Cette étude avait pour but de lutter contre le tartre dentaire par des méthodes biologiques. Le choix des bactéries qui proviennent des eaux thermales est justifié par le fait que ces microorganismes acclimatés à ces eaux saturées en sels, peuvent utiliser une source minérale comme le tartre des dents. Parmi les 46 isolats testés deux souches seulement nommées *Streptomyces cellulosae* (SEA) et *Streptomyces cavourensis* (GA3C) ont présentées un résultat positif (**Fig. 16**). Ce dernier se traduit par l'apparition d'un trouble dans le milieu, indiquant que l'actinobactérie est capable de pousser dans le milieu minimum en utilisant le tartre comme source nutritionnelle.

Figure 16 : Croissance des actinobactéries en milieu minimum et en présence de tartre dentaire

3.1.Test de l'effet des isolats performants sur la flore buccale

Après incubation de 3-7 jours à 37°C, les résultats indiquent l'apparition d'une zone d'inhibition autour du puits de la souche SEA. Ce résultat indique que cette souche présente un effet bactéricide sur la flore buccale testée. Concernant l'isolat GA3C, aucune zone d'inhibition n'a été remarquée. Cela indique clairement que cette souche n'a aucun effet antagoniste contre la flore buccale testée **(Fig. 17).**

Figure 17 : Effet des deux isolats SEA et GA3C sur la flore buccale

3.2.Tests de toxicité et sur le comportement animal

L'administration orale de la solution testée aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aigüe et sur le comportement des animaux **(Tableau 11).**

Tableau 11: Test de toxicité sur des souris

Signes cliniques	Lot 1(témoin)	Lot 2 (500 mg /kg)	Lot 3 (1000 mg /kg)	Lot 4 (2000 mg /kg)
Miction	Normale	Normale	Normale	Normale
Ingestion de nourriture	Normale	Normale	Normale	Normale
Respiration	Normale	Normale	Normale	Normale
Convulsions	Absence	Absence	Absence	Absence
Tremblements	Absence	Absence	Absence	Absence
Convulsions	Absence	Absence	Absence	Absence
Diarrhée	Absence	Absence	Absence	Absence
Salivation	Absence	1/3	Absence	Absence
Léthargie	Absence	1/3	1/3	Absence
Sommeil	Absence	Absence	1/3	Absence
Coma	Absence	Absence	Absence	Absence
La mortalité	Absence	Absence	absence	absence

3.3.Paramètres biochimiques mesurés

Les produits biochimiques sériques (TGO et TGP) et la mesure du poids du foie de chaque souris sont utilisés comme biomarqueurs pour mesurer l'activité hépatique (Brandt *et al*., 2009; Lameire *et al.,* 2005). Les mesures de l'ALAT (TGO) et l'ASAT (TGP) ont montrés que les deux enzymes hépatiques (ASAT et ALAT), jouent un rôle de transfert d'un groupe amine lors des nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique (Rye, 2009). Leur activité est proportionnelle au degré de dommages hépatiques (Sacoti, 2012). Ils sont donc deux bons indicateurs de l'hépatotoxicité (Shen, 2009; Song *et al.,* 2007). Le dosage de leur activité a révélé que les souris traitées dépourvu de l'activité de l'ALAT et aucune signification différente à celle des souris témoins. De même pour l'ASAT, aucune signification de son activité du souris traités par comparaison à celle des souris témoins. Les paramètres biochimiques TGO et TGP des souris traitées par notre solution antitartre, montrent des valeurs proches à celles des souris témoins. D'après ces résultats, la solution testée n'a aucun effet néphrotoxique sur les souris de laboratoire utilisées **(Tableau 12).** En plus, les résultats montrent qu'il n'y a pas de changement dans le poids du foie des souris traitées par rapport aux témoins non traité.

Tableau 12 : Résultats de la concentration de TGP et TGO des souris témoins et traités, et le poids du foie de chaque souris

	Lot 1 (témoin)			Lot 2			Lot 3			Lot 4		
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12
Le poids de foie(g)	1.084	1.073	1.093	1.005	1.023	1.125	1.075	1.123	1.277	1.263	1.30	1.197
TGO (UI/ L)	131			122			63			65		
TGP (UI/ L)	109			76			78			56		

Les résultats FNS des souris traitées par la solution en question, ont montré que les globules blancs, les globules rouges, l'hémoglobine, les hématocrites et les plaquettes, sont presque similaires à celles des souris témoins. Cela indique qu'il n'ya aucun effet toxique sur les souris, par rapport à ces paramètres **(Tableau 13).**

Tableau 13 : Résultats FNS des souris témoins et traités

	Lot 1(témoin)	Lot 2	Lot 3	Lot 4
GB ×109/L	6.98	8.77	9.66	7.33
GR ×1012/L	6.60	6.02	6.12	8.60
Hb g/dl	14.71	13.56	12.77	15.66
Hte %	37.77	33.99	36.01	31.02
PLT ×109	336.18	445.50	289	397.30

GB:Globules blancs; GR:Globules rouges; Hb:Hémoglobine; Hte:Hématocrites; PLT:Plaquettes.

Les résultats indiquent également, qu'aucune mortalité des souris ayant subi un traitement par cette solution n'a était observée, jusqu'à une dose de 2000 mg/kg de poids corporel **(Tableau 11).**

Tous ces examens de toxicité généralement effectués dans ce genre d'analyse, ne sont certainement pas complets et nécessitent d'autres tests supplémentaires comme la génotoxicité, les tests ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination) etc.,

Une étude similaire a été engagée par le biologiste Hidenobu Senpuku, en 2019 à l'Institut national des maladies infectieuses de Tokyo. Ces travaux ont montré qu'une enzyme dénommée « FruA » synthétisée par *Streptococcus salivarius,* était capable de lutter contre la formation de plaque sur l'émail des dents. D'après le chercheur, la bactérie est naturellement présente dans la bouche et que sa concentration n'est pas suffisante pour faire face la formation de la plaque dentaire. Le chercheur pense qu'en ajoutant de petites quantités de

l'enzyme FruA aux dentifrices ou aux bains de bouches, ces plaques pourraient disparaitre. Le super dentifrice aura des limites et ne permettra pas à ceux qui l'utilisent de manger des bonbons impunément, prévient Hidenobu Senpuku. Au cours de ses expériences, il a constaté que lorsque le taux de sucre dans la bouche dépasse un certain seuil, la bactérie et son enzyme perdent tous leurs moyens.

Les résultats de ces investigations sont selon nous, très encourageantes et ouvrent une voie de recherche et des perspectives biotechnologiques très intéressantes.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les actinobactéries, constituent l'un des groupes de microorganismes les plus recherchés à cause de leurs capacités inégalables de produire des composés bioactifs à impact économique, environnemental et médicale très important. Les thermophiles dans ce groupe isolés à partir des eaux thermales, sont très mal étudiés et nécessitent des investigations approfondies afin de profiter de leurs aptitudes métaboliques uniques.

Les demandes croissantes en enzymes industrielles à propriétés nouvelles comme la thermorésistance et la résistance au pH acide, se font ressentir de plus en plus de nos jours. En raison de leurs propriétés macromoléculaires uniques. Les thermophiles sont capables de biosynthétiser des enzymes physiquement et chimiquement stables avec des rendements supérieurs à ceux des espèces mésophiles similaires. Les conditions de fermentation à des températures élevées assurent aussi des avantages économiques très avantageux surtout concernant les problèmes de contaminations et de refroidissement des réacteurs.

Dans ce présent travail de thèse; nous avons étudié la biodiversité des actinobactéries isolées à partir de quelques sources thermales de l'Est Algérien (Hammam Tleghma et Hammam Béni Haroune à Wilaya de Mila ; Hammam Knif et Hammam El Salihine à Wilaya de Khenchela et Hammam Dbegh à Guelma).et l'étude de quelques aptitudes métaboliques des isolats.

L'isolement sur milieux sélectifs par technique de dilution et par technique de filtration, ont permis de sélectionner 46 isolats caractéristiques des actinobactéries, végétant dans ces biotopes extrêmes. L'étude de différents caractères culturaux sur les milieux préconisés par l'ISP (*International Streptomyces Project*),a révélée que la majorité d'entre eux présentent des mycéliums aériens avec des différentes couleurs variées entre blanchâtre, grisâtre, verdâtre, jaunâtre et orangé. Les pigments diffusibles et mélanoides ont été observés chez quelques isolats. L'observation microscopique par microscopie optique affirme que tous les isolats sont Gram positifs. Les observations par microscopie électronique ont démontrée clairement que les isolats se présentent sous formes de filaments ramifiés qui se fragmentent quelques fois en cocco-bacilles. La présence des chaines de spores caractéristique du genre *Streptomyces* est établie pour la majorité des isolats.

L'identification polyphasique basée sur les caractères morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires, des isolats, nous a permis d'assigner les 46 actinobactéries aux genres : *Streptomyces, Thermoactinomyces, Rhodococcus* et *Gordonia*. L'alignement des séquences de l'ARN de nos isolats avec les différentes souches répertoriées dans la banque génomique Genbank, nous indique que nos bactéries sont pour certaines uniques et peuvent êtres de nouvelles souches.

La caractérisation physiologique des isolats, indique que presque toutes les actinobactéries tolèrent les températures élevées. Elles sont classée selon certaines classification, comme étant des actinobactéries thermotolérantes et thermophiles. Ces bactéries sont capables de vivre à différents pH. Certaines d'entre elles, sont même capables de croitre dans différentes concentrations élevées de chlorure de sodium. Cette dernière caractéristique, peut être expliquée par le fait que ces bactéries sont adaptées à des taux élevés de différents sels que ces eaux chaudes renferment.

Les résultats indiquent aussi que nos isolats sont capables de produire plusieurs enzymes comme l'amylase, la cellulase, la pectinase, la protéase, la lipase, l'uréase, la nitrate réductase et bien d'autres à des différentes températures allant de 30 à 60°C. Deux souches appelées TA3 et TA4, ont présenté une bonne production de l'enzyme α-amylase à la température de 55°C. Ces α-amylases thermostables sont très intéressantes et peuvent êtres employées en biotechnologie dans plusieurs domaines. Nous espérons poursuivre nos investigations par l'extraction de ces thermoenzymes et leurs trouver d'autres applications.

Dans la troisième partie de cette étude, les résultats montrent que la plus part de nos isolats sont capables de biodégrader au moins un pesticide. Il s'agit des fongicides (Tachigazole et Teldor), des insecticides : (Rustile, Deltamight, Karateka et le Prowl aqua), des herbicide (Zoom, Granstar et le glyphosate), qui sont les plus dégradés. Ces résultats montrent que les actinobactéries qui vivent dans ces eaux chaudes, ont des aptitudes insoupçonnées à biodégrader plusieurs pesticides. Ces souches peuvent êtres de potentiels agents de biodégradation de pesticides dans les écosystèmes chauds.

Un résultat innovant, a montré qu'une souche nommée *Streptomyces cavourensis* (GA3C) est capable de dégrader le tartre dentaire. Les tests indiquent que cette actinobactérie n'a aucun effet sur la flore buccale. Le produit brut secrété par cette souche, ne présente aucun effet de toxicité sur des souris de laboratoire. Ces résultats encourageants, montrent que

les actinobactéries sont capables de produire des molécules naturelles, qui peuvent remplacer les produits chimiques dangereux. Nous espérons poursuivre cette recherche par la séparation, la caractérisation et l'identification de cette molécule et de faire d'autres tests de toxicité complémentaires.

Les résultats obtenus dans cette étude, sont plus que prometteuses et nous incite à poursuivre nos efforts afin d'explore encore plus les capacités des actinobactéries de ces niches écologiques extrêmes. Nous comptons dans l'avenir, réaliser des études complémentaires en réalisant l'hybridation ADN/ADN des souches avec les espèces apparentées afin d'établir leur niveau d'apparenter. Une étude par technique métagénomique peut êtres envisagées afin de déterminer avec plus de précision la biodiversité des actinobactéries dans ces écosystèmes hydriques chauds.

Références bibliographiques

A

Abdullah, H., May, E., Bahgat, M., Dewedar, M. 2008. Characterization of Actinomycetes isolated from ancient stone and their potential for deterioration. *Pol. J. Microbiol.* 57(3): 213-220.

Adiguzel, A., Ozkan, H., Baris, O., Inan, K., Gulluce, M., Sahin, F. (2009). Identification and characterization of thermophilic bacteria isolated from hot springs in Turkey. *Journal of Microbiological Methods,* 79, 321-328.

Aditi, A., Nupur, M. (2017).Thermophilic Actinomycetes are potential source of novel bioactive compounds. A review, *ejpmr*. 3(2): 130-138.

Agarwal, A. et Mathur, N. (2016). Thermophilic actinomycetes are potential source of novel bioactive compounds: A review. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 3(2), 130-138.

Agre, N.S. (1986). Taxonomy of thermophilic actinomycetes, PhD Thesis, Puschino, Moscow, 5-10 (in Russian).

Ahmed, A., Alkando, H., Moawia, I. (2011). Apotential new isolate for the production of a thermostable extracellular l'α-amylase. *Journal of Bacteriology Research,* 3(8), 129-137.

Akhgari, A., Sadeghi, H., Dabba NN gh, M.A. (2014). Modification of flow and compressibility of corn starch using quasi-emulsio solvent diffusion method. Iranian *Journal of Basic Medical Sciences*, 17(8), 553.

Aksoy, SÇ., Uzel, A., Hameş Kocabaş, EE. (2012). Extracellular serine proteases produced by *Thermoactinomyces* strains from hot springs and soils of West Anatolia. *Ann. Microbiol*. 62:483–492.

Al-Dhabi, N.A., Esmail, G.A., Duraipandiyan, V., Valan Arasu, M., Salem-Bekhit, M. (2016). Isolation, identification and screening of antimicrobial thermophilic *Streptomyces sp.Al-Dhabi*-isolated from Tharban hot spring, SaudiArabia. *Extremophiles,* 20,79–90.

Al-Dhabi, N.A., Esail, G.A., Ghilan, A. M. and Arasu, M. V. (2019). Isolation and screening of *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-49 from the environment of Saudi Arabia with concomitant production of lipase and protease in submerged fermentation. *Saudi Journal of Biological Sciences.*27: 474-479.

Al-rasheedi, S., Tawabini, B., Nazal, M.n Khalil, A. 2022. Application of thermophilic Bacteria for the Treatment of Municipal Wastewaters. *Arabian Journal for Science and Engineering.*1-8.

Alrumman, S., Mostafa,YSM., Al-Qahtani, S., Taha, THH. (2018). Hydrolytic Enzyme Production by Thermophilic Bacteria Isolated from Saudi Hot Springs. *De Gruyter,* 13, 470-480.

AlSediy, K., Ash, R., Al-fassi, F., Al-Judaibi, A. (2022). Microbial diversity and abundance in the hot springs on the west coast of Saudi Arabia as a potential source of novel industrial products. *Microbial Biosystems*.7(1).

Al-Sersy, N., Abd-Enaby, H., Abou-Elela, G. M., Ibrahim, H.A.H. et El-Toukhy, N.M.K. (2010). Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine *Streptomyces ruber. African Journal of Biotechnology*. 9(38). Pp. 6355-6364.

Al-Zarban, S.S., Al-Musllam, A.A., Abbas, I., Stackebrandt, E., Kroppenstedt, R.M. (2002). *Saccharomonospora halophila* sp. nov, a novel halophilic actinomycete isolated from marsh soil in Kuwait. *Int. J. Sys. Ev. Microbiol.* 52 :555-558.

Anandan, R., Dharumadurai, D., Manogaran, G.P. (2016). An Introduction to Actinobacteria. In: Dhanasekaran D Jiang Y. (eds) Actinobacteria: Biotechnological Applications. *Intech, Rejika.* pp: 3-37.

Andrews, K., Pateln B.K.C. (1966). *Fewidobacterium gondwanense* sp. Nov., a New Thermophilic Anaerobic Bacterium Isolated from Nonvolcanically Heated Geothermal Waters of the Great Artesian Basin of Australia. *International Journal of SystematicBacteriology.*16: 265-269.

Anurag, P., Anupam, S., et Majumdar, S. K. (2005). Utilization of Carbon and Nitrogen Sources by Streptomyces *kanamyceticus* M27 for the Production of an Anti-Bacterial Antibiotic. *African Journal of Biotechnology.* 4 (9): 909–910.

Arshia, A., Ifti, k. A., Neli, H., Saira, A., Min, X., Wael, N.H., Wen-JunLi. (2016). *Nocardioides pakistanensis sp.nov*., isolated from a hot water spring of Tatta Paniin Pakistan. *Antonie van Leeuwenhoek*, 109,1101–1109.

ARNORSSON, S. (1975). Application of the silica geothermometer in low-temperature hydrothermal areas in Iceland. *American Journal of Science.* 275, 763-784.

Asolkar, R. N., Singh, A., Jensen, P. R. A., albersberg, W. Carté, B. K., Feussner, K. D. Subramani, R., DiPasquale, A. Rheingold, A. L. and Fenical, W. (2017). Marinocyanins, cytotoxic bromo-phenazinone meroterpenoids from a marine bacterium from the streptomycete clade AR4.*Tetrahedron.* 73(16): 2234-2241.

Augustine, N., Wilson, P.A., Kerkar, S., Thomas, S. (2012). Actinomycètes arctiques comme inhibiteurs potentiels du biofilm de *Vibrio cholerae*. *Curr. Microbiol*. 64, 338–342.

B

Bano, N., Musarrat, J. (2004). Characterization of a novel carbofuran degrading Pseudomonas sp. with collateral biocontrol and plant growth promoting potential. *FEMS Microbiol Lett*. 231, 13-17.

Barabote, R.D., Xie, G., Leu, D.H., Normand, P., Necsulea, A., Daubin, V., et al. (2009). Le génome complet du thermophile cellulolytique *Acidothermus cellulolyticus* 11B donne un aperçu de ses adaptations écophysiologiques et évolutives. *Genome Res*. 19: 1033–1043.

Bartlett, D.H., Kato, C., Horikoshi, K. (1995). High-pressure influences on gene and protein expression. *Res. Microbiol*. 146: 697–706.

Bastide, A., de Méo, M., Andriantsoa, M., Laget, M., Duménil, G. (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycète productrices de substances antifongiques de structure non-polyéniques. *Mircen. Journal*. 2 : 453-466.

Bell, J.M., Colby, J., Williams, E. (1988). La CO oxydoréductase de la souche G26 de *Streptomyces* est une hydroxylase de molybdène. *Biochem. J*. 250: 605–612.

Benimeli, C. S., Amoroso, M. J., Chaile, A. P., Castro, G. R. (2003). Isolation of four aquatic *Streptomycetes* strains capable of growth on organochlorine pesticides. *Biores Technol*. 89, 133-138.

Benimeli, C.S., Castro, G.R., Chaile, A.P. and Amoroso, M.J. (2007). Lindane Uptake and Degradation by Aquatic *Streptomyces sp*. Strain M7. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 59(2): 148–155.

Benslama, O., et Boulahrouf, A., (2013). Isolation and characterization of glyphosate degrading bacteria from different soils of Algeria.*Afr. J. Microbiol. Res*. 7(49): 5587-5595.

Bergey, DH., Bergey's Manual of systematic Bacteriology. (2007).

Bernfeld, P. (1955). Amylase α and β. *Methods in Enzymology* ,1, 149-158.

Bekkouche, Med Fouzi. (2013). Caractéristiques des Sources Thermales de la Région d'Azzaba. Le Séminaire International sur L′Hydrogéologie et l′Environnement.

Bekkouche Mohamed Faouzi. (2016). Caractéristiques hydrochimiques des sources thermales de l'extrême Nord-Est Algerien. Thèse de Doctorat, Univ. Badji Mokhtar-Annaba. 178 p.

Bell, J.M., Colby, J., Williams, E. (1998). La CO oxydoréductase de la souche G26 de *Streptomyces* est une hydroxylase de molybdène. *Biochem. J.* 250, 605–612.

Benimeli, C. S., Amoroso, M. J., Chaile, A. P., Castro, G. R. (2003). Isolation of four aquatic streptomycetes strains capable of growth on organochlorine pesticides. *Biores Techn*ol. 89, 133-138.

Beppu, T. (1992). Secondary metabolites as chemical signals for cellular differentiation. *Genes.* 115: 159-165.

Birch, R.G., Pemberton, J.M. and Basnayake, W.V.S. (1990) Stable albicidin resistance in *Escherichia coli* involves an altered outer membrane nucleoside uptake system. *J Gen Microbiol* 136**:** 51–58.

Boer, L.D., Dijkhuizen, L., Grobben, G., Goodfellow, M., Stackebrandt, E., Parlett, JH., et al. (1990). *Amycolatopsis methanolica* sp. nov. un actinomycète facultativement méthylotrophique . *Int. J. Syst. Bacteriol*. 40: 194-204.

Boondaeng, A., Ishida, Y., Tamura, T., Tokuyama, S., Kitpreechavanich, V. (2009). *Microbispora siamensis* sp. nov., un actinomycète thermotolérant isolé du sol. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*. 59 : 3136–3139.

Bouanane-Darenfed, A., Fardeau, L., Grégoire, P., Manon, J., Kebbouche-Gana, S., Benayad, T., *et al*., (2011). *Caldicoprobacter algeriensis* sp. Nov. A New Thermophilic Anaerobic, Xylanolytic Bacterium Isolated from an Algerian Hot Spring, *Current Microbiology*. 62 : 826-832.

Boucharebe, F., Issaddi, A., Bendhia, H. (1994). *Bultin géologique*. 69 -74.

Boudemagh A., Kitouni M., Boughachiche F., Hamdiken H., Oulmi L., Reghioua S., Zerizer H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A., Boiron P. (2005). Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra, EL-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *Journal de Mycologie Médicale*. 15: 39-44.

Boudemagh, A. 2007.Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine. Algérie. 132 p

Boudoukha, A. et Athemna, M. (2012). Caractérisation des eaux thermales de l'ensemble Sud Sétifien. Est Algérien. *Revue des sciences de l'eau.* 25 : 103-119.

Boudoukha, A., Athamna, M., Benaabidat L. (2015). Etude du potentiel hydrothermal de Hammam Sokhna. Est Algerien. *Larhyss Jo,urnal*. ISSN 1112-3680, n°24. pp. 161-174.

Boughachiche, F., Reghioua, S., Oulmi, L, Zirezer, H., Kitouni, M., Boudemagh, A., Boulahrouf , A. (2005). Isolement d'actinomycètes productrices de substances antibactériennes à partir de la sebkha de Ain Mlila . *Science & Techno*. 23: 5- 10.

Bouizgarne, B., et Ben Aouamar, AA. (2014). Diversité des actinobactéries associées aux plantes. Bacterial Diversity in Sustainable Agriculture, éd. DK Maheswari (Cham: Springer). 41-99.

Brandt, A., Oliveira, P., Fernandes, F. B., Alba, J. (2009). Evaluation of prospective hypocholesterolemic effect and preliminary toxicology of crude extract and decoction from Vitex megapotamica (Spreng) Moldenke (V. montevidensis Cham.) in vivo. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 19: 388–393.

Brock, T. D. (1969). Introduction: An overview of the thermophiles, In Thermophiles: General. *Molecular and Applied Microbiology*.1–16.

Bruins, M. E., Janssen, A. E. et Boom, R. M. (2001). Thermozymes and their applications. *Applied biochemistry and biotechnology*. 90(2): p. 155.

Bull, A.T. (2010). Actinobacteria of the extremobiosphere in Extremophiles Handbook , eds Horikoshi K., Antranikian G., Bull AT, Robb F., Stelter K., éditeurs. *Berlin: Springer-Verlag GmbH.* 1203–1240.

C

Camille, D. (2007). Microbiologie pratiques pour le laboratoire d'analyse et de contrôle sanitaire. *Lavoisier*. 126-173.

Cassinelli, G., Rivola, G., Ruggieri, D., Arcamone, F., Grein, A., Merli, S., Spalla, C., Casazza, A.M., Di Marco, A., Pratesi, G. (1982). New anthracycline glycosides : 4-O-demethyl-11-deoxydoxorubicin and analogues from *Streptomyces peucetius* var. aureus. *Jpn J Antibiotics*. 35(2) : 176-83.

Castany, G. (1967). Traité pratique des eaux souterraines. Edition DUNOD- Paris.

Castillo, M.A, Felis, N., Aragón, P., Cuesta, G. and Sabater, C. (2006). Biodegradation of the Herbicide Diuron by Streptomycetes Isolated from Soil. *International Biodeterioration & Biodegradation.*58(3-4) : 196-202.

Cavala, M. and Eberlin, T. (1994). Isolement des streptomycètes du sol. *L'opéron*. 4: 13-17.

Chan, C.S., Chan, K.G., Ee, R.,Hong, K.W., Urbieta, M.S., Donati, E.R., et al., (2017).Etudes de facteurs physicochimiques sur la biodiversité des procaryotes dans les sources chaudes circonentrales de Malaisie. *Frontiers in Microbiology,* 8,1252.

Chaudhary, N., Prabhu, S. (2016). Thermophilic Actinomycetes from hot water spring capable of producing enzymes of Industrial Importance. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB),* 4, 29-35.

Chen, M.Y., Wu, S.H., Lin, G.H., Lu, C.P., Lin, Y.T., Chang, W.C., et al. (2004). *Rubrobacter taiwanensis* sp. nov., une nouvelle espèce thermophile et résistante aux radiations isolée de sources chaudes . *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* . 54: 1849–1855.

Chen, C.Y., Huang, Y.C., Wei, C.M., Meng, M., Liu, W.H., Yang, C.H. (2013). Propriétés de la laccase extracellulaire thermo-alcaline stable nouvellement isolée des actinomycètes thermophiles, *Thermobifida fusca* et son application dans l'oxydation des intermédiaires de colorants . *AMB Express.* 3: 1–9.

Chertkov, O., Sikorski, J., Nolan, M., Lapidus, A., Lucas, S., Rio, TGD., et al. (2011). Séquence complète du génome de la souche de type *Thermomonospora curvata* (B9 ^{T}) . *Supporter. Genomic Sci*. 4 : 13-22.

Choudhury, P.R., Talukdar, A. D., Nath, D., Saha, P. and Nath, R. (2020). Traditional Folk medicine and Drug Discovery: Prospects and Outcome. In J. K. Patra, A.C. , Shukla, and G. Das (Eds.) *Advances in Pharmaceutical Biotechnology*. p: 3-13.

Chitte, R.R., Dey, S. (2002). Production d'une enzyme fibrinolytique par des espèces de *Streptomyces* thermophiles . *Monde J. Microbiol. Biotechnol*. 18, 289-294.

Chun, J., Blackatl, L. L., Kang, S., Hah, Y. C. and Goodfellow, M., (1997). Aproposal to reclassify *Nocardia pinensis* Blackall et ai. As Skermania piniformis gen. Nov. *Comb. Nov. Int. J. Syst. Bact.* 47: 127-131.

Clark, D.A., Norris, P.R. (1996). *Acidimicrobium ferrooxidans* gen. nov., sp. nov.: oxydation de fer ferreux en culture mixte avec des espèces de *Sulfobacillus* . *Microbiology*. 141: 785–790.

Conn, H.J., Conn, J.E. (1943). Value of pigmentation in classifying Actinomycetes.*J Bacteriol.* 42(6) 786: 791.

Corbaz, R., Gregory, P.H., Lacey, M.E. (1963). Thermophilic and Mesophilic Actinomycetes in Mouldy Hay.*J Gen Microbiol*. 32: 449-455.

Cross, T. (1989). Growth and Examination of *Actinomycetes*Some Guidelines. *In Bergey's Manual of Systematic bacteriology. 4th. Williams and Wilkins Company, Baltimore:* 2340-2343.

D

Danilenko, V.N., Mironov, V.A., Elizarov S.M. (2005). Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes: A Review. *Applied Biochemistry and Microbiology.*41(4): 319–329.

Das, S., Lyla, PS., Khan, SA. (2008). Distribution and generic composition of culturable marine Actinomycetes from the sediments of Indian continental slope of Bay of Bengal.*Chin. J. Oceanol. Limnol*. 26(2): 166-177.

Das, A., Soudbakhsh, M., Bhattacharya, S., Hamedani, k., Suryan, S., Prashanthi, k. (2012). Enzymatic Screening, Antibacterial Potential and Molecular Characterization of Streptomycetes Isolated from Wayanad District in Kerala. *India. International Journal of pharmacy and biological science*. 2(1) : 201-210.

Das, S., Roy, G., Najar, IN., Sherpa, MT., Thakur, N. (2021). Diversity and composition of the North Sikkim hot spring mycobiome using a culture-independent method. Folia microbiologica. 66: 457-468.

De Mot René et De Schrijver, A. (1999). Degradation of Pesticides by Actinomycetes. 25(2): 85-119.

Dhanasekaran, D., Ambika, K., Thajuddin, N., Panneerselvam, A. (2012). Allelopathic effect of Actinobacterial isolates against selected weeds. *Arch Phytopathol Plant Protect*. 45(5):505-521.

Dhanasekaran, D., Thajuddin, N., Panneerselvam, A. (2010). Herbicidal agents from actinomycetes against selected crop plants and weeds. *Nat Prod Res*. 24(6) :521-529.

Dib-ADJOUL, H. (1985). Le thermalisme de l'Est Algérien. Thèse de Doctorat, Univ. Alger, Algérie. 281 p.

Dib, H. (2004). Le thermalisme de l'extrême Est Algérien : Guelma, Souk Ahras, Skikda et Tarf. Encadrement d'un *Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Hydrogéologie. Faculté des Sciencesde la Terre et de l'Aménagement du Territoire. Université de Constantine.*

Ding, L., Taketo, H., Akira, Y. (2007). *Amycolatopsis echigonensis* sp. nov. and*Streptomyces sannurensis* sp. nov., a new alkaliphilic member of the genus *Streptomyces* isolated from Wadi Sannur in Egypt. *Turk. J. Biol.* 56: 22-30.

Duan, Y.Y., Ming, H., Dong, L., Yin, Y.R., Zhang, Y., Zhou, E.M., et al. (2014). *Streptomyces calidiresistens* sp. nov., isolé d'un sédiment de source chaude . *Antonie Van Leeuwenhoek*. 106 : 189–196.

Dulaney, E.L., Larsen, H.A. et Stapley, E.O. (1955). A note on the isolation of microorganisms from natural sources. *Mycol*.47, 420.

E

Édilla, R. S., Zozilene, N., Santos, T., Núria M.C. , Diogo, A., Jacinto, d.S. Aline, S. da R. B., Rodrigo, P. do N. (2012). Production of α-amylase from *Streptomyces sp. SLBA-08* strain using agro-industrial by-products. Environmental Sciences. *Brazilian archives of biology and Technology*, 55 (5).

El-Sersy, N.A., Abd-Elnaby, H., Abou-Elela, G.M., Ibrahim, H.A.H. and El Toukhy, N.M.K. (2010). Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine Streptomyces ruber. *African Journal of Biotechnology*.9(38): 6355–6364.

Enseigne, JC. Balows, A., Truper, HG., Dworkin, M., Hardeer, W., Schleifer, KH., (1992). Introduction aux Actinomycètes, des Procaryotes, 2nd Ed. Vol. II, éd. *New York, NY: Springer-Verlag.*811–815.

Eunice, J. A., Prosser, J. I. (1983). Mycelial growth and branching of *Streptomyces coelicolor* A3 (2) on solid medium. *Journal of genetic microbiology.* (129): 2029-2036.

Euzeby, J.P. (2021). List of bacterial names with standing in nomenclature, Streptomycetaceae. *http://www.bacterio.net /streptomycesa.html.*

F

Felsenstein, J. (1985). Confdence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution.* 39 :783–791.

Ferreira, A.C., Nobre, M.F., Moore, E., Rainey, F.A., Battista, J.R., da Costa, M.S. (1999). Caractérisation et résistance aux radiations de nouveaux isolats de *Rubrobacter radiotolerans* et *Rubrobacter. Extrémophiles*. 3 : 235-238.

Fitri, L., Amelia Putri, K., Suhartono, Ismail, Y.S. (2019). Iolation and characterization of thermophilic actinobacteria as proteolytic enzyme producer from Ie Seuum Hut Spring, Aceh Besar, Indonesia.*Biodiversitas.*20; 2802-2808.

G

Gabriela, C, Vasil, E, Dumitru, C, Cojocar, U, Costic, M, Elena, C. (2005). L'étude de l'activité des quelques enzymes du stress oxydatif dans le tissu musculaire a des différents cyprinidés de culture. *Annale de SAUAC.* 7(1) : 14.

Gadkari, D., Schricker, K., Acker, G., Kroppenstedt, R.M., Meyer, O. (1990). *Streptomyces thermoautotrophicus* sp. nov., un chimiololithoautotrophe thermophile oxydant au CO et à l'H_2 . *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 3727–3734.

Gazali, F.M., Suwastika, I.N. (2018). Thermostable α-amylase activity from thermophilic bacteria isolated from Bora Hot Spring, Central Sulawesi. *Journal of Physics: Conference Series*, 979,012001.

George, S.P. , Ahmad, A. et Rao, M.B. (2001). Studiesoncar Boxy methyl cellulase produced by analkalo thermophilic actinomycete. *BioresourceTechnology*. 77(2).171–175.

Gerber, N.N., Wieclawek, B. (1966). The Structures of Two Naphthoquinone Pigments from an Actinomycete.*J Org Chem*. 31(5): 1496-1498.

Ghanem, N.B., Sabry, S.A., El-Sherif, Z.M., Abu El-Ela, G.A. (2000). Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *Journal. Gen. Apple. Microbial*. 46:105–111.

Glymph, J.L., Stutzenberger, F.J. (1977). Production, purification et caractérisation d'alpha-amylase à partir de *Thermomonospora curvata* . *Appl. Environ. Microbiol.* 34: 391–397.

Gommez, J., Steiner, W. (2004). The biocatalytic potential of extremophiles and extremozymes.*Food Technology and Biotechnology*. 2:223-235.

Gomri, M. A., Khakdi, T. E.M., Kharroub, K. (2018). Analysis of the diversity of aerobic, thermophilic endospore-forming Bacteria in two Algerian hot springs using cultural and non-cultural methods.*Annals of Microbiology*. 68:915–929.

Goodfellow, M., Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. Ann. Rev. Microbial.37:189-216.

Goodfellow, M., Simpson, K.E. (1987). Écologie des *streptomycètes* . De face. *Appl. Microbiol*. 2, 97-125.

Goodfellow, M., Seung, B., David, E., Minnikin, D.W., Zhi-Hong, Z., Deirdre, M. (2001). *Amycolatopsis sacchari* sp. nov., a moderately thermophilic actinomycete isolated from vegetable matter. *Int J Syst Evolution Microbiol*. 51: 187–193.

Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M.E. and Whitman, W.B. (2010). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd. (Eds.). *The Actinobacteria. Heidelberg: Springer.*Vol, 5. 1750 p.

Gordon, R.E., Barnett, D.A. Handarhan, J.E. and Hor-Nay-Pang, C.(1974). *Nocardia coeliaca, Nocardia autotrophica* and the nocardin strains.*Int. J. Syst. Bacteriol*. 24, 54-63.

Gottlieb, D. (1973). General consideration and implications of the actinomycetales, in: Sykes G, Skinner FA. (Eds). Actinomycetales Characteristics and pratical importance. *New York: Academic press.* Pp: 1-10.

Gousterova, A., Paskaleva, D., Vasileva-Tonkova, E. (2014). Caractérisation des actinobactéries thermophiles cultivables de l'île Livingston, Antarctique . *Int. Res. J. Biol. Sci.* 3 : 30–36.

Guigue, S. (1940). Les sources thermominérales de l'Algérie. Bull. serv. Carte géol. de l'Algérie. 3ème série. 5ème fasc. 140 pages.

Guigue, S. (1947). Les sources thermo minérales de l'Algérie, Etude géochimique, Bulletin du service de la carte géologique de l'Algérie, série 3, volume 2.

Guigue, S. (1952). Diagrammes logarithmiques de quelques sources thermominérales d'Algérie. pp. 80-96.

Guta, M., Ugra, K., Assefa, A., Lemme, H., Addis, G., Gemeda, N. et. Al. (2007). Étude de l'activité antibactérienne et de la toxicité aiguë d'Acacia nilotica. *Ethiop J Bio Sci*. 6 (1): 43 - 9.

Gupta, G.N., Srivastava, S., Khare, SK, Prakash, V. (2014). Extrémophiles: un aperçu des micro-organismes de l'environnement extrême . *Int. J. Agricult. Environ. Biotechnol*. 7 , 371–380.

H

Habbeche, A., Saoudi, B., Jaouadi, B., Haberra, S., Kerouaz, B., Boudelaa, M., et al. (2014). Purification et caractérisation biochimique d'une kératinase stable aux détergents d'une actinomycète *Actinomadura keratinilytica* nouvellement thermophile Cpt29 isolée à partir de compost de volaille. *J. Biosci. Bioeng*. 117 : 413–421.

Hacène Alayat et Christian Lamouroux. (2007). Caractérisationphysico-chimique des eaux thermo-minérales des Monts de la Cheffia (extrème Nord-Est Algérien). *Press Therm Climat.* 144: 191-199.

Hagedorn, C. (1976). Influences of soil activity on *Streptomyces* populations inhabiting forest soils. A*ppl. Envirnm. Microbiol*. 32(3), 368-375.

Hang, M. T., Furuyoshi, S., Yagi, T., and Yamatoto, S. (1996). Purification and characterization of raw starch digesting α-amylase from *Streptomyces thermocyaneoviolaceus* IFO1427. OyoToshitsu Kagaku. *Journal of Applied Glycoscience*, 43,487-497.

Hanriot, M. (1911). les eaux thermales de l'Algérie, chez DUNOD et PINAT. Paris.

Hassan, S.S., ul, Anjum, K., Abbas, S. Q., Akhter, N., Shagufta, B. I., Shah, S. A. A. and Tasneem, U. (2017). Emerging biopharmaceuticals from marine actinobacteria. *Environmental Toxicology and Pharmacology*.49 : 34-47.

Hazen, SP. (1995). Supragingival dental calculus Periodonto12000.1125-136.

Henssen, A. (1957). Beitrage on morphologie and systematic thermophilic actinomycetes . *Cambre. Mikrobiol.* 26: 373–414.

Hirsch, C.F. and Christensen, D.L. (1983). Novel method for selective isolation of actinomycetes. *Appl Environ Microbiol*. 46: 925- 929.

Hocinat, A. et Boudemagh, A. (2016). Biodegradation of Commercial Ortiva Fungicide by Isolated Actinomycetes from the Activated Sludge. *Desalination and Water Treatment*.1-7.

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 Présentée pour l'obtention Du Diplôme de Doctorat de 3ème cycle En Biotechnologies Microbiennes, Génomes et Environnement. Constantine: Université des Frères Mentouri.148p.

Hopper, D. J. and Kemp, P. D. (1980). Regulation of enzymes of the 3,5-xylenol-degradative pathway in *Pseudomonas putida*: evidence for a plasmid. *J. Bacteriol.* 142: 21-26.

Hopwood, D. (2007). Introduction to the actinobacteria. *Microbiology Today*.60-61.

Horikoshi, K. (1999). Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 63 (4):735–750.

Houha, B. (2007). Etude de fonctionnement hydrogéochimique et isotopique des eaux de Khenchela. Thèse de doctorat, Université d'Avignon, France. pp. 80.

Hovik, P. (2019). *Thermoactinomycetes* isolated from geothermal springs in Armenia capable of producing extracellular hydrolases. *Environmental Sustainability*. 2:219–226.

Hozzein, W.N. (2015). Biodiversity of Halophilic and Halotolerant Actinobacteria. In Maheshwari D.K.., Saraf M (eds.). *Halophiles, Sustainable Development and Biodiversity*.6.(1-28).

Huber, R., Langworthy, T.A., Konig, H., Thomm, M., Woese, C.R., Sleytr, U.B., and Stetter K.O. (1986). *Thermotoga maritima sp*. Nov. Represents a new genus of unique extremely thermophilic eubacteria growing up to 90°C. *Archives of Microbiology.*144(4): 324-333.

I

ISSAADI, A. (1992). Le thermalisme dans son cadre géostructural, apports à la connaissance de la structure profonde de l'Algérie et de ses ressources géothermales. Thèse de Doctorat, Univ. Alger, Algérie, 274 p.

Itoh, T., Yamanoi, K., Kudo, T., Ohkuma, M., Takashina, T. (2011). *Aciditerrimonas ferrireducens* gen. nov., sp. nov., une *actinobactérie thermoacidophile* réductrice de fer isolée d'un champ solfatarique . *Int. J Syst. Evol. Microbiol.* 61: 1281–1285.

J

Jadoon, MA., Ahmad, T., Rehman, MMU., Khan, A., Majid, A. (2014). Isolation and identification of thermophillic actinomycetes from hot water springs from Azad Jammu and Kashmir Pakistan for the production of thermophilic amylase. *World. Appl. Sci. J. (WASJ*). 30(3):350–354.

Jameel, K.M. (2016). A new medium for the isolation and enrichment of halophilic actinobacteria. *Life science journal.*, 13(1).65-71.

Jang, H.D. et Chang, K.S. (2005). thermostable cellulases from *Streptomyces sp*.:scalup production in a 50-lfermenter. *Biotechnology Letters*. 27(4): 239–242.

Jani, S.A., Chudasama, C.J., Patel, D.B., Bhatt, P.S., Patel, H.N. (2012). Optimisation de la production de protéases extracellulaires à partir d'actinomycètes alcalins thermo-tolérants: *Saccharomonospora viridis* SJ-21 . *Taureau. Environ. Pharmacol. Life Sci.* 1, 84–92.

Jaouadi, B. , Abdelmalek, B., Fodiletal. , D. (2010). Purification and Characterization of a thermostable keratinolytic serine alkaline Proteinase from *Streptomyces sp*. Strain AB1with high stability Inorganic solvents. *Bioresource Technology*.101(21):8361–8369.

Jayabarath, J., Musfira, S., Giridhar, A., Sundar, R., Shyam, S., Arulmurugan, R. (2010). Biodegradation of Carbofuran pesticide by saline soil actinomycetes .*International Journal of Biotechnology and Biochemestry*.187-192.

Jeffrey, L. S. H. (2008). Isolation, Characterization and identification of actinomycetes from agriculture soils at Semongok, *African Journal of Biotechnology*, 7 (20), 3697-3702.

Jensen, P.R., Dwight, R., Fenical, W. (1991).Distribution of actinomycetes in near- shore tropical marine sediments. *Apple Environ Microbial*. 57(4):1102–1108.

Jiang, C., Xu, L. (1993). Actinomycetes Diversity in unusual habitats. *Actinomycetes*, 4, 47–57.

Jihani, S., Brodolin, K., Iraqui, M., Ibnsouda, S. and Haggoud, A. (2012). Isolation and molecular identification of antibiotic-producing actinomycetes from an old house in the medina of Fez, Morocco. *African Journal of Microbiology Research*, 6, 7370–7376.

Johnson, D.B., Bacelar-Nicolau, P., Okibe, N., Thomas, A., Hallberg, K.B. (2009). *Ferrimicrobium acidiphilum* gen. nov., et *Ferrithrix thermotolerans* gen. nov., sp. nov.: actinobactéries hétérotrophes, oxydant le fer, extrêmement acidophiles . *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* . 59: 1082-1089.

Jones, B.E., KleijWilhelmus, A.H., an Solingen, P.V. and Weyler, W. (2003). Cellulase producing actinomycetes, cellulase produced There from and method of producing same. *USPatent*. 6566112.

Justo, G.Z., Carmen, V., Ferreira, Melo, P.S., Cordi, L., Martins, D. (2007). Violacein: properties and biological activities. *Biotechnol Appl Biochem.* 48: 127–133.

K

Khaled, E., Fayez, M.F., Badawi, M.H., Abd El-Rahim, W., M., Shawky, H., Moawad, H. Moawad, H. (2022). Thermostable Protease, Amylase and Lipase Enzymes of

Thermophilic Bacteria Isolated from Egyptian Hot Springs. *Egyptian Journal of Chemistry*.65(10): 225-238.

Kenneth, L.K. (1958). Prepared research paper 2911, Central Notations for the revised ISCC-NBS color name blocks. *J. Res. NBS*.16: 427.

Kim, S.B., Lonsdale, J., Seong, C.N., Goodfellow, M. (2003). *Streptacidiphilus* gen. nov., acidophilic actinomycetes with wall chemotype 1 and emendation of the family Streptomycetaceae. *Antonie van Leeuwenhoek*. 83: 107–116.

Kimura, N. et Urushigawa, Y. (2001). Metabolism of Dibenzo-p-Dioxin and Chlorinated Dibenzo-p-Dioxin by a Gram-Positive Bacterium, *Rhodococcus Opacus* SAO 101. *J. Biosci. Bioeng*.92 :138–143.

King, G.M. et Weber, C.F. (2007). Distribution, diversité et écologie des bactéries aérobies CO-oxydantes. *Nat. Rev. Microbiol.* 5: 107-118.

Kinjal Samir Patel, Jinal Hardik Naik, Sejal Chaudhari, Natarajan Amaresan (2017). Characterization of culturable bacteria isolated from hot springs for plant growth promoting traits and effect on tomato (Lycopersicon esculentum) seedling. *Comptes Rendus Biologies.* 340, 244-249.

Kirk, O., Dmhus, T., Borchert, TV., Fuglsang, CC. (2005). Enzyme applications industrial in: seldel A(Ed)-Kirk-Othmer.*encyclopedia of chemical technology. 5th edition, New-York.Wilet-Interscience*. 248(10), 317-898.

Kitouni, M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaires des souches actives et caractérisation préliminaires des substances élaborées. Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine ,89 P.

Konig, C., D. Eulberg, J. Groning, S. Lakner, V. Seibert, S.R. Kaschabek, et M. Schlomann. (2004). A Linear Megaplasmid, P1CP, Carrying the Genes for Chlorocatechol Catabolism of *Rhodococcus Opacus* 1CP. *Microbiology*. 150: 3075–3087.

Korn-Wendisch, L.F., Rainey, F., Kroppenstedt, R.M., Kempf, A., Majazza, A., Kutzner, H.J., Stackebrandt, E. (1995). *Thermocrispum* gen. nov., a New Genus of the Order

Actinomycetales, and Description of *Thennocrispurn municipale* sp. nov. and*Thermocrispum agreste* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 45(1) : 67-77.

Krasilnikov, N.A., Agre, N.S. (1964). Sur deux nouvelles espèces de *Thermopolyspora* . *Hindustan Antibiot. Bull* . 6 : 97-107.

Krishna, P., Arora, A., Reddy, M.S. (2008). Une souche alcalinophile et xylanolytique d'actinomycètes *Kocuria* sp. RM1 isolé de sites de résidus de bauxite extrêmement alcalins. *Monde J. Microbiol. Biotechnol*. 24 : 3079–3085.

Krishnasamy, N., Chinnasamy, M., Shine, K., Naiyf, S. A., Jamal, M. K., and Dharumadurai, D. (2017). Purification, characterization, and statistical optimization of a thermostable α-amylase from desert actinobacterium *Streptomyces fragilis* DA7-7. *3 Biotech*,7(5),350.

Kumar, L., Awasthi, G., Singh, B. (2011). Extrémophiles: une nouvelle source d'enzymes importantes sur le plan industriel . *Biotechnology.* 10: 121–135.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing plat-forms. *Mol Biol Evol*. 35:1547–1549

Kurapova, G.M., Zenova, I.I., Sudnitsyn, A.K., Kizilova, N.A., Manucharova, Z.N., Zvyagintsev, D.G. (2012).Thermotolerant and Thermophilic Actinomycetes from Soils of Mongolia Desert Steppe Zone. *Microbiology*. 81(1): 98–108.

Kurup, S.P., Joseph, J.B., Jordan, N.F., Mary, P.L. (1975). Thermophilic and Mesophilic Actinomycetes. *Int. J. Syst. bacterial*. 25(2) : 150-154.

Kushner D.J. and Kamekura M. (1988). Physiologie des eubactéries halophiles. Dans: Rodriguez-Valera F (ed) Bactéries halophiles. CRC, Boca Raton.

L

Lacey, J. (I971).*Thermoactinomyces sacchari* sp.nov., a Thermophilic Actinomycete Causing Bagassosis. *J Gen Microbiol*. 66 : 327-338.

Ladenstein, R., Ren, B. (2006). Disulfures de protéines et oxydoréductases de disulfure de protéines chez les hyperthermophiles. *Nourris. EUR. Biochem. Soc. Lett*. 273 , 4170-4185.

Lahlou Mimi, A., Ben Dhia, H., Bouri, S., Llahrach, A., Ben Abitate, L., Bouchareb-Haouchim, F. Z. (1998). Application of chemical geothermometers springs of the maghreb,north Africa. *Geothermics.*27: 211-233.

Lameire, N.W., Van Biesen, R., Vanholder. (2005). Acute renal failure.*Lancet.* 365 417–430.

Lampreia, J., Fauque, G., Speich, N., Dahl, C., Moura, I., Truper, H. G., Moure, J. J. (1991). Spectroscopic studies on APS reductase isolated from the hyperthermophilic sulfat-reducing archaebacterium Archaeglobus fulgidus. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 181: 342-347.

Larpent, J.P. et Larpent-Gourgaud, M. (1985b). Manuel pratique de microbiologie. Hermann. Paris. 157-162.

Larpent, J. P. et Sanglier, J. J. (1989). Biotechnology of antibiotics. *Masson. Paris*.

Laubier, L. (1991). Ecosystèmes benthiques profonds et chimiosynthèse bactérienne : Sources hydrothermales et suintements froids. *IFREMER. Actes de colloques* n° 12-1991.

Lengeler, J.W., Drews, G. and Schlegel, H.G. (1999). *Biologie of the procaryotes. Stuttgart: Blackwell.*

Lensi, R., Beaupied, H. and Moiroud, A. (1990). Activité dénitrifiante chez les actinorhizes. *Int. J. Ecol*. 11: 391-398.

Li, W. F., Zhou, X. X. and Lu, P. (2005). Structural features of thermozymes. *Biotechnology Advances*. 23: pp. 271-81.

Li-Hua X., Yong-Qian, Yun-Feng Z. Z. and Cheng-Lin J., (1998). *Streptomyces thermogriseus*, a new species of the genus *Streptomyces* from soil, lake and hot-spring.*International Journal of Systematic Bacteriology* . 48:1089-1093.

Lichtman, H., Watson, J., Ginsberg, V., Pierce, JV, Stokstad, ELR et Jukes, TH (1949). Vitamine B12b : quelques propriétés et son utilisation thérapeutique. *Biologie expérimentale et médecine.*72(3) : 643-645.

Locci, R. & Schofield, G.M. (1989).Genus *Streptoverticillium Baldacci* 1958, 15, *emend.mut.char*.

Loqman, S. (2009). La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycètes antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, France, 216p.

Lu, Z., Liu, Z., Wang, L., Zhang, Y., Qi, W., Goodfellow, M. (2001). *Saccharopolyspora flava* sp. nov. et *Saccharopolyspora thermophila* sp. nov., nouveaux actinomycètes du sol . *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* . 51: 319–325.

M

Mahilrajan, S., Balakumar, S. Et Arasaratnam, V. (2012). Screening and identification of thermophilic and alkalophilic bacterium producing xylanase. *Adv. Appl. Sci. Res.* 3(1): 242-250.

Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K. and Kim, S. K. (2014). Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiological research*. 169(4): 262-278.

Marchal, N. et Bourdon, J.L. (1973). Milieux de culture et identification biochimique des bactéries.*EdDoin. Paris.*

Margalith, P.Z. (1992). Pigment microbiology. Shapman and Hall. London. 5-114.

Martin, H., van A, Sytze, K. and Dick, B.J. (1998). Handbook on Biodegradation and Biological Treatment of Hazardous Organic Compounds. *Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/Boston/London.*

McCarthy, A.J., Cross, T. (1984). Une étude taxonomique de *Thermomonospora* et d'autres actinomycètes monosporiques . *J. Gen. Microbiol*. 130: 5–25.

McCarthy, A.J., Peace, E., Broda, P. (1985). Études sur l'activité de la xylanase extracellulaire de certains actinomycètes thermophiles . *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 21: 238–244.

Medjemadj, M., Juan-José, E.R., Boudemagh, A. et González-Siso, M.I. (2020). Actinobacteria isolated from Algerian hot spring waters: A potential source of important enzymes. *Ecology, Environment and Conservation*, 26 (3), 1145-1157.

Meier-Kolthoff, J.P., Göker, M., Spröer, C., et Klenk, H.-P. (2013).When should a DDH experiment be mandatory in microbial taxonomy . *Arch Microbiol*. 195: 413–418.

Minic, Z., Serre V. and Hervé, G. (2006). Adaptation des organismes aux conditions extrêmes des sources hydrothermales marines profondes. *C. R. Biologies*. 329: 527-540.

Mitra, P. et Chakrabartty, P.K. (2005). An extracellular protease With depilation activity from *Streptomyces nogalator*. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 64 (12): 978–983.

Mohammad, BT., Daghistani, HIA., Jaouani, A., Abdel-Latif, S., Kennes, C. (2017). Isolation and characterization of thermophilic bacteria from Jordanian Hot Springs: *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* isolates as potential producers of thermostable enzymes. *International Journal of Microbiology,* 6943952.

Mokrane, S., Bourkas, N., Meklat, A., Lahoum, A., Zitouni, A., Verheecke,C., Mathieu, F., Schumann, P., Spröer, C., Sabaou, N., Klenk, H-P. (2016). *Thermoactinomyces khenchelensis sp. Nov*., a filamentous bacterium isolated from soil sediment of a terrestrial hot spring. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 109 (2), 311-317.

Moreira, K.A. , Albuquerque, B.F. , Teixeira, M.F.S. , Porto, A.L.F. and Lima Filho, J.L. (2002). Application of protease from *Nocardiopsis* sp. Asalaundry detergent additive. *World Journal Of Microbiology and Biotechnology*.18 (4):307–312.

Msarah, M.J.,Yusoff, M.F.M., Samion, S.N.S., Prabhakaran,P., Ibrahim, I., Aqma,W.S. (2018). Environment extrème: biofilms et diversité microbiènne. *Malaysian Journal of Microbiology*, 14(5),435–443.

N

Naif, A.A., Galal, A.l., Abdul-Kareem, M.G., Mariadhas, V.A., Veeramuthu, D., Karuppiah, P. (2020). Isolation and purification of starch hydrolysing amylase from *Streptomyces sp. Al-Dhabi*-46 obtained from the Jazan region of Saudi Arabia with industrial applications. *Journal of King Saud University – Science*, 32, 1226-1232.

Nazina, T.N., Tourova, T.P., Poltaraus, A.B., Novikova, E.V., Grigoryan, A.A, Ivanova, A.E., Lysenki, M., Petrunyaka, V.V., Osipiv, G.A., Belyaev, S.S., Ivanov, M.V. (2011). Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 51: 433-446.

Nedjai, R. (1987). Etude hydrologique et hydrochimique des eaux thermales du centre Algérien. Thèse de doctorat, Univ. Grebouble. France.

Nei, M. and Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.

Nielsen, J. E., Borchert, T. V. (2000). Protein engineering of bacterial α-amylases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1543(2), 253–274.

Ningthoujam, D.S., Kshetri, P., Sanasam, S., Nimaichand, S. (2009). Criblage, identification des meilleurs producteurs et optimisation des protéases extracellulaires des actinomycètes indigènes modérément halophiles alcalinotermotolérants . *World Appl. Sci. J.* 7 : 907–916.

Norris, P.R., Davis-Belmar, C.S., Brown, C.F., Calvo-Bado, L.A. (2011). Actinobactéries autotrophes oxydant le soufre en milieu acide. *Extrémophiles*. 15 : 155-163.

O

O'Gara F., Dowling, D. N., Boesten, B. (2008). Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs. *John Wiley & Sons: Weinheim.* 192.

Okoro, C.K., Brown, R., Jones, A.L., Andrews, B.A., Asenjo, J.A., Goodfellow, M., Bull, A.T. (2009). Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile.*Antonie van Leeuwenhoek*. 95: 121-133.

Oskay, M., Tamer, A. Ü., Azeri, C. (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *African. J. Biotechnol*. 3:441–446.

Ottow, J. C.G. et Glathe, H. (1968). Rose Bengal-malt extract-agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Appl. Microbiol.*16: 170-171.

Ouali, S. (1996). Etude géothermique du Sud de l'Algérie. Mém. Magister, Université M'hamed Bouguerra – Boumerdes.

Ouali, S., Mehmah, B., Malek, A. (2007). Etude de faisabilité d'utilisation des eaux thermales de Zelfana Dans la Production d'Hydrogène. ResearchGate.

Ouali, S. (2008). Les sources thermales en Algérie. *Recherche et développement*. 13 : 16-17.

P

Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C.R., Soccol, V.T., Singh, D., Mohan, R. (2000). Progrès dans les amylases microbiennes. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 31, 135–152.

Pantazaki, A., Prista, A. Et Kyriakidis, D. (2002). Biotechnologically relevant enzymes from *Thermus thermophilus. Applied Microbiology and Biotechnology*. 58: pp. 1-12.

Parkhurst, D.L., Thorstenson, D.C. et Plummer, L.N., (1980). PHREEQC. Acomputer program for geochemical calculations.*US Geol. Survey Water Resource Invest*. Rep., pp. 88-96.

Patrick, l. J. (2011) . *Physio*. 1: 49.

Peng, C., Wan, X., Zhang, J., Zhang, B., Wang, S., Ma T, Wang, W. (2022). Bacterial diversity and competitors for degradation of hazardous oil refining wast under selective pressures of temperature and oxygen. *Journal of Hazardous Materials*. 128201.

Porter, J.N., Wilhem, J.J. and Tresner, H.D. (1960). Method for the preferential isolation of actinomycetes from soil. Appl. Microbiol. 8,174.

Pouget, L. et Chouchak, D. (1923). Radioactivité d'eau des sources. Bulletin société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord. Département d'Alger. N°14. pp 264-272.

Prakash, A., Rigelhof, F., Miller, E. (2001). Medallion Laboratories Analytical Progress. *Antioxidant Activity.* 19(2) : 1-6.

Prescott, M. L., Harley, P.J.K., Donald, A. (2008). Microbiology. 6th ed., McGraw-Hill Higher Education.

Pridham, T.G., Gottlieb, D. (1948). The utilization of carbon compounds by some actinomycetales as an aid for species determination. *J. Bacteriol.* 56: 107-114.

Priyadharsini, P., Dhanasekaran, D., Kanimozhi, B. (2013). Isolation, structural identification and herbicidal activity of N-phenylpropanamide from *Streptomyces sp.* KA1-3. *Arch Phytopathol Plant Protect*. 46(3):364-373.

Purushe, S., Prakash, D., Nawani, N.N., Dhakephalkar, P., Kapadnis, B. (2012). Potentiel biocatalytique d'une dextranase alcalophile et thermophile comme mesure corrective pour l'élimination du dextrane pendant la fabrication du sucre. *Bioresour. Technol*. 115: 2–7.

R

Raut, G.R., Chakraborty, S., Chopade, B.A., Kokare, C.R. (2013). Isolement et caractérisation de la protease solvant organique de la mer alcalophiles *Saccharopolyspora* espèces . *Ind. J. Mar. Sci.* 42: 131–138.

Rathan, R.K. et Ambili, M. (2011). Cellulase Enzyme Production By *Streptomyces Sp*.Using Fruit Waste as Substrate. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5(12). 1114–1118.

Rebai, H. , Sholkamy, E.N. , Alharbi,R. M. , Abdel-Raouf,N. , Boufercha, O., Castro, P. and Boudemagh, A. (2023). *Streptomyces sp.* Strain SRH22: A Potential Bioremediation Agent for Glyphosate-Contaminated Agricultural Soils. *Environment and Natural Resources Journal*.21.

Remya, M. and Vijayakumar, R. (2008). Isolation and characterization of marine antagonistic actinomycetes from west coast of India, *Medicine and Biology*.15 (1):13–19.

Rye, S. (2009). Nanomatériaux : Préoccupations sur la Santé et l'Environnement. *Annale de BBE.* 7 (10) : 1-15.

Rickes, E.L., Brink, N.G., Koniuszy, F.R., Wood, T.R., Folkers, K. (1948). Crystalline vitamin B12. *Sci.*107(2781):396-397.

Roberts-Harry, EA., Clerehugh, V. (2000). Subgingival ca1culus: where weare know ?*A comparative review.J. Dent*. 28(2): 93-102.

Roberts, M.F. (2005). Solutés organiques compatibles de micro-organismes halotolérants et halophiles . *Systèmes salins*. 1 : 1–30. 10.

Rodier, J. (1984). L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux industrielles, eaux de mer. *7eme édition. Dunod.*

Ronderos, M., Jacobs, DR., Himes, JH., Pihlstrom, BL. (2000). Associations of periodontal disease with femoral bone mineraI density and oestrogen replacement therapy : cross-sectional evaluation ofUS adults from NHANES III. *J.Clin. Periodontol*. 27(10): 778-786.

Rozo, Castellanos J., Sánchez, J., Uribe, D., Moreno L., Melgarejo, L.M. (2013). Characterization of Carbofuran Degrading Bacteria Obtained from Potato Cultivated Soils with Different Pesticide Application Records. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín.* 66(1): 6899-6908.

S

Sabita, D. and Shubha, O. A. (1999). Characterization of a thermostable α-amylase from thermophilic *Streptomyces megaspores strain SD12*. *Indian Journal of Biochemistry and biophysics*, 36, 150-157.

Sacoti, H. (2012). Lésions élémentaires des cellules, tissus et organes. *Annale de COPATH*.3(1) : 1-29.

Saini, P., Gangwar, M. , Kalia, A., Singh, N. and Narang, D. (2016). Isolation of endophytic actinomycetes from Syzygium cumini and their antimicrobial activity against human pathogens. *Journal of Applied and Natural Science*. 8 (1): 416 – 422.

Saitou, N. and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molec Biol Evol*. 4:406–425.

Salano, OA., Makonde, HM. Kasili, RW., et al. (2018). Isolation and characterization of fungi from hot spring on the shores of Lake Bogoria, Kenya. J Yeast Fungal Res. 9: 19-13.

Sanger, F., S. Nicklen, et A.R. Coulson. (1977). DNA Sequencing with Chain-Terminating Inhibitors.*In Proc Natl Acad Sci USA*. 12(74) :5463-7.

Sanglier, J.J. et Trujillo, M. (1997). Substances bioactives produites par les actinomycetes et stratégie de sélection de souches. *Bull. Soc. Fr. Microbiol*. 12: 13.

Sapa, A. R., Lestari, A., Ananda, M. and Nengah Suwastika, I. (2023).Potential of Actinomycetes from Bora Hot Springs Central Sulawesi to Produce Antibacterial Copounds. N.I. India et al. (Eds.) : pp. 221-227.

Satyanarayana, T., Raghukumar, C., Shivaji, S. (2005). Extremophilic microbes: Diversity and Perspectives. *Curr. Sci*. 89(1): 112-119.

Savornin, J. (1913). les barèges Algériens. Bull. Soc. Géorg. Alger.

Sayeh, R., Birrien, J. L., Alain, K., Barbier, G., Hamdi, M. (2010). Microbial diversity in Tunisian geothermal springs as detected by molecular and culture-based approaches. *Extremophiles*, 14, 501–514.

Schatz, A., Waksman, S.A. (1944). Effect of Streptomycin and Other Antibiotic Substances upon Mycobacterium tuberculosis and Related Organisms. *Exp Biol Med (Maywood)*.57(2): 244-248.

Scholler, H. (1962). Les eaux souterraines. Hydrologie dynamique et chimique. Exploitation et évaluation des ressources. Edition Masson. Paris.

Selim, S., Sherif, M.E., El-Alfy, S., et Hagagy, N. (2014). Genetic diversity among thermophilic bacteria isolated fromgeothermal sites by using two PCR typing methods. *Geomicrobiology Journal*. 31(2): 161-170.

Shekar, BR. C., Nagarajappa, R., Jain, R., Suma, S., Mruthunjaya, K., Thakur, R. (2019). Évaluation de l'efficacité antimicrobienne d'une formulation à base de plantes innovante et novatrice sur les caries dentaires et les micro-organismes de la plaque dentaire - Une recherche clinique. *Biomed Pharmacol J*. 12 (4).

Shen, Y. (2009). Preparation and application of magnetic Fe3O4 nanoparticles for wastewater purification. *Annale de SPT*. 68(3) : 1-8.

Shirling, E.B. and Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology,* 16, 313-340.

Shoun, H., Kano, M., Baba, I., Takaya, N. and Matsuo, M. (1998). Denitrification byactinomycetes and purification of dissimilatory nitrite reductase and azurin from *Streptomyces thioluteus. J. Bacteriol*. 180: 4413-4415.

Siddique, S., Syed, Q., Adnan, A. et Ashraf Qureshi, F. (2014). Isolation, Characterization and Selection of Avermectin-Producing *Streptomyces avermitilis* Strains from Soil Samples. *Jundishapur Journal of Microbiology*,7, e10366.

Singh, S.P., Purohit, M.K., Aoyagi, C., Kitaoka, M., Hayashi, K. (2010). Effet de la température de croissance, l' induction et chaperons moléculaires sur la solubilisation de la cellobiose – phosphorylase sur-exprimé à partir de *la gilvus de* sous *in vivo* conditions . *Biotechnol. Bioprocess. Eng*. 15: 273-276.

Singh, S.P., Shukla, R.J., Kikani, B.A. (2013). Diversité moléculaire et pertinence biotechnologique des actinobactéries thermophiles, dans Microbes thermophiles en biotechnologie environnementale et industrielle. *Springer*.459–479.

Smith, A.W., Camara-Artigas, A., Olea, C., (Jr). Francisco, W.A., Allen, J.P. (2004). Crystallization and initial X-ray analysis of phenoxazinone synthase from *Streptomyces antibioticus.* Acta Crystallographica, Section D: Biological Crystallography. 60(8): 1453-1455.

Song, M., Moon, K., Kim, Y., Lim, D., Song, C., Yoon, W. (2007). Labeling efficacy of superparamagnetic iron oxide nanoparticles to human neural stem cells: Comparison of ferumoxides, monocrystalline iron oxide, cross-linked iron oxide (CLIO)-NH2 and tat-CLIO. *Annale de KJR*. 8(5) : 1-24.

Souchay, A., Pouezat, JA., Menanteau, J. (1995). Mineralisation of *Streptococcus Mutans* on vitro. An ultrasructural study. *Oral. Surg.*79(3): 311-320.

Stackebrandt, E., Rainey, F. A. and Ward-Rainey N.L. (1997). Proposal for a new hierarchic classification system Actinobacteria classis nov. *Int J Syst Bacteriol*. 47 : 479-491.

Stutzenberger, F.J. (1971). Production de cellulase par *Thermomonospora curvata* isolée du compost de déchets solides municipaux. *Appl. Microbiol*. 22: 147-152.

Subba Rao, N.,S. (2015). Soil Microorganisms and Plant Growth, Oxford and IBH Publishing Co.

Subhajit, R. (2012). Producttion of Biosurfactant Using an Isolated Bacterial Strain of *Bacillus* sp. (M28). *J. Microbiol. Biotech. Res*. 2 402–415.

Suutari, M., Lignell, U., Hyvarinen, A. and Nevalailen, A. (2002).Media for cultivation of indoor streptomycetes. *J. Microbiol. Meth.*1668-1674.

Suzuki, S.I. (2001). Etablishement and use of gellan gun media for selective isolation and survey of specific rare Actinomycetes. *Actinomycets,* 15(2): 55-60.

$\mathcal{T}$

Tahtamouni, M. E. W., Hameed, K. M. and Saadoun, I. M. (2006). Biological control ofSclerotinia sclerotiorum using indigenous chitinolytic actinomycetes in Jordan.*Plant.Pathol. J.* 22: 107-114.

Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S. (**2021**). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* .120

Takahashi, K., Totsuka, A., Nakakuki, T., Nakamura N. (1992). Production et application d'une amylase maltogène par une souche de *Thermomonospora viridis* TF-35. *Amidon*. 44: 96-101.

Takano, H., Asker, D., Beppu, T., Ueda, K. (2006). Genetic control for light-induced carotenoid production in nonphototrophic bacteria.*J Ind Microbiol Biotechnol*. 33: 88-93.

Takizawa, M., Cowell, R.R. and Hill, R.T. (1993). Isolation and diversity of Actinomycetes in the Chesapeake Bay. *Appl. Envirnm. Microbiol*. 144: 647-651.

Tamura, K., Nei, M., Kumar, S. (2004).Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method.*Proc Natl Acad Sci (USA)*. 101:11030–11035.

Tang, X., Zhou, Y., Zhang, J., Ming, H., Nie, G.X., Yang, L.L., et al. (2012). *Actinokineospora soli* sp. nov., un actinomycète thermotolérant isolé du sol, et description corrigée du genre Actinokineospora . *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* . 62, 1845–1849.

Tanko, Y., Abdulazeez, A., Muhammad, AJA., Mohammed, K.A., Mohammed, A. (2014). Effet de l'extrait de feuilles brutes au méthanol et de la fraction aqueuse d'Acacia Nilotica sur le profil lipidique et les enzymes hépatiques chez les rats wistar diabétiques induits par l'alloxane. *Ann Exp Bio*. 2 (3): 36 - 40.

Techapun, C., Charoenrat, T., Poosaran, N., Watanabe, M., Sasaki, K. (2002). Xylanase thermostable et alcaline sans cellulase produite par *Streptomyces thermotolérante* sp. Ab106 . *J. Biosci. Bioeng*. 93: 431–433.

Thakur, D., Yadav, A., Gogoi, B. K. and Bora, T. C. (2007).Isolation and screening of *Streptomyces* in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites.*Journal of Medical Mycology*. 17 (4): 242–249.

Thomas Brock and Mercedes, R. Edwards. (1969). Fine Structure of *Thermus aquaticus,* an extreme thermophile.*J.Microbiol.* 104(1): 509-517.

Tian, S., Yang, Y., Liu, K., Xiong, Z., Xu, L., Zhao, L. (2014). Métabolites antimicrobiens de l'anovel actinomycète halophile *Nocardiopsis terrae* YIM 90022. *Nat. Prod. Res*. 28, 344–346.

Tighidet, S. (2011). Caractérisation d'antifongiques non polyéniques produits par des souches d'actinomycètes et essai d'optimisation de leurs milieux de production. Mémoire de Magister, Université Abderrahmane Mira Bejaia, Pp. 3-7.

Tortora, G.J., Funke, B.R., affaire, C.L. (2007). Microbiologie: une introduction . San Francisco, Californie: Pearson; Benjamin Cummings.

Tseng, M., Yang, SF., Hoang, K.C., Liao, H.C., Yuan, G.F., Liao, C.C. (2009). *Actinomadura miaoliensis* sp. nov., un actinomycète dégradant le polyester thermotolérant. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59: 517–520.

Tsuchiya, K., Sakashita, H., Nakamura, Y. (1999). Production of thermostable alkalineprotease by alkalophilic *Thermoactinomyces sp.* HS682.Agricultural Biological ChemistryW., Pigac J. Purification and properties of extracellular lipase from Streptomyces rimosus. *Enzyme. Microbial. Technology*. 25(6): 522-529.

U

Uzel, A., Esin, H., Kocabaş, E. (2009). Prevalence of *Thermoactinomyces thalpophilus* and *T. sacchari* strains with biotechnological potential at hot springsand soils from West Anatolia in Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 35, 195-202.

Uzel, A., Esin, H., Kocabaş, E. (2011). Prevalence of *Thermoactinomyces thalpophilus* and *T. sacchari* strains with biotechnological potential at hot springs and soils from West Anatolia in Turkey. *Turk J Biol.* 35: 195-202.

V

Vandecasteele, J.P. (2005). *Microbiologie pétrolière*. Editions TECHNIP.

Vandermesse, F. (1996). Capacité d'une communauté microbienne mixte à dégrader la MEK en réacteur batch, en vue de l'optimisation d'un bioréacteur. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études en science naturelle appliquée. Option : Biotechnologie industrielle. Université catholique de Louvain.

Venil, C.K., Lakshmanaperumalsamy, P. (2009). An Insightful Overview on Microbial Pigment, Prodigiosin.*Electron J Biol*. 5(3): 49-61.

Verdeil, P. (1980) : Les eaux minérales, thermales, thermominérales dans le cadre de la tectonique globale. Implication géologiques et géochimiques.

Verma, A., Singh, H., Anwar, MS., Kumar, S, Ansari, MW., Agrawal, S. (2016). Production of thermostable organic solvent tolerant keratinolytic protease from *Thermoactinomyces* sp. RM4: IAA production and plant growth promotion. *Front. Microbiol*.7:1189.

Vidyalakshmi, R., Paranthaman, R., Indhumathi, J. (2009). Amylase production on submerged fermentation by *Bacillus spp.World Journal of Chemistry.* 4:89–91.

W

Wang, C. Du, W. Lu, H. Lan, J. Liang, K. and Cao, S. (2020). A Review: Halogenated Compounds from marine Actinomycetes. *Molecules.* 26(9): 2754.

White, R. H. (1991). Distribution of folates and modified folates in extremely thermophilic bacteria. *J. Bacteriol.* 173: 1987-1991.

Wiegel, J., Kevbrin, V.V. (2004). Alcalithermophiles . *Biochem. Soc. Trans*. 32, 193-198.

Williams, S. T., Locei, R., Beswick, A., Kurtboke, D. L., Kurznetsov, V. D., Le Monnier, F. J. et al, (1993). Detection and identification of novel actinomycetes. *Resources of Microbiology*. 144:653-656.

Williams, S.T. and Davies, F.L. (1965). Use of antibiotics for selective isolation and enumeration of actinomycetes in soil. *J. Gen. Microbiol.* 38 : 251-261.

Wu, H., Lian, Y., Liu, B., Ren, Y., Qin, P., Huang, F. (2014b). *Thermotunica guangxiensis* gen. nov., sp. nov., isolé du compost de résidus de champignons . *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64: 1593-1599.

X

Xiliang, J. (1994). The mechanism of agricultural antibiotic. *Biol Control Aviso*.10 (2): 76–81.

Y

Yan, X., Yan, H., Liu, Z., Liu, X., Mo, H., Zhang, L. (2011). *Nocardiopsis yanglingensis* sp. nov., une souche thermophile isolée d'un compost de champignons de Paris. *Antonie van Leeuwenhoek*. 100 : 415-419.

Yang, C.H., Liu, W.H. (2008). Purification et propriétés d'une acétylxylane estérase de *Thermobifida fusca* . *Enzyme Microb. Technol*. 42 : 181–186.

Yamaki, T., Olikawa, T., Ito, K., Nakamura, T. (1997). Clonage et séquençage d'un gène de nitrile hydratase de *Pseudonocardia thermophila* JCM3095 . *J. Ferment. Bioeng*. 83 : 474–477.

Yan Chu, S. (1993). New developments of agricultural antibiotic pesticide.*Trans. (China).* 15 (6):5-12.

Yassin, F., Hupfer, H., Klenk, H.P., Siering, C. (2009).*Desmospora activa* gen. nov., sp. nov., a thermoactinomycete isolated from sputum of a patient with suspected pulmonary tuberculosis, and emended description of the family Thermoactinomycetaceae. *Int J Syst Evolution Microbiol*. 59: 454–459.

Yu, L., Lai, Q., Yi Z., Zhang, L., Huang, Y., Gu, L., *et al*. (2013). *Microbacterium sediminis* sp. nov., un actinomycète psychrotolérant, thermotolérant, halotolérant et alcalinolérant isolé des sédiments des grands fonds. *Int. J. Syst. Bacteriol* . 63, 25-30.

Z

Zarilla, K.A., Perry, J.J. (1984). *Thermoleophilum album* gen. nov. et sp. nov., une bactérie obligatoire pour les substrats thermophiles et n-alcanes . *Cambre. Microbiol*. 137 , 286-290.

Zeikus, J. G., Vieille, C., and Savchenko, A. (1998). Thermostructure-function relationships. *Extremophiles*. 2(3): pp. 179-183.

Zenova, G.M., Manucharova, N.A., Zvyagintsev, D.G. (2011). Actinomycètes extrémophiles et extrémotolérants dans différents types de sols. *Eurasian Soil Sci*. 44: 417–436.

Zhang, Yan-xin, Dong, C, Shen, B. (2007). Planifilum yunnanense sp. nov., a thermophilic thermoactinomycete isolated from a hot spring. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,57, 1851–1854.

Zhang, F. , Chen, J.J. Z. ,Renetal, W. (2011). Cloning,expression and characterization of an alkaline thermostable GH9 Endoglucanase from thermobiida halo tolerans YIM,90462T. *Bioresource Technology*.102(21): 10143–10146.

Zhaoqi, S., Xiaoyang, Z., Wenjun, L., Hongchen, J., Chuanlun, Z., Hailiang, D. (2009). Actinobacterial diversity in hot spring in Tengchong (China), Kamchatka (Russia), and Nevada (USA). *Geomicrobiology Journal*, 26(4): 256-263.

Zhou, E.M., Yang, L.L., Song, Z.Q., Yu, T.T., Nie, G.X., Ming, H., et al. (2012). *Thermocatellispora tengchongensis* gen. nov., sp. nov., un nouveau membre de la famille des *streptosporangiacées* . *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* . 62: 2417–2423.

Zoran, M., Valérie, S., Guy, H. (2006). Adaptation des organismes aux conditions extrêmes des sources hydrothermales marines profondes. *C. R. Biologies.* 329: 527-540.

Zucchi, T.D., Geok, Y.A.T., Goodfellow, M. (2011).Amycolatopsis thermophila sp. nov. and*Amycolatopsis viridis* sp. nov., thermophilic actinomycetes isolated from arid soil. *Int J Syst Evolution Microbiol*. 62(1): 168-172.

Zucchi, T.D., Geok, Y.A.T., Avinash, N.V.B., Sarah, F., Jenileima, D.K., Goodfellow, M. (2012).*Amycolatopsis granulosa* sp. nov., *Amycolatopsis ruanii* sp. nov. and *Amycolatopsis thermalba* sp. nov., thermophilic actinomycetes isolated from arid soils. *Int. J. Syst Evolution Microbiol*. 62(6): 1245-1251.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture

- **Actinomycete Isolation Agar (AIA)**

Sodium caseinate 2 g

L-Asparagine 0.1g

Sodium propionate 4 g

Dipotassium phosphate 0.5 g

Magnesium sulphate 0.1g

Ferrous sulphate 0.001g

Agar 15g

pH 8.2

- **Milieu Kenknight and Munaier**

Dextrose 1 g

Monopotassuim dihydrogene phosphate 0.1 g

Sodium Nitrate 0.1 g

Potassium chloride 0.1 g

Agar 15 g

Eau distillée 1000 ml

Ph 7.2

- **Starch Casein Agar (SCA)**

Amidon soluble 10g

Caséine 0,3g

K_2HPO_4 2 g

KNo_3 2g

$MgSO_4\ 7H_2O$ 0,05g

$FeSO_4\ 7H_2O$ 0,01g

$CaCo_3$ 0,02g

Agar 20g

pH 7,2

- **Milieu ISP1**

Tryptone 5g

Extrait de levure 3g

Agar 20g

Eau distillés 1000ml

pH 7,2

- **Milieu ISP2**

Extrait de malt 10g

Extrait de levure4g

Glucose 4g

Agar 20g

Eau distillée Qsp1000ml

Ph 7.2

- **Milieu ISP3**

Farine d'avoine 20 g.

Solution saline standard 10 ml.

Agar 20 g.

Eau distillée Q.s.p. 1000 ml.

PH 7,2.

Solution saline standard

FeSO4, 7H2O 0,1g.

MnC12, 4H2O 0,1g.

ZnSO4, 7H2O 0.1 g.

Eaudistillée Q.s.p100ml.

- **Milieu ISP4**

Amidon 10 g.

K2HPO4 1 g

MgSO4 7H2O 1 g.

NaCl 1 g.

(NH4)2SO4 2 g.

CaCO3 2 g.

Agar 20 g.

Eaudistillée Q.s.p. 1000ml

PH 7,2.

- **Glycérole asparagine agar (ISP5)**

Asparagine 1 g

Glycérol 10 g

K2HPO4 1 g

Solution d'oligo-éléments 1ml

Agar 20 g

Eau distillée Q.s.p..1000 ml.

PH 7,4

- **Milieu ISP7**

Glycérol 15 g

L-tyrosine 0, 5 g

L-asparagine1 g

K2HPO4 0, 5 g

MgSO4,7H2O0, 5 g

NaCl 0, 5 g

FeSO4, 7H2O 0, 01 g

Solution saline standard (voir ISP3) 1 ml

Agar 20 g

EaudistilléeQ.s.p1000 mL

PH 7,2.

- **MilieuISP9**

(NH4)2S042,64g

KH2PO4 2,38g

K2HPO4 5,65g

MgSO4, 7H2O 1g

Solution saline* 1 ml

Eau distillée 1000 ml

Agar 20g

pH 6,8-7

Solution saline

$CuSO_4,5H_2O$ 0,64g

$FeSO_4,7H_2O$ 0,11 g

$MnC_{12},4H_2O$ 0,79 g

$ZnSO_4,7H_2O$ 0.15 g

Eau distillée 1000 ml

- **Milieu amidon agar**

Peptone 10g

Extrait de viande 05g

Sodium chlorure 05g

Amidon de riz 10g

Agar 15g

PH 7

- **La solution de lugol**

Iodure de potassium 2g

Iode métalloide I_2 1g

Eau distillée 100ml

- **Milieu gélatine**

Peptone 10g

Extrait de viande 04g

Sodium de chlorure 2.5g

Gélatine 120g

PH 6.8 à 7

- **Milieu urée-indole**

L. tryptophane 3g

Phosphate monopotassique 1g

Phosphate bipotassique 1g

Chlorure de sodium 5g

Urée 20g

Rouge de phénol 0.025g

Alcol à 95° 0.01ml

PH 6.7

- **Milieu de Sierra au Tween 80**

Peptone 10g

Chlorure de sodium 5g

CaCl2 0.1g

Agar 15g

Après autoclavage ajouter 100ml d'une solution

Aqueuse à 10%de tween 80à 900 ml de milieu gélosé

- **Milieu gélose au lait**

Peptone pancréatique 10g

Extrait de viande 10g

Chlorure de sodium 5g

Agar 20g

Eau distillée1000ml

- **ISP additionné de CMC**

(Carboxyméthyl cellulose) CMC 10g

(NH4)2S042,64g

KH2PO4 2,38g

K2HPO4 5,65g

MgSO4, 7H2O 1g

Solution saline* 1 ml

Eau distillée 1000 ml

Agar 20g

pH 6,8-7

Solution saline

CuSO4,5 H2O 0,64g

FeSO4,7H2O0,11 g

MnC12,4H2O0,79 g

ZnSO4,7H2O 0.15 g

Eau distillée 1000 ml

- **Solution aqueuse de Rouge Congo à1%**

Rouge Congo 01 g

Eau distillée 100 ml

- **Bouillon nitraté**

Tryptone 10,0 g

Extrait de viande 5,0 g

Chlorure de sodium 5,0 g

Nitrate de soduim NaNO3 10 g

Eau distillée 1000ml

- **Pectine Agar**

Pectine 5 g

Extrait de levure 5 g

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

pH = 7,0

- **Gélose nutritive**

Tryptone 10,0 g

Extrait de viande 5,0 g

Chlorure de sodium 5,0 g

Agar 20 g

Eau distillée 1000ml

- **Milieu minimum: (Vandermess)**

KNO3 13, 76 g/l

KH2PO4 1, 78 g/l

Na2HPO4, 2H2O 4, 66 g/l

Na2SO4 9, 68 g/l

EDTA 10 mg/l

FeSO4, 7H2O 5 mg/l

MnCl2, 4H2O 1, 22 mg/l

ZnSO4, 7H2O 0, 25 mg/l

CuSO4, 5H2O 0, 2 mg/l

CaCl2, 2H2O 1 mg/l

Na2MoO4, H2O 0, 2 mg/l

pH 7

- **Milieu minéral minimum exempt de source d'azote (Bano et Mussarat, 2004)**

Na2HPO4 2, 1 g/l

MgSO4 0, 01 g/l

CaCl2.2H2O 0, 1 g/l

FeSO4.7H2O 0,001 g/l

CuSO4 0, 04 g/l

Na2MoO4 0,002 g/l

Glucose 1%

pH 7

Annexe 2

-Tableau représentant les caractéristiques culturales des isolats obtenus de la source thermale de Hammam Debagh sur les milieux ISP.

Caractéristiques des isolats		**Milieu ISP1**	**Milieu ISP2**	**Milieu ISP3**	**Milieu ISP4**	**Milieu ISP5**
Croissance	GA1	+	+++	++	+++	+++
	GA2	-	+++	+++	-	+++
	GA3	+	+++	+++	-	++
	GA4	-	+++	+++	++	+++
	GA5	+	++	+++	+++	+++
	GA3C	++	+++	+++	+++	+++
	GS1	++	+++	+++	+++	+++
	GS2	+	+++	+++	+++	+++
	GI3	++	+++	+++	+++	+++
	GI4	++	+++	+++	+++	+++
	G	+++	+++	+++	+++	+++
Sporulation	GA1	-	+++	++	+++	+++
	GA2	-	+++	+++	-	+++
	GA3	+	+++	+++	-	++
	GA4	-	+++	+++	+	+++
	GA5	-	++	+++	+++	+++
	GA3C	++	+++	+++	+++	+++
	GS1	+	+++	+++	+++	+++
	GS2	-	+++	+++	+++	+++
	GI3	++	+++	+++	+++	+++
	GI4	++	+++	+++	+++	+++
	G	++	++	++	+++	+++
	GA1	Blanc	Blanc-vert	vert	blanc	Blanc-vert

Couleur du mycélium aérien	GA2	-	Blanc. Vert claire	Vert foncé	-	Blanc vert foncé
	GA3	Blanc	Blanc vert	Vert foncé	-	Blanc vert
	GA4	-	Blanc	Blanc vert	verdâtre	Blanc vert
	GA5	Blanc	Blanc	Blanc vert	Blanc vert	Blanc vert
	GA3C	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	GS1	Blanc	Blanc vert foncé	Vert foncé	Blanc vert foncé	Blanc vert foncé
	GS2	Blanc	Blanc vert foncé	Vert foncé	Blanc vert foncé	Blanc vert
	GI3	Blanc	Blanc vert	Vert foncé	Blanc vert foncé	Blanc vert foncé
	GI4	Blanc	Blanc vert	Vert foncé	Blanc vert foncé	Blanc jaunâtre
	G	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
Couleur du mycélium du substrat	GA1	Blanc	Transparent	Blanc	Blanc	Blanc
	GA2	-	Blanc	vert	-	Blanc vert
	GA3	Transp.	Blanc	Blanc	-	Blanc
	GA4	-	Transp.	Transp.	Transp.	Transp.
	GA5	Transp.	Transp.	Transp.	Transp.	Transp.
	GA3C	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	GS1	Blanc	Blanc	Vert	Blanc	Blanc
	GS2	Blanc	Blanc	Vert	Vert	Blanc
	GI3	Transp.	Transp.	Blanc	Blanc	Blanc
	GI4	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	G	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc

(+) : faible, (++) : moyenne, (+++) : bonne, (-) : absence

-Tableau représentant les caractéristiques culturales des isolats obtenus de la source thermale de Hammam Tleghma sur les milieux ISP.

Caractéristiques des isolats		**Milieu ISP1**	**Milieu ISP2**	**Milieu ISP3**	**Milieu ISP4**	**Milieu ISP5**
	TA1	+	+++	++	+++	+
	TA3	+	+++	++	+++	+++
	TA4	+++	+++	+++	+++	+++
	TA5	+	+++	++	+++	+++
	TA6	+++	+++	++	++	++
	TA10	-	+++	+++	+++	+++
	TA12	+	+++	++	+++	+++
	TS1	-	+++	+	+++	-
	TS2	-	+++	+	++	-
	TS3	+	+++	++	+++	+++
	TS4	+	+++	++	+++	+++
	TS6	-	++	-	++	+++
	TS8	-	+++	-	+++	+++
Sporulation	TA1	-	+++	++	+++	-
	TA3	+	+++	++	+++	+++
	TA4	++	+++	+	+++	+++
	TA5	+	+++	++	+++	+++
	TA6	+++	+++	++	+++	+++
	TA10	-	+++	+++	+++	++
	TA12	+	+++	+	+++	+++
	TS1	-	++	+	+++	-
	TS2	-	+++	+	++	-
	TS3	+	+++	++	+++	+++
	TS4	+	+++	++	+++	+++
	TS6	-	+++	-	++	++

	TS8	-	++	-	++	+++
Couleur du mycélium aérien	TA1	blanc	Blanc vert claire	Blanc vert	Blanc vert	-
	TA3	blanc	Marron	Blanc-marron	Blanc-marron	Blanc-marron
	TA4	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	TA5	blanc	Marron	Blanc-marron	Blanc-marron	Blanc-marron
	TA6	blanc	Blanc	blanc	blanc	Blanc
	TA10	-	Blanc- bleu vert	Blanc vert foncé	Blanc vert	Blanc
	TA12	Blanc-jaune	Blanc-jaune	Blanc-jaune	Blanc-jaune	Blanc-jaune
	TS1	-	Blanc	Vert foncé	Blanc vert	-
	TS2	-	Blanc vert	Vert foncé	Blanc vert	-
	TS3	vert	Vert foncé	Vert foncé	Vert foncé	Blanc
	TS4	blanc	Blanc	blanc	blanc	Blanc
	TS6	-	Blanc-vert	-	Blanc-vert	Blanc-vert
	TS8	-	Blanc	-	blanc	Blanc
Couleur du mycélium du substrat	TA1	Transp.	Marron	Marron	beige	-
	TA3	marron	Marron	marron	marron	Marron
	TA4	blanc	Marron.	beige	marron	Blanc
	TA5	marron	Marron	marron	marron	Marron
	TA6	transp	Transp	transp	transp	Transp
	TA10	-	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	TA12	blanc	Blanc	Blanc	blanc	Blanc
	TS1	-	Marron	Vert foncé	Blanc crème	-
	TS2	-	Blanc	Vert	Blanc	-
	TS3	vert	Vert	Blanc-vert	vert	Blanc
	TS4	blanc	Blanc	blanc	blanc	Blanc
	TS6	-	Blanc	-	blanc	Blanc
	TS8	-	Blanc	-	blanc	Blanc

-Tableau représentant les caractéristiques culturales des isolats obtenus de la source thermale de Hammam Beniharoune sur les milieux ISP.

Caractéristiques des isolats		**Milieu ISP1**	**Milieu ISP2**	**Milieu ISP3**	**Milieu ISP4**	**Milieu ISP5**
Croissance	BA1	+	+++	++	+++	+++
	BA2	++	+++	+++	+++	+++
	BA3	++	+++	+++	+++	+++
	BS2	++	+	++	+++	+++
	BIT1	+	+++	+	+	++
	BIO	+	+++	++	++	++
	BI3	++	+++	+++	+++	+++
	BI4	-	+++	+	++	++
	BI5	-	+	++	++	++
	BKM	++	+++	+++	+++	+++
	BK8	++	++	+++	+++	+++
Sporulation	BA1	-	+++	+	++	++
	BA2	++	+++	+++	+++	+++
	BA3	++	+++	+++	+++	+++
	BS2	++	++	++	++	++
	BIT1	-	+++	+	+	++
	BIO	-	++	+	+	-
	BI3	+	+++	+++	+++	+++
	BI4	-	-	-	-	-
	BI5	-	-	-	-	-
	BKM	++	+++	+++	+++	+++
	BK8	+	++	++	+	+
Couleur du	BA1	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	BA2	Gris noir	Blanc gris	Vert foncé	Blanc gris	Blanc vert
	BA3	Blanc-gris	Blanc-gris	vert	Blanc-gris	Blanc-gris-

mycélium aérien						vert
	BS2	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	BIT1	Blanc	Blanc vert jaune	Blanc vert	Blanc	Vert
	BIO	Orangé	Orangé	Orangé	Orangé	Orange
	BI3	Blanc	Blanc-gris	Blanc-gris	Blanc-gris	Grise
	BI4	-	Jaune-orangé	Orangé	Orangé	Orangé
	BI5	Orangé	Orangé	Orangé	Orangé	Orangé
	BKM	Jaune-marron	Jaune-vert	Vert foncé	Jaune-vert	Vert-jaune
	BK8	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
Couleur du mycélium de substrat	BA1	Transp.	Transp.	Transp.	Transp.	Transp.
	BA2	Blanc	Blanc	Vert	Blanc	Vert
	BA3	Blanc	Blanc	Vert	Blanc	Vert
	BS2	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	BIT1	Transp.	Blanc	Transp.	Transp.	Transp.
	BIO	Orangé	Orangé	Orangé	Orangé	Orange
	BI3	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	BI4	-	Jaune-orangé	Orangé	Orangé	Orange
	BI5	Orangé	Orangé	Orangé	Orangé	Orangé
	BKM	Jaune	Blanc	Vert	Jaune	Vert
	BK8	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc

-Tableau représentant lescaractéristiques culturales des isolats obtenus de la source thermale de Hammam El Salihine sur les milieux ISP.

Caractéristiques des isolats		**Milieu ISP1**	**Milieu ISP2**	**Milieu ISP3**	**Milieu ISP4**	**Milieu ISP5**
	SEA	++	+++	++	+++	+++
	SA6	-	++	-	+++	++
	SSS1	+++	+++	+++	++	+++
	SS1	++	++	++	+++	+++

Croissance	SS2	+++	+++	++	+++	+++
	SSI	+	+++	+	+++	+++
	SI8	-	++	+	++	++
	SKM	+++	+++	+++	+++	+++
Sporulation	SEA	++	+++	+	++	+++
	SA6	-	++	-	+	++
	SSS1	+++	+++	+++	+	+++
	SS1	+	++	+	+++	+++
	SS2	++	+++	+	++	++
	SSI	-	+++	-	+++	+++
	SI8	-	++	-	++	++
	SKM	++	+++	+++	+++	+++
Couleur du mycélium aérien	SEA	Blanc-vert	Blanc-vert	Blanc-vert	Blanc-vert	Blanc-vert
	SA6	-	Blanc	-	Blanc	Blanc
	SSS1	Blanc	Blanc	Blanc-gris	Blanc-gris	blanc
	SS1	Blanc-gris	Blanc-gris	gris	Blanc	gris
	SS2	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	SSI	Blanc	Blanc jaune	Blanc	Blanc jaune	Crème
	SI8	-	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	SKM	Gris	Gris	Blanc-gris	Gris	Gris
Couleur du mycélium du substrat	SEA	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	SA6	-	Blanc	-	Blanc	Blanc
	SSS1	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	SS1	Transp	Transp	Transp	Transp	Transp
	SS2	Transp	Transp	Transp	Transp	Transp
	SSI	Transp	Marron	Transp	Blanc jaune	Marron
	SI8	-	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	SKM	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc

-Tableau représentant les caractéristiques culturales des isolats obtenus de la source thermale de Hammam Knif sur les milieux ISP.

Caractéristiques des isolats		**Milieu ISP1**	**Milieu ISP2**	**Milieu ISP3**	**Milieu ISP4**	**Milieu ISP5**
Croissance	KS2	++	+++	+	+++	+++
	KS5	+++	+++	-	+++	+++
	KM2	++	+++	-	++	+++
Sporulation	KS2	+	+++	+	++	+++
	KS5	++	+++	-	++	++
	KM2	+	+++	-	+	+++
Couleur du mycélium aérien	KS2	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	KS5	Blanc	Blanc vert	-	Blanc	Gris- vert
	KM2	Blanc	Blanc-gris	-	Blanc	Blanc-gris
Couleur du mycélium du substrat	KS2	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc
	KS5	Blanc jaune	Blanc jaune	-	Blanc jaune	Blanc
	KM2	Blanc	Blanc	-	Blanc	Blanc

-Tableau représentant les caractères physiologiques et biochimiques des isolats d'actinobactéries

Code isolat	Interval de Temperature (°C) et optimum	Interval de pH et (optimum)	Interval de NaCl (w/v) et Optimum (%)	Pigments pigments	Catalase	oxydase	Utilisation des sucres							
							D-glu.	D-fru.	D-lac.	L-ara	D-man.	Malt	saccharose	glycérol
BA1	20-60 (45-50)	5 – 10 (7.0 – 9.0)	0 – 3.0 (0 – 1.0)	-	+	+	+	+	-	.-	+	+	+	+
BA2	20 – 60 (50)	4.0 – 11.0 (7.5 – 9.0)	0 – 5.0 (0 – 3.0)	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
BA3	20 – 60 (55 – 60)	4.0 – 10.0 (5.0 – 8.0)	0 – 5.0 (0 – 3.0)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+

BS2	20 – 40 (30)	3.0 – 10.0 (4.0 -7.5)	0 – 2.0 (0)	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BIT1	10 – 60 (40)	3.0 – 10.0 (4.0 – 7.0)	0 – 4.0 (0 – 2.0)	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
BIO	20 – 60 (45)	6.0 – 10.0 (7.0 – 7.5)	0 (0)	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
BI3	20 – 60 (40 – 50)	6.0 – 9.0 (7.0 – 8.0)	0 – 2.0 (0 – 1.0)	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
BI4	20 – 60 (45 – 50)	6.0 – 10.0 (7.0 – 8.0)	0 – 2.0 (0 – 1.0)	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
BI5	10 – 60 (40 – 45)	6.0 – 10.0 (6.5 – 7.5)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
BKM	10 – 50 (30)	6.0 – 11.0 (8.0)	0 (0)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
BK8	10 – 60 (30 – 35)	6.0 – 10.0 (7.0 – 8.0)	0 – 3.0 (1.0 – 2.0)	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
GA1	35 – 60 (55)	5.0 – 10.0 (6.0 – 7.0)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+
GA2	20 – 70 (50 -60)	5.0 – 11.0 (7.0 – 9.0)	0 – 2.0 (0 – 1.0)	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+
GA3	35 – 65 (55- 60)	4.0 – 10.0 (6.0)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+
GA4	20 – 60 (40 – 45)	4.0 – 8.0 (5)	0 (0)	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
GA5	20 – 60 (30 – 40)	4.0 – 9.0 (5)	0 (0)	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+
GA3 C	10 – 60 (40 - 45)	5.0 – 10.0 (8.0)	0 – 3.0 (1.0)	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
GS1	10 – 60 (40)	6.0 – 11.0 (6.5 – 8.0)	0 – 4.0 (1.0)	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+
GS2	10 – 50	4.0 – 9.0	0 – 3.0	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+

	(30)	(5.0)	(1.0 – 2.0)											
GI3	10 – 50 (30)	4.0 – 10.0 (5.5 – 6.5)	0 – 2.0 (0)	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
GI4	20 – 70 (50 – 55)	4.0 – 10.0 (5.5 – 7.0)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
G	10 – 60 (40 - 45)	5.0 – 10.0 (8.0)	0 – 3.0 (0 - 1.0)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
SA6	10 - 50 (40)	6.0 – 10.0 (7.0 – 8.0)	0 – 3.0 (0 – 1.0)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SEA	10 – 60 (45)	6.0 – 9.0 (7.5)	0 – 2.0 (0)	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
SSS1	20 – 60 (45 – 50)	4.0 – 11.0 (6.0 – 8.0)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
SS1	20 – 50 (40)	5.0 – 10.0 (6.0 – 7.0)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
SS2	10 – 60 (45)	5.0 – 10.0 (7.0 – 8.0)	0 – 2.0 (1.0)	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
SSI	10 – 70 (55)	4.0 – 10.0 (5.0 – 6.0)	0 – 3.0 (0 – 1.0)	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+
SI8	10 – 40 (30)	6.0 – 10.0 (8.0)	0 – 3.0 (0 – 2.0)	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
SKM	10 – 50 (30)	5.0 – 10.0 (7.5)	0 – 2.0 (1.0)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
KS2	20 – 60 (45)	4.0 – 9.0 (6.0)	0 – 2.0 (0)	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
KS5	20 – 70 (50 – 55)	4.0 – 10.0 (5.5 – 7.0)	0 – 1.0 (0)	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
KM2	20 – 60 (40 – 45)	5.0 – 10.0 (6.0 – 8.0)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
TA1	20-55 (40)	4-11 (7)	0 – 2.0 (1)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+

TA3	10-70 (55-60)	5-11 (9)	0 – 2.0 (0)	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
TA4	20-70 (55-60)	6-11 (10)	0 – 2.0 (0)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
TA5	20-60 (45-55)	5-11 (8)	0 – 3.0 (0 – 2.0)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TA6	10-65 (45)	6-11 (8)	0 – 2.0 (0)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TA10	20-55 (40)	5-11 (7)	0 – 2.0 (0)	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
TA12	20-55 (40)	5-11 (7)	0 – 2.0 (1)	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
TS1	20-60 (45)	5-9 (6)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
TS2	10-60 (45)	5-9 (7)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TS3	20-65 (55)	4-10 (6)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TS4	20-55 (35)	5-10 (7)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
TS6	20-65 (45)	4-10 (6)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
TS8	20-65 (55)	5-11 (8)	0 – 1.0 (0)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tableau représentant la production d'enzymes à différentes températures par les isolats d'actinobactéries

Code des isolats	Activité enzymatique																			
	Gélatinase				Caséinase				Esterase				lécithinase				Cellulase			
	30°C	45°C	55°C	60°C	30°C	45°C	55°C	60°C	30°C	45°C	55°C	60°C	30°C	45°C	55°C	60°C	30°C	45°C	55°C	60°C
BA1	_	_	_	_	_	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	+	+	+	_	_
BA2	+	_	_	_	+	+	+	+	+	+	+	_	_	_	+	+	+	+	_	_
BA3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	+	_	+	+	+	_	+	_	_	_
BS2	+	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_
BIT1	+	+	+	_	+	+	+	_	_	+	_	+	+	+	+	_	+	+	_	_
BIO	_	+	+	+	+	+	+	_	+	_	_	_	_	_	_	_	+	+	+	+
BI3	+	+	_	_	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	+
BI4	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	_	_
BI5	+	+	_	_	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	+	_
BKM	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_
BK8	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	_	_	_	_	_	_
GA1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	+	+
GA2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	_	_	+	+	+	_
GA3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	_	_	_	_	+	+	+	+
GA4	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_
GA5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	+	_
GA3C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	_	+	+	_	_
GS1	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	_	+	_	_	_	+	+	_	_
GS2	_	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_
GI3	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_
GI4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G	+	_	_	_	+	_	_	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	+
SA6	+	+	_	_	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	_	+	+	_	_
SEA	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	_	+	_	_	_	+	+	+	+
SSS1	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	+	_

SS1	+	+	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_
SS2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	_	_
SSI	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	+	+
SI8	_	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	_	_	_	_				
SKM	+	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_
KS2	+	+	+	_	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	_	+	+	_	_
KS5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	_	_	+	+	_	_
KM2	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_
TA1	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_
TA2	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	+	_	_	_	_	_	+	_	_	_
TA3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	_	+	+	+	+
TA4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	_	_	_	+	+	+	+
TA5	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_	+	+	+	_
TA6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	_	_
TA10	_	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_
TA12	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	_
TS1	+	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_
TS2	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	_	_
TS3	+	+	+	_	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_
TS4	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	_	_
TS6	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	+	_	+	_	_	_	+	+	_	_
TS8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_

Code des isolats	Activité enzymatique															
	Lipoprotéinase				Pectinase				Uréase				Indol				Nitrate réductase			
	30°C	45°C	55°	C60°C	30°C	45°C	55°	C60°C	30°C	45°C	55°C	60°C	30°C	45°C	55°	C60°C	30°C	45°C	55°C	60°C
BA1	_	+	+	_	_	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_
BA2	_	_	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_
BA3	+	+	+	_	_	_	_	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	_	_
BS2	+	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_

BIT1	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	_
BIO	_	_	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_
BI3	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_
BI4	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	+	_
BI5	+	+	_	_	_	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_
BKM	+	+	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_
BK8	+	+	_	_	+	+	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_
GA1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	_
GA2	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	+
GA3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_
GA4	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GA5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	+	+
GA3C	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	_	_	_	_	_	_	+	+	+	_
GS1	+	+	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	+	+
GS2	_	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_
GI3	+	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_
GI4	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	+
G	+	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	_	_
SA6	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_
SEA	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	+	+
SSS1	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_
SS1	+	+	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_
SS2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	+	_
SSI	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SI8	_	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_
SKM	+	_	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_
KS2	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_

KS5	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	_	+	_	_	_	+	+	+	_
KM2	+	+	_	_	_	_	_	_	+	+	_	_	_	_	_	_	+	_	_	_
TA1	+	+	_	_	+	+	+	_	+	_	_	_	+	+	+	_	+	+	_	_
TA2	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_	_	_	_	_	+	_	_	_
TA3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	_
TA4	+	+	+	+	+	+	_	_	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+	+	_
TA5	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_
TA6	+	+	+	+	+	_	_	_	_	_	_	_	+	_	_	_	+	+	+	+
TA10	_	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_
TA12	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	_
TS1	+	_	_	_	_	_	_	_	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	+	_
TS2	+	+	+	_	+	+	+	_	+	+	_	_	+	+	+	_	+	+	+	+
TS3	+	+	+	_	_	_	_	_	+	_	_	_	_	_	_	_	+	+	+	+
TS4	+	+	_	_	+	+	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_	+	_	_	_
TS6	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_	+	+	+	+
TS8	+	+	+	+	_	_	_	_	+	_	_	_	+	+	_	_	+	+	_	_

Tableau représentant l'hydrolyse de l'amidon par les isolats d'actinobactéries à différentes températures

Code des actinobacteries	Amylase				Code des actinobacteries	Amylase				Code des actinobacteries	Amylase			
	30°C	45°C	55° C	60°C		30°C	45°C	55°C	60°C		30°C	45°C	55° C	60°C
BA1	+	+	_	_	GA1	+	+	+	+	TA1	_	_	_	_
BA2	+	+	+	_	GA2	+	+	+	+	TA2	+	+	_	_
BA3	+	+	+	_	GA3	+	+	_	_	TA3	+	+	+	+
BS2	+	_	_	_	GA4	+	+	+	+	TA4	+	+	+	+
BIT1	+	+	+	+	GA5	+	+	+	+	TA5	+	+	+	_
BIO	+	+	+	_	GA3C	+	+	+	_	TA6	+	+	+	_

BI3	_	_	_	_	GS1	+	+	_	_	TA10	+	+	+	_
BI4	+	+	+	_	GS2	+	_	_	_	TA12	+	+	+	_
BI5	+	+	_	_	GI3	+	_	_	_	TS1	+	_	_	_
BKM	+	_	_	_	GI4	_	_	_	_	TS2	+	_	_	_
BK8	+	+	_	_	G	+	+	_	_	TS3	+	+	+	_
SA6	+	_	_	_	SI8	+	_	_	_	TS4	+	+	+	_
SEA	+	+	+	_	SKM	_	_	_	_	TS6	+	+	_	_
SSS1	+	+	_	_	KS2	+	+	_	_	TS8	+	+	+	_
SS2	+	+	_	_	KS5	+	+	+	+	SS1	+	_	_	_
SSI	+	+	+	+	KM2	+	+	_	_					

Tableau représentant l'activité amylolytique à 55°C des isolats d'actinobactéries

	Isolats																					
Activité amylolytique	BA2	BA3	BIT1	BIO	BI4	SEA	SSI	GA1	GA2	GA4	GA5	GA3C	KS5	TA3	TA4	TA5	TA6	TA10	TA12	TS3	TS4	TS8
	2	6	0.2	0.5	2	4	15	10	18	17	13	5	10	110.33	224	20	12	16	23	13	48	15

-Tableau représentant l'utilisation des pesticides par les isolats d'actinobactéries dans les deux milieux de culture minimum.

souches	fongicide Tachigazole		fongicide Teldor ®		insecticide Rustile		insecticide Deltamight 2,5 EC		insecticide Karateka		Prowl aqua		herbicide Zoom		herbicide Granstar 75DF		herbicide Glyphosate	
Mlieux de cultures	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
BA1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BA2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
BA3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BS2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

BIT1	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
BIO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BI3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BI4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BI5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BKM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BK8	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA1	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA3	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
GA4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
GA5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
GA3C	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
GS1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
GS2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GI3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
GI4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SA6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SEA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
SSS1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
SS1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
SS2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
SSI	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SI8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SKM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
KS2	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
KS5	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+
KM2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TA1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TA2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
TA3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
TA4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TA5	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
TA6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
TA10	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
TA12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
TS1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TS2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TS3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
TS4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TS6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TS8	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

+ : dégradation de pesticide par les actinobactéries, - : absence de dégradation

Courbe d'étalonnage du glucose :

Préparer la solution mère du glucose à 1g/l :

- Dissoudre 1g du glucose dans 1 litre d'eau distillée ;

- Préparer les dilutions : 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 et 90 ml de solution Mère

et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée ;

N° du tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Le volume prélevé	10	20	30	40	50	60	70	80	90
Le volume total	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Concentrations	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9

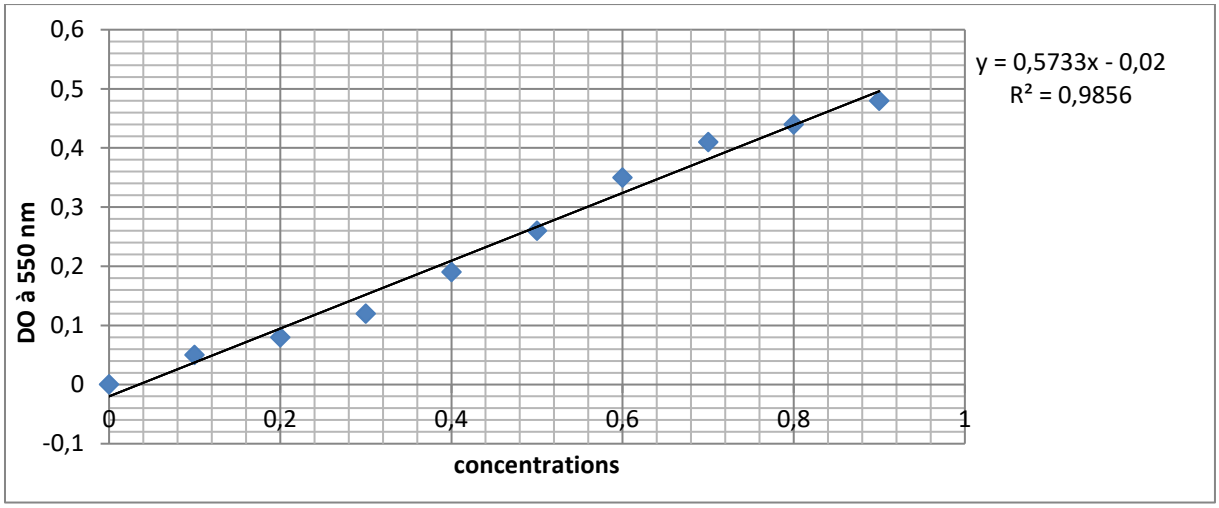
Dans des tubes à essai, prendre 1 ml de chaque dilution et 3 ml du réactif DNSA.

- Faire bouillir pendant 5 min dans un Bain-marie à 90 °C ;

- Refroidir les tubes avec l'eau de robinet pendant 3 min ;

- Mesurer l'absorbance à 540 nm en utilisant un spectrophotomètre ;

- Tracer la courbe d'étalonnage.



VALORISATION DES TRAVAUX DE THESE

Publications Scientifiques

Lefaida Cherifa, Medjemadj Meissa, Ataç Uzel, Boudemagh Allaoueddine. THERMOPHILIC ACTINOBACTERIA ISOLATED FROM TLEGHMA HOT SPRING: A POTENTIAL SOURCE OF THERMOSTABLE α-AMYLASE. *carpathian journal of food science and technology*. 2023.15(4).168-182.

Communications scientifiques

Lefaida Cherifa, Boudemagh allaoueddine. Isolation ; preliminary identification and study of some enzymatic abilities of actinobacteria. VIIeme congres international of biotechnology and valorisation des bioressources. Du 20-23 ars 2019. Tabarka.Tunisie. Présentation affichée.

Lefaida Cherifa, Medjemadj Maissa, Boudemagh allaoueddine. Les Actinobactéries thermophiles isolées à partir d'une eau thermale Algérienne : une source d'alpha amylase thermostable. Journées scientifiques nationales sur les enzymes à applications biotechnologiques en Algérie (JSNEABA).Du 20 au 22 Décembre 2020. Constantine. Présenation affichée.

Lefaida Cherifa, Rebai Hadjer, Boudemagh allaoueddine. BIODIVERSITE DES ACTINOBACTERIES ISOLEES A PARTIR DE SOURCES THERMALES DE L'EST ALGERIEN. 06 et 07 Décembre 2023. Skikda. Présentation affichée.

Lefaida Cherifa, Rebai Hadjer, Boudemagh allaoueddine. Les actinibactéries thermophiles isolées de quelques eaux thermales de l'est Algérien sont une source potentielle d'enzymes à intérêt industriel. 1er séminaire national sur : la valorisation des ressources biologiques naturelles. 30 Mars 2022. Sétif. Présentation affichée.

Lefaida Cherifa, Rebai Hadjer, Boudemagh allaoueddine. Actinobactéries thermophiles isolées à partir des eaux thermales présentant des aptitudes métaboliques de biodégradation de certains pesticides. 1st IS-ARFSHE23. 17-18 Décembre 2023. Annaba. Présentation affichée.

Rebai Hadjer, **Lefaida Cherifa,** Boudemagh allaoueddine. Biodégradation de l'insecticide de cis 25ec par des actinobactéries isoles à partir des sols agricoles dans les villes d'el-oued et de Ouargla. 1er Séminaire National sur L'Agriculture Durable et la Biodiversité. 11 et 12 Mai 2022. Skikda. Présentation affichée.

Rebai Hadjer, **Lefaida Cherifa,** Boudemagh allaoueddine. Isolation from agricultural soils of El-Oued and Ouargla (Algeria) of autochthonous actinobacteria able to degrade the insecticide decis25 ec. Séminaire International sur la Biodiversité, Environnement et Santé. 21 et 22 Septembre 2021. Tlemcen. Présentation affichée.

LEFAIDA Cherifa Soutenue le: 00/00/2024

Thème : ***Biodiversité des actinobactéries isolées à partir des eaux thermales de certaines régions de l'Algérie et étude de quelques aptitudes métaboliques***

Résumé :

46 souches d'actinobactéries ont été isolées à partir de cinq sources thermales situées dans l'est Algériens.Des milieux sélectifs (AIA, SCA et ISP5) additionnés par un antifongique et un antibactérien contre les bactéries Gram négatif, ont été utilisés dans ce travail. La caractérisation morphologique par techniques culturales, observationsmicroscopiques(état frais, coloration de Gram, technique de culture sur lamelle) et par microscopie électronique à balayage),a été téalisée sur l'ensemble des isolats sélectionnés. Des études physiologiques biochimiques, ont été également réalisées sur ces bactéries. Le séquençage du gène de l'ARNr16S, a permi d'identifier nos isolats et de les assigner aux genres : *Streptomyces, Thermoactinomyces, Rhodococcus* et *Gordonia*. L'étude métabolique concernant les activités enzymatiques de l'ensemble des isolats nous a permi de detecter plusieurs activités enzymatiques hydrolytiques à savoir (les amylases, les protéases,lespectinases,les lécithinases,les lipases,les cellulases et bien d'autres). Ces enzymes ont montré des activités à des températures élevées de 50, 55 et 60°C. Ces résultats montrent clairement que ces écosystèmes sont peuplés d'actinobactéries producteurs d'enzyme hydrolytiques thermostables.La capacité des isolats à biodégrader certains pesticides(Tachigazole, Teldor, Rustile, Deltamight, Karateka, Prowl aqua, Zoom, Granstar et le glyphosatea été testés sur ces actinobactéries. Les résultats montrent que la plus part de ces bactéries sont capable de dégrader au moins un pesticide. Nous avons testé dans ces travaux, la capacité de biodégradation du tartre dentaire par ces bactéries. Les résultats innovants montrent qu'une souche identifiée moléculairement GA3C (*Streptomyces cavourensis*), est capable dedégrader le tartre dentaire. Des essais préliminaires montrent aussi que le produit secrété par cet actinobactérie est sans effet négatif sur la flore buccale. Les tests réalisés sur les rats de laboratoire n'indiquent aucun effet toxique sur ces animaux. Ces résultats sont très encourageants et montrent d'abord, que les actinobactéries sont présents dans ces sources d'eaux chaudes. Ces bactéries sont des producteurs d'enzymes thermostables très demandées en biotechnologie. Finalement, plusieurs de ces actinobactéries ont des aptitudes métaboliques très intéressantes.

Mots clés : Biodiversité, actinobactéries; enzymes thermostables; biodégradations.

Membres du Jury :

Président :	KITOUNI Mahmoud	Pr. Univ. Constantine 1 FM
Directeur de thèse :	BOUDEMAGH Allaoueddine	Pr. Univ. Constantine 1 FM
Examinateurs :	BENHIZIA Yacine	Pr. Univ. Constantine 1 FM
	CHERIF SILINI Hafsa	Pr. UFA sétif 1
	SILINI Alaoua	Pr. UFA sétif 1
	HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid	Pr. Univ. Abbas Laghrour Khenchela

2023-2024