

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Ferhat Abbas de Sétif
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

MEMOIRE DE MAGISTERE

En sciences biologiques

Présenté par :
Kerbab Souhila

Option: Génie Microbiologique

Thème:

**Les actinomycètes d'un sol salé:
rôle des osmoprotecteurs naturels.**

Devant le jury:

Président:	Pr. Guechi A.	U. F. Abbas. Sétif
Rapporteur:	Pr. Ghoul M.	U. F. Abbas. Sétif
Examineurs:	Pr. Larous L.	U. F. Abbas. Sétif
	Dr. Belhattab R.	U. F. Abbas. Sétif

Dédicaces

A

Mes parents

Mon mari

Mes sœurs

Mon frère

Ma belle famille

Mr Hammoudi Yacine

Mes enseignants qui m'ont éclairée la route du savoir

Mes amies et mes collègues

Remerciements

Tous mes remerciements vont d'abord à Mr le Professeur M. GHOUL pour avoir accepté de diriger ce travail qu'il trouve ici l'expression de ma profonde et sincère reconnaissance pour tous ses efforts, son savoir, ses critiques constructives et sa confiance.

Mes sincères remerciements vont aussi à Mr le Professeur A. GUECHI de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance.

Messieurs le Professeur L. LAROUS et Dr. R. BELHATTAB ont accepté spontanément de faire partie de ce jury, je leur témoigne toute ma gratitude.

Mes remerciements vont aussi à Mr A. SILINI, Mme H. CHERIF, Mr S. HABI et Mme F. ARIF, Je les remercie pleinement pour les efforts qu'ils ont consacrés.

Sommaire

Dédicaces

Remerciements

Sommaire-----I

Liste des tableaux -----V

Liste des figures-----VI

Introduction-----1

Revue bibliographique

I- Les microorganismes du sol -----3

1- Les champignons -----4

2- Les algues-----4

3- Les protozoaires-----4

4- Les procaryotes -----5

5- Les actinomycètes-----6

5-1- Caractères généraux -----6

5-2- Taxonomie-----6

5-2-1- Les mycobactériacées-----6

5-2-2- Les actinomycétacées-----7

5-2-3- Les streptomycétacées -----7

5-2-4- Les actinoplanacées-----8

5-3- Rôle des actinomycètes dans le sol-----8

1- La production d'antibiotiques-----9

2- Les anti-fongiques ----- 10

3- La solubilisation des phosphates-----10

4- La production de phytohormones-----11

II- Effet du sel sur la flore microbienne du sol	12
---	-----------

III- Les mécanismes d'osmoadaptation	12
---	-----------

1- Les solutés compatibles	13
----------------------------	----

IV- Effet du sel sur les plantes	18
---	-----------

1- Les perturbations physiologiques	18
-------------------------------------	----

2- Les mécanismes d'halotolérance	19
-----------------------------------	----

3- Les halophytes	19
-------------------	----

4- <i>Atriplex halimus</i>	22
----------------------------	----

VI- L'interaction microbe-plante	23
---	-----------

1- Effets rhizosphériques	23
---------------------------	----

2- Effet des rhizobactéries sur les plantes	23
---	----

2-1- Les microorganismes promoteurs de la croissance	24
--	----

2-2- Les biofertilisants	24
--------------------------	----

2-3- Modulation de phytohormones	24
----------------------------------	----

2-4- La production de composés bioactifs et des biomatériaux	25
--	----

Matériels et méthodes

I- Isolement des actinomycètes à partir de sol salé-----27

1- Echantillonnage-----27

2- Isolement des actinomycètes -----27

II- Effet de NaCl et/ou de glycine bêtaïne sur la croissance des souches

actinomycétales -----30

1- Milieux d'étude de l'halotolérance-----30

2- Les cultures bactériennes-----30

3- Etude de la croissance bactérienne en présence de sel-----31

III- Effet de sel et/ou d'extrait d'halophyte sur la croissance des souches

actinomycétales-----32

1- Choix et préparation d'halophyte-----32

2- Préparation d'extrait aqueux de *Atriplex halimus*-----32

3- Milieux SMM et SCA et/ou extrait aqueux de *Atriplex halimus*-----35

IV- Effet de NaCl et d'osmoprotecteurs sur l'activité antibactérienne des

souches-----36

1- Mise en évidence de l'activité antibactérienne des souches actinomycétales-----36

2- Etude de l'effet de NaCl et d'osmoprotecteurs sur l'activité antibactérienne des souches-----

-----38

3- Analyses statistiques-----38

Résultats

I- Isolement des actinomycètes -----	40
1- Les caractéristiques morphologiques des souches-----	40
II- La croissance de souches d'actinomycètes: effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i>. -----	43
III- La croissance de souches d'actinomycètes: effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> (Une comparaison entre les souches) -----	55
IV- Activité antibactérienne des souches d'actinomycètes: effet de NaCl, GB et extrait de <i>Atriplex halimus</i>. -----	64
V- Activité antibactérienne des souches d'actinomycètes: effet de NaCl, GB et extrait de <i>Atriplex halimus</i> (Une comparaison entre les souches). ----	72

Discussion

1- Appréciation de l'halotolérance des souches actinomycétal---	81
1-1- En milieu minimum (SMM) -----	81
1-2- En milieu riche (SCA)-----	84
 2- Effet osmoprotecteur d'extrait aqueux de <i>Atriplex halimus</i> sur les souches actinomycétales-----	85
 Conclusion-----	87
Références bibliographiques-----	89
Annexes -----	111
Résumé -----	114
Abstract -----	115
ملخص-----	116

Liste des tableaux

Tab. 1 : Principaux taxons de microorganismes du sol-----**3**

Tab. 2 : Caractéristiques principales de genres d'actinomycètes fréquents dans les
sols-----**7**

Tab.3 : Caractéristiques morphologiques de quelques colonies de souches actinomycétales---
-----**41**

Liste des figures

Fig. 1 : Principaux groupes d'actinomycètes-----	8
Fig. 2 : <i>Atriplex halimus</i> -----	22
Fig. 3 : Etapes relatives à l'isolement des actinomycètes du sol salé-----	29
Fig. 4 : Etapes relative de l'effet de sel et/ou GB sur la croissance des souches actinomycètes-----	32
Fig. 5 : Préparation d'extrait aqueux de <i>Atriplex halimus</i> -----	34
Fig. 6 : Etapes relative de l'effet de sel et/ou d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance des souches actinomycètes-----	35
Fig. 7 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne des souches actinomycétales-----	37
Fig. 8 : Diversité de colonies de 4 souches d'actinomycètes sur milieu SCA -----	42
Fig. 9 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> (A.h) sur la croissance de A06 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA) -----	44
Fig. 10 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A33 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA) -----	45
Fig. 11 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A02 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA) -----	46
Fig. 12 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A09 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA) -----	47
Fig. 13 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A12 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA)-----	48
Fig. 14 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A30 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA)-----	49
Fig. 15 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A11 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA)-----	50
Fig. 16 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A10 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA)-----	51
Fig. 17 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A22 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA) -----	52
Fig. 18 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A23 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA)-----	53
Fig. 19 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de <i>Atriplex halimus</i> sur la croissance de A27 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA)-----	54
Fig. 20 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A09 contre <i>S. aureus</i> -----	64
Fig. 21 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A33, A34 contre <i>S. aureus</i> -----	65
Fig. 22 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A23 contre <i>S. aureus</i> -----	65
Fig. 23 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A26 contre <i>S. aureus</i> -----	66

Fig. 24 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A04 contre <i>S. aureus</i> -----	66
Fig. 25 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A29 contre <i>S. aureus</i> -----	67
Fig. 26 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A30 contre <i>S. aureus</i> -----	67
Fig. 27 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A22 contre <i>S. aureus</i> -----	68
Fig. 28 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A12 contre <i>S. aureus</i> -----	68
Fig. 29 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A27 contre <i>S. aureus</i> -----	69
Fig. 30 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A02 contre <i>S. aureus</i> -----	69
Fig. 31 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A10 contre <i>S. aureus</i> -----	70
Fig. 32 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de <i>A. halimus</i> sur l'activité de A11 contre <i>S. aureus</i> -----	70

Introduction

Différents stress abiotiques tels la température, l'acidité et la salinité élevées, affectent la croissance des microbes et les végétaux induisant un dysfonctionnement cellulaire allant jusqu'à la mort (Roberts, 2005). La salinité des sols et des eaux d'irrigation est l'un des facteurs limitatifs de la productivité végétale et du rendement agricole.

La résolution de ce problème résiderait dans la sélection et l'amélioration de souches bactériennes osmotolérantes promotrices de la croissance des plantes (PGPR), l'amélioration des procédures de gestion et de choix appropriés aux cultivars des plantes et l'utilisation de substances naturelles permettant la restauration et l'amélioration de l'agriculture telles que les halophytes.

En effet, l'application des PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) constitue une importance majeure dans l'agriculture, elle permet d'améliorer la croissance des plantes par l'emploi des ressources biologiques naturelles. Par ailleurs, l'utilisation des bactéries dans l'agriculture offre bon rendement même dans des conditions sévères comme la salinité, ceci est généralement lié à la stimulation du développement racinaire, la biosynthèse de phytohormones et l'apport de nutriments et de l'eau.

Les molécules osmoprotectrices existent chez de nombreux être vivants confrontés à la salinité (microbes halophiles, halophytes, macroalgues marines...) leur permettant de vivre de façon optimale dans des écosystèmes salés, ces molécules restaurent aussi la croissance de nombreuses bactéries halotolérantes (*E. coli*, *Rhizobium*) confrontés à des stress osmotiques (Lamosa *et al.*, 1998).

En effet l'utilisation de tels osmoprotecteurs pour la récupération de sols salés /arides par la restauration aussi bien des bactéries du sol que les plantes paraît intéressante. Bien évidemment les bactéries et les plantes doivent présenter un intérêt agricole. Notre choix s'est porté sur l'étude des actinomycètes car ils constituent une source naturelle de différentes molécules bioactives comme les antibiotiques, les antifongiques, les vitamines et les enzymes (Basilio *et al.*, 2003) et leur réponse à l'apport de molécules osmoprotectrices d'extraits d'un halophyte (*Atriplex halimus*) une source efficace d'osmoprotecteurs pour les microorganismes lorsque ils sont cultivés dans des conditions de stress osmotique induites par le sel.

Revue bibliographique

Le sol est un environnement complexe caractérisé par une grande diversité d'organismes (notamment les microorganismes) et les composés chimiques et par la structure physique complexe (Wild, 1993). Il est formé par la désagrégation physique, chimique et biologique des roches en petites particules et selon la nature de la roche il y a plusieurs types de sols dont la sebkha

Le mot sebkha est un terme de langue arabe qui est utilisé pour une dépression (parfois une zone de plat) occupé par un lac, généralement salés, c'est un sol semi-aride de la nature de sable, ou à peu près dépourvue de végétation et un taux élevé de sel (Kitouni *et al.*, 2005).

I- Les microorganismes du sol

Les microorganismes du sol sont représentés par quelques métazoaires, des protozoaires, des algues microscopiques, des champignons, des bactéries dont des actinomycètes, des cyanobactéries et des virus (Wild, 1993; Maier *et al.*, 2000). Une présentation des microorganismes telluriques fondée sur des classifications traditionnelles et qui privilégie les caractéristiques trophiques des organismes et leurs activités est proposée par Roger et al. (2001). (Tab.1)

Tab. 1 : Principaux taxons de microorganismes du sol (Roger *et al.*, 2001).

Grands groupes	Taxons considérés comme importants dans le sol	Commentaires
Virus		
Procaryotes photosynthétiques	Cyanobactéries	Ex. Cyanophycées (algues)
Bactéries	Bactéries pourpres et vertes	
	Pseudomonales chimio-autotrophes	
	Pseudomonales chimio-hétérotrophes	
	Eubactériales	
	Protistes inférieurs	
Actinomycètes	Mycobactériacées	Les Actinomycètes sont des bactéries Gram + à structure végétative de type mycélien
	Actinomycétacées (ou Proactinomycètes)	
	Streptomycétacées	
	Actinoplanacées	
Champignons	Moisissures à plasmodium	
	Champignons à flagelle	
	Zygomycètes	
	Champignons supérieurs	
	Champignons imparfaits	
Algues	Algues vertes	
	Eugléniens	aussi dans les Protozoaires
	Algues jaunes, Diatomées	
Protozoaires	Amibes	
	Testacés	
	Flagellés	
	Ciliés	

1- Les champignons

Ils sont hétérotrophes, certains d'entre eux sont saprophytes (Wild, 1993). La grande majorité des champignons isolés sont ceux formant un grand nombre de spores, particulièrement les Mucorales (*Mucor*, *Mortierella*, *Rhizous*) et les deutéromycètes (*Penicillium*, *Aspergillus*, *cladosporium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Botrytis*). Leur rôle dans la décomposition de la matière organique est très important, Ils dégradent la cellulose et la lignine des végétaux (Maier *et al.*, 2000).

2- Les algues

Les algues sont confinées à la surface du sol (Wild, 1993) ou aux quelques centimètres supérieurs. Un grand nombre d'espèces a été isolé des sols mais seulement quelques unes sont communes: *Chlorococcum humicola* et quelques *Oedogonium* et *Vaucheria*, elles sont inconnues dans les eaux. Les formes du sol sont habituellement plus petites que celles aquatiques, la plupart sont cosmopolites (ex: *Hantzschia amphixus*, des espèces de *Nostoc*, *Chlamydomonas*, *Stichococcus*, *Zygogonium*, *Hormidium*).

3- Les protozoaires

Les genres de protozoaires du sol sont les même que ceux des environnements aquatiques. Très peu sont exclusivement trouvés dans le sol. Les espèces les plus communes sont: *Heteromita globosa*, *Colpoda cucullus* et *Hartmanella hyalina*. Ce sont des consommateurs de bactéries, de levures et de champignons, ils sont impliqués aussi dans la décomposition de la matière organique (Maier *et al.*, 2000)

4- Les Procaryotes du sol

4-1- Procaryotes photosynthétiques

4-1-1- Les cyanobactéries

Les cyanobactéries ou algues bleu-vert sont des procaryotes photosynthétiques dont certains sont capables de fixer l'azote atmosphérique. Elles ont des formes structurales très diverses qui vont des organismes unicellulaires à des organismes pluricellulaires filamenteux présentant des ramifications de plusieurs types et formant des thalles.

En raison de leur caractère photosynthétique, les cyanobactéries (fixatrices de N₂ ou non) sont des producteurs primaires de matière organique (Roger *et al.*, 2001).

4-1-2- Les bactéries rouges ou vertes (rhodobactéries ou chlorobactéries)

Ce sont des microorganismes qui tirent leur énergie de la lumière, possèdent des pigments spécifiques (bactériochlorophylles) et ne produisent pas d'oxygène. Les rhodobactéries sont mobiles; elles se développent à la lumière en anaérobiose en utilisant le CO₂ comme source de carbone et des composés minéraux réduits (H₂S, H₂) comme donneurs d'électrons. Elles peuvent aussi croître à l'obscurité en aérobiose en oxydant des composés organiques et en utilisant du carbone combiné. Les chlorobactéries sont immobiles et ne se développent qu'en anaérobiose à la lumière sur CO₂. Les chlorobactéries et les rhodobactéries en raison de leurs exigences écologiques particulières (anaérobiose + lumière) se rencontrent dans des milieux contenant des sulfures et riches en matière organique tels que les bassins de décantation, les eaux lacustres riches en matière organique, les litières végétales aquatiques et certains sols hydromorphes. Elles ont un rôle important dans le cycle du soufre (Roger *et al.*, 2001).

4-2- Les bactéries non photosynthétiques

Les bactéries du sol ont une grande variété de formes. Elles peuvent être mobiles ou immobiles et posséder ou non des formes de résistance (spores, kystes).

Chez les bactéries sporulantes deux genres principaux, *Bacillus* et *Clostridium* sont abondants dans le sol. Le genre *Bacillus*, très hétérogène, comprend des espèces anaérobies facultatives ou aérobies, alors que les *Clostridia* sont toutes des fermentaires anaérobies stricts. Les bactéries à Gram positif non sporulantes comprennent trois groupes principaux:

- Les bactéries lactiques fermentaires, donc anaérobies facultatives.
- Les bactéries méthanogènes, anaérobies strictes, utilisent le CO₂ comme accepteur final d'électrons et produisent du méthane.
- Les corynébactéries de forme très variable, intermédiaires entre les bactéries et le grand groupe des actinomycètes (Davet, 1996).

Parmi les bactéries à Gram négatif hétérotrophes, de très nombreuses espèces peuvent utiliser une grande variété de composés organiques comme source de carbone et d'énergie. Ce groupe d'une grande importance agronomique comprend les genres fixateurs d'azote *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, etc... (Davet, 1996)

5- Les actinomycètes

5-1- Caractères généraux

Les actinomycètes sont des bactéries à Gram positif avec un coefficient de Chargoff (G C) élevé, saprophytes, largement distribuées dans le sol, l'eau et les plantes montrant une diversité chimique et morphologique marquée, mais forment une ligne distincte de l'évolution des organismes (Goodfellow et O'Donnell, 1989).

Bien que les actinomycètes soient des microorganismes procaryotes, leur morphologie ressemble fortement à celle des micro-organismes eucaryotes comme les champignons filamenteux (Osada, 1998). Les actinomycètes présentent des similitudes avec les eubactéries et les champignons. Il existe des formes de transition, mycéliennes typiques et unicellulaires, présentant une aptitude peu marquée à former un mycélium ramifié. Le diamètre des filaments des formes mycéliennes est toutefois environ deux fois plus faible (0,5 à 1,2 µm) que celui des mycélia de champignons.

La plupart des actinomycètes sont terrestres, certaines espèces sont marines (Mincer *et al.*, 2002). Les actinomycètes sont répandus dans l'environnement et la plupart des espèces sont chimioorganotrophes, aérobies, mésophiles et croissent de façon optimale dans la gamme de

pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité (Williams et Wellington, 1982a; Goodfellow et Williams, 1983). Les facteurs importants contrôlant l'abondance et l'activité des actinomycètes dans le sol sont : la disponibilité des nutriments, la nature et l'abondance de la matière organique, la salinité, la teneur en humidité relative, la température, le pH et la végétation du sol (Goodfellow et Williams, 1983).

5-2- La taxonomie des actinomycètes

Stanier (1966) subdivise les actinomycètes en quatre familles:

1- Les mycobactériacées

Ce sont les actinomycètes dont la morphologie est la plus voisine de celle des bactéries: le mycélium formé en début de développement se rompt rapidement pour libérer des bâtonnets ramifiés ou irréguliers. Les mycobactériacées présentent des affinités marquées avec les corynébactériacées et les bactéries lactiques.

Ils se différencient des autres bactéries et actinomycètes, à l'exception de certains

Nocardia, par leur acido-résistance. Cette famille est représentée par le seul genre *Mycobacterium* qui comprend des espèces pathogènes dont la plus connue est *M. tuberculosis*, agent de la tuberculose (Stanier, 1966).

2- Les actinomycétacées (ou proactinomycètes)

Cette famille représentée par les genres *Nocardia* et *Actinomyces* occupe une position intermédiaire entre les mycobactériacées caractérisées par une structure bactérienne et les streptomycétacées caractérisées par une structure pseudo mycélienne. Elle diffère des mycobactériacées par sa croissance presque entièrement mycélienne avec toutefois une tendance variable à la segmentation. Elle diffère des streptomycétacées par l'absence de conidies (Tab.2) (Stanier, 1966).

Tab. 2 : Caractéristiques principales de genres d'actinomycètes fréquents dans les sols.
(Stanier, 1966)

<i>Nocardia</i>	Filaments qui se fragmentent rapidement en unités bactériiformes. Les filaments se développent rarement au-dessus du milieu. Les spores sont rarement produites.
<i>Thermoactinomyces</i>	Spores uniques formées sur des filaments dans et au-dessus du milieu. Spores thermorésistantes. Espèces thermophiles.
<i>Streptomyces</i>	Longues chaînes de spores formées sur des filaments qui se développent au dessus du milieu de culture. De nombreuses espèces produisent des antibiotiques.
<i>Streptosporangium</i>	Spores formées dans des sporanges ou en chaînes sur les filaments au-dessus du milieu. Colonies morphologiquement semblables aux <i>Streptomyces</i> .
<i>Micromonospora</i>	Les filaments ne se développent pas au dessus du milieu. Spores uniques produites dans ou à la surface du milieu. Croissance lente.

3- Les streptomycétacées

Cette famille est caractérisée par une structure mycélienne permanente. La reproduction se fait par conidies et rappelle, pour cette raison, celle des champignons. Le genre *Streptomyces* est très répandu dans le sol où il représente souvent 70 à 90 % des actinomycètes. Il se distingue des *Nocardia* par leur mycélium végétatif persistant quel que soit le stade de développement et une reproduction par des conidies en chaîne. Les colonies de *Streptomyces* comprennent un mycélium végétatif très serré, implanté dans le milieu et un mycélium aérien, plus lâche, d'aspect poudreux, formé d'hyphes terminés par des conidies en chaînes. Le genre *Micromonospora* est caractérisé par un développement faible ou nul du mycélium aérien; les conidies, isolées ou en grappes, sont portées directement par le mycélium végétatif. Les différentes espèces, pour la plupart thermophiles, se développent surtout dans les fumiers et les composts (Fig1) (Stanier, 1966).

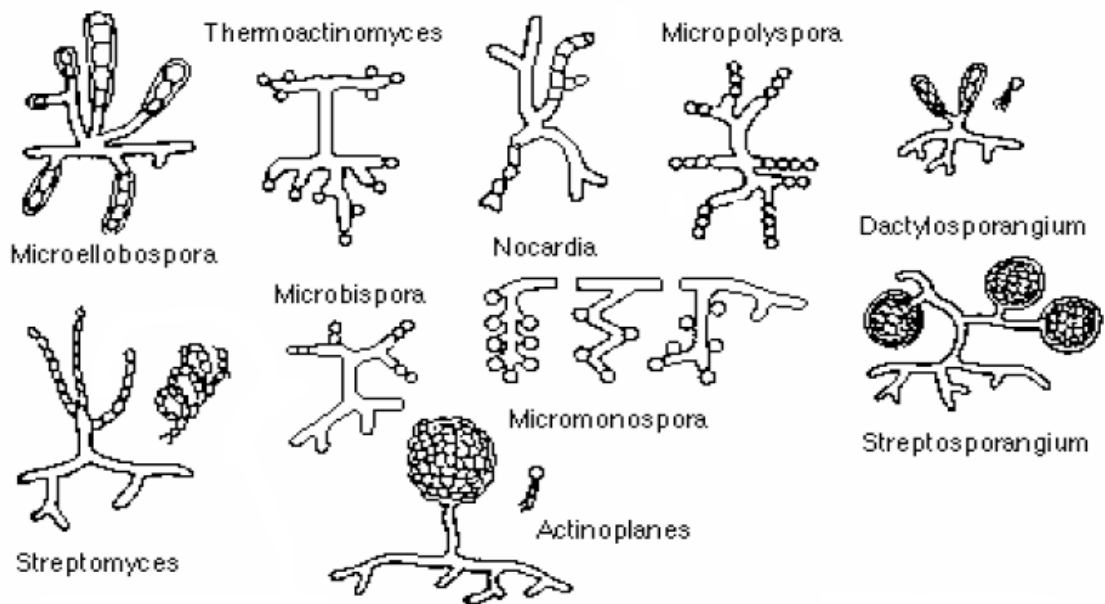


Fig.

1 : Principaux groupes d'actinomycètes (Stanier, 1966)

4- Les actinoplanacées

Les espèces appartenant à cette famille ont un cycle qui présente un stade mobile (sporangiospores mobiles). Le genre *Actinoplanes* est aquatique (Stanier, 1966).

5-3- Rôle des actinomycètes dans le sol

Dans le sol, la densité des actinomycètes, essentiellement représentés par les genres *Nocardia* et *Streptomyces*, est en général 3 à 15 fois plus faible que celle des bactéries et varie entre 10^5 et 10^8 unités /g de sol. Leur densité augmente dans les sols alcalins et décroît dans les sols submergés (Goodfellow et Williams, 1983). Leur rôle dans le sol est important en raison de leur aptitude à dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries (Crawford, 1993), et à produire des substances probiotiques et antibiotiques (Kieser *et al.*, 2000). Les premiers stades de la dégradation de la matière organique sont le fait de bactéries et de champignons. Les actinomycètes ne se développent pas durant ces premiers stades en raison de leur inaptitude à la compétition, par contre, ils se développent relativement bien sur une matière organique partiellement dégradée et inapte à porter une microflore fongique et bactérienne (Crawford, 1993).

1- La production d'antibiotiques

Les actinomycètes sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que producteurs d'antibiotiques (Berdy, 2005). On estime que les deux tiers des quelque six mille antibiotiques isolés jusqu'ici sont produits par les actinomycètes. Historiquement A. Waksman fut le premier à démontrer la richesse des actinomycètes dans ce domaine, il isola quatre des premiers antibiotiques utiles : l'actinomycine (1940)- antitumorale ; la streptomycine (1944)- antibactérienne et antituberculeuse ; la néomycine (1949)- antibactérienne ; et la candididine (1953)- antifongique ayant aussi des propriétés pharmacologiques intéressantes en tant que ligand des stéroïdes. Parmi les espèces actinomycétales, les *Streptomyces* sont les plus importants producteurs d'antibiotiques et autres métabolites secondaires, 75% des antibiotiques sont produits par les espèces de streptomycètes (Revel *et al.*, 2000).

Les antibiotiques des actinomycètes peuvent être classés en groupes chimiques dont voici quelques exemples:

Les aminoglycosides (streptomycine, néomycine, kanamycine, gentamicine);

Les macrolides (érythromycine);

Les ansamycines (rifamycine);

Les bêta-lactames (thiénamycine);

Les peptides (viomycine, thiostrepton, actinomycine, pristinamycine);

Les tétracyclines (chlortétracycline, oxytétracycline);

Les nucléosides (puromycine);

Les polyènes (nystatine, candididine, amphotéricine B);

Les polyéthers (monensine) (Berdy, 2005).

Les antibiotiques des actinomycètes sont utilisés aussi dans le traitement de certaines maladies des plantes. La blasticidine, par exemple, est active sur *Piricularia oryzae*, un pathogène du riz (Tomita *et al.*, 1990).

Les enzymes sont, après les antibiotiques, les plus importants produits des actinomycètes. Certaines sont utilisées dans l'industrie alimentaire (isomérase du glucose) et dans celle des détergents (protéases).

Les glycosidases des actinomycètes jouent un rôle important dans la dégradation des biomasses végétales (amylases, xylanases) et animales (chitinases) (Tsujibo *et al.*, 2003). Certaines de ces enzymes peuvent avoir des applications médicales (neuraminidases,

estérases et oxydases des stérols), elles sont utilisées en biologie moléculaire (endonucléases de restriction) (Mitsuiki *et al.*, 2002). Cependant si les actinomycètes sont une source appréciable d'enzymes, inversement, ils sont aussi une mine d'inhibiteurs d'enzymes de bas poids moléculaire. Beaucoup d'actinomycètes producteurs d'antibiotiques élaborent non seulement les enzymes nécessaires à leur formation mais aussi des enzymes inactivant les antibiotiques pour se protéger de leur action toxique.

En plus des antibiotiques antimicrobiens, les actinomycètes sont une source de substances antitumorales (actinomycine, adriamycine, rebeccamycine), insecticides (mikkomycine), miticide (tétranactine), antihelminthiques (avermectines), pesticides (antimycine A), herbicides (phosphinothricines) et de substances ayant des activités biologiques les plus diverses (immunosuppressives, immunostimulantes) (Dietera *et al.*, 2003). Il ne faut pas oublier que les antibiotiques ont trouvé une application en agriculture à des fins de lutte contre les maladies des animaux et des plantes et aussi pour stimuler la croissance des animaux domestiques et accroître les rendements zootechniques (Tomita *et al.*, 1990).

2- Les anti-fongique

Les antagonistes microbiens sont largement utilisés en lutte biologique contre les champignons phytopathogènes. L'activité antagoniste de *Streptomyces* vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires des enzymes hydrolytiques (Prapagdee *et al.*, 2008). Les pramcidines sont des antifongiques synthétisés par une souche d'*Actinomadura bibisca* (Tomita *et al.*, 1990). Elles sont très actives contre des infection systémiques fongiques malgré leur activité modérée *in vitro* (Jean-jacques sanglier et Martha Trujillo, 1997) A coté de leur production d'antibiotiques, très importante, les actinomycètes possèdent d'autres propriétés intéressantes parmi elles:

3- La solubilisation des phosphates

Généralement, le contenu de phosphore dans le sol est de 0,05% (p/p), cependant seule une très faible proportion des phosphates est disponible aux plantes, la majeure partie est complexée par l'aluminium, le calcium et le magnésium (Kumar *et al.*, 1999). Il n'est pas requis en grandes quantités mais peut être un important facteur limitant de la croissance.

Dans les champs, ce substrat est susceptible d'être solubilisé par l'action de microorganismes (Arcand et Schneider, 2006). La littérature décrit ces microorganismes solubilisant les phosphate (PSM) comme appartenant à des genres d' *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aereobacter*, *Erwinia* et *Actinomyces* (Mba, 1997; Rudresh *et al.*, 2005)

4- La production de phytohormones

Les phytohormones sont de petites molécules régulatrices de la croissance végétale (Zahir *et al.*, 1996) qui régissent la croissance et le développement en agissant sur la division, l'élongation et la différenciation cellulaires, la régulation de l'activité enzymatique et l'induction de la germination des racines (Archad et Frenkenberger, 1992). Les auxines sont un groupe qui ont la capacité d'améliorer la croissance des plantes en stimulant l'élongation des cellules, l'initiation des racines, la germination des graines et la croissance des semis (El-Tarabily, 2008). L'acide indole acétique (AIA) est une auxine naturelle commune et un produit du métabolisme du L-tryptophan chez les microorganismes (Zahir *et al.*, 1997). Environ 80% des bactéries de la rhizosphère peuvent sécréter de l'AIA (Bhavdish *et al.*, 2003). Plusieurs espèces de *Streptomyces*, telles que *olivaceoviridis*, *rimosus*, et *rochei* de la rhizosphère de tomate, sont concernées (Aldesuquy *et al.*, 1998; Tokala *et al.*, 2002; El-Tarabily, 2008). Aujourd'hui, certains actinomycètes de rhizosphère sont étudiés et mis au point un produit commercial (Mahadevan et Crawford, 1997).

II- Effets du sel sur la flore microbienne du sol

Les effets du stress salin sur l'activité microbienne dans un sol sont complexes et imprévisibles du fait que plusieurs interactions peuvent avoir lieu entre les ions, les bactéries et les particules du sol (Polonenko *et al.*, 1986). Puisque la membrane cytoplasmique bactérienne est perméable à l'eau mais non à la plupart des métabolites, un choc hyper ou

hypoosmotique provoque un efflux ou un influx d'eau accompagné, respectivement, par une diminution ou une augmentation concomitante du volume cytoplasmique. Vu la rigidité de la paroi bactérienne, le choc hypoosmotique n'entraîne généralement qu'une légère augmentation du volume cytoplasmique. Par contre, le choc hyperosmotique a pour conséquence de considérable contraction du volume cytoplasmique. L'importance de cette plasmolyse dépend de l'osmolarité du milieu mais non de la nature du soluté.

L'exposition des bactéries à des conditions d'hyperosmolarités a comme résultat une diminution de l'activité de l'eau cytoplasmique. Les protéines et d'autres macromolécules biologiques ont une activité optimale entre certaines limites de valeurs de l'activité de l'eau, en dehors desquelles celle-ci est perturbée. La plasmolyse entraîne la dénaturation des enzymes (Yancey *et al*, 1982) et donc l'inhibition de processus physiologiques tels l'accumulation de nutriments (Roth *et al*, 1985) ou la réplication de l'ADN (Meury, 1988).

III- Les mécanismes d'osmoadaptation

Une propriété dynamique et importante de cellules est leur capacité à s'adapter rapidement aux changements de l'environnement dont l'augmentation de concentration de NaCl. Pour s'adapter à des excès externes de NaCl, les cellules accumulent une variété de petites molécules dans le cytoplasme pour contrecarrer la pression osmotique externe. Les cations inorganiques (K^+ et dans certaines cellules Na^+) sont souvent des acteurs-clés dans l'équilibre et la réponse osmotique.

L'accumulation de solutés assure aussi la stabilité des protéines qui agir comme des chaperons chimiques dans les cellules (Roberts, 2005).

1- Les solutés compatibles

Les solutés compatibles sont de petites molécules osmolytes organiques (les sucres, les polyols, les acides aminés, et leurs dérivés, les bétaines et les ectoïnes. Ils sont dits "compatibles" car n'influent pas sur la physiologie et les processus cellulaires même à des concentrations intracellulaires élevées (Robert, 2005). En plus de leur action protectrice sur la

cellule entière, ces solutés ont des effets significatifs sur les biomolécules *in vitro*. Il s'agit à la stabilisation des protéines et des structures d'acides nucléiques (Matthias, 2008).

Ces osmolytes peuvent être synthétisées par la cellule ou transportés dans la cellule du milieu, leur accumulation contribue à maintenir la pression de turgescence interne, le volume des cellules et la concentration d'électrolytes, tous des éléments importants de la prolifération cellulaire (Robert, 2005). Les plus rencontrés chez les bactéries sont les ions K^+ , les acides aminés tels le glutamate, la glutamine, la proline, le γ -aminobutyrate et l'alanine, les sucres tels le saccharose et le tréhalose, le glucosylglycérol et les dérivés méthylés d'acides aminés tels la glycine bétaine (Brown, 1976; Yancey *et al*, 1982).

Ces osmolytes permettent non seulement aux cellules microbiennes de résister à une osmolarité donnée, mais également d'étendre leur capacité de coloniser des niches écologiques plus salines (Kempf et Bremer, 1998; Bremer et Krämer, 2000). Ils ne peuvent traverser rapidement les membranes cellulaires sans l'aide de systèmes de transport et, pour la plupart, ne portent pas de charge électrique nette aux valeurs neutres de pH (Csonka, 1989). Cependant, les ions K^+ et le glutamate constituent une exception à cette généralisation, et ces deux solutés n'apportent aucune osmoprotection contre le stress hyperosmotique comme certains des métabolites non chargés. Il faut distinguer 2 classes de soluté compatibles.

Les uns n'ont aucun effet de stimulation sur la croissance des cellules en milieu à forte osmolarité.

Les autres, par contre, ont un important effet de stimulation sur le taux de croissance lorsqu'ils sont ajoutés au milieu de culture. Ce sont des osmoprotecteurs (Strøm et Cool, 1983).

Lors d'un stress osmotique sévère, leurs concentrations intracellulaires peuvent atteindre 1 M; des systèmes de transport convenables sont évidemment mis en œuvre pour les pomper à partir du milieu extérieur (Csonka et Hanson, 1991; Csonka et Epstein, 1996; Da Costa *et al*, 1998).

1-1- Le potassium

Le potassium est le cation la plus abondant dans le cytoplasme des bactéries. Suite à l'augmentation de l'osmolarité du milieu, les ions K^+ sont accumulés comme réponse primaire et transitoire afin de restaurer la pression de turgescence (Imhoff, 1986; Kempf et Bremer, 1998). Cette pression qui est la différence positive entre l'osmolarité interne et externe (Epstein et Schultz, 1968). La concentration intracellulaire en ions K^+ augmente à peu près

proportionnellement à l'osmolarité externe du milieu de croissance (Christian, 1955a; Christian, 1955b; Christian et Waltho, 1961; Epstein et Schultz, 1968; Tempest *et al.*, 1970; Reed et Stewart, 1985). L'accumulation des ions K^+ n'est pas liée directement à la diminution de l'activité de l'eau mais plutôt à la perte de la pression de turgescence (Laimins *et al.*, 1981; Meury *et al.*, 1985) ou la réduction du volume cytoplasmique (Csonka, 1989). La concentration intracellulaire du potassium est déterminée à la fois par son taux d'entrée (influx) et son taux de sortie (efflux) (Meury *et al.*, 1985). Ces processus d'échange des ions K^+ sont très rapides. Enfin, la rétention des ions K^+ nécessite l'accumulation du glutathion (Meury et Kepes, 1982). Les teneurs en ce métabolite augmentent avec le stress osmotique (Munro *et al.*, 1972).

1-2- Le glutamate

L'augmentation de la teneur intracellulaire en acides aminés en fonction du stress osmotique a été constatée chez plusieurs espèces bactériennes (Britten et McClure, 1962; Brown et Stanley, 1972; Hua *et al.*, 1982; Makemson et Hastings, 1979). Parmi les acides aminés accumulés, le glutamate, à lui seul, peut constituer plus de 50 % du pool total (Tempest *et al.*, 1970). Les concentrations atteintes sont directement proportionnelles à l'osmolarité du milieu (Richey *et al.*, 1987). La glutamine est aussi accumulée, mais ne servirait que comme précurseur de la synthèse du glutamate.

1-3- Le tréhalose

C'est un disaccharide non réducteur, formé de 2 molécules de glucose. Il est trouvé chez certains animaux qui peuvent résister à la dessiccation où il semble être spécialement efficace dans la protection des membranes biologiques (Crowe *et al.*, 1984). Il est l'osmolyte organique dominant chez certaines cyanobactéries (Mackay *et al.*, 1984), *Azotobacter chroococcum*, *Klebsiella pneumoniae* (D'Souza-Ault *et al.*, 1993); *Pseudomonas aerogenosa* (Madkour *et al.*, 1990), *Rhizobium meliloti* (Smith et Smith, 1989). Le tréhalose n'est pas accumulé en absence de stress osmotique ou quand les cellules se développent sous stress en présence de glycine bétaine (Larsen *et al.*, 1987), par contre la proline n'affecte pas son taux d'accumulation (Rod *et al.*, 1988).

1-4- La putrescine

La putrescine est une polyamine polycationique présente en quantités importantes chez *E. coli* croissant en milieu minimum à pH neutre. Elle interviendrait dans la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines (Tabor et Tabor, 1985). Sa concentration cytoplasmique est inversement proportionnelles à l'osmolarité du milieu (Munro et Coll, 1972). Elle équilibrerait les charges sur les acides nucléiques et maintiendrait l'électroneutralité du cytoplasme en compensant la chute de la concentration en ions K^+ (Higgins *et al.*, 1987a).

1-5- Les polyols

Le polyols (exp: glycerol, arabitol, sorbitol, mannitol et inositol) sont des soluté compatibles de des champignons, algues et plantes (Da Costa *et al.*, 1998), rarement accumulés par les bactéries avec des exceptions , c'est le cas de *Zymomonas mobilis* (sorbitol) (Da Costa *et al.*, 1998) et *Pseudomonas putida* (mannitol) (Kets *et al.*, 1994)

2- Les osmoprotecteurs

Un composé est considéré osmoprotecteur si il stimule considérablement la croissance des bactéries en présence de concentrations salines inhibitrices du milieu de culture (Le Rudulier, 1993; Wood, 1999).

2-1- La proline

La proline est accumulée à des fortes concentrations intracellulaires chez de nombreux microorganismes (Le Rudulier, 1993). Celle-ci peut être accumulée à des concentrations molaires (Da Costa *et al.*, 1998). Elle contribue à la stimulation de la croissance de plusieurs bactéries. C'est le cas de *S. thyphimurium* et *E. coli* (Le Rudulier et Bouillard, 1983; Csonka, 1989).

2-2 L'ectoïne

L'ectoïne (1, 4, 5, 6-tetrahydro-2 méthyle-4pyrimidine) est un acide aminé cyclique chargé positivement (Malin et Lapidot, 1996), découverte pour la première fois comme soluté compatible endogène chez la bactérie phototrophe extrêmement halophile *Ectothiorhodospira halochoris*, d'où son nom (Da Costa *et al.*, 1998). Depuis, l' ectoïne est détectée comme osmoprotecteur efficace chez plusieurs genres de bactéries: *Streptomyces* (Malin et Lapiot,

1996), *Pseudomonas* (Kets *et al.*, 1996) et *E. coli* (Talibart *et al.*, 1994; Bremer et Krämer, 2000).

2-3- Les ammoniums quaternaires

Les bétaines, dérivés méthylés d'acides aminés, sont les représentants majeurs de cette classe d'osmoprotecteurs. Il s'agit essentiellement de la glycine bétaine (G.B), la proline bétaine, l'hydroxyproline bétaine, pépicolate bétaine (Rhodes et Hanson, 1993).

a- La glycine bétaine

Elle est la plus simple des bétaines. C'est une substance très soluble dans l'eau et hygroscopique. Il est donc possible qu'elle joue un rôle dans l'attraction et la rétention de l'eau dans les cellules (Le Redulier *et al.*, 1984). La glycine bétaine est considérée comme le composé cytoplasmique majeur chez certaines familles de plantes adaptées au stress osmotique dû au sel (Storey et Wyn Jones, 1977; Wyn Jones *et al.*, 1981), chez les macro-algues (Ghoul *et al.*, 1995), chez plusieurs espèces bactérienne: *Pediococcus soyae* (Sakaguchi, 1960), *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* (Le Redulier et Valentine, 1982; Le Redulier et Bouillard, 1983), *Rhizobium meliloti* (Bernard *et al.*, 1986) et chez d'autres bactéries (Csonka, 1989).

La glycine bétaine est un osmoprotecteur à des concentrations aussi basses que 1mM, elle restaure la pression de turgescence et la croissance cellulaires en s'accumulant en grandes quantités. Dans des condition de forte osmolarité (NaCl 0,8 M), la concentration intracellulaire en G.B peut attendre 600 mM (Le Redulier et Bouillard, 1983). Par sa rétention de l'eau intracellulaire et son accumulation massive, elle rétablit l'équilibre osmotique entre la cellule et le milieu extérieur et par conséquent, évite à la cellule la plasmolyse et la déshydratation. La G.B est aussi un soluté compatible, elle s'accumule sans perturber le métabolisme normal et les fonctions enzymatiques de la cellule. De plus, elle stabilise la structure et la fonction des protéines et les protège contre l'effet dénaturant de la force ionique (Brown, 1976; Yancey *et al.*, 1982; Arakawa et Timasheff, 1985).

2-4- La choline

La choline est un composé azoté méthylé (Boncompagni *et al.*, 1999), elle effectue son pouvoir osmoprotecteur suite à son accumulation et oxydation en G.B (Landfald et Strøm,

1986; Csonka et Hanson, 1991; Bremer et Krämer, 2000). La voie de conversion se fait en 2 étapes et nécessite l'intervention de 2 enzymes (Landfard et Strøm, 1986), la choline déshydrogénase (Styrvold *et al.*, 1986) et la glycine bétaine déshydrogénase (Eshoo, 1988). Ces 2 enzymes peuvent transformer de très faibles concentrations extracellulaires de choline (1 mM) en des teneurs élevées de G.B intracellulaire (Landfard et Strøm, 1986). *Sinorhizobium mililoti* (Smith *et al.*, 1988), *E. coli* (Le Redulier *et al.*, 1984) et *Brevibacterium linens* sont des exemples (Bernard *et al.*, 1993; Jebbar *et al.*, 1995).

2-5- Les sulfoniiums tertiaires

Ce sont des analogues soufrés des bétaines, utilisés comme solutés compatibles par différents organismes vivants (Rhodes et Hanson, 1993). Le diméthylsulforiopropionate (DMSP) est répandu dans les milieux marins (Da Costa *et al.*, 1998). Il est accumulé spécifiquement comme osmoprotecteur lors d'une carence en azote dans le milieu (Ghoul, 1990; Ciula *et al.*, 1997). Le diméthylsulfonioacétate (DMSA) a aussi un effet osmoprotecteur aussi prononcé que celui du DMSP et de la G.B (Chambers *et al.*, 1987).

IV- Effet du sel sur les plantes

L'eau est une ressource indispensable pour les végétaux. Sa présence est une condition indispensable pour que toute plante puisse se développer et assurer ses fonctions physiologiques vitales. Cependant, cette ressource n'est pas toujours facile d'accès dans le sol, suivant le milieu naturel. Ainsi les plantes présentes sur des surfaces sèches ou salées vont être exposées à un stress hydrique important (Kulkarni *et al.*, 2000). Dans le cas d'un

stress salin, une double problématique se pose à l'organisme végétal : d'un côté, la présence de sel, en abaissant le potentiel hydrique du sol, menace l'approvisionnement en eau de la plante, de l'autre, l'absorption de sel dans les tissus perturbe le fonctionnement physiologique normal des cellules (Hashem *et al.*, 1998). Face à ce danger, toutes les plantes ne sont pas égales. Certaines, nommées glycophytes, ne sont pas capables de supporter la présence de sel (Grattan et Grieve, 1992). Les halophytes adaptées aux conditions salines, au contraire, ont développé des réponses physiologiques pour assurer leur approvisionnement en eau tout en préservant leur métabolisme (Flowers *et al.*, 1986).

1- Les perturbations physiologiques

Un excès de sel dans le protoplasme conduit à des perturbations dans la balance ionique (Levigneron *et al.*, 1995) et à des perturbations des enzymes (Guerrier, 1983), membranes et autres macromolécules. Ces perturbations entraînent une faible production d'énergie par la phosphorylation et la photorespiration, une assimilation de l'azote perturbée et un dérèglement de nombreuses voies métaboliques (Levigneron *et al.*, 1995). Si la concentration en sel excède le niveau de tolérance de la plante, des perturbations fonctionnelles apparaissent au niveau de la photosynthèse (Hashem *et al.*, 1998). L'acquisition de nutriments minéraux (K^+ , NO_3^- ou Ca) est également réduite (Grieve et Shannon, 1999). La croissance des végétaux est perturbée par fortes concentrations de sel. La plante montre alors des signes de stress par la production d'anthocyanes ou la destruction de la chlorophylle (Ochatt *et al.*, 1999). Des stress extrêmes conduisent au nanisme et à l'inhibition de la croissance racinaire (Johnson *et al.*, 1996).

2- Les mécanismes d'halotolérance

En général, la tolérance est associée aux caractéristiques morphologiques et physiologiques. La réponse des plantes et leur capacité à résister aux divers stress abiotiques varient largement d'un genre à l'autre et d'une espèce à l'autre (Ribaut *et al.*, 2002). L'halotolérance de nombreuses plantes est fonction des étapes de croissance (âge et état

physiologique) (François *et al.*, 1994; Prado *et al.*, 2000) et de la durée d'exposition au sel (Del Amor *et al.*, 1999). Elle impliquerait une synchronisation entre l'exclusion des ions dans les pousses, la compartimentation ionique au niveau des feuilles (Carvajal *et al.*, 1998; Marconi *et al.*, 2001) et l'ajustement osmotique (Marconi *et al.*, 2001)

2-1- L'ajustement osmotique

La stratégie mise en œuvre vis-à-vis du stress hydrique est l'accumulation de solutés dans les cellules (Meek et Oosterhuis, 2000). Ces solutés appartiennent à différentes classes, les sucres, les alcools, les acides aminés, les ammoniums quaternaires (glycine bétaine et proline) (Johnson *et al.*, 1996) et les sulfoniums tertiaires (Kiene *et al.*, 1999)

2-2- L'accumulation des solutés compatibles

Les composés azotés (protéines et autres acides aminés), hydroxylés (saccharose, polyols et aligosaccharides) et les ammoniums quaternaires sont parmi les solutés compatibles accumulés par les plantes. Le type d'osmolyte accumulé dépend de l'environnement naturel de chaque espèce végétale (Rhodes et Hanson, 1993; Bohnert *et al.*, 1995).

3- Les halophytes

Les halophytes sont des plantes naturellement adaptées aux milieux salés. La concentration intracellulaire de ces plantes en peut atteindre 1M grâce à l'haloadaptation spécifique des enzymes de la paroi cellulaire et des tissus (Flowers *et al.*, 1986; Köhl, 1997). De point de vue écologique les halophytes sont classées en trois catégories:

-Les halophytes proprement dit: tolèrent des taux relativement faibles, de 40 à 100 mM dans une solution de sol.

-Les euhalophytes: pouvant supporter des concentrations salines de l'ordre de 100 à 500 mM, tel que *Atriplex* spp.

-Les hyperhalophytes: se développant à des concentrations salines excédant celles de l'eau de mer, tel que *Sueda* spp, *Salicornia* spp (Le Houérou, 1993)

L'ajustement osmotique nécessite l'accumulation de solutés compatibles organiques tels: les sucres, les polyols, les bétaines et la proline (Prado *et al.*, 2000; Mile *et al.*, 2002)

a- Les ammoniums quaternaires

La glycine bétaine (G.B), l'ammonium le plus répandu chez les plantes supérieures, est accumulée suite à un stress abiotique, telle une salinité élevée (Rhodes *et al.*, 1993). Elle joue un rôle majeur dans la stabilisation des structures des enzymes et des complexes protéiniques et dans le maintien de l'intégrité des membranes contre les effets délétères de l'excès de sel, de froid, de la chaleur et la congélation (Hayashi *et al.*, 1997; Sakamoto et Murata, 2002). La G.B améliore aussi la fixation d'azote par les plantes soumises à un stress salin (Pocard *et al.*, 1991). Les halophytes accumulent des quantités énormes de G.B (Köhl, 1997; Larguet, 1998). Les épinards (Sulpice *et al.*, 1998), l'orge (Hayashi *et al.*, 1997) et le blé (Sabry *et al.*, 1995) sont des exemples de glycophytes accumulant de la G.B. Les plantes supérieures synthétisent la G.B à partir de la choline dans deux réaction enzymatiques (Nyyossölä *et al.*, 2001; Yokoi *et al.*, 2002)

b- La proline

L'accumulation de la proline est une réponse adaptative des tissus des plantes exposées à un stress osmotique (Aziz *et al.*, 1999; Mile *et al.*, 2002) et aussi chez certaines halophytes (Wyn Jones, 1980). La proline joue un rôle dans le maintien de la turgescence et la protection des membranes et des systèmes enzymatiques (Monneveux, 1997), elle est accumulée surtout dans les environnements secs (Bohnert *et al.*, 1995; Sabry *et al.*, 1995). Des concentrations élevées en NaCl (100 mM) causent l'augmentation de l'accumulation de proline chez les espèces de soja (Bourgouis-Chaillou *et al.*, 1991) et de Poplar (Watanabe *et al.*, 2000).

c- Les sulfoniums tertiaires

Le diméthylsulforiopropionate (DMSP) est particulièrement retrouvé chez les algues unicellulaires et les macro-algues (Kiene *et al.*, 1999) et chez les plantes à fleurs dans les milieux carencés en azote (Rhodes et Hanson, 1993; Mc Neil *et al.*, 1999).

d- L'ectoïne

L'introduction de gènes impliqués dans la voie biosynthétique de l'ectoïne dans les cellules de tabac conduit à une meilleure tolérance au choc hyper osmotique chez les plantes transgéniques (Nakayama *et al.*, 2000)

e- Les polyols

Les polyols fonctionnent dans 2 voies difficiles à séparer: ajustement osmotique (en facilitant la rétention de l'eau dans le cytoplasme) et osmoprotection (grâce à l'interaction avec les membranes, les enzymes ou les complexes protéiques) (Bohnert *et al.*, 1995).

Le mannitol et le pinitol sont accumulés par les plantes pour l'ajustement osmotique dans un milieu salé (Bohnert *et al.*, 1995).

La synthèse d'inositol augmente chez les plantes d' *Arabidopsis* en réponse à un stress salin (Dewald *et al.*, 2001).

f- Le potassium

Le potassium est l'osmolyte inorganique principal des plantes (Aziz *et al.*, 1999). Il est nécessaire au maintien de la turgescence et à l'ajustement osmotique. Chez les plantes sous stress salin, il est accumulé dans la vacuole pour servir de soluté compatible (Bohnert et Shen, 1999).

4- *Atriplex halimus*

Cette plante est connue pour ses intérêts écologiques et économiques, pour son usage comme plante fourragère (Alazzeh et abu-zanat, 2004) et pour sa tolérance à la salinité et à l'aridité (Abbad *et al.*, 2004). Elle est considérée parmi les espèces végétales qui valorisent le mieux l'eau des terrains salés, grâce à sa pression osmotique vacuolaire élevée due à de fortes concentrations en sels. Elle possède par ailleurs, un système racinaire très développé, fixant les couches supérieures du sol et peut être utilisée comme moyen de lutte contre la désertification. (Belkhodja et Bidai, 2004).



Fig. 2 : *Atriplex halimus*

VI- L'interaction microbe-plante

Les interactions entre les plantes et les microbes font partie intégrante de notre écosystème terrestre. Il existe plusieurs types d'interactions plantes-microbes.

Les plus courantes sont le commensalisme et le mutualisme où les deux bénéficient de leur relation (Campbell, 1995). Les avantages de la connaissance de ces interactions pour les applications biotechnologiques sont nombreux:

1- Dans la lutte biologique et les traitements pesticides menant à bon rapport coût /efficacité et moins d'impact sur la flore environnante (Boddey *et al.*, 2003).

- 2- La production de composés d'intérêt pharmaceutique et industriel avec moins d'énergie (Wu *et al.*, 2007; Del Giudice *et al.*, 2008)
- 3- La diminution de la nécessité d'ajouter les précurseurs et les catalyseurs coûteux (Anderson *et al.*, 1993).
- 4- La séquestration du carbone par des processus de plantes rhizosphère est une méthode potentiellement durable à la réduction du carbone atmosphérique (Kumar *et al.*, 2006).

1- Effets rhizosphériques

Les rhizobactéries sont des bactéries ayant l'aptitude à coloniser les racines de façon intense (Lemenceau, 1992). Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent à différents genres dont les plus étudiés sont: *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (Lemenceau, 1992).

Durant la germination et la croissance racinaire, la libération de matériel organique et inorganique favorise le développement de populations microbiennes spécifiques autour de la racine. Ce phénomène est appelé: «effet rhizosphère» (Whipps, 2001).

2- Effet des rhizobactéries sur les plantes

Les études basées sur la bactérisation ont montré deux principaux effets bénéfiques des bactéries rhizosphériques sur les plantes:

- stimulation de la croissance des plantes.
- protection des plantes contre les maladies d'origine tellurique.

2-1- Les microorganismes promoteurs de la croissance (PGPR Plant Growth Promoting Rhizo-bacteria)

Les interactions plantes-microorganismes sont utilisées pour améliorer la croissance des plantes pour la production des aliments, de fibres, les biocarburants et les principaux métabolites. L'interaction mutualiste peut être bénéfique directement avec des nutriments pour la plante ou en augmentant la disponibilité des composés tels que le fer ou le phosphate et également par des composés qui affectent directement le métabolisme des plantes (la production ou la dégradation de phytohormones). Les phytohormones: les auxines, les cytokinines, l'acide gibbérélique (GA3), l'acide abscissique et l'éthylène sont des molécules-

signal indispensables à la croissance qui induisent une gamme de processus de développement dans les plantes (Cindy *et al.*, 2009).

2-2- Les biofertilisants

Puisque les engrais chimiques sont coûteux, le développement des engrais biologiques est un domaine important et passionnant. Les relations symbiotiques établies entre les plantes et les bactéries comme *Rhizobium* et des actinomycètes (*Frankia* par exemple) fournissent la plupart de l'azote (N) à la disposition des légumineuses et des espèces de plantes actinorhiziennes. Un certain nombre d'études ont tenté de mettre au point la nouvelle association entre les plantes non légumineuses et les bactéries fixatrices d'azote, mais ces tentatives ont été souvent infructueuses (Preininger et Gyurjan, 2001).

2-3- Modulation de phytohormones

Les bactéries de la rhizosphère et les épiphytes phyllosphère-colonisateurs produisent une gamme de phytohormones stimulant la croissance des plantes. Une étude récente de Boiero (2007) a évalué la synthèse de phytohormones de souches de *Bradyrhizobium japonicum* disponibles dans le commerce cultivées en cultures pures. Celles-ci ont la capacité différentielle pour produire les cinq principales phytohormones: les auxines, les cytokinines, l'acide gibbérellique (GA3), l'acide abscissique et l'éthylène.

2-4- La production de composés bioactifs et des biomatériaux

Les métabolites secondaires produits par les plantes constituent une source importante de composés bioactifs pouvant être utilisés comme agents thérapeutiques ou pour la production de biomatériaux. L'interaction plante-microbe peut être exploitée pour améliorer la production de métabolites secondaires importants (Guillon *et al.*, 2009). Une culture mixte de *Salvia miltiorrhiza* et *Bacillus* sp. favorise la production de tashinone qui est une molécule bioactive utilisée dans la médecine chinoise contre les maladies cardio-vasculaires et la prévention des inflammations (Wu *et al.*, 2007).

Matériel et méthodes

I- Isolement des actinomycètes à partir de sol salé

1- Echantillonnage

Les souches d'actinomycètes faisant l'objectif de cette étude ont été isolées de sol de trois sites différents de la Sebkha de Bazer-Sekra (Sétif) au nord-est algérien au début du printemps 2010.

Les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés. A l'aide d'une spatule stérile 100-150 g de sol sont recueillis dans un flacon stérile à partir de la couche sous-jacente (rhizoplan) 20 cm de profondeur et transporté le plus rapidement possible au laboratoire à 4 °C (Pochon et Tardieux, 1962).

L'échantillon est tamisé à travers un tamis mécanique de 2mm, laissé à sécher à l'air libre et à température ambiante pendant une semaine. Il servira à l'isolement des actinomycètes (Saadoun et Gharaibeh, 2003).

2- Isolement des actinomycètes

1g d'échantillon de sol est dilué dans 10ml d'eau physiologique stérile (9 ‰ NaCl) puis agité au vortex deux fois pendant 5 min. Pour cette suspension une série de dilutions décimales (de 10^{-1} à 10^{-5}) est effectuée (Boughachiche *et al.*, 2005).

2-1- Préparation de milieu pour l'isolement

a- Starch Casein Agar (S.C.A)

Starch Casein Agar sert à l'isolement des souches actinomycétales du sol (Gordon *et al.*, 1974; Hayakawa et Nonomura, 1987a) (annexes).

Après autoclavage (121°C, 15 min) et refroidissement vers 50°C, une solution de nystatine (antifongique) (Fluka) ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$) et $10 \mu\text{l ml}^{-1}$ d'acide nalidixique (Fluka) (antibactérien inhibant les bactéries à Gram négatif) sont rajoutées au milieu (Cavala et Eberlin, 1994).

Le milieu SCA estensemencé avec 0,1ml de chaque dilution (10^{-1} à 10^{-5}) (en triplicata). Les boîtes sont incubées à 30°C et observées quotidiennement après une semaine (Collins *et al.*, 1995).

2-2- Aspect macro- et microscopique et purification

L'aspect des colonies sur milieu solide (forme et pigmentation) est un critère important d'identification. L'allure des contours (réguliers, irréguliers...), la surface (colonie lisse et brillante, rugueuse...) et la consistance (colonie crémeuse, sèche...) sont des éléments à

relever. L'odeur apporte également une information précieuse pour quelques souches (Guiraud et Galzy, 1980).

Toutes les colonies se rapprochant par leur aspect macroscopique aux actinomycètes sont observées au microscope (x 100) à l'état frais et après coloration de Gram. Celles appartenant aux actinomycètes sont repiquées par la méthode des stries sur le milieu SCA. Cette dernière opération est répétée jusqu'à obtention de souches pures (Boughachiche *et al.*, 2005).

2-3- Conservation des souches

Les colonies d'actinomycètes isolées, purifiées et ensemencées sur milieu SCA exempt d'antibiotiques sont incubées à 30°C pendant deux semaines puis conservées à 4°C. Le repiquage est réalisé tous les deux mois. Pour une conservation de longue durée, des cultures de deux semaines d'actinomycètes en milieu liquide sont additionnées de glycérol stérile à une concentration finale de 15% (V/V) et sont immédiatement congelées (Boughachiche *et al.*, 2005).

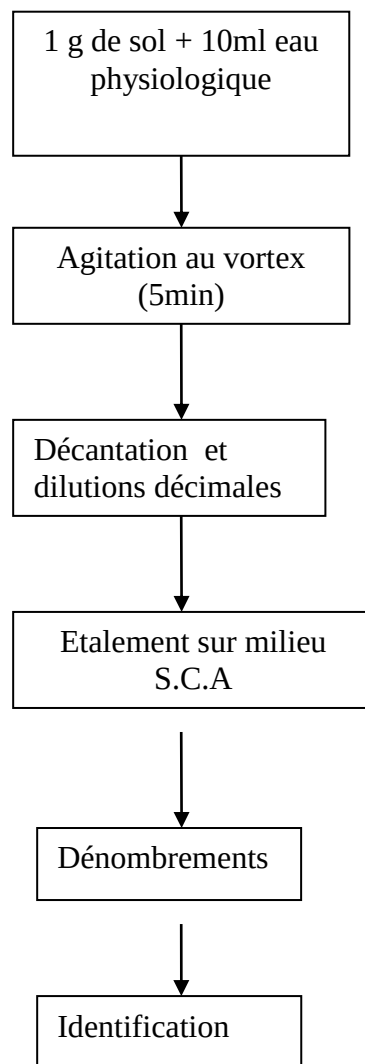


Fig. 3 : Etapes relatives à l'isolement des actinomycètes du sol salé.

II- Effet de NaCl et/ou de glycine bétaine sur la croissance des souches actinomycétales

1- Milieux d'étude de l'halotolérance

La croissance des souches actinomycétales, en présence de chlorure de sodium *(sel), est étudiée en utilisant deux de milieux de culture:

-Le milieu minéral minimum: **SMM** (Hamdali *et al.*, 2008) (annexes).

Il est additionné de glucose (10g), source de carbone et d'énergie. Le pH est ajusté à 7,2 à l'aide de KOH et stérilisé à 121°C pendant 15 min.

-Le milieu SMM additionné de glycine bétaine (G.B) 1mM (SMM+G.B) molécule connue pour son rôle dans la restauration de la croissance bactérienne en milieu d'osmolarités élevées pour de nombreuses bactéries. Pour ceci, une solution mère de G.B (100 mM) (Sigma) est stérilisée par passage à travers une membrane Millipore (porosité= 0,22µm) et ajoutée au milieu SMM à une concentration finale de 1 mM.

-Le Starch Casein Agar complexe et hautement nutritif permet une bonne croissance des actinomycètes. Il est stérilisé à 121°C pendant 15 min et additionné de glycine bétaine (G.B) 1mM.

(*): Les concentrations suivantes en chlorure de sodium (NaCl/Fluka) sont fixées pour chaque milieu (0,5- 1- 1,5M). Un témoin sans sel est évidemment réalisé.

2- Les cultures bactériennes

05 ml d'un bouillon starch caséin sontensemencés à partir d'une culture bactérienne fraîche et incubés à 30°C pendant 7jours. La suspension bactérienne est alors centrifugée à 3000 x g/15 min et le culot est lavé à 3 reprises par 5ml d'eau physiologique (NaCl: 9g/l) puis repris finalement par 10ml (si la croissance constatée est faible, le volume utilisé sera de 5ml).

La suspension bactérienne lavée servira à inoculer les milieux de cultures répartis en tubes.

3- Etude de la croissance bactérienne en présence de sel

Les milieux de cultures (SMM, SMM+G.B1mM, SCA, SCA+G.B1mM) de différentes concentrations en sel sont aliquotés dans des tubes de 10ml.

Les milieux sont ensuite inoculés par 0,1ml de la culture bactérienne homogénéisée et incubées à 30°C pendant 7j. La croissance bactérienne dans les différents tubes est déterminée par la mesure de turbidité à 595 nm pour SCA et 600nm pour SMM. La concentration saline maximale ayant permis la croissance bactérienne est notée à chaque fois dans les différents milieux.

Préparation de milieux
S.M.M et S.C.A



Addition de sel et/ou la
G.B
Sel: 0,5- 1- 1,5 M
G.B: 1 mM (stérile)
Témoin: sans sel et sans
G.B



Préparation de culture
bactérienne



Inoculation dans les
milieux (S.M.M et
S.C.A salés et
additionnés de G.B



Incubation (30°C, 7j)



Lecture de la D.O à 595
nm pour SCA et 600nm
pour SMM par un
spectrophotomètre

Fig. 4 : Etapes relatives de l'effet de sel et/ou GB sur la croissance des souches actinomycètes.

III- Effet de sel et/ou d'extrait d'halophyte sur la croissance des souches actinomycétales

1- Choix et préparation d'halophyte

Sur la base de la bibliographie, l'halophyte choisie est *Atriplex halimus*. En effet, les espèces de *Atriplex* (famille: Chenopodiaceae) élabore de la glycine bétaine comme osmoprotecteur en réponse à un stress osmotique (Wyn Jones *et al.*, 1981; Larguet, 1998).

L'halophyte est prélevé dans la région de (Ain oulman) (Sétif) en Novembre. Après élimination des particules de sol adhérant aux racines, la plante entière laissée à sécher à l'ombre pendant 2 semaines puis broyée et réduite en poudre (moulinette) afin de permettre un meilleur relargage des substances intracellulaires.

2- Préparation d'extrait aqueux de *Atriplex halimus*

L'extrait aqueux d'halophyte est préparé comme suit:
0,5 g de matériel végétal en poudre est bouilli dans 10 ml d'eau distillée avec agitation pour un meilleur relargage des molécules osmoprotectrices pendant 2 heures à 100 °C. L'échantillon est dilué dans un tampon KH₂PO₄ (50 mM) (pH = 4,6). L'échantillon est refroidi et filtré à travers une membrane 0,45 µm (Naguib, 1963).

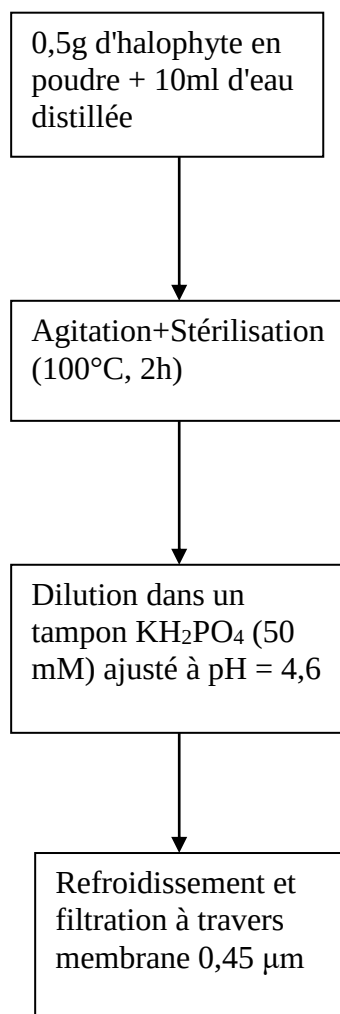
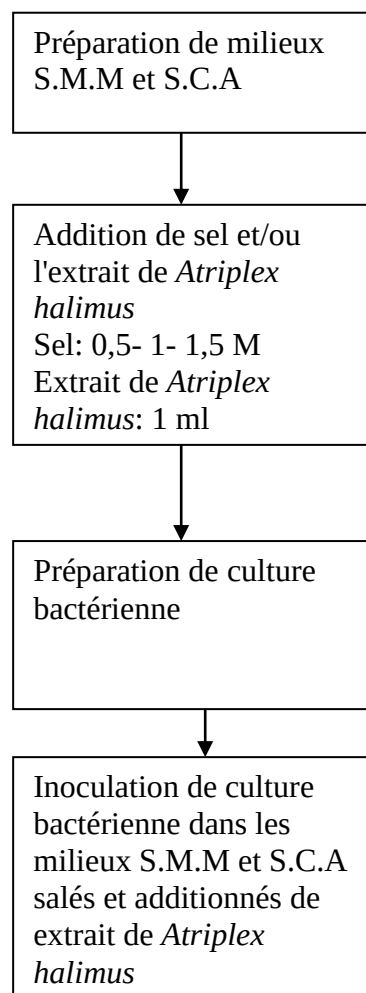


Fig. 5 : Préparation d'extrait aqueux de *Atriplex halimus* (Naguib, 1963).

3- Milieux SMM et SCA et/ou extrait aqueux de *Atriplex halimus*

1 ml d'extrait aqueux de *Atriplex halimus* est additionné aux milieux SMM et SCA (10ml) aux différentes concentrations de NaCl (0- 0,5- 1- 1,5M). Ils sont ensuite inoculés par 0.1ml de la culture bactérienne homogénéisée et incubés à 30 °C. La croissance des souches est déterminée au 7^{ème} jour de croissance par la mesure de turbidité à 595 nm pour SCA et 600nm pour SMM avec un spectrophotomètre.



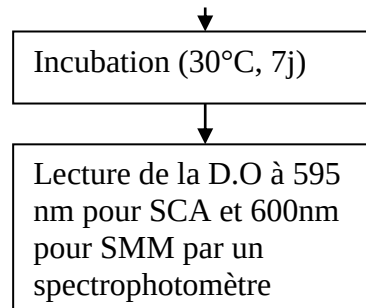


Fig. 6 : Etapes relative de l'effet de sel et/ou d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance des souches actinomycètes.

IV- Effet de NaCl et d'osmoprotecteurs sur l'activité antibactérienne des souches

1- Mise en évidence de l'activité antibactérienne des souches actinomycétales

Six souches bactériennes d'origine hospitalière sont utilisées pour ce test: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* et *Enterobacter aerogenes*. Elles sont isolées à partir de produits pathologiques de malades hospitalisés au Etablissement Hospitalier Spécialisé Mère et Enfant-EL-Eulma, alors que *Bacillus cereus* est aimablement fourni par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée, Sétif (Mr Belhadj Hani)

La recherche des métabolites antibactériens est effectuée par la technique des cylindres d'agar qui consiste à prélever des cylindres de gélose (6mm de diamètre) de cultures d'actinomycètes de 14 jours et de les déposer sur milieu gélose Muller-Hinton (Sigma)ensemencé avec une bactérie-test. Les zones d'inhibition sont mesurées après 24 heures d'incubation à 37°C. Plus cette zone est grande (Ø), plus l'activité antibactérienne est grande (Tortorano *et al.*, 1979; Saadoun et Al moumani, 1997; Lemriss *et al.*, 2003; Petrosyan *et al.*, 2003).

Une culture de
souche
d'actinomycète sur
S.C.A (30°C, 14j)



Milieu Muller-Hinton
géloséensemencé en
surface avec une
bactérie-test



Des cylindres de
gélose (6mm) de
cultures de 14 jours
déposés sur milieu
Muller-Hinton



Incubation à 37°C/24h



Mesure de la zone
d'inhibition

Fig. 7 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne des souches actinomycétales.

2- Etude de l'effet de NaCl et d'osmoprotecteurs sur l'activité antibactérienne des souches

L'effet de NaCl et d'osmoprotecteurs sur la production d'antibiotiques est déterminé par l'ensemencement des souches sur milieu SCA salé (0- 0,5- 1- 1,5M) et de G.B (1mM) et/ou d'extrait de *Atriplex halimus* (Singh *et al.*, 2009). La recherche des métabolites antibactériens est réalisée par la même technique (celle des cylindres d'agar) (Tortorano *et al.*, 1979; Saadoun et Al moumani, 1997; Lemriss *et al.*, 2003; Petrosyan *et al.*, 2003)

3- Analyses statistiques

Afin d'apprécier les effets de NaCl, de G.B et d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance et l'activité des souches d'une part et de permettre la comparaison entre les capacités de chaque souche actinomycétale (11 souches), des analyses statistiques sont conduites (logiciel ASSISTAT; Francisco de Assis Santos e Sily; Brazil; version 7,6; édition 2011) par l'utilisation de test de Tukey au seuil d'erreur Fischer à $\alpha = 0.05$.

Résultats

Plusieurs paramètres sont étudiés: l'isolement des actinomycètes de la Sebkha, l'effet de NaCl et/ou de glycine bêtaïne sur la croissance. En outre, l'étude de l'impact de l'addition d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de souches (ayant une activité antibactérienne) en milieux minimum (SMM) et riche (SCA) et sur l'activité antibactérienne de ces souches.

Les propriétés pédologiques

Les valeurs de pH, de conductivité électrique et de poids sec du sol prélevé sont respectivement de 8,57- 11,32 mS/cm et de 16,04 g / 20g.

I- Isolement des actinomycètes

Sur milieu sélectif utilisé (SCA), 45 colonies bactériennes différentes par leurs forme et aspect et se rapprochant de ceux des actinomycètes ont été isolés.

L'observation microscopique (état frais et coloration de Gram) a révélé que parmi les 45 colonies, 39 sont à Gram positif, dont 34 présentent un aspect mycélien, les 6 autres sont des cocci à Gram négatif.

Les 34 souches d'actinomycètes cultivées séparément présentent différents aspects macroscopiques sur milieu SCA mais sont toutes denses et incrustées dans la gélose, leur nombre est de $2,30 \times 10^4$ UFC / g.

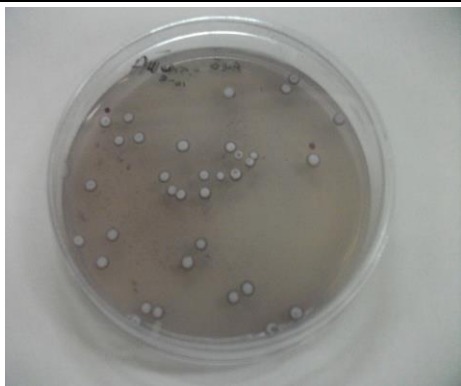
1- Les caractéristiques morphologiques des souches

Les actinomycètes ont un aspect morphologique très caractéristique (Boudemagh *et al.*, 2005) (Fig.8). Les colonies apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, avec un mycélium moyen aérien et végétatif en général, certains d'entre eux présentent seulement un mycélium de substrat. Les souches se développent à 30°C sur milieu starch casein agar. Les colonies de taille moyenne, poudreuses, régulières ou non, aplaties ou bombées, avec une odeur terreuse caractéristique des actinomycètes à croissance lente (Boudemagh *et al.*, 2005) (Tab.3).

Tab. 3 : Caractéristiques morphologiques de quelques colonies de souches actinomycétales isolées.

code de culture	Mycélium végétatif	Mycélium aérien	Contour	Elévation	Taille
A06	Beige	Beige	Régulier	Bombée	2mm
A16	Marron	Gris foncé	Irrégulier	Bombée	3mm
A09	Rose	Blanc	Régulier	Bombée	2mm
A05	Jaune	Beige	Régulier	Bombée	2mm
A24	Beige	Blanc	Régulier	Bombée	4mm
A21	Beige	Marron	Irrégulier	Plate	3mm
A19	Beige-marron	Beige	Régulier	Bombée	3mm
A33	Beige	Beige	Régulier	Plate	2mm
A07	Beige-	Blanc	Irrégulier	Plate	2mm

	marron				
A08	Beige	Beige avec centre foncé	Régulier	Bombée	1mm
A28	Orangé foncé	Orange foncé	Irrégulier	Bombée	2mm
A03	Jaune clair	Blanc	Irrégulier	Bombée	3mm
A26	Rose	Blanc avec contour rose	Régulier	Bombée	2mm
A31	Marron avec contour beige	Blanc avec centre noir	Régulier	Bombée	2mm
A25	Jaune	Blanc	Régulier	Plate	3mm



A22



A12



A33

A28

Fig. 8 : Diversité de colonies de 4 souches d'actinomycètes sur milieu SCA.

A22 : des petites colonies plates, avec un mycélium végétatif rose clair, un mycélium aérien blanc et un contour régulier.

A12 : des petites colonies bombées, avec un mycélium végétatif rose foncé, un mycélium aérien blanc et un contour régulier.

A33 : des petites colonies plates, avec un mycélium végétatif beige, un mycélium aérien beige et un contour régulier.

A28 : des petites colonies bombées, avec un mycélium végétatif orange, un mycélium aérien orange régulier et un contour irrégulier.

II- La croissance de souches d'actinomycètes: effet de NaCl, GB et d'extrait de *Atriplex halimus*.

La croissance exprimée en DO des différentes souches en milieux minimum (SMM) (600 nm) et riche (SCA) (595 nm) et en présence de NaCl (0- 0,5- 1- 1,5 M), de GB (1mM) et/ou d'extrait de *A. halimus* se présente comme suit (Fig 9 à Fig 18).

1- Souche A06

a- Sur milieu minéral SMM

Le sel inhibe la croissance dans toutes les conditions.

b- Sur milieu riche SCA

En présence de 0.5 M/ NaCl, la DO atteint le maximum (0,227) par rapport au témoin (0,015), mais à 1M une chute est observée (0,01), tandis que à 1,5 M la croissance est nulle pour toutes les souches étudiées. (La différence est significative au seuil de 0.01) $p < 0,05$.

c- Sur milieu SMM + GB + extrait de *A. halimus*

En absence de NaCl, la croissance est plutôt inhibée par l'addition de GB (0,010) mais améliorée significativement par l'extrait de *A. halimus* (0,193). A 0,5M/NaCl la GB et l'extrait de *A. halimus* sont légèrement inhibiteurs, mais restaurent la croissance à 1M.

d- Sur milieu SCA + GB + l'extrait de *A. halimus*

Sans sel, la GB (0,190) et l'extrait de *A. halimus* (0,177) stimulent la croissance significativement. A 0,5 M/NaCl l'effet de l'extrait de *A. halimus* est plus performant (0,240), cependant à 1M (0,01) les deux osmoprotecteurs ont un effet positif mais l'effet de GB est plus (0,109). (Fig.9)

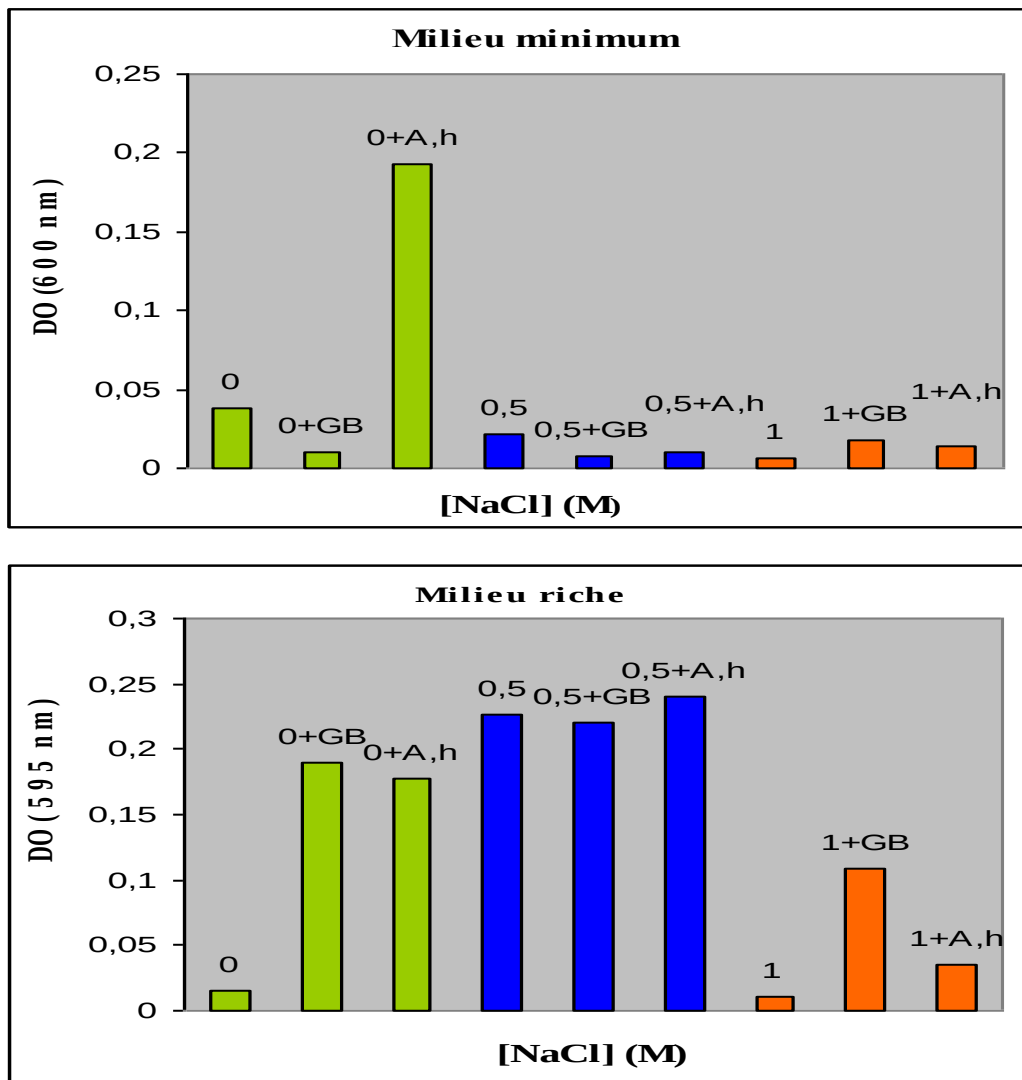


Fig. 9 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de *Atriplex halimus* (A.h) sur la croissance de A06 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

2- Souche A33

a- Sur milieu SMM

Le sel semble activer la croissance à 0,5M/NaCl, et la ralentit à 1M.

b- Sur milieu SCA

A 0,5/NaCl, la souche croit sensiblement au même niveau que celui de témoin, néanmoins à 1M, l'inhibition est amorcée.

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

L'apport de GB à 0,5M/NaCl inhibe la croissance alors que l'extrait de *A. halimus* ne donne aucun effet. Cependant à 1M, la GB et l'extrait de *A. halimus* favorisent significativement la croissance avec un bon effet d'extrait de *A. halimus*.

d- Sur milieu SCA + GB + l'extrait de *A. halimus*

la GB et l'extrait de *A. halimus* stimulent la croissance dans toutes les conditions (0- 0,5- 1- 1,5) même si la GB donne une réponse légèrement meilleure. (Fig.10)

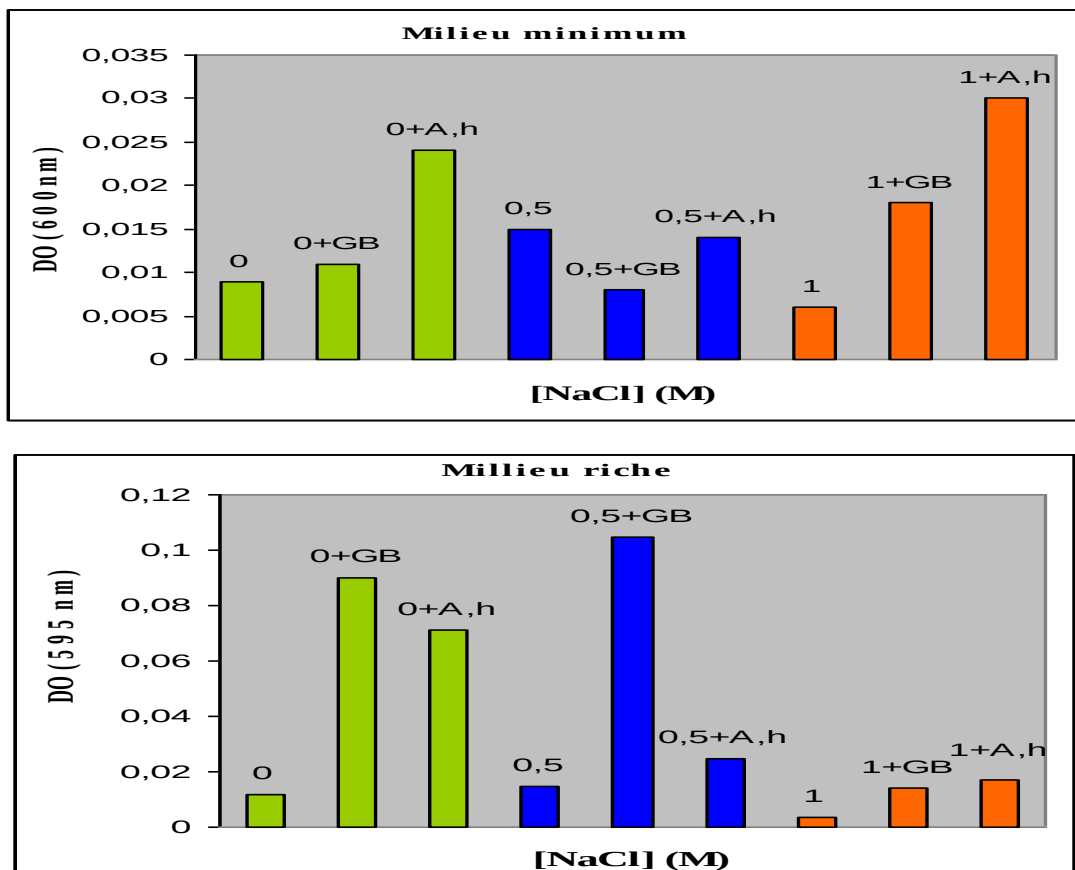


Fig. 10 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de (*Atriplex halimus*) sur la croissance de A33 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

3- Souche A02

a- Sur milieu SMM

Aucun effet inhibiteur n'est observé en présence de sel.

b- Sur milieu SCA

L'effet inhibiteur de NaCl s'observe à 0,5M (0,132) par rapport au témoin (0,181). La DO chute drastiquement vers (0,019) à 1M.

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

Sans sel, avec GB et l'extrait de *A. halimus* une restauration de croissance est constatée, cependant à 0,5M c'est la GB qui a un effet positif et l'inverse à 1M.

d- Sur milieu SCA + GB + l'extrait de *A. halimus*

A (0- 0,5)/NaCl, les deux osmoprotecteurs améliorent la croissance alors que à 1M seulement la GB a un effet activateur. (Fig11)

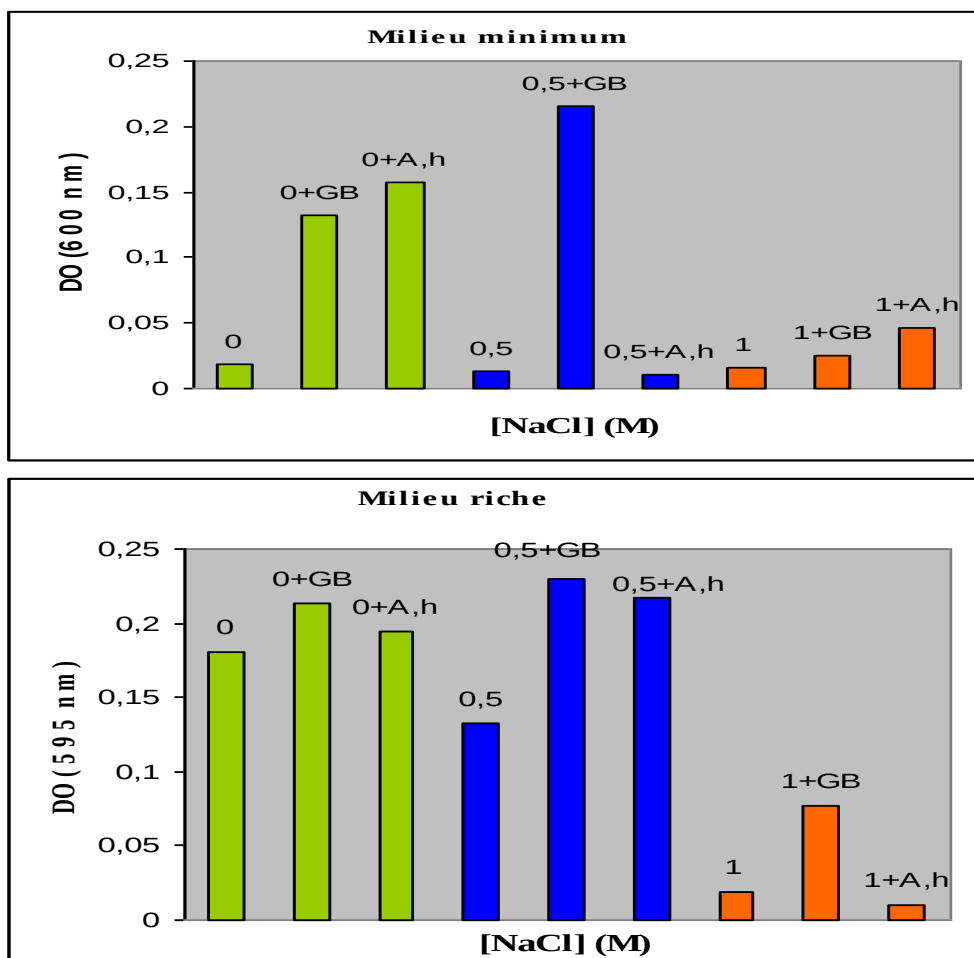


Fig. 11 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de A02 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

4- Souche A09

a- Sur milieu SMM

Le sel est seulement inhibiteur à 1M.

b- Sur milieu SCA

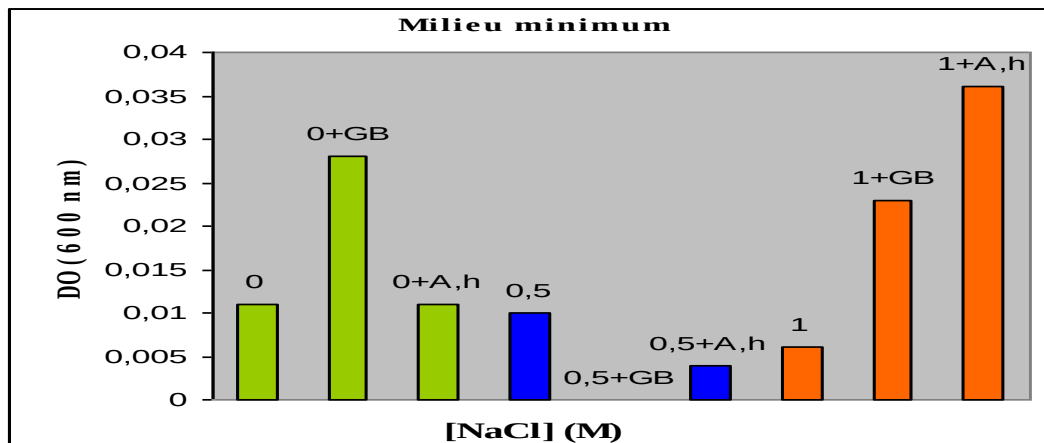
L' NaCl est stimulateur de croissance à 0,5M et inhibiteur à 1M.

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

Chez le témoin, la GB est efficace mais l'extrait de *A. halimus* ne c'est pas. A 0.5M l'extrait de *A. halimus* et la GB freinent la croissance. Cependant à 1M, deux derniers la restaure.

d- Sur milieu SCA + GB + l'extrait de *A. halimus*

La GB et l'extrait de *A. halimus* favorisent la croissance significativement en absence et 1M/NaCl. A 0,5M/NaCl une augmentation en présence de GB et une inhibition par l'extrait de *A. halimus* sont constatées. (Fig12)



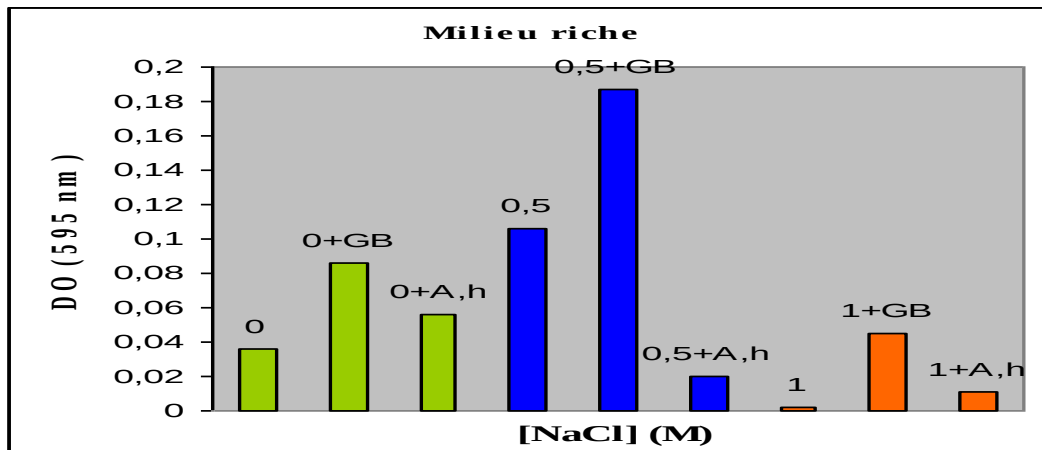


Fig. 12 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et l'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de A09 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

5- Souche A12

a- Sur milieu SMM

Le sel est seulement inhibiteur à 1M.

b- Sur milieu SCA

L'NaCl est seulement stimulateur à 0,5M.

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

Chez le témoin, seul l'extrait de *A. halimus* favorise la croissance. A 0,5 M/NaCl l'effet inhibiteur de deux osmoprotecteurs est net et à 1M l'effet stimulateur est aussi.

d- Sur milieu SCA + GB + l'extrait de *A. halimus*

La GB (0,130) n'affecte pas la croissance en absence de NaCl (0,127) cependant l'extrait de *A. halimus* l'inhibe (0,054). La GB améliore la croissance et l'extrait de *A. halimus* inhibe cette dernière en présence de 0,5M et 1M. (Fig.13)

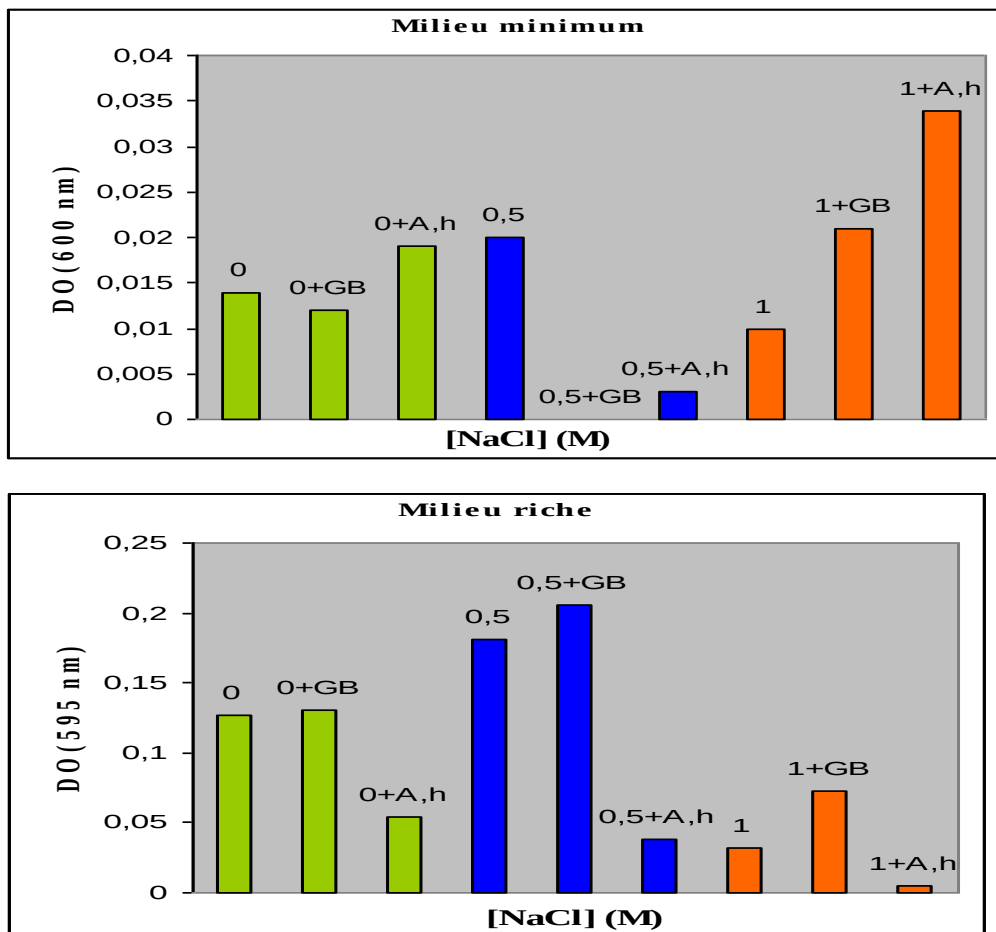


Fig. 13 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de A12 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

6- Souche A30

a- Sur milieu SMM

Une amélioration de croissance à 1M (0,026) est observée par rapport au témoin (0,013).

b- Sur milieu SCA

Une diminution de croissance est observée à 0,5 M/NaCl (0,081) et une chute nette à 1M (0,005) par rapport au témoin (0,102).

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

Sans sel, l'effet stimulateur est observé avec les deux osmoprotecteurs contrairement au 0,5 M/NaCl. A 1M (0,029) seul l'extrait de *A. halimus* a un effet positif (0,045).

d- Sur milieu SCA + GB + l'extrait de *A. halimus*

L'action stimulatrice de GB et d'extrait de *A. halimus* est plus performante à 1M. Cependant chez le témoin et à 0,5M, une inhibition ou aucun effet sont signalés respectivement. (Fig.14)

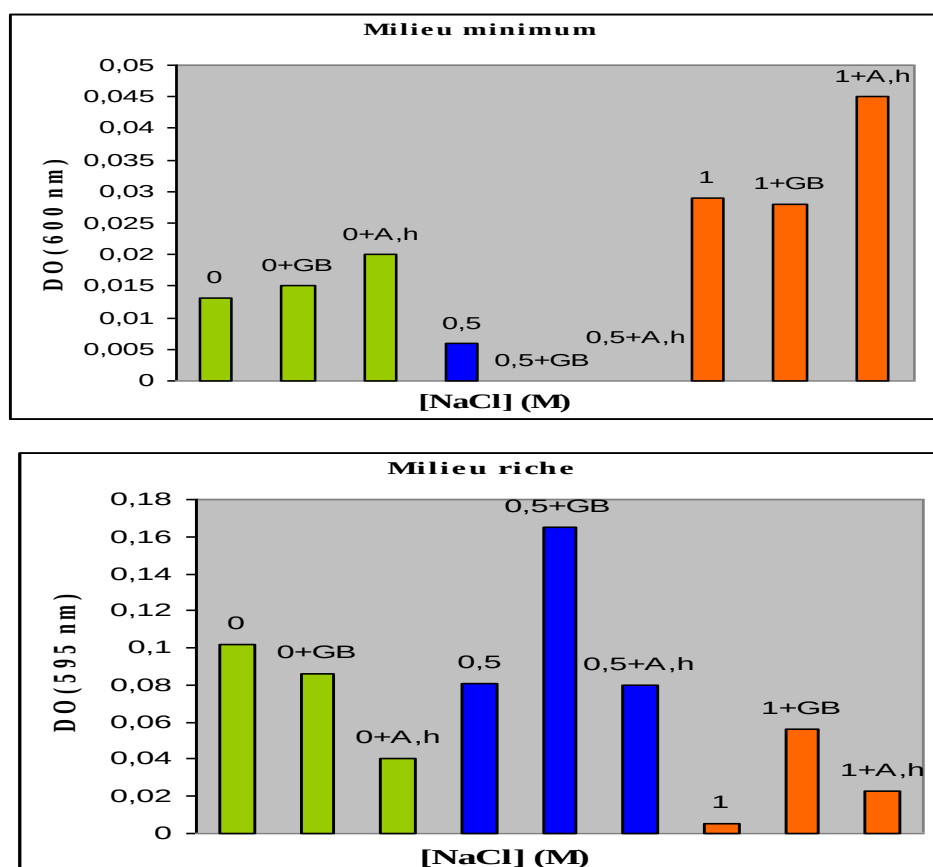


Fig. 14 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de A30 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

7- Souche A11

a- Sur milieu SMM

L'effet inhibiteur de sel est détecté à 0,5M (0,009), cependant à 1M une activation est signalée (0,032) par rapport au témoin (0,022).

b- Sur milieu SCA

Une inhibition de croissance est observée à 0,5M et à 1M/NaCl.

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

L'extrait de *A. halimus* freine la croissance avec toutes les teneurs en sel. La GB inhibe ou n'a aucun effet à 0,5M et à 1M respectivement.

d- Sur milieu SCA + GB + l'extrait de *A. halimus*

Les deux osmoprotecteurs activent la croissance dans toutes les conditions, l'effet de GB est plus apprécié. (Fig.15)

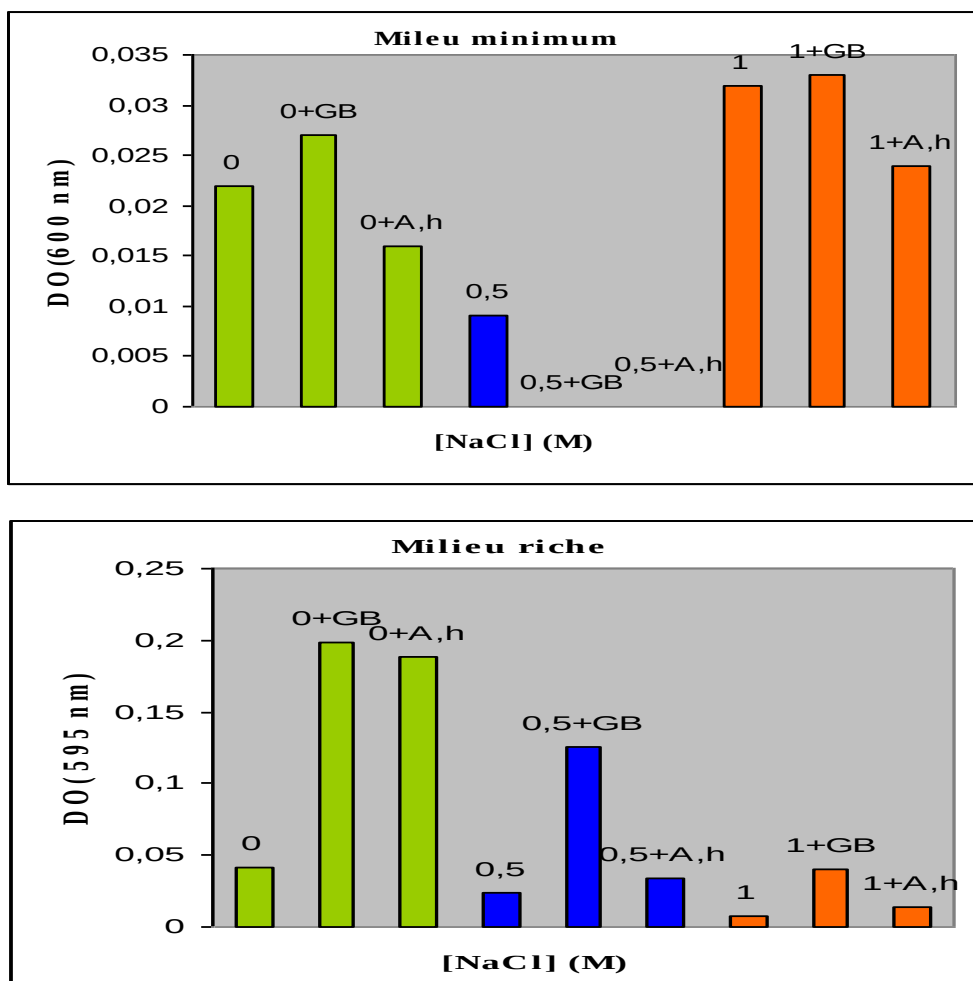


Fig. 15 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de A11 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

8- Souche A10

a- Sur milieu SMM

A 0.5 M/NaCl est une concentration stimulatrice (0,049), cependant à 1M (0,024) le même effet que le témoin (0,024) est observé.

b- Sur milieu SCA

Le sel stimule la croissance à 0,5M (0,166), contrairement à 1M (0,005) par rapport au témoin (0,050).

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

La GB inhibe la croissance dans tous les cas, alors que l'extrait de *A. halimus* agit positivement à (0- 0,5) M/NaCl.

d- Sur milieu SCA + GB+ l'extrait de *A. halimus*

L'extrait de *A. halimus* stimule la croissance à 0,5 et à 1M. L'effet de GB est plus marqué en absence de stress salin et à 1 M. (Fig.16)

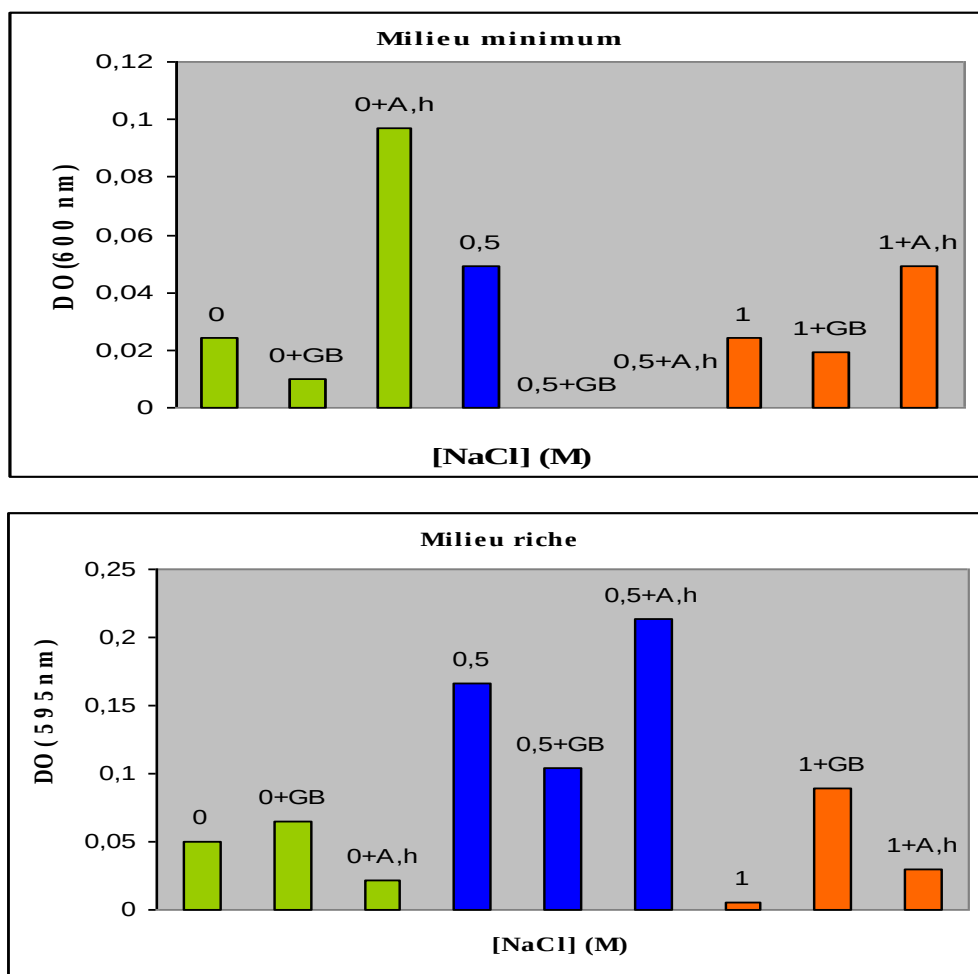


Fig. 16 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de A10 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

9- Souche A22

a- Sur milieu SMM

L'addition de 0,5 M/NaCl favorise la croissance (0,028) contrairement au 1M (0,007)

b- Sur milieu SCA

La croissance est nettement restaurée à 0,5 M/NaCl, par contre à 1M il y a une diminution.

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

Les deux osmoprotecteurs inhibent la croissance en présence de sel, l'extrait de *A. halimus* a un effet positif à 1M.

d- Sur milieu SCA + GB+ l'extrait de *A. halimus*

L'addition de GB agit potentiellement sur la croissance en présence de sel, inversement à l'extrait de *A. halimus* (Fig.17).

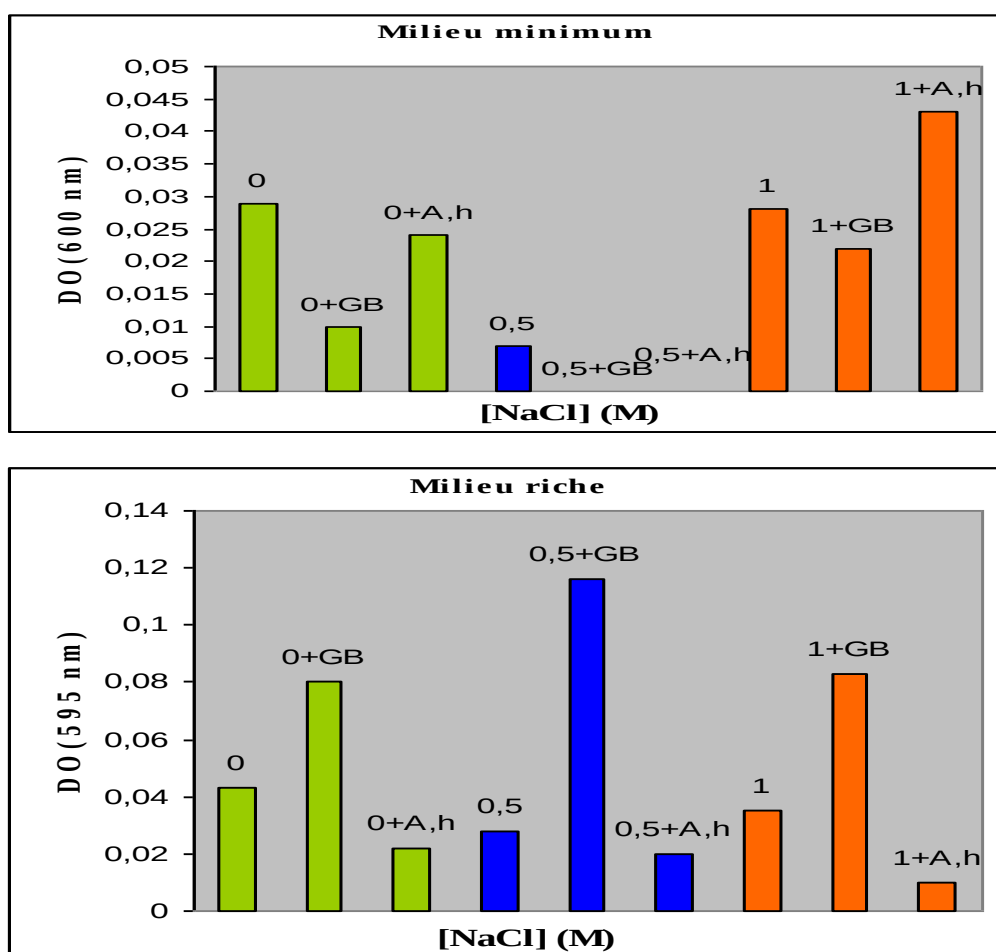


Fig. 17 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de A22 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

10- Souche A23

a- Sur milieu SMM

Une bonne croissance est signalée à 1M (0,027) par rapport au témoin (0,010) et 0,5M (0,004).

b- Sur milieu SCA

Le sel est inhibiteur de la croissance.

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

Les deux osmoprotecteurs freinent la croissance à 0,5M et à 1M et n'ont aucun effet chez le témoin.

d- Sur milieu SCA + GB + l'extrait de *A. halimus*

La GB active la croissance à 0,5M et à 1M, l'extrait de *A. halimus* est stimulateur seulement à 1M, cependant les deux osmoprotecteurs sont des inhibiteurs dans le reste des cas. (Fig.18).

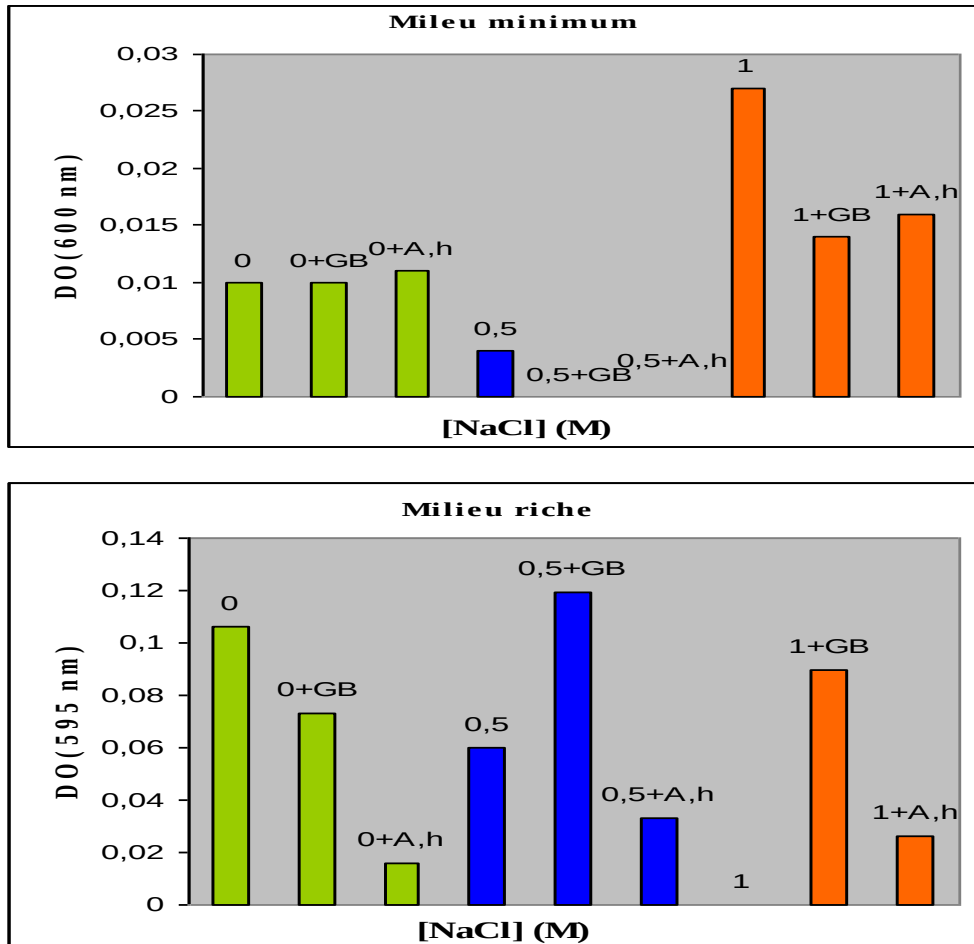


Fig. 18 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de A23 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

11- Souche A27

a- Sur milieu SMM

La croissance est sensiblement affectée par l'addition de 0,5 M et 1M/NaCl.

b- Sur milieu SCA

Le sel freine la croissance.

c- Sur milieu SMM + GB + l'extrait de *A. halimus*

La GB est un bon stimulateur dans tous les cas, cependant l'extrait de *A. halimus* est plus efficace à 1 M.

d- Sur milieu SCA + GB + d'extrait de *A. halimus*

Une bonne activation de croissance est observée chez le témoin, à 0,5 et à 1M avec les deux osmoprotecteurs. (Fig.19)

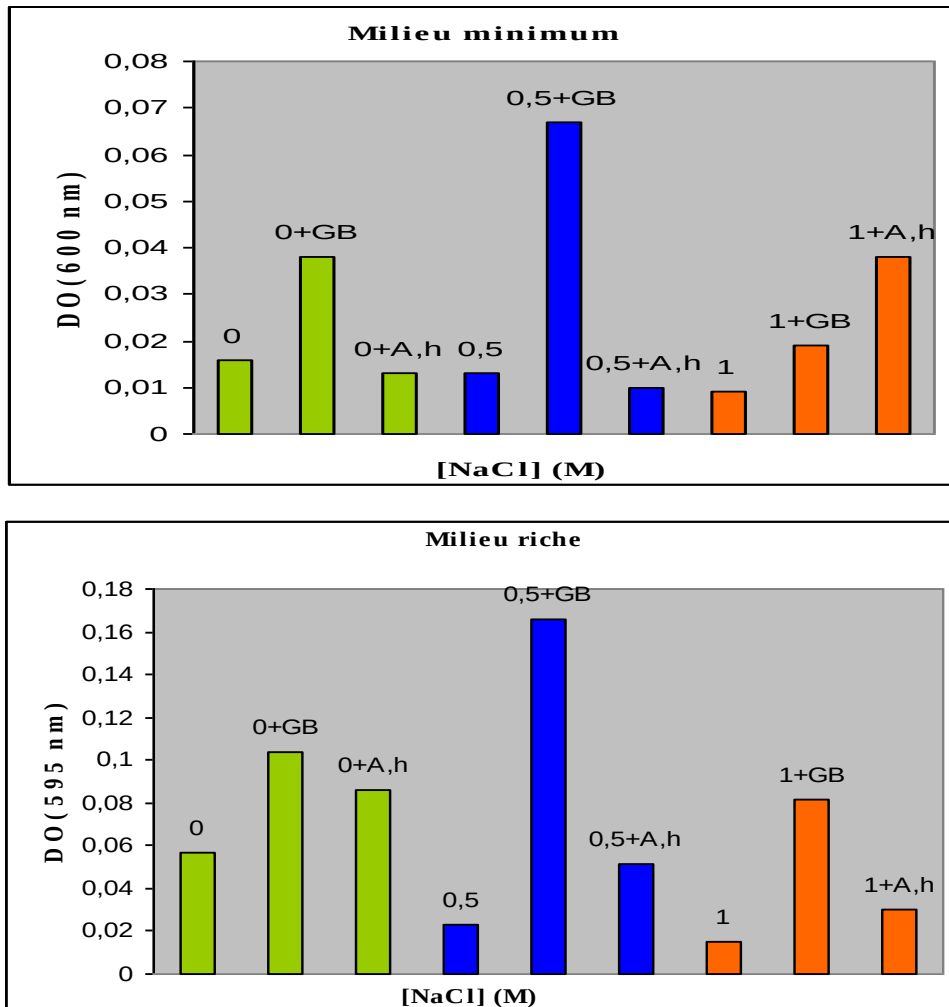


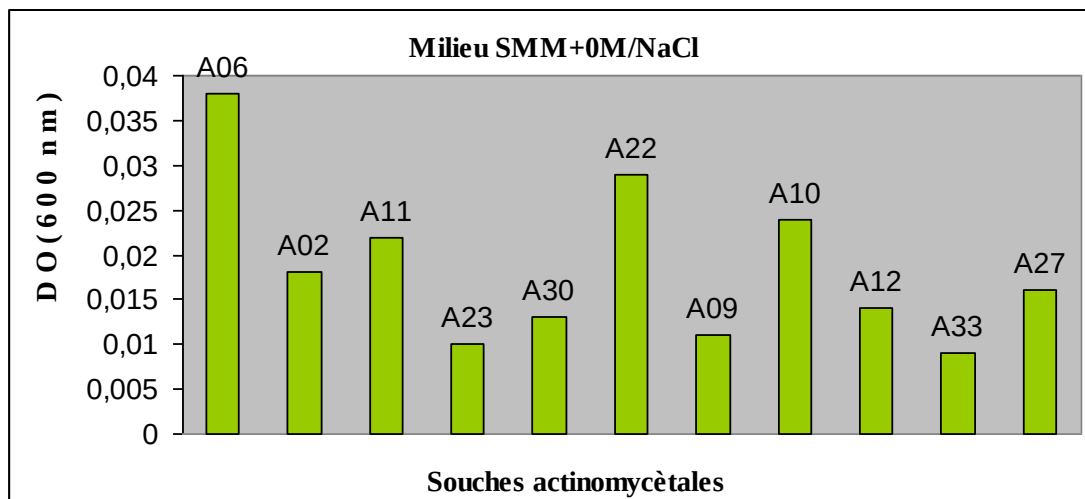
Fig. 19 : Effet de NaCl, GB (1 mM) et d'extrait de *Atriplex halimus* sur la croissance de A27 sur milieux minimum (SMM) et riche (SCA).

III- Une comparaison entre la croissance des souches.

A/ Sur milieu SMM

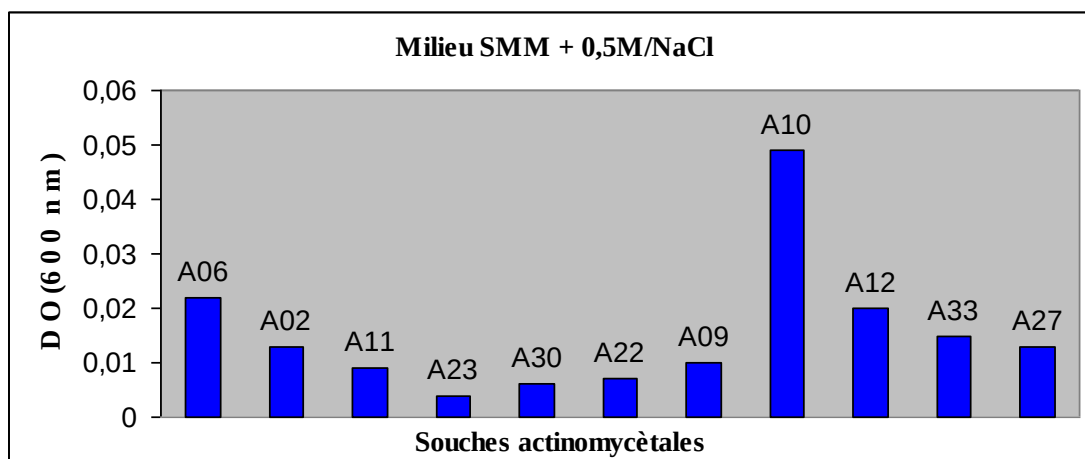
- 0M/NaCl

Sans sel, la souche A06 (0,038) semble la meilleure.



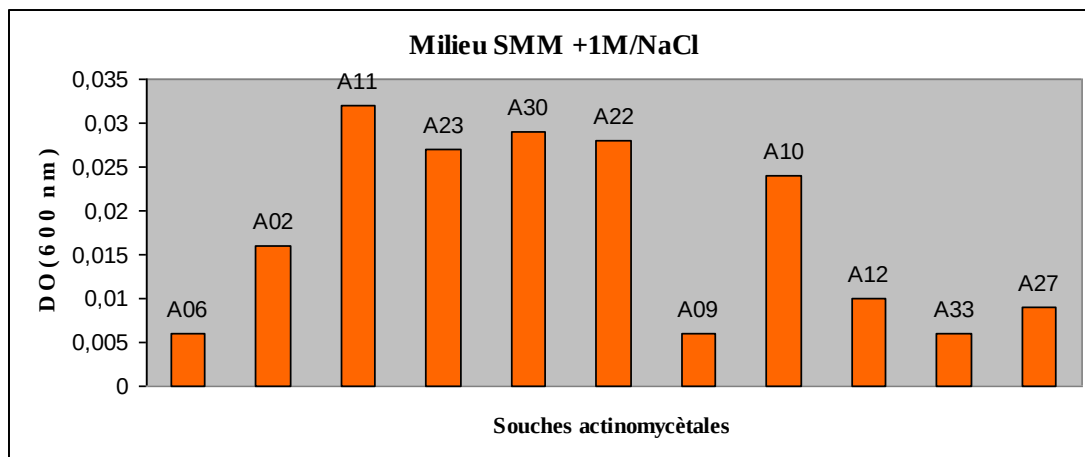
- 0.5M/NaCl

A cette concentration, la souche A10 (0,049) est la plus halotolérante.



- 1M/NaCl

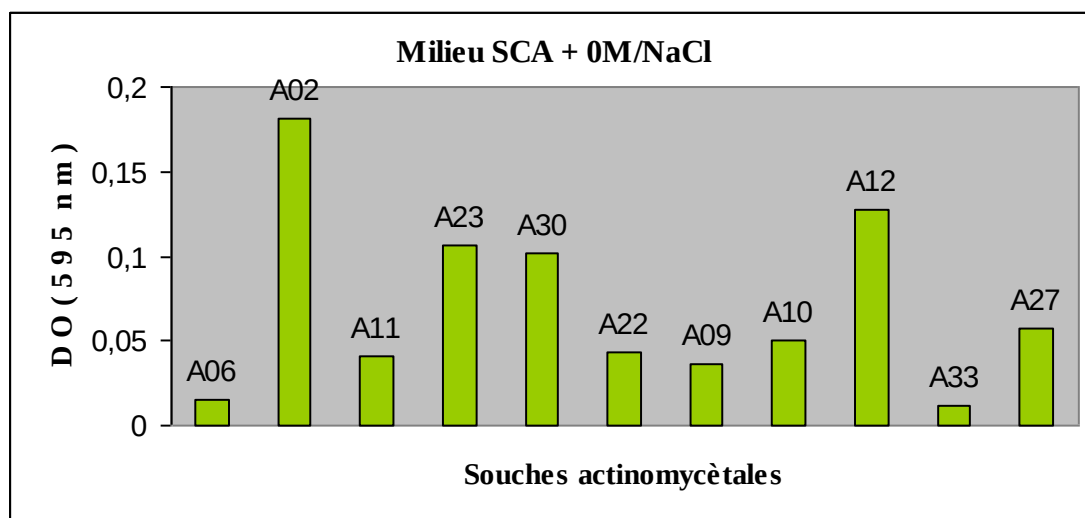
Malgré que cette concentration soit inhibitrice, les souches A22 (0,028), A30 (0,029) et A11 (0,032) sont les plus osmoadaptatives.



B/ Sur milieu SCA

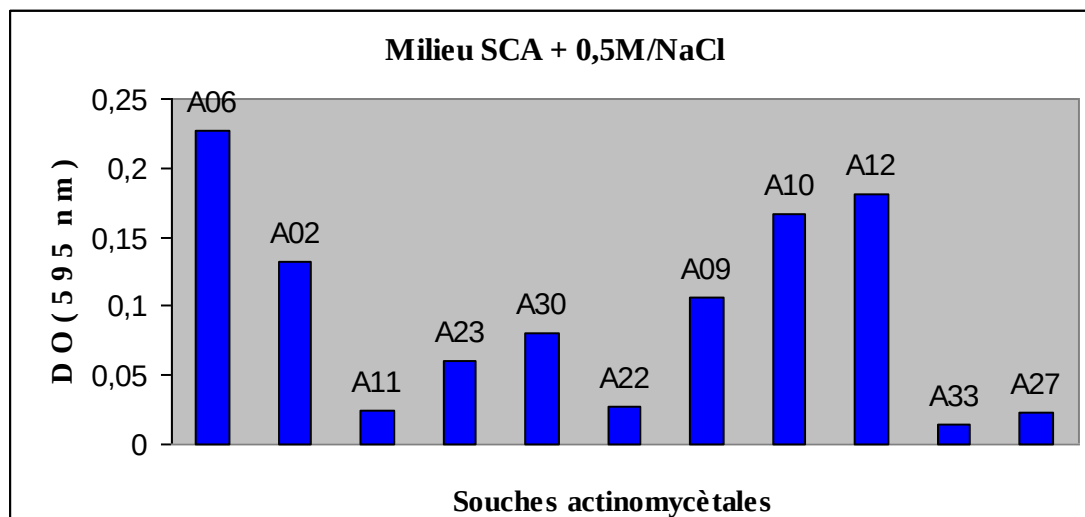
- 0M/NaCl

En absence de sel, les valeurs de DO atteignent le maximum chez les souches: A12 (0,127), A23 (0,106) et A02 qui est la plus élevée avec une valeur de: (0,181).



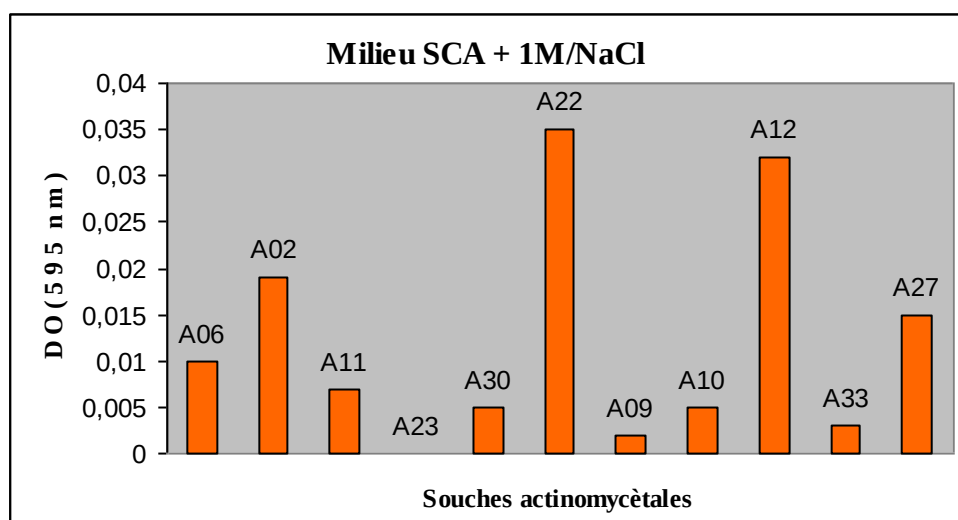
- 0,5 M/NaCl

La réaction à cette teneur en sel est pratiquement non équivalente pour toutes les souches. A02 (0,132), A10 (0,166), A12 (0,181) et A06 (0,227) semblent les plus halotolérantes, la croissance est maximale chez A06.



- 1M/NaCl

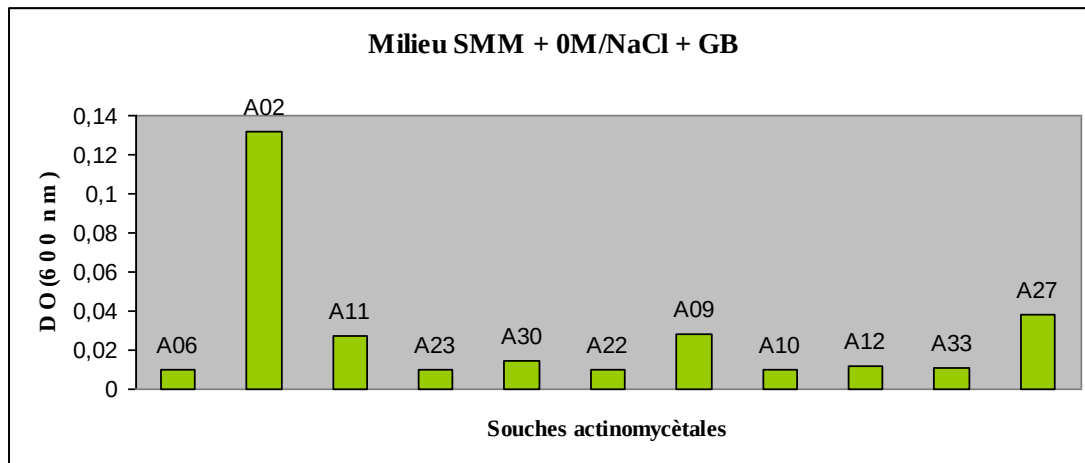
Cette teneur saline freine la croissance de la majorité des souches, A22 (0,035) se montre la plus forte.



C/ Sur milieu SMM + GB

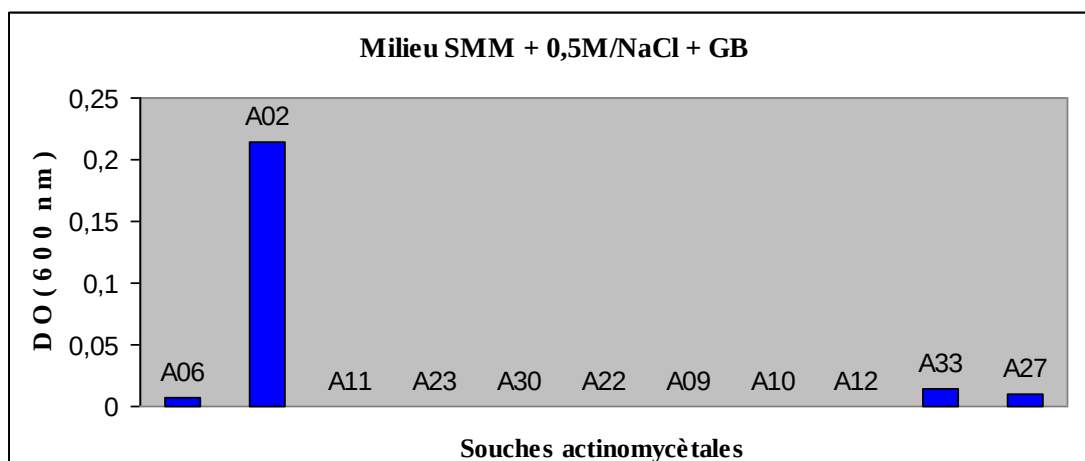
- 0M/NaCl

Une nette différence en milieu minimum avec la GB apparaît chez la souche A02 (0,132).



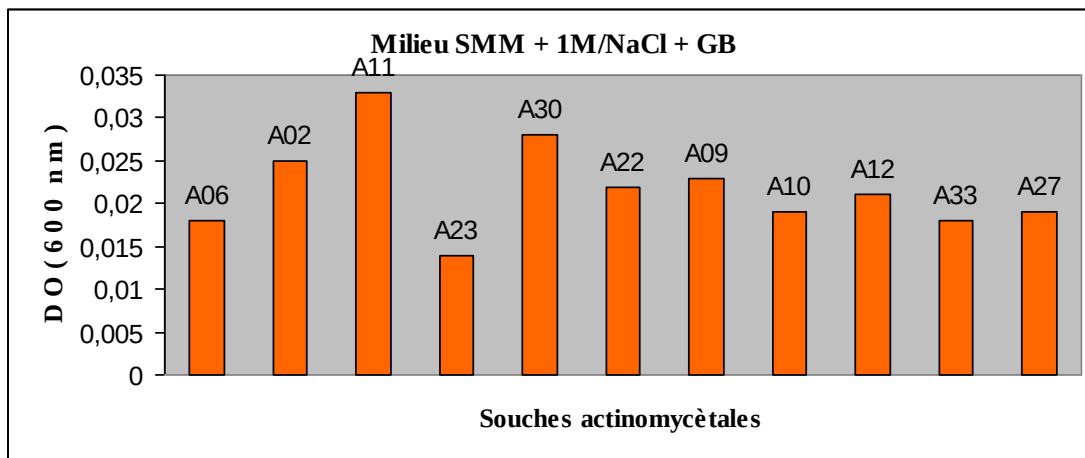
- 0,5M/NaCl

La souche A 02 (DO = 0,215) est la mieux osmoprotégée par la GB.



- 1M/NaCl

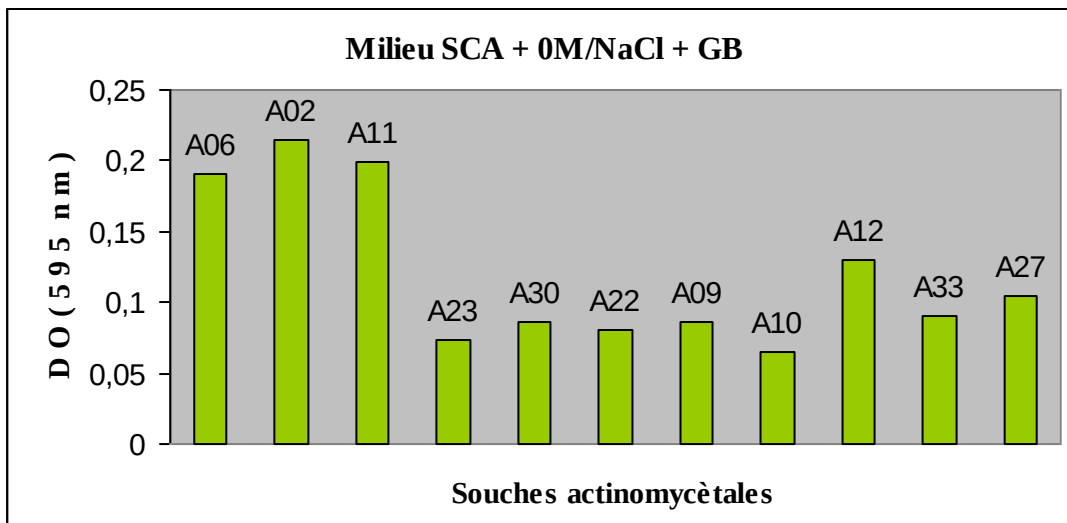
En générale la GB augmente légèrement la croissance de souches à cette concentration dans le milieu minimum, l'effet est plus marqué chez: A02 (0,025), A30 (0,028), A11 (0,033).



D- Sur milieu SCA +GB

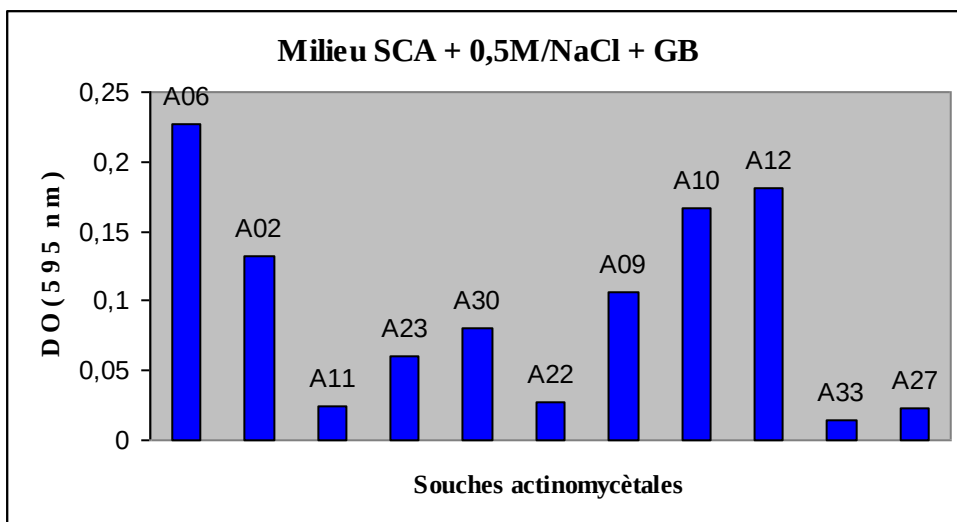
- 0M/NaCl

L'osmoprotection par la GB est importante chez les souches: A06 (0,190), A12 (0,130), A11 (0,199) et A02 (0,214).



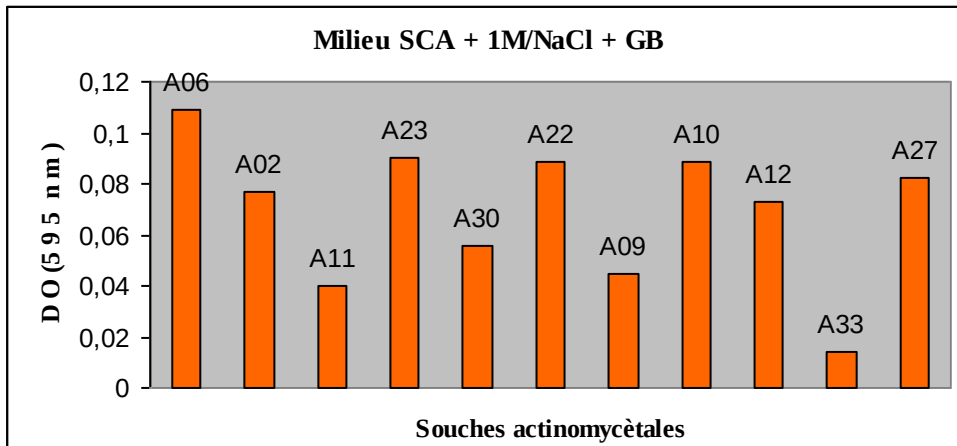
- 0,5M/NaCl

L'effet osmoprotecteur de GB est net et plus important chez la souche A06 (0,227).



- 1M/NaCl

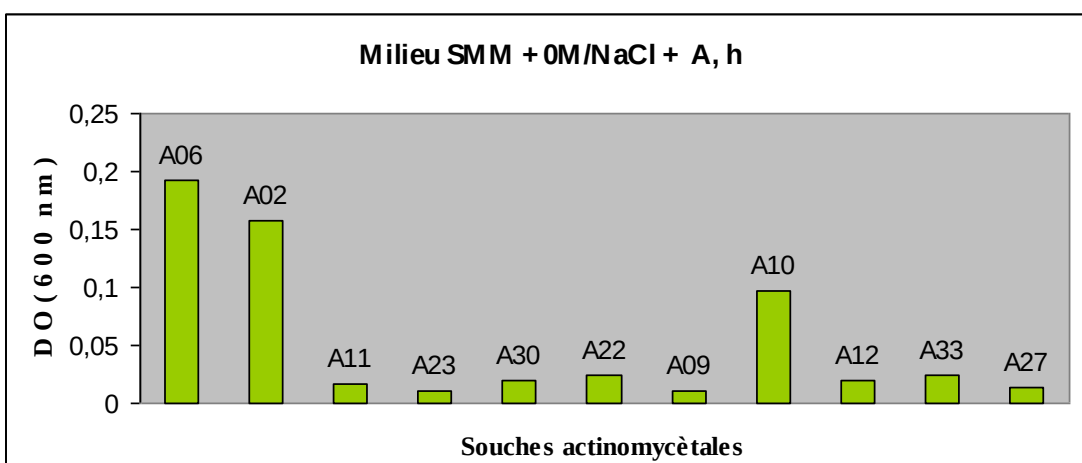
La GB s'avère une molécule osmoprotectrice pour la majorité des souches actinomycétales. Elle augmente de façon importante l'halotolérance des souches: A10, A22 (0,077), A23 (0,09) et A06 (0,109).



E/ Sur milieu SMM + A. h

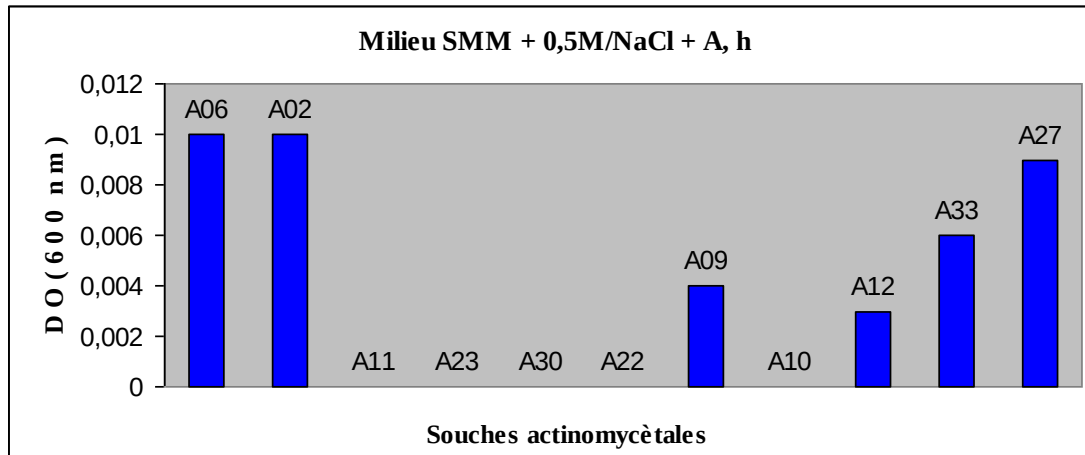
- 0M/NaCl

L'efficacité d'extrait de *Atriplex halimus* est encore marqué chez les souches A02 (0,158) et A06 (0,193).



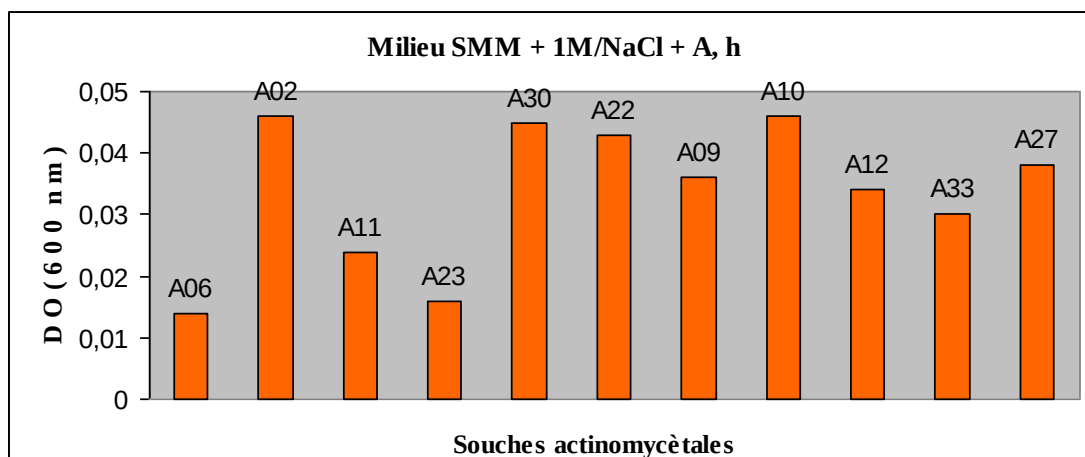
- 0,5M/NaCl

Les souches A06, A27, A02 (0,010) sont les plus osmoprotégées par l'extrait de *Atriplex halimus*, malgré que ce dernier est sans effet ou un inhibiteur de la plupart de souches.



- 1M/NaCl

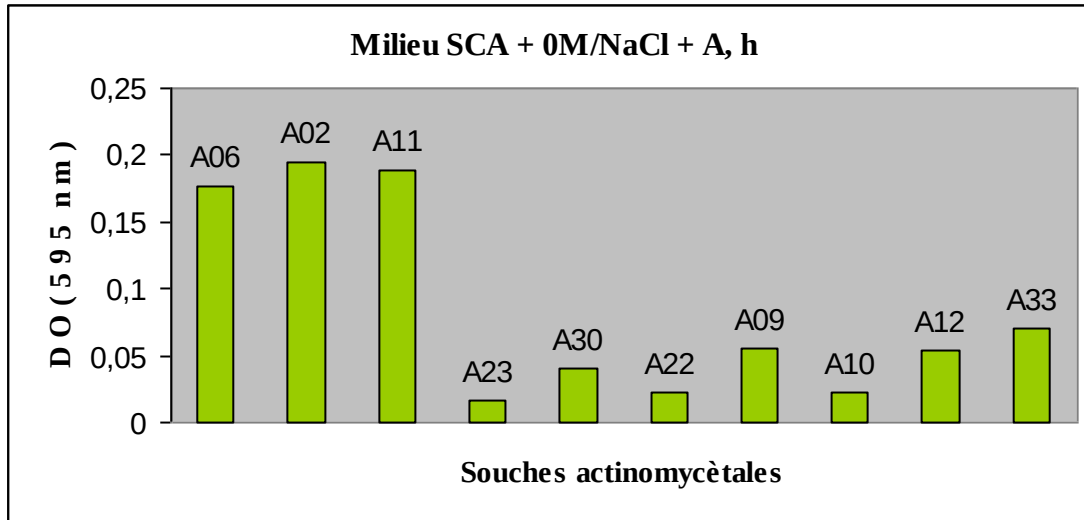
L'osmoprotection apporté par l'extrait est importante. La restauration et l'amélioration de la croissance sont plus marquées chez: A30 (0,045) et A02, A10 (0,046).



F/ Sur milieu SCA +A. h

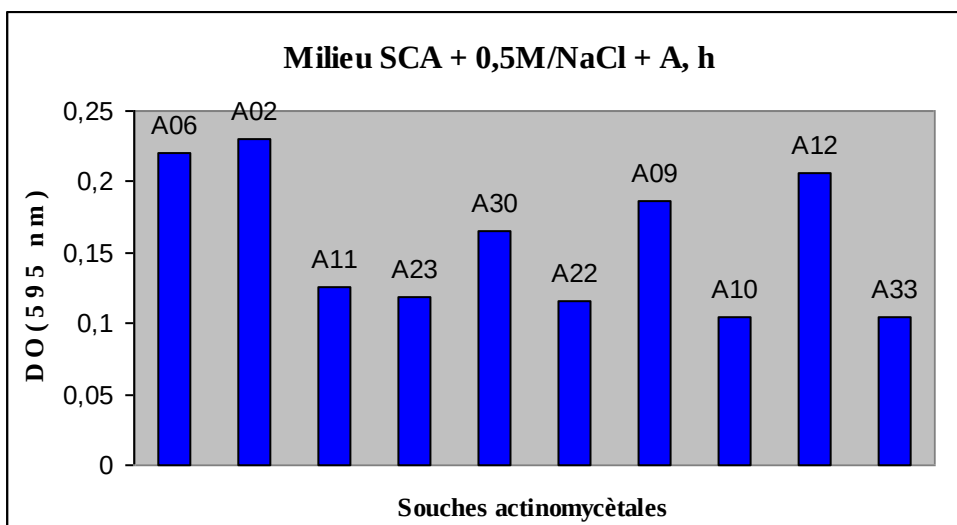
- 0M/NaCl

Parmi les souches testées, la souche A02 est la plus osmoprotégée par l'extrait de *Atriplex halimus* (DO = 0,194).



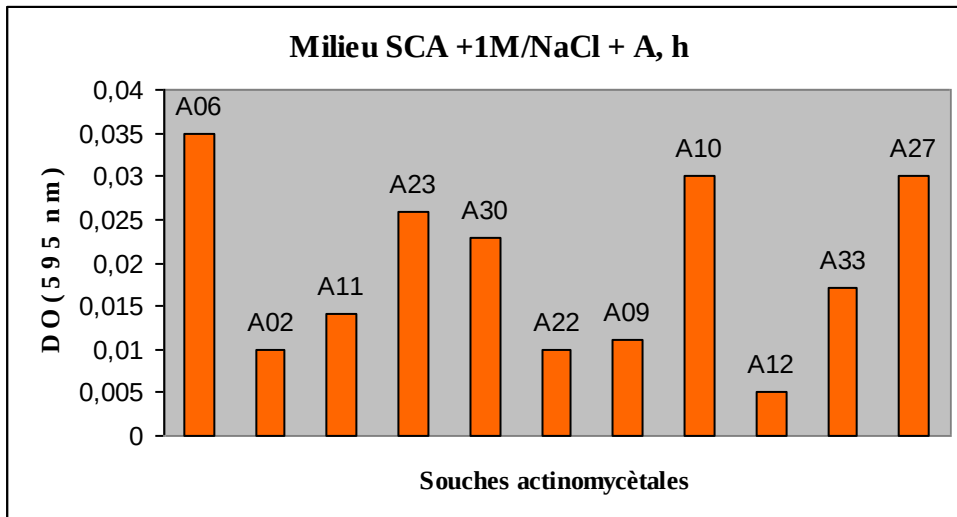
- 0,5M/NaCl

La croissance est très nette chez les souches: A12 (0,206), A6 (0,220) et A02 (0,230) qui est la meilleure.



- 1M/NaCl

L'extrait de *Atriplex halimus* est le plus utilisé par les souches: A27, A10 (0,030) et A06 (0,035).



IV- Activité antibactérienne des souches d'actinomycètes: effet de NaCl, GB et extrait de *Atriplex halimus*.

22 souches sur 34 possèdent une activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*), elles n'exerce aucune inhibition contre les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les actinomycètes agissent différemment sur les bactéries en présence de NaCl, de GB et d'extrait de *Atriplex halimus*.

1- *Staphylococcus aureus* :

Parmi les 34 souches 14 (41,17%) ont une activité vis-à-vis de *staphylococcus aureus*.

1-1- Souche A 09

L'activité antibactérienne est nulle à 1M/NaCl. Les deux osmoprotecteurs n'ont aucun effet sauf en absence de sel (Fig.20).

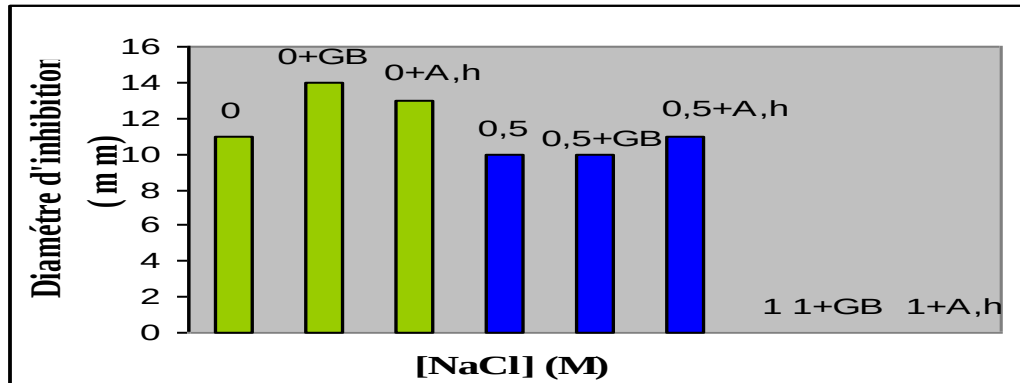


Fig. 20 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus* sur l'activité de A09 contre *S. aureus*

1-2- Les souches A33, 34

Le sel inhibe l'activité antibactérienne dans toutes les conditions. Les osmoprotecteurs sont efficace seulement chez le témoin, sans sel (Fig.21).

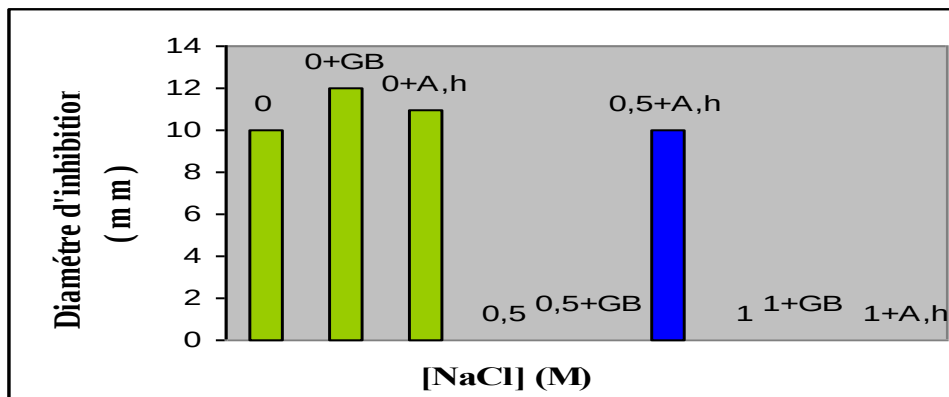


Fig. 21 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus* sur l'activité de A33, A34 contre *S. aureus*.

1-3- Souche A23

L'effet inhibiteur de sel sur l'activité antibactérienne est observée à 0,5 et 1 M/ NaCl. La restauration de l'activité est constatée seulement à 1M en présence de deux osmoprotecteurs. (Fig.22)

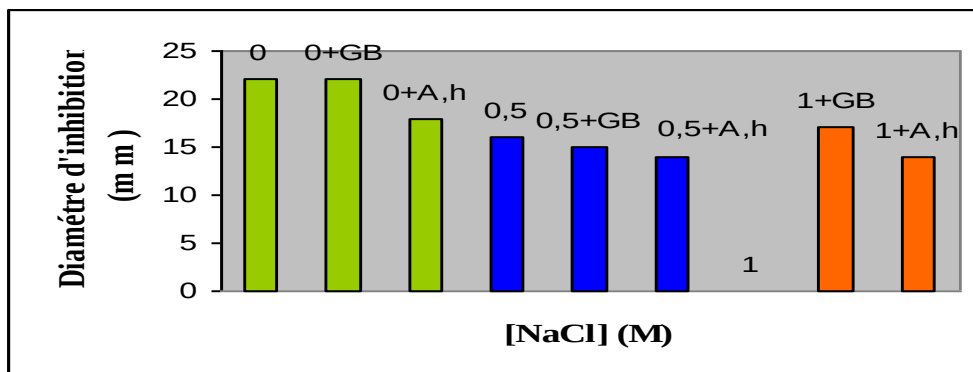


Fig. 22 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus* sur l'activité de A23 contre *S. aureus*.

1-4- Souche A26

Aucune activité antibactérienne n'est observée avec le sel. Les deux osmoprotecteurs inhibe l'activité chez le témoin et aucun résultat avec le NaCl. (Fig.23).

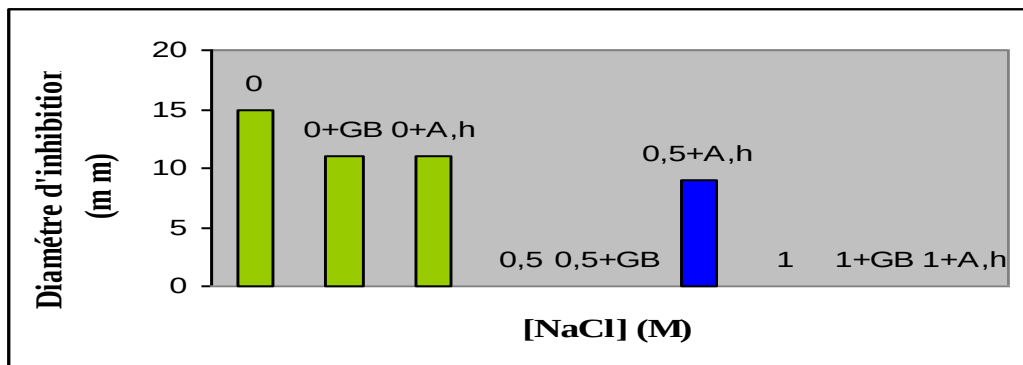


Fig. 23 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus* sur l'activité de A26 contre *S. aureus*

1-5- Souche A04

Le NaCl a un effet négatif sur l'activité antibactérienne. La GB stimule légèrement l'activité à 0,5M, cependant chez le témoin les deux osmoprotecteurs freinent l'activité. (Fig.24)

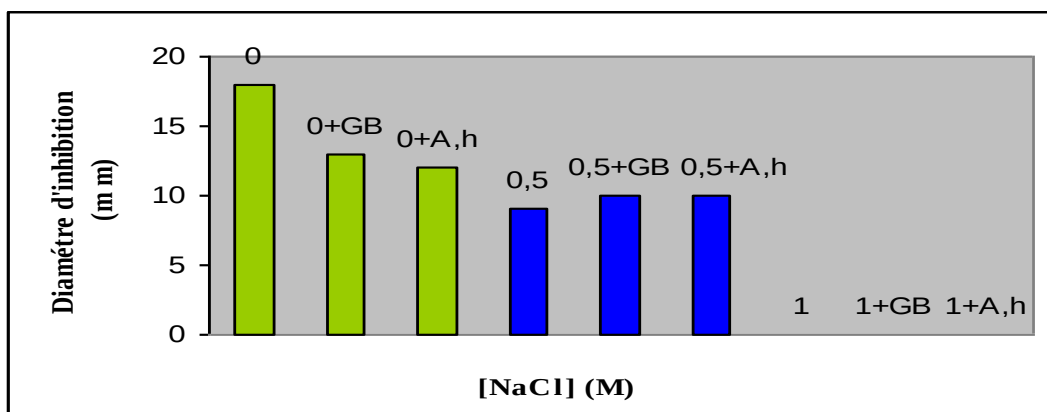


Fig. 24 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus* sur l'activité de A04 contre *S. aureus*

1-6- Souche A29

Le NaCl freine l'activité dans toutes les conditions. La restauration de l'activité est seulement observée à 0,5M en présence de deux osmoprotecteurs contrairement au témoin, alors que à 1 M aucun effet n'est observé (Fig.25).

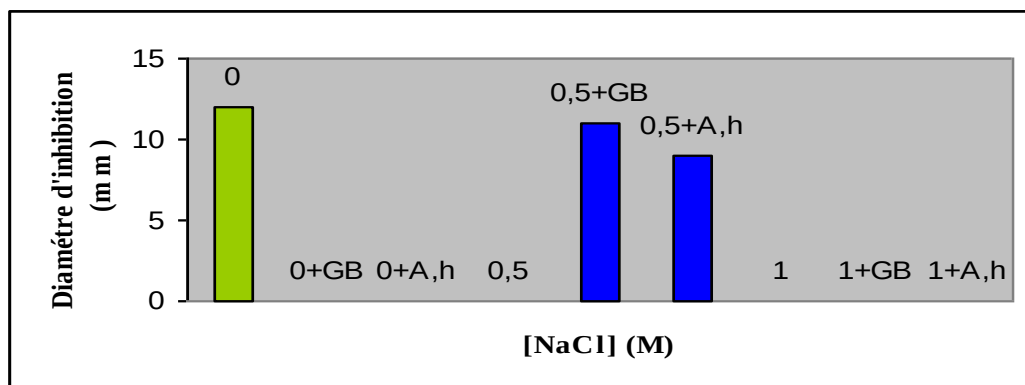


Fig. 25 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus* sur l'activité de A29 contre *S. aureus*

1-7- Souche A30

L'effet inhibiteur de sel est net avec toutes les concentrations de NaCl. Aucun effet n'est constaté à 0,5 et 1M/NaCl en présence de deux osmoprotecteurs (Fig.26).

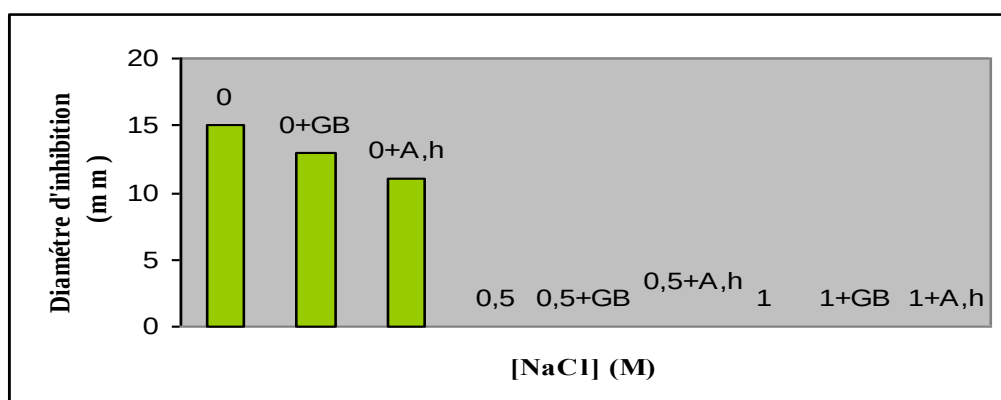


Fig. 26 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus* sur l'activité de 30 contre *S. aureus*

1-8- Souche A22

Le sel diminue l'activité antibactérienne. Les deux osmoprotecteurs n'ont aucun effet à 0,5 et 1M/NaCl, cependant chez le témoin la GB est un inhibiteur (Fig. 27).

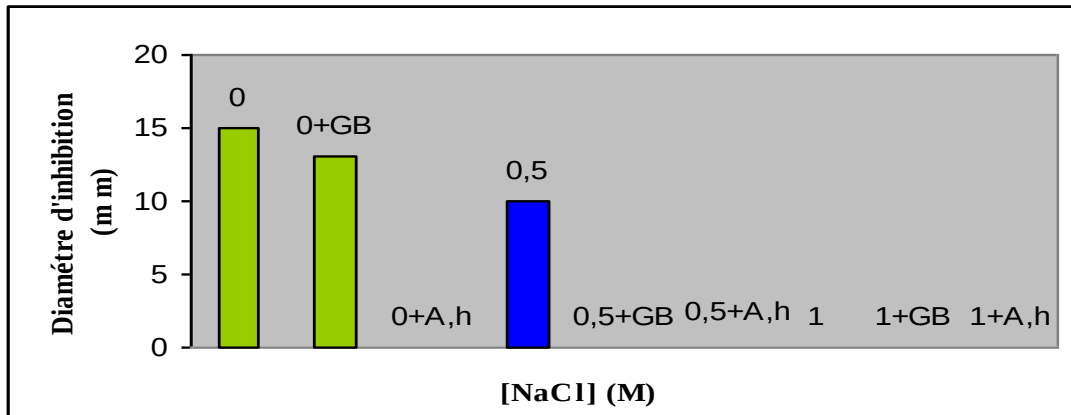


Fig. 27 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus* sur l'activité de A22 contre *S. aureus*

1-9- Souche A12

L'activité antibactérienne est nettement inhibée à 0,5 et 1M/NaCl. Aucune efficacité n'est observée par l'apport de GB et l'extrait de *A. halimus* à 0,5M et 1M. (Fig.28)

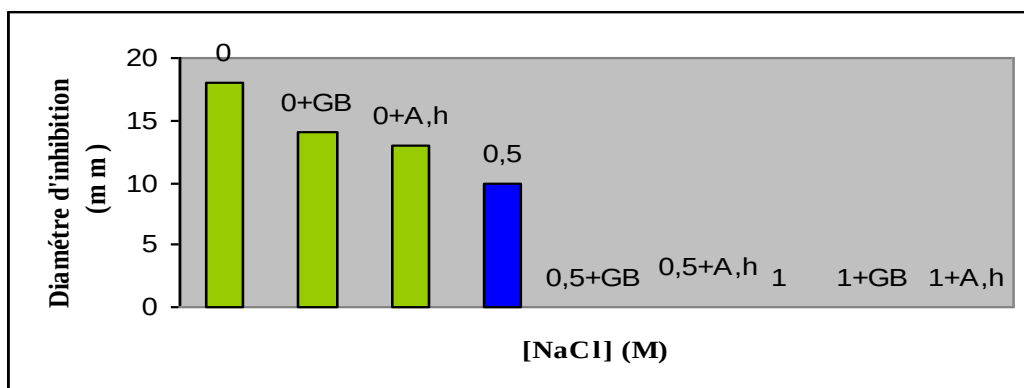


Fig. 28 : Effet de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus* sur l'activité de A12 contre *S. aureus*

1-10- Souche A27

L'addition de NaCl diminue l'activité. Chez le témoin une inhibition est signalée en présence de deux osmoprotecteurs et une activation à 0,5M/NaCl, toutefois à 1M aucun effet n'est constaté. (Fig.29)

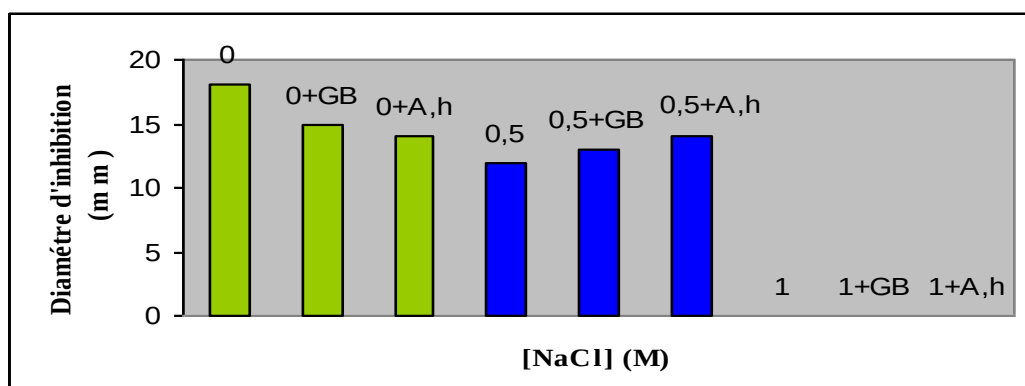


Fig. 29 : Effet de NaCl, GB et extrait de *A. halimus* sur l'activité de A27 contre *S. aureus*

1-11- Souche A02

Le NaCl diminue l'activité à 0,5M jusqu'à l'inhibition totale à 1M. Sans sel la GB et l'extrait de *A. halimus* ont un effet inhibiteur, néanmoins ces derniers lèvent légèrement l'inhibition à 0,5M/NaCl. (Fig. 30)

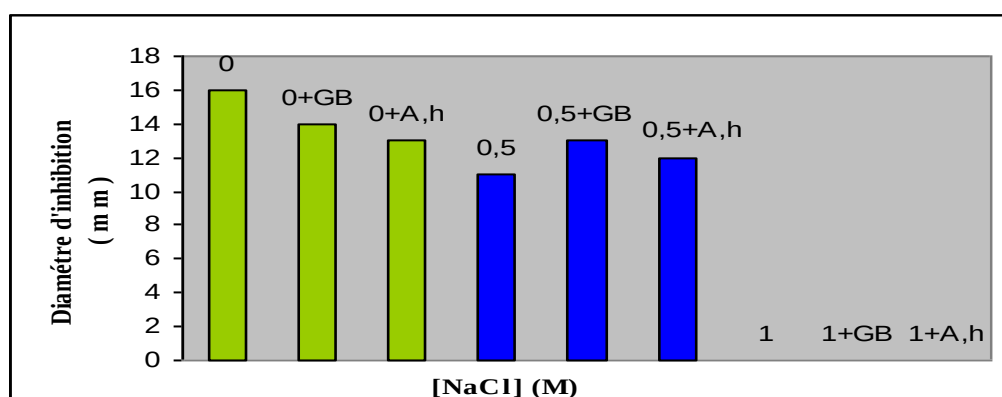


Fig. 30 : Effet de NaCl, GB et extrait de *A. halimus* sur l'activité de A02 contre *S. aureus*

1-12- Souche A10

A 0,5 et 1M/NaCl l'activité une diminution est observée. La GB restaure sensiblement l'activité antibactérienne seulement à 0,5M, cependant à 1M les deux osmoprotecteurs ont un effet inhibiteur. (Fig.31)

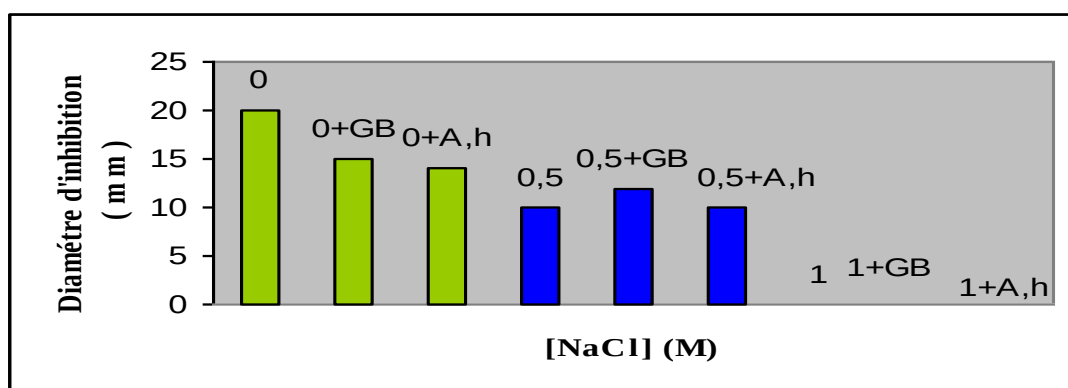


Fig. 31 : Effet de NaCl, GB et extrait de *A. halimus* sur l'activité de A10 contre *S. aureus*

1-13- Souche A11

Le NaCl inhibe l'activité à 0,5M. Chez le témoin les deux osmoprotecteurs inhibent l'activité, alors que à 0,5 M et à 1M aucune restauration de l'activité n'est observée (Fig.32).

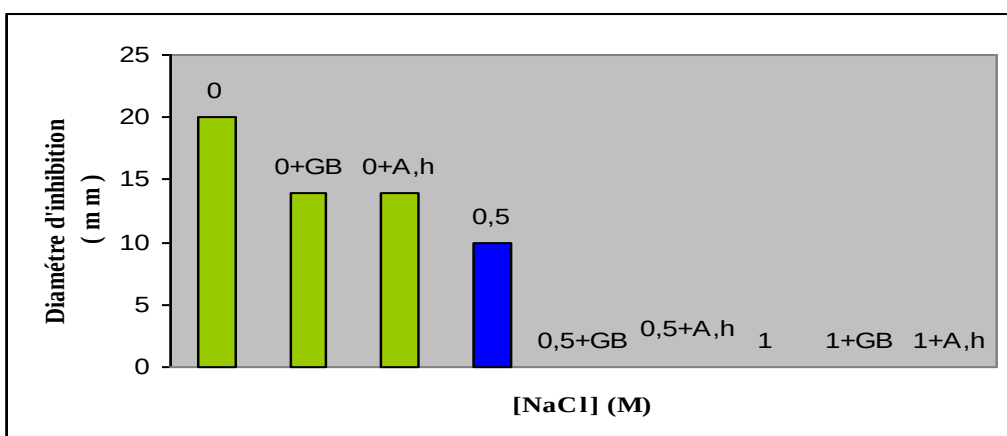


Fig. 32 : Effet de NaCl, GB et extrait de *A. halimus* sur l'activité de A11

contre *S. aureus*

2- *Bacillus subtilis*

14 souches/34 possèdent une activité contre *Bacillus subtilis*. Le sel inhibe l'activité antibactérienne, toutefois une remarque s'impose. Les deux osmoprotecteurs (GB et extrait aqueux de *A. halimus*) inhibent l'activité antibactérienne.

2-1- L'activité antibactérienne en présence de NaCl, GB et d'extrait de *A. halimus*

Le NaCl diminue l'activité des souches A11, A22, A13, A10, A09, A23, A02, A12 à 0,5 M et la freine à 1M. Les deux osmoprotecteurs ont un effet inhibiteur, alors que les souches A28, A27, A26, A34, A33 le NaCl à différentes concentrations inhibe totalement l'activité et les osmoprotecteurs ne peuvent pas la restaurer.

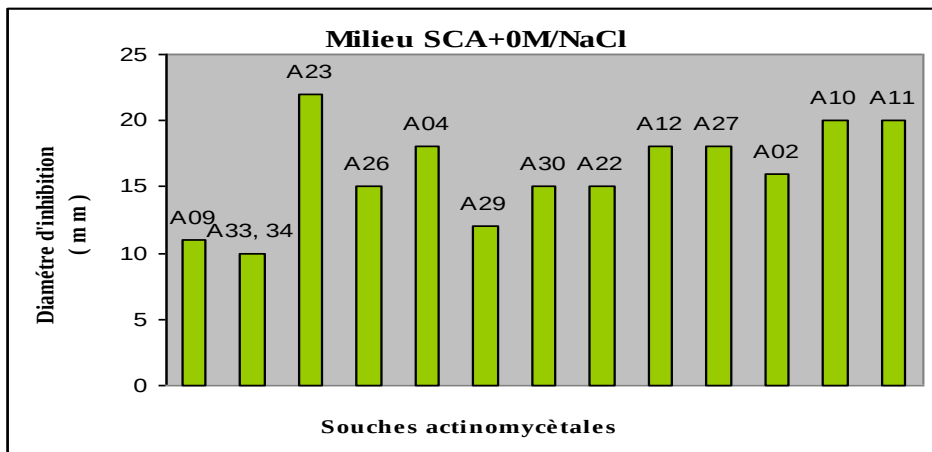
V- Une comparaison entre l'activité antibactérienne des souches.

1- *Staphylococcus aureus*

A/ Sur milieu SCA

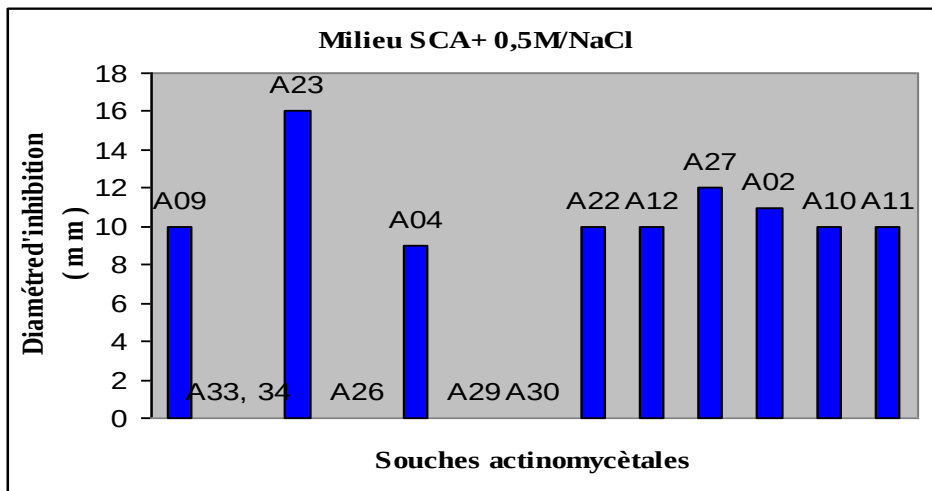
- 0M/NaCl

Parmi les 14 souches, A23 semble la plus active avec un diamètre de 22mm.



- 0,5M/NaCl

Une inhibition remarquable de sel sur l'activité antibactérienne de toutes les souches, toutefois A23 possède la plus forte activité à cette concentration (16mm).



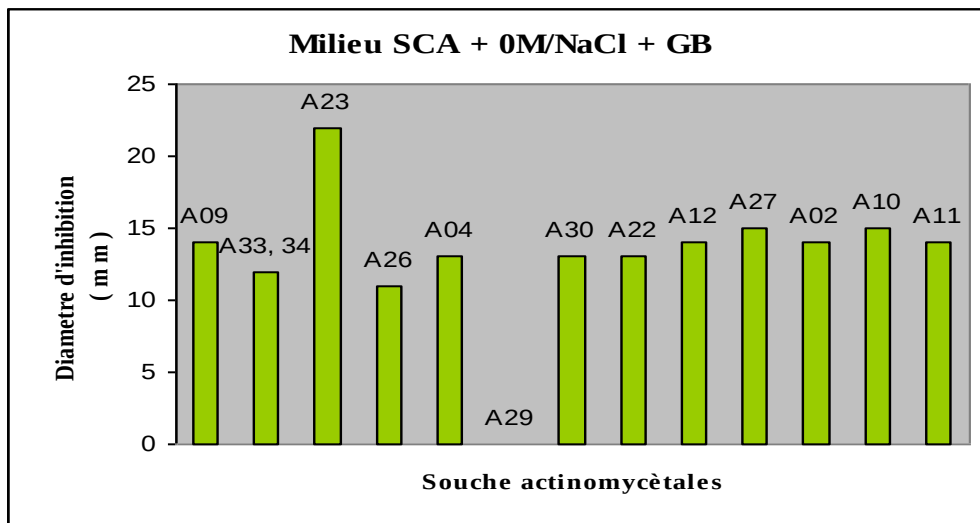
- 1M/NaCl

L'effet inhibiteur de sel sur l'activité antibactérienne de souches active est net.

B- SCA + GB

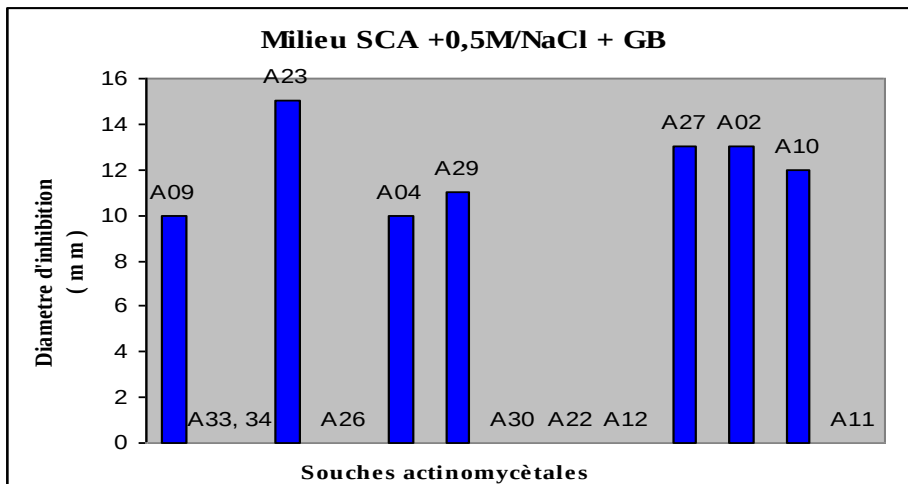
- 0M/NaCl

L'addition de GB provoque l'inhibition de 71,42% de souches, une amélioration de 21,42%, cependant A23 reste la meilleure avec le même diamètre (22mm) dans le milieu SCA sans GB.



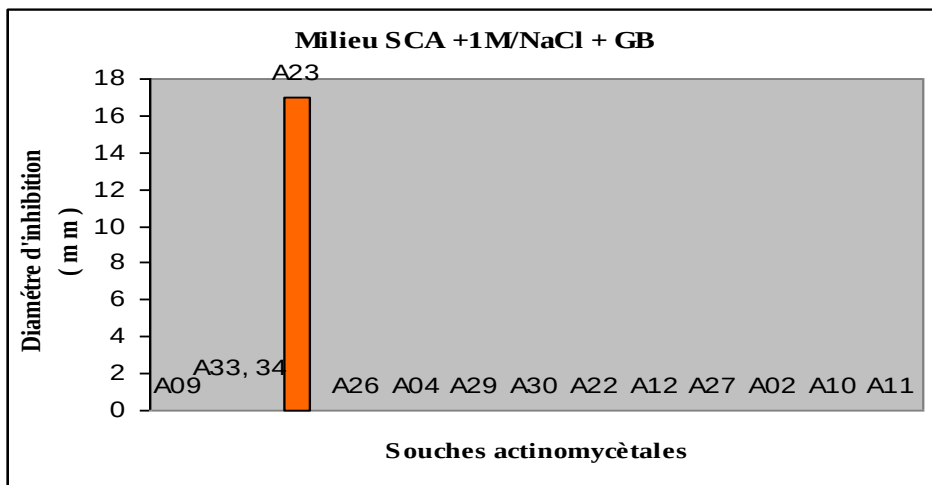
- 0,5M/NaCl

Parmi les souches actives, A23 est la plus active malgré que il y a une légère inhibition par rapport à l'absence de GB.



- 1M/NaCl

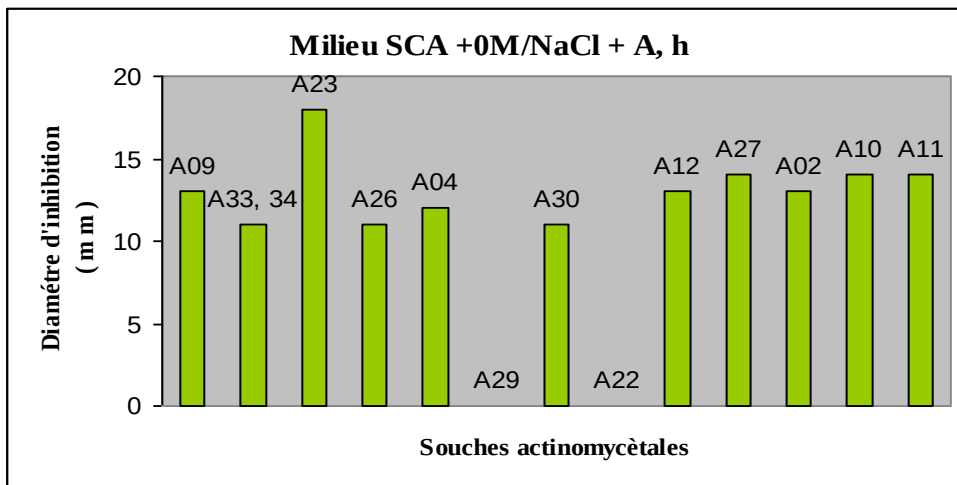
Aucune restauration de l'activité antibactérienne n'est constatée en présence de GB, sauf chez la souche: A23 (17 mm).



C/ SCA +A. h

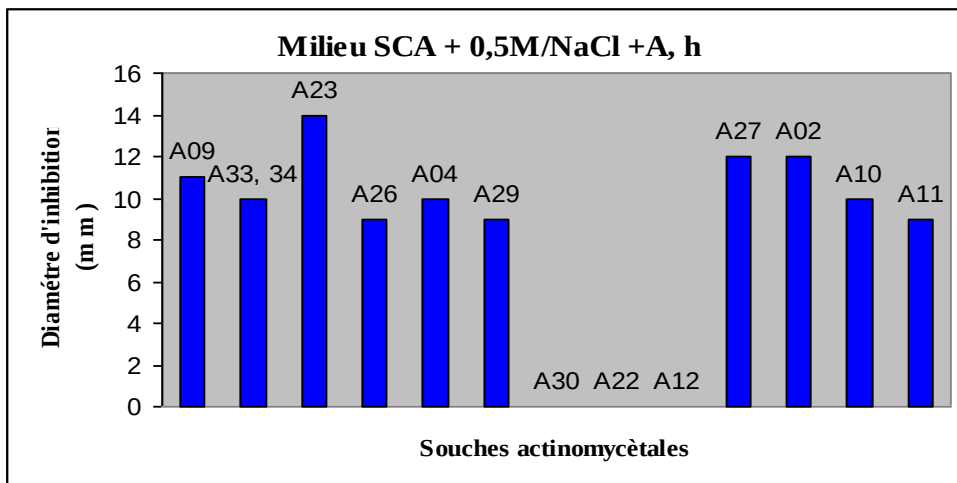
- 0M/NaCl

Une inhibition de 78, 57% de souches est observée en présence d'extrait de *Atriplex halimus* et A23 possède la plus forte activité (18mm).



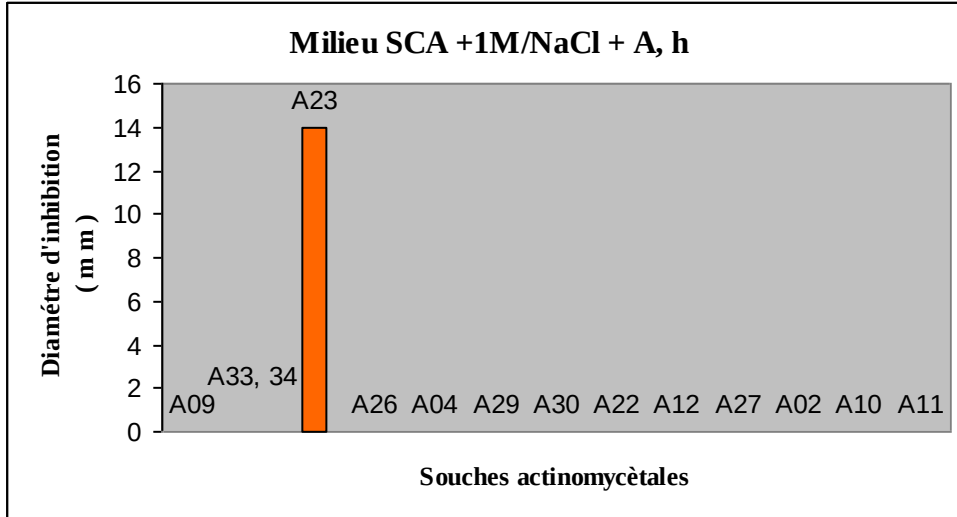
- 0,5M/NaCl

L'addition de d'extrait diminue l'activité de la majorité de souches et A23 montre la plus active (14 mm)



- 1M/NaCl

L'extrait restaure l'activité seulement de la souche A23 (14 mm).

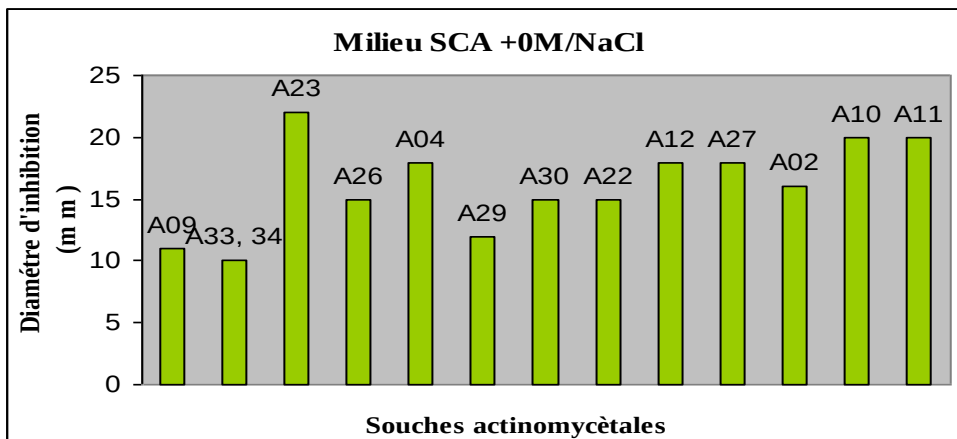


2- *Bacillus subtilis*

A/ Sur milieu SCA

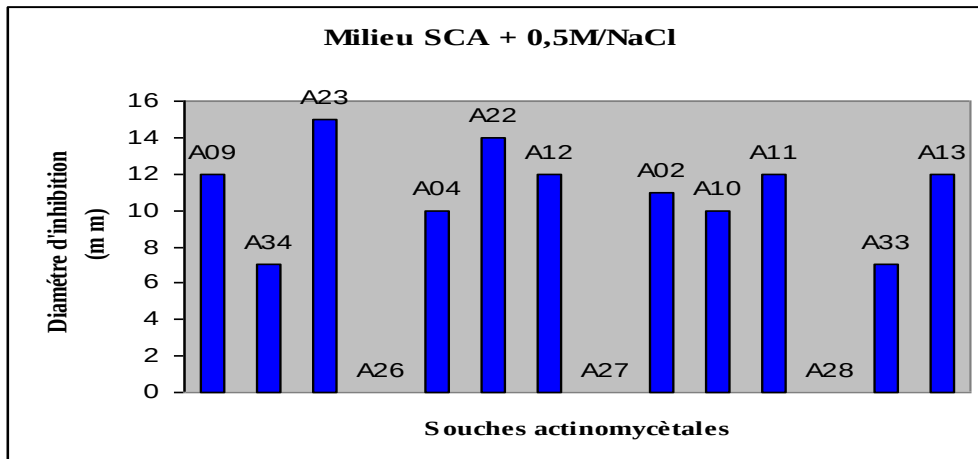
- 0M/NaCl

En absence de stress salin, il est à signaler que la souche A23 est la plus active ($\varnothing = 30\text{mm}$).



- 0,5M/NaCl

L'activité antibactérienne est affectée par le sel, toutefois A23 reste la meilleure (15 mm).



- 1M/NaCl

Aucune activité antibactérienne n'est observée à cette concentration.

- L'apport de GB et d'extrait de *Atriplex halimus* à 0,5 et 1M/NaCl inhibe l'activité antibactérienne totalement.

Résultats définitifs:

*La souche **A02** semble la meilleure dans l'haloadaptation, l'osmoprotection par la GB et l'extrait aqueux de *Atriplex halimus*.

* La souche **A23** est la plus active vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* est la plus osmoprotégée par la GB et l'extrait aqueux de *Atriplex halimus*.

DISCUSSION

Plusieurs facteurs influencent la croissance et l'activité des populations bactériennes dans le sol (Jensen et Nybroe, 1999; Smalla *et al.*, 2001). Il s'agit essentiellement de la température, de l'humidité, de la taille des pores des particules de sol, de la qualité et de la disponibilité des nutriments et les types de stress (Josephson *et al.*, 2000). Dans cette étude 2 facteurs ont été déterminés: le pH et la salinité. La valeur du pH (8,57) convient à la croissance bactérienne. Les actinomycètes en général préfèrent les sols neutres ou alcalins dans un pH entre 5-9 (Goodfellow et Williams, 1983). Le sol étudié est considéré comme salin, sa teneur en sel est de: 6,56 g/l. Un sol est dit salin si la concentration minimale en NaCl est de 100 mM (5,84 g/l) (Le Houérou, 1993).

Le sol abrite une grande variété de microorganismes. Les bactéries y sont spécialement présentes en nombre très élevé. Les actinomycètes sont généralement les seconds groupes les plus abondants dans les sols (Coyne, 1999). Ils constituent 10 à 50% de la population microbienne totale. Dans la portion de surface de sol étudié, le nombre des actinomycètes est légèrement faible ($2,47 \times 10^4$ UFC/ml) par rapport à celui rapporté par d'autres auteurs: 10^5 à 10^8 (Goodfellow et Williams, 1983). Enfin, il est important de signaler que les prélèvements ont été réalisés durant une période pluvieuse ce qui explique le faible nombre d'actinomycètes isolés. Jiang et Xu. (1996) ont démontré que les actinomycètes sont généralement plus abondants durant les saisons sèches que les saisons pluvieuses.

Sur milieu sélectif Starch casein agar (SCA) utilisé 34 souches sont isolées. Ce nombre est grand en comparaison avec celui obtenu par Kitouni et al. (2005) qui isola 08 souches et au Yan. (2009) avec 27 souches.

Le milieu SCA additionné d'antibiotiques s'est révélé efficace en permettant une bonne récupération des actinomycètes à partir des milieux naturels. Cette performance s'expliquerait par la présence, dans ce milieu, d'amidon et de caséine, qui stimulent la croissance des actinomycètes préférentiellement aux autres bactéries, favorisant ainsi leur récupération à partir des milieux naturels (Williams et cross, 1971).

1- Appréciation de l'halotolérance des souches actinomycétales

1-1- En milieu minimum (SMM)

Les souches A33, A12 et A10 tolèrent dans ce milieu minimum une concentration saline de 0,5 M. Par contre, dans les mêmes conditions le sel est inhibiteur des souches: A06, A09, A30, A11, A22 et A27. Cette concentration peut être considérée comme stimulatrice de A12 et A10.

Les souches bactériennes testées présentent une **halotolérance intrinsèque**, elles possèdent les capacités endogènes pour équilibrer leur pression de turgescence et de résister au stress osmotique en dehors de toute osmoprotection externe. Elles portent donc l'information génétique et l'équipement enzymatique nécessaire à l'osmotolérance. Cette halotolérance intrinsèque ne permet cependant qu'une adaptation limitée au stress osmotique. Les capacités d'osmotolérance ne sont pas similaires. L'intensité de la réponse au stress serait liée aux possibilités de synthèse de la cellule.

L'osmoprotection apportée par la GB (1mM) est marquée chez les souches: A06, A33, A27, A02, A09 et A12. La restauration et l'amélioration de la croissance sont significatives. Ces souches possèdent les capacités de son transport et de son accumulation (systèmes ProP et ProU). La GB est un osmoprotecteur efficace aussi chez les bactéries entériques (Le Rudulier et Bouillard, 1983; Ghoul, 1990) chez *Sinorhizobium meliloti* (Bernard *et al.*, 1986) et chez les espèces de *Pseudomonas mondocina* (Pocard *et al.*, 1994). La GB soulage mais ne peut pas sarmenter complètement le stress osmotique imposé aux cultures bactériennes.

Cependant ce phénomène n'est pas ubiquitaire, la GB est sans effet chez les souches A12 et A30 et même chez certaines autres espèces bactériennes (Le Rudulier et Bernard, 1986; Csonka, 1989). D'autre part la levée de l'inhibition due au stress osmotique peut être faible, modérée ou forte.

L'effet de la GB est subordonné à l'activité de son transport, à la transcription des gènes *proP* et *proU* à l'existence de mutations (déficiency en ProU et/ou en ProP) ou autre phénomène. La GB peut encore rester inefficace chez les souches A06, A33, A27, A02, A09 et A12 et aussi chez certaines espèces de *Salmonella* ou de *Acinetobacter*, c'est le même cas

pour certaines souches de *Rhizobium meliloti* (Larguet, 1998) et chez *R. leguminosarum*, *R. fridii* et *R. japonicum* (Bernard *et al.*, 1986). Deux possibilités d'interprétation peuvent être évoquées:

- La GB est transportée, son efficacité est comparable à celle des mécanismes endogènes. Par exemple, le NAGGN et le glucosylglycérol endogènes apportent une osmoprotection similaire à celle de la GB chez *Pseudomonas* (Pocard *et al.*, 1994).

- Ou bien elle n'est pas transportée par déficience de l'équipement enzymatique.

Enfin, elle augmente l'osmotolérance chez des mutants de *S. typhimurium* déficients en *putP*, *proP* et *proU* (Le Rudulier et Bouillard, 1983), ce qui suggère que l'accumulation de la GB pourrait être assurée par un système de transport spécifique. L'effet inhibiteur de GB est constaté chez les souches A06, A10 et A22.

1M/NaCl est une concentration inhibitrice pour les souches A06, A33, A27, A09, A12 et A10 cependant il y a une légère stimulation chez les souches: A30, A11, A22 et A23. Ces souches seraient halophiles et ne croissent pas en absence de sel: les ions de sodium (Na^+) sont indispensables à leur croissance pour au moins 4 raisons, car ils interviennent dans: (Dimroth, 1987)

- les systèmes de cotransport Na^+ /soluté,
- la conservation et la transduction d'énergie,
- les mécanismes de l'équilibre du pH,
- l'activation d'enzymes spéciales.

La GB est un osmoprotecteur efficace à 1M/NaCl chez les souches A06, A33, A27, A02, A09 et A12 et aussi chez les bactéries entériques (Le Rudulier et Bouillard, 1983; Ghoul, 1990), chez *Sinorhizobium meliloti* (Bernard *et al.*, 1986), chez *Pseudomonas aurogenosa* (D'Souza-Ault *et al.*, 1993) et chez *Bacillus* (Boch *et al.*, 1996). Son pouvoir protecteur est plus net à une valeur de contrainte osmotique ne permettant aucune croissance en son absence.

En présence de GB, le taux de croissance est faiblement inhibé chez les souches A10, A22 et A23 et reste sans effet chez A30 et A11 et même chez *Brevibacterium lactofermentum* (Gouebset *et al.*, 1992) et chez la plupart des bactéries non halophiles (Csonka, 1989). La GB peut être utilisée comme source de carbone, d'azote, d'énergie et d'osmoprotection (ex. *P. aeruginosa*). Chez *E. coli*, elle ne peut être intégrée dans les composants cellulaires et sert seulement d'osmoprotection (Smith *et al.*, 1988).

La GB est efficace à de faibles teneurs dans le milieu extérieur. La concentration (1 mM) est celle utilisée par la quasi-totalité des chercheurs bien qu'un effet maximal de la GB soit observé avec des concentrations de l'ordre du nanomolaire chez *E. coli* (taux réel trouvé dans la nature) (Cosquer *et al.*, 1999). 0,5 mM est efficace sur *Agrobacterium tumefaciens* (Smith *et al.*, 1990) et les bactéries entériques (Le Rudulier et Bouillard, 1983).

1-2- En milieu riche (SCA)

Le SCA, milieu complexe, permet la plus forte haloadaptation des souches actinomycétales. Le milieu riche apporte assurément l'osmoprotection la meilleure. Il est possible que milieu Starch Casein Agar contient des substances Dragendorff-positives dont probablement la GB. Il existerait ainsi une synergie entre les différents osmoprotecteurs du SCA qui expliquerait les rendements élevés de croissance à de fortes osmolarités. De plus le SCA constitue une source énergétique appréciable. Dans ce milieu, presque toutes les souches tolèrent 0,5 M, le nombre est moins élevé à 1M. En outre, les éléments nutritifs du milieu riche pourrait stimuler la synthèse d'osmolytes compatibles endogènes. Par exemple, la proline, la glutamine et l'arginine stimulent la synthèse et l'accumulation du glutamate chez *R. meliloti* (Larguet, 1998).

La GB stimule la croissance des souches en absence de stress salin, elle constitue à de faible osmolarités une source de carbone et d'azote (Kiene et Hoffmann Williams, 1998). La croissance bactérienne est nettement améliorée à 0,5 M par l'apport exogène de GB. En présence de 1M/NaCl, la GB agit potentiellement sur la restauration de la croissance des souches, l'effet osmoprotecteur de la GB est évident à de fortes osmolarités. Le transport et l'accumulation de la GB sont déclenchés par la seule élévation de la pression osmotique du milieu extérieur (Le Rudulier et Bouillard, 1983). L'accumulation d'osmoprotecteur est variable d'une souche à une autre.

2- Effet osmoprotecteur d'extrait aqueux de *Atriplex halimus* sur les souches actinomycétales

Pour tester l'effet d'osmoprotecteur naturel, une halophyte a été choisie: *Atriplex halimus* (accumule la GB) (Djerroudi *et al.*, 2010). Les solutés compatibles intervenant dans l'ajustement osmotique sont accumulés dans le cytoplasme des cellules végétales supérieures alors que les ions «toxiques» (Na^+ et Cl^- principalement) sont retenus dans la vacuole (Flowers *et al.*, 1986; Rodes et Hanson, 1993). Les capacités osmoprotectrices des extraits d'halophytes sont très importantes et dépassent en général celles de la GB dans le milieu minimum.

L'addition d'extrait aqueux aux 2 milieux de croissance SMM et SCA a des effets contrastés. En absence de NaCl, *A. halimus* augmente considérablement la croissance bactérienne; elle constitue un apport supplémentaire en matière organique spécialement dans le milieu minimum. L'extrait est riche en acides aminés et éventuellement en autres éléments nutritifs qui favorisent la croissance bactérienne et stimulent la synthèse d'osmolytes compatibles endogènes comme il pourrait constituer l'apport énergétique nécessaire au transport des molécules osmoprotectrices à partir de milieu.

En présence de 0,5 M/NaCl, *A. halimus* améliore la croissance de A06, A27, A02 et A33 dans le milieu minimum et la souche A02 dans le milieu riche le reste est inhibé. La perte de l'halotolérance en présence d'extrait de certains halophytes serait due à une répression des réponses osmorégulatrices au niveau enzymatique ou au niveau des gènes codant pour ces enzymes ou à la présence d'une substance devenant inhibitrice en présence de sel. L'indisponibilité du potassium qui constitue le second signal (après la turgescence) pour toute réponse osmorégulatrice est une autre hypothèse. D'autre part, il est fort probable que certains extraits d'halophytes véhiculeraient des substances inhibant la croissance des souches actinomycétales. Des alcaloïdes (Wu *et al.*, 1997), des isoflavanones à activité anti-bactérienne ainsi que les tanins (polyphénols) connus pour leur pouvoir de précipiter les protéines (Zhu *et al.*, 1997) et d'inhiber la respiration bactérienne ont été décrits chez les plantes. De plus, la synthèse de composés phénoliques constitue une réponse importante aux stress biotique et abiotique.

L'extrait aqueux d'halophyte contient au départ du sel ce qui expliquerait aussi le faible effet et même l'inhibition qu'il manifeste sur la restauration de la croissance des souches d'actinomycètes.

L'effet osmoprotecteur des halophytes est également présent chez *E. coli* et *Pseudomonas*, les extraits permettent à ces souches une haloadaptation équivalente ou supérieure à celle

apportée par la GB ou le milieu riche (Csonka, 1989). Ceci s'explique en partie par la présence de composés-oniums et la proline chez ces plantes. La GB est connue pour son pouvoir osmoprotecteur aussi bien chez *E. coli* (Csonka, 1989; Ghoul *et al.*, 1995) que chez *Pseudomonas aeruginosa* et *P. putida* (Ghoul, 1990).

Les extraits de plantes constituent probablement un milieu complexe riche en nutriments divers (acides aminés, sucres, lipides...) favorisant la croissance des souches et éventuellement le transport des molécules osmoprotectrices à des quantités intracellulaires importantes et/ou la synthèse d'osmolytes compatibles endogènes. En effet, la synthèse de telles substances dépend de la composition du milieu de culture. Le saccharose, par exemple, stimule l'accumulation du mannitol chez *Pseudomonas putida* (Kets *et al.*, 1996). La synergie entre les différents solutés compatibles (exogènes et endogène) serait également possible.

Enfin, la teneur en osmoprotecteurs chez les halophytes dépend de leur stade de développement; dans notre cas, la récolte d'halophyte a été effectuée à la fin du mois de Novembre. D'autre part, toutes les parties de la plante étaient utilisées afin de récupérer le maximum d'osmoprotecteurs.

Il faut noter aussi que les techniques classiques de dénombrement adoptées dans cette étude ne permettent pas de récupérer une grande proportion des souches actinomycétales. La libération incomplète des bactéries à partir des particules de sol au cours de l'extraction ou leur mauvaise séparation durant l'étape de dilution sont parmi les causes de la faible récupération (Maier et Pepper, 2000). Enfin, la perte de la capacité de former des colonies est un artefact expérimental causé par l'exposition des bactéries à un stress oxydatif sur boîtes Pétri (Mascher *et al.*, 2002).

D'autre part, plusieurs microorganismes ne se développent pas une fois déplacés de leurs environnements, les connaissances actuelles relatives aux conditions favorisant leur division cellulaire sont très limitées (Josephson *et al.*, 2000).

Conclusion

Sur le milieu starch casein agar (SCA) les numérations atteignent $2,47 \times 10^4$ UFC/ml. Les 34 souches d'actinomycètes isolées présentent différents aspects macroscopiques (mycélium végétatif, mycélium aérien, taille, élévation et contour des colonies).

L'effet de NaCl sur la croissance des souches est hétérogène sur le milieu riche (SCA) et le milieu minimum (SMM). 0,5 M/NaCl stimule considérablement la croissance de quelques souches (A06, A09, A12..), et inhibe la croissance des autres (A02, A30, A11..). Cependant 1M/NaCl inhibe la plupart des souches, tandis que 1.5M est une concentration inhibitrice pour toutes les souches. Selon la souche et la concentration de NaCl l'addition de GB (1mM) provoque différents effets sur la croissance. Elle entraîne une amélioration de la croissance de la plupart des souches, une inhibition de quelques unes et aucun effet pour les autres. L'extrait aqueux de *A. halimus* ainsi que la GB (1 mM) améliorent la croissance des souches d'actinomycètes dans les échantillons témoins et salé. A 0,5 M en milieu riche (SCA) la GB est plus performante, cependant à cette concentration en milieu minimum (SMM) l'extrait de *A. halimus* est plus efficace. L'efficacité de la GB est manifeste à 1M en (SCA), alors que en (SMM) à cette concentration l'extrait de *A. halimus* restaure plus la croissance. Il faut noter aussi que avec certaines concentrations (à 0,5 M par exemple) il y a un effet inhibiteur de GB et même d'extrait de *A. halimus*, cependant dans autres cas aucun effet n'est signalé.

Concernant l'activité antibactérienne, il est à souligner que sur les 34 souches isolées, seules 22 sont actives. La majorité des souches actives agissent sélectivement contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*). L'addition de NaCl diminue l'activité antibactérienne des souches actives contre *staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* à 0,5 M et la inhibée totalement à 1 M. La supplémentation en GB et d'extrait de *A. halimus* restaure l'activité antibactérienne à 0,5 M contre *staphylococcus aureus* de quelques souches, inhibe ou ne présente aucun effet pour d'autres souches, cependant à 1M les deux osmoprotecteurs n'ont aucune amélioration. Tandis que, L'activité des souches contre *Bacillus subtilis* est inhibée totalement en présence de GB et l'extrait de *A. halimus*.

Les osmoprotecteurs (GB) et (l'extrait aqueux de *A. halimus*) apportent une véritable halotolérance aux souches d'actinomycètes isolées de sol de sebkha. Ceci pourrait suggérer leur utilisation dans les sols affectés par la salinité qui entraîne une réduction des surfaces cultivables et menace l'équilibre alimentaire mondial, leur récupération à des fins agricoles serait extrêmement bénéfique. Il reste de cibler les études sur le choix de la souche la plus active (les différentes activités), l'identifier et l'inoculer à une plante à intérêt agronomique.

Références bibliographiques

Abbad A., A. El Hadrami, I. El Hadrami, A. Benchaabane. 2004. *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae): A halophytic species for restoration and rehabilitation of saline degraded lands. *Pakis. J. Biolog. Sci.* **6**: 1085-1093.

Ajmal, k. M., A. I. A. Urger, M. Allan, Showalter and H. D. Dewald. 1998. NaCl-induced accumulation of glycinebetaine in four subtropical halophytes from Pakistan. *Plant. Physio.* **102**: 487-492

Alazzeah A.Y., M.M., Abu-Zanat. 2004. Impact of feeding saltbush (*Atriplex* sp.) on some mineral concentrations in the blood serum of lactating Awassi ewes. *Small Ruminant Research.* **54**: 81-88.

Aldesuquy, H. F. Mansour et S. Abo-hamed. 1998. Effect of the culture filtrates of *Streptomyces* on growth and productivity of wheat plants. *Folia. Microbiol.* **43**: 324-328.

Al-Garni, S. M. S. 2006. Increasing NaCl – salt tolerance of a halophilic plant *Phragmites australis* by mycorrhizal symbiosis. *Amerc-Euras. J. Agric. Environ. Sci.* **1**: 119-126.

Ameur, H. 2004. Halotolérance de *Azotobacter* spp isolé du sol. Effet osmoprotecteur d'halophytes. Thèse de Magister. Université de Sétif.

Anderson, T.A., E.A. Guthrie et B.T. Walton.1993. Bioremediation in the rhizosphere. *Environ. Sci. Technol.* **27**: 2630–2636.

Arakawa, T. et S. N. Timasheff. 1985. The stabilization of proteins by osmolytes. *Biophys. J.* **47**: 411-414.

Arcand, M. M. et Schneider, K.D. 2006. Plant and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. *Ann. Acad. Bras. Cienc.* **78**: 791-807.

Arshad, M. et W. T. Frenkenberger, Jr. 1992. Microbial production of plant growth regulators, p. 307-347. *In* F. Blaine Metting, Jr (ed), *Soil Microbiol Ecology. Application in agricultural and environmental management*. Washington.

Aziz, A., J. Martin-Tanguy et F. Larher. 1999. Salt stress-induced proline accumulation and changes in tyramine and polyamine levels are linked to ionic adjustment in tomato leaf discs. *Plant. Sci.* **145**: 83-91

Bhavadish, N., A. Johri, J. Sharma , S. Virdi. 2003. Rhizobacterial diversity in India and its influence on soil and plant health. *Advan. Bioche. Engin. Biotech.* **84**: 49-89.

Belkhodja M., M., Benkablila. 2000. Proline response of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. *Egyp.J. Agri. Res.***1**: 185-195.

Bernard, T., M. Jebbar, Y. Rassouli, S. Himdi-Kebbab, J. H. Hamelin et C. Blanco. 1993. Ectoine accumulation and osmotic regulation *Brevibacterium lines*. *J. Gen. Microbiol.* **139**: 129-136.

Bérdy, j. 2005. Bioactive microbial metabolites, a personal view. *J. Antibiot.* **58**: 1-26.

Boch, J., B. Kempf, R. Schmid et E. Bremer. 1996. Synthesis of the osmoprotectant glycine betaine in *Bacillus subtilis*: characterization of the *gbs AB* genes. *J. Bacteriol.* **178**: 5121-5129.

Boddey, R.M., S. Urquiaga, B. J. R . Alves et V. Reis. 2003. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. *Plant Soil.* **252**: 139–149.

Bohnert, H. J., D. E. Nelson et R. G. Jensen. 1995. Adaptation to environmental stresses. *Plant. cell.* **7**: 1099-1111.

Bohnert, H. J. et B. Shen. 1999. Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae*. **78**: 237-260

Boiero, L., D. Perrig, O. Masciarelli, C. Penna, F. Cassan et V. Luna. 2007. Phytohormone production by three strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **74**: 874–880.

Boncompagni, E., M. Østeras et M. Poggi. 1999. Occurrence of choline and glycine betaine uptake and metabolism in the family Rhizobiaceae and their roles in osmoprotection. *Appli. Enviro. Microbi.* **5**: 2072-2077.

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

Boudemagh, A., M. Kitouni, F. Boughachich, H. Hamdiken, L. Oulmi, S. Reghioua, H. Zerizer, A. Couble, D. Mouniee, A. Boulahrouf. 2005. Isolation and molecular idenyfication of actinomycetee microflora, of some saharian soils of south Algeria (Biskra, El-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *J. Mycol. Médic.* **16**: 39-44.

Bourgouis-Chaillou, P. F. Perez-Alfocea et G. Guerrier. 1993. Evolution ontogénique de la tolérance au NaCl chez le soja: comparaison des réponses au sel à deux stades de développement et chez les calcs correspondants. *Can. J. Bot.* **70**: 1346-1356.

Boyaval, P., C. Deborde et C. Corre. 1999. Stress and osmoprotection in propionibacteria. *EDP. Sciences.* **1**: 59-69

Bremer, E. et R. Krämer. 2000. Coping with osmotic challenges: osmoregulation through accumulation and release of compatible solutes in bacteria. p. 79-97. In G. S torz and R. Henge-Arois (ed.), Bacterial stress responses. ASM Press; Washington.

Britten, R. J. et F. T. Mc Clure. 1962. The amino acid pool in *E. coli*. Bacteriol. Rev. **26**: 292-335.

Brown, A.D. 1976. Microbial water stress. Bact. Rev. **40**: 803-846.

Brown, A.D. et J.R. Simpson. 1972. Water relations of sugar-tolerant yeasts: the role of intracellular polyols. J. Gen. Microbiol. **72**: 589-591.

Campbell, N. 1995. Chapter 27. Prokaryotes and the origins of metabolic diversity. *In* Biology, 5th edn. Brady, E.B. (ed.). Redwood City, CA, USA: The Benjamin/Cummings Publishing Company. 502–519.

Carvajal, M., F. M. Del Amor, G. Fernandez-Ballester, V. Martinez et A. Cerdá. 1998. Time course of salt accumulation and water relations in muskmelon plants exposed to salt during different growth stages. Plant. Sci. **138**: 103-112.

Cavala, M. et T. Eberlin. 1994. Isolement des streptomycètes du sol. L'opéron. **4**: 7-13.

Chambers, S. T., C. M. Kunun, D. Miller et A. Hamada. 1987. Dimethylthetin can substitute for glycine betaine as an osmoprotectant molecule for *Escherichia coli*. J. Bacteriol. **169**: 4845-4847.

Cheng, L. J. et Xue, Q. H. 2000. Microbiology Experiment Technology. Publisher: World Books Publication Company. 80-83 (*In Chinese*).

Cho, S. H., C. W. Hawang, H. K. Chung et C. S. Yang. 1994. Anew medium for the isolation of soil actinomycetes. K. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. **22**: 561-563.

Christian, J.H.B. 1955a. The influence of nutrition on the water relations of *Salmonella oranienburg*. Aust. J. Biol. Sci. **8**: 75-82.

Christian, J.H.B. 1955b. The water relations of growth and respiration of *Salmonella oranienburg* at 30°C. Aust. J. Biol. Sci. **8**: 430-497.

Christian, J.H.B. et J. Waltho. 1961. The sodium and potassium content of non-halophilic bacteria in relation to salt tolerance. J.Gen. Microbiol. **25**: 97-102.

Ciula, R. A., M. R. Diaz, B. F. Taylor et M. F. Roberts. 1997. Organic osmolytes in aerobic bacteria from Manolake, an alkaline moderately hypersaline environment. App. Environ. Microbiol. **63**: 220-226.

Cindy, H. W., S. M. Bernard, G. L. Andersen and W. Chen. 2009. Developing microbe–plant interactions for applications in plant-growth promotion and disease control, production of useful compounds, remediation and carbon sequestration. Microb. Biotech. **10**: 1-13

Collins, C. H., P. M. Lyne et J. M. Granje. 1995. Morphological Methods. 7th Edn., Butterworth and Heinemann Publishers, London. 129-131.

Cosquer, A., V. Pichireau, J. A. Pocard, J. Minet et Bernard. 1999. Nanomolar levels of dimethylsuulfoniopropionate, dimethylsulfonioacetate and glycine betaine are sufficient to confer osmoprotection to *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol. **65**: 3304-3311.

Coyne, M. S. 1999. Soil microbiology: an exploratory approach. Delmar Publishers, New York.

Crowe, J. H., L. M. Crowe et D. Chapman. 1984. Preservation of membranes in anhydrobiotic organisms: the role of trehalose. Scienc. **223**: 701-703.

Crawford, D. L. J. M. Lynch, J. M. Whipps, M. A. Ousley. 1993. Isolation of actinomycetes antagonists of a fungal root pathogen. App. Environ. Microbiol. **59**: 3899-3905.

Csonka, L.N. 1989. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. Microbiol. Rev. **53**: 121-147

Csonka, L.N. et W. Epstein. 1996. Osmoregulation. P. 1210-1223. In F. C. Neidhart. J. L. Ingraham. E. C. C. Lin. K. B. Low, B. Magsanik, W. S. Reznikoff, M. Rile, M. Schaechter and H. E. Umbarger (ed.), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: cellular and molecular biology, 2^{ed} ed. American Society for Microbiology, Washington D.C.

Csonka, L.N. et A. D. Hanson. 1991. Prokaryotic osmoregulation: genetics and physiology. Ann. Rev. Microbiol. **45**: 569-606

Da Costa, M. S., H Santos et E. A. Galinski. 1998. On overview of the role and diversity of compatible solutes in bacteria and *Archaea*, p. 118-153. In G. Antranikian (ed.) , biotechnology of extremophiles. Springer-verlag, Berlin, Heidelberg.

Davet, P. 1996. Vie microbienne du sol et production végétal. INRA. (ed.), Paris.

Del Aor, F. M., V. Martinez et A. Cerdá. 1999. Salinity duration and concentration affect fruit yield and quality and growth and mineral composition of melon plants grown in perlite. Hort. Sci. **34**: 1234-1237.

Del Giudice, L., D.R. Massardo, P. Pontieri, C.M. Berteà, D. Mombello, E. Carata. 2008. The microbial community of Vetiver root and its involvement into essential oil biogenesis. Environ. Microbiol. **10**: 2824–2841.

Dewald, D. B., J. Torabinejad, C. A. Jones, J. C. Shope, A. R. Cangelosi, J. E. Thompson, G. D. Prestwich et H. Hama. 2001. Rapid accumulation of phosphatidylinositol

4,5-biphosphate and inositol, 1,4,5-triphosphate correlated with calcium mobilization in salt-stressed *Arabidopsis*. Plant. Physiol. **126**: 759-769.

Dimroth, P. 1987. Sodium iontransport decarboxylases and other aspects of sodium ion cycling in bacteria. Microbiol. Rev. **51**: 320-340

Dietera, A., Hamm, A., Fiedler, H. P., Goodfellow, M., Muller, W. E., Brun, R. et Bringmann, G. 2003. Pyrocoll, an antibiotic, antiparasitic and antitumor compound produced by a novel alkalophilic *Streptomyces* strain. J. Antibiot. **56**: 639-646.

Djerroudi, O. Zidane, M. Belkhodja, S. Bissati, S. Hadjadj. 2010. Effect of salt stress on the proline accumulation in young plants of *Atriplex Halimus* L. And *Atriplex Canescens* (Pursh) Nutt. Euro. J. Scie Res. **41**: 249-260.

Doumbou, C. L., K. Michelle, H. Salove, L. Don, Crawford and C. Beaulieu. 2002. Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. Phytapro. **82** : 85-102.

D'souza-Ault, M. R., L. T. Smith et G. M. Smith. 1993. Role of acetylglutaminyglutamine amide and glycine betaine in adaptation of *Pseudomonas aerogenosa* to osmotic stress. Appl. Environ. Microbiol. **59**: 473-478.

El-Tarabily, K. A .2008. Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing streptomycete actinomycetes. Plant and Soil. **308**: 161-174.

Epstein, W ET S.G. Schulz. 1968. Ion transport in osmoregulation in bacteria. p: 189-193. In Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. L.B. Guze.(ed.), The williams and Wikins Co., Baltimore, USA.

Eshoo, M. W. 1988. *lac* Fusion analysis of the *bet* genes of *E. coli*: Regulation by osmolarity, temperature, oxygen, choline and glycine-betaine. J. Bacteriol. **170**: 5208-5215.

Flowers, T. J. et T. D. Colmer. 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New. Phyto.* **179**: 945-963.

Flowers, T. J., M. A. Hajibagheri et N. J. W. Clipson. 1986. Halophytes. *Q. Rev. Biol.* **61**: 313-337.

François, L. E., C. M. Grieve, E. V. Maas et S. M. Lesch. 1994. Time of salt stress affects growth and yield components of irrigated wheat. *Agron. J.* **86**: 100-107.

Ghoul, M. 1990. Halotolérance de *Escherichia coli*: effet des osmoprotecteurs naturels. Thèse de Doctorat. Université de Rennes1. France.

Ghoul, M., J. Minet, T. Bernard, E. Dupray et M. Cormier. 1995. Marine macroalgae as a source for osmoprotection for *Escherichia coli*. *Microbiol. Ecol.* **30**: 171-181.

Goodfellow, M. et A. G. O'Donnell. 1989. Search and discovery of industrially-significant actinomycetes. *Proceeding of the 44th Symposium on Society for General Microbiology, (SCGM'89).* Cambridge University Press, Cambridge. 343-383.

Goodfellow, M. et S. T. Williams. 1983. Ecology of the actinomycetes. *Annu. Rev. Microbiol.* **37**: 189-216.

Gordon, R. E., D. A. Barnrtt, J. E. Handerhan et C. H. N. Pang. 1974. *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica* and the *nocardin* strain. *Int. j. Syst. Bacteriol.* **24**: 54-63.

Gouesbet, G. C. Blanco, J. Hamelin et T. Bernard. 1992. Osmotic adjustment in *Brevibacterium ammoniagenes*: pipecolic acid accumulation at elevated osmolalities. *J. Gen. Microbiol.* **138**: 959-965.

Grattan, S. R. et C. M. Grieve. 1992. Mineral acquisition and growth response of plants grown in saline environments. *Agri. Ecosys. Environ.* **38**: 275-300.

Grieve, C.M. et L. E. François. 1992. The importance of initial seed size in wheat plant response to salinity. *Plant. Soil.* **147**: 197-205.

Guiraud, J. et P. Galzy. 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. P. 33-40. Les éditions de l'usine nouvelle. Paris.

Guillon, S., J. Tremouillaux-Guiller, P.K. Pati, M. Rideau et P. Gantet. 2006. Harnessing the potential of hairy roots: dawn of a new era. *Trends. Biotechnol* **24**: 403–409.

Jean-Jacques, S. et T. Martha. 1997. Substances bioactives produites par les actinomycètes et stratégie de sélection de souches. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* **12**: 269-276.

Jensen, L. E. et O. Nybroe. 1999. Nitrogen availability to *Pseudomonas fluorescens* DF5F is limited during decomposition of barley straw in bulk soil in the barley rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**: 4320-4328.

Jiang, C. et L. Xu. 1996. Diversity of Aquatic Actinomycetes in Lakes of the Middle Plateau, Yunnan, China. *Appl. Environ. Microbiol.* **62:1**: 249-253.

Johnson, J. M., J. Pritchard, J. Gorham et A. D. Tomos. 1996. Growth, water relations and solute accumulation in osmotically stressed seedlings of the tropical tree *Colophospermum mopane*. *Tree. Physiol.* **16**: 713-718.

Josephson, K. C., C. P. Gerba et R. M. Maier. 2000. Cultural methods, p. 213-232. In R. M. Maier, I. L. Pepper and C. P. Gerba (ed.), *Environmental microbiology*. Academic Press, London.

Hashem, F. M., D. M. Swelim, L. D. Kuykendall, A. I. Mohamed, S. M. Abdel-Wahab et N. I. Hegazi. 1998. Identification and characterization of salt-and thermo-tolerant *Leucaena*-nodulating *Rhizobium* strains. *Biol. Fertil. Soils.* **27**: 335-341.

Hamdali, H, B. Bouizgarne, M. Hafidi, A. Lebrihi, M. J. Virolle, Y. Ouhdouch. 2008. Screening for rock phosphate solubilising Actinomycetes from Moroccan phosphate mines. *App. Soi. Ecol.* **38**: 12-19.

Hayashi, H., Alia, L. Mustady, P. Deshnum, M. Ida et N. Murata. 1997. Transformation of *Arabidopsis thaliana* with the *codA* gene for choline oxidase, accumulation of glycine betaine and enhanced tolerance to salt and cold stress. *Plant. J.* **12**: 133-142.

Higgins, C. F., J. Cairey, D. A. Stirling, L. Sutherland et I. R. Booth. 1987a. Osmotic regulation of gene expression: ionic strength as an intracellular signal. *Trends. Biochem. Sci.* **12**: 339-344.

Hayakawa, M. et Nonomura. 1987a. Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *J. Ferment. Technol.* **65**: 501-509.

Hua, S. S., Y. TSAI, G. M. Lichens et A.T. Noma. 1982. Accumulation of amino acids in *Rhizobium* sp. Strain WR 1001 in response to sodium chloride salinity. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**: 135-140.

Hussain, N., G. A. R. Alghanim, M. Ahmed, O. A. El-Sharief et R. Waheed. 2010. Salinity management in Oman and in the region. *Proceeding of the international conference on soil and groundwater salinization in arid countries.* 37-49.

Imada, C., N. Koseki, M. Kamata, T. Kobayashi et N. Hamada-Sato. 2007. Isolation and characterization of antibacterial substances produced by marine actinomycetes in the presence of seawater. *Actinomy.* **21**: 27-31

Imhoff, J. F. 1986. Osmoregulation and compatible solutes in eubacteria. *FEMS. Microbiol. Rev.* **39**: 57-66.

Jebbar, M., G. Gouesbet, S. Himdi-Kebbab, C. Blanco et T. Bernard. 1995. Osmotic adaptation in *Brevibacterium linens*: differential effect of proline and glycine betaine on cytoplasmic osmolyte pool. *Arch. Microbiol.* **165**: 380-386.

Josephsen, K. C., C. P. Gerba et R. M. Maier. 2000. Cultural methods, p. 213-232. *In* R. Maier, I. L. Pepper and C. P. Gerba (ed.), *Environmental microbiology*. Academic Press, London.

Kempf, B et E. Bremer. 1998. Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments. *Arch. Microbiol.* **170**: 319-330.

Kets, E. P. W., E. A. Galinksi, M. De Wit, J. A. M. De Bont et H. J. Heipieper. 1996. Mannitol, a novel bacterial compatible solute in *Pseudomonas putida* S12.J. *Bacteriol.* **178**: 6665-6670.

Kiene, R. P. 1998. Uptake of choline and its conversion to glycine betaine by bacteria in estuarine waters. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 1045-1051.

Kieser, T., M. J. Bibb, M. J. Duttnner, K. F. Chater et D. A. Hopwood. 2000. General introduction to actinomycete biology in practical *Streptomyces* genetics. The John Innes Foundation, Crowes, Norwich, England. 1-21.

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

Köhl, K. I. 1997. The effect of NaCl on growth, dry matter allocation and uptake in salt marsh and inland populations of *Armeria maritime*. *New Phytol.* **15**: 213-225.

Kol, S., M. E. Merlo, R. A. Scheltema, M. Vries, R. J. Vonk, N. A. Kikkert, L. Dijkhuizen, R. Breitling and E. Takano. 2010. Metabolomic characterization of the salt stress response in *Streptomyces coelicolor*. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**: 2574-81.

Kulkarni, S., S. Surange et C. S. Nautiyal. 2000. Crossing the limits of *Rhizobium* existence in extreme conditions. *Current. Microbiol.* **41**: 402-409.

Kumar, R., S. Pandey et A. Pandey. 2006. Plant roots and carbon sequestration. *Curr Sci.* **91**: 885–890.

Kumar, V., S. S. Punia, K. Lakshminarayana et N. Narula. 1999. Effect of phosphate solubilising analogue resistant mutants of *Azotobacter chroococcum* on sorghum. *Ind. J. Agric. Sci.* **69**: 198-200

Kundu, S., S. Das, N. Mondal, P.S. Lyla, and S. A. Khan. 2008. Evaluation of halophilic Actinomycete *Actinopolyspora* sp. for osmolyte Production. *Res. J. Microbiol.* **3**: 47-50

Kurz, M. 2008. Compatible solute influence on nucleic acids: many questions but few answers. *Sali. Syst.* **4**: 6.

Laimins, L.A., D.B. Rhoads et W. Epstein. 1981. Osmotic control of *kdp* operon expression in *E. coli*. *Proc. Nalt. Acad. Sci. USA.* **78**: 464-468.

Landfald, B. et A. R. Strøm. 1986. Choline-glycine betaine pathway confers a high level of osmotic tolerance in *Escherichia coli* . *J. Bacteriol.* **165**: 894-855.

Lamosa, L. O. Martins, M. S. Da Costa et H. Santosi.1998. Effects of temperature, salinity, and medium composition on compatible solute accumulation by *Thermococcus* spp. *Appl Enviro Micro.* 3591–3598.

Larguet, A. 1998. Effet osmoprotecteur d'extraits d'halophytes sur *Rhizobium meliloti*. Thèse de Magistère. Université de Sétif.

Larsen, P. I., L. K. Sydnese, B. Landfald et A. R. Srtøm. 1987. Osmoregulation in *E. coli* by accumulation of organic osmolytes: betaines, glutamic acid and trehalose. *Arch. Microbiol.* **147**: 1-7.

Le Houérou, H. N. 1993. Salt-tolerant plants for the arid regions of the mediterranean isoclimatic zone, p. 403-442. *In* H. Lieth and A. Al Masoom (ed.), Towards the rational use of the high salinity tolerant plants, Vol. 1.1. Kluwer Publishers, Netherlands.

Lemenceau, P., T. Corberant, L. Gardan, X. Latour, G. Laguerre, J. M. Boeufgras et C. Alabouvette. 1995. Effect of two plant species, Flax (*Linum usitatissimum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum*), on the diversity of soilborne populations of fluorescent pseudomonas. *App. Environ. Microbiol.* **61**: 1004-1012.

Lemriss, S., F. Laurent, A. Couble, E. Casoli, J. M. Lancelin et D. Saintpierre-Bonacci. 2003. Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Can. J. Microbiol.* **49**: 669-674.

Le Rudulier, D. et L. Bouillard. 1983. Glycine betaine, an osmotic effector in *Klebsiella pneumoniae* and other members of Enterobacteriaceae. *App. Environ. Microbiol.* **46**: 152-159.

Le Rudulier, D., S.-S. Yang et L. N. Csonka. 1982. Nitrogen fixation in *Klebsiella pneumoniae* during osmotic stress: effect of exogenous proline or overproducing plasmid. *Biochem. Biophys. Acta.* **719**: 273-283.

Le Rudulier, D., A. R. Strøm, A. M. Dankbar, L. T. Smith et R. C. Valentine. 1984. Molecular biology of osmoregulation. *Science.* **224**: 1064-1068.

Le Rudulier, D. et R. C. Valentine. 1982. Genetic engineering in agriculture: osmoregulation. *Trends. Biochem. Sci.* **7**: 431-433.

Levigneron, A., F. Lopez, G. Vansuyt, P. Berthomieu, P. Fourcroy et F. Casse-Delbart. 1995. Les plantes face au stress salin. Cahiers agricultures. **04**: 263-273.

Madkour, M., L. T. Smith et G. M. Smith. 1990. P referential osmolyte accumulation: a mechanism of osmotic stress adaptation in diazotrophic bacreria. Appl. Environ. Microbiol. **56**: 2867-2881.

Mackay, M. A., R. S. Norton et L. J. Borowitzka. 1984. Organic osmoregulatory solutes in cyanobacteria. J. Gen. Microbiol. **130**: 2177-2191.

Mac Neil, S. D., M. L. Nuccio et A. D. Hanson. 1999. Betaines and related osmoprotectants: targets for metabolic enginnering of stress resistance. Plant. Physiol. **120**: 945-949

Mahadevan, B et D. L. Crawford. 1997. Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC108. Enzy. Microb. Technol. **20**: 489-493.

Maier, R. M., I. L. Pepper et C. P. Gerba. 2000. Environmental microbiology, p. 79-82. Microorganisms in surface soils. In. Acadimic press. A Harcourt sciencead technology company. Canada.

Makemson, J. E. et J. W. Hastings. 1979. Glutamate functions in osmoregulation in a marine bacterium. Appl0. Environ. Microbiol. **38**: 178-180.

Malin, G. et A. Lapidot. 1996. Introduction of synthesis of tetrahydropyrimidine derivatives in *Streptomyces* strains and their effect on *Escherichia coli* in response to osmotic and heat stress. J. Bacteriol. **178**: 385-395.

Marconi, P. L., M. P. Benavides et O. H. Caso. 2001. Growth and physiological characterization of regenerated potato plants affected by NaCl stress, p. 1-11. In Press in Newzealand of crop and Horticultural Sciences, Vol. 29. Newzeland.

Mascher, F., C. Hase, Y. Moënn-Loccoz et G. Défago. 2000. The viable but non culturable state induced by abiotic stress in the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHAO does not promote strain persistence in soil. Appl. Environ. Microbiol. **66**: 1622-1677.

Mba, C. C. 1997. Rock phosphate solubilizing Streptosporangium isolates from casts of tropical earthworms. Soil. Biol. Biochem. **29**: 381-385.

Meek, C. R. et D. M. Oosterhuis. 2000. Effects of glycine betaine and water regime on diverse cotton cultivars, P. 109-112. In Proceedings of the 2000 cotton research meetings. AAES Special Report 198.

Meury, J. et A. Kepes. 1982. Glutathione and gated potassium channels of E. coli. Embo. J. **1**: 339-343

Meury, J., A. Robin et P. Monnier-Champeix. 1985. Turgor-controlled K⁺ fluxes and their pathways in E. coli. Eur.J. Biochem. **151**: 613-619.

Mile, O., I. Mészáros, Sz. Veres et G. Lakatos. 2002. Ecophysiological study on the salt tolerance of a pannonian endemism (*Lepidium crassifolium* (W. et K.)) in inland saline area, p. 249-250. In Proceedings of the 7th Hungarian congress on plant physiology, S6-P04. Hungary.

Mincer, T. L., P. R. Jensen, C. A. Kauffman et W. Fenical. 2002. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. Appl. Environ. Microbiol. **68**: 5005-5011.

Mitsuiki, S., Sakai, M., Moriyama, Y., Goto, M. et Furukawa, K. 2002. Purification and some properties of keratinolytic enzyme from an alkalophilic *Nocardiopsis* sp. TOA-1. Biosci. Biotechnol. Biochem. **66**: 164-167.

Monneveux, D. 1997. La génétique face aux problèmes de la tolérance des plantes cultivées à la sécheresse: espoirs et difficultés. Cahiers Sécheresse. **8**: 29-37.

Munro, G. F., K. Hercules, J. Morgan et W. Sauerbier. 1972. Dependence of putrescine content of *E. coli* on the osmotic strength of the medium. *J. Biol. Chem.* **247**: 1272-1280.

Naguib, M. I., 1963. Colorimetric estimation of plant polysaccharides. *Zucker.* **16**: 15-18.

Nakayama, H. K. Yoshida, H. Ono, Y. Murooka et A. Shinmyo. 2000. Ectoine, the compatible solute of *Halomonas elongate* confers hyperosmotic tolerance in cultured tobacco cells. *Plant. Physiol.* **122**: 1239-1247.

Nyyssölä, A., T. Reinikainen et M. Leisola. 2001. Characterization of glycine betaine sarcosine N-methyltransferase and sarcosine dimethylglycine N-methyltransferase. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 25044-2050.

Osada, H. 1998. Bioprobes for investigating mammalian cell cycle control. *J. Antibiot.* **51**: 973-981.

Ochatt, S. J., P. L. Marconi, S. Radice, P. A. Arnozis et O. H. Caso. 1999. In vitro recurrent selection of potato: production and characterization of salt tolerant cell lines and plants. *Plant. Cell. Tiss. Org. Cult.* **55**: 01-08.

Petrosan, P., M. Garcia-Varela, M. Luz-Madrigal. C. Huitron et M. E. Flores. 2003. *Streptomyces mexicans* sp. Nov. *Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**: 269-273.

Pocard, J. A., T. Bernard et D. Le Rudulier. 1991. Translocation and metabolism of glycine betaine in nodulated alfalfa plants subjected to salt stress. *Physiol. Plant.* **81**: 95-102.

Pochon, J. et Tardieux, P. 1962. Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Saint Mandé: Edition de la tourtourelle.

Polonenko, D. R., C. I. Mayfield et E. B. Dumbroff. 1986. Microbial responses to salt-induced osmotic stress. Effect of salinity on growth and displacement of soil bacteria. *Plant. Soil.* **92**: 417-425.

Prado, F. E., C. Boero, M. Gallardo et J. A. González. 2000. Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* Willd. Seeds. *Bot. Bull. Acad. Sin.* **41**: 27-34.

Preininger, E. et I. Gyurjan. 2001. Trials to create artificial nitrogen-fixing symbioses and associations using *in vitro* methods: an outlook. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* **37**: 139–148.

Ravel, J., E. M. H. Willington et R. T. Hill. 2000. Interspecific transfer of *Streptomyces* giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 529-534.

Reed, R.H. et W. D. P. Stewart. 1985. Evidence for turgor-sensitive K⁺ influx in the cyanobacterium *Anabena variabilis* ATCC 29413 and *Synechocystis* PCC 6714. *Biochem. Biophys. Acta.* **812**: 155-162.

Rhodes, D. et A. D. Hanson. 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* **44**: 375-384.

Richey, B., D. S. Cayley, M. C. Mossing, C. Kolka, C. F. Anderson, T. C. Farrar et M. T. Record, Jr. 1987. Variability in the intracellular ionic environment of *E. coli*: difference between *in vitro* and *in vivo* effects of ion concentrations of protein-DNA interactions and gene expression. *J. Biol. Chem.* **262**: 7157-7164.

Ribaut, J.-M., M. Banziger et D. Hoisington. 2002. Genetic dissection and plant improvement under abiotic stress conditions: drought tolerance in maize as an exemple. JIRCAS Working Report: 85-92.

Roberts, M. F. 2005. Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms. *BioMed.* **1**: 5-30.

Rod, M. L., K. Y. Alam, P. R. Cunningham et D. P. Clark. 1988. Accumulation of trehalose by *E. coli* K-12 at high osmotic pressure depends on the presence of Amber suppressors. *J. Bacteriol.* **170**: 3601-3610.

Roger, P. et J. L. Garcia. 2001. Introduction à la microbiologie du sol. Acad. Press Inc. 15-32.

Roth, W.G., M.P. Leckie et D.N. Dietzler. 1985. Osmotic stress drastically inhibits active transport of carbohydrates by *E. coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **126**: 434-441.

Ruan, J. S. 1992. Foundation of Actinomycetes Classification. Publisher: Science Press. 18-109 (in Chinese).

Rudresh, D. I., Shanmugam, V. et Prasad, 2005. Tricalcium phosphate solubilising abilities of *Trichoderma* sp. in relation to P uptake and growth and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Can. J. Microbiol.* **51**: 217-222.

Saadoun, I. et F. Al moumani. 1997. *Streptomyces* from Jordan soils active against *Agrobacterium tumefaciens*. *Actino.* **8**: 29-36.

Saadoun, I. et Gharaibeh. 2003. The *Streptomyces* flora of Badia region of Jordan and its potential as a source of antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria. *J. Arid Environ.* **53**: 365-371.

Sabry, S. R. S., L. T. Smith et G. M. Smith. 1995. Osmoregulation in spring wheat under drought and salinity stress. *J. Genet. Breed.* **49**: 55-60.

Sakamoto, A. et N. Murata. 2002. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. *Plant. Cell. Environ.* **25**: 163-171.

Shahidi, B. G. H. Fooladi, M. H. Mahdavi, M. J et Shahghasi, A. 2004.

Broadspectrim, a novel nntibacterium from *Streptomyces* sp. Biotechnol. 3: 126-130.

Singh, L. S., I. Baruah et T. C. Bora. 2006. Actinomycetes of Loktak habitat: Isolation and screening for antimicrobial activities. Biotech. 5: 217-221.

Smalla, K., G. Wielandd, A. Buchner, A. Znock, J. Parzy, S. Kaiser, N. Rooskot, H. Heuer et G. Berg. 2001. Bulk and rhizosphere soil bacteria communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis; plant- dependant enrichment and seasonal shifts revealed. Appl. Environ. Microbiol. 67: 47442-4751.

Smith, L. T., J. A. Pocard, T. Bernard et D. Le Rudulier. 1988. Osmotic control of glycine betaine biosynthesis and degradation in *Rhizobium meliloti*. J. Bacteriol. 170: 3142-3149.

Storey, R.et R. G. Wyn Jones. 1977. Quaternary ammonium compounds in plants in relation tu salt resistance. Phytochem. 16: 447-453.

Strøm, A.R., D. Le Rudulier, M.W. Jakowec, R.C. Bunnell et R.C. Valentine. 1983. Osmoregulatory (Osm) genes and osmoprotective compounds.p.39-59 In T. Kosuge, C. Meredith and A. Hollaender (ed.), Genetic engineering of plants. Plenum publishing Crop., New York

Styrvold, O. B., P. Falkenberg, B. Landfald, H. W. Eshoo, T. Bjørnsen et A. R. Størn. 1986. Selection, mapping and characterization of osmoregulatory mutants of *E. coli* blocked in the choline-glycine betaine pathway. J. Bacteriol. 165: 856-863.

Sulpice, R., Y. Gibon, A. Bouchereau et F. Larher. 1998. Exogenously supplied glycine betaine in spinach and rapessed leaf discs: compatibility or non compatibility. Plant. Cell. Environ. 21: 1285-1292.

Tabor, C. W. et H. Tabor. 1985. Polyamines in microorganismes. Microbial. Rev. **49**: 81-99.

Talibart, R., M. Jebbar, C. Gouesbet, S. Himdi-Kebbab, H. Wroblewski. C. Blanco et T. Bernard. 1994. Osmoadaptation in rhizobacteria: ectoine-induced salt tolerance. J. Bacteriol. **176**: 5210-5217.

[Teixidó, N., T. P. Cañamás, J. Usall, R. Torres, N. Magan et I. Viñas. 2002.](#) Accumulation of the compatible solutes, glycine-betaine and ectoine, in osmotic stress adaptation and heat shock cross-protection in the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* CPA-2. PubMed. **5**: 250-7.

Tempest, D. W., J. L. Meers et C. M. Brown. 1970. Influence of environment on the content and composition of microbial free amino acids pools. J. Gen. Microbiol. **64**: 171-185.

Tokala, R. K., J. L. Strap, C. M. Jung, D.L. Crawford, M.H. Salove, L.A. Deobald, J.F. Bailey, M. J. Morra. 2002. Novel Plant-Microbe Rhizosphere Interaction Involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the Pea Plant (*Pisum sativum*). Appl. Environ. Microbiol. **68**: 2161-2171.

Tomita, K., M. Nishito, K. Sitoh, H. Yamamoto, Y. Hashino, H. Okhuma, M. Konishi, T. Miyaki et T. Oki. 1990. Pramycin A, B and C: new antifungal antibiotics. I. Taxonomy, production and physico-chemical properties. J. Antibiot. **43**: 755-762.

Tortorano, A. M., E. Cabrini et M. A. Viviani. 1979. Sensibility in vitro des levures à cinq antibiotiques. Comparaison de deux méthodes C.M.I. en gélose et méthode des disques. Bull. Soc. Fr. Myc. Med. **8**: 69-74.

Tsuijibo, H., Kubota, T., Yamamoto, M., Miyamoto, K. et Inamori, Y. 2003. Characteristics of chitinase genes from an alkalophilic actinomycete, *Nocardiopsis prasina* OPC-131. App. Environ. Microbiol. **69**: 894-900.

Tukey, H. B. J. 1970. The leaching of substances from plants. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* **21**: 305-324.

Waksman, S. A et H. A. Lechevlier. 1962. Discovery of antibiotics. *In: the actinomycetes*. Vol. III. The Williams and Wilkins Co., Baltimore. USA. P: 17.

Welsh, D. T. 2000. Ecological significance of compatible solute accumulation by micro-organisms: from single cells to global climate. *FEMS Microbiology Reviews.* **24**: 263–290.

Watanabe, S., K. Kojima, K. Y. Ide et S. Sasaki. 2000. Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* *in vitro*. Plant cell, tissue and organe culture. **63**: 199-206.

Whipps, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* **52**: 487-511.

Wild, A. 1993. Soils and environment. An introduction, pp. 281. In. Campridge price editions. Campridge University press, Campridge.

Williams, S. T., M. Goodfellow, G. Anderson, E. M. H. Wellington, P. H. A. Sneath, M. J. Sackin. 1983a. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *J. Gen. Microbiol.* **129**: 1743-1813.

Williams, S. T., M. Sharmeemullah, E. T. Watson et C. I. Mayfield. 1972. Studies on the ecology of actinomycetes in soil VI. The influence of moisture tension on growth and survival. *Soil. Biol. Biochem.* **4**: 215-225.

Williams, S.T. et T. Cross. 1971. "Actinomycetes" in «Methods in microbiology» Academic Press, London (Ed.). **4**: 295-3334.

Williams, S. T. et E. Wellington. 1982. Actinomycetes. *In* Methodes of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy monograph N°. 9 (Second Edition). Ed., A. L. Page, pp. 969-987, ASA-SSSA. Madison.

Wood. J. M. 1999. Osmosensing by bacteria: signals and membrane-based sensors. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **63**: 230-262.

Wu, C. H., T. K. Wood, A. Mulchandani et W. Chen. 2006. Engineering plant-microbe symbiosis for rhizoremediation of heavy metals. *Appl. Environ. Microbiol* **72**: 1129–1134.

Wyn Jones, R. G. 1980. An assessment of quaternary ammonium and related compounds as osmotic effectors in crop plants, p. 146-164. *In* D. W. Rains, R. C. Valentine and A. Hollaender (ed.), Genetic engineering of osmoregulation: Impact on plant productivity for food, chemicals and energy, Vol. 14. Basic. Life. Sci. Plenum Press.

Wyn Jones, R. G. et R. Storey. 1981. Betaines. P. 171-235. *In* L. G. Paleg et D. Aspinall (ed.). Physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Academic Press Inc, New York.

Yancey, P.H., M.E. Clark, S.C. Hand, R.D. Bowlus et GN. Somero. 1982. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science*. **217**: 1214-1227

Yokoi, S., R. A. Bressan et P. M. Hasegawa. 2002. Salt stress tolerance of plants. JIRCAS Working Report: 25-33.

Zahir, A. Z., M. Archad, M. Azam et A. Hussain. 1997 (a). Effect of an auxin precursor tryptophan and *Azotobacter* inoculation on yield and chemical composition of potato under fertilized conditions. *J. plant. Nutr.* **20**: 475-752

Zahir, A. Z., M. Archad et A. Hussain. 1996 (a). Response of wheat (*Triticum aestivum*) to *Azotobacter* inoculation under fertilized conditions. *Sarhad. J. Agri.* **12**: 133-140

Annexes

1/ La croissance (densité optique) de souches actinomycétales dans milieux SCA et SMM en présence de NaCl, GB et/ou d'extrait de *Atriplex halimus* après 7 jours d'incubation

NaCl +GB et/ou	La souche				
	A06	A33	A02	A09	A12

extrait de <i>Atreplex</i> <i>halimus</i>	SCA	SMM	SCA	SMM	SCA	SMM	SCA	SMM	SCA	SMM
0 M	0,015	0,038	0,012	0,009	0,181	0,018	0,036	0,011	0,127	0,014
0+GB	0,19	0,01	0,09	0,011	0,214	0,132	0,086	0,028	0,13	0,012
0+A.h	0,177	0,193	0,071	0,024	0,194	0,158	0,056	0,011	0,054	0,019
0,5 M	0,227	0,022	0,015	0,015	0,102	0,010	0,106	0,01	0,181	0,02
0,5+GB	0,22	0,007	0,105	0,008	0,23	0,215	0,187	0	0,206	0
0,5+A.h	0,24	0,01	0,025	0,014	0,217	0,01	0,02	0,004	0,038	0,003
1	0,01	0,006	0,003	0,006	0,019	0,016	0,002	0,006	0,032	0,01
1+GB	0,109	0,018	0,014	0,018	0,077	0,025	0,045	0,023	0,073	0,021
1+A.h	0,035	0,014	0,017	0,03	0,01	0,046	0,011	0,036	0,005	0,034

NaCl +GB et/ou extrait de <i>Atreplex</i> <i>halimus</i>	La souche									
	A30		A11		A10		A22		A23	
	SCA	SMM	SCA	SMM	SCA	SMM	SCA	SMM	SCA	SMM
0 M	0,102	0,013	0,041	0,022	0,05	0,024	0,043	0,029	0,106	0,01
0+GB	0,085	0,015	0,199	0,027	0,065	0,01	0,08	0,01	0,073	0,01

0+A.h	0,04	0,02	0,188	0,016	0,022	0,097	0,022	0,024	0,016	0,011
0,5 M	0,081	0,006	0,024	0,009	0,166	0,049	0,028	0,007	0,06	0,004
0,5+GB	0,165	0	0,126	0	0,104	0	0,116	0	0,119	0
0,5+A.h	0,08	0	0,034	0	0,213	0	0,02	0	0,033	0
1	0,005	0,029	0,007	0,032	0,005	0,024	0,035	0,028	0	0,027
1+GB	0,056	0,028	0,04	0,033	0,089	0,019	0,083	0,022	0,09	0,014
1+A.h	0,023	0,045	0,014	0,024	0,03	0,049	0,03	0,043	0,026	0,016

2/La composition de Starch Casein Agar (S.C.A)

Amidon	10 g
KNO ₃	2 g
K ₂ HPO ₄	2 g
NaCl	2 g
Caséine (Difco)	0,3 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05 g
CaCO ₃	0,02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g
Agar Agar	18 g
Eau distillée qsp	1000 ml

3/La composition de milieu minéral minimum: SMM (Hamdali *et al.*, 2008)

.NaNO ₃	2g
.KCl	0.5g
.MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2g
.FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01g
.K ₂ HPO ₄	0
.Eau distillée qsp	1000 ml

Résumé

Des souches actinomycétales (nb=34) isolées de sol de la sebkha de Bazer-sekra (Sétif) (E.C = 11.32 mS/cm) sur milieu riche (SCA) et minimum (SMM) additionnés de différentes concentrations de NaCl (0- 0,5- 1- 1,5 M), glycine bétaine (1mM) et/ou d'extrait aqueux de *Atriplex halimus* sont testées pour leur halotolérance.

L'effet de NaCl est hétérogène: si 0,5 M/NaCl favorise la croissance de plusieurs souches, par contre 1M et 1,5M/NaCl sont inhibitrices. Dans les mêmes conditions, la production de métabolites secondaires antibactériens par la méthode de cylindres d'agar vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* révèle que seules 22 souches sont actives. L'activité est généralement inhibée par NaCl. La GB et l'extrait de *Atriplex halimus* osmoprotègent les souches bactériennes à 0,5 et 1M. L'osmoprotection de l'extrait aqueux de *Atriplex halimus* dépasse celle de la GB. Son apport à des sols affectés par la salinité comme moyen naturel d'osmoprotection pourrait être envisagée.

Mots clés : Actinomycètes, sel, osmoprotection, glycine bétaine, *Atriplex halimus*.

Abstract

Actinomycetales strains isolated (34 strains) from sebkha soil of Bazer-Sekra (Setif) (E.C = 11.32 mS/cm) on rich (SCA) and minimum (SMM) medium supplemented with various

concentrations of NaCl (0- 0,5- 1- 1,5 M), GB (1 mM) and/or extract of *Atriplex halimus* were tested for their halotolerance.

The effect of NaCl is heterogeneous: if 0,5 M/NaCl increase the growth of several strains, 1M and 1,5M inhibit the majority. In the same conditions the production of antibacterial secondary metabolites by the method of cylinders of agar against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* is realized, 22 strains are active while activity is generally inhibited by NaCl. GB and *Atriplex halimus* extract give a good osmoprotectant for several strains at 0,5 and 1M/NaCl. The osmoprotectant of *Atriplex halimus* extract exceed that of GB. Their use in soils affected by salinity as natural means of osmoprotection can be envisaged.

ملخص

تم عزل العديد من سلالات البكتيريا الخيطية (34 سلالة) من تربة السبخة الواقعة في بازر سكرة

(Conductivité électrique =11.32mS/cm) في وسط غني (SCA) وآخر قاعدي (SMM) مضاف إليه العديد من تراكيز NaCl (0- 0,5 - 1- 1,5 M) GB, ومستخلص *Atiplex halimus* لاختبار قدرتها على تحمل الملوحة. تأثير الملح على السلالات مختلف: حيث يحسن من نموها عند 0.5 mM ويثبط معظمها عند 1 M و 1.5 M. تأثير هذا الأخير اختبر أيضا على نشاط السلالات في إنتاج مضادات حيوية ضد *Bacillus subtilis* بتقنية اقراص الاغار, 22 سلالة تعتبر ناشطة غير أن هذا الملح مثبط لنشاطها عموما. إضافة GB ومستخلص *Atiplex halimus* أعطى العديد من السلالات وقاية من الضغط الاسموزي بوجود 0.5 M و 1M من NaCl. فعالية مستخلص *Atiplex halimus* في رفع تأثير الملح التثبيطي فاقت فعالية GB و استخدامه كحل طبيعي لمشكلة الملوحة يمكن تطبيقه.

Résumé

Des souches actinomycétales (nb=34) isolées de sol de la sebkha de Bazer-sekra (Sétif) (E.C = 11.32 mS/cm) sur milieu riche (SCA) et minimum (SMM) additionnés de différentes concentrations de NaCl (0- 0,5- 1- 1,5 M), glycine bétaine (1mM) et/ou d'extrait aqueux de *Atriplex halimus* sont testées pour leur halotolérance.

L'effet de NaCl est hétérogène: si 0,5 M/NaCl favorise la croissance de plusieurs souches, par contre 1M et 1,5M/NaCl sont inhibitrices. Dans les mêmes conditions, la production de métabolites secondaires antibactériens par la méthode de cylindres d'agar vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* révèle que seules 22 souches sont actives.

L'activité est généralement inhibée par NaCl. La GB et l'extrait de *Atriplex halimus* osmoprotègent les souches bactériennes à 0,5 et 1M. L'osmoprotection de l'extrait aqueux de *Atriplex halimus* dépasse celle de la GB. Son apport à des sols affectés par la salinité comme moyen naturel d'osmoprotection pourrait être envisagée.

Abstract

Actinomycetales strains isolated (34 strains) from sebkha soil of Bazer-Sekra (Setif) (E.C = 11.32 mS/cm) on rich (SCA) and minimum (SMM) medium supplemented with various concentrations of NaCl (0- 0,5- 1- 1,5 M), GB (1 mM) and/or extract of *Atriplex halimus* were tested for their halotolerance.

The effect of NaCl is heterogeneous: if 0,5 M/NaCl increase the growth of several strains, 1M and 1,5M inhibit the majority. In the same conditions the production of antibacterial secondary metabolites by the method of cylinders of agar against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* is realized, 22 strains are active while activity is generally inhibited by NaCl. GB and *Atriplex halimus* extract give a good osmoprotectant for several strains at 0,5 and 1M/NaCl. The osmoprotectant of *Atriplex halimus* extract exceed that of GB. Their use in soils affected by salinity as natural means of osmoprotection can be envisaged.

ملخص

تم عزل العديد من سلالات البكتيريا الخيطية (34 سلالة) من تربة السبخة الواقعة في بازر سكرة (Conductivité électrique =11.32mS/cm) في وسط غني (SCA) وآخر قاعدي (SMM) مضاف إليه العديد من تراكيز (0- 0,5- 1- 1,5 M) NaCl ومستخلص *Atriplex halimus*. تأثير الملح على السلالات مختلف: حيث يحسن من نموها عند 0,5 mM ويثبط معظمها عند 1 M و 1,5 M. تأثير هذا الأخير اختبر أيضا على نشاط السلالات في إنتاج مضادات حيوية ضد *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* بتقنية اقراص الاغار. 22 سلالة تعتبر ناشطة غير أن هذا الملح مثبط لنشاطها عموما. إضافة GB ومستخلص *Atriplex halimus* أعطى العديد من السلالات وقاية من الضغط الاسموزي بوجود 0,5 M و 1M من NaCl. فعالية مستخلص *Atriplex halimus* في رفع تأثير الملح التثبيطي فاقت فعالية GB واستخدامه كحل طبيعي لمشكلة الملوحة يمكن تطبيقه.

Mots clé: Actinomycètes, sel, osmoprotection, glycine bétaine, *Atriplex halimus*.