

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Ghardaia



Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre
Laboratoire de Valorisation et Conservation des Ecosystèmes Arides-LVCEA

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Science biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par : Moulay Omar Ikram Wafaa

Zahouani Ibtissam

Thème

**Recherche dans des sols sahariens d'actinobactéries
possédant des activités antifongiques**

Soutenu publiquement, le 12/ 05/ 2024, devant le jury composé de :

M. DJELLID Youssef	Maitre-Assistant A	Univ. Ghardaïa	Président
M. BELGHIT Said	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaïa	Directeur de mémoire
M. BOURAS Noureddine	Professeur	Univ. Ghardaïa	Examineur 1

Année universitaire : 2023-2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah Tout-Puissant pour Sa guidance et Son soutien dans l'accomplissement de notre travail de recherche. Nous tenons à exprimer notre plus profonde gratitude au Dr. Belghit Saïd, qui a accepté de superviser notre mémoire de master. Son précieux temps accordé à notre projet de recherche a été d'une grande valeur. Que Dieu le récompense de la meilleure rétribution. Nous tenons également à remercier chaleureusement les membres du comité d'évaluation, Pr. Bouras Noureddine et Dr. Djellid Youssef, d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

Comme on dit : "Celui qui ne remercie pas les gens, ne remercie pas Allah." Nous tenons à exprimer notre gratitude envers Dr. Mahamedi Alaa Eddine pour sa contribution précieuse dans divers domaines, qui a grandement enrichi notre recherche. Nous remercions également Dr. Ider Sofiane pour son apport en connaissances.

Nous tenons à remercier également Dr. Alioua Youcef directeur du laboratoire de recherche valorisation et conservation des écosystèmes pour son aide et qui nous a donné la possibilité de travailler au sein de son laboratoire

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude envers tous les ingénieurs de laboratoire : Bashir Ben Saleh, Bachir Moulay Abdellah, Hicham Ben Hamouda, Ahlam Zahouani, et Nadjat Hadj Omar, pour leur soutien continu, ainsi que pour leur fourniture d'outils et de matériaux essentiels à la réussite de notre travail de recherche.

Dédicase

Et la fin de leur invocation : « Louange à Allah, Seigneur de l'Univers ».

Grâce à Dieu qui m'a donné la force et la volonté, j'arrive enfin à la fin de ce parcours scolaire après douze ans d'efforts et de travail acharné. Je ressens une profonde gratitude pour chaque jour passer et pour chaque effort fourni, qui ont finalement conduit au succès et à l'accomplissement. Chaque goutte de sueur et chaque moment de veille méritent d'être loués et remerciés. Maintenant, en atteignant ce point, je ne peux que ressentir de la joie et de la satisfaction, avec la certitude que tout en valait la peine. Que cet accomplissement soit un tournant dans mon parcours, non seulement sur le plan académique mais dans la vie en général. Ce n'est pas la fin, mais le début d'un nouveau chapitre de défis et de succès. Avec fierté, amour et gratitude, je dédie le fruit de mon succès à : Moi-même, qui ai persévéré et n'ai jamais connu l'abandon, qui ai travaillé dur et veillé de longues nuits pour atteindre le succès. Je suis fier de moi et de ce que j'ai accompli tout au long de mon parcours scolaire, comme Allah a dit : « Et dis : "Agissez ; Allah verra vos actions, ainsi que Son Messager et les croyants. Et vous serez ramenés vers le Connaisseur de l'invisible et du visible. Alors Il vous informera de ce que vous faisiez." »

À celui qui m'a soutenu sans limites et m'a donné sans contrepartie, mon pilier et ma fierté après Allah : mon père.

À celle sous les pieds de qui Allah a placé le Paradis et qui a été à mes côtés dans chaque épreuve, ma force et mon refuge : ma mère.

À mes mentors, guides éclairés dans le labyrinthe académique, vos conseils avisés ont été des phares dans la nuit, éclairant le chemin vers la clarté intellectuelle.

À mes frères et sœurs, source inépuisable d'amour et de soutien, vous avez été mes piliers : Hoda, Fatna, Hadjer, Abd al-Raouf, Abd al-Aziz.

À mes compagnons de cœur, ceux qui ont marché à mes côtés et m'ont encouragé à avancer : Sabrina, Hanane, Ahmed, Hedaya, Hoda,

À ma camarade de voyage, ma collègue : Ikram

Ibtissam

Dédicace

À celui qui a dit "Je suis prêt à relever le défi, et même si elle refuse, je l'emporterai malgré elle". Grâce à Dieu, aujourd'hui, le rêve d'enfance se réalise et des années de dur labeur sont couronnées par la victoire. C'est grâce à la bénédiction de mon Seigneur que je suis arrivée ici. Ce n'était pas facile, mais ce fut un long voyage. Un voyage de connaissances qui m'a beaucoup appris. Et aujourd'hui, je me tiens au sommet.

Je dédie mon mémoire de fin d'études à :

Moi-même, cette grande dirigeante qui n'a jamais abandonné et pour qui la résignation n'a jamais été une option. Je suis fière de moi, fière d'avoir surmonté tous les obstacles et difficultés, et d'avoir appris de mes erreurs. Fière de ma persévérance à ouvrir des portes fermées face à moi, et finalement, elles se sont ouvertes et j'ai obtenu ce que je voulais. Mon seul moteur intérieur était que j'ai pris la voie de la connaissance pour que Dieu m'élève en degrés et pour enrichir mon savoir, comme Il a dit, "Et dis : Seigneur, accrois-moi en savoir".

Ce voyage ne sera pas mon dernier dans la vie, mais il est une porte vers des succès futurs. Aujourd'hui, je lève mon chapeau en signe de salut et de fierté pour moi et pour mes parents. À ma famille qui a été mon deuxième pilier et ma source de force.

À ma mère : le phare et la bougie de ma vie qui m'éclaire de sa lumière, me guide vers la droiture et illumine mon chemin.

À mon père : mon pilier protecteur et ma sécurité dans ce monde. Ô mes parents, Dieu m'a comblée par vous, êtes-vous satisfaits de moi ?

À mes sœurs : vous avez été des roses dans ma vie, chacune avec son baume et sa touche, j'ai toujours vu les regards de réussite dessinés dans vos yeux. (Jihad, la petite mère au grand cœur tendre / Chaïma, généreuse en tout temps / Nour, déterminée et combative / Khaira, la benjamine). Et je n'oublierai pas la première joie et le premier petit-fils de la famille, {Mohamed Nadir}, bienvenue à toi, cher neveu. Merci à ma grande et petite famille, merci pour votre soutien et vos prières. Je n'oublie pas non plus mes amies, merci pour tous les moments que nous avons passés ensemble et pour tous ces instants précieux et irremplaçables. Merci à mon amie Ibtissam qui a partagé avec moi la charge du travail et les moments difficiles. Et ma dernière prière est : Louange à Dieu et remerciement à Dieu, Seigneur bénis ma science et mon travail.

Ikram Wafaa

بمء في أءربة صءراوية عن بءءيريا هيفة ءمءك أنشءة مضادة للفءريات

ملءص:

ءمءورء الءراسة ءول عزل البءءيريا الشعاعية من ءربة الصءراء الكبرى، ءة ءمميز بوفرة وءنوع الأءناس البءءيرية فيها. الءءف من هذا البءء هو عزل بءءيريا هيفة ءمءع بنشاط مضاد للفءريات من ءربة الصءراوية، ءهء ءم ءمع عيناء ءربة من منءقءين مءءلفءين بالءرب من واءة ءءليلي (السوارق، السبءة). ءم عزل العءيء من هذه البءءيريا في وسط زراعي يءءوي على "Chitine agar"، ءلا ذلك اءءيار 65 عزلة، منها 58 عزلة أظهرء نمواً ءيذاً. أظهر الفءص المءهري ءفوق ءنس *Streptomyces*، وأظهرء اءءباراء نشاط ءضاء أن 16 عزلة ءمءك نشاطاً مضاداً للفءريات، من بينها سء عزلاء هي : B1, B4, B7, S12, S18, S14. أظهرء ءراسة ءركية إءءاج المسءقلاء المضاءة للفءريات في الوسط السائل (ISP2) أقصى نشاط في الءوم الرابع من الءضانة للسلاءة S18 (22 ملم ضد *Candida albains* و31 ملم ضد *Aspergillus fumigatus*). ءما أظهرء السلاءة B1 أقصى إءءاج لها في الءوم ءالء من الءضانة (20 ملم ضد *Candida albicans* و21 ملم ضد *Aspergillus fumigatus*). ءان المءيب الأكثر فاعلية لاسءءلاص المسءقلاء النشءة ءة ءءءءها السلاءة S18 في وسط ISP2 السائل هو ءنائئ ءلورو الميءان، بءطر ءءبيء ءءره 21 ملم ضد *Candida albicans* ATCC10231.

الكلاء المفاءية: بءءيريا هيفة، نشاط مضاء، مضاء فءري، *Streptomyces*

Recherche dans des sols sahariens d'actinobactéries possédant des activités antifongiques

Résumé

Cette étude porte sur l'isolement des actinobactéries du désert du Grand Sahara, caractérisé par l'abondance et la diversité des genres bactériens présents. L'objectif de cette recherche était d'isoler des actinobactéries possédant une activité antifongique à partir du sol désertique. Des échantillons de sol ont été collectés dans deux zones différentes près de l'oasis de Metlili (Souareg, Sebkha). Ces bactéries ont été isolées sur milieu de culture Chitine agar. Suivie de la sélection de 65 isolats parmi lesquels 58 ont montré une croissance satisfaisante. L'examen microscopique a révélé la prédominance du genre *Streptomyces*, tandis que les tests d'activité antagoniste ont identifié 16 isolats possédant une activité antifongique, parmi lesquels six isolats : B1, B4, B7, S12, S18, S14. Une étude de la cinétique de production des métabolites antifongiques dans le milieu liquide (ISP2) a montré une activité maximale le quatrième jour d'incubation pour la souche S18 (31 mm contre *Aspergillus fumigatus* et 22 mm contre *Candida albicans*). De même, la souche B1 a montré une production maximale le troisième jour d'incubation (20 mm contre *Candida albicans* et 21 mm contre *Aspergillus fumigatus*). Le solvant le plus efficace pour l'extraction des métabolites actifs produits par la souche S18 dans le milieu liquide ISP2 était le dichlorométhane, avec un diamètre d'inhibition de 21 mm contre *Candida albicans* ATCC 10231.

Mots clés : Sol saharien, actinobactéries, activité antifongique, *Streptomyces*.

Research in Saharan soils for actinobacteria possessing antifungal activities

Abstract

This study focuses on isolating actinobacteria from the Grand Sahara Desert, characterized by the abundance and diversity of bacterial genera. The aim of this research was to isolate actinobacteria exhibiting antifungal activity from desert soil. Soil samples were collected from two different areas near the Metlili oasis (Souareg, Sebkh). These bacteria were isolated on Chitine agar medium, followed by the selection of 65 isolates, out of which 58 showed satisfactory growth. Microscopic examination revealed the predominance of the *Streptomyces* genus, while antagonism activity tests identified 16 isolates with antifungal activity, including six isolates: B1, B4, B7, S12, S18, S14. A study of the kinetics of antifungal metabolite production in liquid medium (ISP2) showed maximum activity on the fourth day of incubation for strain S18 (31 mm against *Aspergillus fumigatus* and 22 mm against *Candida albicans*). Similarly, strain B1 exhibited maximum production on the third day of incubation (20 mm against *Candida albicans* and 21 mm against *Aspergillus fumigatus*). The most effective solvent for extracting active metabolites produced by strain S18 in ISP2 liquid medium was dichloromethane, with an inhibition diameter of 21 mm against *Candida albicans* ATCC 10231.

Keywords: Saharan soil, actinobacteria, antifungal activity, *Streptomyces*.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Origine des souches tests.....	16
Tableau 2	Origine des isolats d'actinobactéries sélectionnés selon le sol, l'agent sélectif et la dilution.....	20
Tableau 3	Caractéristiques macroscopiques des souches d'actinobactéries.....	22
Tableau 4	Activité antifongique des souches d'actinobactéries (méthode des stries croisées).....	25

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Echantillons de sol.....	10
Figure 2	Pré-traitement des échantillons de sol.....	11
Figure 3	Méthode de suspensions dilutions.....	12
Figure 4	Stérilisation par filtration et ajout des agents sélectifs au milieu d'isolement.....	13
Figure 5	Ensemencement et incubation.....	14
Figure 6	Colonies des actinobactéries après 21 jours d'incubation.....	15
Figure 7	Méthode des stries croisées sur milieu solide « ISP2 ».....	16
Figure 8	Préparation de précultures des souches d'actinobactérie B1 et S18.....	17
Figure 9	Cinétique de la production de l'activité antifongique des souches B1 et S18 sur Milieu liquide (Méthode des puits).....	18
Figure 10	Extraction des métabolites antifongiques.....	19
Figure 11	Colonies d'actinobactéries isolées sur milieu Chitine (21è jour).....	20
Figure 12	Actinobactéries purifiée sur milieu ISP2.....	21
Figure 13	Macromorphologie des isolats sur milieu ISP2.....	23
Figure 14	Micromorphologie des isolats d'actinobactéries.....	24
Figure 15	Activité antifongique par la méthode des stries croisées.....	26
Figure 16	Cinétique de production d'antifongiques de la souche S18 en milieu.....	27
Figure 17	Cinétique de production d'antifongiques de la souche B1 en milieu ISP2.....	27

Figure 18 Activité antifongique produite sur milieu liquide ISP2 des souches S18 et B1(Méthode des puits) 28

Figure 19 Activités antifongiques des extraits organiques de la souche S18..... 29

Figure 20 Test d’antibiogramme des extraits organiques de la souche S18..... 29

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ATCC : American Type Culture Collection

CDC : Centres pour le contrôle et la prévention des maladies

OMS : Organisation mondiale de la santé

AG : Acides gras

CaCO₃ : Carbonate de calcium

Mg : Milligramme

ML : Millilitre

Mm : Millimètre

ADN : Acide désoxyribonucléique

ISP2 : International Streptomyces Project

GN: Gélose Nutritive

PDA : Potato Dextrose Agar

MA : Mycélium Aérien

MS : Mycélium Substrat

AN : Aspergillus niger

AF : Aspergillus fumigatus

CA : Candida albicans

S : Souraeg

B : Sebkha

E1 : échantillons 1

E2 : échantillons 2

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

RÉSUMÉ

ABSTRACT

ملخص

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	1
MATERIEL ET METHODES.....	10
1.Origine des échantillons de sols.....	10
2.Isolement des actinobactéries.....	10
2.1.- Préparation des échantillons.....	10
2.2.- Méthode de suspensions dilutions.....	12
2.3. Milieux d'isolement et agents sélectifs.....	12
2.4. Inoculation et incubation.....	13
2.5. Sélection, purification et conservation des isolats.....	14
3.Caractérisation morphologique des isolats.....	14
3.1. Caractéristiques culturelles et morphologiques.....	15
3.2. Caractéristiques micro-morphologiques.....	15
4. Screening de l'activité antifongique des actinobactéries sur milieu solide.....	15
4.1. Germes cibles.....	15
4.2.- Méthode de stries croisées.....	15
5.- La production des activités antifongiques des isolats sur milieu liquide.....	16
5.1.- Production d'antibiotiques en fioles agitées.....	16
5.2.- Préparation des précultures.....	17
5.3.- Cinétique de production des antifongiques.....	17

6.- Choix du solvant d'extraction des métabolites antifongiques de la souche S18.....	18
Résultats.....	20
1. 1.- Isolement d'actinobactéries.....	20
1.2.- Purification des actinobactéries.....	21
1.3.- Caractérisation morphologique des isolats.....	21
1.3.1.- Etude macroscopique des colonies d'actinobactéries sur milieu ISP2.....	22
1.3.2.- Etude micromorphologique des isolats.....	22
1.4.- Activités antifongique des isolats sur milieu solide (technique des stries croisées) ...	25
1.5.- Cinétique de production d'activité antifongique sur milieu liquide.....	26
1.6.- Choix du solvant d'extraction des métabolites antifongiques de la souche S1.....	28
Discussion	30
Conclusion.....	32

INTRODUCTION

Introduction

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur la terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (**Mueller et Schmit, 2007**). Alors qu'ils ont longtemps été classés parmi les plantes, ils sont maintenant bien individualisés au sein du règne fongique et constituent un phylum à part entière (**Courtecuisse et Duhem, 2013**). Ils sont hétérotrophes et manquent de chlorophylle. Ils n'ont pas de tissus et par conséquent ils ne possèdent ni racines, ni tiges, ni feuilles, ni système vasculaire. Leur corps somatique (ou végétatif) est appelé thalle (**Nasroui, 2015**). Plus rarement, certains champignons peuvent rester sous forme unicellulaire : il s'agit des levures. Ce thalle, non cloisonné chez les champignons inférieurs (*Zygomycota*, *Glomeromycota*) est appelé siphon alors qu'il est cloisonné (ou septé) chez les champignons dits supérieurs (*Ascomycota* et *Basidiomycota*) ; il est constitué d'hyphes mycéliennes. Ce sont des filaments microscopiques diffus regroupés pour former le mycélium. Ce mycélium peut être souterrain et invisible, en forêt par exemple comme celui d'espèces récoltées par les amateurs de champignons ou bien au contraire bien visible sur des aliments contaminés par des moisissures (**Fons et al., 2018**). Leur paroi cellulaire est composée de chitine ce qui les rapproche des animaux. En effet ce polysaccharide azoté entre dans la structure de l'exosquelette des crustacés ou des arthropodes. En revanche, la paroi cellulaire des végétaux est composée de cellulose. Enfin, les champignons se reproduisent généralement par des spores non flagellées (**Nabors, 2008**).

Le règne fongique, avec sa diversité impressionnante comptant plus de 120 000 espèces, est véritablement fascinant. Les grands groupes de Mycota ou "champignons vrais" sont (classés par ordre de détachement du rameau commun et donc par ancienneté d'émergence (**Courtecuisse, 2008**):

- les Chytridiomycota (ex. Chytridiomycètes),
- les Zygomycota (ex. Zygomycètes),
- les Gloméromycota (ex. Glomales),
- les Basidiomycota (ex. Basidiomycètes)
- les Ascomycota (ex. Ascomycètes).

Les champignons se distinguent en deux catégories l'une, ceux dont les propriétés sont exploitées pour extraire des antibiotiques et même pour la fabrication de fromages, et d'autre part, ceux qui représentent une menace pour la santé humaine, communément identifiés sous le nom de champignons pathogènes.

Le domaine des affections fongiques a connu un changement radical, où auparavant les champignons étaient considérés comme des organismes isolés non pathogènes et non contaminants, mais désormais, ils le sont, contribuant à l'augmentation des infections, en particulier chez les individus immunodéprimés et les utilisateurs fréquents d'antibiotiques (**Rohilla et al., 2021**).

Ils sont connus pour leurs caractéristiques pathogènes et leur propagation rapide à grande échelle, ce qui représente un danger pour la santé humaine, végétale et animale (<https://urlz.fr/rlaw>).

Les champignons pathogènes sont divisés en 4 grandes familles. Il est important de les connaître afin de mieux comprendre leur physiopathologie. Les levures sont les plus fréquemment rencontrées et comportent *Candida* spp et *Cryptococcus* spp. Les champignons dimorphiques sont représentés par *Histoplasma* spp. *Pneumocystis* est une classe à part entière avec le chef de file qui est *Pneumocystis jirovecii*. Enfin, les champignons filamenteux qui sont divisés en dermatophytes (*Trichophyton* spp) et en moisissures. Les moisissures sont ensuite divisées en filaments non septés (mucorales) et septés (*Aspergillus* spp, *Fusarium* spp) (**Soulier-Zaninka et al., 2024**).

Faire front à des avancements significatifs dans les domaines médicaux, de nouveaux défis complexes sont constamment relevés une dilatation pertinente de la propagation des champignons a été observée ; Cela l'a classée comme la quatrième infection la plus courante dans les établissements hospitaliers. Il est impératif de commencer à chercher un médicament efficace pour toutes ces infections causées par les champignons. Ces évolutions extraordinaires génèrent des préoccupations sérieuses concernant le potentiel de notre réserve médicale pour réagir de manière efficace face à ces dangers croissants. Effectivement, il semble que les traitements actuels soient souvent inefficaces ou insuffisants pour contrôler la propagation des champignons pathogènes. Donc, l'utilisation de méthodes novatrices et créatives telles que la recherche de nouveaux agents antifongiques non découverts auparavant, la définition d'objectifs thérapeutiques spécifiques et le

développement de traitements combinés sont des étapes essentielles dans la lutte contre les infections fongiques (**Carle et Pharm, 2003**).

Ces efforts requièrent une collaboration étroite entre les chercheurs, les médecins et l'industrie pharmaceutique afin de traduire les découvertes scientifiques en solutions concrètes pour les soins cliniques des patients. Ainsi, la recherche d'un traitement efficace contre les infections fongiques est devenue une priorité fondamentale au niveau de la santé publique et à l'ère des avancées médicales. Cette méthode nécessite un engagement proactif, collaboratif et multidisciplinaire pour relever les défis de cette menace et améliorer les résultats cliniques des patients atteints d'infections fongiques pathogènes (**Belghit et al., 2016**).

Chaque année, plus de 1,5 million de personnes perdent la vie à cause d'infections fongiques graves. Jusqu'à présent, le *Cryptococcus*, le *Candida* et l'*Aspergillus* sont les infections fongiques les plus courantes, pouvant entraîner des maladies graves, voire, dans des cas rares, le décès.

Au cours des cinq dernières années, il a été observé une augmentation croissante des infections fongiques superficielles chez l'homme. Plus de 300 millions de personnes de tous âges souffrent de maladies fongiques graves, le facteur commun étant la présence de spores fongiques dans divers environnements tels que l'air, le sol et l'eau, entraînant leur transmission entre les individus. Parmi les facteurs influençant la capacité des champignons à causer des maladies, des dommages et une propagation d'infections, on trouve les changements climatiques (**Gnat et al., 2021**). De plus, l'émergence de souches résistantes aux médicaments telles que le *Candida auris*, combinée à une disponibilité limitée d'agents antifongiques, peut entraîner des effets secondaires graves dans les établissements de santé (**Zhang et al., 2021**).

L'augmentation de la résistance des champignons aux médicaments antifongiques représente un défi de plus en plus important pour la profession médicale. Les médecins traitants sont de plus en plus préoccupés par cette tendance, car ils traitent des patients à risque élevé d'infections fongiques invasives. Les champignons peuvent développer une résistance aux agents antifongiques actuellement disponibles en raison de mécanismes acquis après avoir été exposés à ces médicaments. La résistance de certains types de champignons à certains agents antifongiques est en augmentation, comme les azoles chez les isolats de *Candida albicans* et la résistance aux azoles chez *Aspergillus fumigatus* (**Wiederhold, 2017**).

Les champignons pathogènes, tels que *Candida* et *Aspergillus*, sont impliqués dans un grand nombre d'infections graves, ces infections étant particulièrement fréquentes chez les patients immunodéprimés. Aujourd'hui, les thérapies antifongiques actuelles ont souvent des effets indésirables toxiques, ainsi qu'une efficacité diminuée, cette combinaison de facteurs rend difficile la régulation de ces maladies. Face à cette situation préoccupante, les chercheurs tentent d'explorer de nouvelles méthodes pour lutter contre ces micro-organismes. Une équipe de scientifiques de l'Université d'Oklahoma a récemment entrepris une étude visant à entraver la synthèse des acides gras contenus dans les champignons. Les acides gras sont des composants essentiels des membranes cellulaires des champignons et sont essentiels à leur développement et à leur capacité à prospérer. Grâce à l'inhibition de la biosynthèse des acides gras, il devient possible de compromettre la viabilité des champignons tout en laissant les cellules humaines intactes, minimisant ainsi le potentiel de toxicité (**Marchetti et Calandra, 2003**).

Cette approche innovante est non seulement très prometteuse à des fins thérapeutiques, mais offre également l'avantage distinct d'être inoffensive pour les cellules humaines. En conséquence, il présente une solution très encourageante pour des interventions cliniques potentielles. Il est impératif que des recherches plus approfondies soient menées dans ce domaine pour créer des traitements efficaces capables de résoudre les difficultés posées par résistantes aux médicaments, améliorant ainsi la santé publique mondiale (**Du et al., 2023**).

L'arsenal de médicaments antifongiques à la disposition des hôpitaux se limite à quatre classes de molécules : les polyènes qui ciblent la membrane cellulaire du champignon et les échinocandines qui agissent sur sa paroi ; les azolés, qui inhibent la synthèse de l'ergostérol (équivalent du cholestérol chez les cellules animales) et la flucytosine, qui interfère avec celle des acides nucléiques. Leur efficacité clinique pour traiter les infections invasives est très limitée. L'utilisation massive de ces drogues, en lien avec l'augmentation des patients à risque, a favorisé l'émergence de souches résistantes. De plus, la toxicité et le coût élevé de ces traitements entraînent un besoin urgent de développer de nouvelles solutions thérapeutiques (**Petosa et al., 2018**).

Ces antifongiques sont fongicides (polyènes, échinocandines) ou fongistatiques (azolés). L'amphotéricine B a été considérée longtemps comme le traitement de référence. Aucune nouvelle molécule n'a d'ailleurs jamais démontré de supériorité par rapport à l'amphotéricine B. Par contre, toutes les études retrouvent une toxicité rénale significativement supérieure (**Mora-Duarte et al.,**

2002), et ce même pour l'amphotéricine B liposomale (Kuse *et al.*, 2007). La grande majorité des études validant l'efficacité du fluconazole (Rex *et al.*, 1994), de la caspofongine (Mora-Duarte *et al.*, 2002), de la micafungine (Kuse *et al.*, 2007) et du voriconazole (Kullberg *et al.*, 2005) sont des études de non infériorité par rapport à un traitement de référence. Une seule étude montre une supériorité de l'anidulafongine par rapport au fluconazole (Reboli *et al.*, 2007). Dans le sous-groupe des patients avec une infection à *candida albicans* sensible aux deux bras de traitement, il a été montré que l'anidulafongine (fongicide) avait une efficacité supérieure au fluconazole (fongistatique) sans qu'il ne soit retrouvé de différence sur la mortalité (Pappas *et al.*, 2007).

Actuellement, les chercheurs travaillent dur pour trouver de nouvelles méthodes de traitement qui abordent différents aspects de ces infections. La collaboration entre les sociétés pharmaceutiques et les chercheurs dans la recherche de nouveaux agents antifongiques moins agressifs et plus efficaces a commencé. De nombreuses institutions hospitalières préfèrent utiliser les échinocandines pour traiter des infections fongiques graves, malgré le manque d'options thérapeutiques par rapport aux antibiotiques. Cependant, des rapports récents font état d'une préoccupation croissante, avec une augmentation de la résistance à ces traitements, les rendant moins efficaces. Cela souligne la nécessité de trouver de nouveaux traitements pour résoudre ces problèmes (Idris khodja *et al.*, 2023).

La grande majorité des antifongiques naturels est d'origine microbienne et près de la moitié est synthétisée par les actinobactéries, en particulier par les *Streptomyces*, le genre le plus répandu dans l'environnement (Badji *et al.*, 2005).

Les actinobactéries sont également connues sous le nom d'actinomycètes, composé de deux mots grecs "Actis" signifiant éclair et "Mycès" signifiant champignon. Elles sont aussi Gram-positives et possèdent un taux élevé de « C + G » dans leur ADN, variant de 55% à 70%. Elles sont classées comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et les champignons, mais actuellement elles sont considérées comme des bactéries (Hazarika et Thakur, 2020).

Les actinobactéries se distinguent par leur diversité et leur large impact dans le monde vivant, avec plus de 70% des antibiotiques de cette classe fabriqués, ce qui en fait un sujet passionnant pour l'étude et la réflexion. Ces dernières sont capables de produire un réseau de filaments non segmentés et relativement fins. En plus, elles peuvent être terrestres ou aquatiques (Ranjani *et al.*, 2016).

Le phylum d'actinobactérie tel qu'il figure dans le **Bergey's manual (2012)** renferme cinq classes : Acidimicrobiia, Coriobacteriia, Nitriliruptoria, Rubrobacteriia et Thermoleophilia qui sont subdivisées en 19 ordres, 50 familles et 221 genres (**Goodfellow, 2012**).

Selon le manuel de Bergey de 2012, l'étude morphologique des actinobactéries comprend les caractères culturels macro et micromorphologiques.

L'étude macromorphologique englobe les caractères suivants : la production ou non d'un mycélium aérien (MA) ; la présence ou non d'un mycélium de substrat (MS) ; la couleur du MA et du MS ; la production ou non de pigments diffusibles.

L'étude micromorphologique englobe les caractères suivants: la fragmentation ou non du MS; la formation de spores exogènes sur le MA et/ou sur le MS, leur forme, leur taille et leur agencement; la présence ou non de sporophores, la surface des spores; la présence ou non de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges, le nombre de spores par sporange ainsi que la longueur des sporangiophores; la présence de spores mobiles ou non mobiles; la formation d'endospores ou de structures spéciales telles que les synnemata, les sclérotés, les faux sporanges, etc.

Auparavant, la plupart des substances étaient extraites d'animaux et de plantes, contrairement à aujourd'hui où elles peuvent être fabriquées à partir d'organismes microscopiques, se connectant ainsi aux produits des métabolites secondaires. Ces organismes microscopiques représentent le socle idéal pour extraire la plupart des composés intégrés dans les applications pharmaceutiques et technologiques. Plus de 200 000 produits naturels ont été extraits de métabolites secondaires bactériens, démontrant leur importance (**Thirumurugan et al., 2018**).

Les sols désertiques sont connus pour leur complexité, abritant une diversité de vie et des écosystèmes uniques. Les actinobactéries sont parmi les organismes les plus simples qui s'installent dans ces environnements hostiles, s'adaptant aux défis environnementaux difficiles auxquels elles sont confrontées. L'importance de cette étude réside dans la mise en lumière des actinobactéries capables de survivre et de prospérer dans les environnements désertiques arides, en particulier ceux qui se distinguent par leur activité fongique. La caractéristique clé des actinobactéries est leur capacité à utiliser une nutrition hétérotrophe, reflétant ainsi la manière dont les organismes vivants interagissent avec leur environnement (**Boudjelal, 2012**).

Les actinobactéries ont une formidable capacité à extraire des composés et des agents anticancéreux, antiparasitaires et antifongiques. En particulier, le genre *Streptomyces* était le plus actif, représentant 80 % des antibiotiques extraits (**Rai et Bai, 2022**).

Ce type de bactéries se trouve dans une variété de sources naturelles, avec des différences selon le type de sol, qu'il soit agricole, sauvage, fertile ou aride. Les actinobactéries peuvent ainsi être classées en parasites en fonction de leur habitat, que ce soit acide, alcalin, salin, chaud, froid ou même sec. Ces souches se sont distinguées par leur grande capacité à produire des composés secondaires tels que les antibiotiques, les antioxydants, les enzymes, ...etc. (**Meklat et al., 2020**).

Par exemple, on peut évoquer les métabolites secondaires actifs dérivés des écosystèmes Algériens : « 3-Methyl-2- butenoylpyrrothine, tigloylpyrrothine, *n*-Butyropyrrothine, iso-butyropyrrothine, valerylpyrrothine, thiolutin » ayant une activité antibactérienne et antifongique et sont extraits à partir de *Saccharothrix* sp. 233 isolée d'une palmeraie Saharien d'Adrar (**Zitouni et al., 2004 ; Lamari et al., 2002**); « valerylpyrrothine, isovalerylpyrrothine, formylpyrrothine, crotonyl-pyrrothine, sorbyl-pyrrothine, 2-hexenyl-pyrrothine, 2-Methyl-3-pentenylpyrrothine, benzoyl-pyrrothine, benzoyl-pyrrothine, dithiolopyrrolone » ayant une activité antibactérienne et antifongique et sont extraits de *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137, une nouvelle espèce qui a été isolée d'une palmeraie au sud Algérien (**Merrouche et al., 2010, 2011 et 2019**) ; « angucyclinone R2 » ayant une activité antibactérienne, antifongique, anti tumorale et antivirale et est extrait à partir de *Streptosporangium* sp. Sg3 isolée d'un sol de la région d'Adrar (**Boudjella et al., 2006 et 2010**) ; « saquayamycin A et C, vineomycin A1, chaetoglobosin A » ayant une activité antibactérienne et antifongique et sont extraits à partir de *Streptomyces* spp. PAL114 isolée d'un sol de Ben isguen de la région de Ghardaïa (**Aouiche et al., 2014 et 2015**) ; « 2,4-Di-tert-butylphenol » ayant une activité contre *Candida albicans* et autres champignons pathogènes et est extrait à partir de *Streptomyces mutabilis* G61

Isolée d'un sol de Metlili de la région de Ghardaïa (**Belghit et al., 2016**) ; « oligomycine A et E » ayant une activité antibactérienne (Gram positif) et antifongique et sont extraits à partir de *Streptomyces* sp. HG29 isolée d'un sol de Hoggar de la région de Tamanrasset (**Khebizi et al., 2018**) ; « cyanogriside I et J ; caerulomycin A et F ; caerulomycinonitrile » ayant une activité antibactérienne (Gram positif) et antifongique et sont extraits à partir de *Saccharothrix xinjiangensis* ABH26 isolée d'un sol de la région d'Adrar (**Lahoum et al., 2019**).

A partir de ce qui précède, les genres rares d'actinobactéries, tels que *Saccharothrix*, *Actinomadura*, *Streptosporangium* et *Micromonospora*, ont mis en évidence une compétence exceptionnelle à produire des antibiotiques et d'autres substances bioactives. Régulièrement, surpassant même les *Streptomyces* bien connus en termes d'efficacité et de diversité de métabolites. Le désert algérien, étant apparemment antagonique, mais riche en ressources microbiennes, est devenu une source éminente de découvertes dans ce domaine. Son sol est composé d'une grande variété d'actinobactéries, dont plus de 20 espèces ont été identifiées jusqu'à présent. Ces découvertes mettent en lumière l'importance des environnements naturels difficiles et hostiles en tant que sources potentielles de créativité. Ces environnements peuvent fournir des formations biologiques uniques composées de matériaux naturels et chimiques qui peuvent avoir de la valeur dans divers domaines tels que la médecine et la technologie. Cela ouvre de nouvelles perspectives pour l'innovation et le développement et contribue à une meilleure compréhension de l'adaptation biologique et à la protection de la biodiversité (**Nouasri and Zitouni, 2023**).

Les infections bactériennes et fongiques représentent un défi majeur pour la santé humaine et l'environnement, exacerbées par les préoccupations croissantes concernant la sécurité et l'efficacité des procédures traditionnelles, notamment face à l'émergence de la résistance aux antibiotiques. Il devient donc évident qu'il est nécessaire d'adopter une nouvelle approche. Depuis le début des années quatre-vingt-dix du 20^e siècle, plusieurs stratégies ont été mises en œuvre afin de mettre sur le marché de nouveaux antibiotiques (**Hancock et Strohl, 2001 ; Donadio et al., 2002**). La recherche de molécules actives à partir du milieu naturel est l'une d'entre elles.

Notre étude repose sur cette dernière alternative et vise à isoler des actinobactéries aux activités antifongiques à partir des sols sahariens. Le travail entrepris focalise sur l'isolement à partir de deux échantillons de sol des zones distinctes situées dans la commune de Metlili, wilaya de Ghardaïa. Ces régions, connues pour leurs conditions climatiques extrêmes, influencent directement la diversité bactérienne. L'objectif est de découvrir des souches robustes et potentiellement pathogènes avec une activité antifongique significative.

Nous avons évalué l'efficacité des souches isolées contre divers champignons pathogènes ou néfastes.

Notre manuscrit est structuré en trois chapitres, suivant la méthodologie IMRAD. Dans la première section, qui correspond à l'introduction, nous fournissons une vue d'ensemble des menaces posées par les infections fongiques ainsi que l'impact négatif des méthodes actuelles pour les combattre,

en particulier à la lumière du problème croissant de la résistance aux antifongiques. La deuxième section, dédiée au matériel et aux méthodes, décrit en détail les techniques et les équipements de laboratoire utilisés dans nos expériences. Ensuite, nous présentons nos résultats dans la troisième section et fournissons leur analyse, discussion et interprétation, avant de conclure notre manuscrit avec une conclusion et des perspectives pour des études futures complémentaires.

MATERIEL ET METHODES

* Les expériences de notre recherche ont été mené au sein du laboratoire de Valorisation et Conservation des Ecosystèmes Arides (LVCEA) à la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre, université de Ghardaïa.

1. Origine des échantillons de sols

Les échantillons de sol utilisés ont été prélevés à partir de deux palmeraies situant dans la ville de Metlili qui se trouve à 40 km au sud de la wilaya de Ghardaïa. Les deux échantillons sont rhizosphériques et sont prélevés à partir de deux zones : la première située dans nommée ‘Souareg’ et la deuxième nommée ‘Sebkha’. Environ 100 g de sol pour chaque échantillon ont été prélevés à l'aide d'une cuillère stérile à une distance de 1 mètre des palmiers et à une profondeur de 20 cm, après avoir écarté les trois premiers centimètres de la couche superficielle du sol. Les échantillons de sols sont déposés dans des sacs stériles et ramenés au laboratoire à température ambiante. Il convient de noter que l'échantillon prélevé de la zone Souraeg avait une texture fine et une couleur brun clair, tandis que celui de la zone Sebkha avait une texture lisse et une couleur brun foncé tirant sur le gris (Fig. 1).

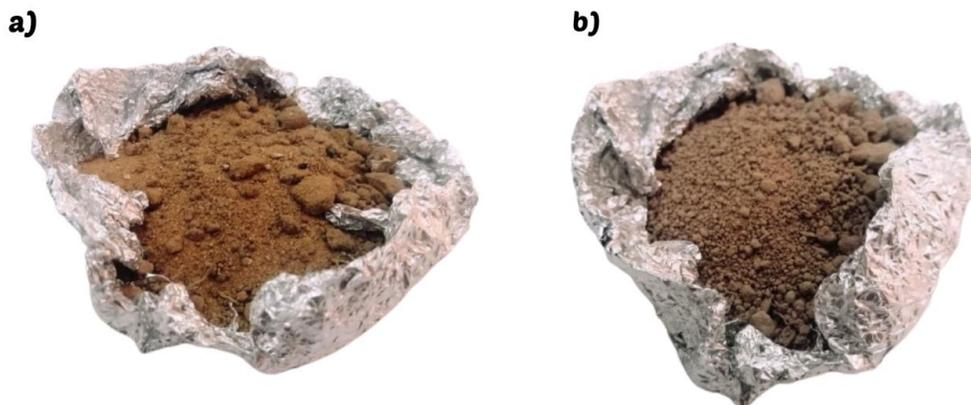


Figure 1 : Echantillons de sol

a : E1 : provenant du sol de Souareg , **b** :E2 : provenant du sol de Sebkha

2. Isolement des actinobactéries

2.1.- Préparation des échantillons

Après le transfert des échantillons au laboratoire, environ 10 grammes de chaque échantillon de sol ont été pesés, placés dans du papier aluminium et chauffés dans un four Pasteur (RAYPA ® FOUR DE SECHAGE COMMERCIAL) à 60 °C pendant 2 heures. Ensuite, 1 gramme de chaque échantillon a été pesé et mélangé avec 0,1 gramme de carbonate de calcium (CaCO_3) puis l'ensemble est incubé à 30 °C pendant 7 jours (Tiwari et Gupta, 2013). Les deux traitements thermique et chimique par CaCO_3 ont pour objectif de réduire le nombre des contaminants (Fig. 2).

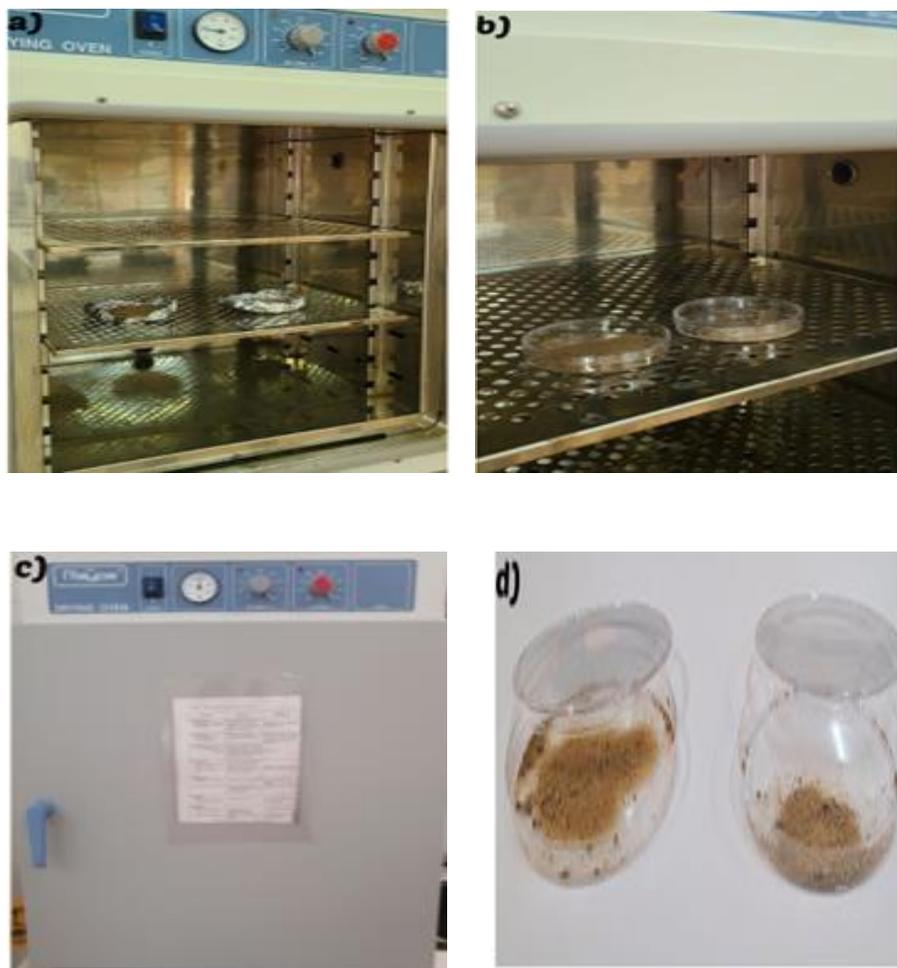


Figure 2. Pré-traitement des échantillons de sol

a : mise de l'échantillon dans de l'aluminium et au four Pasteur **b :** peser, ajout de carbonate de calcium, retour au four Pasteur **c :** attente de deux heures **d :** échantillon prêt pour le début de dilution.

2.2.- Méthode de suspensions dilutions

Une série de dilutions décimales a été préparée pour chaque échantillon de sol. Pour la préparation de la solution mère, 1 g de sol préalablement traité est mis dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile puis mélangé pendant 5 minutes avec un vortex. Ensuite, 1 ml de ce premier tube a été transféré dans un deuxième tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile et mélangé à nouveau avec le vortex (MX-S, MELANGEUR VORTEX DLA). La même méthode a été poursuivie pour obtenir la dilution 10^{-3} (Yasen *et al.*, 2020) (Fig. 3).

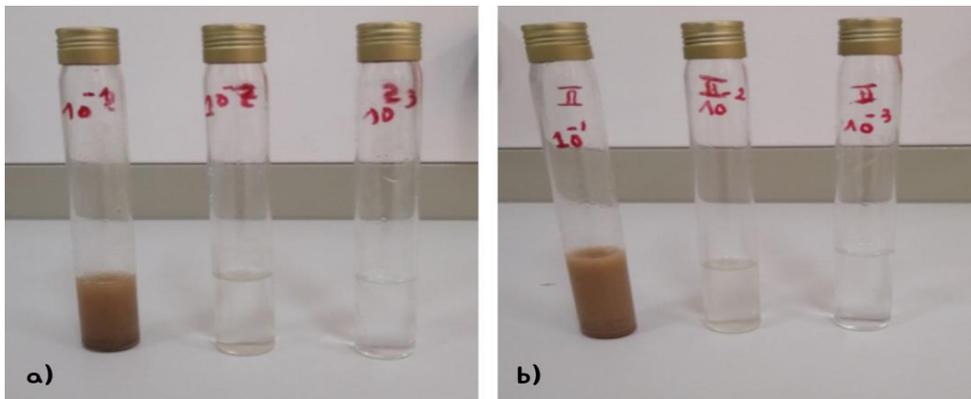


Figure 3 : Méthode de suspensions dilutions, **a** : E1 ; **b** : E2

2.3. Milieux d'isolement et agents sélectifs

L'isolement des actinobactéries est effectué sur le milieu chitine-agar additionné ou non des antibiotiques sélectifs (Bundale *et al.*, 2018). La quantité préparée de ce milieu était en quantité suffisante et répartie dans 4 flacons de 250 ml.

Les solutions d'antibiotiques sélectifs sont stérilisées par filtration sur membrane type millipore (de 0,22 μm de porosité) puis ajoutées aseptiquement au milieu d'isolement en surfusion. Il s'agit de La pénicilline : 25 $\mu\text{g/ml}$ – La rifampicine : 10 $\mu\text{g/ml}$ – Le chloramphénicol : 25 $\mu\text{g/ml}$. Ces antibiotiques permettent de diminuer l'effectif microbien et d'orienter la sélection vers des isolats particuliers pouvant être intéressants. Un antifongique cycloheximide (50 $\mu\text{g/l}$) qui permet d'éviter les contaminations par les champignons présents dans les sols, est stérilisé de la même façon puis ajouté au milieu d'isolement. Un témoin sans antibiotique est également nécessaire. Le choix du milieu Chitineux et les agents sélectifs avec leurs concentrations est basé sur les résultats obtenus des chercheurs de laboratoire de biologie des systèmes microbiens, Kouba-Alger (Boudjella, 1994 ; Sabaou *et al.*, 1998) (Fig. 4).

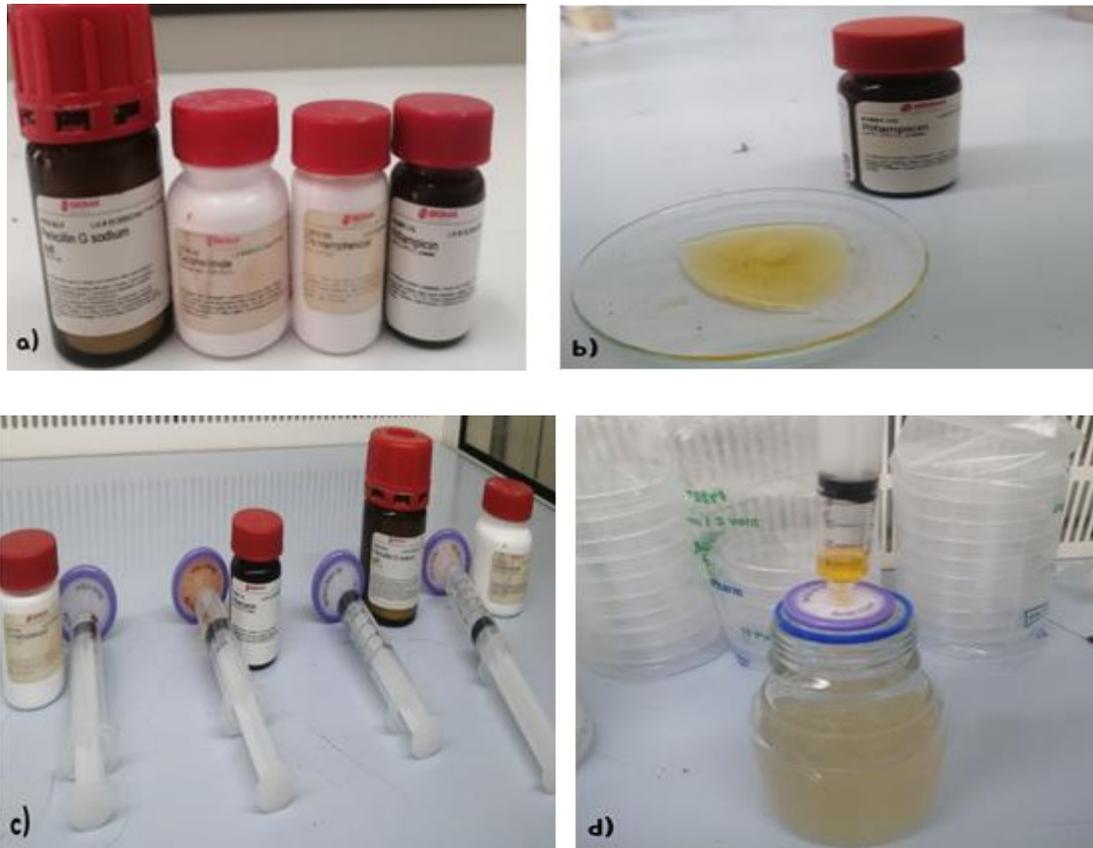


Figure 4 : Stérilisation par filtration et ajout des agents sélectifs au milieu d'isolement
a : Les antibiotiques , **b:** Rifampicine dissoute dans de l'eau distillée , **c:** Série de seringues avec des filtres , **d:** Filtration de la rifampicine dans le milieu , **e:** Versement du milieu et laisser refroidir les boîtes

2. 4. Inoculation et incubation

Des aliquotes de 0,1 ml (100µl) de chacune des dilutions sont ensemencées sur le milieu d'isolement par étalement à l'aide d'un râteau en verre stérile (Fig. 5) à raison de deux répétitions par dilution pour chacun des milieux utilisés.

Les boîtes ensemencées sont incubées à 30 °C (INCUBATEUR / FOUR MEMMERT UN 450) et examinées régulièrement à partir du 7^èjour, 14^è jour et jusqu'au 21^è jour, en raison notamment de la croissance parfois assez lente qui caractérise certains genres d'actinobactéries (**Ait Assou et al., 2023**).

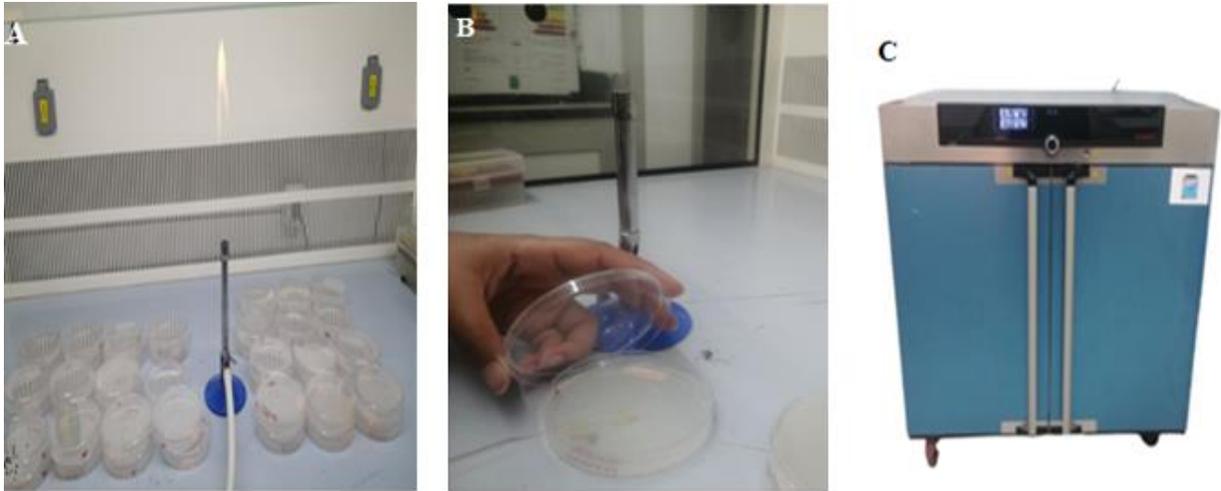


Figure 5 : Ensemencement et incubation

A : Attente que le milieu sèche complètement **B** : Ensemencement en surface avec le râseau

C : Placement dans l'incubateur.

1.5. Sélection, purification et conservation des isolats

Après 21 jours d'incubation, les colonies d'actinobactéries sont bien observées (Fig.6). En se basant sur des critères morphologiques les colonies d'actinobactéries sont sélectionnées ensuite prélevées à l'aide d'une pointe fine et stérile, puis sont déposées et purifiées par stries sur le milieu ISP2. La reprise de l'ensemencement des actinobactéries a été effectuée jusqu'à l'obtention de souches pures exemptes de toute contamination. L'incubation est faite à 30°C pour une durée de 10 à 15 jours. Les souches pures sont numérotées puis repiquées sur le même milieu coulé en pente dans des tubes à vis. Les souches sont ensuite conservées à 4°C dans une chambre froide.

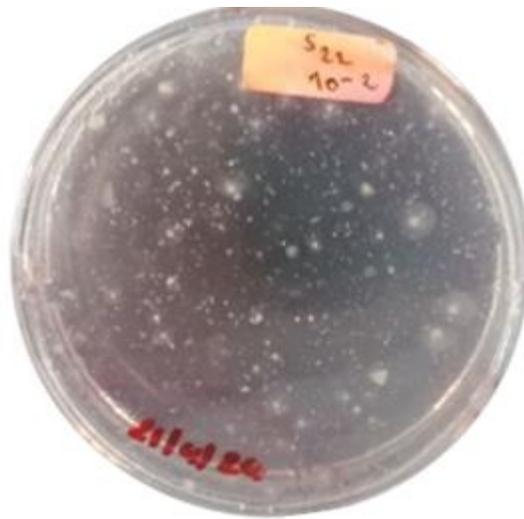


Figure 6 : Colonies des actinobactéries après 21 jours d'incubation

2. Caractérisation morphologique des isolats

3.1. Caractéristiques culturelles et morphologiques

L'étude des caractéristiques culturelles des colonies a été effectuée après 14 jours d'incubation à 30°C, sur le milieu solide ISP2 (Annexe) préconisé par l'International *Streptomyces* Projet ou ISP (Shirling et Gottlieb, 1966). Les couleurs des mycelia aérien et du substrat ainsi que celle des pigments solubles sont définies avec une charte de couleurs (Color Name chart illustrated with centroid color ISSCC-NBS).

3.2. Caractéristiques micro-morphologiques

Les isolats sont observés à l'aide d'un microscope optique (Optika) à deux grossissements (x10 et x40) après 14 jours d'incubation. Ces observations sont réalisées directement sur les boîtes de Pétri et ce, pour étudier les mycélium sans altérer les structures en place. Elles consistent à voir également la sporulation caractéristique des isolats sélectionnées ainsi que la fragmentation ou non du mycélium du substrat (Williams *et al.*, 1989).

4. Screening de l'activité antifongique des actinobactéries sur milieu solide

4.1. Germes cibles

Les germes cibles utilisés pour la mise en évidence de l'activité antifongique et leurs origines sont consignés dans le tableau 1.

Tableau 1. Origine des souches tests

Nom du champignon	Origine
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Laboratoire d'université de Tlemcen
<i>Candida albicans</i>	Laboratoire Essalam, Bounoura - Ghardaïa
<i>Aspergillus niger</i>	Laboratoire Essalam, Bounoura - Ghardaïa
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Laboratoire Essalam, Bounoura - Ghardaïa

4.2.- Méthode de stries croisées

L'activité antimicrobienne des souches d'actinobactéries est évaluée par la méthode des stries croisées sur le milieu ISP2. Cette méthode consiste à ensemencer la souche d'actinomycète en un seul trait à la surface du milieu solide et en bordure de la boîte de Pétri (diamètre = 9 cm). Après incubation à 30°C pendant 10 jours, les souches-cibles sont ensemencées perpendiculairement à l'actinobactérie (Fig. 7). La lecture des résultats se fait en mesurant la distance d'inhibition entre les bordures de la souche-cible et de la souche d'actinobactérie, après 24 h d'incubation pour les levures et 36 à 48 h pour les champignons.

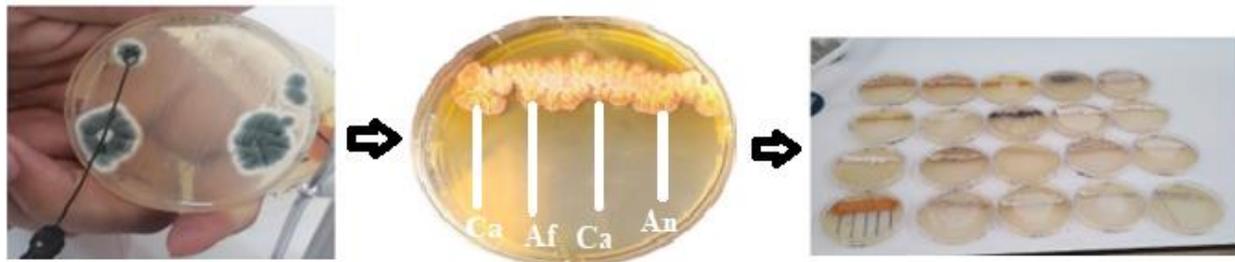


Figure 7 : Méthode des stries croisées sur milieu solide « ISP2 »

5.- La production des activités antifongiques des isolats sur milieu liquide

5.1.- Production d'antifongiques en fioles agitées

La production d'antifongiques a été effectuée pour les deux souches ayant montré une activité antifongique plus remarquable B1 et S18. Les expériences ont été menées sur le milieu de culture : l'ISP2 (composition en annexe).

5.2.- Préparation des précultures

Pour chaque souche, une préculture de 2 jours est préparée dans des tubes à essai contenant 3 ml de culture (ISP2 ou Bennett). Chaque tube estensemencé par un inoculum d'une culture poussant sur milieu solide et âgée de 10 jours. Les tubes sont mis sous agitation continue à 180 rpm.

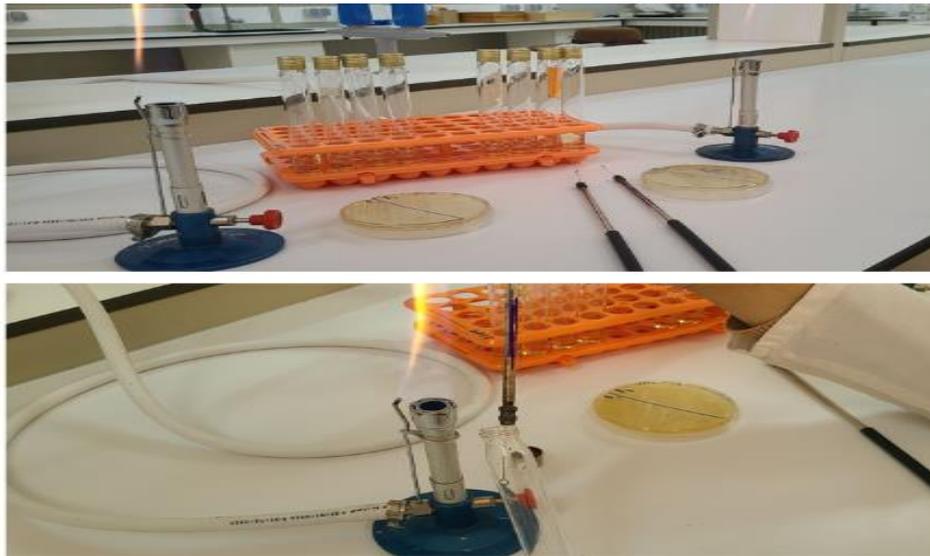


Figure 8 : Préparation de précultures des souches d'actinobactéries B1 et S18

5.3.- Cinétique de production des antifongiques

La cinétique de production des antifongiques a été réalisée en vue de déterminer le temps nécessaire pour qu'elle soit maximale. Des fioles d'Erlenmeyer de 500 mL contenant chacune 100 mL de milieu (pH 7,0) sontensemencés avec 3 mL de la pré-culture. Les cultures sont incubées à 30°C et agitées à 150 rpm dans un Shaker. Des prélèvements sont effectués toutes les 24 h pendant 5 jours pour être analysés.

L'activité antifongique est déterminée par la méthode de diffusion des puits contre *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*. Dans cette méthode, du milieu ISP2 semi solide contenant 10 g/L d'agar est pré-ensemencé en surfusion avec le germe-cible avant d'être coulé en boîtes de Pétri. Après solidification du milieu, des puits sont conçus à l'aide d'un emporte-pièce de 10 mm de diamètre. Une aliquote de 0,2 mL de surnageant de culture à analyser, est prélevée stérilement puis introduite dans le puits. Les boîtes sont mises 2 h à 4°C pour permettre la diffusion des substances actives tout en arrêtant momentanément la croissance des germes, puis incubées à 30°C. La lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre de l'auréole d'inhibition formée autour du puits après 24 h (les levures) et 48 h (pour les champignons).

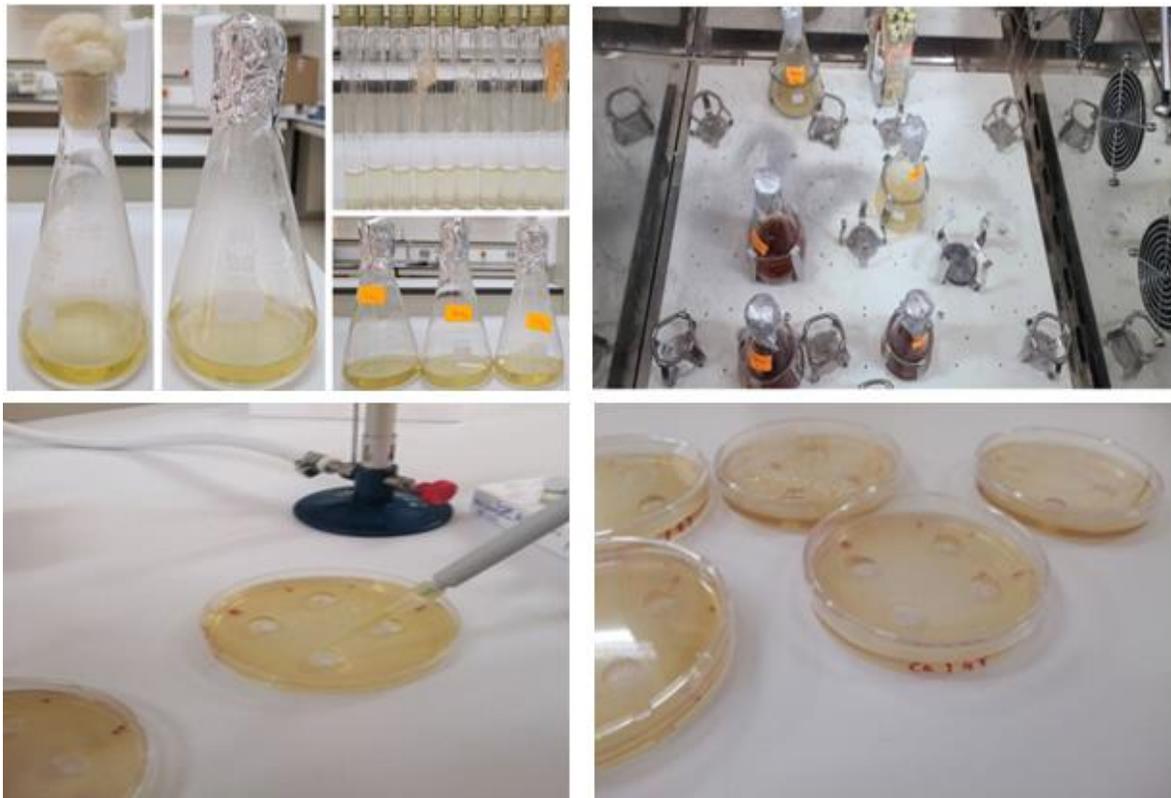


Figure 9 : cinétique de production antifongique des souches B1 et S18 sur Milieu liquide (Méthode des puits)

6.- Choix du solvant d'extraction des métabolites antifongiques de la souche S18

L'extraction des activités antifongiques à partir des filtrats de culture s'est faite avec des solvants non miscibles à l'eau et de polarité différente (l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol). Ainsi, 200 ml de filtrat du milieu ISP2 de la souche S18 sont divisés en quatre lots de 50 ml. Le même volume de chaque solvant leur a été ajouté dans une ampoule à décanter. Les phases organiques ont été récupérées, puis déshydratées après passage à travers un filtre contenant du sulfate de sodium anhydre. Elles ont été ensuite évaporées à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif Heidolph Hei-VAP (sous vide). Les résidus secs sont solubilisés dans du méthanol, transvasés dans des piluliers, puis séchés et conservés à 4°C. Ils sont ensuite repris dans 200 µl de méthanol et leur activité a été testée par anti biographié sur disques de papier technique (6 mm). Ces derniers sont imprégnés de 80 µl d'extraits organiques à tester et sont séchés jusqu'à évaporation du solvant (méthanol) puis stérilisés sous UV à 254 nm pendant 45 min et déposés

aseptiquement à la surface du milieu ISP2 semi solide pré-ensemencé par le germe cible (*Candida albicans* ATCC 10231) (concentration ajustée : 0,5 McFarland) et coulé en boîtes de Pétri. Les boîtes sont mises à 4°C durant 2 heures pour permettre la diffusion des substances actives tout en inhibant momentanément la croissance du germe cible. Elles sont ensuite incubées à 30°C, pendant 24 heures. L'activité antifongique est appréciée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition autour des disques.



Figure 10 : Extraction des métabolites antifongiques

a : filtrats de culture **b :** Séparation du liquide de la biomasse **c :** Ajout de solvant à phase liquide de la souche S18 **d :** Séparation de la phase aqueuse et de la phase organique **e :** Séchage dans la rotavapeur de la phase aqueuse

RESULTATS ET DISCUSSION

1.- Résultats :

1. 1.- Isolement d'actinobactéries

Le milieu « Chitine-agar » additionné ou non d'antibiotiques sélectifs, nous a permis de récolter un grand nombre d'actinobactéries à partir des sols étudiés. Nous avons sélectionné 65 colonies en se basant sur des critères macromorphologiques observés à l'œil nu et micro morphologiques en utilisant le microscope optique. Ce nombre d'actinobactéries est subdivisé comme suit : 32 provenant de l'échantillon du sol de la zone 'Souareg' et 33 provenant de l'échantillon du sol de 'Sebkha'. Le tableau 2 montre l'origine des isolats selon l'échantillon de sol, l'agent sélectif utilisé et la dilution. La figure 11 montre des colonies isolées sur milieu chitine agar.

Tableau 02. Origine des isolats d'actinobactéries sélectionnés selon le sol, l'agent sélectif et la dilution

Sol	Milieu	Dilution	Agents sélectifs			Témoins	Total
			Chloramphénicol	Pénicilline	Rifampicine		
Echantillon de la zone de Souareg (S)	Chitine-agar	10 ⁻¹	S9, S11, S10	S15, S16, S17,	S1, S2, S3	S19, S20	12
		10 ⁻²	S4, S5, S6, S7, S8, S28	S29, S30, S31, S18	S12 S13 S14	S21, S22	14
		10 ⁻³	S27	S32, S33	S24 S25 S26	S23	7
Echantillon de la zone de Sebkha (B)	Chitine-agar	10 ⁻¹	B21, B22, B20	B13, B14, B15, B16	B17, B18, B19,	B12, B23	12
		10 ⁻²	B27/ B28, B26	B30, B31	B11, B24,	B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10	17
		10 ⁻³	B29	B32	B25	/	3
Total	/	/	17	16	15	17	65



Figure 11. Colonies d'actinobactéries isolées sur milieu Chitine (21^e jour)

1.2.- Purification des actinobactéries

Les 65 isolats sélectionnés ont été l'objet d'une purification sur le milieu ISP2 **Shirling et Gottlieb (1966)**.

Chaque colonie a été repiqué sur ce milieu délicatement en utilisant une pointe fine. Après 10 jours d'incubation, nous avons constaté la croissance de 58 actinobactéries, alors que 3 isolats n'ont pas poussé et 4 autres ont été contaminés par des bactéries et champignons indésirables. La figure 12 montre quelques isolats après leur purification.

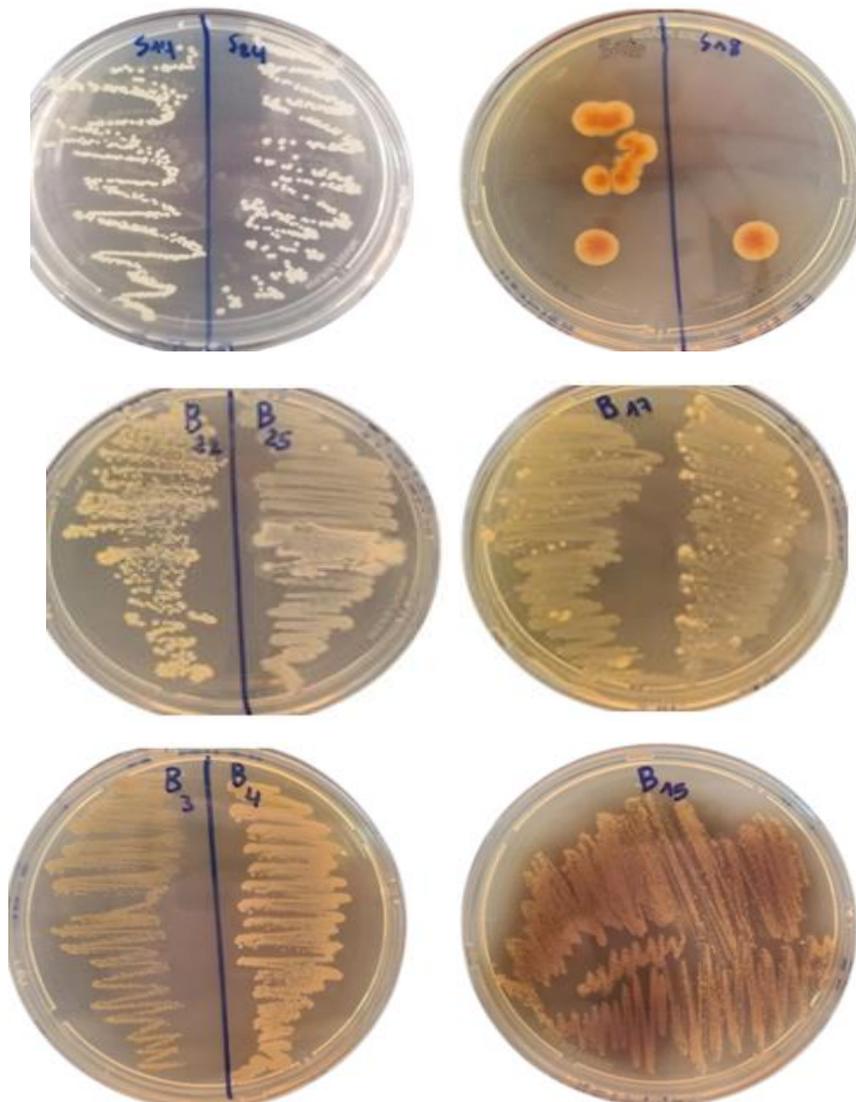


Figure 12 : Actinobactéries purifiées sur milieu ISP2

1.3.- Caractérisation morphologique des isolat

1.3.1.- Etude macroscopique des colonies d'actinobactéries sur milieu ISP2

Cette étude a été effectuée pour les 6 meilleures isolats qui ont présenté une bonne activité antifongique, il s'agit des souches : B1, S18, B4, B7, S14, S12. Les couleurs des mécyliia ont été déterminées par une charte de couleurs (Color Name chart illustrated with centroid color ISSCC-NBS). Les résultats sont consignés dans le tableau 3 ainsi que, la figure 13 qui montre l'aspect des actinobactéries sur milieu ISP2.

Tableau 3: Caractéristiques macroscopiques des souches d'actinobactéries

Souche	Croissance sur ISP2	Mycélium aérien	Mycélium substrat	Pigment diffusible
B1	+	Blanc	Marron foncé	-
B4	+	Blanc	Beige	-
B7	++	Blanc	Beige	-
S18	+++	Rose saumon	Brun rougeâtre	Jaune
S14	+++	Rouge doré	Gris froid	-
S12	++	Gris	Cacao	-

Note : + (croissance faible) ; ++ (croissance moyenne) ; +++ (bonne croissance)

1.3.2.- Etude micromorphologique des isolats

Les souches d'actinobactéries sont observées sur le milieu ISP2 à l'aide d'un microscope photonique aux grossissements (100 et 400). Ces observations sont faites directement sur les boites de Pétri dans le but d'étudier le mycélium en place sans altérer sa structure.

Les principaux caractères notés sont : l'emplacement des spores sur le mycélium aérien, leur agencement (isolées, en chaînes droites ou spiralées, etc.), et la fragmentation ou non du mycélium du substrat. Les résultats ont montré que les souches S12, S14, B4 possédant des chaînes de spore sur le mycélium aérien de type S (chaînes spiralées) et un mycélium de substrat non fragmenté. L'isolat B1 montre des chaînes de spore de type RF (chaînes droites à flexueuses) et un mycélium de substrat fragmenté. Il est à noter que les type des chaînes de spores S et RF caractérisent le genre *Streptomyces*, ce qui indique l'appartenance probable des souches précédentes au genre *Streptomyces*. Par contre, les deux souches S18 et B7, ont montré des chaînes de spores ayant un

agencement différent, ce qui indique leur appartenance probable à des genres autres que *Streptomyces* (Fig. 14)

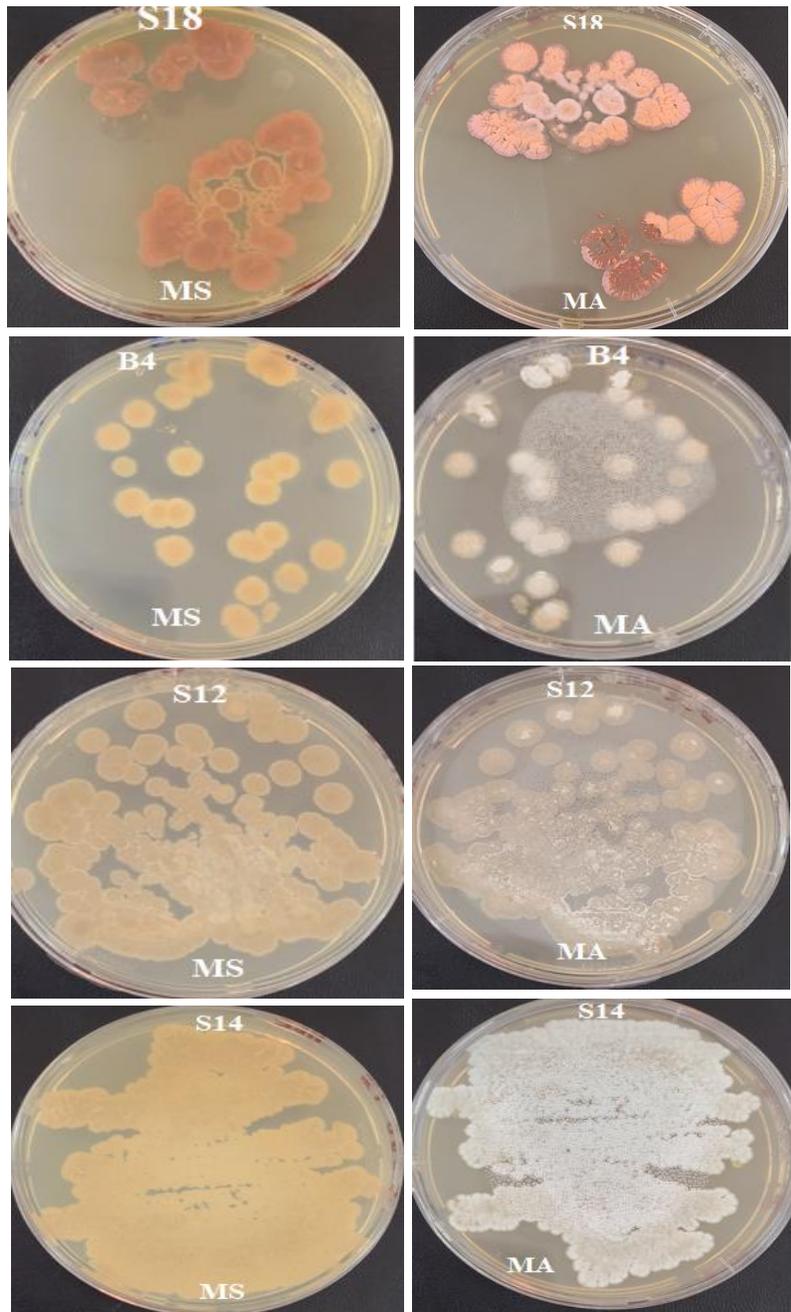


Figure 13 : Macromorphologie des isolats sur milieu ISP2

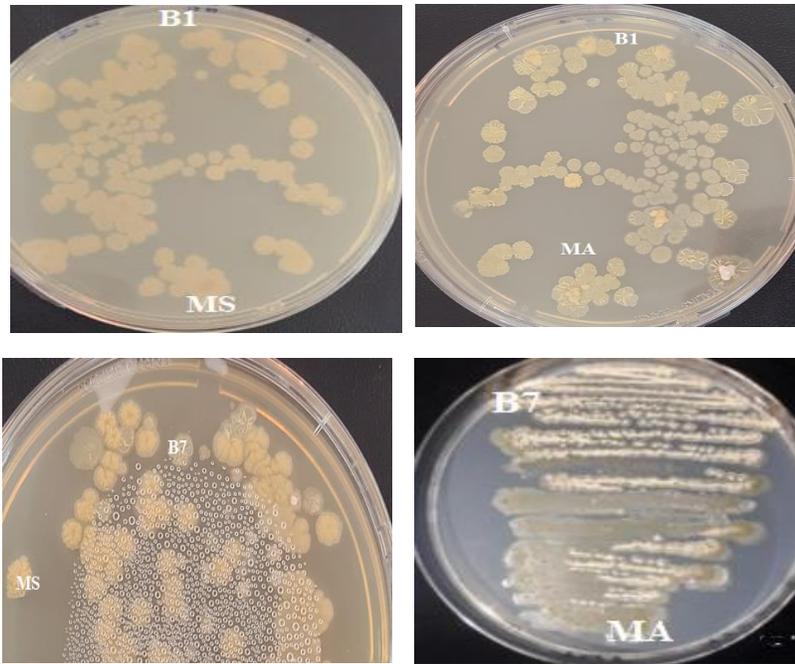


Figure 13 : Macromorphologie des isolats sur milieu ISP2 (la suite)

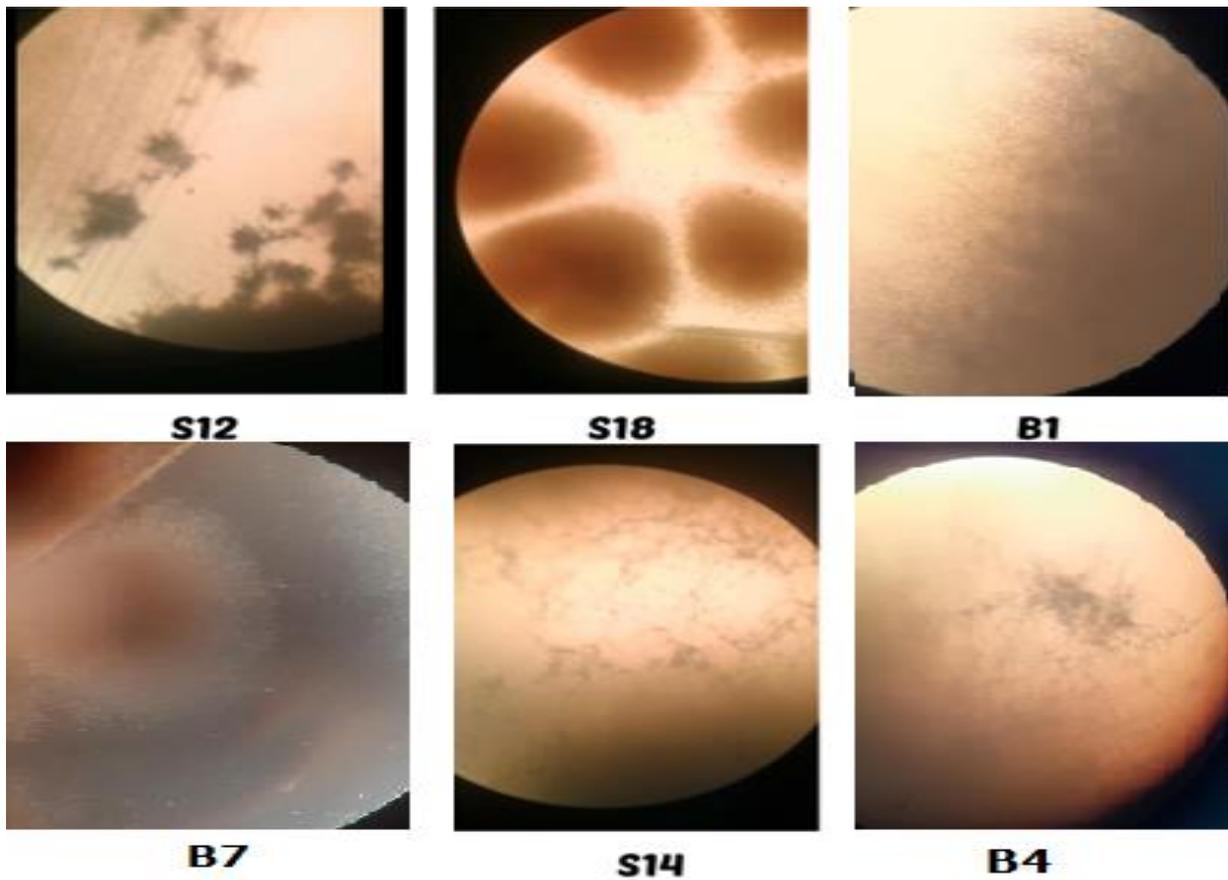


Figure 14 : Micromorphologie des isolats d'actinobactéries

1.4.- Activités antifongique des isolats sur milieu solide (technique des stries croisées)

Il faut rappeler que tous les 58 isolats ont été testés pour leur activité antifongique sur le milieu ISP2 en utilisant la méthode des stries croisées. Les résultats montrent que parmi eux 16 isolats ont présenté une activité antifongique contre au moins une des souches tests utilisée. Les résultats sont illustrés dans la figure 15 et le tableau 4. L'ordre de classement des souches est selon l'activité antifongique décroissante.

Tableau 4 : Activité antifongique des souches d'actinobactéries (méthode des stries croisées)

Souche	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Candida.albicans</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
B1	8 mm	12 mm	11 mm	18 mm
S18	10 mm	10 mm	12 mm	15 mm
B7	12 mm	8 mm	12 mm	12 mm
S12	10 mm	10 mm	12 mm	8 mm
B4	10 mm	8 mm	8 mm	13 mm
S14	0 mm	13 mm	16 mm	7 mm
S21	9 mm	12 mm	8 mm	7 mm
S24	10 mm	10 mm	13 mm	3 mm
B12	10 mm	8 mm	4 mm	13 mm
S8	6 mm	7 mm	9 mm	10 mm
S9	0 mm	0 mm	5 mm	4 mm
S25	Nd	0 mm	8 mm	10 mm
S26	2 mm	2 mm	3 mm	4 mm
B11	5 mm	0 mm	4 mm	8 mm
B19	0 mm	0 mm	9 mm	0 mm
S25	Nd	0 mm	8 mm	10 mm

Note :

La dimension indiquée dans le tableau fait référence à la zone d'inhibition d'activité antifongique des actinobactéries

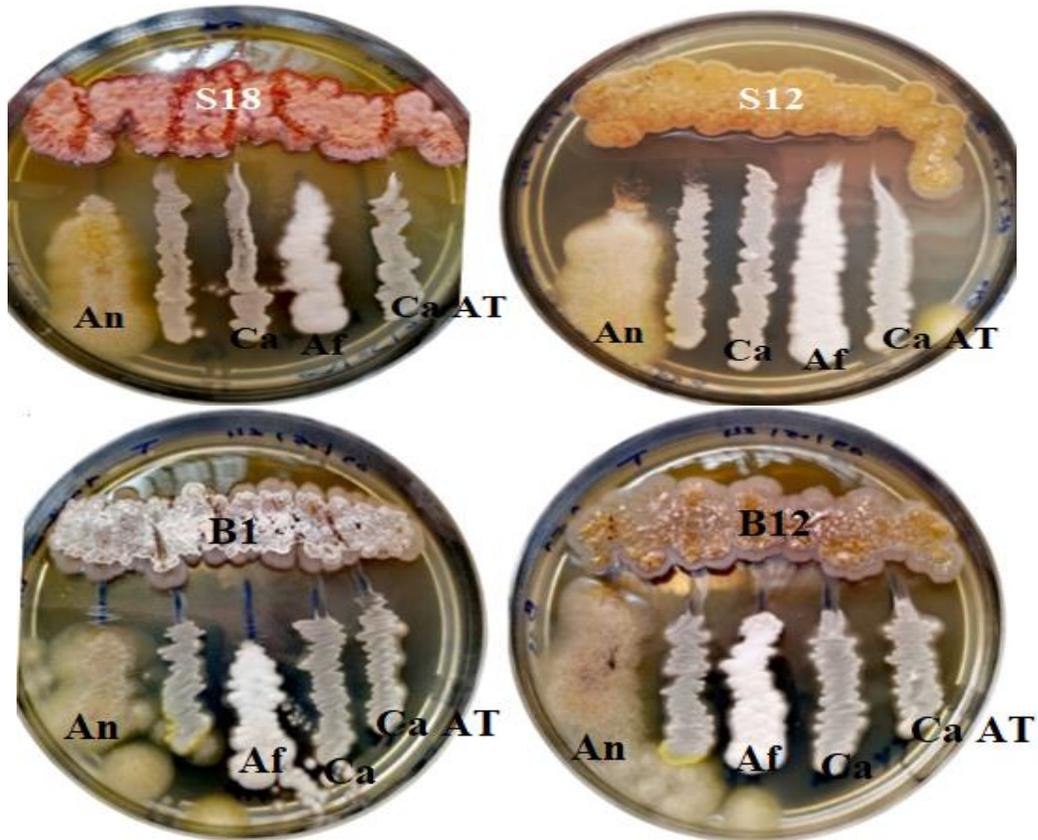


Figure 15 : Activité antifongique par la méthode des stries croisées

1.5.- Cinétique de production d'activité antifongique sur milieu liquide :

La cinétique de production des métabolites antifongiques a été suivie pendant 5 jours en culture batch sur milieu ISP2 pour les 2 isolats B1 et S18 présentant les meilleures activités antifongiques sur milieu solide. Les souches tests utilisés sont *Candida albicans* ATCC 10231 et *Aspergillus fumigatus*. Les résultats ont montré que la production des métabolites actifs débute dès le premier jour d'incubation et aboutit sa maximale au 4^e jour et au 3^e jour d'incubation pour les deux isolats S18 et B1 successivement. Ensuite, elle diminue chez les deux (Les figures 16, 17 et 18)

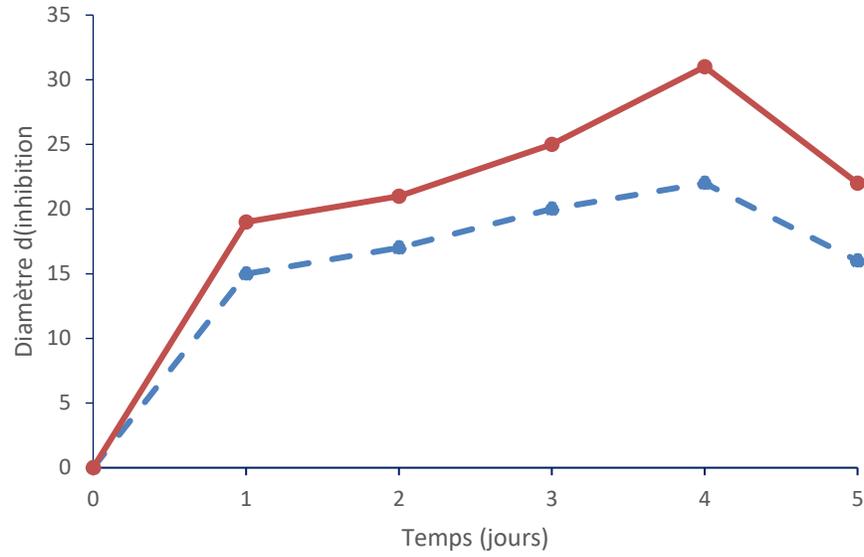


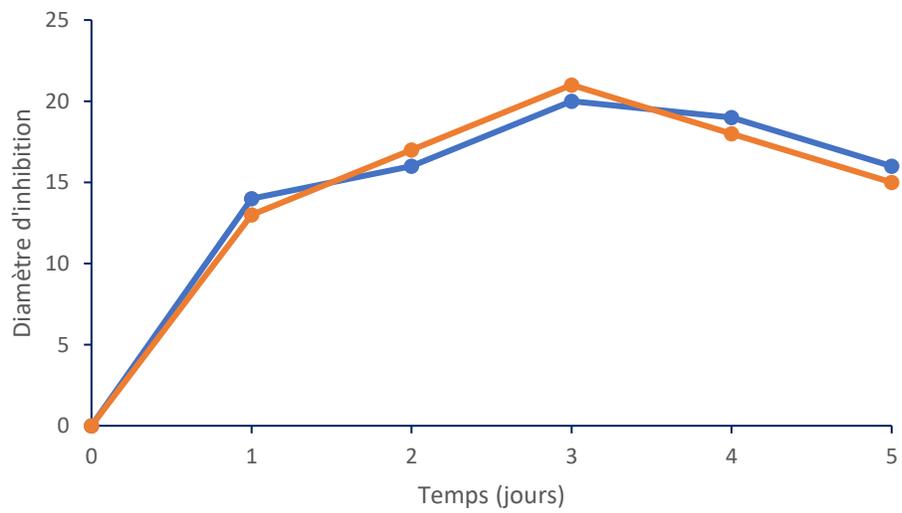
Figure
Cinétique

—●— Candida albicans ATCC 10231 —●— Aspergillus fumigatus

16 :
de

production d'antifongiques de la souche S18 en milieu

ISP2



Figure

—●— Candida albicans ATCC 10231 —●— Aspergillus fumigatus

17 :

Cinétique de production d'antifongiques de la souche B1 en milieu

ISP2

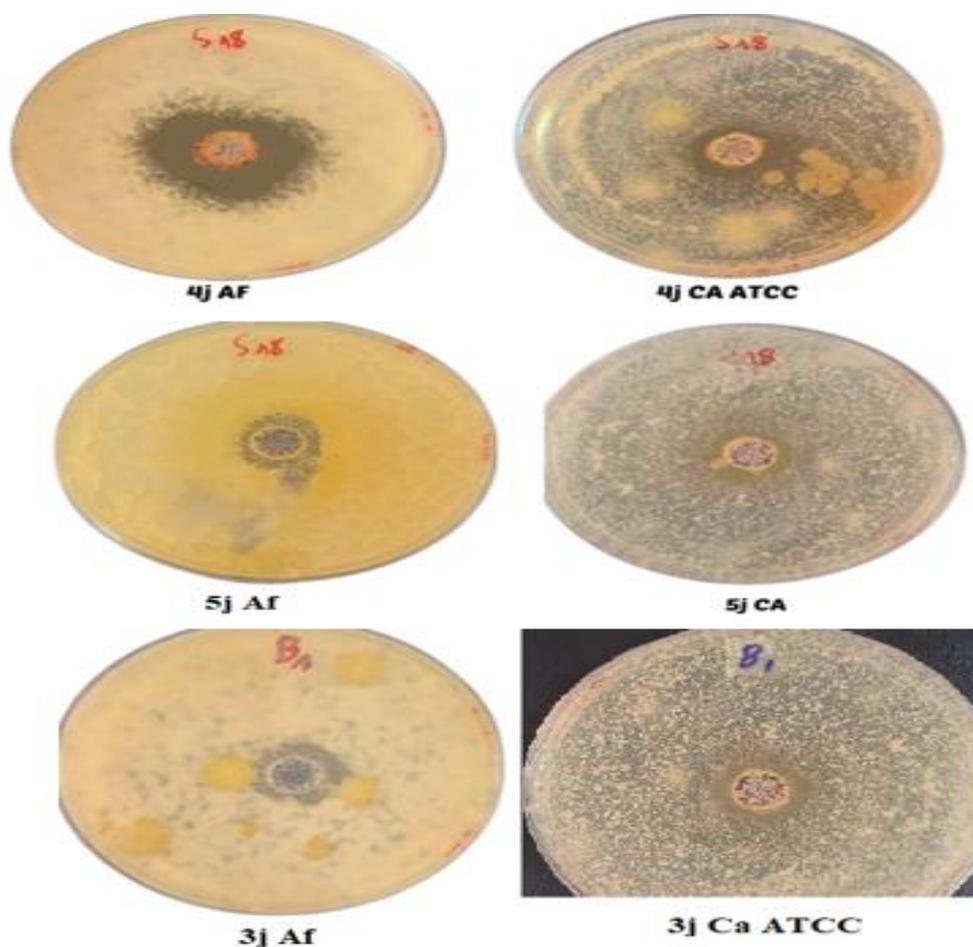


Figure 18 : Activité antifongique produite sur milieu liquide ISP2 des souches S18 et B1 (Méthode des puits)

1.6.- Choix du solvant d'extraction des métabolites antifongiques de la souche S18

Afin de choisir le meilleur solvant extractant les métabolites antifongiques de la souche S18, Quatre solvants de polarité différente ont été utilisés. Il s'agit des solvants (Hexane, Dichlorométhane, Acétate d'éthyle et Butanol). La souche test utilisé est *Candida albicans* ATCC 10231. Les résultats ont montré que le meilleur solvant est le dichlorométhane avec un diamètre d'inhibition de 21 mm (Fig. 19 et 20).

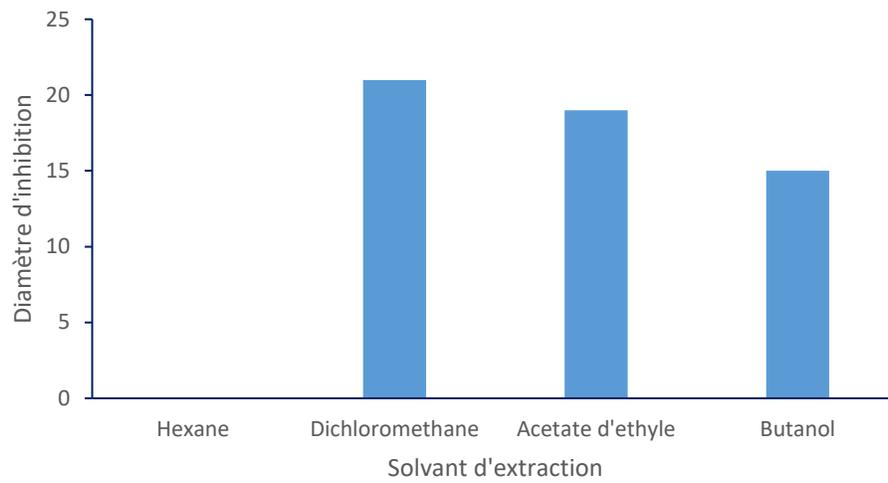


Figure 19 : Activités antifongique des extraits organiques de la souche S18

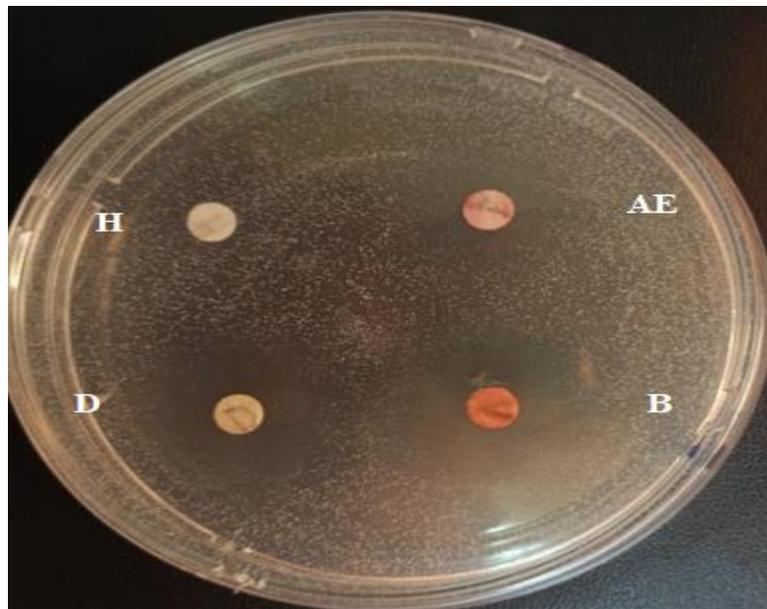


Figure 20 : Test d'antibiogramme des extraits organiques de la souche S1

2.- Discussion :

Dans ce travail, notre recherche a porté sur l'isolement à partir des sols sahariens d'actinobactéries ayant une activité antifongique. Deux échantillons de sol rhizosphériques ont été prélevés de deux palmeraies de Metlili pour l'isolement. Le choix des sols rhizosphériques est basé sur des travaux de recherche antérieur qui ont rapporté que les sols des palmeraies sont plus riches que les autres sols prélevés de regs, d'alluvions, de gisements et des plaines arides. Ainsi, selon **Sabaou et al., (1980; 1992)**, la densité des actinomycètes dans les sols de surface des palmeraies oscille entre 5×10^5 et 5×10^6 ufc/gss (unités formant colonies par gramme de sol sec) par contre, celle des autres sols sahariens, varie entre 10^2 et 10^5 ufc/gss. Ceci est confirmé par **Lee et Hwang. (2002)**, qui ont affirmé que le nombre d'actinobactéries est fortement et positivement corrélé avec le taux de matières organiques présentes dans le sol. En plus, nous avons choisi le milieu chitine-agar pour l'isolement. Celui-ci est le plus préconisé pour l'isolement des actinobactéries d'après **Hayakawa et Nonomura. (1987)**. Au début, nous avons procédé un prétraitement des deux échantillons par la chaleur et l'ajout du carbonate de calcium afin de réduire la contamination. De plus, le traitement chimique au carbonate de calcium améliore l'isolement des actinobactéries (**Matsukawa et al., 2007 ; Hong et al., 2009**). Afin de consolider l'effet des prétraitements précédents, nous avons additionné au milieu d'isolement quelques agents sélectifs à savoir : la pénicilline, le chloramphénicol et la rifampicine. L'ajout de ces antibiotiques à un rôle sélectif et permet de mettre en évidence des genres peu fréquemment ou rarement isolés de par le monde, tels que : *Actinomadura*, *Amycolatopsis*, *Nocardia*, *Nocardiopsis*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Streptosporangium* et *Thermoactinomyces* (**Boudjella, 1994**).

Après l'isolement effectué, un grand nombre de colonies actinobactériennes a été obtenu et nous avons sélectionné sur la base des critères morphologiques 65 isolats. L'examen de ces isolats sous microscope optique nous a indiqué la dominance du genre *Streptomyces* par rapport aux autres genres rares. Il faut rappeler que le genre *Streptomyces* constitue 80 à 95% des Actinomycetales dans divers types de sols et autres substrats de par le monde (**Goodfellow et Williams, 1983**). La mise en évidence des activités antifongiques a été mesurée par la méthode des stries croisées sur milieu ISP2 solide et par le test des puits sur ce même milieu liquide. Sachant que nos souches tests poussent très bien sur ce milieu nous l'avons préféré au milieu de Sabouraud (à base d'extrait de malt et de peptone) habituellement utilisé pour la croissance des champignons. Les résultats

obtenus ont montré que 16 isolats (sur 58) ont une activité antifongique (soit 27 %). Ce pourcentage pourrait apparaître comme relativement compatible par rapport à ceux rapportés par certains auteurs qui ont travaillé dans ce contexte. Nous pouvons citer les travaux de **Alimuddin et al., (2011)** qui ont trouvé 13 Isolat actifs sur 43 (soit 32 %) et **Belyagoubi (2014)** qui a trouvé 10 isolats actifs sur 38 (soit 26 %)

D'après nos résultats, les souches B1 et S18 ont montré des propriétés antagonistes que ce soit sur milieu solide ou liquide beaucoup plus importantes que les autres souches sélectionnées. Nous rappelons que l'activité mesurée est globale ; elle peut résulter soit d'un grand nombre de molécules produites simultanément ou d'une molécule très puissante. Selon **Larpen et Sanglier (1989)**, les actinobactéries peuvent synthétiser plusieurs antifongiques appartenant à différentes familles chimiques, chacune agissant sur un groupe de microorganismes donné. De plus, il est important de rappeler aussi, que les antifongiques sont des métabolites secondaires, leur production dépend à la fois du microorganisme producteur (possession d'enzymes de biosynthèse), de la composition du milieu de culture et des conditions de culture (**Badji, 2006**). Selon **Martin et Demain (1980)**, les composés des milieux de culture ont une grande influence sur la production d'antifongiques. Des sources nutritionnelles de carbone, d'azote et de phosphate affectent fortement cette production. Parfois, c'est l'épuisement de ces sources nutritionnelles qui pourrait déclencher l'initiation de la synthèse d'antifongiques.

Les résultats ont montré que le meilleur solvant d'extraction pour les métabolites antifongiques de la souche S18 est le dichlorométhane. Selon **Buch (2001)**, les antibiotiques, en raison de leurs caractéristiques physico-chimiques, peuvent être extractibles par un solvant tout en étant insolubles dans un autre de polarité différente. En effet, les solvants polaires dissolvent les composés ioniques et hydrophiles par contre, les solvants apolaires tels que le benzène et le dichlorométhane dissolvent les composés hydrophobes (**Chastrette et Carretto, 1985**). Des solvants de polarité intermédiaire tels que le diméthylformamide (DMF), le diméthylacétamide (DMA), le propylène-glycol ou le butanol sont utilisés pour l'extraction de molécules moyennement polaires comme la nystatine et l'amphotéricine B (**Leelef et al., 1996**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A la fin de cette étude nous pouvons dire que notre travail effectué était intéressant, car nous avons pu isoler plusieurs souches d'actinobactéries possédant une activité antifongique contre des souches tests fongiques pathogène pour l'Homme, l'animal ou les plantes. Ainsi, 65 isolats ont été sélectionnés et après le repiquage 58 isolats ont pu croître. Leur examen microscopique a montré la prédominance du genre *Streptomyces*. Leur test d'activité antifongique par la méthode de stries croisées a révélé 16 isolats ayant une activité au moins contre une souche test utilisée. Cependant il y a 6 isolats ayant les diamètres d'inhibition les plus élevés contre les germes cibles. Il s'agit des isolats : B1, B4, B7, S18, S14 et S12. Parmi ces derniers, les 2 isolats B1 et S18 possèdent les plus fortes activités. Le suivi de la production des métabolites antifongiques pour ces deux isolats a montré une activité maximale au 4 jours d'incubation pour la souche S18 (22mm contre *Candida albicans* et 31mm contre *Aspergillus fumigatus*) et au 3 jours d'incubation pour la souche B1 (20mm contre *Candida albicans* et 21mm contre *Aspergillus fumigatus*).

Le solvant choisi pour extraire les métabolites antifongiques de la souche S18 et le dichlorométhane. En effet ce dernier, et parmi les 4 solvants testés, a donné le diamètre d'inhibition le plus élevé contre *Candida albicans* 21mm.

Pour accomplir ce travail au futur et bénéficier de cette étude, il est important de faire ce qui suit :

- Réaliser une étude phylogénétique pour les 6 isolats actifs
- Extraire les métabolites antifongiques actifs au moins pour les deux isolats S18 et B1
- Procéder la semi purification et la purification de ces métabolites
- A la fin caractériser les structures chimiques par analyses spectroscopiques sont indispensables notamment l'infrarouge, la spectrométrie de masse et les résonnances magnétiques nucléaires au proton et au C13.
-

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Ait Assou, S., Anissi, J., Sendide, K., & El Hassouni, M. (2023). Diversity and Antimicrobial Activities of Actinobacteria Isolated from Mining Soils in Midelt Region, Morocco. *The Scientific World Journal*, 2023, 1-19.
2. Alimuddin. A., Widada. J., Asmara. W., Mustofa. M. (2011). Antifungal Production of a Strain of Actinomycetes spp Isolated from the Rhizosphere of Cajuput Plant: Selection and Detection of Exhibiting Activity Against Tested Fungi. *Indonesian Journal of Biotechnology*. 16, pp.1-10.
3. Aouiche, A.; Bijani, C.; Zitouni, A.; Mathieu, F.; Sabaou, N. Antimicrobial activity of saquayamycins produced by *Streptomyces* spp. PAL114 isolated from a Saharan soil. *J. Mycol. Med.* 2014, 24, 17–23.
4. Aouiche, A.; Meklat, A.; Bijani, C.; Zitouni, A.; Sabaou, N.; Mathieu, F. Production of vineomycin A1 and chaetoglobosin A by *Streptomyces* sp. PAL114. *Ann. Microbiol.* 2015, 65, 1351–1359.
5. Badji B., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. et Sabaou N. (2006). Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura* sp. AC104 isolated from an Algerian Saharan soil. *Canadian journal of microbiology* 52 (4): 373–382.
6. Badji, B., Riba, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Sabaou, N. (2005). Activité antifongique d'une souche d'*Actinomadura* d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxinogènes. *Journal de Mycologie Médicale*, 14 (4), 211-219
7. Beck, G., Puchelle, E., Plotkowski, C., & Peslin, R. (1988). Effect of growth on surface charge and hydrophobicity of *Staphylococcus aureus*. *Annales de l'Institut Pasteur / Microbiologie*, 139(6), 655-664.
8. Belghit, S., Badji, B., Melklat, A., Bakli, M., Zitouni, A., Holtz, M. D., & Bouras, N. (s. d.). Antifungal activities of a new strain of *streptomyces* isolated from an Algerian soil against phytopathogenic and mycotoxigenic *Aspergillus carbonarius* and a. Niger. 54 (2), 142-149
9. Belghit, S.; Driche, E.H.; Bijani, C.; Zitouni, A.; Sabaou, N.; Badji, B.; Mathieu, F. Activity of 2,4-di-tertbutylphenol produced by a strain of *Streptomyces mutabilis* isolated from a Saharan soil against *Candida albicans* and other pathogenic fungi. *J. Mycol. Med.* 2016, 26, 160–169.

10. Belyagoubi L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat
11. Boudjelal-Bencheikh. F. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. These de doctorat. ENS – Kouba, Alger
12. Boudjella H. (1994). Influence des milieux de culture, des antibiotiques et du pré-traitement des échantillons à la chaleur sur la sélection des genres et des espèces d'actinomycètes rares de quelques sols sahariens. Magister de Microbiologie, E.N.S. de Kouba. 177
13. Boudjella, A. (1994). Étude de l'activité antifongique de la chitosane et de ses dérivés vis-à-vis de champignons phytopathogènes. Thèse de doctorat, Université d'Alger, Alger, Algérie.
14. Boudjella, H.; Bouti, K.; Zitouni, A.; Mathieu, F.; Lebrihi, A.; Sabaou, N. Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium* Sg 10 isolated from a Saharan soil. *Microbiol. Res.* 2006, 161, 288–298.
15. Boudjella, H.; Zitouni, A.; Coppel, Y.; Mathieu, F.; Monje, M.C.; Sabaou, N.; Lebrihi, A. Antibiotic R2, a new angucyclinone compound from *Streptosporangium* sp. Sg3. *J. Antibiot.* 2010, 63, 709–711.
16. Buch, A. (2001). Etude thermodynamique et cinétique de l'extraction liquide-liquide du Nickel (II) par la 2-Ethylhexanal Oxime et un mélange de 2-Ethylhexanal Oxime et d'acide Di-2-(Ethylhexyl) phosphorique. Université Pierre et Marie Curie-Paris VI. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00011562/>.
17. Bundale, S., Singh, J., Begde, D., Nashikkar, N., & Upadhyay, A. (2018). Culturable rare actinomycetes from Indian forest soils: Molecular and physicochemical screening for biosynthetic genes. *Iranian Journal of Microbiology*, 10(2), 132-142.
18. Carle S. (2003). Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmactuel* 36 (1).
19. Chastrette, M. et Carretto J. (1985). Étude statistique des effets de solvant. III. Calcul et interprétation de paramètres empiriques de polarité à partir de propriétés physicochimiques des solvants purs. *Canadian journal of chemistry* 63 (12): 3492–3498.

20. Chaturvedi, V., Springer, D. J., Behr, M. J., Ramani, R., Li, X., Peck, M. K., Ren, P., Bopp, D. J., Wood, B., Samsonoff, W. A., Butchkoski, C. M., Hicks, A. C., Stone, W. B., Rudd, R. J., & Chaturvedi, S. (2010). Morphological and Molecular Characterizations of Psychrophilic Fungus *Geomyces destructans* from New York Bats with White Nose Syndrome (WNS). *PLoS ONE*, 5(5), e10783.
21. Courtecuisse, R. (2008). Systématique des champignons macromycètes et pratique de la mycologie sur le terrain. *Le Journal de Botanique*, 41, 21–25.
22. Courtecuisse, R., Duhem, B. (2013). *Champignons de France et d'Europe*. Delachaux et Niestlé, 544 p. Paris.
23. Donadio, S., Stavri, H. R., & John, M. (2002). Antibiotics from actinomycetes: Nature's treasure trove. *Natural Product Reports*, 19(5), 461-498. <https://academic.oup.com/femsre/article/41/3/392/3830259>
24. Donadio, S., Stavri, H. R., & McArthur, M. A. (2002). The role of bacterial resistance in the discovery of new antibiotics. *Current Opinion in Microbiology*, 5(5), 499-503.
25. Du, L., Haldar, S., King, J. B., Mattes, A. O., Srivastava, S., Wendt, K. L., You, J., Cunningham, C., & Cichewicz, R. H. (2023). Persephacin is a broad-spectrum antifungal aureobasidin metabolite that overcomes intrinsic resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Natural Products*, 86(8), 1980-1993. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.3c00382>
26. Elbendary, A. A., Hessain, A. M., El-Hariri, M. D., Seida, A. A., Moussa, I. M., Mubarak, A. S., Kabli, S. A., Hemeg, H. A., & El Jakee, J. K. (2018). Isolation of antimicrobial producing Actinobacteria from soil samples. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(1), 44-46. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.05.003>
27. Fons, F., Morel, S., Rapior, S. (2018). L'importance des champignons pour l'Homme: intérêts, dangers et perspectives. *Annals de la société d'horticulture et d'histoire naturelle de l'hérault*, 157, 31–51.
28. Ghannoum, M. A., & Perfect, J. R. (Éds.). (2019). *Antifungal therapy* (Second edition). CRC Press
29. Gnat, S., Łagowski, D., Nowakiewicz, A., & Dyląg, M. (2021). A global view on fungal infections in humans and animals: Infections caused by dimorphic fungi and dermatophytoses. *Journal of Applied Microbiology*, 131(6), 2688-2704.

30. Goodfellow M (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In: Whitman WB, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Ludwig W, Suzuki KI, Parte A (eds) Bergey's manual of systematic bacteriology, vol 5, 2nd edn, The Actinobacteria, Part B. Springer, New York : 33–34.
31. Goodfellow, M. (2012). Actinobacteria. In Bergey's manual of systematic bacteriology (Vol. 5, pp. 1-1136). Springer, New York.
32. Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. Annual Review of Microbiology, 37, 189-216.
<https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.mi.37.100183.001201>
33. Goulet, P., Picard, B., & Krishnamoorthy, R. (1988). An evaluation of allozyme amino acid substitutions for the study of molecular relationships in *Providencia* strains. Annales de l'Institut Pasteur / Microbiologie, 139(6), 689-702. [https://doi.org/10.1016/0769-2609\(88\)90074-9](https://doi.org/10.1016/0769-2609(88)90074-9)
34. Hancock, R. E. W., & Strohl, K. (2001). Antibacterial peptides and lipopeptides: A perspective. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45(12), 3787-3803.
<https://journals.asm.org/toc/aac/0/0>
35. Hancock, R. E. W., & Strohl, K. (2001). Antibacterial peptides: Mechanisms of action and potential applications. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45(3), 638-659.
36. Hayakawa M. and Nonomura H. (1987). Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. J Ferm Technol. 65 :501–509.
37. Hazarika, S. N., & Thakur, D. (2020). Actinobacteria. In Beneficial Microbes in Agro-Ecology (p. 443-476). Elsevier.
38. Hong, K. Gao, A.H. Xie, Q.Y. Gao, H. Zhuang, L. Lin, H.P. et al. (2009). Actinomycetes for marine drug discovery isolated from mangrove soils and plants in China Mar Drugs, 7 pp. 24-44
39. Idris khodja, F., Hamini-kadar. N., Gacem, M., Kihal.M., (2023). Propriétés antifongiques et solubilisantes de phosphate in vitro des métabolites secondaires produits par une *Streptomyces* sp. T002 rare. *Agrobiologia*, 13(1): 3384-3392
40. Karthik, L. (Éd.). (2022). Actinobacteria : Microbiology to Synthetic Biology. Springer Nature Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-5835>

41. Katsuyama, Y. (2019). Mining novel biosynthetic machineries of secondary metabolites from actinobacteria. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 83(9), 1606-1615.
42. Khebizi, N.; Boudjella, H.; Bijani, C.; Bouras, N.; Klenk, H.P.; Pont, F.; Mathieu, F.; Sabaou, N. Oligomycins A and E, major bioactive secondary metabolites produced by *Streptomyces* sp. strain HG29 isolated from a Saharan soil. *J. Mycol. Med.* 2018, 28, 150–160.
43. Kocak, F. O., Gencbay, T., & Isik, K. (s. d.-b). Selective Isolation and Molecular Identification of Different Actinomycetes from Various Habitats.
44. Kullberg, B.J., Sobel, J.D., Ruhnke, M., Pappas, P.G., Viscoli, C., Rex, J.H., et al. (2005). Voriconazole versus a regimen of amphotericin B followed by fluconazole for candidaemia in non-neutropenic patients: a randomised non-inferiority trial. *Lancet*, 366(9495), 1435–1442.
45. Kuse, R., Lewis, R. E., Wiederhold, T., Perfect, J., Donnelly, S., The Liposomal AmB Study Group, & The Mycoses Study Group. (2007). Efficacy and safety of liposomal amphotericin B versus amphotericin B deoxycholate for invasive fungal infections in immunocompromised patients: A randomized, controlled, double-blind trial. *Clinical Infectious Diseases*, 44(2), 180-189. <https://doi.org/10.1086/510385>
46. Lahoum, A.; Sabaou, N.; Bijani, C.; Bouras, N.; Pont, F.; Snini, S.P.; Mathieu, F. Antimicrobial activities of novel bipyridine compounds produced by a new strain of *Saccharothrix* isolated from Saharan soil. *Saudi Pharm. J.* 2019, 27, 56–65.
47. Lamari, L.; Zitouni, A.; Dob, T.; Sabaou, N.; Lebrihi, A.; Germain, P.; Seguin, E.; Tillequin, F. New dithiopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. II. Physicochemical properties and structure elucidation. *J. Antibiot.* 2002, 55, 702–706.
48. Larkin, R. P. (2003). Characterization of soil microbial communities under different potato cropping systems by microbial population dynamics, substrate utilization, and fatty acid profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(11), 1451-1466.
49. Larpent J. P. et Sanglier J. J. 1989. *Biotechnologie des antibiotiques*. Masson.
50. Leclef B., Cerfontaine P., Nicolas J.M., Wantier H., Trouet A. (1996). - Preparation of liposome and lipid complex compositions. *Euro. Pat.*, 16, 121-126.
51. Lee, G. S., Adhikari, M., Yang, J. E., Kim, H. S., Han, K. S., Ha, K.-S., & Park, D. H. (2021). Bacterial Community Is Affected by Locations and Time Rather Than Potato Varieties but

52. *Streptomyces* spp. Are Related to Potato Varieties. *Diversity*, 13(12), 659.
<https://doi.org/10.3390/d13120659>
53. Lee, J. Y., & Hwang, B. K. (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(5), 407-417.
<https://doi.org/10.1139/w02-025>
54. Liu, H., Jiang, S., Ou, J., Tang, J., Lu, Y., & Wei, Y. (2022). Investigation of soil microbiota reveals variable dominant species at different land areas in China. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 36(1), 245-255.
55. Marchetti, O., & Calandra, T. (2003). Traitement des infections invasives à *Candida* et *Aspergillus* : quoi de neuf en 2003 ? *Maladies infectieuses*, 61 : 701-706
56. Martín J. F. et Demain A. L. (1980). Control of antibiotic biosynthesis. *Microbiological reviews* 44 (2): 230.
57. Martin, J. F., & Demain, A. L. (1980). The influence of medium composition on antifungal production. In C. C. Wang (Ed.), *Biotechnology and Bioengineering* (pp. 345-367). John Wiley & Sons.
58. Matsukawa, E., Nakagawa, Y., Iimura, Y., Hayakawa, M. 2007. Stimulatory effect of indole acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. *Actinomycetologica*. 21, 32-39.
59. Meklat, A., Bouras, N., Mokrane, S., Zitouni, A., Djemouai, N., Klenk, H.-P., Sabaou, N., & Mathieu, F. (2020). Isolation, Classification and Antagonistic Properties of Alkalitolerant Actinobacteria from Algerian Saharan Soils. *Geomicrobiology Journal*, 37(9), 826-836.
60. Merrouche, R.; Bouras, N.; Coppel, Y.; Mathieu, F.; Monje, M.C.; Sabaou, N.; Lebrihi, A. Dithiopyrrolone antibiotic formation induced by adding valeric acid to the culture broth of *Saccharothrix algeriensis*. *J. Nat. Prod.* 2010, 73, 1164–1166
61. Merrouche, R.; Bouras, N.; Coppel, Y.; Mathieu, F.; Sabaou, N.; Lebrihi, A. New dithiopyrrolone antibiotics induced by adding sorbic acid to the culture medium of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *FEMS Microbiol. Lett.* 2011, 318, 41–46.
62. Merrouche, R.; Yekkour, A.; Coppel, Y.; Bouras, N.; Lamari, L.; Zitouni, A.; Mathieu, F.; Lebrihi, A.; Sabaou, N. Effective biosynthesis of benzoyl-pyrrothine dithiopyrrolone antibiotic by cinnamic acid-precursor addition in culture of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Lett. Appl. Microbiol.* 2019, 68, 165–1

63. Mohamad Talebi, M., MeskiniMood, S., Shamsnia, H., & Lashgari, N.-A. (s. d.). Anti-Fungal Properties of Actinobacters. 45(3).
64. Mora-Duarte, J. Robert Betts, M.D., Coleman Rotstein, M.D., Arnaldo Lopes Colombo, M.D., Luis Thompson-Moya, M.D., Juanita Smietana, B.S., Robert Lupinacci, M.S., Carole Sable, M.D., Nicholas Kartsonis, M.D., and John Perfect, M.D. (2002). Comparison of Caspofungin and Amphotericin B for Invasive Candidiasis. *The new England journal of medicine*. 347, 2020-2029.
65. Mueller, G. M., & Schmit, J. P. (2007). An estimate of the lower limit of global fungal diversity. *Biodiversity and Conservation*, 16(1), 265-278.
66. Nabors M., 2008. *Biologie végétale. Structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies*. Pearson Education, 614 p. Paris.
67. Nasroui, O. (2015). Champignons: Diversité et importance dans l'environnement. *Revue des Sciences et de la Technologie*, 10(1), 5-14.
68. Nef H.M., Möllmann H., Hilpert P., Krause N., Troidl C., Weber M., Rolf A., Dill T., Hamm C. & Elsässer A., 2009. Apical regional wall motion abnormalities reminiscent to Tako-Tsubo cardiomyopathy following consumption of psychoactive fungi. *International Journal of Cardiology* 134 (1) : e39-41. doi: 10.1016/j.ijcard.2007.12.064.
69. Nouasri, A., & zitouni, A. (2023). Étude taxonomique de deux genres d'actinobactéries isolés de sols sahariens algériens.
70. Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D., Ostrosky, M. H., Hajdu, R. H., Bolanos, J. L., & Bille, J. (2007). Prospective study of anidulafungin versus fluconazole for treatment of invasive fungal infections: Final results. *Clinical Infectious Diseases*, 44(2), 229-241. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8880753/>
71. Pathom-aree, W., Matak, A., Rangseekeaw, P., Seesuriyachan, P., & Srinuanpan, S. (2021). Performance of Actinobacteria isolated from rhizosphere soils on plant growth promotion under cadmium toxicity. *International Journal of Phytoremediation*, 23(14), 1497-1505.
72. Petosa, A. C., Hutton, B. A., & Arvan, P. (2018). Fungal diseases: An overview. *Current Opinion in Microbiology*, 45, 10-16
73. Petosa, A. C., Parthasarathy, R., & Medoff, G. X. (2018). Fungal diseases in the immunocompromised host: Challenges and advances in diagnosis and treatment. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4), 1068-1096.

74. Rai, R. V., & Bai, J. A. (2022). Ecology of actinomycetes. In R. V. Rai & J. A. Bai (Eds.), *Natural Products from Actinomycetes: Diversity, Ecology and Drug Discovery* (pp. 189-216). Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-6132-7>
75. Rai, R. V., & Bai, J. A. (Éds.). (2022). *Natural Products from Actinomycetes : Diversity, Ecology and Drug Discovery*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-6132-7>
76. Ranjani, A., Dhanasekaran, D., & Gopinath, P. M. (2016). An Introduction to Actinobacteria. In D. Dhanasekaran & Y. Jiang (Éds.), *Actinobacteria—Basics and Biotechnological Applications*. InTech. <https://doi.org/10.5772/62329>
77. Rapilly F. (1968). – Techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann. Epiphy.*, 19, numéro hors-série.
78. Reboli, A. C., Rotstein, C., Pappas, P. G., Chapman, S. W., Kett, D. H., Kumar, D., Betts, R., Wible, M., Goldstein, B. P., Schranz, J., Krause, D. S., & Walsh, T. J. (2007). Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *New England Journal of Medicine*, 356(24), 2472-2482. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa066906>
79. Rex, J. H., Bennett, J. E., Sugar, A. M., Pappas, P. G., Van der Horst, C. M., Edwards, J. E., Washburn, R. G., Scheld, W. M., Karchmer, A. W., Dine, A. P., & The Candidemia Study Group, & The National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. (1994). A randomized trial comparing fluconazole with amphotericin B for the treatment of candidemia in patients without neutropenia. *New England Journal of Medicine*, 331(20), 1325-1330. <https://doi.org/10.1056/NEJM199411173312001>
80. Rohilla, R., Mohanty, A., Meena, S., Bora, M., Singh, A., Kaistha, N., & Gupta, P. (2021). Epidemiology of mycotic infections: Experience from a tertiary care center of Uttarakhand, India. *Tropical Journal of Pathology and Microbiology*, 7(3), 93-98.
81. Sabaou N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A., Lamari L., Lefèbvre G. et Germain P. (1998). les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes, rares producteurs d'antibiotiques. *Science et changements planétaires/Sécheresse* 9 (2): 147–153.
82. Sabaou N., Hacène H., Bennadji A., Bennadji H., et Bounaga N. (1992). Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne. *Canadian Journal of Microbiology* 38 (10): 1066–1073.

83. Sabaou, N., & Bounaga, N. (1980). Actinomycetes from Algerian soils. In Proceedings of the International Symposium on Microbial Ecology (pp. 359-365). <https://link.springer.com/>
84. Sabaou, N., & Bounaga, N. (1992). Actinomycetes in Saharan soils. In Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology (pp. 637-642). <https://link.springer.com/>
85. Sabaou, N., Boudjella, A., & Idrissa, M. (1998). Antifungal activity of chitosan and its derivatives against phytopathogenic fungi. *Polymer Degradation and Stability*, 61(2), 213-218.
86. Sapkota, A., Thapa, A., Budhathoki, A., Sainju, M., Shrestha, P., & Aryal, S. (2020). Isolation, Characterization, and Screening of Antimicrobial-Producing Actinomycetes from Soil Samples. *International Journal of Microbiology*, 2020, 1-7.
87. Sayed, A. M., Hassan, M. H. A., Alhadrami, H. A., Hassan, H. M., Goodfellow, M., & Rateb, M. E. (2020). Extreme environments: Microbiology leading to specialized metabolites. *Journal of Applied Microbiology*, 128(3), 630-657.
88. Selim, M. S. M., Abdelhamid, S. A., & Mohamed, S. S. (2021). Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 72.
89. Semwal, P., Rawat, V., Sharma, P., & Baunthiyal, M. (2018). Actinobacteria from Cow Feces: Isolation, Identification and Screening for Industrially Important Secondary Metabolites. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 46(1), 68-76.
90. Senhaji, O., Faid, M., Elyachioui, M., & Dehhaoui, M. (2005). Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de Mycologie Médicale*, 15(4), 220-229.
91. Shirling E.B. et Gottlieb D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species 1. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 16 (3): 313–340.
92. Soulier-Zaninka, M., Dupont, B., & Ribaud, P. (2024). Classification des champignons pathogènes. *Revue Francophone de Mycologie Médicale*, 34(2), 456-478. <https://doi.org/10.1016/j.rfmm.2023.06.009>
93. Thirumurugan, D., Cholarajan, A., Raja, S. S. S., & Vijayakumar, R. (2018). An Introductory Chapter: Secondary Metabolites. In R. Vijayakumar & S. S. S. Raja (Éds.), *Secondary Metabolites—Sources and Applications*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.7976>
94. Tiwari, K., & Gupta, R. K. (2013). Diversity and isolation of rare actinomycetes: An overview. *Critical Reviews in Microbiology*, 39(3), 256-294. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.709819>

95. Wang, X., Zhang, M., Gao, J., Pu, T., Bilal, M., Wang, Y., & Zhang, X. (2018). Antifungal activity screening of soil actinobacteria isolated from Inner Mongolia, China. *Biological Control*, 127, 78-84.
96. Weeraphan, T., Supong, K., Sripreechasak, P., Jutakanoke, R., Kowinthanaphat, S., Tanasupawat, S., Pittayakhajonwut, P., & Phongsopitanun, W. (2023). *Streptomyces rugosipiralis* sp. Nov., a Novel Actinobacterium Isolated from Peat Swamp Forest Soil That Produces Ansamycin Derivatives and Nocardamines. *Antibiotics*, 12(9), 1467. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12091467>
97. Wiederhold, N. (2017). Antifungal resistance: Current trends and future strategies to combat. *Infection and Drug Resistance*, 10, 249-259.
98. Williams, S. T. (1989). Genus *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 4, 2452–2492.
99. World Health Organization. (2022). Global health threats: Emerging fungal pathogens. Retrieved from <https://www.who.int/news/item/2022-emerging-fungal-pathogens>
100. Yan, B., Liu, N., Liu, M., Du, X., Shang, F., & Huang, Y. (2021). Soil actinobacteria tend to have neutral interactions with other co-occurring microorganisms, especially under oligotrophic conditions. *Environmental Microbiology*, 23(8), 4126-4140.
101. Yasen, A., Aini, A., Wang, H., Li, W., Zhang, C., Ran, B., Tuxun, T., Maimaitinijati, Y., Shao, Y., Aji, T., & Wen, H. (2020). Progress and applications of single-cell sequencing techniques. *Infection, Genetics and Evolution*, 80, 104198. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104198>
102. Zhang, Q., Liu, F., Zeng, M., Mao, Y., & Song, Z. (2021). Drug repurposing strategies in the development of potential antifungal agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(13), 5259-5279.
103. Zitouni A., Lamari L., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Gaouar A., Mathieu F., Lebrihi A., et Labeda D. P. (2004). *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil . *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 54 (4): 1377–1381.

Webographie:

<https://urlz.fr/rlaw> , (Consulté le 03 juin 2024)

ANNEXES

Annexes

La composition des milieux de culture

Milieu ISP 2 Solide

Format de milieux Extrait de levure 4 g/l, extrait de malt 10 g/l, Glucose 4 g/l, gélose 20 g/l /20g de Agar / 1000 ml d'eau distillée

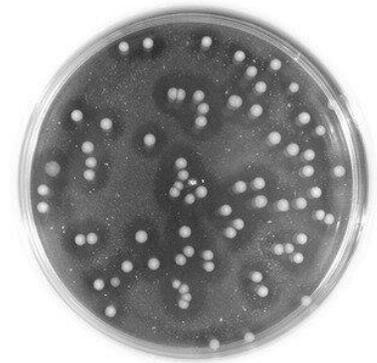


Milieu ISP2 semi-solide

Format de milieux: Extrait de levure 4 g/l, extrait de malt 10 g/l, Glucose 4 g/l, gélose 20 g/l 12 g d'agar / 1000 ml d'eau distillée

Milieu ISP2 liquide

Format de milieux : Extrait de levure 4 g/l, extrait de malt 10 g/l, Glucose 4 g/l, /1000 ml d'eau distillée



Milieu "Chitine Vitamines"

Chitine : 2 g/ K_2HPO_4 : 0,35 g/ KH_2PO_4 : 0,15 g/
 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,2 g/ $NaCl$: 0,3 g/ $CaCO_3$: 0,02 g/
 $FeSO_4 \cdot H_2O$: 10 mg/ $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$: 1 mg/ $MnCl_2$: 1 mg/
Agar : 18 g/Eau distillée q.s.p. : 1000 ml/pH : 7,2

Potato Dextrose Agar (PDA)

Extrait de pomme de terre : 200 g/l /Dextrose : 20 g/l /Agar : 15 g/l/Eau distillée : q.s.p. 1000 ml.



Calcul de d'antibiotique

Pénicilline			Rifampicine		
	25mg/ml			10mg/ml	
1g	—————>	1000000ug	1g	—————>	1000000ug
0.000025g	—————>	25ug	0.00001g	—————>	10ug
Chloramphénicol			Cycloheximide		
	25mg/ml			50mg/ml	
1g	—————>	1000000ug	1g	—————>	1000000ug
0.000025g	—————>	25ug	0.00005g	—————>	50ug

Les Produits Utilisé dans la composition de Milieu



بحث في أترية صحراوية عن بكتيريا هيفية تمتلك أنشطة مضادة للفطريات

ملخص:

تمحورت الدراسة حول عزل البكتيريا الشعاعية من تربة الصحراء الكبرى، التي تتميز بوفرة وتنوع الأجناس البكتيرية فيها. الهدف من هذا البحث هو عزل بكتيريا هيفية تتمتع بنشاط مضاد للفطريات من التربة الصحراوية، حيث تم جمع عينات التربة من منطقتين مختلفتين بالقرب من واحة متليلي (السوارق، السبخة). تم عزل العديد من هذه البكتيريا في وسط زراعي يحتوي على "Chitine agar"، تلا ذلك اختبار 65 عزلة، منها 58 عزلة أظهرت نمواً جيداً. أظهر الفحص المجهرى تفوق جنس *Streptomyces*، وأظهرت اختبارات نشاط التضاد أن 16 عزلة تمتلك نشاطاً مضاداً للفطريات، من بينها ست عزلات هي: B1, B4, B7, S12, S18, S14. أظهرت دراسة حركية إنتاج المستقبلات المضادة للفطريات في الوسط السائل (ISP2) أقصى نشاط في اليوم الرابع من الحضنة للسلالة S18 (22 ملم ضد *Candida albicans* و 31 ملم ضد *Aspergillus fumigatus*). كما أظهرت السلالة B1 أقصى إنتاج لها في اليوم الثالث من الحضنة (20 ملم ضد *Candida albicans* و 21 ملم ضد *Aspergillus fumigatus*). كان المذيب الأكثر فاعلية لاستخلاص المستقبلات النشطة التي تنتجها السلالة S18 في وسط ISP2 السائل هو ثنائي كلورو الميثان، بقطر تثبيط قدره 21 ملم ضد *Candida albicans* ATCC10231.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا هيفية، نشاط مضاد، مضاد فطري، *Streptomyces*.

Recherche dans des sols sahariens d'actinobactéries possédant des activités antifongiques

Résumé : Cette étude porte sur l'isolement des actinobactéries du désert du Grand Sahara, caractérisé par l'abondance et la diversité des genres bactériens présents. L'objectif de cette recherche était d'isoler des actinobactéries possédant une activité antifongique à partir du sol désertique. Des échantillons de sol ont été collectés dans deux zones différentes près de l'oasis de Metlili (Souareg, Sebkha). Ces bactéries ont été isolées sur milieu de culture Chitine agar. Suivie de la sélection de 65 isolats parmi lesquels 58 ont montré une croissance satisfaisante. L'examen microscopique a révélé la prédominance du genre *Streptomyces*, tandis que les tests d'activité antagoniste ont identifié 16 isolats possédant une activité antifongique, parmi lesquels six isolats : B1, B4, B7, S12, S18, S14. Une étude de la cinétique de production des métabolites antifongiques dans le milieu liquide (ISP2) a montré une activité maximale le quatrième jour d'incubation pour la souche S18 (31 mm contre *Aspergillus fumigatus* et 22 mm contre *Candida albicans*). De même, la souche B1 a montré une production maximale le troisième jour d'incubation (20 mm contre *Candida albicans* et 21 mm contre *Aspergillus fumigatus*). Le solvant le plus efficace pour l'extraction des métabolites actifs produits par la souche S18 dans le milieu liquide ISP2 était le dichlorométhane, avec un diamètre d'inhibition de 21 mm contre *Candida albicans* ATCC 10231.

Mots clés : Sol saharien, actinobactéries, activité antifongique, *Streptomyces*.

Research in Saharan soils for actinobacteria possessing antifungal activities

Abstract:

This study focuses on isolating actinobacteria from the Grand Sahara Desert, characterized by the abundance and diversity of bacterial genera. The aim of this research was to isolate actinobacteria exhibiting antifungal activity from desert soil. Soil samples were collected from two different areas near the Metlili oasis (Souareg, Sebkha). These bacteria were isolated on Chitine agar medium, followed by the selection of 65 isolates, out of which 58 showed satisfactory growth. Microscopic examination revealed the predominance of the *Streptomyces* genus, while antagonism activity tests identified 16 isolates with antifungal activity, including six isolates: B1, B4, B7, S12, S18, S14. A study of the kinetics of antifungal metabolite production in liquid medium (ISP2) showed maximum activity on the fourth day of incubation for strain S18 (31 mm against *Aspergillus fumigatus* and 22 mm against *Candida albicans*). Similarly, strain B1 exhibited maximum production on the third day of incubation (20 mm against *Candida albicans* and 21 mm against *Aspergillus fumigatus*). The most effective solvent for extracting active metabolites produced by strain S18 in ISP2 liquid medium was dichloromethane, with an inhibition diameter of 21 mm against *Candida albicans* ATCC 10231.

Keywords: Saharan soil, actinobacteria, antifungal activity, *Streptomyces*.

Faculté des sciences de la nature et
de la vie et sciences de la terre

Département de Biologie

جامعة غرداية



Université de Ghardaïa

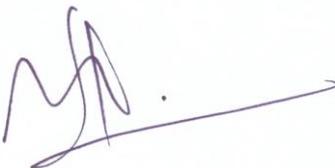
كلية علوم الطبيعة والحياة
وعلوم الأرض

قسم البيولوجيا

Ghardaïa le: 10/07/2024

Rapport : Correction du mémoire

Enseignants Chargés de la correction :

Nom et prénom l' examinateur 1 et Signature	Nom et prénom de l'examinateur 2 et Signature	Nom et prénom de président et Signature
M. BOURAS Nouredine 	/	M. DJELLID  Youssef

Thème : **Recherche dans des sols sahariens d'actinobactéries
possédant des activités antifongiques**

Après les corrections apportées au mémoire, les étudiantes :

Moulay Omar Ikram Wafaa et Zahouani Ibtiassam

sont autorisées à déposer le manuscrit au niveau du département.

Signature du Président

