

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche SCIENTIFIQUE

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Benyahia –Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biochimie et Biologie
Moléculaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم : بيوكيمياء و بيولوجيا جزيئية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Biochimie

Thème

Etude de potentiel antioxydant des substances bioactives produites
par les actinomycètes extrêmophiles

Membres de Jury

par:

- Présidente : Dr. Bouhafs Layla
- Examinatrice : Dr. Aissaoui Salima
- Encadrant : Mme AZZOUZ Ouassila

Présenté

par :boulali ayoub

Année Universitaire 2017-2018

Numéro d'ordre (bibliothèque) :.....

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Deux personnes les plus chers au monde que

*Je ne remercierais jamais assez pour leurs aides
encouragements, Soutiens, sacrifices et leur patience*

pendant toute ma vie :

Mes chers parents

Mes chers frères : Mosaab,badis,hitam et Abd arahim

Ma chère et unique soeur : Rania

A toute la famille

Tous mes chers amis qui ont étaient toujours avec moi

avec leurs aides et soutiens:

salah , azzouz, mokhtar , mouhmed , fouad , Ikhdar et nasro

et dedie ainsi cette travail à ma futur femme sara

Sans oublier mes braves Amies de la promotion Master II

biochimique 2017/2018.

Remerciements

Avant tous nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir aidé à surmonter toutes les difficultés lors de nos études et ce ne sont pas ces quelques mots qui expriment nos sentiments les plus sincères. Nous tenons en premier lieu à exprimer nos sincères remerciements à mon encadreur Mme azzouz pour avoir dirigé ce travail, pour son aide, ses précieux conseils, sa compréhension et son soutien moral lors de la

Réalisation de ce travail.

Je exprime à Mme bouhafs , toutes nos reconnaissances, d'avoir accepté de présider ce jury. Nous le remercions infiniment et sincèrement. Mme aissoui , pour son aide, son examination et ses corrections sérieuses pour ce travail.

Ainsi nous adressons nos sincères remerciements à tous les enseignants du département de biochimie, et les techniciennes de laboratoire de l'Université de jijel. Sans oublier , responsable du laboratoire de la université de Jijel pour son aide à nous fournir

certains produits et matériel dont nous avons besoin.

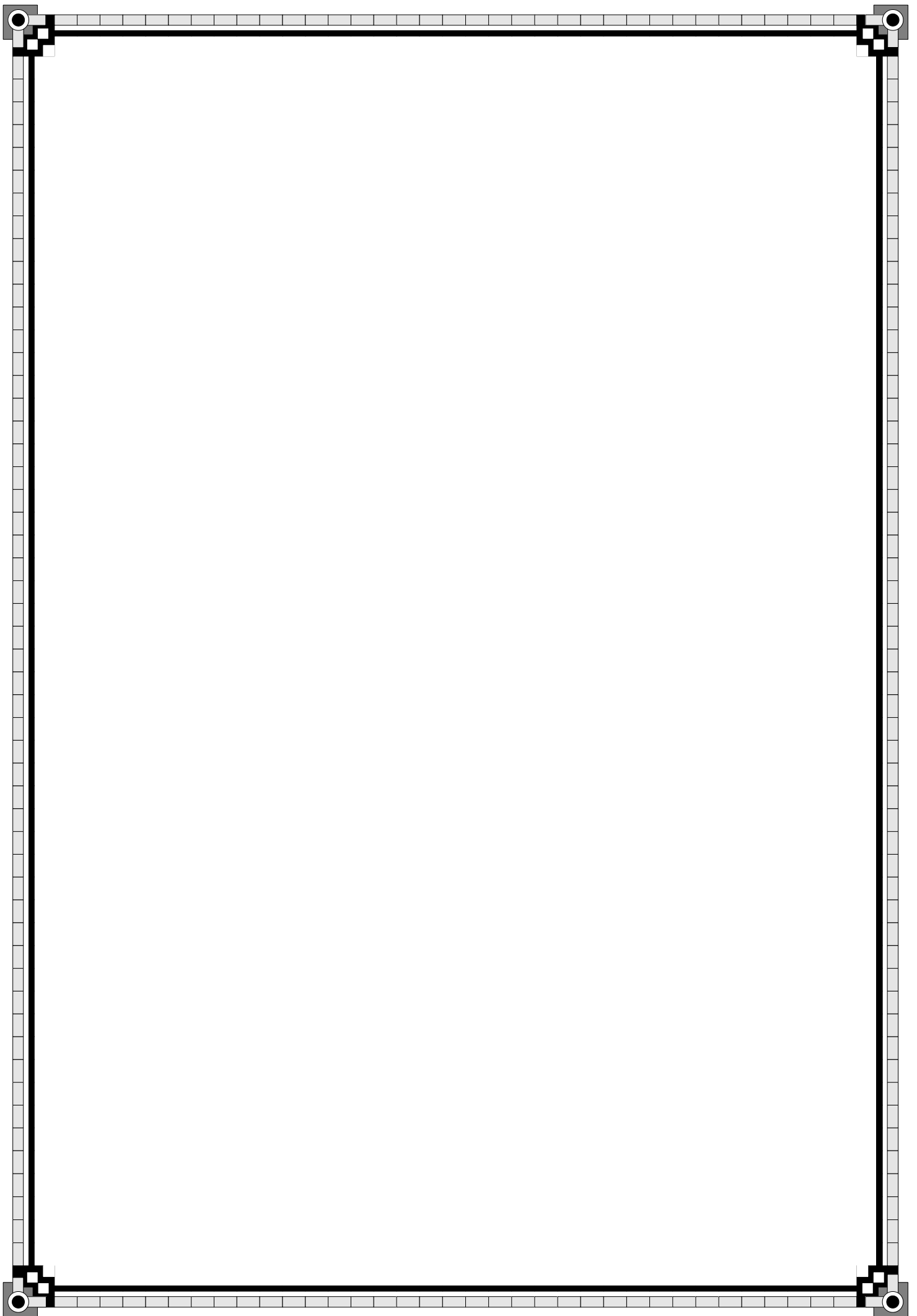
Enfin nous remercions nos familles : nos parents pour leurs

soutiens sans faille, parfois inquiets mais toujours

compréhensifs, tout au long de ces années.

Pour tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire

d'une manière directe ou indirecte.



Sommaire

Sommaire

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Introduction 1

Partie bibliographique

I. Généralité sur les actinomycètes 2

I.1. Définition 2

I.2. Distribution des actinomycètes 2

I.2.1. Distribution dans la nature 2

I.2.2. Actinomycètes dans les milieux extrêmes 3

I.2.2. A. Les actinomycètes halophiles et halotolérantes 3

I.2.2. B. Les actinomycètes thermophiles 4

I.3. Le cycle de vie des actinomycètes 5

I.4. Morphologie des actinomycètes 6

I.5. Critères d'identification des actinomycètes 8

I.6. Métabolisme des actinomycètes 9

I.6.1. Métabolites des actinomycètes 9

I.6.1. 1. Les antibiotiques 10

I.6.1. 2. Les enzymes 10

I.6.1. 3. Les substances antioxydantes 10

Matériel et méthodes

I. Matériel biologique	11
II. Extraction des substances bioactives des actinomycètes extrêmophiles	11
III. Dosage des polyphénols totaux	11
IV. Etude du pouvoir antioxydant des extraits des actinomycètes	13
IV.1. Le piégeage du radical du DPPH	13
IV.2. Etude du pouvoir réducteur	14
IV.3. Activité de piégeage de l'oxyde nitrique (NO)	15
V. Profile physiologique et biochimiques des souches représentatives	15
V.1. Revivication des souches actinomycétales	15
V.2. Etudes physiologique des actinomycètes	15
V.2. 1. Hydrolyse de l'amidon	15
V.2. 2. Hydrolyse de la gélatine	15
V.2. 3. Hydrolyse de caséine	16
V.2. 4. Action des actinomycètes sur le lait écrémé	16
V.2. 5. Tolérance des actinomycètes à différentes concentrations des NaCl	16
V.3. Etude biochimique	16
V.3. 1. Utilisation de différents substrats de carbonés	16

Résultats et discussion

I. Résultats du dosage des polyphénols	17
II. Pouvoir antioxydant des extraits des actinomycètes	18
II.1. Piégeage du radical liber DPPH	18
II.2. Pouvoir réducteur	20
II.3. Activité de piégeage de l'oxyde nitrique (NO)	22
VI. Profile physiologique et biochimiques des souches représentatives.....	23
III.1. Etudes physiologique des actinomycètes	23
III.1. 1. Hydrolyses de l'amidon	23

III.1. 2. Hydrolyse de la gélatine	24
III.1. 3. hhydrolyse de la caséine.....	24
III.1. 4. Action des actinomycètes sur le lait écrémé	25
III.1. 5. Tolérance des actinomycètes dans différents concentration de NaCal	25
III.2. Etude biochimique	26
III.2. 1. Utilisation des différents substrats carbonés	26
Conclusion	28
Référence Bibliographique	29

Annexes

Liste des Figures

Figure 1. Cycle de vie des actinomycètes	6
Figure 2. Les mycéliums aérien et de substrat des actinomycètes	7
Figure 3. Diversité des types de surface de spores chez le genre <i>Streptomyces</i>	7
Figure 4. Schéma du mode opératoire du dosage de polyphénol	12
Figure 5. La réduction du DPPH° en DPPH-H.....	13
Figure 6. Protocole expérimentale pour la mesure du piégeage du radical DPPH°	14
Figure 7. Teneurs en polyphénols des extraits des souches des actinomycètes exprimées en µg équivalent acide gallique par mg de l'extrait sec	17
Figure 8. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration des extraits d'actinomycètes et de l'acide ascorbique.	18
Figure 9. IC50 pour 10 extraits des actinomycètes	19
Figure 10. Absorbance des extraits en fonction des concentrations.....	20
Figure 11. IC 50 du pouvoir réducteur des extraits d'actinomycètes et de l'acide ascorbique.....	21
Figure 12. Pourcentage d'inhibition de NO des extraits d'actinomycètes et de l'acide ascorbique.....	22
Figure 13. IC 50 de piégeage de NO des extraits d'actinomycètes et de l'acide ascorbique..	23
Figure 14. L'hydrolyse de l'amidon par L2-50	24
Figure 15. Capacité des actinomycètes à dégrader la gélatine.	24
Figure 16. L'hydrolyse de la caséine par les souche L2-21 ,L2-74 ,L2-81.	25
Figure 17. Action des actinomycètes sur l'ait écrémé.....	25
Figure 18. Courbe d'étalonnage des polyphénols.....	annexe

Liste des Tableaux

Tableau 1. Distribution des genres des actinomycètes dans la nature	2
Tableau 2. Les différents critères d'identification des actinomycètes	8
Tableau 3. Certains antibiotiques issus des actinomycètes	9
Tableau 4. Substances bioactives antioxydantes produites par les actinomycètes.	10
Tableau 5. Action des certaines souches d'actinomycètes sur l'amidon	23
Tableau 6. Action des différentes souches d'actinomycètes sur la caséine.	24
Tableau 7. Croissance des souches d'actinomycètes dans des milieux a diffèrent concentration de NaCal	25
Tableau 8. Utilisation des différents substrats carbonés.	26

Introduction

Les chercheurs s'évertuent à isoler perpétuellement de nombreuses souches d'actinobactéries de divers milieux, surtout des milieux où les conditions de vie sont très difficiles (sols salés, sols alcalins, sols acides, et marais salants,... etc.), en vue de découvrir de nouveaux taxons et également de nouvelles molécules bioactives ayant des activités intéressantes (Solecka *et al.*, 2012).

Parmi les actinobactéries, celles qui sont halophiles ou halotolérantes suscitent de plus en plus d'intérêt, aussi bien du point de vue taxonomique que du point de vue intérêt biotechnologique. Ainsi, les actinobactéries halophiles sont connues pour la sécrétion de composés antimicrobiens (Murphy *et al.*, 2010) antiviraux (Sonya et Galal, 2005), anticancéreux et antioxydant (He *et al.*, 2001).

Les produits naturels issus du métabolisme des microorganismes constituent l'une des principales sources des bio-industries de fermentation dans divers domaines. Reconnu comme des agents performants pour la transformation, la dégradation et la production de plusieurs métabolites (Demain, 2000).

Dernièrement les nouvelles études ont montré que les radicaux libres d'oxygènes possèdent un rôle critique dans diverses maladies telles que le cancer, l'Alzheimer, plusieurs infections et les maladies auto-immunes et cardiovasculaire (Lee *et al.*, 2014).

Du fait de l'impact négatif de l'utilisation d'antioxydants synthétiques sur la santé humaine, il est devenu un sujet très étudié (Barlow, 1990). Pour l'utilisation des antioxydants et leurs substitution plusieurs limites et restrictions seront suivi (Frankel, 1993).

Afin de résoudre ce problème les chercheurs s'intéressent à identifier des antioxydants naturels dérivant des plantes ou des microorganismes telle que les actinomycètes qui sont riches en métabolites secondaires (Lee *et al.*, 2014).

Nous nous somme intéressé dans ce travail dans un premier temps à l'extraction des molécules bioactives à partir de bactéries actinomycétales, qui ont été isolées de différents écosystèmes extrêmes, et à l'évaluation de leur activité antioxydante *in vitro*.

D'autre part, cette étude vise à étudier les profils biochimiques et physiologiques des souches d'actinomycètes testées.

I. Généralité sur les actinomycètes

I.1. Définition

Les actinomycètes sont des bactéries à coloration de Gram positive et de haut coefficient de chargaff (GC) de 65 à 75%, elles se trouvent dans la classe des *Actinobacteriales* (Stackebrandt, 1997; Ventura, 2007 ; Zhi, 2009). Elles ont une structure filamenteuse de diamètre entre 0.5 et 2 μ m (Lamari, 2006), ces filaments sont ramifiés en mycélium et présentent des septums. La plus part des actinomycètes sont saprophytes et aérobies ainsi, utilisent une variété de sources de l'énergie ce qui permet de les caractérisés comme chimioorganotrophes mais certaines sont des chimioautotrophes (Mariat et Sebald, 1990 ; Ensigne et *al.*, 1993).

I.2. Distribution des actinomycètes

I.2.1. Distribution dans la nature

Les actinomycètes sont plus fréquentes que les champignons. Elles se trouvent sur tous les substrats naturels tel que le sol (Porter, 1971; Lacey, 1973). Les actinomycètes du sol se trouvent sur la surface de la terre de 0 à 2 mètres de profondeur, ces actinomycètes ont une capacité de synthèse des substances (la géosmine et le 2-méthyl isobornéol) qui sont responsables de l'odeur spéciale du sol (Omura, 1992; Zaitlin et *al.*, 2003). Parmi les genres d'actinomycètes les plus réponsus, le genre *Streptomyces* par un pourcentage de 95% des 5000 souches d'actinomycètes isolées à partir de différent types de sols (Lechevalier, 1967).

Les actinomycètes se trouvent dans les différents milieux aquatiques comme l'eau de mer, des sédiments marins (Jensen et *al.*, 1991), l'eau douce (Kitouni et *al.*, 2005) et l'eau issue de marécages salés (Al-Zarban et *al.*, 2002 ; Boughachiche et *al.*, 2005).

Tableau 1. Distribution des genres des actinomycètes dans la nature (Kitouni et *al.*, 2005).

Actinomycètes	Habitats
<i>Actinoplanes</i>	Eau douce, la litière végétale, le sol.
<i>Frankia</i>	Nodules racinaires des non-légumineuses.
<i>Micromonospora</i>	Eau douce, les sédiments, les sols humides
<i>Nocardia amarae</i>	Les boues activées.
<i>Rhodococcus coprophilus</i>	Les déjections animales, l'eau, le sol.
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	Moisi du foin.
<i>Streptomyces</i>	Le sol, la litière végétale, l'eau.
<i>Thermoactinomyces</i>	Compost

I.2.2. Actinomycètes dans les milieux extrêmes

Les actinomycètes sont très nombreux et peuvent exister dans des conditions extrêmes (très élevées/très bas) telles que la température, pH, la salinité, mais elles se trouvent beaucoup plus dans des conditions favorables. L'existence de ces bactéries dans différents écosystèmes extrêmes revient à leur capacité de s'adapter à ces dernières (Goodfellow et Williams, 1983).

Les habitats extrêmes sont en dehors des conditions dans lesquelles vivent la plupart des organismes. « Extrême » comprend les extrêmes physiques : température, rayonnement, pression et extrême géochimique, par exemple la salinité, pH, manque d'oxygène ou potentiel redox extrême. Les microorganismes extrémophiles sont divisés en 5 catégories qui sont : les thermophiles, les halophiles, les acidophiles, les alkalophiles et psychrophiles (Andreea, 2009).

I.2.2. A. Les actinomycètes halophiles et halotolérantes

En 1968, Trasner décrit par la première fois la présence des actinomycètes dans des environnements très salins et leur tolérance à des concentrations élevées de sels. Alors que en 1975 Gochouer a isolé fortuitement la première souche des actinomycètes.

Les actinomycètes halophiles et halotolérantes sont différentes, halophiles désigne les microorganismes nécessitant la présence de sel (NaCl) dans le milieu pour leur croissance, alors que halotolérants signifie les microorganismes tolérants différentes concentrations en sel durant leurs croissance. Il existe 5 catégories des halophiles ont été défini par Kushner en 1978 selon la concentration en sel : les bactéries faiblement halophiles, les halophiles modérées, les bactéries halophiles limite et des bactéries halophiles extrêmes. Ainsi, les bactéries halotolérantes se subdivisent en 3 catégories faiblement halotolérant, halotolérant modéré et halotolérant extrême (Lasene, 1986).

Des actinomycètes halophiles ont été isolées de l'eau de mer, sols salins, lacs, saumures, habitats salins et autre habitats. La plus part des actinomycètes halophiles ont été isolées des sols salins. En outre, un nombre considérable des actinomycètes résistant au sel et résistant à la sécheresse ont été décrites dans des zones arides (Al-Mueini et al., 2007). Les actinomycètes isolées à partir d'environnements marins ont été principalement attribuées à quelques genres y compris *Micromonospora*, *Rhodococcus* et *Streptomyces* (Maldonado et al., 2005).

1) Les mécanismes d'adaptation des actinomycètes halophiles

Les microorganismes halophiles tels que les actinomycètes ont des mécanismes ou des stratégies pour résister à des milieux hypersalins. Toutes les membranes des microorganismes sont perméables à l'eau, alors que tous les microorganismes doivent maintenir leur cytoplasme au moins en iso-osmose avec leur environnement.

Il a été montré qu'il existe deux stratégies utilisées par différents microorganismes halophiles, elles sont basées sur le principe de créer une haute pression osmotique dans le cytoplasme tout en gardant une faible concentration en Na^+ (Oren, 2002).

a. Stratégie d'adaptation à la salinité par production d'osmoprotecteur

La première manière d'adaptation consiste à l'exclusion de Na^+ et l'accumulation de K^+ , Cl^- , et des solutés compatibles. Cette accumulation est comme une réponse au stress hyper osmotique qui est utilisée par les actinomycètes halophiles.

Les solutés compatibles sont les sucres (saccharose, tréhalose), dérivés des sucres (sulfotréhalose, glucosylglycerol), des acides aminés (proline, acides glutamique, glutamine, acide aminobutyrique), des cétones et des polyalcools (glycérol, arabitol, monnitrol) (Courtenay et al., 2000).

b. Stratégie d'adaptation à la salinité par l'accumulation de KCl

Grace au canal antiport Na^+/H^+ , ce canal se trouve dans la membrane cytoplasmique (Oren, 2001). En général, les ions (+) entrent passivement *via* un système uni port sous l'impulsion du potentiel de la membrane. Ce système revient à remplacer une partie du sodium cellulaire par du potassium. Le mouvement des anions telle que le chlorure est couplé à l'énergie du potentiel de membrane, il pénètre grâce à un symport Na/Cl .

Les halophiles ont des caractères très importants, c'est qu'ils ont des protéines acides et moins hydrophobes par rapport aux organismes ne vivants pas en condition hyper saline, les protéines des organismes halophiles possèdent un grand nombre des résidus acides (aspartate, glutamate) et peut être des résidus basiques (lysine, arginine). Cette propriété permettant de s'adapter à fortes concentrations salines afin de conserver la conformation et l'activité biologique des protéines et assurer ainsi la survie cellulaire (Dym et al., 1995).

I.2.2. B. Les actinomycètes thermophiles

Les actinomycètes thermophiles se développent relativement à des températures allant de 40 à 80°C (Tortora et al., 2007). Certains actinomycètes thermophiles peuvent survivre jusqu'à 70°C, ces conditions prévalent dans les zones proches des volcans ou des sources chaudes et des déserts (Rampelotto PH, 2010.).

a) La température extrême et les thermophiles

La température est le paramètre le plus important dans la plus part des études (Prierr, 2007) parce qu'il peut influencer sur l'organisme de manière différent, telle que la dégradation des protéines dans des températures importantes.

La température extrême est subdivisée en différents types selon l'environnement froid (inférieur à 5°C) et chaud (peut-être plus de 100°C). Parmi les environnements extrêmes, les

profondeurs océaniques en dessous de 100 mètres, les zones terrestres et l'eau marines (D'amico et *al.*, 2002 ; Deming, 2002).

Les organismes qui se trouvent dans les environnements froids s'appelle psychrophiles, ils ont un optimum de croissance à 15°C ou moins (irwin et baird.,2014).

Les environnements chauds où la température est élevée, on les trouve dans des zones volcaniques actives le long des fractures tectoniques (dorsal océanique ...) et des points des chaud fumérales, cheminées hydro thermophiles, les profondeurs ainsi que les sources d'eau chaudes (Stetter et *al.*, 1993).

Les thermophiles et les hyper thermophiles colonisent les environnements où la température est respectivement élevé et très élevé et ont un optimum de croissance supérieur à 50 °C pour les thermophiles et à 80°C pour les hyper thermophiles (Irwin et Baira, 2002).

I.3. Le cycle de vie des actinomycètes

Les actinobactéries sont raisonnablement unique parmi les procaryotes. La caractéristique la plus distinctive est observée dans le cycle de développement des actinobactéries. Ce taxon différencié effectue leur croissance avec la formation d'hyphes ramifiés qui forment alors un mycélium végétatif, alors qu'ils se dispersent à travers les spores qui se forment sur des structures reproductrices appelées hyphes aériens. Ainsi, leur cycle de vie ressemble à de nombreuses façons au cycle de vie des champignons filamenteux. En raison de leur importance économique dans la production de métabolites secondaires, surtout les antibiotiques, le cycle de vie le mieux étudié est celui du genre *Streptomyces*. Quand la spore d'un *Streptomyces* est dans des conditions favorables, elle germe et a tendance à former des hyphes qui poussent par extension de la pointe et forment finalement un mycélium substrat. Lorsque suffisamment de nutriments ne sont pas disponibles pour les cellules ou d'autres signaux sont rencontrés, de nombreuses différenciations morphologiques se produiront. Par exemple, les hyphes aériens sont formés. Les hyphes aériens sont ensuite divisés en chaînes de présportes à travers un processus contrôlé de division cellulaire. Des spores matures avec des couches épaisses sont ensuite formées pour continuer le cycle de vie (Hamedi et *al.*, 2017).

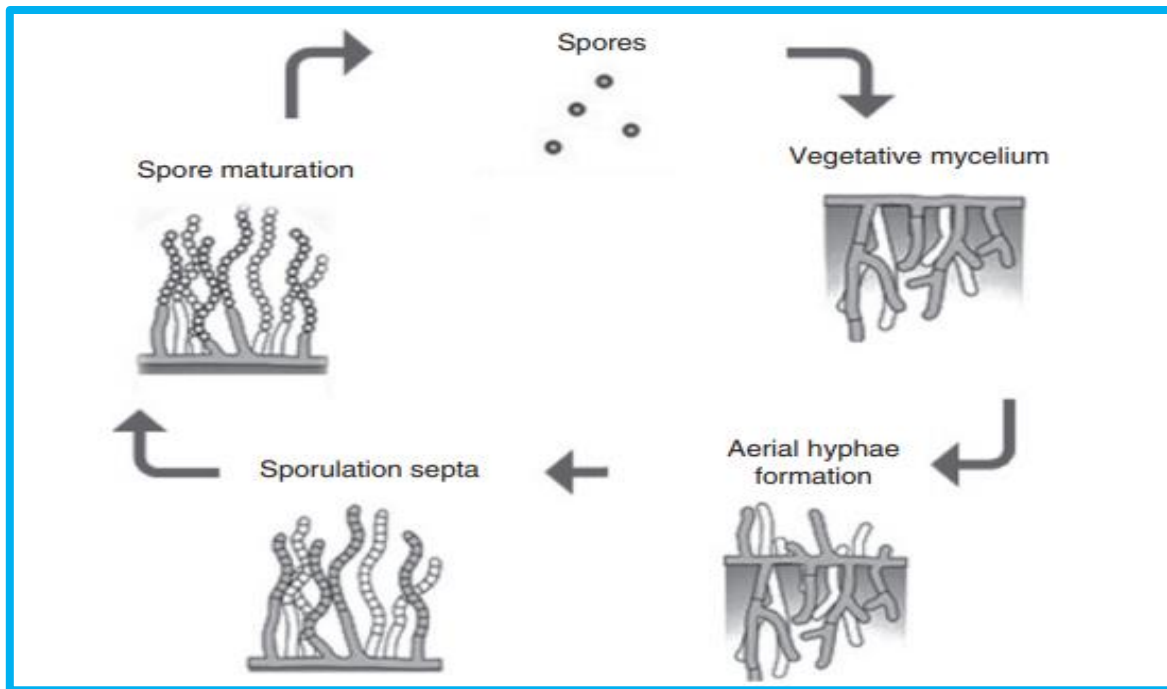


Figure 1. Cycle de vie des actinomycètes (Hamedi *et al.*, 2017) .

I.4. Morphologie des actinomycètes

Les actinomycètes ont une morphologie presque comme les mycètes (Prescott *et al.*, 1997) dont le diamètre de hyphe de cette bactérie est de 0.5 à 1 μ m (Eunice, 1983). Le mycélium des actinomycètes présente une grande diversité de morphologies, des mycéliums ont une structure rudimentaire (la plupart des *Mycobacterium*), d'autre au mycélium fugace, qui se fragmente (certaines *Nocardia*), et enfin des espèces au mycélium développé et persistant comme dans le genre *Streptomyces*. Le réseaux ramifié d'hyphe formé par les actinomycètes se développe à la fois à la surface du substrat et à l'intérieur de ce dernier pour former un mycélium végétative (Prescott *et al.*, 2003), sur le mycélium primaire (végétatives) se développent un mycélium aérien ou secondaire composée d'hyphe dressés sur le mycélium du substrat (Figure 2), ils sont enrobés dans une enveloppe extrême hydrophobe. La production de mycélium aérien est influencé par plusieurs facteurs notamment : la composition de milieu de croissance, la température d'incubation (Pine, 1970). Le mycélium aérien est plus ramifié et épais que le mycélium de substrat qui est hydrophobe, le mycélium de substrat est aérobie facultatif par contre le mycélium aérien est aérobie strict (Silvy et Roach, 1975).

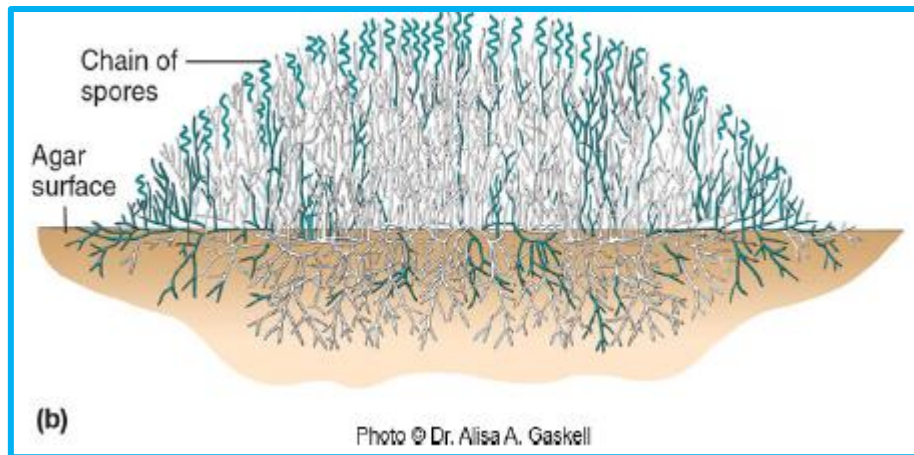


Figure 2. Les mycéliums aérien et de substrat des actinomycètes (Prescott et al., 2003)

Les actinomycètes la plupart sont immobiles, cependant certains produisent des spores flagellées dans le milieu aquatique pour leur dispersion. Les spores peuvent être produites isolément (*Micromonospora*), deux à deux longitudinalement (*Microbispora*), en courtes chaînettes (*Actinomadura*), en longues chaînettes (*Streptomyces*). Les chaînettes des pores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales. Elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores. On rencontre également une importante diversité au niveau de la surface des spores : lisse, ridée, avec piquants ou d'aspect velu (Figure 3).



(A)

(B)

(C)

(D)

Figure 3. Diversité des types de surface de spores chez le genre *Streptomyces*. (A) : la surface des spores lisse. (B) : ridée. (C) : avec piquants. (D) : aspect velu (Lyons et Pridham, 1971).

La formation des colonies dans le milieu solide et le milieu liquide sont différents toutefois dans le milieu solide le diamètre des colonies est variable de 1 à 10 mm. L'aspect des colonies peut être compact, sec, lisse, rugueux à contours lisse ou échancrés. Les colonies sont souvent pigmentées (blanc, crème, jaune, violet, rose, gris, etc...) (Perry et al., 2004). En milieu liquide avec agitation, il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. Les *Streptomyces* forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'entremêlent pour former des agrégats. Ces derniers, généralement sphériques sont composés d'une masse dense d'hyphes enroulés (Reichl et al., 1992).

I.5. Critères d'identification des actinomycètes

Tableau 2. Les différents critères d'identification des actinomycètes.

Les critères d'identification des actinomycètes		
Les critères morphologiques	Les critères chimotaxonomique	les critères physiologique
<p>Les critères macromorphologiques : La production ou non de mycélium aérien La présence de mycélium de substrat La détection des couleurs de mycélium aérien la disposition des hyphes du mycéliums aérien ou mycélium de substrat la présence des spores et leur position sur les hyphes (AOUAR, 2006)</p> <p>Les critères micro morphologique : La production de spores, le mycélium aérien et mycélium de substrat peuvent être stérile soit produire des spores ronds, ovales ou un bâtonnet L'agencement des spores peuvent être produit soit isolement soit par deux ou par quatre et en longe ou court chaine * La morphologie des chaines de spore peut être droite la production de structure particulière (la production d'endospore, de sclérotés et de synnemta) la présence ou non de sporange dans MA et /ou MS</p>	<p>les acides aminés : deux acides aminés pariétaux l'acides diaminoprilmilique (DAP) peut être remplacer par lysine et la glycine (Becker et <i>al.</i>, 1995 ; Yamagushi,1965)</p> <p>les sucres : ayant une importance taxonomiquement sont les couples (arabinose-galactose),(xylose-arabinose),et modurose (Lecherolin et Gerber, 1970)</p> <p>les lipides : qui intervient dans la chimio-taxonomi sont : les phospholipides ,les acides mycolique partiaux ainsi les ménoquinones membranaire (Lechevalier et <i>al.</i>, 1967)</p>	<p>les critères physiologiques : consiste à deux testes ; le premier test : la capacité de dégradation de différentes composée glucidique lipidique et protidiqueets le deuxième test : la résistance des actinomycètes dans avec différents agent chimique (antibiotique) et des agent physique (température ,PH , salinité) (dejoocord</p>

I.6. Métabolisme des actinomycètes

les actinomycètes ont un temps de génération d'environ 2 à 3h ainsi leur croissance est plus lent pas comme celles des bactéries (Ottow et glath, 1968). Les actinomycètes se distinguent en deux catégories selon le type de métabolisme (aérobie et anaérobie), le métabolisme aérobie est le plus important est composé de genre ayant un métabolisme oxydative et habites surtout dans le sol (Reponen et *al.*, 1998).

Le métabolisme anaérobie ou bien la forme fermentative ou facultative sont illustrés par le genre actinomycètes sont des organismes saprophytes obligatoire de l'homme, des animaux supérieurs (Moriat et Sebald, 1990).

Les actinomycètes sont soit des chimioorganotrophes soit des autoorganotrophe, les chimioorganotrophes utilisent une grand variété de sources de carbone et d'énergie tell les biopolymères complexes (chitine, cellulose, lignine). Donc les chimioautotrophes utilisent l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de corbon (Moriat et Sebald, 1990).

Les actinomycètes joue un rôle important dans la minéralisation de la matière organique par production des enzymes extracellulaires et peuvent dégrader la chitine (De boer et *al.*, 1998),les pesticides (Benimel et *al.*, 2003) et l'amidon (Kuo et Hartaman, 1966) ou la cellulose (Patrosyon et *al.*, 2003).

I.6.1. Métabolites des actinomycètes

les actinomycètes sont comme tous les bactéries ,synthèses des métabolites bioactive mais de façon important que d'autre (solanki 2008) ,les substance bioactives sont des produit de métabolisme primaire et secondaire de différents organisme (plants ,animaux ,chombignon ,bactéries)

I.6.1. 1. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules qui inhibent sélectivement la croissance bactérienne (Sivakumaret et *al.*, 2007).

Tableau 3. Certains antibiotiques issus des actinomycètes.

Substance	Source	Reference
Erythromycin	<i>Sac Streptomyces</i>	(Reeves et <i>al.</i> , 1998)
Streptomycin	<i>griseuscharopolyspora</i>	(Nomi, 1963)
Tetracycline	<i>erythrae</i>	
Monomycin [<i>Actinomyces circulatus var.</i>	(Ross et <i>al.</i> , 2005)
Tubelactomicin A	<i>monomycini</i>	(Gauze et <i>al.</i> , 1960)
	<i>Nocardia sp.</i>	(Iqarashi ,2000)

I.6.1. 2. Les enzymes

les enzymes sont les produits les plus importants des actinomycètes (Theilleux,1993). On utilise industriellement les enzymes telle que des protéases, des chitinases (Tanaka et Omura, 1990), des amylase, des cellulases, des xylanases et des lipases (Parck et al., 2002).

I.6.1. 3. Les substances antioxydantes

Les substances antioxydantes sont les substances capables de retarder ou inhiber le processus d'oxydation (Dekkers et al., 1996). Les actinomycètes d'origine marine sont des fournisseurs potentiels de nouveaux métabolites bioactives et sont actuellement considérées comme une source importante d'énergie (Mohankumer et al., 2012).

Les actinomycètes isolées des sédiments marins peuvent être la source potentielle d'antioxydant avec propriétés anticancéreuses (Nagaseshu et al., 2016 ; Arumugam et al. ; 2010 ; Shin et al., 2008

Tableau 4. Substances bioactives antioxydantes produites par les actinomycètes.

substance antioxydante	La source	La référence
5-(2,4-dimethylbenzyl)pyrrolidin-2-one	marine <i>Streptomyces</i> VITSVK5	(Takamatsu et al., 2003.)
(Z)-1-((1-hydroxypenta-2,4-dien-1-yl)oxy)anthracene-9,10-dione.	<i>Nocardioopsis alba</i>	(Avilala et al., 2013)
.ABTRI12	<i>Streptomyces</i> sp.	(Arulappan et al. 2012,)
Dihydroherbimycin	<i>Streptomyces</i> sp	(Chung et al., 2006).
BC 01	<i>Streptomyces coelicoflavus</i>	(Kothagorla et al., 2013)
VITMSS05	<i>Streptomyces</i> sp.	(Revathy et al., 2013)

I. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est constitué des souches de bactéries actinomycétales isolées à partir de différents écosystèmes extrêmes. Ces bactéries appartiennent au groupe des actinomycètes halophiles et halotolérantes, en plus des actinomycètes prévenants des milieux arides.

II. Extraction des substances bioactives des actinomycètes extrêmophiles

Afin d'extraire les substances bioactives à partir des différentes souches actinomycétales, ces dernières ont été cultivé dans différents milieux de culture en bouillon, à savoir le milieu de Bennett et le milieu ISP₅ avec différentes concentration en NaCl pour les souches halophiles et halotolérantes. Les cultures sont incubées à 30°C et maintenues sous agitation continue pendant 28 jours.

On procède par la suite à la centrifugation des cultures à 4000rpm pendant 10 minutes. Le surnageant ainsi obtenu subit une filtration sur membrane de 0,2 µm. On mélange le filtrat obtenu avec l'acétate éthyle (v/v). Après séparation, la phase organique subit une évaporation à sec à 40°C. en suit fait la récupération par le solvant de DMSO.

III. Dosage des polyphénols totaux

Ce dosage repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques (réactif de Folin-Ciocalteu) par les composés phénoliques (Swain et *al.* 1959). Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium (Na₂CO₃). Le dosage des polyphénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

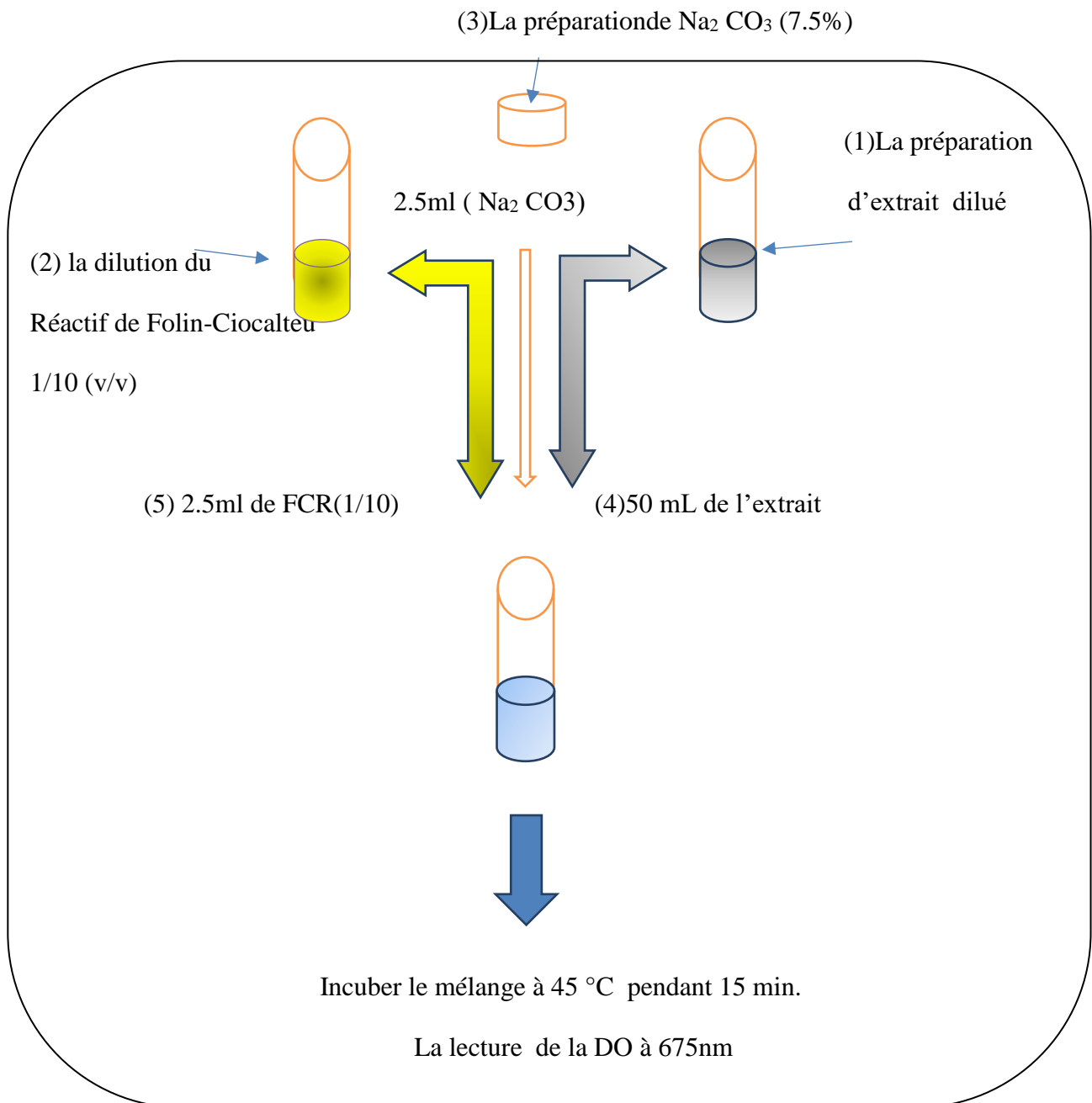


Figure 4. Schéma du mode opératoire du dosage de polyphénol (Junaid *et al.*, 2013).

Le blanc est préparé dans des mêmes conditions, on remplace l'extrait par l'eau distillée. Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant un étalon : l'acide gallique à différentes concentrations et pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que celles des échantillons, servira à la quantification des polyphénols. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait.

IV. Etude du pouvoir antioxydant des extraits des actinomycètes

Les actinomycètes sont des bactéries qui ont la capacité de synthèses des différentes substances bioactives telles que des antioxydants. La mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits a été réalisée par des techniques différentes à savoir : le piégeage du radical DPPH, le pouvoir réducteur et en fin la capacité de piégeage de l'oxyde nitrique.

IV.1. Le piégeage du radical du DPPH

Le test de DPPH basé sur la mesure de la capacité antioxydante des extraits des actinomycètes à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH°) et le réduire en (DPPH-H) avec changement de couleur du violet au jaune (Figure 5) (Majhenic, et *al.*2007).

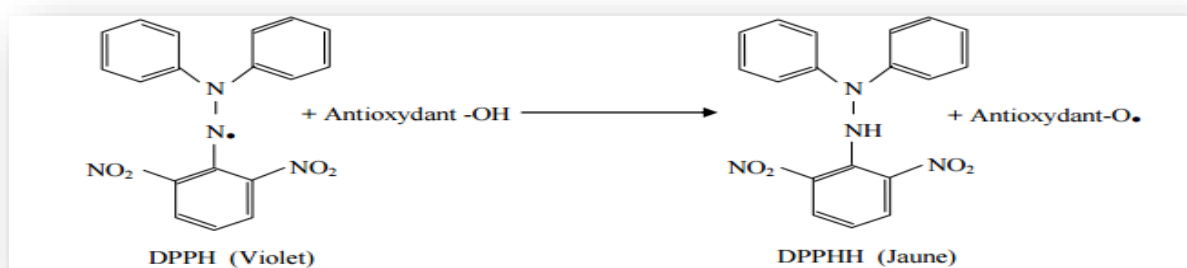


Figure 5. La réduction du DPPH° en DPPH-H.

Le protocole qui a été suivi dans ce travail pour mesurer le piégeage de DPPH est celui (d'Athamena *et al.*, (2010)).

Les étapes de la manipulation sont récapitulées dans la figure suivante :

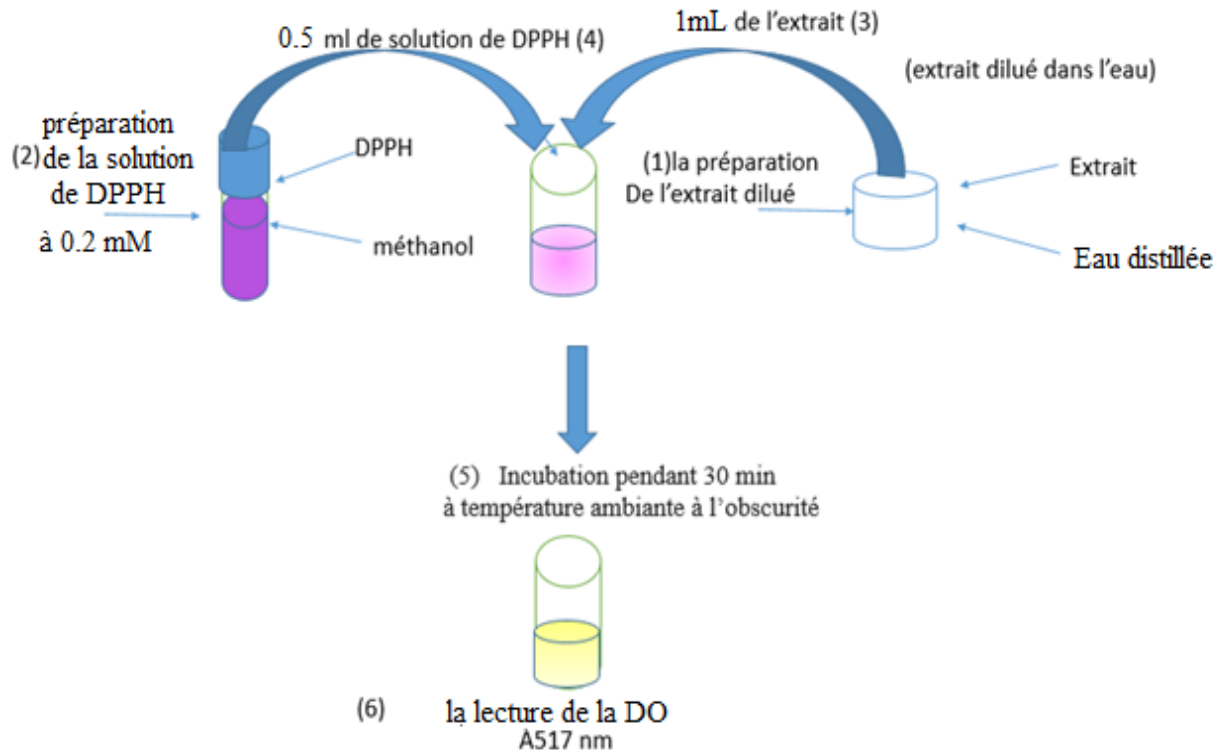


Figure 6. Protocole expérimentale pour la mesure du piégeage du radical DPPH°.

Le pourcentage d'inhibition est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\% \text{ inhibition du DPPH} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100$$

Avec :

Ac: Absorbance du control.

Ae: Absorbance de l'échantillon.

IV.2. Etude du pouvoir réducteur

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de (Fe³⁺) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe²⁺) dans un milieu acidifié par l'acide trichloracétique (TCA). Cette réaction se traduit par le virage de la couleur jaune du Ferricyanure de potassium vers la couleur bleu verte, dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur (Li *et al.* 2009).

La technique d'Oyaizu (1986) est celle utilisée dans cette étude. On a mélangé 0.250 ml de différentes concentrations des extraits avec 0.625 ml de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 0.250 ml de ferricyanure de potassium (K₃Fe (CN)₆) (1%). Les mélanges sont incubés à

50°C pendant 20 min. Après 0.625ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionnée. Après l'ajout de TCA le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 15 min.

Le contrôle est préparé dans les mêmes conditions avec FeCl₃ (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm.

IV.3. Activité de piégeage de l'oxyde nitrique (NO)

Le principe de ce test est basé sur la conversion de NO en acide nitrique et le produit final réagit avec le réactif de Griess pour former un colorant azoïque violet. La production d'oxyde nitrique à partir de nitroprusside de sodium était mesurée selon Kang et al., ().

On mélange (1ml) de solution nitroprussiate de soduim avec (1ml) d'extrait à différentes concentrations puis on incube le mélange à 25°C pendant 180 min.

Après l'incubation, on prend 0.5 ml du mélange et on l'ajoute 0.5 ml de réactif de Griess (On a commencé ce travail par la préparation de toutes les solutions, dont en on a besoin. Qui sont : la solution de nitroprusside de sodium (5m M), le réactif Griess dont leur composant sont : 1% de sulfanilamide, 2% d'acide phosphorique et 0.1% de naphtyléne diamine dichlorohydrate.) et l'absorbance a été prise à 546 nm. La solution étalon est le nitrite de sodium traité de la même manière avec le réactif de Griess.

V. Profile physiologique et biochimiques des souches représentatives

V.1. Revivication des souches actinomycétales

On prend les colonies des actinomycètes déjà conserver à long temps et on les repique dans des boites de Pétri contant le milieu ISP₅ (pour les actinomycètes halophiles et halotolérantes) et le milieu de Bennett (pour les autre actinomycètes), puis on les incuber à 30°C pendant 15 jours.

V.2. Etudes physiologique des actinomycètes

V.2. 1. Hydrolyse de l'amidon

Pour voire l'hydrolyse de l'amidon on a utilisé un milieu nutritif gélosé (ISP₅ 0% et 15% NaCl, Bennett) contenant 1% de l'amidon selon la méthode décrite par Gordon et Smith (1953). On coule le milieu dans des boites Pétri puis onensemence les souches par des stries. Après 14 jours d'incubation à 30 °C, la gélose est recouverte d'une solution de lugol. L'absence de coloration autour des colonies (zones claires) indique l'hydrolyse de l'amidon, alors que les zones contenant de l'amidon se colorent en brun.

V.2. 2. Hydrolyse de la gélatine

Ce test est réaliser sur le milieu nutritif gélosé (ISP₅ 0% et 15% NaCl, Bennett) contenant 0.4% de gélatine, les souches sont ensemencées selon leur nature dans les milieux puis incubées pendant 14 jours à 30°C (Williams et Cross, 1971). L'apparition des zones claires signifie la dégradation de la gélatine par les souches d'actinomycètes.

V.2. 3. Hydrolyse de caséine

Dans ce test, on utilise les méthodes de Williams et Cross (1971) et de Gordon et Smith (1953) qui consistent à l'ensemencement des souches des actinomycètes dans un milieu gélosé nutritif contenant 5% de lait écrémé (Milkospray).observer L'apparition des zones claires autour des colonies après 14 jours d'incubation

V.2. 4. Action des actinomycètes sur le lait écrémé

Ce test est réalisé pour voir l'effet des actinomycètes sur le lait écrémé. On introduit 10 ml de lait écrémé dans des tubes, qui sont ensuite ensemencés par les différentes souches d'actinomycètes. Après incubation à 30°C pendant 14 jours, on note la coagulation ou la peptonisation du lait écrémé (Williams et Cross, 1971).

V.2. 5. Tolérance des actinomycètes à différentes concentrations de NaCl

Dans ce test on utilise les milieux ISP₅ et Bennett préparés avec différentes concentrations de NaCl (5, 10, 15 et 20%). On met 10 ml de milieu de culture dans des tubes puis on les inocule par les souches à tester. Les tubes sont incubés à 30°C pendant 14 jours (Tresner et al., 1968).les souches qui peuvent développer dans ces milieux se trouve comme des filaments fin .

V.3. Etude biochimique

V.3. 1. Utilisation de différents substrats de carbonés

Les différents substrats carbonés, stérilisés sont ajoutés au milieu de base ISP₉ en suspension de façon à obtenir une concentration finale de 1% selon la méthode de Pridham et Gottlieb (1948). Les sucres testés sont : xylose, inositol, glucose, saccharose, galactose, levulose, treholose, adonitole, cellobiose, mannose, dulcitol, raffinose, sorbose et sorbitole. Les milieux sont ensemencés et incubés pendant 3 semaines à 30° C.

Les actinomycètes peuvent produire différents types de composés avec des propriétés antioxydants, et antibactériennes. etc. Les antioxydants jouent un rôle important dans l'inhibition et la neutralisation des radicaux libres, offrant ainsi une protection aux humains contre diverses infections et maladies dégénératives.

Dans le cadre de recherche des substances bioactives des actinomycètes, le présent travail vise la production et l'extraction des molécules bioactives synthétisé par des souches d'actinomycètes ainsi que la mise en évidence de leur activité antioxydante.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits des actinomycètes extrêmophiles révèle que les substances bioactives produites par les actinomycètes sont capables de piéger les radicaux libres de DPPH, de NO et ont un pouvoir réducteur remarquable. Les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité antioxydante des différentes souches en fonctions des concentrations étudiées ainsi on constat que le potentiel antioxydant de ces extrait elle est variable d'une souche à une autre.

Notre contribution à l'exploration des profils physiologiques et biochimiques a permis de montrer que les souches d'actinomycètes étudiées sont capables d'utiliser et dégrader différents substrats carbonés.

A

Avilala.,janardhan.,arthala.,Praveen.,kumar.,buddolla.,Viswanath.,D.V.R.,Saigopal.,andGolla. (2013).inomyrnarasimh .Production of bioactive Compounds by actinomycetes and their antioxidant Properties,vol ID 217030,8P

Aoua,L. (2006) .Mise en évidence des actinomycètes aérobies pathogènes impliqués dans les infections traitées au service des maladies infectieuses du CHU de Constantine. Etude des caractéristiques culturales des souches isolées et purifiées. Mémoire de Magister. En Biochimie et Microbiologie appliquées. Université Mentouri Constantine. P : 4-8

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

Andreea, O.,(2009) ..Life in extreme environments,Volume 9 - Numéro 1 - 1^o Semestre

B

Benimeli ,c.s .,A moroso M.J.,Chaile A.P.,Castro G.R (2003).Isolation of four aquatic streptomycetes strains capable of growth on organochlorine pesticides bioresource technology;89.133-138

Barlow, S.M. (1990); Toxicological aspects of antioxydants used as food addives. *In: Food antioxydants.* Hudson B.J.F. (ed), Elseveir, Amsterdam. 253-307.

C

Chung, Y., Chien, C., Teng K., Chou ,S.(2006).Antioxidative and mutagenic properties of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb & zucc, *Food Chemistry*,vol 97, p 418-425.

Courtenay ,E.S., Capp, M.W., Anderson, C.F., Record, M.T. (2000). Vapor pressure osmometry studies of osmolyte-protein interactions: implications for the action of osmoprotectants in vivo and for the interpretation of osmotic stress experiment in vitro. *Biochemistry*, 39:4456–4471.

D

Dym, O., Mevarech, M., and Sussman, J.L. (1995). Structural features that stabilize halophilic malate dehydrogenase from an archaebacterium. *Science* 267, 1344–1346.

Demain ,A.L., Fang ,A. (2000). The natural functions of secondary metabolites. In: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology: History of Modern Biotechnology I*,vol 69, p. 2–39,Fietcher A Ed. Berlin: Springer

E

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

F

Frankel, E. N. . (1993); In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in foods lipids. *Trends in Foods Sci. technol*4, 220-225.

G

Gauze, G.F, Preobrazhenskaia ,T.P, Ivanitskaia, L.P and Kovalenkova ,V.K (1960) Synthesis of new antibiotic monomycin by *Actinomyces circulatus* var. *monomycini* cultures. *Antibiotiki* 5:3–6

Goodfellow, M., Williams, S.T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Ann Rev Microbiol*, 37: 189–216.

H

He H., Ding W.D., Bernan V.S., Richardson A.D., Ireland C.M., Greenstein M., Ellestad G.A., CarterG.T. (2001). Lomaiviticins A and B, potent antitumor antibiotics from *Micromonospora lomaivitiensis*. *J Am Chem Soc.*, 123:5362–5363.

Hamdiken, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., Boiron, P. (2005). Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north–east of Algeria. *J Med Mycol*, 15(1) : 45–51.

Hamedi, J. , Poorinmohammad , N., Papiran, R. (2017). Growth and Life Cycle of Actinobacteria , Springer International Publishing AG,p 29-30

I

Iqarashi ,M., Hayashi, C., Homma ,Y., Hattori, S., Kinoshita, N., Hamada, M and Takeuchi, T. (2000). Tubelactomicin A, a novel 16-membered lactone antibiotic from *Nocardia* sp. I. Taxonomy, production, isolation and biological properties. *J Antibiot (Tokyo)* 53:1096–1101

Irwin, J A et Baird, A., W. (2004). Extremophiles and their application to veterinary medicine. 57(6): 348–354.

K

Kothagorla, V. R. R., Tamanam, R. R. (2013) Molecular characterization and its antioxidant activity of a newly isolated *Streptomyces coelicoflavus* BC 01 from mangrove soil, Journal of Young Pharmacists 5 121e126

Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Hamdiken, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., Boiron, P. (2005). Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north–east of Algeria. J Med Mycol, 15(1) : 45–51.

L

Lyons, A. J., Pridham, T. G. (1971). *Streptomyces torulosus* sp. n., an unusual knobby-spored taxon. Appl Microbiol, 22(2): 190–3.

Lamarij, L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Lacey, J. (1973). Actinomycetes in soils, composts and fodders. In: Actinomycetales: characteristics and practical importance. Eds.: G. Sykes, F.A. Skinner. Academic press, London, New York. 231–251.

Lechevalier, H.A., Lechevalier, M.P. (1967). Biologie of actinomycetes. Ann Rev Microbiol, 21: 71–100.

Lee, D.R., Lee, S.K., Choi, B.K., Cheng, J., Lee, Y.S. Antioxidant activity and free radical scavenging activities of *Streptomyces sp.* Strain MJM 10778. (2014); 962-967.

M

Mariat, F., Sebald, M. (1990). Les actinomycetes. Dans: Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France

Murphy ,B.T., Narender ,T., Kauffman, C.A., Woolery ,M., Jensen ,P.R., Fenical, W. (2010).

Saliniquinones A-F, new members of the highly cytotoxic anthraquinone-c-pyrones from the marine actinomycete *Salinispora arenicola*. Aust J Chem., 63:929–934.

O

Omura, S. (1992) The search for bioactive compounds from microorganisms. Springer,Verlag, New York.

Oren, A.2002.deversity of halophiles microorganisme environnement phylogoy .physiology and application .journal of industrial micrology and biotechnology ,28. 56-63 can .j.microbiol 48.407-417

Oren, A. (2001). The bioenergetic basis for the decrease in metabolic diversity at increasing salt concentrations: implications for the functioning of salt lake ecosystems. Hydrobiologia, 466:61–72.

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

Omura, S. (1992) The search for bioactive compounds from microorganisms. Springer, Verlag, New York.

Ontario.(1995) Habitats and geosmin and MIB production. Res J Can, 95 (2) : 113-118.

P

Porter, J.N. (1971). Prevalance and distribution of antibiotic producing actinomycetes. Adv Appl Microbiol, 14: 73–92.

Prescott L.M., jp.,and klein ,D.A.(2007).microbiologie.edition De Boeck et larcier

Prescott ,L. M.; Harley, J. P.; Klein ,D. A., (200)3. Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp: 1164.

Pine ,L. (1970)-. Classification and phylogenetic relationship of microaerophilic, actinomycetes. Int. J. Bacteriol. 20, 445-474.

Reeves.,A.R, Post., D.A and Boom., T.J.V (1998) Physical genetic map of the erythromycin producing organism Saccharopolyspora erythraea. Microbiology 144:2151–2159
Nomi R (1963) Streptomycin formation by intact mycelium of Streptomyces griseus. J Bacteriol 86:1220–1230

Perry, J.J., Staley, J.T., Lory, S. (2004). Microbiologie. Dunod, Pais. 497–498.

Prescott ,L. M., Harley ,J. P., Klein D. A. (2003). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp: **1164.**

R

Ross, A et Schugerl ,K. (2005) Tetracycline production by Streptomyces aureofaciens: the time lag of production. Appl Microbiol Biotechnol 29:174-180

Revathy, T., M.A. Jayasri and K. Suthindhiran (2013.) antioxidant and enzyme inhibitory potential of marin streptomycets . American Journal of Biochemistry and Biotechnology 9 (3): 282-290

Rampelotto, PH. 2010. Resistance of microorganisms to extreme environmental conditions and its contributions to astrobiology. Sustainability, 2010; 2: 1602-1623.

S

Stackebrandt, E., Rainey, F.A., Ward-Rainey, N.L. (1997). Proposal for a new hierarchic

classification system, Actinobacteria classis nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 47(2): 479–491.

Silvey ,J. K. G., Roach A. N., (1975). The taste and odor producing aquatic actinomycetes. *Crit. Rev. Environ. Control*. 5, 233-273.

submerged growth of *Streptomyces tendae* by image analysis. *Biotechnol Bioeng*, 39(2): 164–170.

Solanki ,R., Kahanna ,M. (2008). Bioactive compounds from marine actinomycetes. *Indian JMicrobiol.*, 48:410–431.

Sivakumar K., Sahu MK., Manivel PR., Kannan L. (2006). Studies on L-glutaminase producing actinomycetes strain LG-10 from the estuarine fish, *Chanos chanos* (Forsk., 1775). *Indian J Exp Biol.*, 44:256–258.

Sonya ,H.M., Galal A.M. (2005). Identification and antiviral activities of some halotolerant *Streptomyces* isolated from Qaroon lake. *Int J Agri Biol.*, 7:747–757.

Ratiba, Al-Mueini ,A.C., Muna, Al-Dalali, A.C., Issa, S. Al-Amri ,B and Heiko Patzelt,A,D. (2007).Hydrocarbon degradation at high salinity by a novel extremely halophilic actinomycete. *Environ. Chem.*, 4, 5–7.

Solecka, J., Zajko ,J., Postek M. and Rajnisz A. (2012). Biologically active secondary metabolites from actinomycetes. *Cent Eur J Biol.*, 7:373–390.

T

Tortora,G.J.,Funke,B.R.,and Case,C.L.(2007). *Microbiology:AnIntroduction*. SanFrancisco,CA:PearsonBenjaminCummings. Tseng,M.,Hoang,K.,Yang,M.,Yang,S.,andChu ,tropical marine sediments. *Appl Environ Microbiol*, 57(4):1102–1108.

Takamatsu, S ., Hodges, T.W., Rajbhandari, I., Gerwick, W.H., Hamann, M.T., Nagle, D.G.,(2003). Marine natural products as novel antioxidant prototypes. *J. Nat. Prod.* 66, 605–608.

Tanaka, S., Igarashi, K., Kaji, A. (1972). Studies on the action of tetracycline and puromycin.

J Biol Chem, 247(1): 45–50. Theilleux J., 1993. - les actinomycètes in Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V 612p, pp 425.

Z

Zaitlin, B., Watson, S.b., Ridal, J., Satchwill, T., Parkinson, D. (2003). Actinomycetes in lake

L'annexe

Matériel utilisé

- Autoclave
- Bain-Marie
- Ballons
- Bec Bunsen
- Bechers
- Boîtes de pétri
- Entonnoir
- Eprouvette
- Erlenmeyers
- Etuves à 175 °C , 37°C ,25°C,44 °C et 37°C
- Flacons
- Micropipette de 10-100µL, 100-1000 µL
- Plaque agitatrice (Raypa AG-5)
- Rotavapor (Bûchi Rotavapor R-114)
- Spectrophotomètre (RAYLEIGH)
- Tube à essais
- Vortex (VELP scientifica)

Milieux de culture

Milieu Bennatt

d-glucose anhydre	10g
casaminoacides	2g
extrait de levure	1g
extrait de viande	1g
agar	15g
eau distillée qsp	1000ml
ph=7.3	

milieu ISP5

glycérol	10g
L-asparagine	1g
K ₂ HPO ₄	1g
Solution saline ₁	1ml
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

Ph=7.0,7.1

Milieu ISP9

(NH ₄) ₂ SO ₄	2,64g
KH ₂ HPO ₄	2,38g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	1g
Solution saline ²	1ml
Agar	20g
Eau Distillée	1000ml

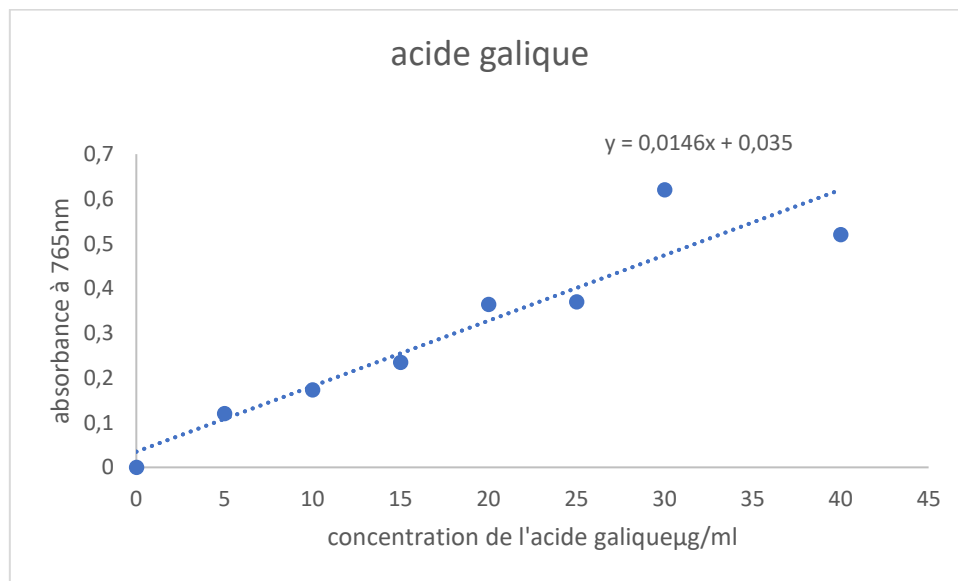


Figure 18/Courbe d'étalonnage des polyphénols