

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Ghardaia**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre**

**Département de Biologie**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de MASTER**

**En : Science biologique**

**Spécialité : Biochimie appliquée**

**Présenté par : Baroud Roufaïda & Chenina Roumaïssa**

**Thème**

**Identification et classification de quelques espèces  
d'actinobactéries appartenant aux genres  
*Planomonospora* et *Planobispora***

Soutenu, le **XX/06/2021**, devant le jury composé de :

<b>Mme BOUTI K.</b>	MAA à ENS Kouba	Promotrice
<b>M<sup>lle</sup> DJEMOUAI N.</b>	MAA à Univ. Ghardaia	Co-promotrice
<b>M. BOURAS N.</b>	Pr. à Univ. Ghardaia	Président
<b>M. BELGHIT S.</b>	MCB à Univ. Ghardaia	Examineur

**Année universitaire: 2020-2021**

## **Remerciements**

*Nous remercions ALLAH le tout puissant d'avoir nous donner le courage, la volonté et la force de mener à terme le présent travail.*

*Nous adressons nos plus vifs remerciements à nos encadreurs, Mme **BOUTI K.** et Mlle **DJEMOUAI N.** Maitres assistants A à l'ENS de Kouba et à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la Terre de l'Université de Ghardaia, pour leurs encouragements, orientations, aides, patiences, et conseils scientifiques judicieux.*

*Nous adressons nos remerciements à M. **Bouras N.** qui nous as fait l'honneur d'accepte de préside ce jury, et à M. **Belghit** d'avoir accepté de juge ce mémoire de fin d'étude.*

*Un grand merci pour toute personne qui a participé de prés ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail.*

## **Dédicace**

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant. **Je dédie ce mémoire à:**

À mon très cher père **Djelloule BAROUD**

*Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, une personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension.... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours.*

À ma tendre Mère **Wahiba BAROUD**

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

À mon grand-père **Salem BAROUD**

*Pour votre soutien et vos encouragements inestimables et toutes les valeurs que vous m'avez inculquées. C'est ma profonde gratitude pour votre amour éternel, j'espère que ce mémoire est le meilleur cadeau que je puisse vous faire.*

À mon cher fiancé **Imad**

*Votre sacrifice et votre soutien moral et matériel m'ont permis de réussir mes études. Ce travail témoigne de ma gratitude et de mon amour sincère.*

À mon cher frère **Abdel Bari** et à mes sœurs **Belkisse, Botaina** et **Amina**, que Dieu vous donne la santé, le bonheur, le courage et, surtout, le succès.

À mes oncles et tantes, **Khaira, Samia, Zobaida, Aliaa, Asma, Amina, Fatima, Nawal, Awatef, Wafa, Chaima**. Dieu leur donne une vie longue et heureuse.

À mes chers amis; **Samiha, Khaira, Samah, Nesrine, Aicha, Hayat, Afafe, Noura**, et tous les cousins, **Salsabil, Houda, Meryam, Firdous, Yousra, Ikhlas, Hajar, Alaa**, pour notre amitié et tous les bons moments passés et à venir, merci pour votre amour et vos encouragements.

Sans oublier ma partenaire **Roumaissa CHENINA** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Pour tous les membres de ma classe.

À tous mes professeurs depuis mes premières années d'école.

À tous ceux qui me sont chers et que j'ai oublié de mentionner.

**Roufaida**



## ***Dédicace***

*Avant tout, je remercie 'Dieu' de m'avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*Aux plus chers au monde que je ne remercierais jamais assez pour leurs aides, encouragement, soutiens, sacrifices et leur patience.*

*À la source de tendresse à la grande partie de ma vie, et mon exemple dans cette vie, celle qui m'a tout appris dans ce monde, qui m'a construit et qui ma donner le courage d'étudier, ma chère mère **khadidja.MEGBAD**.*

*À mon très cher père **Faleh CHENINA**, et mon chère grande-mère **Masouda LAHRECHE** qui m'a toujours soutenu et encouragé et toute ma famille.*

*À mes frères : Abdellah et Abdessamed.*

*À ma cousine : Safa.*

*A toutes mes chères amies, mon binôme Roufaïda et mes amies Hayat, Khaira, Maroi et toutes mes adorables copines et mes collègues.*

*A tous ceux et toutes celles qui m'ont encouragé et m'ont souhaité du bien de près ou de loin un témoignage de ma profonde affection.*

**Roumaïssa**



## Résumé

Les actinobactéries possèdent une importance majeure dans la nature. Historiquement, elles ont reçu beaucoup d'attention en raison de leur capacité à produire divers métabolites secondaires de valeur biotechnologique intéressante. Ces bactéries sont présentes dans divers habitats écologiques tels que le sol, les milieux marins, les eaux douces et dans les milieux extrêmes. Dans notre étude bibliographique nous parlons sur les actinobactéries rares et parmi elles *Planomonospora* et *Planobispora*. Nous avons donné une définition pour elles et également mentionné les caractéristiques les plus importantes : morphologiques, physiologiques, chimiotaxonomiques, moléculaires, et découvrir leurs espèces et présenter une étude approfondi sur elles. Au cours de ce travail, nous avons essayé de donner un aperçu général sur la démarche d'isolement et identification moléculaires des souches rares des actinobactéries.

## Abstract

Actinobacteria are of major importance in nature. Historically, they have received a great deal of attention due to their ability to produce a variety of secondary metabolites of significant biotechnological value. These bacteria are present in various ecological habitats such as soil, marine environments, freshwater and in extreme environments. In our bibliographical study we talked about rare actinobacteria such as *Planomonospora* and *Planobispora*. We have given a definition for them and also mentioned the most important characteristics: morphological, physiological, chemotaxonomic, molecular, and presented in-depth study of their species. During this work, we tried to give a general overview on the process of molecular isolation and identification of rare strains of actinobacteria.

## ملخص

لقد اكتسبت البكتيريا الهيفية أهمية كبيرة عبر التاريخ نظرا لقدرتها على إنتاج مجموعة متنوعة من المركبات الأيضية الثانوية ذات القيمة التكنولوجية الحيوية الكبيرة. توجد هذه البكتيريا في العديد من البيئات مثل التربة والبيئات البحرية والمياه العذبة و في البيئات القاسية. في دراستنا البيليوغرافية ، تحدثنا عن البكتيريا الهيفية النادرة مثل *Planomonospora* و *Planobispora* حيث قدمنا تعريفاً لهما وذكرنا أيضاً أهم الخصائص : المورفولوجية ، الفسيولوجية ، التصنيف الكيميائي ، والجزئي بالإضافة إلى أنواعها وتقديم دراسة معمقة عنهم. من خلال هذا العمل، حاولنا تقديم لمحة عامة عن عملية العزل الجزئي والتعرف على السلالات النادرة من البكتيريا الهيفية.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Morphologie de quelques actinobactéries	4
<b>Figure 2.</b> Cycle de vie des actinobactéries sporulant	5
<b>Figure 3.</b> Exemples de fragmentation du mycélium de substrat de <i>A. Nocardia asteroides</i> , <i>B. Actinosynnema mirum</i> et <i>C. Streptoalloteichus tenebrarius</i>	6
<b>Figure 4.</b> Micrographies des spores du genre <i>Streptomyces</i> prises avec le microscope électronique à balayage.	7
<b>Figure 5.</b> Micrographie de type de flagellation. <i>A. Kineococcus radiotolerans</i> , <i>B. Catenuloplanes</i> et <i>C. Actinoplanes regularis</i>	7
<b>Figure 6.</b> Micrographies des chaînes de spores de <b>A.</b> <i>Streptomyces otagonensis</i> SANK 62589, <b>B.</b> <i>Streptomyces</i> sp. OM-6519, <b>C.</b> <i>Actinomadura rugatobispora</i> AS 6321, <b>D.</b> <i>Actinomadura</i> sp. ATCC 53676, <b>E.</b> <i>Streptomyces routienii</i> ATCC 39466, <b>F.</b> <i>Actinomadura verrucosospora</i> JCM 3147T, <b>G.</b> <i>Streptomyces</i> sp. WK-1875 et <b>H.</b> <i>Streptomyces finlayi</i> JCM 4637T	8
<b>Figure 7.</b> Forme des sporanges chez quelques actinobactéries. <b>A :</b> <i>Pilimelin</i> , <i>Actinoplanes</i> et <i>Streptosporangium</i> , <b>B :</b> <i>Planomonospora</i> et <i>Planobispora</i>	9
<b>Figure 8.</b> Morphologie des colonies sur les milieux : gélose nutritive, ISP2, ISP3 et ISP4 des souches de <i>Micromonospora</i> sp. 102N et <i>Streptomyces</i> sp.182	9
<b>Figure 9.</b> Disposition du mycélium étudiée par microscopie à contraste de phase de neuf souches à gauche, et morphologie des sporophores étudiées en microscopie électronique à balayage de neuf souches à droite	10
<b>Figure 10.</b> Arbre génétique basé sur des séquences de gène d'ARNr 16S des espèces de <i>Planobispora</i> et <i>Planomonospora</i> de proches parents. Les nombres de noeuds indiquent le niveau de prise en charge du bootstrap (%) basé sur une analyse de 1000 ensembles de données rééchantillonnés	16
<b>Figure 11.</b> Structure chimique de sphaericin (A) thiostrepton (B)	24
<b>Figure 12.</b> Quelques photos des espèces appartenant au genre <i>Planomonospora</i>	28
<b>Figure 13.</b> Quelques photos des espèces appartenant au genre <i>Planobispora</i>	42
<b>Figure 14.</b> Image montrant comment télécharger des fichiers FASTA des genres <i>Planomonospora</i> (A) et <i>Planobispora</i> (B) du site de LPSN	53
<b>Figure 15.</b> Capture d'écran de la page principale du programme MEGA et la première étape de l'analyse	54

<b>Figure 16.</b> Capture écran de la page MEGA puis la création d'un nouvel alignement	55
<b>Figure 17.</b> Capture écran montrant le choix de l'alignement des séquences d'ADN	55
<b>Figure 18.</b> Capture écran de la fenêtre de l'insertion des séquences a analysées	55
<b>Figure 19.</b> Exemple de séquences de <i>Planomonospora parontospora</i> ajoutées dans MEGA7	56
<b>Figure 20.</b> Séquences ajoutées de toutes les espèces étudiées dans MEGA7 avant alignement	56
<b>Figure 21.</b> Différentes étapes d'alignement à suivre au cours d'une analyse phylogénétique (A, B et C)	57
<b>Figure 22.</b> Analyse des séquences étudiées dans MEGA7 après alignement	58
<b>Figure 23.</b> Enregistrement du fichier pour une la construction des arbres phylogénétiques	58
<b>Figure 24.</b> Etapes de la construction de l'arbre phylogénétique en utilisant la méthode de maximum likelihood	59
<b>Figure 25.</b> Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences de l'ADNr 16S, montrant la relation entre les souches-types des espèces du genre <i>Planomonospora</i> et <i>Planobispora</i> en utilisant la méthode de Maximum Likelihood	60
<b>Figure 26.</b> Etapes de la construction de l'arbre phylogénétique en utilisant la méthode de Neighbor-joining	61
<b>Figure 27.</b> Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences de l'ADNr 16S, montrant la relation entre les souches-types des espèces du genre <i>Planomonospora</i> et <i>Planobispora</i> en utilisant la méthode de Neighbor-joining	62

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Différents antibiotiques produits par le genre <i>Planomonospora</i>	18
<b>Tableau 2.</b> Caractéristiques des espèces et sous-espèces de <i>Planomonospora</i>	29
<b>Tableau 3.</b> Caractéristiques différenciant les différentes espèces de <i>Planobispora</i>	43
<b>Tableau 4.</b> Agents sélectifs	47
<b>Tableau 5.</b> Informations sur l'isolement de quelques espèces de <i>Planomonospora</i> et <i>Planobispora</i>	51



## Liste des abréviations

G-C:	Guanine-Cytosine.
SCA:	Starch Casein Agar.
MEGA:	Molecular Evolutionary Genetics Analysis.
ISP:	International Streptomyces Project.
MEB:	Microscope Electronique à Balayage.
TEM:	Microscope Electronique à Transmission.
TSA:	Trypticase Soy Agar.
pH:	potentiel d'Hydrogène.
M:	Molaire.
NaCl:	Chlorure de sodium.
ADN:	Acide Désoxyribo Nucléique.
ARNr16S:	Acide Ribo Nucléique codant pour la sous unité ribosomique 16S.
PGP:	Plant Growth Promotion.
MK:	Ménaquinones.
PIV:	Phospho Inositides V.
Tm:	Melting Temperature.
µg/ml:	Microgramme sur millilitre.
NCBI:	National Center for Biotechnology Information.
BLAST:	Basic Local Aligement Search.
Da:	Dalton.
UDP:	Uridine Di-Phosphate.
Abu:	Acide aminobutyrique.
Dha:	Déhydroalanine.
Dhb:	Déshydrobutyrine.
Trp:	Tryptophane.
Gly:	Glycine.
Ser:	Serine.
PI:	Phospho-Inositides.
CM:	Carboxyméthyl.
bp:	Base Pair (paire de bases).
TSI:	Triple Sugar Iron.
A2pm:	Acide méso-diaminopimélique.
EF-Tu:	Facteur d'allongement Tu.
GE2270:	Antibiotique thiazolylpeptide.
PDA:	Gélose dextrose à la pomme de terre.
CHES:	5 mM-N-cyclohexyl-2-aminoéthanesulfonique.
HSG:	Traces d'acide humique gellane gommedium.

## Table de matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Généralités sur les actinobactéries</b>	<b>3</b>
1. Historique	3
2. Distribution et habitat des actinobactéries	3
3. Classification	4
4. Description générale des actinobactéries	4
5. Caractéristiques actuels d'identification des actinobactéries	5
5.1. Caractéristiques morphologiques	5
5.1.1. Mycélium aérien	5
5.1.2. Mycélium de substrat	6
5.1.3. Spores	6
5.1.4. Chaînes de spores	6
5.1.5. Sporangies	8
5.2. Caractéristiques culturelles	8
5.2.1. Observation morphologique	10
5.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	10
5.4. Caractéristiques physiologiques	11
5.4.1. Température optimale	11
5.4.2. pH optimale	11
5.4.3. Tolérance au sel (NaCl)	11
5.4.4. Source de carbone	11
5.5. Caractéristiques moléculaires	12
6. Rôles des actinobactéries	12
<b>Chapitre II : Généralités sur les <i>Planomonospora</i></b>	<b>13</b>
1. Définition	13
2. Historique	13
3. Description	14
4. Classification	14
5. Caractéristiques chimio-taxonomiques	15
6. Analyse phylogénétique	15

7. Différenciation du genre <i>Planomonospora</i> des autres genres	16
8. Différenciation des espèces du genre <i>Planomonospora</i>	17
9. Applications du genre <i>Planomonospora</i>	17
10. Espèces de <i>Planomonospora</i>	17
10.1. <i>Planomonospora parontospora</i>	19
10.1.1. Définition	19
10.1.2. Description	19
10.1.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	19
10.1.4. Applications de l'espèce <i>Planomonospora parontospora</i>	20
10.2. <i>Planomonospora venezuelensis</i>	21
10.2.1. Définition	21
10.2.2. Description	21
10.2.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	21
10.3. <i>Planomonospora alba</i>	22
10.3.1. Définition	22
10.3.2. Description	22
10.3.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	22
10.3.4. Applications de l'espèce <i>Planomonospora alba</i>	22
10.4. <i>Planomonospora sphaerica</i>	23
10.4.1. Définition	23
10.4.2. Description	23
10.4.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	23
10.4.4. Applications de l'espèce <i>Planomonospora sphaerica</i>	24
10.5. <i>Planomonospora corallina</i>	25
10.5.1. Définition	25
10.5.2. Description	25
10.5.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	25
10.6. <i>Planomonospora algeriensis</i>	26
10.6.1. Définition	26
10.6.2. Description	26
10.6.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	26
10.7. Récapitulatif sur les <i>Planomonospora</i>	27
<b>Chapitre III : Généralités sur les <i>Planobispora</i></b>	<b>32</b>
1. Définition	32

2. Historique	32
3. Description	33
4. Classification	33
5. Caractéristiques chimio-taxonomiques	34
6. Analyse phylogénétique	34
7. Différenciation du genre <i>Planobispora</i> des autres genres	35
8. Différenciation des espèces du genre <i>Planobispora</i>	35
9. Applications du genre <i>Planobispora</i>	35
10. Espèces de <i>Planobispora</i>	36
10.1. <i>Planobispora longispora</i>	37
10.1.1. Définition	37
10.1.2. Description	37
10.1.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	37
10.2. <i>Planobispora rosea</i>	38
10.2.1. Définition	38
10.2.2. Description	38
10.2.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	38
10.3. <i>Planobispora siamensis</i>	39
10.3.1. Définition	39
10.3.2. Description	39
10.3.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	39
10.3.4. Analyse phylogénétique	39
10.4. <i>Planobispora takensis</i>	40
10.4.1. Définition	40
10.4.2. Description	40
10.4.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques	40
10.4.4. Analyse phylogénétique	40
10.5. Récapitulatif sur les <i>Planobispora</i>	42
<b>Chapitre IV: Isolement et identification des actinobactéries</b>	<b>46</b>
1. Isolement des actinobactéries	46
1.1. Choix du substrat	46
1.2. Traitement des échantillons	46
1.3. Utilisation des milieux sélectifs	46
1.4. Incubation	46

1.5. Sélection des colonies	47
2. Isolement sélectif des <i>Planomonospora</i> et <i>Planobispora</i>	47
2.1. Isolement et enrichissement	47
2.2. Conservation	50
<b>Chapitre V : Partie pratique</b>	<b>52</b>
1. Protocole d'identification	52
1.1. Souches utilisées	52
1.2. Extraction de l'ADN	52
1.3. Amplification en chaîne par polymérase (PCR)	52
1.4. Détermination de la séquence nucléotidique	52
2. Objectif de l'étude	52
3. Analyse phylogénétique	53
3.1. Collecte des séquences de l'ARNr 16S de <i>Planomonospora</i> et <i>Planobispora</i>	53
3.2. Téléchargement et installation du logiciel MEGA7	54
3.4. Construction des arbres phylogénétiques	58
3.4.1. Construction de l'arbre par la méthode de vraisemblance (Maximum Likelihood)	58
3.4.2. Construction de l'arbre par la méthode de Neighbor-Joining	60
4. Discussion	62
<b>Conclusion</b>	<b>64</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>65</b>
<b>Annexes</b>	

Le phylum Actinobacteria est l'un des plus grandes unités taxonomiques parmi les principales lignées actuellement reconnues dans le domaine des bactéries. Les génomes actinobactériens séquencés à ce jour appartiennent à des organismes pertinents pour la médecine humaine et vétérinaire, la biotechnologie et l'écologie, et leur hétérogénéité génomique observée est supposée refléter leur biodiversité.

Les actinobactéries sont classés dans le domaine Bacteria et le phylum Actinobacteria selon le Bergey's manual, 2012. Le phylum Actinobacteria est subdivisé en 6 classes, 22 ordres, 53 familles et 222 genres et environ 3000 espèces (Ruan, 2013).

La majorité des actinobactéries sont des organismes vivants libres qui sont largement distribués dans les écosystèmes terrestres et aquatiques (y compris marins). Les actinobactéries sont des bactéries filamenteuses à Gram positif avec une teneur élevée en guanine et cytosine (GC) dans leurs génomes (Barka et al., 2015).

De nombreuses actinobactéries subissent une différenciation morphologique complexe. Ils ont également un métabolisme secondaire important et produisent environ les deux tiers de tous les antibiotiques d'origine naturelle utilisés actuellement en clinique, ainsi que de nombreux composés anticancéreux, anthelminthiques et antifongiques. Par conséquent, ces bactéries sont d'une importance majeure pour la biotechnologie, la médecine et l'agriculture (Barka et al., 2015).

Parmi les actinobactéries, on trouve les membres de l'ordre de *Streptosporangiales*, qui comprend plusieurs genres dont *Streptosporangium*, *Microbispora*, *Microtetraspora*, *Planotetraspora*, *Herbidospira*, *Nonomuraea*, *Acrocarpospora*, *Thermopolyspora* et *Sphaerisporangium*, ***Planomonospora*** et ***Planobispora***. Ces deux derniers sont considérés des genres rares d'actinobactéries (Otoguro et al., 2014).

Dans ce mémoire, nous nous concentrons sur l'identification polyphasique des membres des deux genres de *Planomonospora* et *Planobispora*. Ces taxons englobent les actinobactéries chimio-organotrophes aérobies, Gram-positifs, non acido-résistants, qui forment un mycélium de substrat irrégulier et ramifié (Otoguro et al., 2014).

Le présent travail est structuré en deux parties :

La synthèse bibliographique englobant des généralités sur les actinobactéries suivie d'une étude approfondie du genre *Planomonospora* et les différentes espèces retrouvés dans la bibliographie, puis une synthèse sur les espèces du genre *Planobispora* et un dernier chapitre sur l'isolement et l'identification des deux genres étudiés.

La deuxième partie représente la partie expérimentale sur l'identification moléculaire et l'analyse phylogénétique des espèces appartenant aux genres *Planomonospora* et *Planobispora*.

*Revue bibliographique*



Le phylum actinobacteria est un des plus grandes unités taxonomiques parmi les lignées majeures actuellement reconnues au sein du domaine des bactéries. La majorité des actinobactéries sont des micro-organismes vivants libres largement distribués dans les milieux terrestres et aquatiques, ils sont filamenteux à coloration Gram-positif à forte teneur en guanine-cytosine (G-C) dans leurs génomes. Ils se développent par une combinaison d'extension et ramification des hyphes, c'est ce qui leur a donné leur nom d'actinomycètes, qui est dérivé de deux mots grecs *aktis* signifiant «éclair» et *mykes* signifiant «champignon» et ont donc été initialement classés comme un groupe intermédiaire entre les champignons et les bactéries. Physiologiquement et écologiquement, la plupart des actinobactéries sont aérobies, ils peuvent être hétérotrophes ou chimio-autotrophes, mais la plupart sont chimio-hétérotrophes et capables d'utiliser une grande variété de sources nutritionnelles, y compris divers complexes polysaccharides (Barka et al., 2015).

## 1. Historique

Les actinobactéries ont une longue histoire évolutive, elles existaient sur terre il y a environ 2,7 milliards d'années, à cause de l'événement de grande oxydation qui s'est produit en 2,3 milliards d'années. Dans les domaines des bactéries, les actinobactéries anciennes sont des principaux phylums associés à la colonisation précoce des terres, qui ont été appelées initialement « *Actinomyces* », identifiées initialement par Waksman et Henrici et décrites pour la première fois par Ferdinand Cohn principalement sur des critères morphologiques (Law et al., 2020).

## 2. Distribution et habitat des actinobactéries

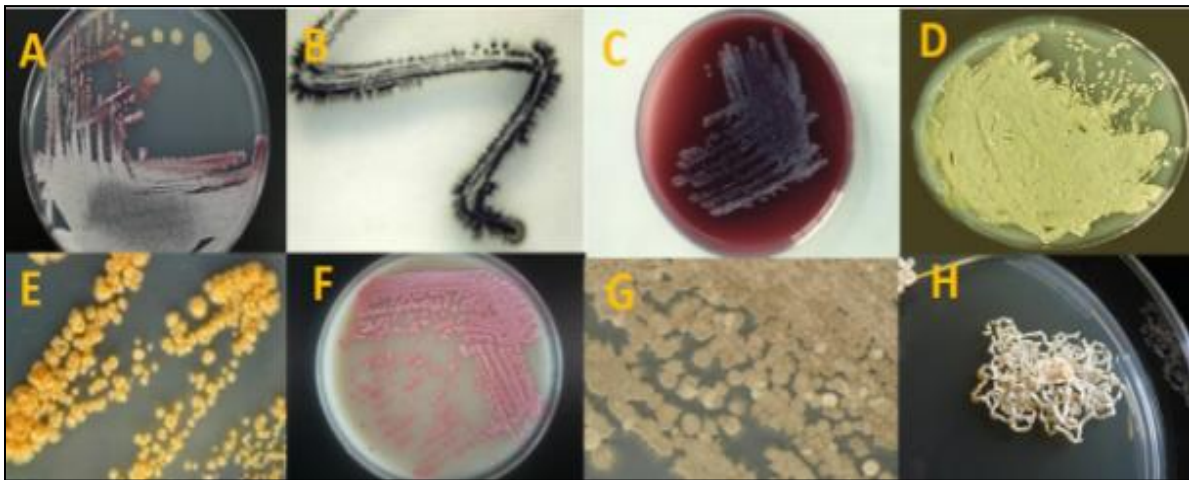
La plupart des actinobactéries sont des organismes saprophytes vivant dans le sol qui dépensent la majorité de leurs cycles de vie sous forme de spores semi-dormantes, en particulier dans des conditions limitées en éléments nutritifs, les actinobactéries sont également présentes particulièrement dans les sols alcalins et les sols riches en matières organiques, l'eau douce et salée et l'air. Ils constituent une importante partie de la population microbienne qu'ils peuvent être trouvés à la fois à la surface du sol et à des profondeurs de plus de 2 m en sous-sol (Law et al., 2020). La densité de population des actinobactéries dépend de leur l'habitat et les conditions climatiques qui prévalent tels que la température, le pH et l'humidité du sol. Ils sont généralement présents à des densités de l'ordre de  $10^6$  à  $10^9$  cellules par gramme de sol, ces populations du sol sont dominées par le genre *Streptomyces*, qui représente plus de 95% des souches actinobactériennes isolées du sol (Law et al., 2020).

### 3. Classification

Les actinobactéries représentent l'une des plus grandes unités taxonomiques parmi les 18 lignées majeures actuellement reconnues au sein des domaines des bactéries, ils comprennent 6 classes, 22 ordres, 54 familles, 250 genres and 3000 espèces. L'ordre actinomycetales, créé par Buchanan en 1917, appartient à ce groupe des organismes procaryotes (Law et al., 2020). Cette taxonomie est basée sur des arbres d'ARNr 16S. Ce phylum est ainsi divisé en six classes : Rubrobacteria, Thermoleophilia, Coriobacteriia, Acidimicrobiia, Nitriliruptoria et Actinobacteria (Ludwig et al., 2012 ; Law et al., 2020).

### 4. Description générale des actinobactéries

Les actinobactéries comprennent un groupe des bactéries unicellulaires, filamenteuses ramifiées, fragmentent en dipthéroïdes, en formes à chaîne courte et cocco-bacillaires, d'une structure rigide composant d'une grande variété des composés complexes comprenant le peptidoglycane, l'acide teichoïque et teichuronique et les polysaccharides, dont la plupart des actinobactéries sont constituées de mycélium de substrat et le mycélium aérien. Ils se reproduisent par fission binaire ou en produisant des spores ou conidies, la sporulation des actinobactéries se fait par fragmentation et segmentation ou formation de conidie (multiplication asexuée de spore). L'aspect morphologique de certaines espèces d'actinobactéries est montré dans la Figure 1 (Ranjani et al., 2016; Bhatti et al., 2017).

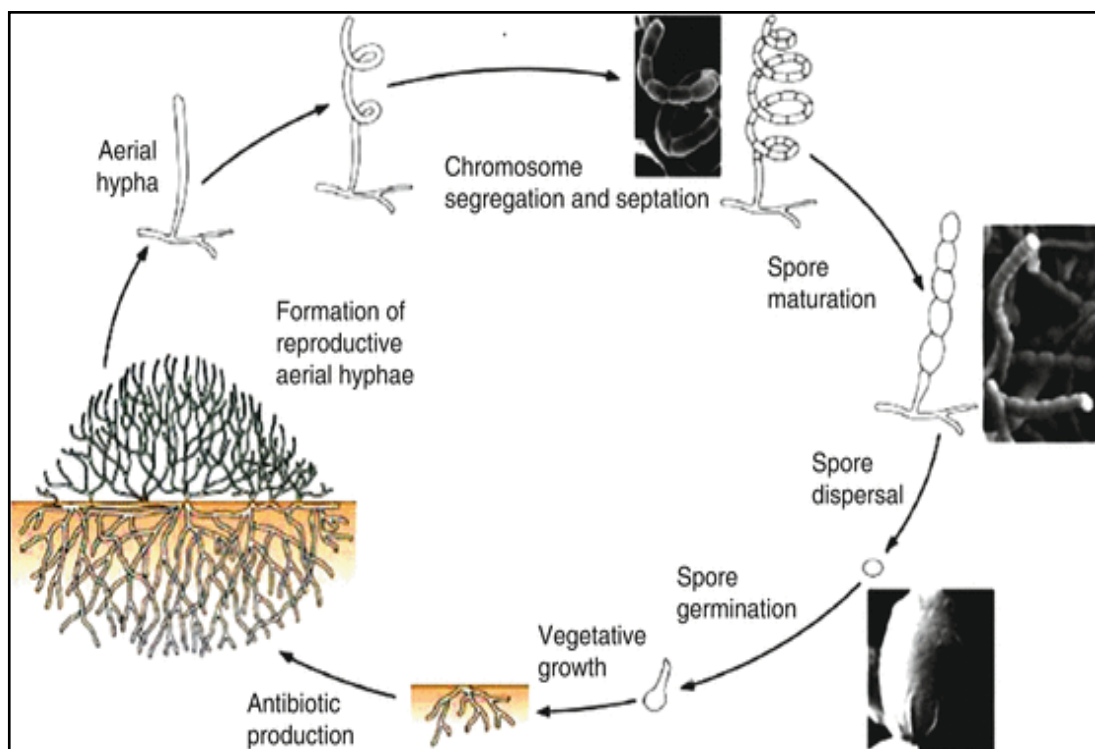


**Figure 1.** Morphologie de quelques actinobactéries. **A.** *Streptomyces violaceoruber* NBRC 12826<sup>T</sup>, **B.** *Micromonospora* sp., **C.** *Dactylosporangium vinaceum* SF2127<sup>T</sup>, **D.** *Actinomadura rugatobispora* SF2240, **E.** *Actinoplanes* sp., **F.** *Catenulispora graminis* KACC 15070<sup>T</sup>, **G.** *Kitasatospora arboriphila* NBRC 101834<sup>T</sup> et **H.** *Nocardia pseudobrasiliensis* IFM 0623 (Li et al., 2016).

## 5. Caractéristiques actuels d'identification des actinobactéries

### 5.1. Caractéristiques morphologiques

Les principales caractéristiques utilisées pour délimiter la taxonomie des actinobactéries au niveau du genre, sont la morphologie microscopique et la chimio-taxonomie. Cette dernière, concerne principalement la composition de la paroi cellulaire et la distribution des sucres dans les cellules entières. Les actinobactéries présentent une grande variété de morphologies, elles se distinguent par la présence ou l'absence d'un mycélium de substrat ou mycélium aérien, la couleur du mycélium, la production de pigments mélanoïdes diffusibles et la structure et l'aspect de leurs spores (Figure 2) (Ranjani et al., 2016 ; Mohammadipanah et Dehghani, 2017).



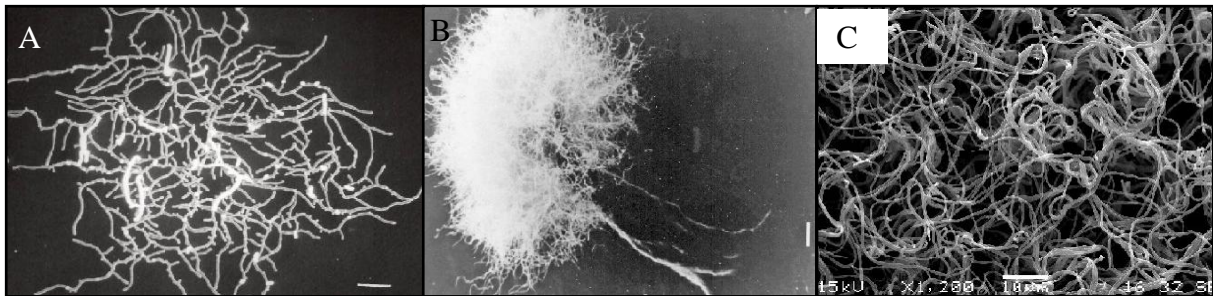
**Figure 2.** Cycle de vie des actinobactéries sporulantes (Mohammadipanah et Dehghani, 2017).

#### 5.1.1. Mycélium aérien

Lorsque le mycélium du substrat se développe à un certain stade, un réseau d'hyphes aériens est formé, qui pousse dans l'air et donne un aspect velu ou poudreux à la colonie en croissance. Les mycéliums aériens développent des spores produisant des hyphes reproducteurs. La formation d'hyphes aériens dépend des conditions nutritionnelles, des facteurs environnementaux, ou les caractéristiques de l'espèce. Les hyphes aériens et les mycéliums du substrat sont parfois difficiles à distinguer (Li et al., 2016 ; Hazarika et Thakur, 2020).

### 5.1.2. Mycélium de substrat

Connu sous le nom de mycélium végétatif ou mycélium primaire, se développe à partir de la croissance d'une spore, il est ramifié souvent monopodial ou dichotomique, d'une épaisseur d'environ 0,4 à 1,2  $\mu\text{m}$ . La fonction principale du mycélium de substrat est l'absorption des nutriments pour la croissance des actinobactéries. Au microscope, les mycéliums de substrat sont minces, transparents, de phase sombre et plus ramifiés que les hyphes aériennes qui sont de couleur : blanche, jaune, orange, rougeâtre, verte, bleuâtre, violette, brune, noir et d'autres couleurs (Figure 3). Certaines hyphes peuvent produire des pigments hydrosolubles ou liposolubles (Li et al., 2016 ; Hazarika et Thakur, 2020).



**Figure 3.** Exemples de fragmentation du mycélium de substrat de **A.** *Nocardia asteroides*, **B.** *Actinosynnema mirum* et **C.** *Streptoalloteichus tenebrarius* (Li et al., 2016).

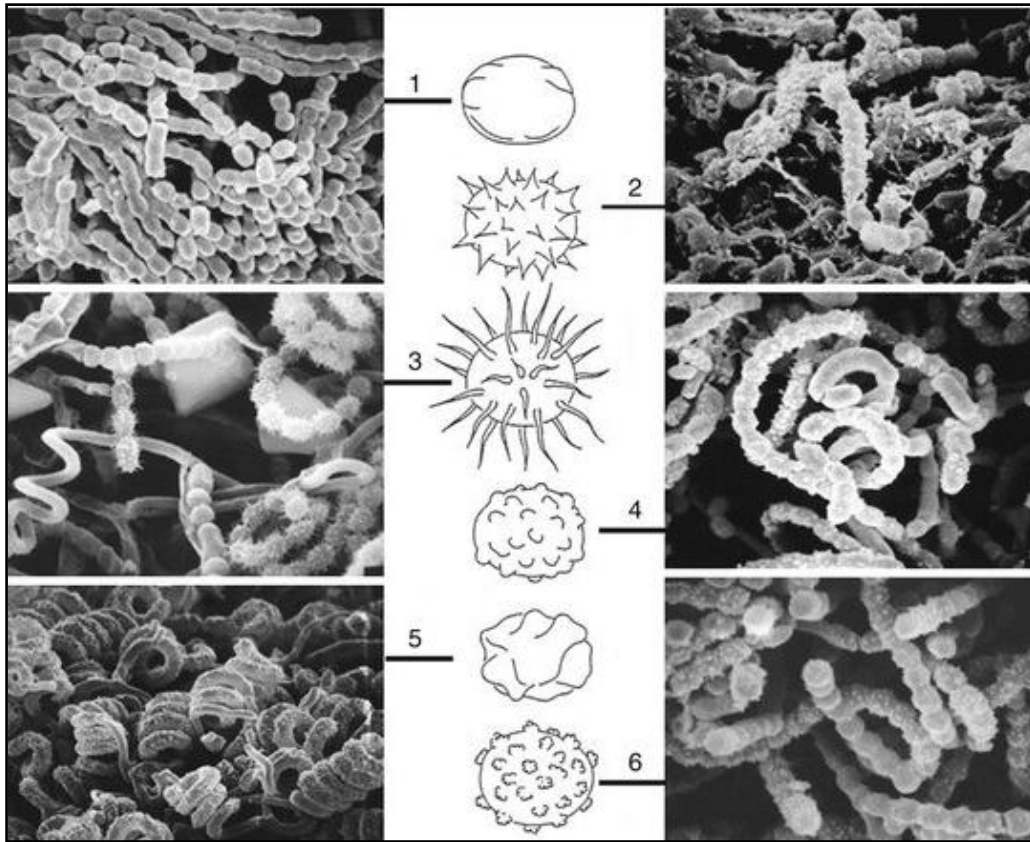
### 5.1.3. Spores

La diversité morphologique des actinobactéries est illustrée principalement par leur mycélium reproducteur, qui conduit à la formation de diverses structures de spores. Ces spores peuvent être d'environ 1 à 2  $\mu\text{m}$  d'épaisseur et diffèrent par sa forme et ornementation de leurs surfaces. Ces spores matures présentent une variation de couleurs telles que le gris, le blanc, le rose, le jaune, la lavande, le bleu ou le vert, etc. La morphologie courante des spores est sphérique à ovale (0,7-1,5  $\mu\text{m}$ ), globuleuse, en forme de bâtonnet, coliforme, allantoïde et réniforme. Ces spores peuvent également être mobiles ou non (Figures 4 et 5) (Hazarika et Thakur, 2020).

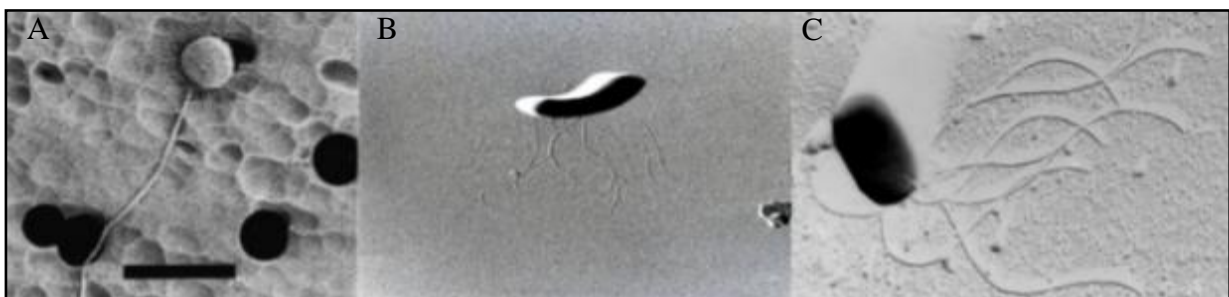
### 5.1.4. Chaînes de spores

Les chaînes de spores peuvent être divisées morphologiquement en respectant leur longueur et le nombre de spores: di- ou bi-sporés à deux spores, oligo-sporés avec quelques spores et poly-sporés avec de nombreuses spores. La longueur, la forme, la position et la couleur de la chaîne de spores d'actinobactéries constituent la base importante de la classification. La formation de spores est initiée par un bourgeonnement latéral le long d'un hyphes aérien, produisant de courtes branches latérales. La majorité des représentants ont 7 à

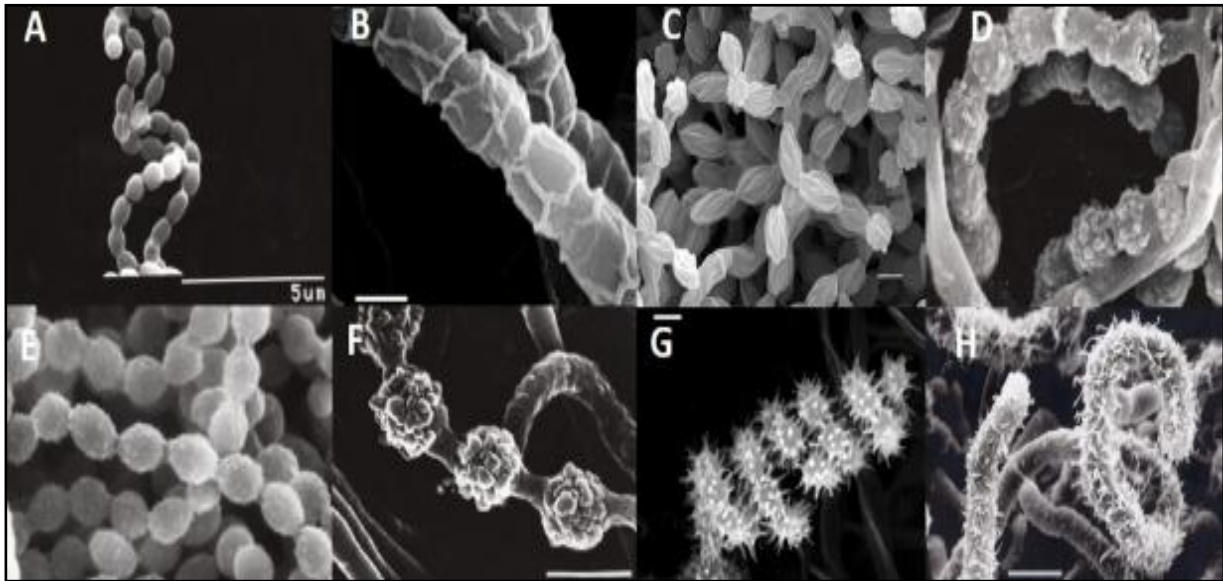
20 spores par chaîne (Figure 6), au moins il y a 3 spores. Les chaînes peuvent être droites, crochues avec des boucles ouvertes ou disposées en spirales irrégulières ayant un à quatre tours (Li et al., 2016).



**Figure 4.** Micrographies des spores du genre *Streptomyces* prises avec le microscope électronique à balayage. 1. lisse, 2. épineuse, 3. poilue, 4. verruqueuse, 5. rugueuse, 6. épineuse (Wink et al., 2017).



**Figure 5.** Micrographie de type de flagellation. A. *Kineococcus radiotolerans*, B. *Catenuloplanes* et C. *Actinoplanes regularis* (Li et al., 2016).



**Figure 6.** Micrographies des chaînes de spores de **A.** *Streptomyces otagonensis* SANK 62589, **B.** *Streptomyces* sp. OM-6519, **C.** *Actinomadura rugatobispora* AS 6321, **D.** *Actinomadura* sp. ATCC 53676, **E.** *Streptomyces routienii* ATCC 39466, **F.** *Actinomadura verrucosospora* JCM 3147T, **G.** *Streptomyces* sp. WK-1875 et **H.** *Streptomyces finlayi* JCM 4637T (Li et al., 2016).

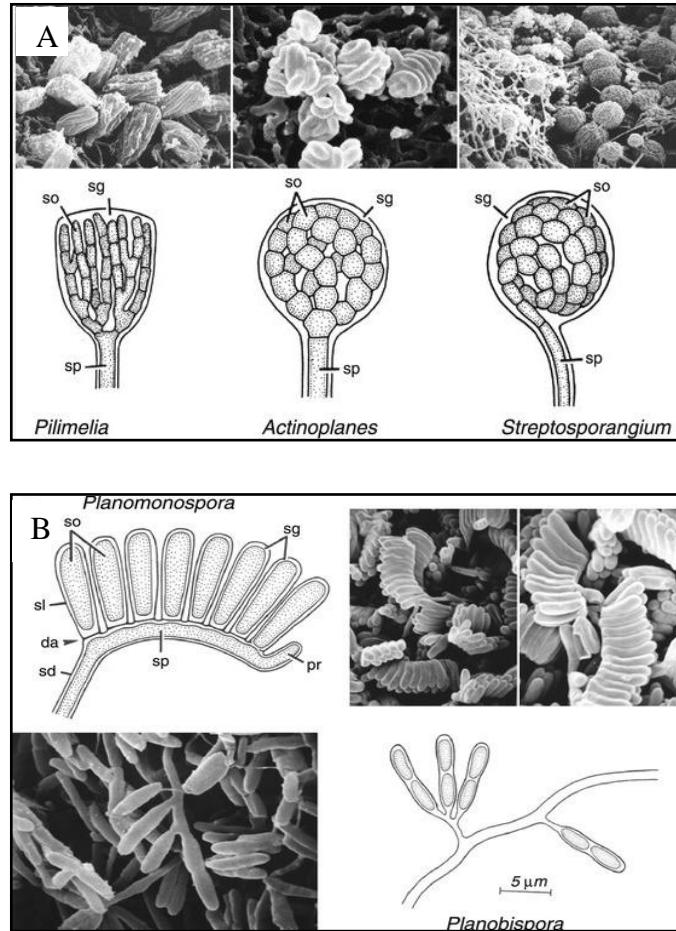
### 5.1.5. Sporangies

Le sporangie est une structure en forme de sac avec un diamètre compris entre 2 et 50  $\mu\text{m}$ , la taille la plus courante étant de 10  $\mu\text{m}$ . Ils peuvent être cylindriques, clavés, tubulaires, en forme de bouteille, campanulés, numériques, irréguliers, lobulés, ombelliformes, pyriformes ou globuleux (Figure 7). Les sporangies proviennent des hyphes du substrat ou des hyphes aériens. La formation des sporangies est largement divisée en deux formes. Dans certains genres, les sporangies sont formés par des filaments enroulés de spores et dans d'autres genres, sont formés par des sporangiophores. Ils ont une enveloppe sporangiale, qui n'a pas de paroi appelée pseudosporangiale. La structure interne classique de ce dernier type de sporangie montre des rangées de spores enroulées ou parallèles, maintenues ensemble par l'enveloppe sporangiale (Li et al., 2016).

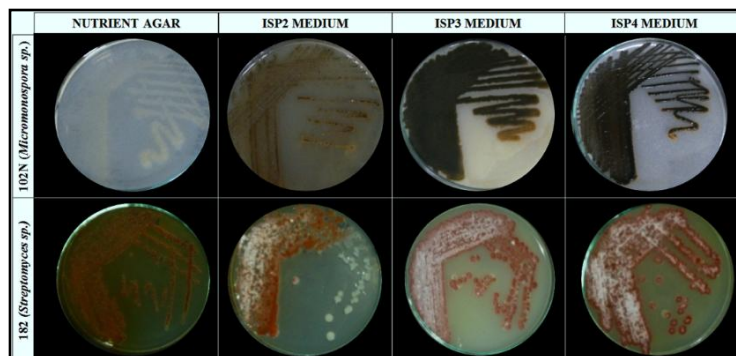
### 5.2. Caractéristiques culturelles

Les caractéristiques culturelles des actinobactéries font référence aux caractéristiques de croissance et à la morphologie sur divers types de milieux de culture. Elles sont généralement déterminées après une incubation de 14 jours à 28  $^{\circ}\text{C}$ . De nombreuses actinobactéries poussent sur les milieux de culture courants utilisés en laboratoire tels que la gélose nutritive,

la gélose trypticase, la gélose au sang, la gélose à la caséine et l'amidon et sur les milieux International Streptomyces Project ; ISP2, ISP3, ISP4...etc.). La production de pigments mélanoides est de couleur : brune verdâtre, noir brunâtre ou brune distinct, ou autres sur le milieu de culture testé (Figure 8) (Li et al., 2016).



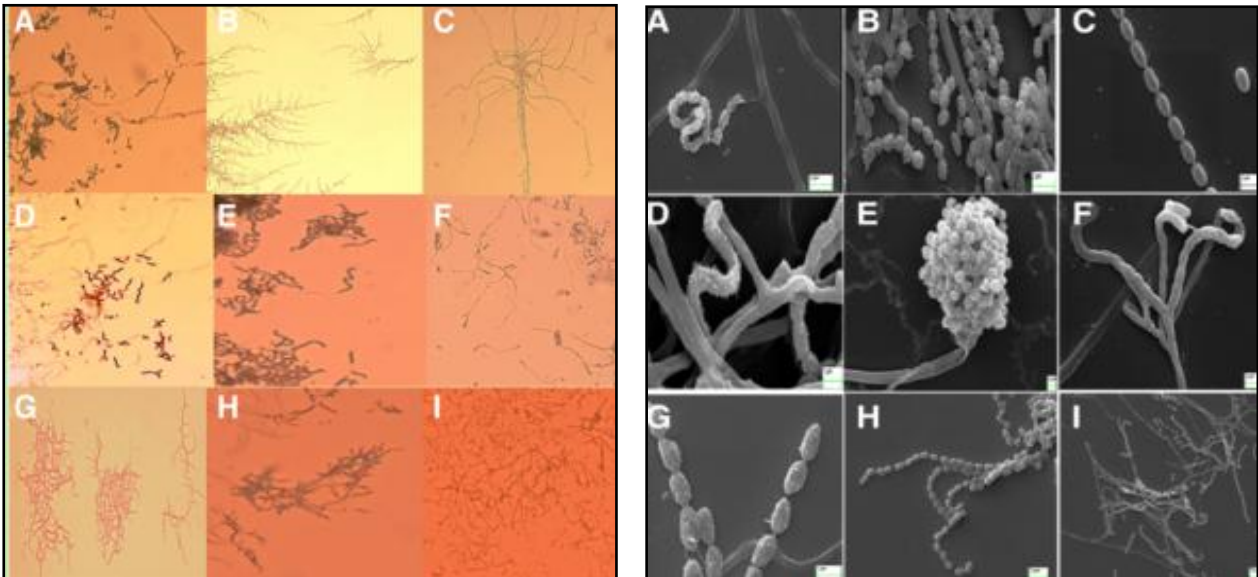
**Figure 7.** Forme des sporanges chez quelques actinobactéries. **A :** *Pilimelin*, *Actinoplanes* et *Streptosporangium*, **B :** *Planomonospora* et *Planobispora* (Wink et al., 2017). So: spores, sg: sporangium mature, sp: sporangiophore, sd: gaine hyphale, sp: sporangiophore, pr: primordium apical, sg: sporangium, sp: spore, sl: enveloppe sporangiale, da: diaphragme.



**Figure 8.** Morphologie des colonies sur les milieux : gélose nutritive, ISP2, ISP3 et ISP4 des souches de *Micromonospora* sp. 102N et *Streptomyces* sp.182 (Betancur et al., 2017).

### 5.2.1. Observation morphologique

La morphologie de base des hyphes et des spores est observée par microscopie optique (Figure 9 à gauche) et les structures microscopiques des hyphes et la surface des spores sont observées au microscope électronique à balayage (MEB), alors que la structure ultramicroscopique des spores, flagelles et de la cellule sont observés au microscope électronique à transmission (TEM) (Figure 9 à droite) (Li et al., 2016).



**Figure 9.** Disposition du mycélium étudiée par microscopie à contraste de phase de neuf souches à gauche, et morphologie des sporophores étudiées en microscopie électronique à balayage de neuf souches à droite (Sengupta et al., 2015).

### 5.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

L'identification chimio-taxonomique peut être effectuée sur la base de critères chimiques ; chimiotaxonomie :

La composition de la paroi cellulaire des actinobactéries qui comprend du peptidoglycane, l'acide teichoïque, teichuronique et les polysaccharides. L'étude de Cummins et Harris en 1956 a montré que les actinobactéries ont une composition cyto-membranaire comparable à celle d'une bactérie Gram-positif.

La composition en acides gras cellulaires est très utile pour l'identification de quelques genres des actinobactéries.

Plusieurs types de quinones isoprénoides ont été caractérisés dans ces bactéries. De plus, les ménaquinones cycliques sont caractéristiques de certains membres des actinobactéries et les



différents types de phospholipides sont distribués de manière discontinue dans leurs membranes cytoplasmiques.

Aussi pour l'analyse de la composition des sucres est également importante en chimio-taxonomie des actinobactéries dont ils peuvent contenir l'arabinose, galactose, madurose (3-O-méthyl-D-galactose), xylose et galactose et rhamnose en plus la présence de 3-Ométhyl-rhamnose (Barka et al., 2015).

## **5.4. Caractéristiques physiologiques**

### **5.4.1. Température optimale**

Les isolats des actinobactéries doivent être incubés dans un intervalle de température de 4 à 70 °C. En général, les milieux : gélose trypticase soja (TSA), l'ISP2 ou milieu gélose nutritive sont utilisés comme milieu de base pour ces expériences (Xu et al., 2005).

### **5.4.2. pH optimale**

La croissance des actinobactéries est généralement testée à différents pH de 4 à 13 en utilisant le système tampon suivant: PH 4-5: acide citrique 0,1 M ( $C_6H_8O_7$ )/citrate de sodium 0,1 M ( $Na_3C_6H_5O_7$ ); PH 6-8: dihydrogénophosphate de potassium 0,1 M ( $KH_2PO_4$ )/hydroxyde de sodium 0,1 M (NaOH); PH 9-10: hydrogénocarbonate de sodium 0,1 M ( $NaHCO_3$ )/carbonate de sodium 0,1 M ( $Na_2CO_3$ ); pH 11: phosphate disodique 0,05 M ( $Na_2HPO_4$ )/hydroxyde de sodium 0,1 M (NaOH); pH 12-13: chlorure de potassium 0,2 M (KCl)/hydroxyde de sodium 0,2 M (NaOH) (Good et al., 1966; Xu et al., 2005).

### **5.4.3. Tolérance au sel (NaCl)**

La tolérance au chlorure de sodium (1%, 3%, 7%, 10% et 13%) peut être testée en utilisant le milieu TSA pour la croissance des actinobactéries (Xu et al., 2005).

### **5.4.4. Source de carbone**

La croissance des actinobactéries dépourvues de source de carbone, est utilisée. Diverses sources de carbone telles que glucose, saccharose, galactose, fructose, lactose, acétate, rhamnose, citrate, D-tréhalose, malonate, L-tartrate, mannose, maltose, amidon, gluconate, succinate, fumarate, glycérol, D-arabitol, mannitol, la cellulose, le xylose, le rhamnose, etc. les actinobactéries sont examinés pour leur capacité à servir de sources de carbone et d'énergie pour la croissance. Chaque source de carbone a été ajoutée de manière aseptique à un milieu d'agar basal stérile, jusqu'à une concentration finale de 0,1% (Prosser et Palleroni, 1978; Sharma et al., 2016).

### **5.5. Caractéristiques moléculaires**

Plus récemment, la classification morphologique et chimique des actinobactéries ont été contesté par la taxonomie moléculaire, dont une grande partie a été obtenue grâce aux progrès rapides du séquençage du génome. Notamment, certains organismes placés de manière inappropriée dans certains groupes taxonomiques ont récemment été reclassés sur la base d'analyses moléculaires (Barka et al., 2015).

À l'heure actuelle, une nouvelle espèce ne peut être revendiquée sans analyse génétique, celle-ci est basée sur le séquençage du gène de l'ARNr 16S et de l'hybridation ADN-ADN et même le séquençage du génome devient une routine (Barka et al., 2015).

### **6. Rôles des actinobactéries**

Entre 1914 et 1939, Salman A. Waksman a vérifié régulièrement les bactéries et les champignons dans le sol pour trouver un antibiotique contre la tuberculose. En 1939, il découvre l'effet de certains actinobactéries, sur la croissance des bactéries. En 1940, Waksman et al. (1948) ont découvert l'antibiotique, l'actinomycine.

Les actinobactéries constituent une source prometteuse de métabolites secondaires bioactifs avec une grande importance en pharmacologie et à des fins commerciales. Ils jouent un rôle important dans la production de différentes enzymes et inhibiteurs d'enzymes tel que la plasmine et la trypsine et d'antibiotiques tels que l'auréomycine, la streptomycine, etc. Ils jouent également un rôle important dans la dégradation ou la décomposition de substances organiques telles que les polysaccharides, la cellulose, l'amidon, la chitine, les acides organiques, les protéines, les graisses, etc. Ils contribuent à leurs plantes hôtes en aidant à la promotion de la croissance des plantes (Plant Growth Promotion ; PGP) et en agissant également comme agents de lutte biologique contre les maladies des plantes en montrant un effet antagoniste et compétitif sur les microbes phytopathogènes (Hazarika et Thakur, 2020).

## 11. Définition

Le nom *Planomonospora* est dérivé du grec ancien: *Planos* signifiant vagabond (mobile), *monos* signifiant solitaire (unique) et *spora* signifiant une spore. Ce nom décrit donc un organisme unique mobile avec une seule endospore. Le genre *Planomonospora* représente des micro-organismes extrêmement rares, pas facilement reconnaissables à moins qu'ils ne soient examinés au microscope. Les espèces de *Planomonospora* sont des organismes mésophiles rares qui se caractérisent par des petits filamenteux, non fragmentés, hyphes contenant une seule sporangiospore mobile, ils sont formés en faisceaux sur le mycélium aérien, irrégulièrement ramifiés, ou cloisonnés avec le mycélium de substrat (Thiemann et al., 1967 ; Mertz, 1994).

## 12. Historique

La recherche des genres d'actinobactéries rares dans les sols, est basée sur des échantillons provenant de sites très diversifiés, cette approche est utile pour découvrir des nouvelles espèces d'actinobactéries qui produisent une large gamme de molécules bioactives à partir de sols.

Le genre *Planomonospora* appartenant à la famille des *Streptosporangiaceae* a été proposé pour la première fois par Thiemann et al. en 1967 selon la morphologie et les caractéristiques chimio-taxonomiques (Thiemann et al., 1967).

Thiemann (1970, 1974) a isolé 42 souches de plusieurs échantillons de sol (pH 5,3-7,8) d'Argentine, Chili, Inde, Italie, Pérou et Venezuela. En plus, 35 souches ont été isolées par Schäfer à partir d'échantillons de sol prélevés de Ceylan, Égypte, France, Grèce, Italie, Mexique, Namibie, Turquie et aux États-Unis (Arizona, Floride et Texas) (cité par Vobis, 1989). Les souches types de *P. sphaerica* et *P. alba* ont été isolées à partir de sols collectés respectivement en Inde et au Soudan. Des souches du groupe *P. parontospora* étaient présentes dans 10,9% des échantillons de 14 pays. Les souches du groupe *P. venezuelensis* ont été moins fréquemment trouvées et n'ont été détectées que dans 13 échantillons (1,1%). Ces derniers ont été collectés dans les zones tropicales ou tempérées de la Bolivie, de Chypre, de l'Égypte, de la Grèce, de l'Inde, du Japon, de la Nouvelle-Calédonie et de la Turquie. Presque toutes les souches de *Planomonospora* (94%) ont été isolées d'échantillons de sol neutres à légèrement alcalins (pH 7,0-9,0) (Suzuki et al., 2001a ; Vobis et al., 2015).

Ce genre comprenait six espèces : *P. parontospora* (dont deux sous-espèces): *P. parontospora* subsp. *parontospora* trouvé par Thiemann et al. en 1967 et *P. parontospora* subsp. *antibiotica*

publié par Thiemann et al. (1968), *P. venezuelensis* trouvé par Thiemann (1970), *P. alba* et *P. sphaerica* identifiés par Mertz (1994), puis après plusieurs années, les deux espèces : *P. corallina* a été décrite par Suriyachadkun et al. (2016) et *P. algeriensis* a été décrite par Chaabane Chaouch et al. (2016).

### 13. Description

Les *Planomonospora* sont des micro-organismes Gram-positifs et non acido-résistants, d'une spore unique. Les mycéliums de substrat et aérien sont développés sur divers milieux gélosés. Les hyphes du mycélium de substrat (0,6 à 1,0 µm de diamètre) sont non fragmentées, irrégulièrement ramifiées et parfois cloisonnées. Les hyphes du mycélium aérien sont peu ramifiées et rarement cloisonnées (Thiemann et al., 1967; Vobis et al., 2015).

Les sporanges sont cylindriques à clavés (1,0-1,5 µm\*3,5-5,5 µm) et sont formés en faisceaux sur le mycélium aérien, disposés soit en rangées parallèles étroites ressemblant à des rangées de bananes, soit en un motif de feuille de palmier ouvert. Chaque sporange contient une seule spore, ces spores (zoospores) sont oblongues à fusiformes et mobiles au moyen de flagelles péritriches (Thiemann et al., 1967; Vobis et al., 2015).

Les espèces de *Planomonospora* cultivées sur les milieux gélosés sont plates ou élevées avec des surfaces lisses ou rugueuses, mais sont parfois ridées ou légèrement crustacées. Les colonies sont développées sur des milieux complexes gélosés dans des conditions d'aérobiose, ils poussent bien à 28-37 °C et à pH 7,0 - 8,0. Le mycélium de substrat peut être jaune grisâtre, orange clair, rose, rose jaunâtre ou brun violet. Le mycélium aérien est blanc, blanc grisâtre, rose clair ou rose (Thiemann et al., 1967; Vobis et al., 2015).

La production de pigments solubles est limitée dans *P. venezuelensis* aux traces d'un pigment brun-violet sur le milieu ISP3 et pigment ambré à brun sur les géloses Hickey-Tresner et glucose-asparagine. Un pigment jaune très pâle est formé par *P. parontospora* sur le milieu ISP3. *P. parontospora* subsp. *antibiotica* produit un pigment diffusible brun clair sur la gélose tyrosine (Thiemann et al., 1967 ; Mertz, 1994).

### 14. Classification

La classification et la taxonomie des *Planomonospora* est basée sur des critères phénotypiques, dans lesquels les caractéristiques morphologiques, chimiques et physiologiques ont été étudiées ainsi que sur la base du séquençage du gène d'ARNr 16S.

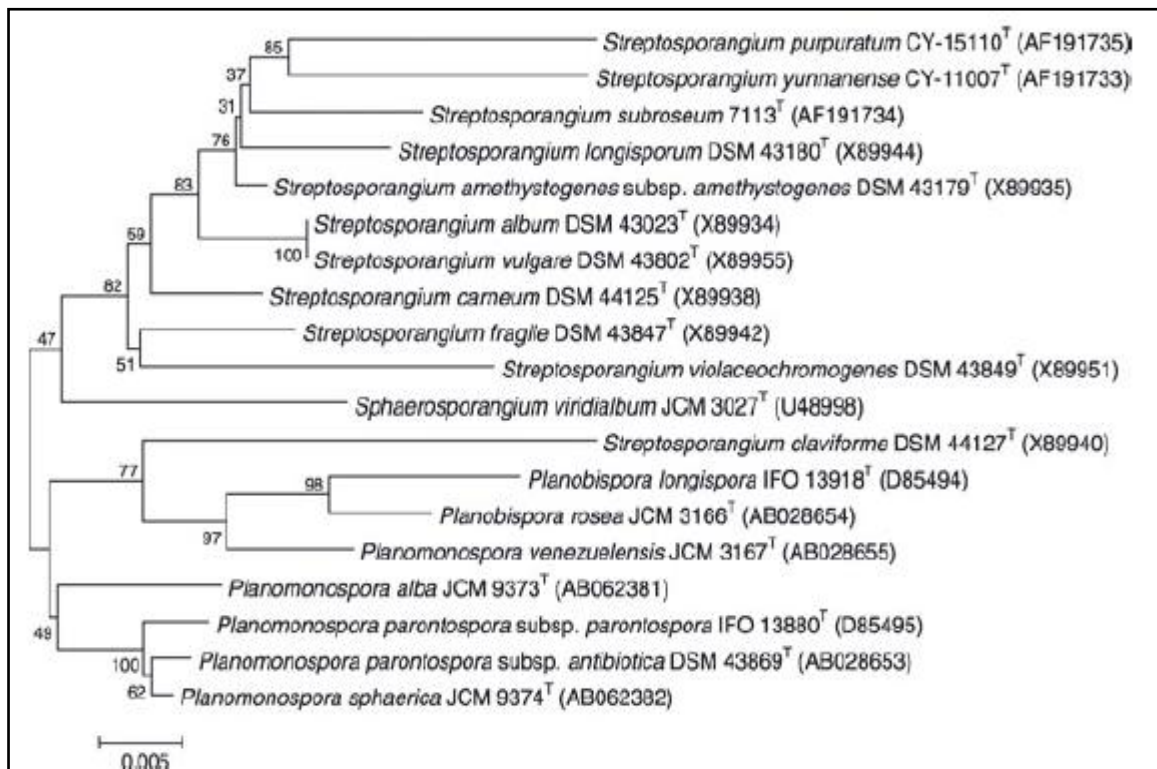
Domaine: *Bacteria*  
Phylume: *Actinobacteria*  
Classe: *Actinobacteria*  
Sous-classe: *Actinobacteridae*  
Ordre: *Actinomycetales*  
Sous ordre: *Streptosporangineae*  
Famille: *Streptosporangiaceae*  
Genres: *Planomonospora* (Thiemann et al., 1967)

### 15. Caractéristiques chimio-taxonomiques

Le peptidoglycane des parois cellulaires du *Planomonospora* contient l'acide méso-diaminopimélique et le sucre caractéristique des hydrolysats de cellules entières est un madurose (3,0-méthyl-D-galactose). Le *Planomonospora* a un chimio-type III de la paroi cellulaire et un modèle de sucre B, il contient les diphosphatidylglycérol, phosphatidyléthanolamine, phosphatidyléthanolamine hydroxylée et ninhydrine et des phospholipides positifs au sucre comme phospholipides prédominants. Les principales ménaquinones sont MK-9 (H<sub>4</sub>), MK-9 (H<sub>2</sub>) et MK-9 (H<sub>0</sub>), la présence des principaux types des acides gras sont le méthyl C<sub>17:10</sub> et les acides gras iso ramifiés en C<sub>16</sub> (Thiemann et al., 1974 ; Mertz, 1994).

### 16. Analyse phylogénétique

Les analyses de séquences génétiques d'ARNr 16S placent le genre *Planomonospora* dans la famille des *Streptosporangiaceae*. Le taxon comprend six espèces et deux sous-espèces avec des noms validement publiés. La représentation de chacune de ces espèces validement décrites forme une ligne distincte dans l'arbre du gène ARNr 16S des *Streptosporangiaceae*. Les espèces de *Planomonospora* et les sous-espèces forment un clade distinct dans l'arbre phylogénétique de l'ARNr 16S à l'exception de *P. venezuelensis*. Leurs plus proches parents dans la famille des *Streptosporangiaceae* sont les genres *Planobispora* et *Streptosporangium* (Figure 10) (Goodfellow et al., 2005 ; Vobis et al., 2015).



**Figure 10.** Arbre génétique basé sur des séquences des gènes d'ARNr 16S des espèces de *Planobispora* et *Planomonospora* de proches parents. Les nombres de nœuds indiquent le niveau de prise en charge du bootstrap (%) basé sur une analyse de 1000 ensembles de données rééchantillonnés (Goodfellow et al., 2005 ; Vobis et al., 2015).

### 17. Différenciation du genre *Planomonospora* des autres genres

Le *Planomonospora* apparenté à d'autres genres avec le chimio-type III de la paroi cellulaire de la famille des *Streptosporangiaceae*, toutes les souches classées dans cette famille produisent des spores sur les mycéliums aériens, mais les types de sporulation sont très variables et peuvent être utilisés pour différencier *Planomonospora* des autres genres. Toutes les espèces de *Planomonospora* forment des zoospores dans les sporanges. En revanche, les genres *Herbidospira*, *Microbispora*, *Microtetraspira* et *Nonomura* produisent des spores non mobiles en chaînes bisporées, tétrasporées ou oligosporées. La forme des sporanges et le nombre de spores ont une valeur taxonomique. Les souches de *Planobispora* et de *Planotetraspira* forment des sporanges cylindriques qui englobent respectivement 2 et 4 zoospores tandis que les sporanges de *Planomonospora* sont également cylindriques, mais chaque sporange ne contient qu'une seule spore mobile. Ces sporanges sont disposés soit en doubles rangées parallèles, soit en forme de feuille de palmier (Thiemann et al., 1967 ; Vobis et al., 2015).

### 18. Différenciation des espèces du genre *Planomonospora*

Les espèces de *Planomonospora* se distinguent par la disposition morphologique de leurs sporanges, par leur composition en ménaquinone et en acides gras, et par la couleur caractéristique du mycélium (Thiemann et al., 1967 ; Vobis et al., 2015).

### 19. Applications du genre *Planomonospora*

Plusieurs antibiotiques sont produits par certaines espèces du genre *Planomonospora* qui sont représentés dans Tableau 1.

### 20. Espèces de *Planomonospora*

Les six espèces de *Planomonospora* ont été isolées à partir des échantillons de sol, et on en sait très peu sur leur distribution. Par conséquent, d'autres études pour isoler les nouveaux membres de ce genre de différents environnements doivent fournir un moyen pour comprendre leur importance et leurs rôles écologiques.

À l'heure actuelle, on trouve les 6 espèces suivantes :

1. *P. parontospora* subsp. *parontospora* (Thiemann et al., 1967), comme espèce type.  
*P. parontospora* subsp. *antibiotica* (Thiemann et al., 1968).
2. *P. venezuelensis* (Thiemann, 1970).
3. *P. alba* (Mertz, 1994).
4. *P. sphaerica* (Mertz, 1994).
5. *P. corallina* (Suriyachadkun et al., 2016).
6. *P. algeriensis* (Chaabane Chaouch et al., 2016).

**Tableau 1.** Différents antibiotiques produits par le genre *Planomonospora*.

Espèce	Antibiotique	Fonction	Référence
<i>Planomonospora alba</i>	Planosporicine	Inhibe la biosynthèse de la paroi cellulaire chez les pathogènes Gram-positifs et protège les souris des infections streptococciques et diplococciques.	Thiemann et al. (1968); Sherwood et al. (2013)
<i>Planomonospora sphaerica</i>	Sphaéricine	Activité antibactérienne spécifique contre <i>Micrococcus luteus</i> .	Kodani et al. (2016)
<i>Planomonospora parontospora</i>	Sporangiomyicine	Inhibent la liaison de l'acide ribonucléique de transfert d'acide aminé dans le site ribosomal A des protoplastes bactériens intacts. Ils empêchent également l'assemblage de complexes [ribosome-facteur d'élongation G-guanine nucléotide] <i>in vitro</i> .	Thiemann et al. (1968); Cundliffe et Dixon (1975)
	Thiostrepton	Inhibe la synthèse des protéines.	Borman (2004)



## 10.1. *Planomonospora parontospora*

### 10.1.1. Définition

*Parontospora* : Gr. n. *paronto* être près ou à proximité, être côte à côte; Gr. n. *spora* une spore, N.L. n. *parontospora* (nominatif en apposition) les spores côte à côte (Thiemann et al., 1967).

Ces micro-organismes forment des hyphes ramifiées qui n'ont pas tendance à se fragmenter. Les hyphes aériennes produisent des sporanges distinctifs disposés en rangées parallèles pliées de façon caractéristique (Thiemann et al., 1967).

### 10.1.2. Description

Ces micro-organismes forment des hyphes du mycélium de substrat (0,6-0,8  $\mu\text{m}$  de diamètre) sont parfois ramifiés, cloisonnés et tordus, fréquemment avec des gonflements. Le mycélium du substrat est rose à couleur orange clair. Les hyphes du mycélium aérien (1,0  $\mu\text{m}$  de diamètre) sont peu ramifiées, blanchâtre avec une légère teinte rose (Thiemann et al., 1967).

Les sporanges monosporeux, développés uniquement sur les hyphes, sont disposés en doubles rangées parallèles attachées directement à un sporangiophore courbé de manière caractéristique. Les sporanges matures sont cylindriques, de 1,5\*3,5-4,5  $\mu\text{m}$ . Les sporangiospores sont mobiles, fusiformes et légèrement incurvées, mesurant 1,0-1,5\*3,5-4,5  $\mu\text{m}$  (Thiemann et al., 1967).

Les surfaces des colonies sont lisses et la croissance est très bonne sur les milieux de Bennett, Hickey-Tresner, ISP3, et la gélose à glucose-asparagine. Une croissance modérée se produit entre 22 et 37 °C, pH optimum de 7,0–8,0 sur Czapek-glucose, gélose nutritive, et gélose au sol, mais la croissance est faible sur la gélose glycérol-asparagine, gélose au lait écrémé, à l'amidon et à la tyrosine, le développement n'est pas apparenté sur les géloses au malate de calcium, à la cellulose ou sur la gélose fer-peptone. Les pigments mélanoides ne sont pas produits, le lait de tournesol est peptonisé et la gélatine n'est pas liquéfiée (Thiemann et al., 1967).

### 10.1.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

Ces micro-organismes non mobiles, ont des parois cellulaires de type III, se caractérise par la présence de l'acide méso-diaminopimélique dans la paroi cellulaire. Leurs membranes cellulaires contiennent du MK-9(H<sub>2</sub>) et MK-9(H<sub>4</sub>) comme ménaquinones prédominantes et

phosphatidyléthanolamine et contenant de la glucosamine lipides comme phospholipides de type PIV et l'absence des mycolates. La teneur en ADN G + C (% molaire) est de 72 (Tm), pour la souche type (Thiemann et al., 1968; Mertz, 1994). L'espèce de *P. parontospora* est divisée en deux sous espèces selon la fonction et de la morphologie : *P. parontospora* subsp. *parontospora*, *P. parontospora* subsp. *antibiotica* (Thiemann et al., 1968).

a) *P. parontospora* subsp. *parontospora*

La description de la sous-espèce est la même que pour l'espèce *Parontospora*.

La teneur en ADN G + C (% molaire): 72 (Tm). Type de souche: ATCC 23863, DSM 43177, JCM 3093, NBRC 13880, NRRL B-8120, VKM Ac-664 (Thiemann et al., 1967).

b) *P. parontospora* subsp. *antibiotica*

*Antibiotica* : N.L. fem. Adj. *antibiotica* (du Gr. *Anti* : contre, Gr. n. *bio* : vie, L. suff. *-tica* un suffixe de divers significations, mais signifiant en général fait de ou appartenant à) lié à un antibiotique, destiné à signifier la production de l'antibiotique sporangiomycine. Une bonne croissance se produit sur ISP4 et à la gélose nutritive. Le pigment mélanoidé diffusible est marron clair sur la gélose à la tyrosine. La gélatine est liquéfié, le lait de tournesol n'est pas peptonisé et la tyrosine est dégradée, aussi qu'il y a une production d'H<sub>2</sub>S. La teneur en ADN G + C (% molaire): est non déterminée (Thiemann et Beretta, 1968).

#### 10.1.4. Applications de l'espèce *Planomonospora parontospora*

La sporangiomycine est le premier antibiotique découvert et produit par le genre *Planomonospora*. La comparaison avec d'autres antibiotiques polypeptidiques produits par les actinobactéries a révélé une similitude de la sporangiomycine avec les antibiotiques peptidiques thiostrepton, (thiactine ou bryamycine) et avec la siomycine. L'analyse chromatographique de l'antibiotique thiostrepton et de son hydrolysate acide a montré quelques différences avec la sporangiomycine (Thiemann et al., 1967). La sporangiomycine inhibe la liaison de l'acide ribonucléique de transfert d'aminocyle dans le site ribosomal A des protoplastes des espèces bactériens. Ils empêchent également l'assemblage de complexes [ribosome-facteur d'élongation G-guanine nucléotide] *in vitro* et entrent en compétition avec le [35S] thiostrepton pour les sites de liaison ribosomale. La micrococcine et la sporangiomycine bloquent le site ribosomal A à proximité du centre complexe de la guanosine triphosphatase et ressemblent donc au thiostrepton dans leurs modes d'action (Thiemann et Beretta, 1968; Cundliffe et Dixon, 1975).

## 10.2. *Planomonospora venezuelensis*

### 10.2.1. Définition

*Ve.ne.zu.e.len'sis*. N.L. fem. adj. *venezuelensis* de ou appartenant au Venezuela (Thiemann, 1970).

### 10.2.2. Description

Les hyphes du mycélium de substrat ont un diamètre de 1,0 µm et sont fréquemment ramifiés et cloisonnés, leur couleur est brun-violet sur la plupart des milieux gélosés. Les hyphes aériens (0,5–0,6 µm de diamètre) sont peu ramifiés, longs, ondulés et élancés, d'une couleur blanche à blanc grisâtre (Thiemann, 1970).

Les sporanges monosporeux se développent aux extrémités d'hyphes aériennes, alternativement sur de très courtes ramifications latérales, disposés en deux rangées sur les côtés opposés, c'est-à-dire en un «modèle de feuille de palmier». Parfois, les sporanges peuvent être produites seules. Ces sporanges sont cylindriques à clavés, 1,0 µm\*4,5–5,5 µm, et se forment en abondance sur la gélose Hickey–Tresner. Les spores sont mobiles, fusiformes, mesurant 1,0 µm de diamètre et 3,0 à 3,5 µm de longueur.

Une bonne croissance sur les milieux complexes comme la gélose de Bennett, gélose d'extrait de levure-malt, gélose nutritive et sur la gélose à pomme de terre. Une croissance modérée sur le milieu glycérol-asparagine, ISP3, lait écrémé et géloses à la tyrosine. La température optimale pour la croissance est de 28 à 37 °C (Thiemann, 1970).

Des traces d'un pigment soluble brun-violet sont produites sur ISP3 et pigment ambré à brun-ambré sur Bennett et gélose Hickey-Tresner. La gélatine est à peine liquéfiée (Thiemann, 1970).

### 10.2.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

Cette espèce se caractérise par la présence d'acide méso-diaminopimélique dans la paroi cellulaire. Leurs membranes cellulaires contiennent du MK-9 (H<sub>2</sub>) et MK-9 (H<sub>4</sub>) comme ménaquinones prédominantes, et phosphatidyléthanolamine et lipides contenant de la glucosamine comme phospholipides d'un type PIV (phosphoinositides (PI)) ,5 groupements hydroxyle). La teneur de l'ADN G + C (% molaire) est non déterminée. (Thiemann, 1970).

### 10.3. *Planomonospora alba*

#### 10.3.1. Définition

*P. alba* sp. nov, *P. alba* (al'ba. L. adj. *alba*, blanc, faisant référence aux hyphes aériennes blanches qui produisent des sporangiophores portant de longues rangées parallèles de grands sporanges (Mertz, 1994).

#### 10.3.2. Description

Ces micro-organismes se constituent des hyphes du mycélium de substrat qui ne se fragmentent pas et mesurent environ 1,0 µm de diamètre, varie de couleur blanchâtre à gris jaunâtre. Les mycéliums aériens ont un diamètre de 1,0 µm, d'une couleur blanche et abondante sur le milieu 172 N-Z amine avec amidon soluble et glucose. Les sporangiophores sont de longues doubles rangées de sporanges cylindriques. La taille moyenne des spores est de 4,4\*1,5 µm (intervalle 3,5-5,4\*1,4-1,6 µm). La croissance des mycéliums abondantes sur les milieux ; 172 N-Z amine avec amidon soluble et glucose et ISP4, un bon développement sur gélose Aino Henssen, gélose Czapek (CZ) et milieu ISP3, et sur gélose pomme de terre-carotte et gélose à l'eau du robinet. Ils poussent à des températures 20-50 °C, et tolère NaCl jusqu'à une concentration de 2%, et résiste à 2,0 µg/ml de kasugamycine (Mertz, 1994).

#### 10.3.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

Ces micro-organismes utilisent plusieurs sucres et sources de carbones sont présentés dans le Tableau 2. Ces espèces produisent de l'uréase, la phosphatase et la gélatinase, elle survit à une exposition à 50 °C pendant 8 h. La composition de la paroi de cellule est de type III, ces cellules entières contiennent un modèle du sucre de type B et d'un modèle phospholipide de type PIV. Les acides mycoliques ne sont pas présents mais les ménaquinones détectées sont MK-9 (H2), et une quantité mineure de MK-9 (H4). La teneur en ADN G + C (% molaire) est non déterminée (Mertz, 1994).

#### 10.3.4. Applications de l'espèce *Planomonospora alba*

L'antibiotique qui est produit par *P. alba* est la planosporicine, c'est un polypeptide de 2194 Da, provenant de 24 acides aminés protéinogènes. La planosporicine bloque sélectivement la biosynthèse des peptidoglycanes et provoque une accumulation de précurseurs de peptidoglycanes liés à l'uridine diphosphate (UDP) dans les cellules bactériennes en croissance (Castiglione et al., 2007).

## 10.4. *Planomonospora sphaerica*

### 10.4.1. Définition

*Spha.e'ri.ca.* L. fem. Adj. *sphaerica* sphérique, se référant à la présence de corps sphériques uniques qui n'ont été observés chez aucune autre espèce (Mertz, 1994).

### 10.4.2. Description

Les hyphes du mycélium de substrat ont un diamètre de 1,0 µm et ne se fragmentent pas, de couleur rose jaunâtre ou rose à une couleur orange rougeâtre distinctive. Le mycélium aérien est de couleur rose et parfois blanc qui produit des sporangiophores portant des doubles rangées de sporanges cylindriques disposés en parallèle. Chaque sporange contient une seule spore qui est libérée après émergence dans l'eau pendant 30 à 60 min. Ces spores sont cylindriques de taille moyenne de 4,4\*1,5 µm et mobiles. Les grands corps sphériques se forment sur ISP4. Ces corps sphériques ont la capacité de germer, formant des promycéliums (Mertz, 1994).

La croissance est abondante sur le milieu 172 N-Z amine avec amidon soluble et glucose et sur ISP4, bon sur la gélose Aino Henssen, gélose Czapek et gélose pomme de terre-carotte, et sur gélose l'eau du robinet. Les pigments solubles ne sont pas produits. Ils poussent à des températures de 20 à 42 °C, elle produit les antibiotique thioestrepton et sphaericin (Mertz, 1994).

### 10.4.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

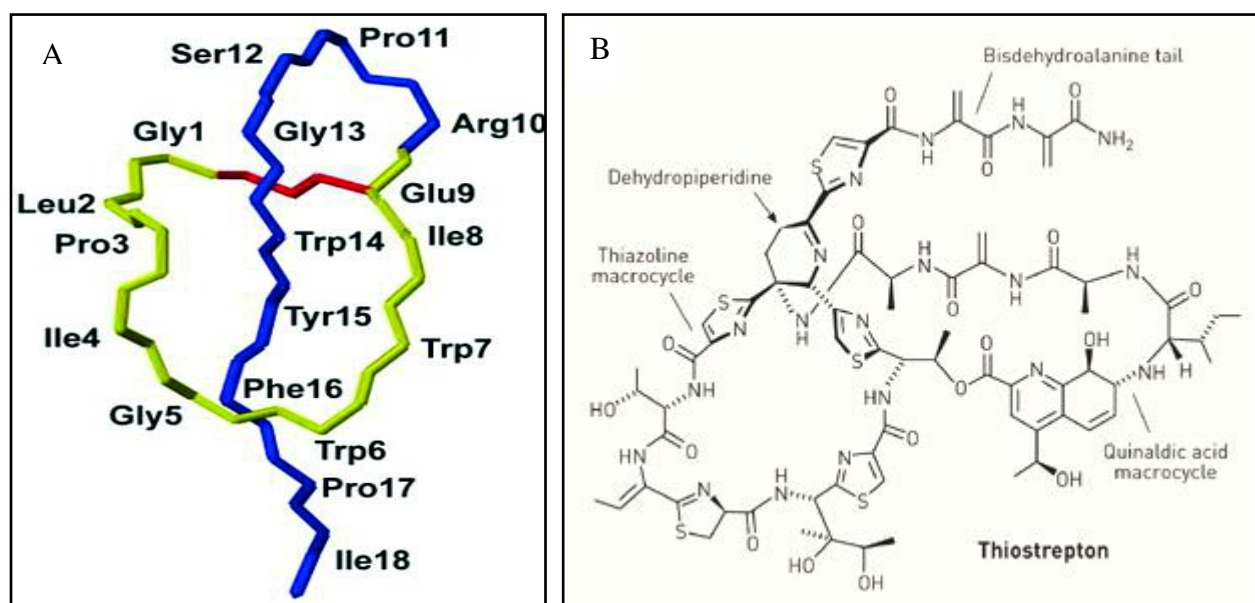
Ces micro-organismes utilisent plusieurs sources de carbones et d'énergie (Tableau 2). La production de l'uréase, de la phosphatase et de la gélatinase est positive, la survit à une exposition à 50 °C pendant 8 h et la réduction des nitrates sont signalés. Ils poussent à températures comprises entre 20 et 42 °C, tolèrent une concentration de 2% de NaCl et résiste à 2,0 µg/ml de kasugamycine.

La composition de la paroi cellulaire est de type III, ces cellules entières contiennent un modèle de sucre de type B et d'un modèle phospholipide de type PIV. Les acides mycoliques sont absents. La principale ménaquinone détectée est la MK-9 (H<sub>2</sub>) et il y a aussi des quantités minimales de MK-9 (H<sub>4</sub>). La teneur de ADN G + C (% molaire) est non déterminé (Mertz, 1994).

#### 10.4.4. Applications de l'espèce *Planomonospora sphaerica*

Un peptide appelé sphaericin est extrait de *P. sphaerica*. L'analyse de composition en acides aminés de la sphaericin a donné un total de 15 unités d'acides aminés (3 unités de chacun de Gly, Ile et Pro) et 1 unité d'Arg, Glu, Leu, Phe, Ser et Tyr. En plus de ces acides aminés, l'analyse du TOF-MS/MS et spectres RMN ont indiqué la présence de trois unités Trp, qui a déterminé une nouvelle structure de la sphaericin comme étant un peptide comprenant 18 acides aminés (Figure 11 A). La sphaericin a montré une activité antibactérienne spécifique contre *Micrococcus luteus* à une dose de 50 µg (Kodani et al., 2016).

Le thiostrepton est un autre antibiotique qui est produit par *P. sphaerica*, c'est un oligopeptidique cyclique d'une nouvelle famille de thiopeptides, il est isolé pour la première fois à partir de bactéries en 1955, le thiostrepton a un type inhabituel d'activité antibiotique: il désactive la biosynthèse des protéines en se liant à l'ARN ribosomal et à l'une de ses protéines associées. Les thiopeptides sont une classe de peptides macrocycliques hautement modifiés qui sont décorés par des thiazoles et définis par un système de cycle hétérocyclique central (Figure 11 B) (Borman, 2004 ; Vila et al., 2005).



**Figure 11.** Structure chimique de sphaericin (A) thiostrepton (B) (Borman, 2004 ; Kodani et al., 2016).

## 10.5. *Planomonospora corallina*

### 10.5.1. Définition

*P. corallina* (co.ral.li ña. L. fem. Adj. *Corallina* corail-rouge, se référant à la couleur de la colonie sur ISP2) (Suriyachadkun et al., 2016).

### 10.5.2. Description

Les micro-organismes sont des actinobactéries filamenteuses non acido-résistants qui forment des mycéliums de substrats rose sur ISP2 à pH 9 et orange clair sur ISP4. De grands sporanges cylindriques à clavés contenant une seule grande sporangiospore mobile par flagelles pérित्रiches sont formés en faisceaux et en parallèle sur le mycélium aérien. La croissance se produit à 20-37 °C (optimal 25-30 °C) et pH 6–11 (pH optimal 8-9) (Suriyachadkun et al., 2016).

### 10.5.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

Ces souches utilisent plusieurs sources de carbone et d'énergie (Tableau 2). La paroi cellulaire des acides aminés contiennent de l'acide méso diaminopimélique. Le type acyle de l'acide muramique de la paroi cellulaire est l'acide muramique N-acétylé. Les sucres caractéristiques des cellules entières sont le rhamnose, ribose, madurose et glucose. La ménaquinone prédominante est MK-9 (H<sub>2</sub>). Les phospholipides diagnostiques sont le diphosphatidylglycérol, phosphatidylméthyléthanolamine, phosphatidyléthanolamine, phosphatidylglycérol, phosphatidylinositol mannosides, phosphatidylinositol et aminophosphoglycolipides. Les principaux acides gras sont les acides gras insaturés C<sub>17:1</sub> et C<sub>16:1</sub> et l'acide gras saturé C<sub>16:0</sub>. La teneur en G + C de l'ADN génomique est de 73,5% en mole (Suriyachadkun et al., 2016).

## 10.6. *Planomonospora algeriensis*

### 10.6.1. Définition

*P. algeriensis* (al.ge.ri.en'sis. N.L. fem. Adj. *algeriensis* concernant l'Algérie, la source du sol à partir duquel la souche-type a été isolée) (Chaabane Chaouch et al., 2017).

### 10.6.2. Description

Ils sont des actinobactéries aérobies positives à la coloration de Gram qui forme une structure largement ramifiée et non fragmentée de mycélium de substrat. Elle présente une bonne croissance sur les milieux Hickey-Tresner, Bennett et ISP6 mais a croissance modérée à faible sur les milieux ISP2, ISP3, ISP4, gélose au glycérol et asparagine et ISP7. Le mycélium de substrat est de couleur crème sur les milieux ISP2, ISP3, ISP4, ISP6, ISP7, Hickey-Tresner, glycérol et asparagine et sur Bennett. Les hyphes aériens sont de couleur blanche à rose qui se développe en sporanges cylindriques disposés en doubles rangées parallèles, chacun contenant une seule sporangiospore mobile. Les pigments diffusibles ne sont observés sur aucun milieu testé à ce jour et les pigments mélanoïdes ne sont pas produits sur ISP6 et ISP7. La croissance se produit à 20-40 °C (optimum 30 °C), à pH 6–11 (optimum 8–9) et avec 0–2% de NaCl (optimum 0–1%) (Chaabane Chaouch et al., 2017).

### 10.6.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

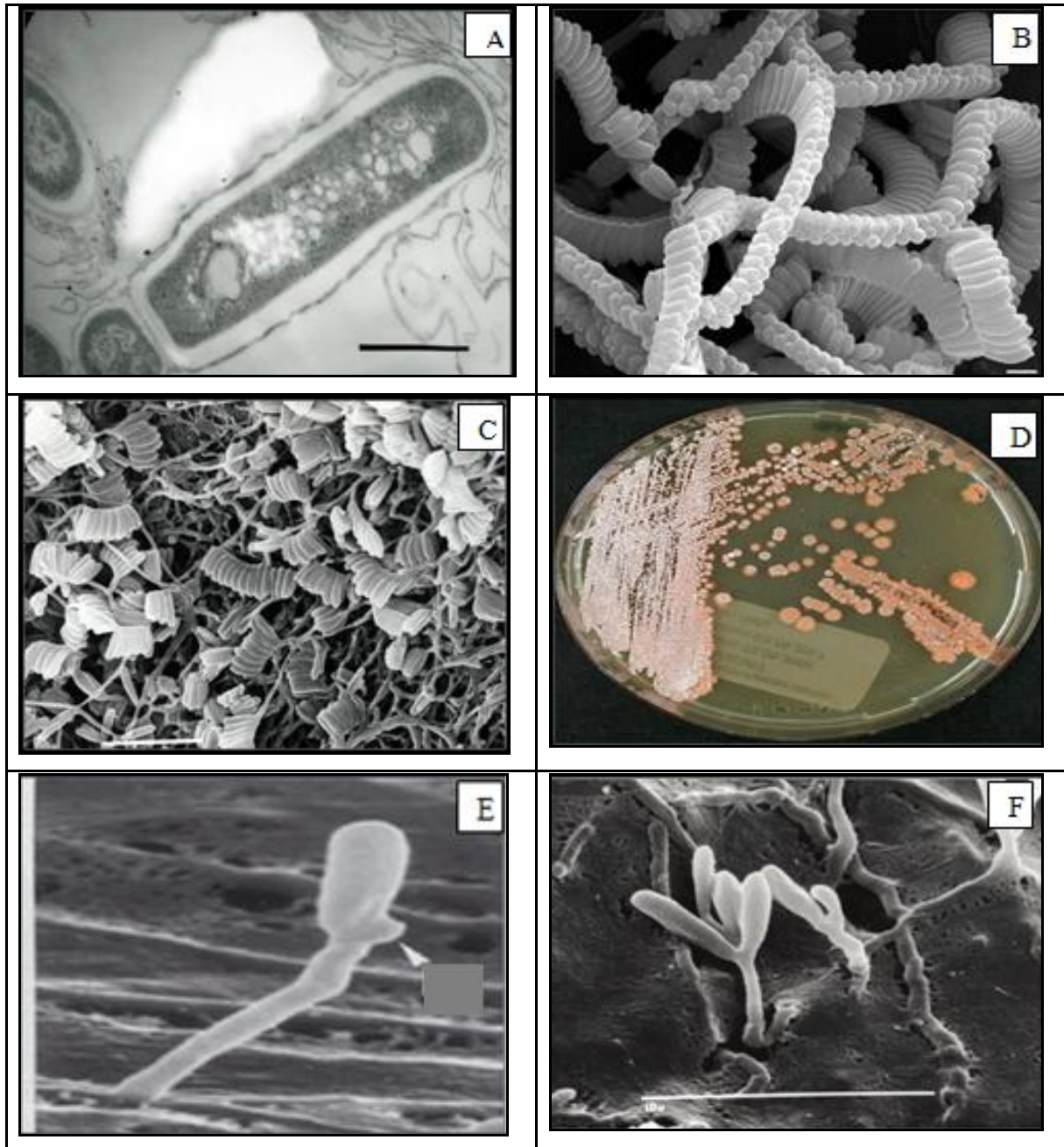
Ces cellules hydrolysent de l'esculine, l'arbutine, la caséine, la gélatine, la salicine, l'amidon, la L-tyrosine et le Tween 80. Ils sont positifs pour la peptonisation du lait et réduction des nitrates et pour la coagulation du lait et hydrolyse l'adénine, cellulose, guanine, l'hypoxanthine et xanthine sont négatifs. Ils dégradent plusieurs sucres qui sont mentionnés dans le Tableau 2. Il contient du méso-diaminopimélique acide dans sa paroi cellulaire. Les sucres à cellules entières sont la madurose, le glucose, le mannose et le ribose. Les lipides polaires comprennent diphosphatidylglycérol, phosphatidylglycérol, phosphatidylinositol, phosphatidyl éthanolamine, phosphatidyl hydroxyéthanolamine, contenant de la glucosamine phospholipides et lipides contenant de la glucosamine (Chaabane Chaouch et al., 2017).

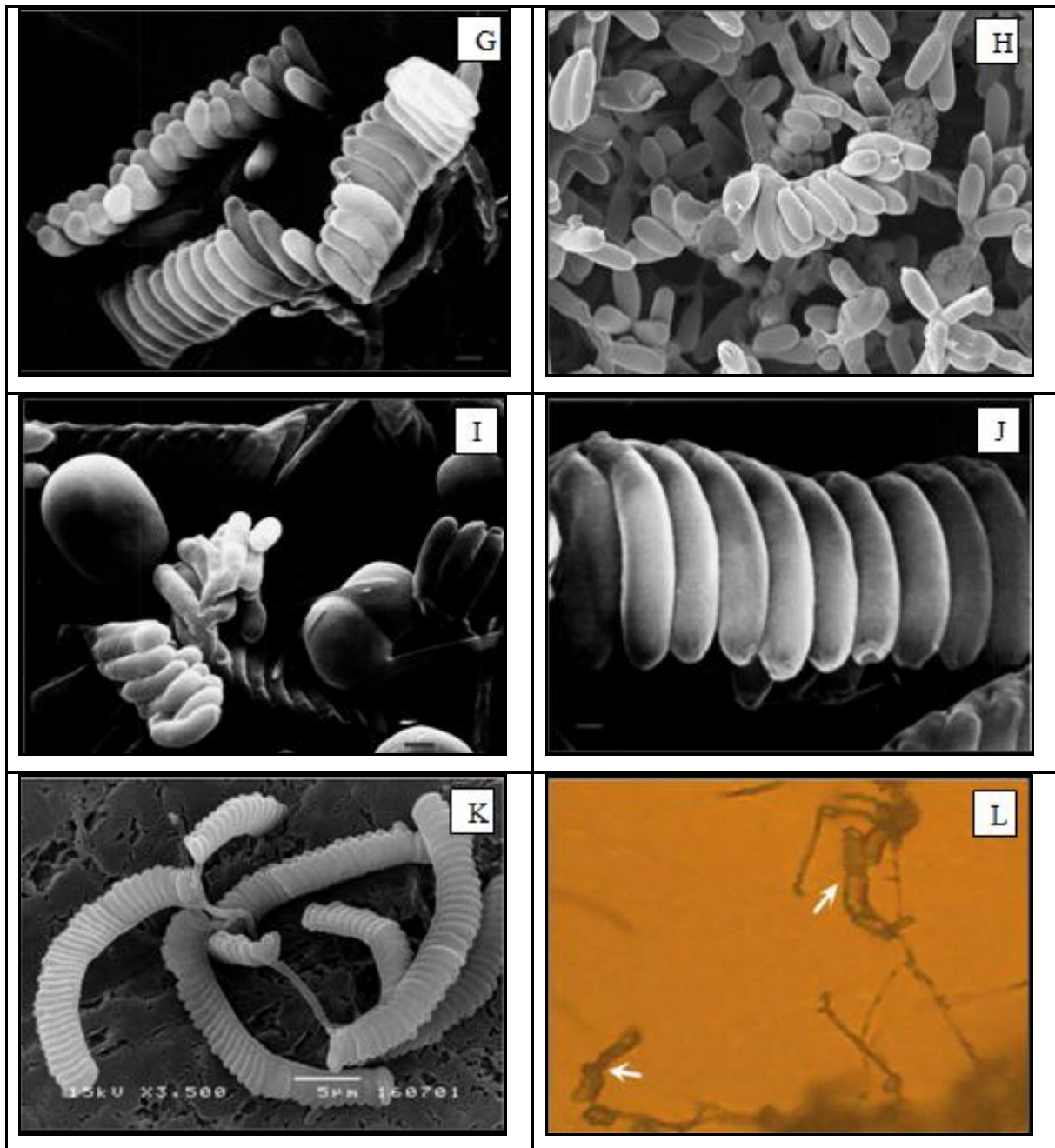
Les ménaquinones prédominantes sont MK-9 (H2) (69,6%), MK-9 (H0) (12,2%) et MK-9 (H4) (6,9%) avec des quantités mineures de MK-9 (H6) (0,4%). Les principaux acides gras (>5%) étaient C<sub>17:1</sub>ω<sub>9c</sub> (38,6%), C<sub>17:0</sub>(24,2%), C<sub>15:0</sub>(6,3%), C<sub>16:0</sub>(5,3%) et C<sub>18:1</sub>ω<sub>9c</sub> (5,1%) (Chaabane Chaouch et al., 2017).



### 10.7. Récapitulatif sur les *Planomonospora*

La classification et la taxonomie des *Planomonospora* étaient principalement basées sur des critères phénotypiques, dans lesquels les caractéristiques morphologiques microscopique ou macroscopique des espèces (Figure 12), chimiques et physiologiques sont mentionnées dans le Tableau 2.





**Figure 12.** Quelques photos des espèces appartenant au genre *Planomonospora* (Thiemann et al., 1967 ; 1968 ; Mertz, 1994 ; Suzuki et al., 2001a ; Suriyachadkun et al., 2016 ; Chaabane Chaouch et al., 2016). **A, B et C** : Micrographies de *P. parontospora*, **D** : Macrographie de *P. parontospora*, **E et F** : Micrographies de *P. venezuelensis*, **G et H** : Micrographies de *P. alba*, **I et J** : Micrographies de *P. sphaerica*, **K** : Micrographie de *P. corallina*, **L** : Micrographie de *P. algeriensis*.

**Tableau 2.** Caractéristiques des espèces et sous-espèces de *Planomonospora* (Thiemann et al., 1967 ; 1968 ; Thiemann, 1970 ; Mertz, 1994 ; Suriyachadkun et al., 2016 ; Chaabane Chaouch et al., 2016).

Caractéristiques	<i>P. parontospora</i> subsp. <i>parontospora</i>	<i>P. parontospora</i> subsp. <i>antibiotica</i>	<i>P. venezuelensis</i>	<i>P. alba</i>	<i>P. sphaerica</i>	<i>P. corallina</i>	<i>P. algeriensis</i>
Mycélium de substrat sur ISP2	Orange-Jaune	Orange-Jaune	Violet Foncé	Blanc	Orange-Jaune	Rose jaunâtre	Crème
mycélium de substrat sur ISP4	Rouge modéré	Rouge modéré	Marron ou Rougeâtre	Blanc	Rouge vif	Orange clair	Crème
Couleur du mycélium aérien	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Rose jaunâtre	/	Blanc-rose
Température optimal°C	22-37	22-37	28-37	20-50	20-42	25-30	30
PH de croissance	7-8	7-8	/	/	/	8-9	8-9
Production des pigments	-	/	+	/	/	/	/
Tolérance ADN G + C (% molaire)	72%	/	/	/	/	73,5%	70%
Tolérance à NaCl (%)	/	5%	3%	2%	2%	/	0-1%
Type de paroi cellulaire (Type III)	Acide méso-diaminopimélique	Acide méso-diaminopimélique	Acide méso-diaminopimélique	Acide méso-diaminopimélique	Acide méso-diaminopimélique	Acide méso-diaminopimélique et acide muramique N-acétylé	Acide méso-diaminopimélique
<b>Utilisation</b>							
Adonitol	+	/	+	-	-	/	+

L-Arabinose	-	+	-	+	+	-	+
Cellobiose	-	+	-	+	+	+	+
Citrate	+	+	-	+	+	/	/
Dextrine	-	+	-	+	+	/	/
D-Fructose	+	+	-	+	+	+	-
D-Galactose	+	+	-	+	+	+	-
Glycérol	-	-	-	+	-	-	-
Glycogène	-	+	-	-	+	/	/
Lactose	+	/	+	-	-	-	+
Maltose	-	+	-	+	+	-	+
D-mannitol	-	+	-	+	+	+	+
D-mannose	+	+	-	+	+	-	+
Mélézitose	+	/	-	-	-	/	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-
L-Rhamnose	-	-	-	+	+	+	+
Salicine	-	+	-	-	-	-	+
D-Sorbitol	-	/	-	-	-	-	+
Amidon	-	+	-	+	+	-	+
Succinate	-	+	-	-	+	/	-
Saccharose	-	+	-	+	+	-	-
Coagulation du lait de tournesol	-	-	-	/	/	/	-
Réduction de nitrate	+	+	+	+	+	+	+
Hydrolyse de l'amidon	/	+	/	/	/	+	+
Liquéfaction de gelatin	/	+	/	/	/	-	+
Acides mycolique	+	-	/	-	-	/	/
<b>Dégradation de:</b>							

Hypoxanthine	-	-	+	-	-	-	+
Amidon	+	+	+	-	+	+	+
CM-cellulose	+	+	-	+	+	+	/
Menaquinone majoritaire	MK-9 (H2), MK-9 (H4)	MK-9 (H2), MK-9 (H4)	MK-9 (H2), MK-9 (H4)	MK-9 (H2), MK-9 (H4)	MK-9 (H2), MK-9 (H4)	MK-9 (H2), MK-9 (H4)	MK-9(H0), MK-9 (H2), MK-9 (H4), MK-9 (H6)
Sucres caractérisant les cellules	Madurose (Type B)	Madurose (Type B)	Madurose (Type B)	Madurose (Type B)	Madurose (Type B)	Madurose (Type B)	Madurose, glucose, mannose et ribose
Phospholipides	Phosphatidylméthyléthanolamine (type PIV)	Phosphatidylméthyléthanolamine (type PIV)	Phosphatidylméthyléthanolamine (type PIV)	Phosphatidylméthyléthanolamine (type PIV)	Phosphatidylméthyléthanolamine (type PIV)	Phosphatidylméthyléthanolamine (type PIV)	Diphosphatidylglycérol, Phosphatidylglycérol, phosphatidylinositol, phosphatidyléthanolamine, phosphatidyl - hydroxyéthanolamine
Principaux acides gras	/	/	/	/	/	/	C <sub>17:1</sub> ω9c, C <sub>18:1</sub> ω9c C <sub>15:0</sub> , C <sub>16:0</sub> , C <sub>17:0</sub>

+, Positif; -, Négatif, /, Non déterminé

## 1. Définition

Pla.no.bi.spo'ra.Gr. n. *planos* vagabond, tramper; L. adv. num. *bis* deux fois (double); Gr. fem. n. *spora* une graine, et en biologie une spore; N.L. fem. n. *Planobispora* est un micro-organisme mobile à doubles spores (Vobis et al., 2015).

Le genre *Planobispora* fait partie des genres d'actinobactéries les moins étudiés. Ce genre est mésophile et aérobie typique et se différencie en mycélium de substrat et aérien. Ce micro-organisme est caractérisé par la formation de sporanges uniquement sur le mycélium aérien et en contenant une paire longitudinale de spores mobiles (Thiemann et Beretta, 1968).

## 2. Historique

Depuis longtemps le genre *Planobispora* été considéré comme des micro-organismes rares qui était connu dans quelques localités uniquement. Malgré la première description en 1968 de l'isolat de *Planobispora longispora* par Thiemann et Beretta, plus tard classé dans la famille des *Streptosporangiaceae*, seules trois espèces supplémentaires ont depuis été valablement décrites: *Planobispora rosea* (Thiemann, 1970), *Planobispora siamensis* (Ngaemthao et al., 2013) et *Planobispora takensis* (Ngaemthae et al., 2013 ; Ngaemthae et al., 2014 ; Tocchetti et al., 2015). Les souches types, parmi plusieurs autres ont été isolées de deux échantillons de sols prélevés sur une berge au Venezuela (Suzuki et al., 2011b ; Vobis et al., 2015).

D'autres souches ont été récupérées par D. Schäfer à partir d'un échantillon de sol prélevé près de Windhoek, Namibie. Kizuka et al. (1997) ont récupéré des souches de *Planobispora* dans le sol provenant des régions arides de l'Afrique du Sud. Par ailleurs, Suzuki et al. (2001b) ont testé 1467 échantillons de sol collectés dans toutes les régions du monde. Seulement 3,5 % des échantillons testés contenaient des souches de *Planobispora*. Environ 90% de ces souches ont été isolées à partir des échantillons de sol avec des valeurs de pH variant de 7,0 à 7,9, ce qui indique que les souches de *Planobispora* préfèrent les environnements neutres à légèrement alcalins (Otoguro et al., 2014 ; Vobis et al., 2015).

Les échantillons positifs ont été collectés en Equateur, Égypte, Guyane française, Inde et Madagascar, alors que n'ont pas été en mesure d'isoler à partir des échantillons des zones tempérées d'Europe, d'Amérique du Nord et d'Océanie. La distribution géographique semble être limitée entre la latitude 35°N et 35°S aux régions tropicales et subtropicales (Otoguro et al., 2014 ; Vobis et al., 2015).

### 3. Description

Les *Planobispora* sont aérobies, Gram-positif, non acido-résistantes, il forme sur les milieux gélosés un mycélium de substrat et un mycélium aérien. Les hyphes du mycélium de substrat sont non fragmentées, irrégulièrement ramifiées, parfois cloisonnées, ils ont un diamètre de 0,5 à 1,0  $\mu\text{m}$ . Les hyphes du mycélium aérien sont peu ramifiées et cloisonnées de diamètre 1,0  $\mu\text{m}$ , longs, élancés et ondulés, avec peu de branches latérales (Otoguro et al., 2014 ; Vobis et al., 2015).

Des sporanges cylindriques à clavés se forment sur les courtes branches latérales des hyphes aériennes. Ils peuvent être disposés individuellement ou en paquets. Chaque sporange contient une paire longitudinale de spores. La taille moyenne de sporange est de 6,0-8,0  $\mu\text{m}$ \*1,0-1,2  $\mu\text{m}$ . Les spores (zoospores) sont oblongues, cylindriques et droites ou légèrement incurvées avec des extrémités arrondies (1,0-1,2  $\mu\text{m}$  longueur) et ils sont mobiles par les flagelles pérित्रiches (Ngaemthae et al., 2013 ; Otoguro et al., 2014 ; Vobis et al., 2015).

Les spores sont poussées hors des extrémités opposées et se détache facilement des hyphes de soutien, seul un petit pourcentage de spores montre une motilité. Ils ne sont que mobiles après avoir été dispersés pendant un certain temps et germent généralement avec un ou deux tubes germinatifs polaires. On ne sait toujours pas si les spores se forment de manière endogène ou par simple transformation des hyphes en sporanges. Un septum transverse ou le diaphragme connecté à l'enveloppe vésiculaire divise les deux spores. L'enveloppe vésiculaire est lisse et contient des éléments fibrillaires qui ressemblent à ceux présentes dans *Planomonospora* (Otoguro et al., 2014).

Des colonies développées sur la gélose sont plates ou parfois surélevées, le mycélium de substrat est soit sans couleur distinctive ou rose. Le mycélium aérien, qui se développe uniquement sur certains milieux gélosés est blanc ou avec une teinte rose. Les souches sont chimio-organotrophes et mésophiles, poussent bien dans des conditions d'aérobies, à pH 6,0-9,0 et température 28-40 °C mais pas à 20 °C ou 45 °C (Otoguro et al., 2014 ; Vobis et al., 2015).

### 4. Classification

La classification et la taxonomie des *Planobispora* sont principalement basées sur des critères phénotypiques, dans lesquels les caractéristiques morphologiques, chimiques et physiologiques ont été étudiées ainsi que sur la base du séquençage du gène d'ARNr 16S.

Domaine: *Bacteria*

Phylum: *Actinobacteria*

Classe: *Actinobacteria*

Sous-classe: *Actinobacteridae*

Ordre: *Actinomycetales*

Sous-ordre: *Streptosporangineae*

Famille: *Streptosporangiaceae*

Genre: *Planobispora* (Thiemann et Beretta, 1968)

## 5. Caractéristiques chimio-taxonomiques

Ce genre est caractérisé par la présence d'un N-acétylé acide muramique et acide méso-diaminopimélique (A2pm) dans la paroi cellulaire. Il contient du madurose comme sucre de diagnostic pour les cellules entières. *Planobispora* contient diphosphatidylglycérol, phosphatidyléthanolamine, phosphatidyléthanolamine hydroxylée et ninhydrine et les phospholipides positifs au sucre comme prédominants phospholipides. Les principales ménaquinones sont MK-9 (H<sub>4</sub>), MK-9 (H<sub>2</sub>) et MK-9 (H<sub>0</sub>). Les acides mycoliques ne sont pas détectés. Les principaux types d'acides gras sont des acides gras 10-méthyl en C<sub>17</sub> et iso-ramifiés en C<sub>16</sub>. La teneur en G + C de l'ADN est de 70 à 71 mol% (Thiemann et Beretta 1968). D'autres caractéristiques physiologiques et capacités de dégradation sont présentées dans le Tableau 3.

## 6. Analyse phylogénétique

Sur la base des analyses de séquences génétiques de l'ARNr 16S, le genre *Planobispora* est regroupé dans la famille des *Streptosporangiaceae*. Au sein de cette famille, la plupart des genres sont définis sur la base de propriétés chimio-taxonomiques et morphologiques distinctes. Le genre comprend quatre espèces avec des noms validement publiés. Les représentants de ceux-ci forment une lignée distincte dans l'arbre génique de l'ARNr 16S des *Streptosporangiaceae*. Leurs plus proches parents au sein de la famille des *Streptosporangiaceae* sont les genres *Planomonospora*, *Streptosporangium* et *Sphaerisporangium*. Les valeurs de similarité entre les genres *Planomonospora* (à l'exception de *Planomonospora venezuelensis*) et *Planobispora* vont de 96,2 à 97,1%, entre les genres *Planobispora* et *Streptosporangium* de 93,8 à 96,5% et entre les genres *Planobispora* et *Sphaerisporangium* de 96,1 à 96,2% (Vobis et al., 2015).



## 7. Différenciation du genre *Planobispora* des autres genres

Le genre *Planobispora* peut être confondu morphologiquement avec des membres de genres capables de produire des paires de spores sur des mycéliums aériens et/ou substrats: *Actinobispora*, *Actinomadura*, *Microbispora*, *Microtetraspora*, *Thermobispora*, et les anciens genres *Elytrosporangium*, *Kitasatoa* et *Microellobosporia*, appartenant désormais au genre *Streptomyces*. Contrairement à *Planobispora*, les spores de ces genres ne sont pas produites dans un sporange et leurs spores ne sont pas mobiles dans les habitats aquatiques. La confusion avec les souches du genre *Dactylosporangium*, qui produit des spores mobiles dans des sporanges, cylindriques à clavés sur les hyphes du substrat, peut être évitée en déterminant le chimiotype de la paroi cellulaire. *Planobispora* avec la paroi cellulaire de type III et le motif de sucre B se distingue du *Dactylosporange* ayant le chimiotype II et le motif de sucre D (Vobis et al., 2015).

## 8. Différenciation des espèces du genre *Planobispora*

Les quatre espèces actuellement décrites ne peuvent être clairement différenciées sur la base de la morphologie. Les tests d'utilisation de 28 sources de carbone et la dégradation de 21 composés montrent tous un écart de seulement 10% entre les quatre espèces. Outre d'autres caractéristiques physiologiques et culturelles distinctives, les couleurs du mycélium de substrat et du mycélium aérien et la composition de la ménaquinone sont des caractéristiques supplémentaires pour différencier les quatre espèces (Vobis et al., 2015).

## 9. Applications du genre *Planobispora*

*Planobispora rosea*, est relativement bien connue comme producteur de l'antibiotique thiazolylpeptide (GE2270) (Tocchetti et al., 2015). Cet antibiotique est un puissant inhibiteur de la biosynthèse des protéines bactériennes en agissant sur le facteur d'allongement Tu (EF-Tu). Présentant une activité puissante contre les agents pathogènes à Gram positif, y compris *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et *Enterococcus* sp. résistant à la vancomycine, et il est en essais cliniques comme semi-synthétique dérivé BI-K0376 ciblé contre *Propionibacterium acnes*. De plus, GE2270 a été extrait avec du méthanol et il a été purifié par colonne chromatographie sur gel de silice. Après purification, il est obtenu sous forme de poudre blanche (Kettenring et al., 1991 ; Beltrametti et al., 2005 ; Giardina et al., 2010 ; Vobis et al., 2015). Depuis *P. rosea* ATCC 53733 est utilisé à l'échelle industrielle pour la production de GE2270 (Tocchetti et al., 2015).

## 10. Espèces de *Planobispora*

Le faible nombre d'espèces de *Planobispora* suggère que les membres de ce genre sont soit peu abondants dans les milieux naturels échantillonnés jusqu'à présent et/ou difficiles à cultiver dans des conditions de laboratoire, soit que le genre *Planobispora* ait une diversification limitée au niveau des espèces (Vobis et al., 2015).

Actuellement, ce genre comprend :

1. *Planobispora longispora* (Thiemann et Beretta, 1968)
2. *Planobispora rosea* (Thiemann, 1970)
3. *Planobispora siamensis* (Ngaemthao et al., 2013)
4. *Planobispora takensis* (Ngaemthao et al., 2014).

Au sein de la famille des *Streptosporangiaceae*, la plupart des genres sont définis sur la base de propriétés chimiotauxonomiques et morphologiques distinctes (Tocchetti et al., 2015).

## *Planobispora longispora*

### 10.1.1. Définition

Lon.gi.spo'ra. L. adj. *longus* long; Gr. n. *spora* une graine, et en biologie une spore; N.L. n. *longispora* (nominatif en apposition) la longue spore (Vobis et al., 2015).

*P. longispora* est une espèce mésophile et aérobie typique de la famille des *Streptosporangiaceae*. Elle a été isolée par Thiemann et Beretta (1968) à partir d'un échantillon de sol prélevé aux marges de la rivière Uramaco (Province Falcon) au Venezuela, au cours d'un programme de dépistage de nouveaux micro-organismes producteurs d'antibiotiques (Thiemann et Beretta, 1968).

### 10.1.2. Description

Cette espèce a un mycélium de substrat d'un diamètre de 0,5 à 1,0  $\mu$ . Les filaments sont longs et irrégulièrement ramifiés pénétrant dans la gélose et forment à sa surface une croissance compacte. La septation et la fragmentation du mycélium se produit mais n'est pas fréquente. Les sporanges se forment uniquement sur le mycélium aérien et n'ont jamais été observés se former sur le mycélium de substrat (Thiemann et Beretta, 1968).

Le développement sporangial est soutenu par les géloses au sol, au malate de calcium et à l'avoine. Les spores sont droites à légèrement courbées avec des extrémités arrondies, ils mesurent 1,0–1,2  $\times$  2,6–4,0  $\mu$ m. Ils sont mobiles par les flagelles péritriches. Aucune couleur spécifique n'apparaît dans le mycélium aérien ou dans le substrat. Ce mycélium aérien est blanc et le mycélium du substrat est hyalin à crème. Aucun pigment soluble n'est produit (Vobis et al., 2015). Ce micro-organisme se développe sur les milieux standards, qui sont utilisés pour la culture des *Streptomycetes*. Les premiers signes de croissance macroscopiquement visible apparaissant après 3-4 jours d'incubation à 28-30 °C. Une bonne croissance avec un mycélium aérien abondant se produit sur ISP3, ISP2, Hickey-Tresner, Bennett et d'extrait de peptone-bœuf (Thiemann et Beretta, 1968).

### 10.1.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

L'utilisation de la source de carbone est résumée dans le Tableau 3. Les pigments mélanoïdes ne sont pas produits. Le tournesol de lait est coagulé et peptonisé. Cette espèce contient des ménaquinones tétra- et dihydrogénées avec neuf unités [MK-9 (III, VIII-H<sub>4</sub>) et MK-9 (H<sub>2</sub>)], ainsi que MK-9 (H<sub>0</sub>), Teneur en G + C ADN (% molaire) est 71 (Tm) (Thiemann et Beretta, 1968 ; Vobis et al., 2015).

## 10.2. *Planobispora rosea*

### 10.2.1. Définition

Ro'se.a. L. fem. adj. *Rosea* rose-coloré (Vobis et al., 2015).

### 10.2.2. Description

Le développement sporangial est favorisé par tous les milieux sur lesquels le mycélium aérien est formé, par ex. sur sol et gélose Hickey–Tresner. Le mycélium de substrat dans la plupart des milieux est de couleur rose, et si le mycélium aérien est développé, il a toujours une légère teinte rose. Sur les milieux Bennett, l'extrait de peptone-bœuf et gélose dextrose à la pomme de terre (PDA), les colonies se développent bien, ils sont légèrement ridées ou plates et roses, aucun mycélium aérien n'est développé. Une bonne croissance se produit également sur la gélose Hickey–Tresner et les colonies sont légèrement ridées et de couleur jaune-ambre avec un mycélium aérien abondant. Les colonies poussent bien sur ISP3, ils sont lisses et de couleur rose et le mycélium aérien est modérément développé avec une teinte rose. Sur la gélose glycérol-asparagine, la croissance est modérée et les colonies sont lisses, plates et hyalines; il forme un mycélium aérien abondant, blanc avec une teinte rose. Les spores de ce genre sont allongées et fusiformes, avec des extrémités arrondies, ils mesurent 1,0-1,2×3,0-3,5 µm. Ils sont mobiles par les flagelles pérित्रiches (Vobis et al., 2015).

### 10.2.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

Pour la croissance, les *P. rosea* utilisent le galactose, le mélézitose et la salicine ; l'amygdaline n'est pas utilisé par contre. L'esculine et la chitine sont dégradées et l'hypoxanthine n'est pas hydrolysée. Le lait de tournesol n'est ni coagulé ni peptonisé. Ils contiennent des ménaquinones di- et tétrahydrogénées avec neuf unités isoprène [MK-9 (H<sub>2</sub>) et MK-9 (H<sub>4</sub>)]. La teneur en ADN G + C (% molaire) est de 70 (Tm) (Vobis et al., 2015).

### 10.3. *Planobispora siamensis*

#### 10.3.1. Définition

*Planobispora siamensis* (si.a.men'sis. N.L. fem. adj. *Siamensis* se rapportant au *Siam*, l'ancien nom de la Thaïlande, où la souche-type a été isolée) (Ngaemthae et al., 2013).

Une souche d'actinobactéries, A-T 4600T a été isolée du sol collecté dans une forêt à feuilles persistantes en Province de Kanchanaburi, (14° 41 N 98° 24 E), lors d'une étude sur la diversité des actinobactéries en Thaïlande. L'isolat a été identifié comme un nouveau membre du genre *Planobispora* basé sur la morphologie et les études chimio-taxonomiques, l'analyse phylogénétique et les études de l'hybridation ADN-ADN (Ngaemthae et al., 2013).

#### 10.3.2. Description

La souche A-T 4600T avait des caractéristiques typiques des membres du genre *Planobispora*. Elle développe des sporanges cylindriques (1,0 µm de large, 5,0 µm de long qui contenait une paire de spores mobiles se formant individuellement ou en paquets sur une courte ramification du mycélium aérien. Les spores étaient droites en forme de tige (1,0 µm de large, 2,0-3,0 µm de long) et mobiles. La souche a bien progressé sur ISP2, modérément bien sur ISP3, ISP6 et gélose nutritive, et faiblement sur ISP4, ISP5, ISP7. Les colonies de la souche A-T 4600T sur ISP2 étaient de couleur rouge vif (Ngaemthae et al., 2013).

#### 10.3.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

Les caractéristiques chimio-taxonomiques de la souche A-T 4600T étaient similaires à celles des membres du genre *Planobispora*. La paroi cellulaire contenait du méso-A2pm. Le type acyle de l'acide muramique de la paroi cellulaire est N-acétylé acide muramique. La souche contenait du ribose, du madurose, mannose et glucose sous forme de sucres à cellules entières, mais pas d'arabinose, galactose ou xylose (motif de sucre à cellules entières B de Lechevalier et Lechevalier, (1970).

Phosphatidyléthanolamine, phosphatidylméthyléthanolamine, phosphatidylinositol, phosphatidylglycérol, phosphatidylinositolmannoside, diphosphatidylglycérol et les aminophosphoglycolipides ont été détectés, mais pas la phosphatidylcholine. La composition majeure en acides gras cellulaires de la souche A-T 4600T était insaturé C<sub>17:1</sub> (24,82%), C<sub>18:1</sub> (11,57%) et saturé C<sub>16:0</sub> (16,56%) et C<sub>17:0</sub> (13,56%), et de petites quantités de saturé C<sub>15:0</sub> (6,14%), antiso-C<sub>15:0</sub> (4,78%), antiso- C<sub>17:0</sub> (4,27%) et C<sub>16:1</sub> insaturé (4,22%) (Ngaemthae et al., 2013).

## 10.4. *Planobispora takensis*

### 10.4.1. Définition

*Planobispora takensis* (tak. en'sis. N.L. fem. Adj. *Takensis* de Province de *Tak* en Thaïlande, où la souche-type a été isolé) (Ngaemthae et al., 2014).

### 10.4.2. Description

La souche A-T 7458T avait des caractéristiques typiques du genre *Planobispora*. Elle développe des sporanges cylindriques (1,0 µm de large, 5,0 µm de long) qui contiennent une paire longitudinale de spores se formant individuellement ou en faisceaux sur des mycéliums aériens (Ngaemthae et al., 2014).

Les spores étaient mobiles comme déterminées au microscope optique en utilisant des cellules cultivées sur la gélose à l'extrait de sol à 28 °C pendant 21 jours, puis mises en suspension dans 5 mM de l'acide N-cyclohexyl-2-amino-éthanesulfonique (pH 9) contenant 0,1% de lait écrémé et incubées à 32 °C pendant 90 min. Aucune fragmentation du mycélium du substrat n'a été observée. Les résultats des caractéristiques phénotypiques sont donnés en détail dans la description de l'espèce et dans le Tableau 3 (Ngaemthae et al., 2014).

La souche A-T 7458T a bien poussé sur de la gélose à l'extrait de levure et à l'amidon. Une croissance modérée a été observée sur ISP2 et ISP7. Le mycélium du substrat était rose modéré à orange rougeâtre foncé. Aucun pigment soluble n'a été observé sur les différents milieux testés (Ngaemthae et al., 2014).

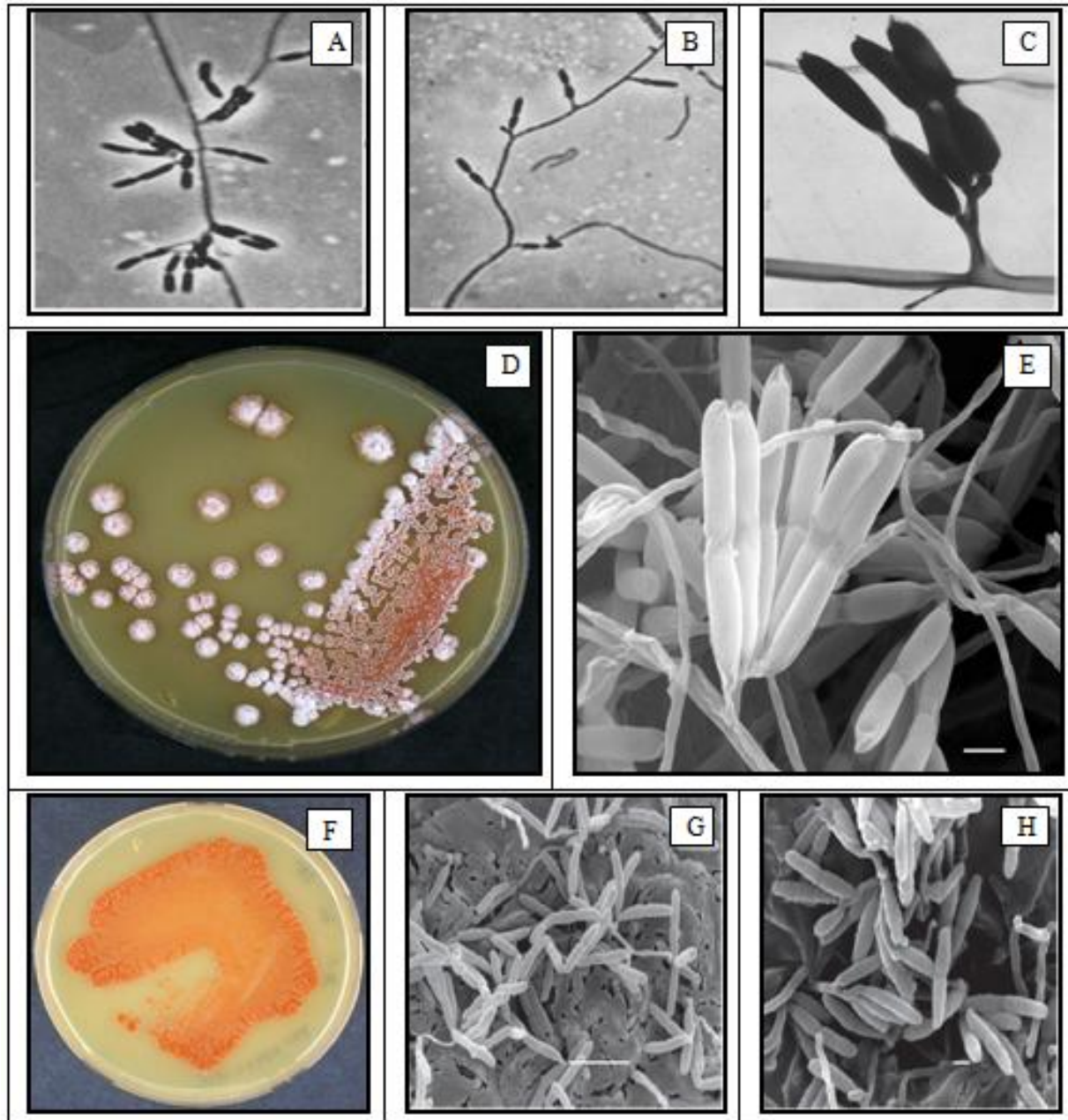
### 10.4.3. Caractéristiques chimio-taxonomiques

Les acides aminés de la paroi cellulaire de la souche A-T 7458T contenaient de l'acide mésodiaminopimélique. Un type acyle de l'acide muramique de la paroi cellulaire était l'acide muramique N-acétylé. La souche A-T 7458T contenait du ribose, du madurose, du mannose et du glucose sous forme de sucres à cellules entières, mais pas de l'arabinose, du galactose ou de la xylose [modèle de sucre à cellules entières B de Lechevalier et Lechevalier (1970)]. Les ménaquinones trouvées dans l'isolat étaient MK-9 (H<sub>2</sub>) (71,27%), MK-9 (14,91%) et MK-9 (H<sub>4</sub>) (13,82%). Le diphosphatidylglycérol, le phosphatidylglycérol, la phosphatidyléthanolamine, la phosphatidylméthyléthanolamine, le phosphatidylinositol, le phosphatidylinositol-mannoside et l'aminophosphoglycolipide ont été détectés, tandis que la phosphatidylcholine n'a pas été détectée. Les acides gras insaturés C<sub>17:1</sub> (24,65%) et C<sub>18:1</sub> (14,14%) et saturés C<sub>16:0</sub> (19,08%) étaient des acides gras majeurs (0,10% chacun) et saturés

C<sub>17:0</sub> (7,71%), C<sub>14:0</sub> (5,76), C<sub>13:0</sub> (4,53), iso-C<sub>16:0</sub> (4,38%) et C<sub>16:1</sub> insaturé (9,41%) ont été trouvés en quantités modérées. Les acides mycoliques sont absents. La composition en acides gras cellulaire de la souche AT 7458T est donnée dans le Tableau 3, montrant que les principaux acides gras du genre *Planobispora* étaient insaturés en C<sub>17:1</sub> et C<sub>18:1</sub>, et saturés en C<sub>16:0</sub>, correspondant au modèle d'acides gras 3c de Kroppenstedt (1985). Les caractéristiques chimio-taxonomiques de la souche A-T 7458T étaient similaires à celles des membres du genre *Planobispora* (Ngaemthae et al., 2014).

### 10.5. Récapitulatif sur les *Planobispora*

La classification et la taxonomie des *Planomonospora* étaient principalement basées sur des critères phénotypiques, dans lesquels les caractéristiques morphologiques microscopique ou macroscopique des espèces (Figure 13), chimiques et physiologiques ont été étudiées (Tableau 3).



**Figure 13.** Quelques photos des espèces appartenant au genre *Planobispora* (Thiemann et Beretta, 1968 ; Ngaemthae et al., 2013 ; 2014). **A, B et C :** micrographies de *P. longispora*, **D :** macrographie de *P. rosea*, **E :** micrographies de *P. rosea*, **F :** macrographie de *P. saimensis*, **G :** micrographies de *P. saimensis*, **H :** micrographies de *P. takensis*.



**Tableau 3.** Caractéristiques différenciant les différentes espèces de *Planobispora* (Ngaemthae et al., 2013 ; 2014 ; Vobis et al., 2015).

Caractéristiques	<i>P. longispora</i>	<i>P. rosea</i>	<i>P. siamensis</i>	<i>P. takensis</i>
Couleur du mycélium de substrat sur ISP2	Orange rougeâtre vif	Orange forte	Rouge vif	Orange rougeâtre modéré
Température optimale °C	/	/	25-30	25-30
PH de croissance	6-11	7-12	6-12	7-10
Produit les pigments solubles	-	/	-	-
Content G+C de DNA (mol%)	71.2	70.5	70.8	72.9
Tolérance à NaCl (%)	<1	<1	1	1
Paroi cellulaire	/	/	Acide glutamique, alanine, méso-A2pm et N-acétylé acide muramique	N-acétylé acide muramique Acide mésodiaminopimélique
<b>Utilisation de :</b>				
D-Galactose	-	+	+	+
D-Mannitol	/	/	+	/
Melibiose	F	+	+	-
Raffinose	-	-	+	-
L-Rhamnose	F	-	+	+
Salicin	-	F	+	F
Lactose	-	-	+	-
D-ribose ou glycérol	/	/	-	-
Mélézitose	-	+	/	/
L'amygdaline	+	-	/	/
L-Arabinose	F	-	+	F
D-Fructose	-	-	+	+

D-Mannose	+	F	+	F
Sucrose	-	-	+	+
Trehalose	+	F	+	-
Peptonisation du lait écrémé	+	-	-	-
Coagulation du lait écrémé	+	-	-	+
Réduction des nitrates	-	-	+	+
Hydrolyse de l'amidon	/	/	+	+
Liquéfaction de la gélatine	/	/	+	-
Acides mycoliques	/	/	-	-
Dégradation de :				
Hypoxanthine	+	-	/	/
Esculine	-	+	/	/
Chitine	-	+	/	/
Menaquinones majoritaires	MK-9 (III, VIII-H4), MK-9 (H2), MK-9 (H0)	MK-9 (H2), MK-9 (H4)	MK-9 (H2) (77,86%), MK-9, MK-9 (H4) et MK-9 (H6)	MK-9 (H2) (71,27%), MK-9 (14,91%) et MK-9 (H4) (13,82%)
Sucres caractérisant les cellules	/	/	Ribose, madurose, mannose et glucose	Ribose, madurose, mannose et glucose
Phospholipides	/	/	Phosphatidyléthanolamine, phosphatidylglycérol, phosphatidylméthyléthanolamine, diphosphatidylglycérol, mannoside de phosphatidylinositol, phosphatidylinositol et	Diphosphatidylglycérol, phosphatidylglycérol, phosphatidyléthanolamine, phosphatidylméthyléthanolamine, phosphatidylinositol, phosphatidylinositol-mannoside et les aminophosphoglycolipides type PIV

			aminophosphoglycolipide	
Principaux acides gras	/	/	Insaturés C <sub>17:1</sub> , C <sub>18:1</sub> , C <sub>16:0</sub> saturé et C <sub>17:0</sub> .	Insaturés en C <sub>17:1</sub> et C <sub>18:1</sub> , et saturés en C <sub>16:0</sub> et C <sub>17:0</sub> .
Sensibilité aux antibiotiques :				
Kanamycine	+	+	/	/
Néomycine,	+	+	/	/
Novobiocine	+	+	/	/
Tobramycine	+	+	/	/
Pénicilline	+	+	/	/
Céphalosporine	-	-	/	/
Lincomycine	-	-	/	/
Rifampicine	-	-	/	/
Streptomycine	-	-	/	/

+, Positif; -, Négatif; F, faiblement Positif, /, Non déterminé.

## **1. Isolement des actinobactéries**

L'isolement des actinobactéries à partir de la microflore mixte présente dans la nature est compliqué en raison de leur croissance lente caractéristique par rapport à celle d'autres bactéries du sol. Il y a cinq étapes de base pour l'isolement des actinobactéries (Dilip et al., 2013).

### **1.1. Choix du substrat**

Les actinobactéries sont isolées à partir de différents écosystèmes tels que l'eau douce et des environnements marins et terrestres (Dilip et al., 2013).

### **1.2. Traitement des échantillons**

Le prétraitement permet l'isolement sélectif des actinobactéries. Les spores du mycélium aérien de la plupart des actinobactéries résistent généralement à la dessiccation et présentent une résistance plus élevée à la chaleur humide ou sèche. Les traitements à température douce réduisent considérablement le nombre de bactéries à Gram-négatives. Le séchage associé à des traitements thermiques doux en plus à des milieux sélectifs fait apparaître des actinobactéries bioactifs (Dilip et al., 2013).

### **1.3. Utilisation des milieux sélectifs**

Des produits chimiques bactériostatiques et fongistatiques tels que le phénol et le propionate de sodium ont été incorporés dans des milieux d'isolement pour supprimer la croissance des bactéries et des moisissures et favoriser ainsi les actinobactéries. Mais de tels amendements à des concentrations admissibles permettant fréquemment la croissance de contaminants et à des niveaux plus élevés peuvent également supprimer les actinobactéries. La gélose à la chitine avec des sels minéraux est plus efficace que celle sans sels minéraux pour isoler les actinobactéries (Dilip et al., 2013).

### **1.4. Incubation**

La majorité des actinobactéries productrices des antibiotiques se développent mieux entre 25 et 30 °C. Les thermophiles sont incubées entre 40 et 45 °C et les psychrophiles entre 4 et 10 °C. Les durées d'incubation des boîtes d'isolement sont généralement de 7 à 14 jours. Des temps d'incubation plus longs ont souvent été ignorés en raison du fait que les actinobactéries à croissance lente seraient des candidats inappropriés pour une fermentation économique. Cependant, la croissance précoce de certaines espèces de bactéries peut modifier l'environnement nutritif de la boîte d'isolement en fournissant des facteurs de croissance.

Aussi pour l'isolement de nouvelles actinobactéries, la période d'incubation peut être prolongée d'un mois (Dilip et al., 2013).

**Tableau 4.** Agents sélectifs (Dilip et al., 2013).

Agent sélectif	Concentration (µg/ml)	Actinobactéries
Benzoate	--	<i>Micromonospora</i>
Bruneomycine	15 à 35	<i>Actinomadura</i>
Gentamicine	--	<i>Micromonospora</i>
Kanamycine (25°C)	15 to 25	<i>Actinomadura</i>
Kanamycine (50°C)	--	<i>Thermomonospora</i>
Lincomycine	25	<i>Micromonospora</i>
Acide nalidixique	15+10+10	<i>Rhodococcus</i>
Pénicilline tellurite	+	
Nitrofurazone	--	<i>Streptomyces</i>
Novobiocine (25°C)	25	<i>Micromonospora</i>
Oxytetracycline	--	<i>Thermoactinomyces</i>
Pénicillin + NaCl	1+5	<i>Streptoverticillium</i>
Pénicilline + polymyxine	1+5	<i>Streptomyces</i>
Polymyxine	5	<i>Actinomycetes</i>
Rifampicine (25°C)	25	<i>Actinomycetes</i>

### 1.5. Sélection des colonies

La sélection des colonies est la méthode la plus longue. Cela dépend des objectifs du programme de dépistage. Il peut avoir beaucoup de duplication dans les colonies. Le site de prélèvement des échantillons, la connaissance du métabolite secondaire de l'isolat, les techniques objectives d'enrichissement et les combinaisons de milieux culturels peuvent conduire à l'isolement de nouveaux isolats potentiels (Dilip et al., 2013).

## 2. Isolement sélectif des *Planomonospora* et *Planobispora*

### 2.1. Isolement et enrichissement

Plusieurs stratégies ont été développées pour faciliter l'isolement, le dénombrement et l'identification des actinobactéries rares et peu communes. La conception et l'application de nouvelles procédures d'isolement sélectif ont montré que certaines actinobactéries auparavant considérées comme rares sont communes et largement distribuées dans les habitats naturels, comme le montrent les procédures jugées efficaces pour l'isolement des *Actinomadurae*, les *Actinoplanes*, les *Nocardiae*, les *Planomonospora* et les *Planobispora*. L'isolement des actinobactéries rares et peu communes peut être favorisé en utilisant des procédures d'appâtage et par un prétraitement ou un enrichissement des échantillons environnementaux avant l'ensemencement sur un milieu d'isolement sélectif.

Des procédures d'appâtage ont été utilisées avec succès pour isoler les *Planobispora*, les *Planomonospora* et les *Streptosporangium* à partir des échantillons environnementaux. Hayakawa et Nonomura (1987) ont découvert que le milieu de culture contenant de l'acide humique étaient plus efficaces pour l'isolement des membres de la famille des *Streptosporangiaceae* que ceux contenant des sources de carbone et d'azote telles que l'asparagine, la caséine, la chitine, le glycérol et l'amidon (Otoguro et al., 2014).

L'incorporation des antibiotiques dans les milieux d'isolement est l'une des approches les plus importantes utilisées. Les antibiotiques antifongiques cycloheximide et nystatine sont couramment utilisés pour compléter les milieux conçus pour être sélectifs pour les actinobactéries afin d'éliminer ou de contrôler la croissance des champignons sur les boîtes d'isolement. Des milieux enrichis d'antibiotiques antibactériens ont été utilisés pour l'isolement de ces genres rares et réduire les bactéries indésirables.

La sélectivité des milieux d'isolement est influencée non seulement par la composition nutritive et les inhibiteurs sélectifs, mais également par le pH des milieux et par les conditions d'incubation, notamment les régimes de température. L'isolement des actinobactéries peut également être influencé par l'agent gélifiant utilisé pour préparer le milieu d'isolement. Suzuki et al. (1998, 1999, 2001a, b) ont montré que l'incorporation de gomme gellane, un polysaccharide produit par *Pseudomonas elodea*, dans des milieux sélectifs améliore l'isolement des actinobactéries rares et peu communes, tels que les membres des genres *Actinobispora*, *Planobispora*, *Planomonospora* et *Sporichthya*. Suzuki et al. (2001a) ont isolé des souches de *Planomonospora parontospora* de 131 des 1 200 échantillons de sol (10,9%) et des souches de *Planomonospora venezuelensis* de 13 de ces échantillons de sol (1,1%). Il ressort clairement de cette étude que les *Planomonospora* sont largement distribuées dans le sol, bien qu'en nombre relativement faible (Otoguro et al., 2014).

Les procédures utilisées pour isoler les souches de *Planobispora* et *Planomonospora* du sol n'ont pas été révélées par Thiemann et al. (1967 ; 1968). Cependant, les membres de ces taxons ont été isolés du sol par appâtage avec des substrats naturels comme suit: une petite quantité de sol, environ une cuillerée à thé rase, est placée dans une boîte de Pétri stérile et inondée d'eau stérile (de l'eau distillée ou de la terre filtrée ou des extraits d'eau de charbon de bois peuvent être utilisés). Le pollen et les cheveux sont ajoutés à la surface de l'eau; divers types de pollen ont été employés, y compris celui des membres des genres *Liquidamber*, *Pinus* et *Sparganium*. Après 1 à 4 semaines, l'examen de la surface de l'eau avec un microscope à dissection (100X) et un fort éclairage horizontal devrait révéler des vésicules de

spores blanches et brillantes formées dans l'air à la surface de l'eau par des membres formant des vésicules de spores des familles des Micromonosporacées et des Streptosporangiées (Otoguro et al., 2014).

Les vésicules à deux spores caractéristiques de *Planobispora* se développent sur de longs hyphes aériennes poussant entre les appâts. De même, les hyphes aériennes sporulantes des souches de *Planomonospora* se développent sur les grains de pollen. Des vésicules ou des faisceaux de spores uniques peuvent être prélevés avec une aiguille fine et placés à la surface des milieux d'agar dans de petites boîtes de Pétri. Après 2 à 4 semaines, les jeunes colonies peuvent être transférées dans des cultures obliques. De même, la souche *Planomonospora alba* A82600T et la souche de *Planomonospora sphaerica* A15460T ont été isolées en immergeant un échantillon de sol dans de l'eau enrichie pour la croissance de micro-organismes avec des spores mobiles, avec de l'herbe stérile flottant à la surface de l'eau comme appât (Otoguro et al., 2014).

Une procédure en plusieurs étapes a été développée par Suzuki et al. (2001a, b) pour l'isolement sélectif des *Planomonospora* et *Planobispora* du sol. Les échantillons de sol séchés à l'air (500 mg) sont chauffés à 90 °C pendant 60 min dans un four à air chaud, puis refroidis à température ambiante. Chaque échantillon traité thermiquement est ajouté à 2 ml de solution d'inondation (0,1% de lait écrémé [neutralisé], 0,01% de Tween, 100 µg·ml<sup>-1</sup> d'acide nalidixique dans 5 mM-N-cyclohexyl-2-aminoéthanesulfonique [CHES]; pH 9,0) et incubé à 35 °C pendant 60 min avec agitation occasionnelle pour stimuler la motilité des zoospores. Après centrifugation (1 000 g) pendant 10 min à température ambiante, le surnageant est transféré doucement dans un tube stérile; des aliquotes de 100 µl de cette préparation sont étalées sur des traces d'acide humique gellane gommedium (HSG) supplémentées en cycloheximide (50 µg ml<sup>-1</sup>), énoxacine (20 µg ml<sup>-1</sup>), acide nalidixique (50 µg ml<sup>-1</sup>), nystatine (50 µg ml<sup>-1</sup>), ampicilline sodique (2 µg ml<sup>-1</sup>), sulfate de streptomycine (1 µg ml<sup>-1</sup>) et triméthoprime (50 µg ml<sup>-1</sup>) (Otoguro et al., 2014). Après incubation à 32 °C pendant 14 à 21 jours, les colonies de *Planobispora* qui poussent sur le milieu HSG sont reconnues par leurs caractéristiques morphologiques. Les cultures pures sont isolées par stries sur milieu HSG et testées pour la production de zoospores en utilisant une solution d'inondation contenant 0,1% de lait écrémé dans 5 mM CHES (pH 9,0) (Otoguro et al., 2014). Les colonies de *Planomonospora*, identifiées à l'aide de caractéristiques morphologiques (vésicules de spores clavées contenant des spores uniques), sont purifiées par isolement d'une seule colonie sur des boîtes HSG et incubées à 35 °C pendant 14 jours. Les isolats sont testés

pour la motilité avec une solution d'inondation contenant 0,1% de lait écrémé dans 5 mM CHES (pH 9,0). Les isolats contenant des spores mobiles peuvent être attribués à deux groupes sur la base de caractéristiques morphologiques: le groupe *P. parantospora* (vésicules de spores disposées en doubles rangées parallèles ressemblant à des bananes) et le groupe *P. venezuelensis* (vésicules de spores disposées en feuilles de palmier) (Otoguro et al., 2014).

## 2.2. Conservation

La méthode la plus pratique pour le stockage à court terme est le transfert en série à partir de la gélose inclinée de milieux appropriés tous les 2 mois. Les tubes doivent être hermétiquement fermés avec des bouchons en coton trempés dans de la cire de paraffine fondue. Les cultures de spores sporulées peuvent être conservées à 5 °C et à température ambiante. La lyophilisation, le stockage dans l'azote liquide et la congélation dans le glycérol peuvent être utilisés pour une conservation à long terme (Otoguro et al., 2014).

Pour la lyophilisation, la suspension de spores ou le mycélium végétatif est mis en suspension dans un fluide approprié, tel que du sérum plus 7,5% de glucose ou du lait écrémé plus. Pour le stockage dans l'azote liquide, les micro-organismes sont inoculés dans de petits tubes à essai contenant le milieu approprié et incubés jusqu'à ce qu'une croissance satisfaisante soit visible. Les tubes sont ensuite fermés avec des bouchons de coton trempés dans de la paraffine fondue et placés dans un récipient d'azote liquide (Otoguro et al., 2014). Les suspensions de glycérol sont préparées en grattant la croissance aérienne ou le mycélium du substrat ou les deux à partir de boîtes fortement inoculées et en faisant des suspensions lourdes dans 3 ml de glycérol aqueux dans de petites bouteilles, qui sont stockées à -20 °C ou -80 °C (Otoguro et al., 2014).

Le Tableau 5 rassemble quelques informations sur l'isolement de quelques espèces de *Planomonospora* et *Planobispora*.



**Tableau 5.** Informations sur l'isolement de quelques espèces de *Planomonospora* et *Planobispora*.

Souche	Type d'habitat de l'échantillonnage	Méthode d'isolement	Pré-traitement	Milieu de culture	Incubation	Référence
<i>Planomonospora alba</i> et <i>Planomonospora sphaerica</i>	Sol	Appatage	/	Milieus ISP3 et ISP4, le milieu 172 N-Z, la gélose Czapek, la gélose Anio Henssens, la gélose pomme de terre-carotte et la gélose à l'eau du robinet	30 °C, pendant 21 jours	Mertz (1994)
<i>Planomonospora algeriensis</i>	Sol non rhizosphérique (5–20 cm de profondeur)	/	Prétraitement thermique : le sol était cuit à 120 °C pendant 1 h.	Divers milieux d'ISP: ISP2, ISP3 et ISP4, ainsi que sur milieu de Bennett	30 °C, pendant 28 jours	Chaabane Chaouch et al. (2017)
<i>Planobispora saimensis</i> et <i>Planobispora takensis</i>	Couche organique à la surface du sol	/	Méthode d'inondation de Suzuki (2001b) avec de légères modifications.	Gélose d'extrait de sol modifié, Gélose extrait de levure-amidon et ISP4	28 °C, pendant 14-21 jours	Ngaemthao et al. (2013) Ngaemthao et al. (2014)

## 1. Protocole d'identification

Dans le cadre de la partie pratique de ce mémoire, malheureusement, vu la non possibilité de la réalisation des expériences au laboratoire, nous nous sommes contentés de montrer ici le cadre théorique de l'isolement des actinobactéries rares et leur identification moléculaire.

### 1.1. Souches utilisées

Les souches identifiées morphologiquement ressemblant à des *Planomonospora* et *Planobispora* sont cultivées sur le milieu de culture approprié de façon à obtenir des colonies bien isolées après une culture de 15 à 21 jours à 28 °C.

### 1.2. Extraction de l'ADN

L'ADN est extrait des isolats d'actinobactéries obtenus selon la méthode décrite par Liu et al. (2000).

### 1.3. Amplification en chaîne par polymérase (PCR)

Cette technique est réalisée en utilisant des polymérases qui agissent pour assembler des nucléotides libres en longs brins moléculaires en utilisant des amorces universelles.

Plusieurs protocoles sont utilisés pour l'amplification de gène de l'ARNr 16S dont celui cité par Chaabane Chaouch et al. (2016) en utilisant les amorces 27f (5'–AGAGTTTGATCCTGGCTCAG–3') and 1492r (5'–GGTTACCTTGTT ACGACTT–3').

### 1.4. Détermination de la séquence nucléotidique

Après la réalisation de la PCR, les amplifiats obtenus (produits de la PCR) seront envoyés au laboratoire pour le séquençage tel que Beckman (Genewiz, Coulter Genomics, UK) ou Macrogen (Payé-Bas). Ces derniers envoient les résultats sous format de fichier Fasta. Les séquences obtenues seront analysées en utilisant des logiciels à accès libres et des bases de données.

## 2. Objectif de l'étude

Cette étude a eu pour objectif, l'étude des relations de parentés entre les différentes espèces de références ou dites types de deux genres rares de *Planomonospora* et *Planobispora*. Les étapes de l'analyse phylogénétique consistent en : la collecte de données de séquence (1), puis l'alignement de séquences (2), la construction de l'arbre phylogénétique (3), puis l'interprétation des arbres phylogénétiques obtenus (4).

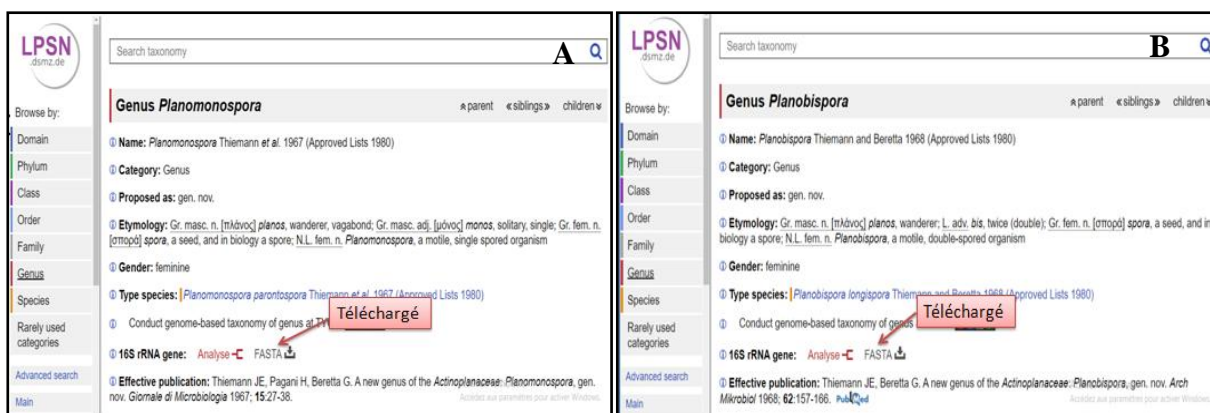
### 3. Analyse phylogénétique

#### 3.1. Collecte des séquences de l'ARNr 16S de *Planomonospora* et *Planobispora*

Les séquences des gènes des ARNr 16S des espèces de *Planomonospora* et *Planobispora* ont été téléchargé sous forma FASTA disponible dans le data base du List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) du Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH pour *Planomonospora* (<https://lpsn.dsmz.de/genus/planomonospora>) et *Planobispora* (<https://lpsn.dsmz.de/genus/planobispora>) (Figure 14).

Les séquences obtenues ont été comparées aux séquences présents dans le Serveur EzTaxon-e (<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>; Kim et al., 2012), un outil en ligne pour l'identification des bactéries basé sur les séquences d'ARNr 16S provenant de souches types.

Ces séquences sont utilisées pour connaître leurs positions phylogénétiques en utilisant les outils contenus dans le package Molecular Evolutionary Genitics Analysis ; MEGA7 (Kumar et al., 2016). Les séquences sont alignées grâce au logiciel «Clustal W». Les analyses phylogénétiques sont effectuées par les méthodes de calcul des matrices de distances d'évolution de Jukes et Cantor (1969), et en utilisant les méthodes du « Neighbor-Joining » (Saitou et Nei, 1987) pour les algorithmes de construction des topologies des arbres phylogénétiques. La méthode de validation statistique des liens phylogénétiques établis est le Bootstrap (Felsenstein, 1981). La méthode de vraisemblance (maximul likelihood) a été aussi utilisé pour la conception de l'arbre phylogénétique (Kumar et al., 1993). Afin d'obtenir un arbre phylogénétique enraciné, une séquence très éloignée par rapport aux séquences étudiées (out groupe), a été ajouté aux séquences traitées.



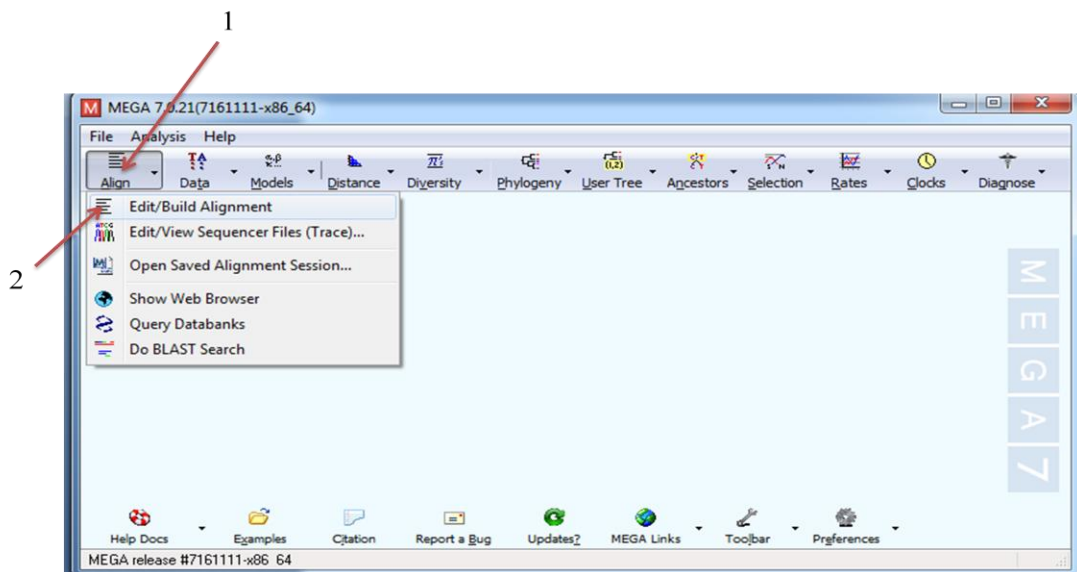
**Figure 14.** Image montrant comment télécharger des fichiers FASTA des genres *Planomonospora* (A) et *Planobispora* (B) du site de LPSN.

### 3.2. Téléchargement et installation du logiciel MEGA7

A partir du site ; <http://www.megasoftware.net>, le logiciel MEGA a été téléchargé, puis le logiciel a été installé sur l'ordinateur en suivant les instructions du fournisseur. Après ouverture du logiciel, nous avons suivi les étapes en dessous :

### 3.3. Alignement des séquences

1. Sélectionner Aligné (Align), puis Editer/Construire un alignement (Figure 15).
2. Puis créé un nouveau alignement (create a new alignment) en haut à gauche de la page et cliquer sur OK (Figure 16).
3. Une fenêtre apparaît demandant si on est en train de construire un alignement d'ADN ou de protéines. Il faut choisir ADN (DNA) (Figure 17).
4. Une nouvelle fenêtre apparaît ou l'ajout de toutes les séquences déjà téléchargées de *Planomonospora*, *Planobispora* et la souche type de l'outgroup *Streptomyces abietis* A191T est effectué (Figure 18).
5. Toutes les séquences a analysées sont collées dans la fenêtre qui apparaît (Figure 19 et 20).
6. Sélectionner toutes les séquences puis, cliquer sur MUSCLE, Aliger l'ADN (Align DNA), Computer (Compute) et enfin les séquences dont les base azotées sont aligner par correspondance (T avec A et G avec C), toute ayant des couleurs différentes sont obtenues (Figure 21).



**Figure 15.** Capture écran de la page principale du programme MEGA et la première étape de l'analyse.

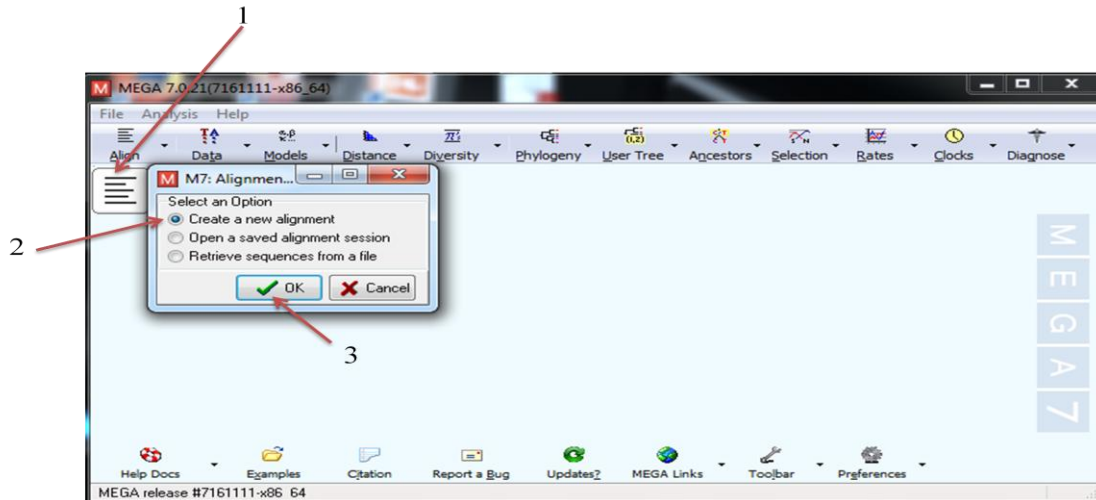


Figure 16. Capture écran de la page MEGA puis la création d'un nouvel alignement.

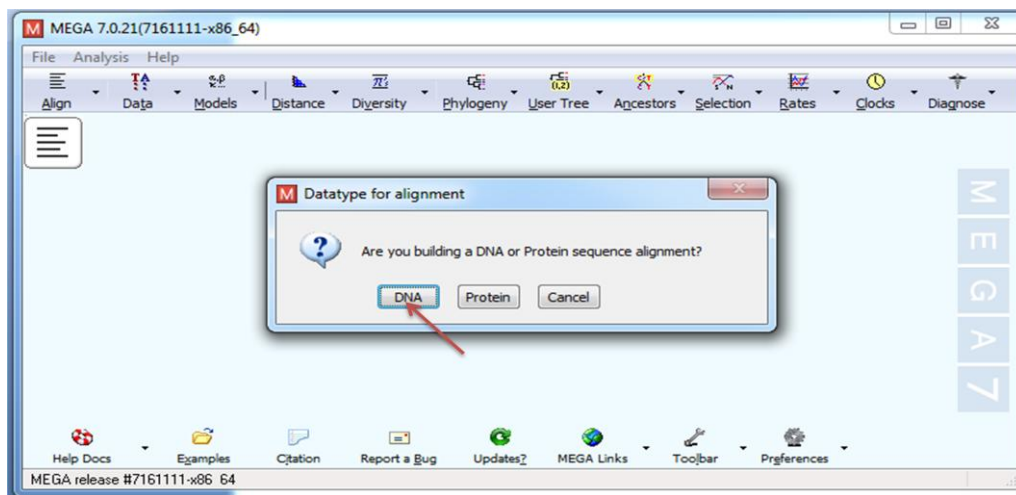


Figure 17. Capture écran montrant le choix de l'alignement des séquences d'ADN.

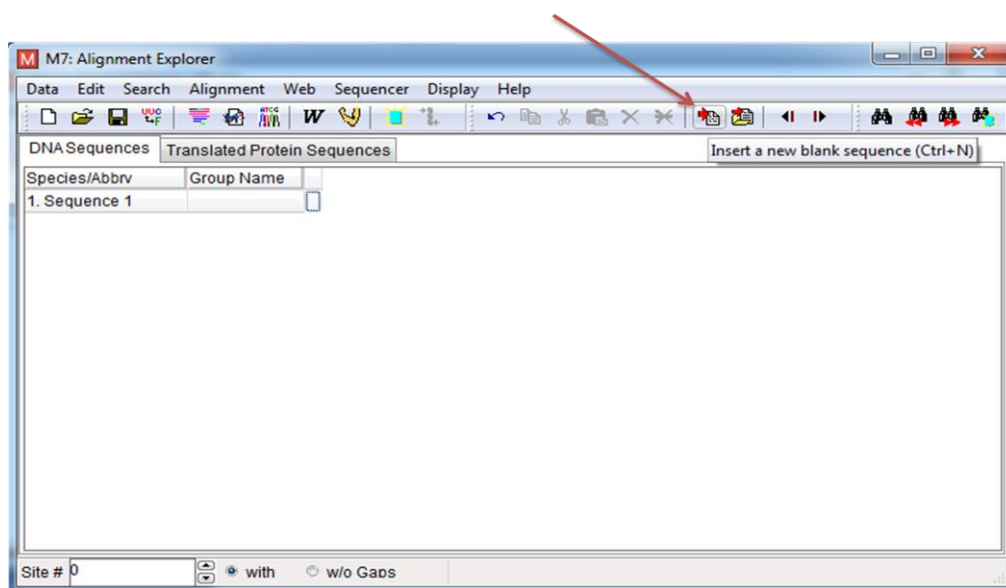


Figure 18. Capture écran de la fenêtre de l'insertion des séquences a analysées.

```
>Planomonospora_parontospora_JCM_3093_MT760403
CGTCGGATGTGAAAAGCTTGGGGCTTAACTCCAGGTCTGCATTCGATACGGGCTGGCTAGAGGTAG
GTAGGGGCAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGG
CGAAGGCGGGCTTGGTGGGCTTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTA
GATACCTGGTAGTCCAAGCTGTAAACGTGGGCGCTAGGTGTGGGGGCTTCCACGGTTCCGCG
CCGCTAGCTAACCGATTAAAGCGCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAA
TTGACGGGGGGCCGACAAAGCGGCGGAGCATGTGCTTAATTCGACGCAACCGGAAGAACCTTAC
CAAGGCTTGACATCGCCCGGAAAGCTCTAGAGATAGGGCCCTCTTCGGACCGGGTGACAGGTGGT
GCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTAGATGTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTG
TTCCATGTTGCCAGCAGCTCCTTCGGGGGTGGTGGGACTCATGGGAGACTGCCGGGGTCAACT
CGGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAGTCAATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCAACATGCTAC
AATGGCCGGTACAGAGGGTTGGATACCGTGAAGTGGAGCGAATCCCTAAAAGCCGCTCAGTT
CGGATTTGGGCTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTGGAGTCCGTAGTAATCGCAGATCAGCRAAGC
TCGGGTGAATACGTTCCGCGGCTTGTACACACCGCCGTCAGGTCACGAAAGTCGGCAACACCC
GAAGCCCGTGGCCCAACAG
```

```
>Planomonospora_parontospora_subsp._antibiotica_JCM_3094_MT7604
04
GCGCGAACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTGACTCTGGGATAAGCCCGGAAACTG
GGTCTAATACCGGATACGACTCGCGGCCGCATGGCCTGCGGGTGAAAGTCTTTTCGGTTCGGGGA
TGGACTCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGAGTGGCTCACCAGGCGACGACGGGTAGCCGG
CCTGAGAGGGCGAACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGACAGT
GGGGAATATTGGCCAATGGGCGAAAGCCTGACGCGAGCGACGCGCGGTGGGGGATGACGGCCTTCG
GGTTGTAAACCTCTTCAGCAGGGAAGAGTTGACGTGTACCTGCRGAAGAAAGCCNNGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGGCGCAAGGTTGTCCNGGAATTATTGGGCGTAAAG
AGCTCGTAGGTGGCTTGTCCGCTCGGATGTGAAGCTTGGGGCTTAACTCCAGGTCTGCATTCGA
TACGGGCTGGCTAGAGGTAGGTAGGGCAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGGCAGAT
ATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGCCGGCTTGTCTGGGCTTACCTGACGCTGAGGAGCGAAGC
GTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCAAGCTGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGG
GGCCCTTCCACGGTTTCGCGCGCTAGCTAACGCATTAAGCCCGCCGCTGGGGAGTACCGCCGC
AAGCTATAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGCGGAGCATGTTGCTTAATTCGA
CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATCGCCCGAAGCCCTAGAGATAGGNCCTCTCT
TCGGATCGGGTGACAGGTGGTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTC
CCGCAACGAGCGCAACCTTGTTCATGTTGCCAGCAAGCTCCTTCGGGGGTGGTGGGACTCAT
GGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAGTCAATCATGCCCTTATGT
CTTGGGCTGCAACATGCTACATGGCCGGTACAGAGGGTTCGGATACCGTGTAGGTGGAGCGAAT
CCCTAAAAGCCGGTCTCAGTTGGGATGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTGGAGTGGCTA
GTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCGGGCTTGTACACACCGCCGTCAGC
TCAGCAAGTGGGCAACCGGAGCCCGTGGCCCAAG
```

Figure 19. Exemple de séquences de *Planomonospora parontospora* ajoutées dans MEGA7.

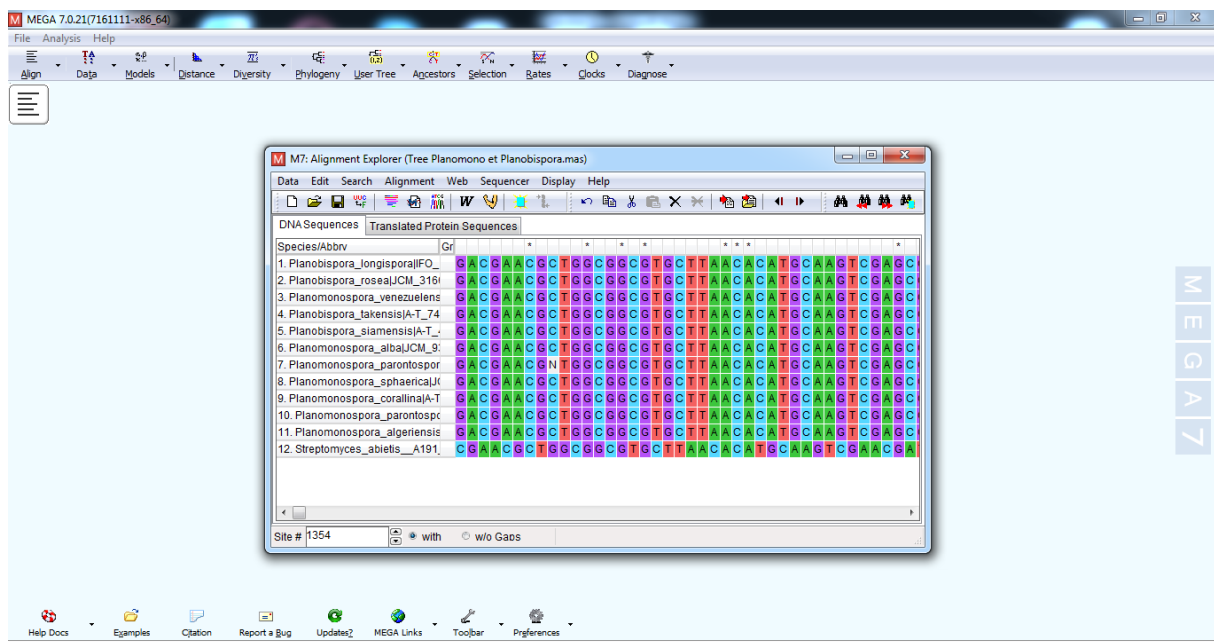
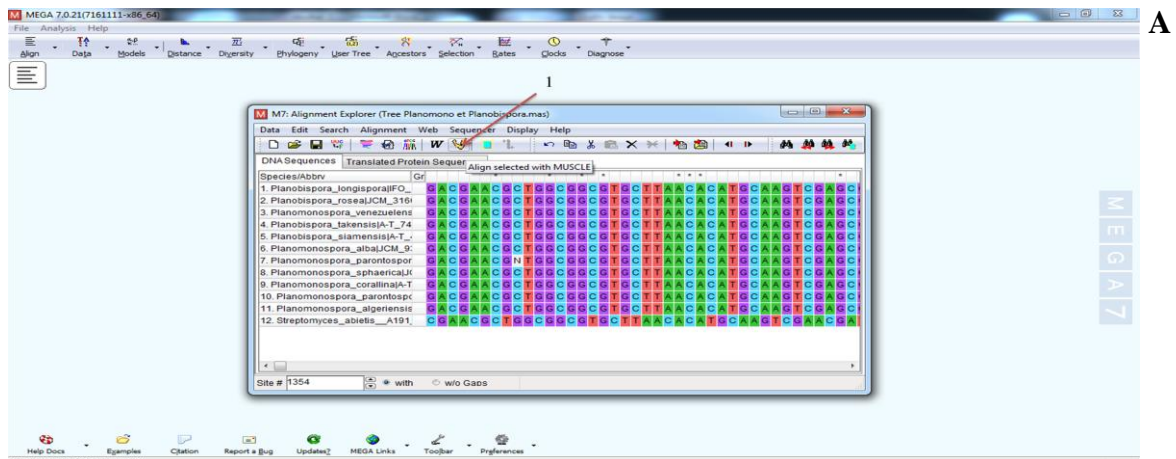
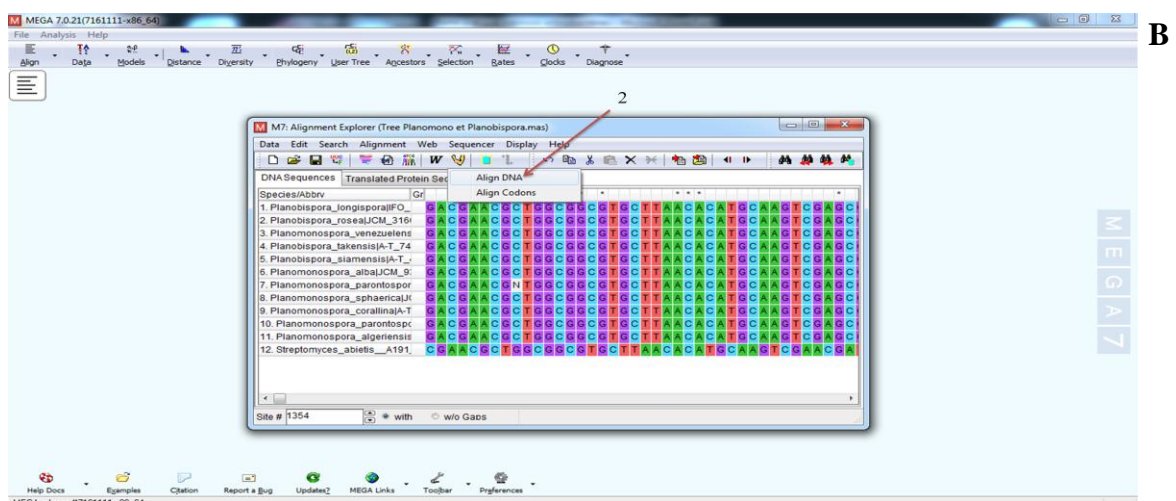


Figure 20. Séquences ajoutées de toutes les espèces étudiées dans MEGA7 avant alignement.

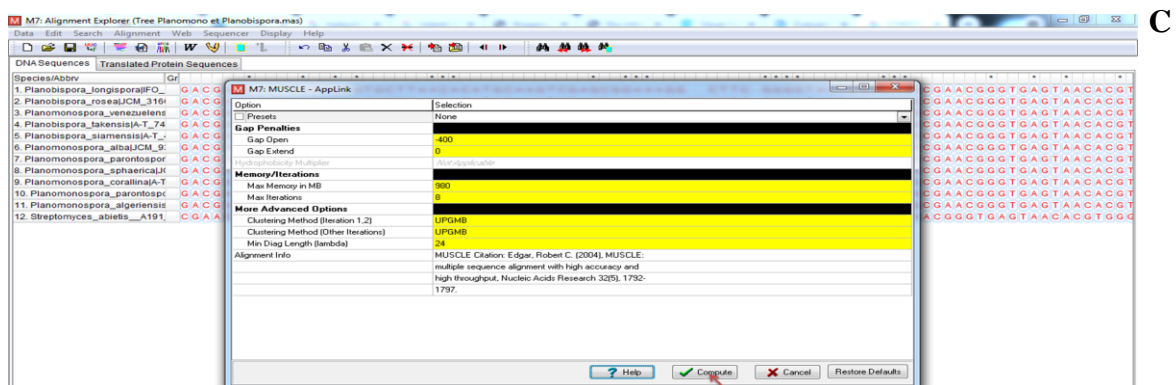
6. Résultats de l'alignement s'affichera, on note la présence des zones conservées et des zones chevauchantes (Figure 22). A la fin le fichier est enregistré pour une utilisation ultérieure (Figure 23).



A



B



C

Figure 21. Différentes étapes d'alignement à suivre au cours d'une analyse phylogénétique (A, B et C).



**Figure 22.** Analyse des séquences étudiées dans MEGA7 après alignement.



**Figure 23.** Enregistrement du fichier pour une la construction des arbres phylogénétiques.

### 3.4. Construction des arbres phylogénétiques

#### 3.4.1. Construction de l'arbre par la méthode de vraisemblance (Maximum Likelihood)

Sur la première page du programme MEGA7, nous choisissons PHYLOGENY, puis concevoir l'arbre phylogénétique en adoptant la méthode de Maximum Likelihood, puis nous cherchons le fichier enregistré dans l'étape précédente et enfin on clique sur Computer (Compute) (Figure 24). A la fin, l'arbre phylogénétique apparaît (Figure 25).



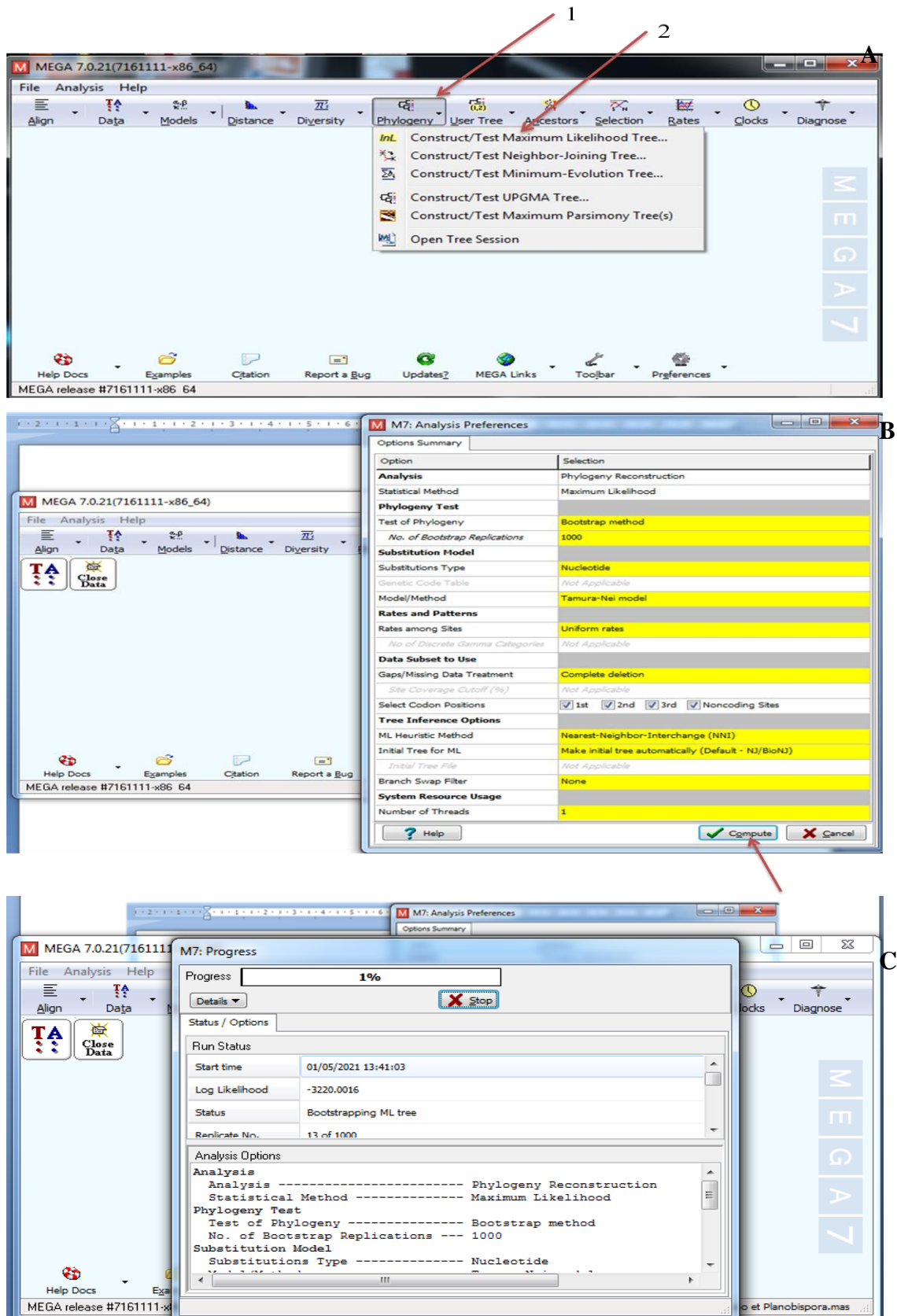
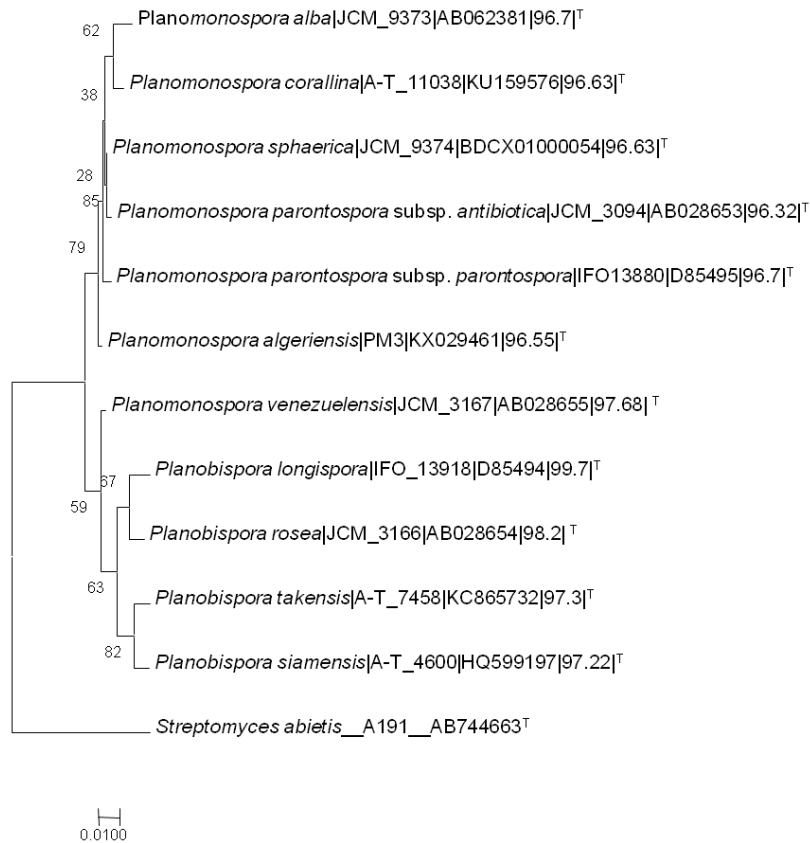


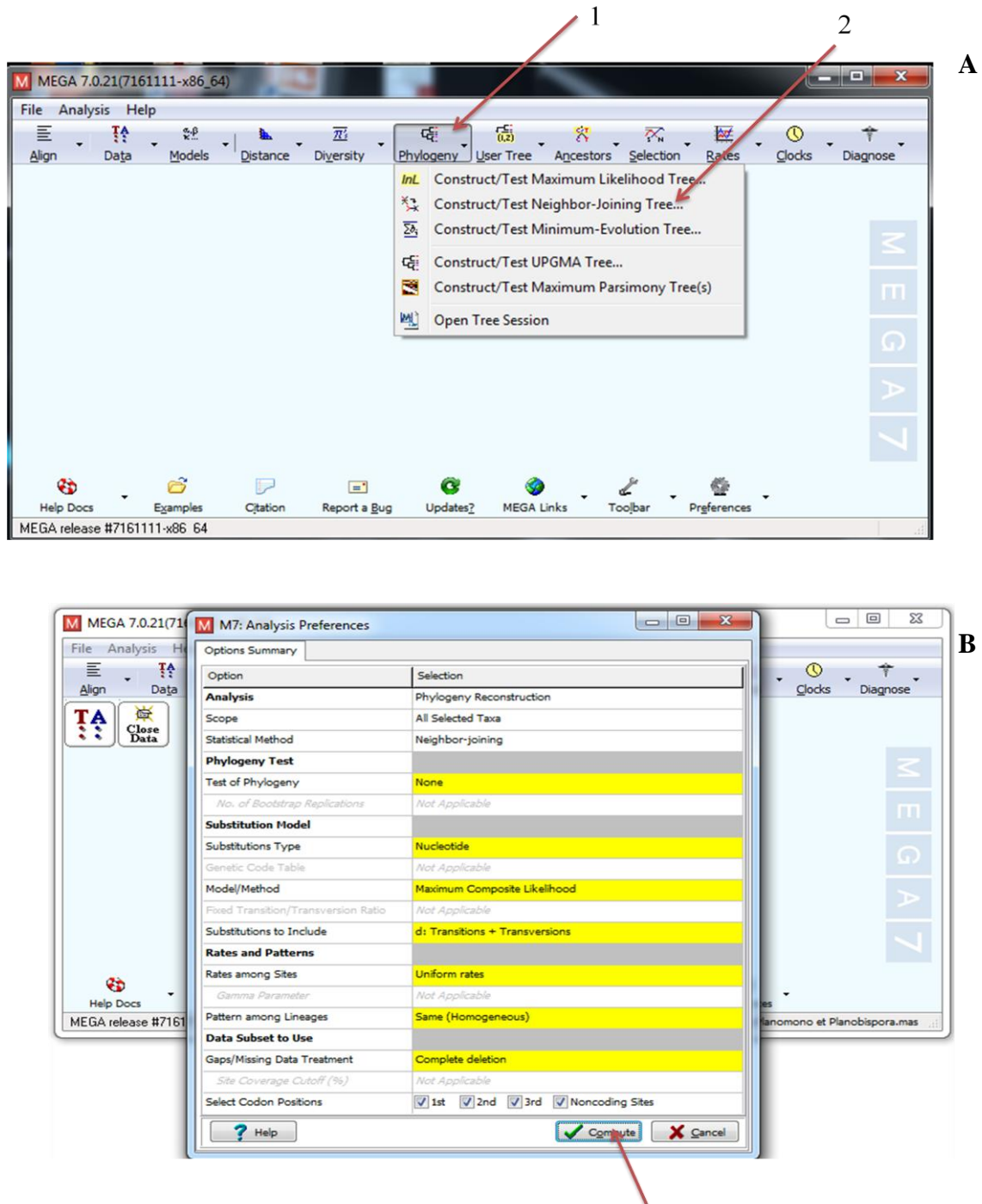
Figure 24. Etapes de la construction de l'arbre phylogénétique en utilisant la méthode de maximum likelihood.



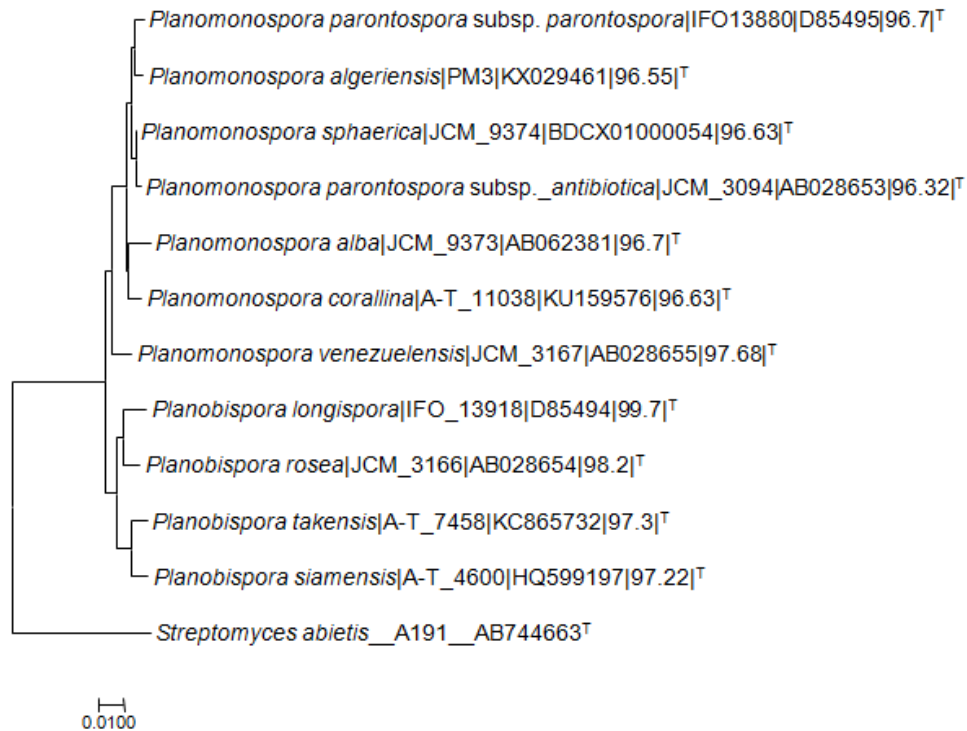
**Figure 25.** Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences de l'ADNr 16S, montrant la relation entre les souches-types des espèces du genre *Planomonospora* et *Planobispora* en utilisant la méthode de Maximum Likelihood.

### 3.4.2. Construction de l'arbre par la méthode de Neighbor-Joining

Afin de construire l'arbre par la méthode de Neighbor-Joining, les mêmes étapes sont suivies par la méthode précédente dont la seule différence est celle du choix de la méthode (Figure 26). A la fin l'arbre phylogénétique est obtenu (Figure 27).



**Figure 26.** Etapes de la construction de l'arbre phylogénétique en utilisant la méthode de Neighbor-joining.



**Figure 27.** Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences de l'ADNr 16S, montrant la relation entre les souches-types des espèces du genre *Planomonospora* et *Planobispora* en utilisant la méthode de Neighbor-joining.

#### 4. Discussion

Peu de travaux se sont focalisés sur les genres rares de *Planomonospora* et *Planobispora* dans le monde. En Algérie, aussi il y a que seulement les travaux de Chaouch Chabane et al. (2017), Bouti (1997) et Boudjella (2007) ont signalé leurs présences dans les sols du Sahara algérien.

La partie pratique traite des analyses phylogénétiques qui peuvent être réalisées pour plusieurs alignements de séquences stockés dans le programme MEGA7. Elle comprend des méthodes du maximum de vraisemblance (maximum likelihood) pour générer des arbres phylogénétiques qui représente des graphiques de relations de parenté entre les espèces, supposées ayant un ancêtre commun et Neighbor-Joining qui peuvent être enracinés ou non. Chaque nœud de l'arbre représente l'ancêtre commun de ses descendants.

En général, un arbre phylogénétique renferme: des clades qui représentent les "espèces" étudiées ou les taxons et des nœuds internes qui représentent les ancêtres virtuels ayant divergés. Des arrêtes qui illustrent les liens de filiation.

La valeur de similarité de la séquence du gène de l'ARNr 16S a joué un rôle important dans la délimitation de nouveaux taxons et dans l'identification des souches étudiées.

Ce mémoire donne une vue d'ensemble sur les différentes espèces appartenant aux genres *Planomonospora* et *Planobispora* dont deux arbres phylogénétiques se sont réalisés. La souche *Streptomyces abietis* a été choisie comme "out group" parce qu'elle est assez proche de la famille des *Streptosporangiaceae* en partageant une certaine homologie sans pour autant appartenir au même groupe phylogénétique.

Dans le cadre des travaux de recherche sur l'identification des actinobactéries rares, nous nous sommes intéressés par les *Planomonospora* et *Planobispora*. Alors la recherche des espèces appartenant à ces genres peut présenter un potentiel d'un part pour l'identification de nouvelles espèces et d'autre part, de la découverte de nouvelles molécules bioactives telles que les antibiotiques.

L'utilisation des critères morphologiques, chimio-taxonomiques et moléculaires présentent les éléments clés pour une éventuelle identification.

Le premier chapitre de ce mémoire, a été consacré au groupe des actinobactéries, leur écologie, classification et les critères d'identification. Les deux chapitres suivants ont présenté une synthèse sur toutes les caractéristiques des deux genres étudiés avec un total de 11 monographies sur les espèces des deux genres de *Planomonospora* et *Planobispora*.

Le quatrième chapitre est une synthèse sur l'isolement sélectif des genres rares de *Planomonospora* et *Planobispora*. Et dans le dernier chapitre de notre travail, l'analyse phylogénétique des séquences obtenues des deux genres étudiées est présentée par le biais de plusieurs captures écran. Cette partie représente une feuille de route pour les étudiants intéressés par des études de même genre.

A partir de tout ce que nous avons présenté,

Il ressort de l'étude théorique sur les *Planomonospora* et *Planobispora* que la recherche sur les espèces appartenant à ces genres est d'un intérêt pour la recherche appliquée. En effet, ces deux genres peuvent produire des molécules bioactives comme les antibiotiques qui peuvent être utilisés dans différents domaines médicaux, biotechnologiques...etc. alors il est essentiel de poursuivre cette étude par :

- L'isolement sélectif des actinobactéries rares à partir des différents écosystèmes en utilisant les différentes méthodes de sélection.
- Caractérisation des souches obtenues sur la base des critères morphologiques, physiologiques et chimio-taxonomique.
- Identification moléculaires des souches obtenues et la réalisation d'une analyse phylogénétique.
- Screening des activités biologiques et la recherche des molécules bioactifs issus des souches obtenues.

- 1) Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2015). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 80(1): 1-43. doi:10.1128/mmbr.000
- 2) Beltrametti, F., Rossi, R., Selva, E., & Marinelli, F. (2005). Antibiotic production improvement in the rare actinomycete *Planobispora rosea* by selection of mutants resistant to the Aminoglycosides Streptomycin and Gentamycin and to Rifamycin. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 33(4): 283–288. doi:10.1007/s10295-005-0061-4
- 3) Betancur, L. A., Naranjo-Gaybor, S. J., Vinchira-Villarraga, D. M., Moreno-Sarmiento, N. C., Maldonado, L. A., Suarez-Moreno, Z. R., Acosta-González, A., Padilla-Gonzalez, G. F., Puyana, M., Castellanos, L., & Ramos, F. A. (2017). Marine Actinobacteria as a source of compounds for phytopathogen control: An integrative metabolic-profiling/bioactivity and taxonomical approach. *Plos One*, 12(2): e0170148. doi: 10.1371/journal.pone.0170148
- 4) Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial pathogenesis*, 111: 458-467. doi:10.1016/j.micpath.2017.09.036
- 5) Borman, S. (2004). Thiostrepton from scratch. *Chemical & Engineering News Archive*, 82(39): 7. doi: 10.1021/cen-v082n039.p007
- 6) Castiglione, F., Cavaletti, L., Losi, D., Lazzarini, A., Carrano, L., Feroggio, M., Ciciliato, I., Corti, E., Candiani, G., Marinelli, F., & Selva, E. (2007). A novel lantibiotic acting on bacterial cell wall synthesis produced by the uncommon actinomycete *Planomonosporasp.* *Biochemistry*, 46(20): 5884-5895. doi:10.1021/bi700131x
- 7) Chaabane Chaouch, F., Bouras, N., Mokrane, S., Bouznada, K., Zitouni, A., Pötter, G., Cathrin Spröer, C., Klenk, H.P., & Sabaou, N. (2017). *Planomonospora algeriensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from a Saharan soil of Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110(2): 245-252.
- 8) Chaouch Chaabane, F. C., Bouznada, K., Bouras, N., Tata S., Meklat, A., Mokrane, S., Lamari, L., Kemassi, A., Mathieu, F., & Sabaou, N. (2016). *Planomonospora* sp. PM18: Isolation and taxonomy of new Actinobacterial strain isolated from Algerian Saharan soil. *Algerian Journal of Arid Environment*, 6(2): 16-23. <https://doi.org/10.12816/0046017>
- 9) Cundliffe, E., & Dixon, P. D. (1975). Inhibition of ribosomal A site functions by sporangiomycin and micrococcin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 8(1): 1-4.
- 10) Dilip, C. V., Mulaje, S. S., & Mohalkar, R. Y. (2013). A review on actinomycetes and their biotechnological application. *International Journal of pharmaceutical sciences and research*, 4(5): 1730-1742.
- 11) Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J. Mol. Evol.*, 17: 368–376.
- 12) Giardina, A., Alduina, R., Gottardi, E., Di Caro, V., Süßmuth, R. D., & Puglia, A. M. (2010). Two heterologously expressed *Planobispora rosea* proteins cooperatively induce *Streptomyces lividans* thiostrepton uptake and storage from the extracellular medium. *Microbial Cell Factories*, 9(1): 1-10.
- 13) Good, N. E., Winget, G. D., Winter, W., Connolly, T. N., Izawa, S., & Singh, R. M. (1966). Hydrogen ion buffers for biological research. *Biochemistry*, 5(2): 467-477.

- 14) Goodfellow, M., Maldonado, L. A., & Quintana, E. T. (2005). Reclassification of *Nonomuraea flexuosa* (Meyer 1989) Zhang et al. 1998 as *Thermopolyspora flexuosa* gen. nov., comb. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(5): 1979-1983.
- 15) Hayakawa, M., Nonomura, H. (1987). Efficacy of artificial humic acid as a selective nutrient in HV agar used for the isolation of soil actinomycetes. *J Ferment Technol* 65: 609-616.
- 16) Hazarika, S. N., & Thakur, D. (2020). Actinobacteria. Beneficial Microbes in Agroecology, 443-476. doi:10.1016/b978-0-12-823414-3.00021-6
- 17) Jukes, T. H. & Cantor, C. R. (1969). Evolution of protein molecules. In: *Mammalian protein metabolism*. Munro H.N. (Ed). Vol. 3. Academic Press, New York. pp. 21-132.
- 18) Kettenring, J., Colombo, L., Ferrari, P., Tavecchia, P., Nebuloni, M., Vérey, K., Gallo, G. G., & Selva, E. (1991). Antibiotic GE2270 A: A novel inhibitor of bacterial protein synthesis. II. Structure elucidation. *The Journal of Antibiotics*, 44(7): 702-715. doi:10.7164/antibiotics.44.702
- 19) Kim, O.S., Cho, Y.J., Lee, K., Yoon, S.H., Kim, M., Na, H., Park, S.C., Jeon, Y.S., Lee, J.H., Yi, H., Won, S., Chun, J., 2012. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence data- base with phylotypes that represent uncultured species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62, 716–721. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.038075-0>.
- 20) –Kizuka, M., Enolata, R., Takahashi, K., Okazaki, T. (1997). Distribution of the actino-mycetes in the Republic of South Africa investigated using a newly developed isolation method. *Actinomycetologica*, 11: 54-58.
- 21) Kodani, S., Inoue, Y., Suzuki, M., Dohra, H., Suzuki, T., Hemmi, H., & Ohnishi-Kameyama, M. (2017). Sphaericin, a lasso peptide from the rare actinomycete *Planomonospora sphaerica*. *European Journal of Organic Chemistry*, 2017(8): 1177-1183.
- 22) Kroppenstedt, R. M. (1985). Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. In *Chemical Methods in Bacterial Systematics*, pp. 173–199. Edited by M. Goodfellow & D. E. Minnikin. London: Academic Press.
- 23) Kumar S, Tamura K, Nei M. (1993). MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis. Ver. 1. 0, The Pennsylvania State University, University Park, PA.
- 24) Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7): 1870-1874.
- 25) Law, J. W. F., Letchumanan, V., Tan, L. T. H., Ser, H. L., Goh, B. H., & Lee, L. H. (2020). The rising of “modern actinobacteria” era. *Progress in Microbes & Molecular biology*, 3(1): a0000064. doi:10.3687/pmmb.a0000064
- 26) Lechevalier, M. P. & Lechevalier, H. (1970). Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *International Journal of Systematic Bacteriol*, 20 : 435-443.
- 27) Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016). Morphological identification of actinobacteria. *Actinobacteria-basics and biotechnological applications*. Rijeka, Croatia: InTech, 59-86.
- 28) Liu, D., Coloe, S., Baird, R., & Pederson, J. (2000). Rapid mini-preparation of fungal DNA for PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(1) : 471.



- 29) Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Busse, H.J., Trujillo, M.E., Kämpfer, P., & Whitman, W.B. (2012). Road map of the phylum Actinobacteria. In: *Bergey's manual® of Systematic Bacteriology*. Springer, New York, pp 1-28.
- 30) Mertz, F.P. (1994). *Planomonospora alba* sp. nov. *Planomonospora sphaerica* sp. nov., two new species isolated from soil by baiting techniques. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 44(2): 274-281.
- 31) Mohammadipannah, F. & Dehghani, M. (2017). Classification and taxonomy of Actinobacteria. In: Wink J., Mohammadipannah F., Hamed J. (eds) *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-60339-1\_4
- 32) Ngaemthao, W., Suriyachadkun, C., Chunhametha, S., Niemhom, N., Thawai, C., & Sanglier, J.-J. (2014). *Planobispora takensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(Pt 4): 1180-1185. doi:10.1099/ijs.0.057968-0
- 33) Ngaemthao, W., Suriyachadkun, C., Chunhametha, S., Tamura, T., & Sanglier, J. J. (2013). *Planobispora siamensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(7): 2649-2654. doi: 10.1099/ijs.0.046946-0
- 34) Ootoguro, M., Yamamura, H., & Quintana, E. T. (2014). The family *Streptosporangiaceae*. in the prokaryotes: Actinobacteria [https://doi.org/10.1007/978-3-642-30138-4\\_341](https://doi.org/10.1007/978-3-642-30138-4_341)
- 35) Prosser, B.L.A.T. & Palleroni, N.J., (1978). Nutritional characterization of some selected actinomycetes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 28 (4): 516-522.
- 36) Ranjani, A., Dhanasekaran, D., & Gopinath, P. M. (2016). An introduction to actinobacteria. *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*, 3-36. doi:10.5772/62329
- 37) Ruan, J. (2013). *Bergey's manual of systematic bacteriology (second edition) Volume 5 and the study of Actinomycetes systematic in China*. *Wei sheng wu xue bao*, 53(6) : 521-30.
- 38) Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4: 406-425.
- 39) Sengupta, S., Pramanik, A., Ghosh, A., & Bhattacharyya, M. (2015). Antimicrobial activities of actinomycetes isolated from unexplored regions of Sundarbans mangrove ecosystem. *BMC Microbiology*, 15(1). doi: 10.1186/s12866-015-0495-4
- 40) Sharma, P., Kalita, M.C., & Thakur, D. (2016). Broad spectrum antimicrobial activity of forest-derived soil actinomycete, *Nocardia* sp. PB-52. *Frontiers in Microbiology*, 7: 347.
- 41) Sherwood, E. J., Hesketh, A. R., & Bibb, M. J. (2013). Cloning and analysis of the planosporicin lantibiotic biosynthetic gene cluster of *Planomonospora alba*. *Journal of Bacteriology*, 195(10): 2309-2321.
- 42) Suriyachadkun, C., Ngaemthao, W., & Chunhametha, S. (2016). *Planomonospora corallina* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(8): 3224-3229.
- 43) Suzuki S, Okuda T, Komatsubara S (1999) Selective isolation and distribution of Sporichthya strains in soil. *Appl Environ Microbiol* 65:1930–1935

- 44) Suzuki S, Takahashi K, Okuda T, Komatsubara S (1998) Selective isolation of *Actinobispora* on gellan gum plates. *Can J Microbiol* 44:1–5
- 45) Suzuki S-I, Okuda T, Komatsubara S (2001b) Selective isolation and study of the global distribution of the genus *Planobispora* in soils. *Can J Microbiol* 47:979–986
- 46) Suzuki, S. I., Okuda, T., & Komatsubara, S. (2001a). Selective isolation and distribution of the genus *Planomonospora* in soils. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(3): 253-263.
- 47) Thiemann, J. E. (1970). Study of some new genera and species of the Actinoplanaceae, p 245–257. In *The Actinomycetales. The Jena International Symposium on Taxonomy*. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, Germany.
- 48) Thiemann, J. E. (1974). Genus *Planomonospora* Thiemann, Pagani and Beretta. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed. Williams and Wilkins. Baltimore, MD, 719-720.
- 49) Thiemann, J. E., & Beretta, G. (1968). A new genus of the Actinoplanaceae: *Planobispora*, gen. nov. *Archiv Für Mikrobiologie*, 62(2): 157-166. doi:10.1007/bf00410402
- 50) Thiemann, J. E., Coronelli, C., Pagani, H., Beretta, G., Tamoni, G., & Arioli, V. (1968). Antibiotic production by new form-Genera of the actinomycetales. I sporangiomycin, an antibacterial agent isolated from *Planomonospora parontospora* var. *antibiotica* var. nov. *The Journal of Antibiotics*, 21(9): 525-531.
- 51) Thiemann, J.E., Pagani, H., & Beretta G. (1967). A new genus of the Actinoplanaceae: *Planomonospora* gen. nov. *G. Microbiology*, 15: 27-38.
- 52) Tocchetti, A., Bordoni, R., Gallo, G., Petiti, L., Corti, G., Alt, S., Cruz, J. C. S., Salzano, A. M., Scaloni, A., Puglia, A. M., Bellis, G. D., Peano, C., Donadio, S., & Sosio, M. (2015). A genomic, transcriptomic and proteomic look at the GE2270 producer *Planobispora rosea*, an uncommon Actinomycete. *PLOS ONE*, 10(7): e0133705. doi:10.1371/journal.pone.0133705
- 53) Vila, J., Sanchez-Cespedes, J., & Giralt, E. (2005). Old and new strategies for the discovery of antibacterial agents. *Current medicinal chemistry-anti-infective agents*, 4(4): 337-353.
- 54) Vobis, G., Lodders, N., & Kämpfer, P. (2015). *Planomonospora*. *Bergey's manual of systematics of Archaea and Bacteria*, 1–14. doi:10.1002/9781118960608.gbm00204
- 55) Waksman, S. A., Reilly, H. C., & Harris, D. A. (1948). *Streptomyces griseus* (Krainsky) Waksman and Henrici. *Journal of Bacteriology*, 56(3): 259.
- 56) Wink, J., Mohammadipanah, F., & Panahi, H. K. S. (2017). Practical aspects of working with actinobacteria. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, 329-376. doi:10.1007/978-3-319-60339-1\_11
- 57) Xu, P., Li, W. J., Tang, S. K., Zhang, Y. Q., Chen, G. Z., Chen, H. H., Xu, L.H., & Jiang, C. L. (2005). *Naxibacter alkalitolerans* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family 'Oxalobacteraceae' isolated from China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(3): 1149-1153.