



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :

N° de série :

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

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : LABDAOUI Fatima Zohra & MEKECHTI Hanane

Thème

**Etude taxonomique des souches de *Streptomyces* isolées
des sols Sahariens**

Soutenu publiquement le :

Devant le jury :

M. DJELLID Youssef.	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Président
Mlle. DJEMOUAI Nadjette	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Examinatrice
M. BELGHIT Saïd	Maître de Conférences B	Univ. Ghardaïa	Rapporteur

Année universitaire 2020/2021

DEDICACES

*Avant toute chose, je tiens à remercier « Allah » qui m'a
donné la force et la volonté pour terminer mon travail ;*

Pour

*Saïd et Ammoura mes parents, mes raisons de vie, qu'ils m'ont
données tout le soutien ;*

Laila ma copine, ma moitié, qu'elle était avec moi toute ma vie ;

Djelloul mon appui, mon seul ;

Mes papillons Marie et Bicha, la joie de notre maison ;

Pour

*Une personne unique qui a changé la routine de ma vie
radicalement, à toi Sidi Med*

Pour

*Notre docteur LABDAOUI Aek qui nous encourage toujours ;
Melle DJEMOUI Nadjette qu'elle était jusqu'au ce jour ma 2^{ème}
sœur ;*

Monsieur CHIKHI Faredj pour l'encouragement ;

Pour

Nina, Abir, Salsabil et Hayat, les amis de ma vie, mes bougies ;

Pour

Mbarka ma 2^{ème} mère, ma toute ;

Tous mes oncles et mes tantes, mes cousins et cousines ;

*Merci énormément car vous êtes à mes côtés tout au long de ma
vie.*

FATIMA ZOHRA.

DEDICACES

Louange à dieu qui je sois ici avec l'aide et la direction de dieu ;

Pour ma belle petite, pour toi Hanane ;

*Pour ma grande mère qui a planté l'amour et le succès dans mon
cœur ;*

Pour mes parents qui m'ont appris l'autonomie ;

Pour mes fleurs Chouaib, Roufaïda, Ilyes, Mariem et Nour ;

Pour la personne bienveillante qui s'est toujours tenue à mes côtés ;

A mes enfants à naitre ;

Pour tous les proches et amis.

HANANE.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont tout d'abord à M. **Saïd BELGHIT** Maitre de conférences B à l'université de Ghardaïa pour avoir accepté de diriger ce travail qu'il trouve ici l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance pour tous ses efforts, son savoir, ses critiques constructives et sa confiance.

Nous remercions très vivement M. **Youssef DJELLID** Maitre-assistant A à l'université de Ghardaïa qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

Nos remerciements s'adressent également à Mlle. **Nadjette DJEMOUAI** Maitre assistante A à l'université de Ghardaïa d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous aimerons également exprimer nos vifs remerciements à tous les membres du laboratoire de l'Université de Ghardaïa.

Un projet de fin d'étude ne se réalise jamais seul, c'est pourquoi nous souhaiterons ici remercier toutes les personnes qui ont participé à ces cinq années d'aventure scientifique et humaine.

Nos sincères remerciements pour les membres de notre département « Département de Biologie à la faculté des sciences de la nature et de vie et sciences de la terre ». Notre chef de département M. **Youcef BEN SEMAOUNE**, Mme. **Wafa BEN SANIA**, M. **Abdelhafid AOUADI** et notre doyen de la faculté M. **Mohamed KRAIMAT**.

Nos remerciements également à tous/tes nos enseignants/es.

Sommaire

Dédicaces

Remerciement

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

ملخص

Résumé

Abstract

Introduction

I- Actinobactéries.....	1
1- Définition et propriétés générales.....	3
2- Morphologie.....	3
2.1.- Mycélium de substrat.....	4
2.2.- Mycélium aérien.....	4
2.3.- Formation des spores.....	5
2.3.1.- Les exospores.....	5
2.3.2.- Les endospores.....	5
2.4.- Structures particulières.....	5
Le sclérote.....	5
Les sporanges.....	6
Les synnemata.....	6
Les Conidies.....	6
3.- Importance d'actinobactéries.....	7
3.1.- Importance en biotechnologie.....	7
3.2.- Importance en agronomie.....	8
3.3.- Autres rôles.....	8
4.- Ecologie.....	8
4.1.- Le sol.....	8
4.2.- Eaux douces et marines.....	9
4.3.- L'air.....	9
4.4.- Les composts.....	9
4.5.- Les végétaux les animaux et l'homme.....	9
II- <i>Streptomyces</i>	10
1.- Définition et caractéristiques principales.....	10
2.-Morphologie de <i>Streptomyces</i>	10
3.-Cycle de développement.....	11
4.- Taxonomie de <i>Streptomyces</i>	12
5.-Génétique.....	12
6.- Intérêt des <i>Streptomyces</i> en thérapeutique et en biotechnologie.....	13
III.- Taxonomie des actinobactéries.....	13
1.- Les méthodes conventionnelles d'identification des actinobactéries.....	13
1.1.- Critères morphologiques.....	13
1.2. Critères physiologiques.....	14
1.2.2. Taxonomie numérique.....	14
1.3.- Critères chimiques.....	14
1.3.1.- Les acides aminés.....	14
1.3.2.- Les sucres.....	15
1.3.3.- Les lipides.....	15
1.3.3.1.- Les phospholipides.....	15
1.3.3.2.- Les acides gras.....	16

1.3.3.2.- Les ménaquinones.....	16
1.3.3.3.- Les acides mycoliques.....	17
2. Méthodes moléculaires.....	17
2.1.- Séquençage du gène ARNr 16S.....	17
2.2.- Hybridation ADN-ADN.....	18
2.3.- Pourcentage de guanine - cytosine (G + C)	18
3.- Méthodes de construction de phylogramme.....	19
3.1.- La méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean).....	19
3.2.- Méthode Neighbor-Joining (NJ).....	19
3.3.- Méthode de parcimonie.....	19

Matériel et méthodes

1.-Matériel.....	20
1.1.- Les isolats d'actinobactéries.....	20
2- Etude taxonomique des isolats.....	20
2.1.- Caractéristiques culturelles et morphologiques.....	20
2.2.- Caractéristiques moléculaires.....	21
2.2.1.- Extraction de l'ADN génomique.....	21
2.2.2.- Quantification de l'ADN.....	22
2.2.3. Amplification par PCR.....	22
2.2.4. Séquençage de l'ADNr 16S.....	22
2.2.5.- Etude phylogénétique.....	22
2.2.5.1.- correction et traitement des séquences brutes.....	22
2.2.5.2.- Comparaison avec la banque des séquences.....	22
2.2.5.3.- Alignement multiple des séquences.....	23
2.2.5.4.- Construction des arbres phylogénétiques.....	23

Résultats et discussions

1.- Etude morphologique des isolats.....	24
1.1.- Résultats.....	24
1.1.1.- Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolats.....	24
1.1.1.1.- Caractéristiques culturelles de l'isolat G61.....	24
1.1.1.2.- Caractéristiques culturelles de l'isolat B31.....	24
2.- Etude moléculaire des isolats.....	25
2.1.- Résultats.....	25
2.1.1.- Etude moléculaire de l'isolat G61.....	26
2.1.2.- Etude moléculaire de l'isolat B31.....	27
2.2.- Etude comparative.....	28
2.2.1. L'isolat G61.....	29
2.2.2. L'isolat B31.....	30
3. Discussion.....	31
Conclusion	33
Références bibliographiques.....	34
Annexes.....	42

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
1	Types de phospholipides caractéristiques présents chez les actinobactéries	16
2	Provenances et quelques caractéristiques des souches de <i>Streptomyces</i> utilisés	20
3	Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolats	25
4	Taille des séquences et leurs numéros d'accèsion dans la GenBank.	26
5	Comparaison des résultats du blast de la séquence 16S de l'ADNr de G61 avec les souches-types des espèces les plus proches du genre <i>Streptomyces</i> .	26
6	Comparaison des résultats du blast de la séquence 16S de l'ADNr de B31 avec les souches-types des espèces les plus proches du genre <i>Streptomyces</i> .	28
7	Caractéristiques morphologiques et physiologiques de <i>Streptomyces</i> sp. G61 et l'espèce les plus reliées phylogéniquement <i>Streptomyces lutues</i> et <i>Streptomyces mutabilis</i>	29
8	Caractéristiques morphologiques et physiologiques de <i>Streptomyces</i> sp. B31 et l'espèce la plus reliée phylogéniquement <i>Streptomyces alfalfae</i>	30

Liste des figures

Figure	Titre	page
1	Une colonie du genre <i>Streptomyces</i> sur milieu solide	5
2	Différentes chaînes de spores chez les actinobactéries	6
3	Applications biotechnologiques des actinobactéries	7
4	Morphologie des différentes chaînes de spores chez les streptomycètes	11
5	Cycle de vie de <i>Streptomyces</i>	12
6	Interface du logiciel MEGA-X 10.2	23
7	Macromorphologie des deux isolats G61 et B31 sur milieu ISP4 montrant la couleur du mycélium de substrat	24
8	Micromorphologie des 2 isolats sur différents milieux de culture en microscope optique (Gx40)	25
9	Capture d'écran montrant l'identification des deux isolats sur le serveur EZtaxon	26
10	Arbre phylogénique basé sur l'analyse des séquences d'ADNr 16S et montrant les relations entre l'isolat G61 et les souches-types des espèces du genre <i>Streptomyces</i> les plus proches.	27
11	Arbre phylogénique basé sur l'analyse des séquences d'ADNr 16S et montrant les relations entre l'isolat B31 et les souches-types des espèces du genre <i>Streptomyces</i> les plus proches	28

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
BLAST	Basic Local Aligement Search Tool
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
NCBI	National Centre for B io t echnology I nformation
G+C	G uanine + C ytosine
ISP	International <i>Streptomyces</i> P roject (milieux de culture)
MA	M ycélium A érien
MS	M ycélium du S ubstrat
PCR	P olymerase C hain R eaction
ARNr16S	Acide R ibo N ucléique codant pour la sous unité r ibosomique 16S
BN	M ilieu de culture B ennett
GN	M ilieu G élose N utritive
S	S pira
RA	R etinaculum- A pertum
RF	Rectus Flexibilis
PS	Pigments solubles

دراسة تصنيفية لسلاسل من الجنس *Streptomyces* معزولة من أترية صحراوية

ملخص

تهدف الدراسة إلى التصنيف المورفولوجي والجزئي لسلاسلين من البكتيريا الهيفية G61 و B31 معزولتين من أترية صحراوية. النتائج المحصل عليها بعد الدراسة المورفولوجية سمحت لنا بتصنيف السلالتين ضمن الجنس *Streptomyces* حيث وجد أن السلالتين G61 و B31 نمتا بشكل جيد على أغلب أوساط الزرع المستعملة كما أن لديهما ميسيليوم هوائي يحتوي سلاسل أبواغ من النوع RA و S على التوالي. هذه الخصائص تميز الجنس *Streptomyces*. تهدف الدراسة الجزئية المنجزة الى مقارنة تسلسل ADNr16S المحصل عليه بعد التكثيف بواسطة تقنية PCR مع تلك الخاصة بالسلالات النموذجية الموجودة على مستوى البنك الجينومي باستعمال برنامجي BLAST و ال MEGA. بينت تحاليل المقارنة بواسطة BLAST وكذلك الشجرات التطورية التي تم إنجازها أن السلالتين تنتميان الى الجنس *Streptomyces* حيث أن السلالة G61 تقترب من النوعين *Streptomyces lutues* و *Streptomyces mutabilis* بنفس نسبة التشابه 100% و السلالة B31 تقترب من النوع *Streptomyces alfalfae* بنسبة تشابه 100%. بالرغم من ارتفاع نسبة التوافق إلا أن تهجين ADN/ADN يعتبر ضروري للتصنيف النهائي للسلالتين.

الكلمات المفتاحية: تصنيف، *Streptomyces*، ADNr16S، تحديد التسلسل

Etude taxonomique des souches de *Streptomyces* isolées des sols Sahariens

Résumé

Notre étude a pour objectif l'identification morphologique et moléculaire des deux souches d'actinobactéries baptisées G61 et B31 isolés à partir des sols sahariens. Les résultats obtenus après l'étude morphologique nous ont permis d'affilier les deux isolats au genre *Streptomyces*. En effet, ces résultats ont montré que les deux isolats G61 et B31 ont une bonne croissance presque sur tous les milieux de culture utilisés et ayant des mycéliums aériens portant des chaînes de spores de type RA et S successivement. Ces caractéristiques morphologiques sont les traits typiques du genre *Streptomyces*. L'étude phylogénétique effectuée consiste à comparer les séquences d'ADNr 16S des deux isolats obtenues après PCR et séquençage avec celles des espèces contenues dans la banque génomique à l'aide du programme de BLAST et du logiciel MEGA-X 10.2. Les analyses de similitude par BLAST et les arbres phylogéniques construits ont confirmé l'appartenance des isolats au genre *Streptomyces* et ont déterminé que : l'isolat G61 est plus proche des deux espèces *Streptomyces lutues* et *Streptomyces mutabilis* avec le même pourcentage de similarité 100%. Tandis que, l'isolat B31 est plus proche de l'espèce *Streptomyces alfalfae* avec un taux de similarité 100%. Malgré le haut degré de similitude obtenu, une hybridation ADN/ADN avec les espèces les plus proches est demandée pour une identification finale.

Mots clés: *Streptomyces*, Taxonomie, ADNr 16S, Séquençage

Taxonomic study of *Streptomyces* strains isolated from Saharan soils

Abstract

The current study aims to identify morphologically and molecularly identification of the two actinobacteria strains named G61 and B31 isolated from Saharan soils. The results obtained after the morphological study allowed us to affiliate the two isolates to the *Streptomyces* genus. Indeed, these results showed that the two isolates G61 and B31 had a good growth almost on all the culture media used and have aerial mycelia carrying spore chains of type RA and S successively. These morphological features obtained are the typical traits of the genus *Streptomyces*. The phylogenetic study carried out consists in a comparison of the 16S rDNA sequences of the two isolates obtained after PCR and sequencing with those of the species contained in the genomic bank using the BLAST program and the MEGA-X 10.2 software. Similarity analyzes by BLAST and the phylogenic trees constructed confirmed that the isolates belong to the genus *Streptomyces* and determined that: the G61 isolate is closer to the two species *Streptomyces lutues* and *Streptomyces mutabilis* with the same percentage of similarity 100%. However, isolate B31 is closer to the species *Streptomyces alfalfae* with a 100% similarity rate. Despite the high degree of similarity obtained, DNA / DNA hybridization with the closest species is requested for final identification.

Keywords: *Streptomyces*, Taxonomy, 16S rDNA, Sequencing

Introduction

Les actinobactéries sont des bactéries mycéliennes à Gram positif, sont en général saprophytes, hétérotrophes, aérobies à microaérophiles et mésophiles (ou parfois thermophiles) (**Goodfellow et Williams, 1983; Kämpfer, 2006**). Leur grande capacité d'adaptation aux différentes conditions environnementales et leur grande variabilité métabolique leur a permis d'être répandus à l'échelle universelle dans presque tous les écosystèmes, avec toutefois une certaine préférence pour les sols (**Lechevalier, 1981; Goodfellow et Williams, 1983**).

L'importance des actinobactéries a de tout temps été soulignée dans divers domaines: dans le domaine industriel, dans les domaines médical et vétérinaire, dans l'agriculture et l'agro-alimentaire,

etc. (**George et al., 2012**). En effet, elles sont très utilisées dans de nombreux processus biotechnologiques pour la production d'enzymes, de vitamines, d'immunostimulants, d'immunosuppresseurs, de substances vasodilatatrices et anticholestérolémiques, d'antihistaminiques, d'anticancéreux, etc. (**Umezawa, 1988**). Elles sont aussi utiles dans la biodégradation de la matière organique et le recyclage des éléments dans les sols et interviennent dans la lutte biologique contre les maladies des plantes, grâce à leur grande aptitude à produire différentes substances inhibitrices vis-à-vis des autres microorganismes telluriques (**Goodfellow et Williams, 1983**).

L'identification des bactéries est une priorité absolue surtout lorsqu'il s'agit de germes pathogènes ou à intérêt industriel. La description phénotypique permet, certes, de "cadre" le germe, mais est-elle vraiment suffisante ? Tous les microbiologistes diront que non. Jusqu'au début des années 2000, au sein des laboratoires de microbiologie, l'identification bactérienne reposait essentiellement sur des études phénotypiques et/ou biochimiques dont l'interprétation nécessitait une expertise (**Khelili, 2015**). Ces méthodes restent limitées et présentent un délai d'identification relativement long. En plus elles ne permettent que très rarement une détermination plus fine que celle du genre et de l'espèce (**Oulmi, 2014**). Les progrès rapides de la technologie de séquençage de l'ADN ont conduit à des changements majeurs dans les études de taxonomie et d'identification bactériennes. Les outils bio-informatiques contribuent considérablement dans l'analyse des gènes voire même des génomes complets. L'utilisation de tels programmes devient de plus en plus une nécessité dans le domaine de la recherche biologique moléculaire, plus particulièrement dans la systématique et la phylogénie bactériennes. Leur emploi permet une interprétation plus adéquate et plus rationnelle des données moléculaires. Ainsi, plusieurs germes ont dû être reclassés dans de nouveaux genres auxquels ils n'appartenaient pas, et les différentes éditions du Bergey en sont l'exemple fulgurant (**Saib et Habibatni, 2014**).

Le séquençage du gène codant l'ARNr 16S permet l'identification du genre bactérien dans plus de 90% des cas et de l'espèce bactérienne dans 65% à 85%. Selon les études, 1 à 14% des isolats étudiés demeurent non identifiés après utilisation de cette méthode (**Lamoril *et al.*, 2008**). Dans tous les cas, l'identification par séquençage de l'ARNr 16S reste supérieure par rapport aux méthodes bactériologiques conventionnelles (**Tammine et Kikaia, 2015**).

L'objectif de notre travail repose sur une étude morphologique puis phylogénétique basée sur les séquences d'ADNr 16S de deux souches de *Streptomyces* isolées des sols Sahariens.

Le travail est divisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est relatif à une synthèse bibliographique qui comporte des généralités sur les actinobactéries, le genre *Streptomyces* et les méthodes d'identification des actinobactéries.

Le deuxième chapitre porte sur la présentation du matériel et à la description des méthodes utilisées.

Le troisième chapitre est consacré aux résultats et discussion suivie d'une conclusion et perspectives.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Actinobactéries

1- Définition et propriétés générales

Etymologiquement, le mot Actinomycète a été dérivé des mots grecs « Aktis » qui veut dire rayon et mykes qui veut dire champignon « Champignons à rayons » ou « Champignons rayonnants » (**Lamari, 2006**). Les actinobactéries ont été considérées comme un groupe intermédiaire entre bactérie et champignon. Actuellement, Elles sont reconnues comme des organismes procaryotes. Pourtant, ces micro-organismes présentent des similitudes à la fois avec les bactéries et avec les champignons (**Andriambololona, 2010**). Elles sont des bactéries saprophytes à Gram positif ayant une croissance qui donne lieu à des colonies circulaires et à une morphologie complexe (**Dgigal, 2003 ; Colombie, 2005**). Elles sont constituées d'hyphes, c'est-à-dire des filaments qui s'allongent par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Eunice et Prosser, 1983**). En général, les actinobactéries sont des bactéries chimioorganotrophes utilisant une grande variété de sources de carbone et d'énergie, y compris les biopolymères complexes (chitine, cellulose, lignine). Mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance, chimioautotrophe utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**). Elles possèdent un coefficient de Chargaff (GC%) élève compris entre 60-70% (**Larpent, 1989**). La plupart des espèces sont immobiles, aérobies, mésophiles et poussent de façon optimale dans une gamme de pH (5,0 et 9,0) avec une proximité optimale la neutralité (**Goodfellow et Williams, 1983**).

1- Morphologie

Les différents groupes d'actinobactéries sont très variables morphologiquement. Ils comprennent des formes peu évoluées comme le genre *Mycobacterium* (bâtonnets ou rarement mycélium rudimentaire), ou très évoluées, comme le genre *Streptomyces* qui forme un véritable mycélium non fragmenté et sporulant (**Smaoui, 2010**).

L'étude macroscopique des colonies formées sur milieux solides capable a regroupé les colonies en trois types :

- Colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens.
- Colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être détachées facilement de milieu.
- Colonies exemptes de mycélium de substrat et habituellement renfermées d'hyphes aériens attachées au milieu par des crampons (**Belyagoubi, 2014**).

Les critères morphologiques font appel aux caractéristiques culturelles sur différents milieux de culture et aux caractéristiques morphologiques (**Shirling et Gotlieb, 1966**).

Il s'agit alors de noter :

- la présence ou l'absence de mycélium aérien (MA).

- la couleur du MA et du mycélium du substrat (MS).
- la production et la couleur des pigments diffusibles.
- la production ou non de pigments mélanoides.

Les couleurs sont souvent déterminées grâce à l'utilisation de chartes de couleurs.

- Le mycélium est organisé en mycélium de substrat (appelé aussi mycélium végétatif) et mycélium aérien (**figure 1**), on distingue trois cas :
- Dans le cas de la formation de mycélium de substrat uniquement (exemple chez *Frankia*, *Dactylosporangium*), la multiplication localisée au sein ou bien à la surface du milieu.
- Dans le cas de la formation de mycélium aérien uniquement (exemple chez *Sporichthya*), les hyphes de ce mycélium sont attachées au substratum par crampons.
- Dans le cas de la formation de mycélium végétatif puis de mycélium aérien (exemples chez *Streptomyces*), le mycélium aérien croît à la surface de mycélium de base (de substrat ou végétatif) et utilise ce dernier comme substrat (**Djaballah, 2010**).

2.1.- Mycélium de substrat

Le mycélium du substrat mycélium primaire (ou encore végétatif se développe à partir du tube de germination des spores. La germination des spores comprend quatre étapes : l'activation : l'initiation. L'émergence du tube germinatif et sa croissance. Pour lesquelles le degré hygrométrique joue un rôle important. Le mycélium primaire est ancré dans le support solide dans lequel il puise ses nutriments Cette aptitude de formation de mycélium du substrat montre la capacité des actinobactéries à dégrader la matière organique insoluble grâce à leurs enzymes extracellulaires (**Locci, 1976**).

2.2.- Mycélium aérien

Après une certaine croissance du mycélium du substrat, les filaments se développent verticalement. Dans certains cas, les hyphes aériens se lèvent à partir de ramifications de mycélium du substrat (**Locci, 1976**). Une fois développé, le mycélium aérien couvre les surfaces de colonies en leur donnant un aspect poudreux, compact, poilu ou en chou-fleur. La production de mycélium aérien est influencée par plusieurs facteurs, notamment la composition du milieu de croissance, la température (**Pine, 1970**). Généralement le mycélium aérien est plus épais et moins ramifié que le mycélium du substrat qui est hydrophobe. Le mycélium du substrat est aérobic facultatif. Par contre, le mycélium aérien est aérobic strict (**Silvey et Roach, 1975**). Les actinobactéries aquatiques sont habituellement dépourvues de ce type de croissance (mycélium aérien) (**Moore et al., 1999**).

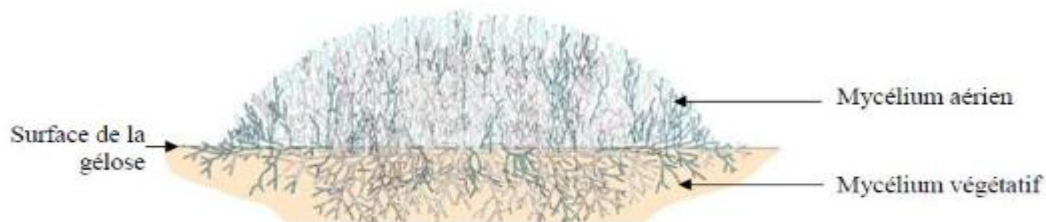


Fig 1. Une colonie du genre *Streptomyces* sur milieu solide

2.3.- Formation des spores

Les différents groupes d'actinomycètes peuvent sporuler, ces derniers peuvent être classés en deux groupes principaux selon leur mode de formation : exospores et endospores, ces spores permettent la propagation de l'espèce et la survie dans des conditions défavorables (**Djemai et Djemai, 2019**).

2.3.1.- Les exospores

Les actinobactéries forment des spores sur le mycélium aérien appelé les exospores, qui peuvent avoir des formes très variables, elles se développent par septation des extrémités des filaments, habituellement en réponse à une privation en éléments nutritifs (**Prescott et al., 2007**). La plupart ne sont pas résistante à la chaleur, mais contient des quantités plus importantes de potassium, de calcium et de manganèse que dans le mycélium de substrat (**Djemai et Djemai, 2019**).

2.3.2.- Les endospores

Les endospores sont produites par les actinobactéries thermophiles, ils naissent d'une régénération du cytoplasme avec la formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe, chez le genre *Thermoactinomyces*. A l'inverse des exospores, les endospores contiennent de l'acide dipicolinique, c'est un composé unique retrouvé exclusivement chez les cellules non végétatives. Ce dernier associé à de grandes quantités d'ion de calcium et de magnésium augmente la résistance des spores à la chaleur. Chez les actinobactéries *Actinoplanes et Pilimelia*, des zoospores mobiles (pourvues de flagelles) se forment à l'intérieur d'un sac fermé appelé sporange (**Figure 02**), les endospores sont issues d'une réorganisation cytoplasmique et de la formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe existant (**Getha et al., 2005 ; Kitouni, 2007 ; Djemai et Djemai, 2019**).

2.4.- Structures particulières

Certaines actinobactéries forment des structures particulières qui ne correspondent ni au mycélium ni aux spores et n'ont pas toujours une fonction définie (**Gerard et al., 2001**).

Le sclérote : trouvé chez les *Chainia* est déterminé par une masse des hyphes cloisonnées dans une vacuole et chargé de glycérides et d'acides gras ramifiés (**Prescott et al., 2003**).

Les sporanges : sont des sacs contenant les spores, présents sur les mycéliums aériens bien développés ou sur la surface des colonies dépourvues ou ayant un mycélium aérien Moins développé.

Les synnemata : (corémies), sont des assemblages compacts d'hyphes dressées, parfois fusionnées et portant des conidies apicales ou latérales (Leveau *et al.*, 1993).

Les Conidies : sont des spores asexuées qui peuvent avoir plusieurs organisations :

- * une seule conidie telle chez le genre (*Micromonospora*).
- * une paire de conidies chez le genre (*Microbispora*).
- * chaînes courtes de conidies formées d'un nombre inférieur ou bien égal à 20 spores par chaîne (*Actinomadura*).
- * longues chaînes de conidies formées d'un nombre de plus de 20 spores par chaîne (*Streptomyces*). (Prescott *et al.*, 2007).

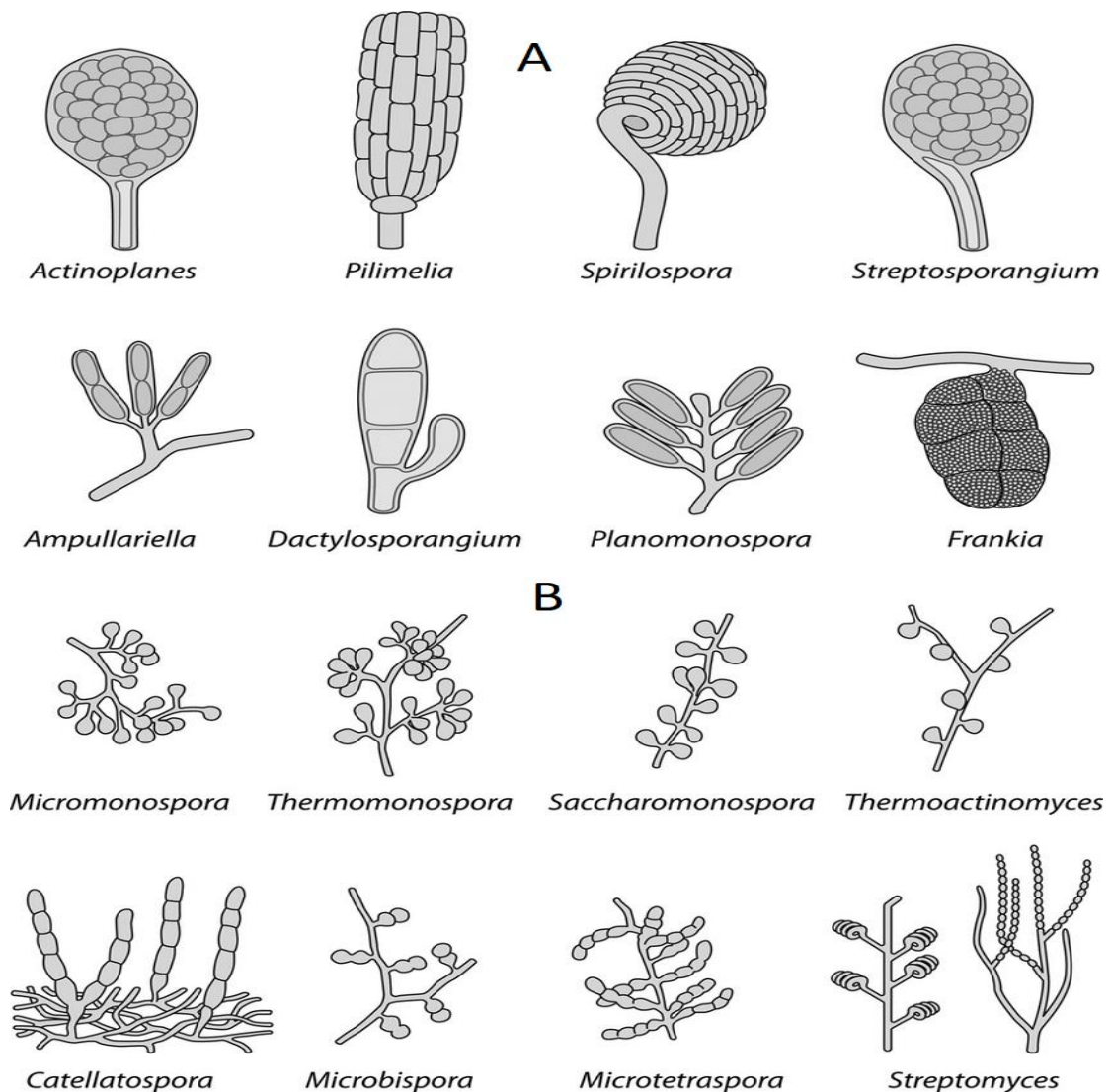


Fig. 02. Différentes chaînes de spores chez les actinobactéries ; spores endogènes (A) et Spores exogènes (B) (Breton *et al.*, 1989 ; Djemai et Djemai, 2019).

3.- Importance d'actinobactéries

3.1.- Importance en biotechnologie

Ce sont des microorganismes d'intérêt industriel par excellence, un producteur important des antibiotiques et d'autres molécules et substances bioactives (Yala, 2001). Environ deux tiers des antibiotiques connus ont été sécrétés par les actinobactéries (Xue, 2009), le genre *Streptomyces* sécrète plus de 80% de ces molécules et il est très exploité (Badji *et al.*, 2006).

La majorité des antifongiques naturels est d'origine microbienne et près de la moitié est synthétisée par les actinobactéries en particulier, par *Streptomyces* (Badji *et al.*, 2005). En ce qui concerne l'activité antifongique des antibactériens elle ne se limite pas seulement aux champignons filamenteux mais s'étend aux levures et aux dermatophytes.

- Elles sont également une source prometteuse de large gamme d'enzymes importantes, qui sont produites à l'échelle industrielle (Laccase, tyrosinase et cellulase...ect) (Figure 3).

- Elles produisent des inhibiteurs enzymatiques utiles pour le traitement du cancer et les immunomodifiants qui améliorent la réponse immunitaire, ils ont la capacité de dégrader une large gamme d'hydrocarbures, de pesticides et de composés aromatiques et aliphatiques (Skplovskaja *et al.*, 2003), ils effectuent de transformations de composés organiques.

- De nombreux genres d'actinobactéries peuvent être potentiellement utilisés dans la bioconversion des déchets agricoles et urbains sous-utilisés en produits chimiques de haute valeur. Leur potentiel métabolique offre un domaine de recherche importante (Djemai et Djemai, 2019).



Fig 3. Applications biotechnologiques des actinobactéries (Anandan, 2017).

3.2.- Importance en agronomie

Les actinobactéries ont un rôle important dans le recyclage de la matière organique grâce à leur capacité de dégrader des substances complexes et incapables d'être décomposés par les autres bactéries non mycéliennes et les champignons (**Lamari, 2006**), telles que la lignine, la cellulose, la chitine, la kératine.

- Ils participent donc activement à la Fertilisation des sols et décomposent les déchets urbains à haute teneur en produits chimiques. Les actinobactéries exercent une influence sur la croissance des plantes, et protègent-les racines contre les invasions des champignons (**Yilma et al., 2008**).

- Certains antibiotiques sécrétés par les actinomycètes ont trouvé une application dans la lutte contre quelques maladies des plantes, comme c'est le cas de la kasugamycine, les polyoxines et la blasticidine. Ces derniers ont été isolés grâce à leur très forte activité contre certaines maladies du riz et sont utilisés depuis longtemps et à grande échelle dans l'agriculture japonaise (**Djemai et Djemai, 2019**).

3.3.- Autres rôles

De nombreux actinomycètes peuvent dégrader différents polluants, y compris plusieurs pesticides, par exemple, des membres du genre *Arthrobacter* dégradent le **chlorophénol** (**Pizzul, 2006**) et certains genres comme *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium* et *Corynebacterium* se révèlent être d'une grande importance dans la dégradation des hydrocarbures (**Lacey, 1997**).

- Certaines espèces d'actinobactéries se sont révélées capables de dégrader ou de transformer des toxines produites par des champignons toxigènes (mycotoxines), certaines substances, comme la piramicine sont utilisées pour le traitement, les emballages et d'autres pour la protection de certains fromages (**Boudjella, 2007**).

- La géosmine qui donne à la terre une odeur de moisi (terreux) et à l'eau des réservoirs un goût et une odeur désagréables, est produite par certaines espèces d'actinomycètes appartenant aux genres *Streptomyces* et *Nocardiosis*, etc. (**Lechevalier, 1981 ; Goodfellow et Williams, 1983**).

4.- Ecologie

4.1.- Le sol

Le sol demeure l'habitat le plus important pour les actinobactéries dont les streptomycètes existants en tant que composante majeure de leurs populations, selon de nombreux rapports, les espèces du genre *Streptomyces* sont les plus isolées. Les actinobactéries terrestres présentent divers potentiels antimicrobiens intéressants (**Oskay et al., 2005**).

Il existe plusieurs rapports montrant la distribution des actinobactéries dans divers endroits tels que le sol sablonneux, le sol alcalin noir, le sol limoneux sablonneux et le sol de désert subtropical. Dans ces différents sols, *Streptomyces sp* était dominant suivis par d'autres genres tel que : *Nocardia*, *Nocardiopsis* et Actinomycètes (Cundell et picchoski, 2016).

4.2.- Eaux douces et marines

Les actinobactéries sont bien représentées dans ces milieux d'où l'on peut facilement isoler de souches de *Microspora*, d'*Actinoplans* et *streptosporangium* ou elles jouent un rôle important dans la décomposition de débris végétaux et donnent à l'eau son odeur de terre et sa flaveur. Alors qu'elles sont absentes dans les eaux minières très acides (PH<5) et sources thermales très chaudes d'origine volcanique (Hwang *et al.*, 2001).

4.3.- Air

L'air ne constitue pas habitat pour les actinobactéries, mais un moyen de transport des spores des actinobactéries sont des contaminants importants de notre environnement. Les spores de certaines actinobactéries se développent dans des matériaux détériorés et lorsqu'elles sont inhalées provoquant des maladies (nocardiose pulmonaire). Les spores d'actinobactéries thermophiles sont produites en grande quantité et sont facilement mises en suspension dans l'aire (Mozodier, 1974).

4.4.- Les composts

Des actinobactéries sont isolées des composts, il s'agit de genres thermophiles tels que *Thermoactinomyces* et *Sacharomonospora* et d'autres thermotolérants tels que *Microbispora* *Pseudonacardia* (Song *et al.*, 2001). Les actinobactéries sont actives dans les derniers stades du compostage, Ils se sont spécialistes dans l'attaque de structures plus résistantes comme la cellulose, la kératine, l'hémicellulose et la lignine (Zermane, 2007).

4.5.- Les végétaux les animaux et l'homme

Dans la distribution naturelle des actinobactéries, il faut ajouter les végétaux, les animaux et l'homme parmi les exemples les mieux connus qu'il faut citer : *Streptomyces scabies*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Nocardia asteroides* et *Micropolyspora Faeni* (Zermane, 2007). *Actinomyces massiliensi sp. nov.* isolée du sang d'un patient (Renvoise *et al.*, 2009) ; *Actinomyces timonensis sp. nov.* Isolée d'un patient qui atteint un osteo-articulation (Renvoise *et al.*, 2010). Le tableau 01 présent quelques habitats de certaines actinobactéries.

II- *Streptomyces*

Le genre *Streptomyces* comprend actuellement 975 espèces et 55 sous-espèces (Euzeby, 2021).

1.- Définition et caractéristiques principales

Streptomyces (du grec: *Streptos* : tordu ou courbé et *myces* : champignons) est le genre des actinobactéries le plus abondant et surtout le plus performant dans la production de métabolites secondaires (Williams, 1989). Les *Streptomyces* sont aérobies stricts et à Gram positif, chimoorganotrophes, catalase positive et appartiennent à l'ordre Actinomycetales de la classe Actinobacteria (Stackebrandt *et al.*, 1997). Ils possèdent un métabolisme oxydatif et un taux G+C% compris entre 69 et 78% (Korn-Wendisch et Kutzner, 1992 ; Hodgson, 2000 ; Stackebrandt et Schumann, 2006). La présence de l'acide LLdiaminopimelique et de glycine et l'absence de sucres caractéristiques est typique pour ce type de paroi cellulaire (Uchida et Seino, 1997 ; Stackebrandt et Schumann, 2006).

2.-Morphologie de *Streptomyces*

Au début de la croissance, les colonies des *Streptomyces* ont une surface lisse. Mais tout au long de leur développement, elles forment une trame avec le mycélium aérien qui apparaît floconneux, granuleux, poudreux ou velouté. Ils tendent à croître lentement en formant des filaments ramifiés de 0,5 à 2 µm de diamètre qui fragmentent rarement c'est le mycélium végétatif ou mycélium de substrat. Son développement se fait par croissance apicale des hyphes, accompagnée de ramification. Le mycélium aérien forme par contre à sa maturité des chaînes de spores non mobiles. Avec l'âge de la colonie, les sporophores du mycélium aérien sont produits sous forme de filaments multinucléaires sur la surface de la gélose, à l'intérieur desquels est observée la formation de septations suivis par la séparation de cellules individuelles qui se développent en conidies (chaînes de spores). Les spores diffèrent, selon les espèces, de forme (rondes, ovales ou cylindriques) et de taille. Le nombre des spores est de trois à cinquante par chaîne. Les chaînes de spores peuvent être de formes : droites, flexibles, rectiflexibles, monverticillées, biverticillées et en spires (figure 4) (Shirling et Gottlieb, 1966 ; Reddy *et al.*, 2010). Les *Streptomyces* produisent un grand nombre de pigments responsables des différentes couleurs du mycélium en plus des pigments diffusibles. Leur température optimale est située entre 25°C et 35°C (à l'exception des espèces thermophiles ou psychrophiles) et leur pH optimum entre 6,5 et 8 (Stackebrandt et Schumann, 2006).

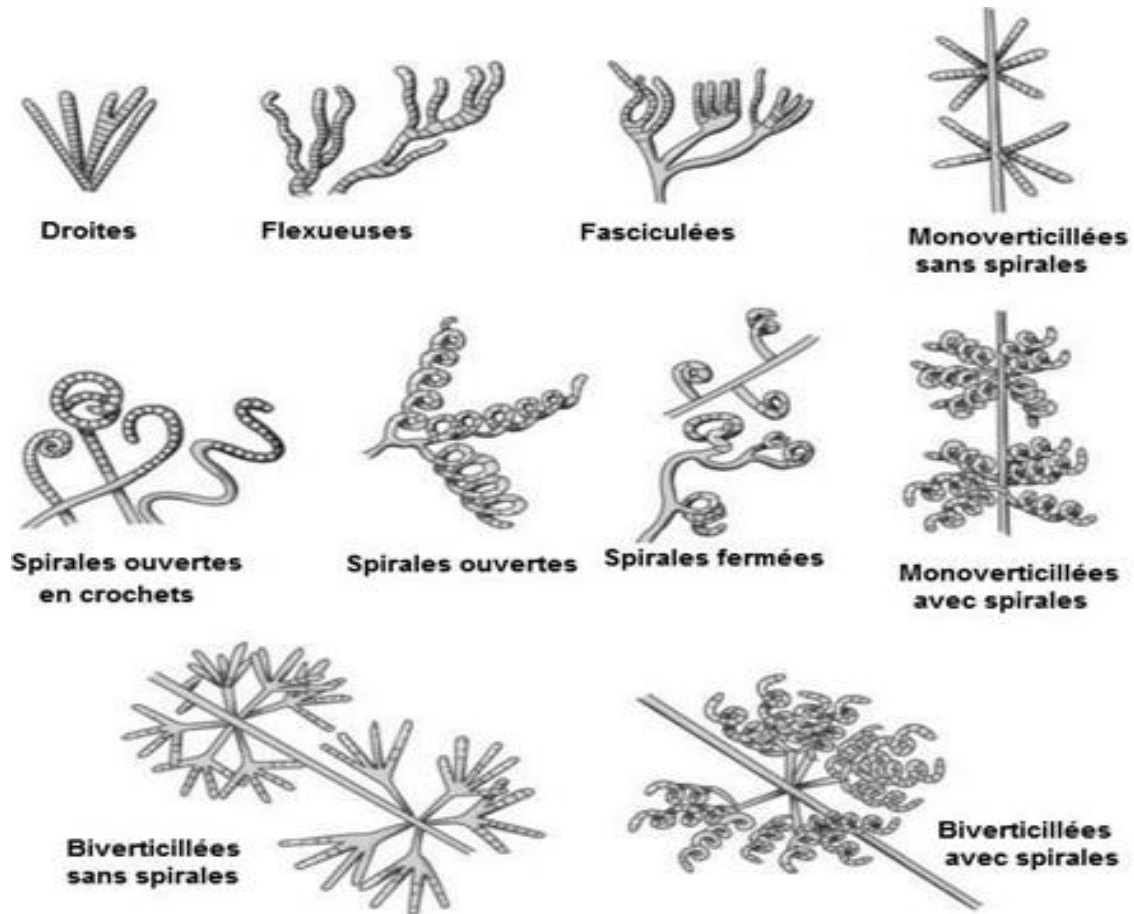


Fig. 4. Morphologie des différentes chaînes de spores chez les streptomycètes (Madigan *et al.*, 2011).

3.-Cycle de développement

Le genre *Streptomyces* peut utiliser un grand nombre de composés organiques comme source de carbone et d'énergie. Ce genre se distingue par un cycle de vie sur milieux solides (sols naturels ou gélose en laboratoire) qualifié de complexe. Le cycle « commence » avec une spore qui, dans des conditions favorables, va germer et croître en un mycélium végétatif qui va s'étendre et puiser dans son environnement des substances nutritives. Quand les conditions deviennent limitantes en substrat, un second type de mycélium se développe sur le premier. Celui-ci est dit aérien et se sert des réserves du mycélium basal pour se développer. Les extrémités de ce mycélium aérien vont ensuite se différencier, elles aussi, en chaînes de prés spores puis en spores uniques qui seront disséminées et pourront recommencer un nouveau cycle (Haas, 2015) (Figure 5). La nature hydrophobique est probablement présente pour permettre à la cellule de survivre en absence de l'eau (Dworkin *et al.*, 2006).

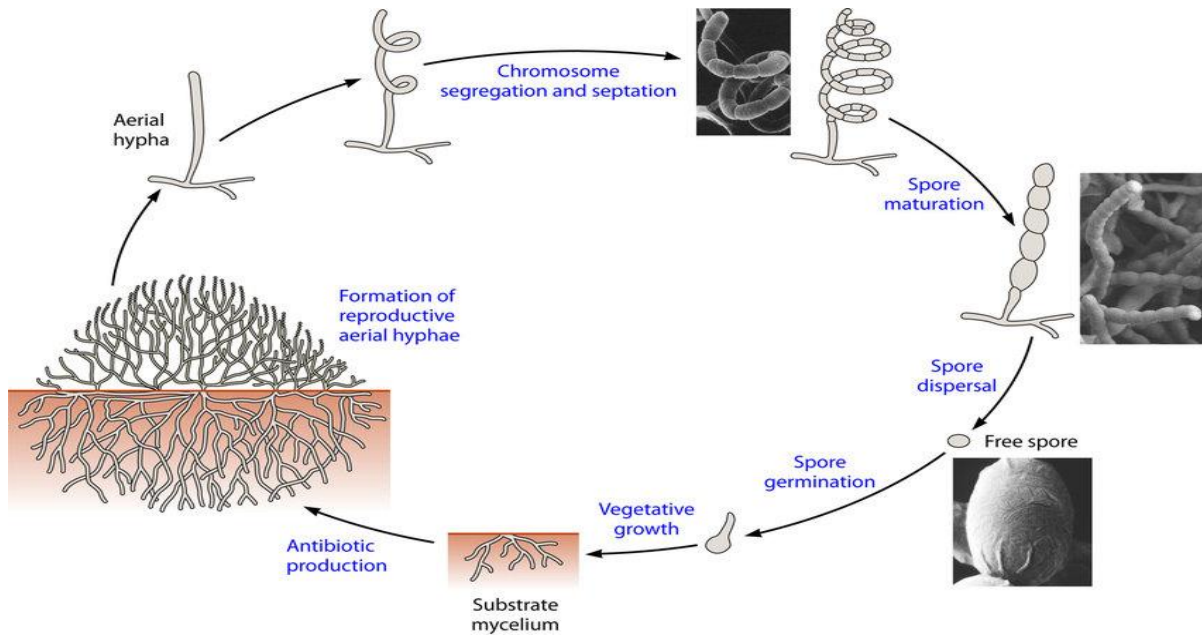


Figure 05. Cycle de vie de *Streptomyces* (Hopwood *et al.*, 1985)

4.- Taxonomie de *Streptomyces*

Le genre *Streptomyces* a été décrit pour la première fois par Waksman et Henrici en 1943 et classé dans la famille des *Streptomycetaceae* en se basant sur la morphologie et la composition de la paroi cellulaire. La famille *Streptomycetaceae* contient actuellement trois genres (*Streptomyces*, *Kitasatospora* et *Streptacidiphilus*) et 975 espèces (Euzeby, 2021 ; Stackebrandt et Schumann, 2006). *Kineosporia* et *Sporichthya* présentent quelques similarités chimiotaxonomiques avec les membres du genre *Streptomyces*, ce qui a conduit à les classer tous dans le même genre (Logan, 1994). Ils sont ensuite considérés comme deux genres indépendants en se basant sur les séquences des ARN ribosomales : *Sporichthya* est un genre de la famille *Sporichthyaceae* du sous-ordre *Frankineae* (Stackebrandt et Schumann, 2006) et *Kineosporia* est réuni avec les *Kineococcus* (Kudo *et al.*, 1998). L'identification des genres est facilitée par les études morphologiques tandis que les critères physiologiques et moléculaires (ex : hybridation ADN- ADN) séparent les espèces (Smaoui, 2010).

5.-Génétique

L'ADN chromosomique des *Streptomyces* a une taille moyenne estimée par des expériences d'électrophorèse en champs pulsés, d'environ 8000 kilobases ce qui en fait un des plus grands génomes bactériens, en effet la taille des chromosomes bactériens varie de 580 kb pour *Mycoplasma genitalium*, bactérie parasitaire à Gram+, à 9450 kb pour *Myxococcus xanthus* (Goldman *et al.*, 2006). Le chromosome de grande taille présente une organisation génétique unique, en effet la région centrale, conservée au travers des espèces, contient les gènes « essentiels

», les régions terminales sont spécifiques de souches et d'espèces et regroupent les gènes « accessoires ». Ces gènes représentent jusqu'à 20% du génome total. Les Streptomycètes sont connus pour la richesse de leur métabolisme secondaire et ont été largement étudiés du fait de l'importance évidente des métabolites secondaires en biotechnologie (**Hodgson, 2000**).

6.- Intérêt des *Streptomyces* en thérapeutique et en biotechnologie

Les *Streptomyces* produisent 70 à 80% des substances bioactives naturelles connues à application pharmaceutique ou agrochimique (**Manteca et al., 2008**). Continuellement de nouveaux métabolites à différentes activités biologiques sont isolés de souches *Streptomyces* (**Oskay , 2009 ; Kang et al., 2010**). Le premier et le plus important produit des *Streptomyces* est les antibiotiques (**Watve et al., 2001**). À partir de 1955 le genre *Streptomyces* devient, et va rester le grand fournisseur d'antibiotiques nouveaux (**Marinelli, 2009**). Ils constituent la source de substances antibactériennes, antifongiques (**Hopwood, 2007**), antitumorales, antiparasitaires (**Lakshmipathy et al., 2009**), antivirales, insecticides, pesticides et herbicides, en plus des substances pharmacologiques comme les immuno-modulateurs (substances immunosuppressives et immunostimulantes), les substances vaso-actives et les agents neurologiques (**Petrosyan et al., 2003**). Les *Streptomyces* produisent différents types d'enzymes telles que: la xylose isomérase issue d'un Streptomycète thermophile (**Hodgson, 2000**) ou la biodégradation de biopolymères (par exemple le chitosane (**Fukamizo et Brzezinski, 1997**) ou dépolluants organiques (par exemple l'acide phénylacétique (**Niraula et al., 2010**)).

III.- Taxonomie des actinobactéries

1.- Les méthodes conventionnelles d'identification des actinobactéries

1.1.- Critères morphologiques

Selon le manuel de **Bergey de 2012**, l'étude morphologique des actinobactéries comprend les caractères culturels macro et micromorphologiques. L'étude macromorphologique englobe les caractères suivants: la production ou non d'un mycélium aérien (MA); la présence ou non d'un mycélium de substrat (MS); la couleur du MA et du MS; la production ou non de pigments diffusibles. L'étude micromorphologique englobe les caractères suivants: la fragmentation ou non du MS; la formation de spores exogènes sur le MA et/ou sur le MS, leur forme, leur taille et leur agencement; la présence ou non de sporophores, la surface des spores; la présence ou non de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges, le nombre de spores par sporange ainsi que la longueur des sporangiophores; la présence de spores mobiles ou non mobiles; la formation d'endospores ou de structures spéciales telles que les synnemata, les sclérotés, les faux sporanges, etc.

1.2. Critères physiologiques

1.2.1. Caractères physiologiques utilisés

L'étude physiologique des actinobactéries consiste en des tests de dégradation de différents composés (glucides, lipides, protéines, polymères complexes, stéroïdes, etc.), des tests de résistance aux différents agents chimiques (antibiotiques, divers autres agents chimiques), la tolérance au pH, à la température, à la salinité, etc. (**Saker, 2015**).

1.2.2. Taxonomie numérique

A la fin des années 1950, suite au développement des techniques biochimiques analytiques, Sneath applique une méthode similaire aux bactéries et développe une taxonomie qualifiée de numérique ou d'adansonienne. De manière schématique, la méthode consiste à étudier, pour chaque souche, plus d'une centaine de caractères morphologiques, biochimiques, physiologiques etc. et à attribuer le même poids à chacun des caractères qui sont codés 1 (présence du caractère) ou 0 (absence du caractère). Les degrés de similitude entre individus sont finalement représentés sous la forme de dendrogrammes, et permettent de rassembler dans une même classe de similitude les individus les plus semblables. Les caractères métaboliques et physiologiques sont dès lors largement employés telles que les propriétés de décomposition des substrats (tyrosine, xanthine, acide urique, adénine, hypoxanthine, caséine, et urée), la capacité de croissance sur des substrats carbonés (citrate, acétamide, rhamnose, mannitol, sorbitol, etc.), les activités enzymatiques (arylsulfatase, catalase, acetamidase, galactosidase, uréase, etc.) et les caractères de sensibilité ou de résistance aux antibiotiques (ampicilline, amoxicilline + acide clavulanique, kanamycine, etc.). Pour les actinobactéries cette approche taxonomique a été utilisée par plusieurs chercheurs (**Kämpfer et al., 1991 ; Kim et al., 1996**).

1.3.- Critères chimiques

Ces critères consistent en la détermination de la composition cellulaire en acides aminés pariétaux, en glucides totaux, en phospholipides, en ménaquinones et en acides gras membranaires, et également en acides mycoliques pariétaux (**Larpent, 2000 ; Lechevalier et al, 1977**).

1.3.1.- Les acides aminés

La muréine, ou peptidoglycane, est un composant majeur de la paroi des bactéries à Gram +, dont les actinobactéries. L'analyse des acides aminés qui la constituent est utilisée pour déterminer des chimiotypes. Deux acides aminés sont taxonomiquement très importants, l'acide diaminopimélique (DAP), qui peut être sous deux formes, LL ou DL (mésos) selon les genres et la glycine qui peut être présente ou absente. Cette dernière forme des liaisons "ponts" entre les sous-unités peptidiques de la muréine (**Becker et al., 1964 et 1965 ; Yamaguchi,1965, Labeda et al.,**

1984). Chez certaines actinobactéries génétiquement proches des bactéries non mycéliennes, le DAP est remplacé par la lysine ou bien par l'ornithine ou encore l'acide diaminobutyrique.

1.3.2.- Les sucres

Les sucres diagnostiques sont principalement les couples arabinose-galactose, arabinose-xylose, rhamnose-galactose, ainsi que le madurose ou 3-O-méthyl galactose (**Lechevalier et Gerber, 1970; Lechevalier et Lechevalier, 1970b; Labeda et al., 1989**). Sur la base de la composition des cellules en acides aminés et en sucres, plusieurs chimiotypes ont ainsi été définis.

- Type IC : LL DAP + glycine, pas de sucres taxonomiquement importants (pas d'arabinose, xylose, rhamnose et madurose).
- Type IID : DL DAP + glycine + arabinose + xylose.
- Type IIIB : DL DAP + madurose.
- Type IIIC : DL DAP, pas de sucres caractéristiques.
- Type IIIE : DL DAP + rhamnose + galactose.
- Type IVA : DL DAP + arabinose + galactose.
- Type V : ornithine + lysine.
- Type VI : lysine.

Le chimiotype pariétal a permis de faire la distinction entre les genres présentant des caractères morphologiques assez proches (Williams et Wellington, 1981), comme par exemple *Nocardiopsis* et *Streptomyces* (**Boudjelal-Bencheikh, 2012**).

1.3.3.- Les lipides

Chez certains genres d'actinobactéries, la composition en acides aminés et en sucres n'est pas suffisante pour leur identification. L'analyse des lipides est un autre élément qui, tout comme le type de paroi cellulaire, fournit des informations de valeur dans la classification et l'identification microbienne. Les lipides taxonomiquement importants peuvent être répartis en trois groupes : les lipides contenant une partie polaire (phospholipides), les ménaquinones, les acides gras et parfois les acides mycoliques (**Lechevalier et Lechevalier, 1980 ; Collin et al., 1977**).

1.3.3.1.- Les phospholipides :

La diversité des phospholipides a permis à Lechevalier et al. (1977) de distinguer cinq chimiotypes notés de PI à PV et caractérisés par la présence généralement d'un ou de deux phospholipides caractéristiques (**Tableau 1**).

Tableau 1. Types de phospholipides caractéristiques présents chez les actinobactéries (Lechevalier *et al.*, 1977).

Type de phospholipides	PE	PC	PG	PGI	Exemples
PI	-	-	-	v	<i>Actinomadura</i> , <i>Spirillospora</i>
PII	+	-	-	-	<i>Streptomyces</i> , <i>Pseudonocardia</i>
PIII	-	+	-	v	<i>Actinopolyspora</i> , <i>Amycolatopsis</i> , <i>Nocardiosis</i>
PIV	+	-	+	-	<i>Nonomurea</i> , <i>Prauserella</i> , <i>Saccharopolyspora</i>
PV	-	-	+	+	<i>Oerskovia</i>

Note : PE : phosphatidyléthanolamine ; PC : phosphatidylcholine ; PG : phospholipides contenant de la glucosamine ; PGI : phosphatidylglycérol. + : présent ; - : absent ; v : variable suivant les espèces et les souches.

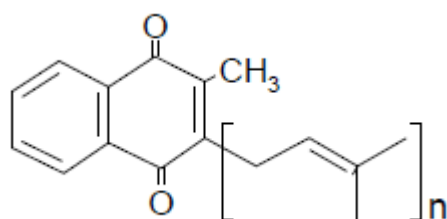
1.3.3.2.- Les acides gras

La composition en acides gras des membranes plasmiques a également contribué dans la séparation entre certains genres (Minnikin *et al.*, 1975) et est ainsi utilisée en combinaison avec les autres critères chimiques. Leurs types et leurs pourcentages sont caractéristiques de plusieurs genres (Grund et Kroppenstedt, 1990 ; Kroppenstedt *et al.*, 1990).

1.3.3.2.- Les ménaquinones

Les ménaquinones sont des composés lipidiques membranaires constitués d'un noyau quinone méthylé et d'une chaîne carbonée aliphatique contenant des unités isoprènes. Ils sont classés suivant le nombre de ces unités et le degré d'hydrogénation (saturation) de la chaîne (Collins *et al.*, 1980).

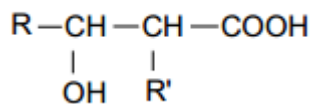
Ex. : ménaquinone MK10 (H2) présent chez *Nocardiosis* : ménaquinone avec dix unités isoprènes dont deux sont hydrogénées. Les ménaquinones ont apporté un complément intéressant en permettant de confirmer les résultats obtenus avec les phospholipides. Leur structure générale est la suivante :



Entre crochets = unité isoprène.

1.3.3.3.- Les acides mycoliques

Les acides mycoliques sont des lipides pariétaux complexes et insaturés contenant 20 à 90 atomes de carbone. Ils sont importants uniquement pour différencier certaines actinobactéries ayant le chimiotypes IVA (**Mordarska et al., 1972**), comme par exemple le genre *Nocardia* (46-64 atomes de carbone) et *Williamsia* (50-56 atomes de carbone) (**Goodfellow et al., 2012**). Leur structure générale est la suivante



R et R' sont des chaînes de CH, CH₂ et CH₃.

2. Méthodes moléculaires

L'avènement de la phylogénie moléculaire est à l'origine d'une avancée scientifique majeure datant de la fin des années 1970. C'est une nouvelle approche de classification bactérienne, qui désigne le développement évolutif d'une espèce. Actuellement, il n'est plus possible de proposer la création d'une nouvelle espèce sans passer par les analyses génétiques. L'introduction de la phylogénie basée sur l'analyse de séquences d'acides nucléiques en systématique microbienne a permis une classification des microorganismes en termes d'évolution et une clarification des lignées phylogénétiques entre elles et des niveaux taxonomiques c'est-à-dire espèces, genres, familles etc. (**Pace, 1997**).

Les principales analyses moléculaires utilisées en taxonomie des actinobactéries pour la détermination des espèces sont le séquençage de l'ADN ribosomique 16S et l'hybridation ADN-ADN. Le pourcentage de G + C n'est obligatoirement demandé que lors d'une proposition de création de nouveaux genres. (**Saker, 2015**).

2.1.- Séquençage du gène ARNr 16S

L'ARN ribosomal (ARNr) 16S est le constituant ARN de la petite sous-unité ribosomale du 30S des procaryotes. Le gène codant l'ARN ribosomal 16S est présent dans l'ensemble des espèces bactériennes en un nombre variable de copies (**Woese, 1987 ; Petti, 2007**), il est composé d'environ 1500 nucléotides et constitué de sept régions hautement conservées tout en contenant de courtes séquences signatures spécifiques de genre et parfois d'espèces et de neuf régions hypervariables (**Chakravorty et al., 2007**). Ces caractéristiques particulières font de ce gène une cible intéressante. L'identification moléculaire des bactéries repose essentiellement sur l'analyse de la séquence du gène ARNr 16S. La partie de l'ADN génomique (ADNr), codant pour l'ARN ribosomique (ARNr 16S) est amplifiée par PCR, puis la séquence du produit est déterminée. La séquence obtenue est ensuite comparée via le réseau internet, à l'aide de logiciels spécifiques avec les banques électroniques des séquences comme " Nucleotide " du portail NCBI (appelée GenBank), ou EMBL

en Europe. La généralisation de l'analyse des séquences du gène codant pour l'ARNr 16S a incité les auteurs à corrélérer les pourcentages d'identité entre les séquences de ce gène et les pourcentages de réassociations ADN/ADN. Il a ainsi été mis en évidence que des séquences du gène codant pour l'ARNr 16S ayant des similarités inférieures à 98.65% ne correspondaient jamais à des pourcentages de réassociation ADN/ADN supérieurs à 70% (**Kim et al., 2014**).

Il y a certains logiciels permettent de positionner la séquence obtenue au laboratoire parmi l'ensemble des séquences ARNr 16S disponibles sous forme d'arbres phylogénétiques (**Swerdlow et al., 1991 ; Zhang et al., 2003**).

2.2.- Hybridation ADN-ADN

Les études des réassociations ADN-ADN sont également utilisées dans la classification des actinobactéries pour déterminer les espèces. En utilisant les ADN de souches de référence, le taux de réassociation ADN-ADN permet de décider si la souche analysée représente ou non une nouvelle espèce. Deux espèces sont considérées différentes si elles ont un taux de réassociation de leurs brins d'ADN inférieur à 70% (**Stackebrandt et Goebel, 1994**). Cependant, ces dernières années, le séquençage du génome entier des actinobactéries (et autres procaryotes) commence à prendre de l'ampleur et des banques de données sont en train d'être progressivement construites. De ce fait, d'ici quelques années cette technique pourra être généralisée et utilisée à la place du séquençage du gène codant pour l'ARN 16S, mais aussi à la place de l'hybridation ADN-ADN dont les limites et la corrélation avec le séquençage du génome entier ont été indiquées par **Li et al. (2015)**.

2.3.- Pourcentage de guanine - cytosine (G + C)

Parmi les caractères importants non seulement dans la reconnaissance des genres mais aussi des familles d'actinomycètes (qui commencent actuellement à être bien définis), nous noterons la détermination du coefficient de Chargaff (G + C %) qui a permis de reconsidérer la définition des actinomycètes dont l'ADN contient un pourcentage de G + C supérieur à 55 %. Ceci a permis de différencier la lignée des actinomycètes de celle des *Bacillaceae*, des *Lactobacillaceae* et d'autres bactéries à Gram + (G + C inférieur à 55 %). De même, d'autres bactéries non mycéliennes telles que *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter* et même *Micrococcus*, sont considérés comme faisant partie de la lignée phylogénétique des actinobactéries (**Stackebrandt et al., 1981b; Goodfellow, 1989**).

3.- Méthodes de construction de phylogramme

Plusieurs méthodes ont été développées pour construire un arbre phylogénétique à partir d'un ensemble de données d'individus. Ces données peuvent être phénotypiques (caractères morphologiques, physiologiques, etc.) ou génotypiques (séquences d'ADN ou de protéines). De manière générale, les méthodes de construction phylogénétique peuvent être divisées en :

3.1.- La méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)

C'est une méthode simple utilisée pour construire des arbres phylogénétiques lorsque les séquences ne sont pas trop divergentes. Cette méthode repose sur la théorie de l'horloge moléculaire qui suppose que tous les individus issus de parents communs subissent le même taux de mutation au cours de leur évolution (substitutions, délétions et insertions). REFERENCE

3.2.- Méthode Neighbor-Joining (NJ)

C'est un procédé de construction des arbres phylogénétiques basé sur le calcul de distances entre les séquences prises deux à deux (**Saitou et Nei, 1987**). Contrairement à la méthode UPGMA, la méthode NJ autorise des taux de mutations différents donc des longueurs de branches inégales car elle ne suppose pas l'existence d'une horloge moléculaire. La méthode NJ tente de corriger UPGMA puisqu'elle suppose que les caractères des taxons évoluent indépendamment les uns des autres. REFERENCE

3.3.- Méthode de parcimonie

La méthode de parcimonie est la plus simple sur le plan théorique (**Fitch, 1971**). Elle permet de réduire au minimum le nombre de substitutions nécessaires pour obtenir la topologie finale, c'est-à-dire l'arbre le plus parcimonieux qui présente le moins de mutations possibles. Cette méthode est valable pour les séquences très proches. Contrairement aux deux méthodes précédentes, cette méthode permet d'obtenir différentes topologies d'arbres phylogénétiques. Quel que soit la topologie la longueur des branches séparant deux organismes est proportionnelle à leur distance évolutive.

Une autre différence avec les méthodes de distance est que l'on n'utilise pas la totalité des sites dans la séquence mais uniquement les sites dits informatifs (c.à.d. qui vont tendre à favoriser un ou plusieurs arbres par rapport aux autres) (**Luchetta, 2005**).

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.-Matériel

1.1.- Les isolats d'actinobactéries

Deux isolats d'actinobactéries ont été utilisés dans le présent travail. Il s'agit de *Streptomyces* G61 isolé par Belghit en mars 2011 à partir de sol de palmeraies de Ghardaïa et *Streptomyces* B31 isolé par Melouh et Aïcha en 2009 à partir de sols de Reg de Djelfa. Le séquençage de ses ADNr 16S a confirmé leur appartenance au genre *Streptomyces*. Ils ont été sélectionnés pour leurs activités antifongiques. Leurs provenances ainsi que leurs caractéristiques morphologiques sont consignées dans le **Tableau 2**.

Tableau 2. Provenances et quelques caractéristiques des souches de *Streptomyces* utilisés.

Souches	Sol de :	Antibiotique d'isolement	Morphologie sur le milieu chitine vitamines B
G61	Palmeraie	Pénicilline	Chaines de type RA, 2 à 6 tours, MA gris
B31	Reg	Témoin sans antibiotique	Chaines de type S, 2 à 8 tours, MA Blanc jaunâtre

Note : RA : Retinaculum-Apertum ; S= Spira (chaines de spores spiralées) ; MA : Mycélium Aérien

2- Etude taxonomique des isolats

2.1.- Caractéristiques culturelles et morphologiques

L'étude des caractéristiques culturelles des colonies a été effectuée aux 7^e, 14^e, et 21^e jours d'incubation à 30°C, sur différents milieux solides: ISP2, ISP3 et ISP4 préconisés par l'International *Streptomyces* Projet ou ISP (**Shirling et Gottlieb, 1966**), Bennett et gélose nutritive (la composition des milieux est donnée en annexes). Les couleurs des mycelia aérien et du substrat ainsi que celle des pigments solubles sont définies avec une charte de couleurs (Color Name chart illustrated with centroid color ISCC-NBS). Les souches d'actinobactéries sont observées sur les différents milieux cités précédemment à l'aide d'un microscope photonique Zeiss aux grossissements (100 et 400). Ces observations sont faites directement sur les boîtes de Pétri dans le but d'étudier le mycélium en place sans altérer sa structure. Les principaux caractères notés sont: l'emplacement des spores sur le mycélium aérien et le mycélium du substrat, leur agencement (isolées, en chaînes droites ou spiralées, etc), la présence ou non de structure particulières (sclérotés) et la fragmentation ou non du mycélium du substrat.

2.2.- Caractéristiques moléculaires

L'étude moléculaire des 2 souches d'actinobactéries est basée sur l'extraction, l'amplification par PCR de l'ADN codant pour l'ARN ribosomique 16S (ADNr 16S) et la détermination de sa séquence.

2.2.1.- Extraction de l'ADN génomique

L'ADN est obtenu à partir d'une culture agitée de la souche d'actinobactérie dans 100 mL de milieu ISP2 à 30°C pendant 5 jours. La culture est centrifugée puis le mycélium est lavé deux fois à l'eau bidistillée. La méthode d'extraction de l'ADN est celle de **Liu et al. (2000)**. Elle consiste à:

- mettre dans un tube Eppendorf stérile (de 1,5 mL), 500 µL de la solution de lyse composée de: Tris-HCl [pH 8,0]: 400 mM; EDTA [pH 8,0]: 60 mM; NaCl: 150 mM; Sulfate de sodium dodécyl: 1%.
- ajouter en dispersant une petite quantité de mycélium à l'aide d'une spatule stérile et laisser pendant 10 min à température ambiante.
- ajouter 150 µL d'une solution composée de 60 mL d'acétate de potassium 5 M, 11,5 µL d'acide acétique glacial et 28,5 µL d'eau distillée (le pH final de cette solution est de 4,8). Vortexer brièvement, centrifuger à 10 000 rpm pendant 1 min, transvaser le surnageant dans un autre tube Eppendorf, centrifuger comme précédemment et transférer le surnageant dans un nouveau tube Eppendorf.
- ajouter un volume égal d'isopropanol et mélanger le tube brièvement par inversion, puis centrifuger à 10 000 rpm pendant 2 min et éliminer le surnageant.
- laver l'ADN avec 300 µL d'éthanol à 70%, centrifuger à 10 000 rpm pendant 1 min, éliminer le surnageant et sécher le culot (l'ADN) à l'air et suspendre de nouveau le culot dans 50 µL d'eau bidistillée stérile.

2.2.2.- Quantification de l'ADN

Pour contrôler sa pureté, l'échantillon d'ADN est dilué 200 fois dans du tampon TE, puis sa densité optique (DO) est mesurée au spectrophotomètre, à deux longueurs d'ondes différentes : 260 nm (longueur d'onde d'absorption des acides nucléiques, ADN et ARN) et 280 nm (longueur d'onde d'absorption des protéines). Si le rapport des DO : $DO_{260\text{ nm}}/DO_{280\text{ nm}}$ est $\leq 1,8$ il y a contamination par des protéines (**Belghit, 2016**).

Si le rapport est $\geq 2,0$ il y a contamination par des ARN. Le calcul de la quantité d'ADN nous est donné par la formule suivante : $[ADN] = DO_{260\text{ nm}} \times 50 \times \text{facteur de dilution}$ (µg / mL).

Remarque : 1 unité $DO_{260\text{ nm}} = 50 \mu\text{g/mL}$ d'ADN.

2.2.3. Amplification par PCR

L'amplification de l'ADNr 16S est réalisée par PCR (Polymerase Chain Reaction) avec un kit Invitrogen, en utilisant deux amorces : 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') et 1492r (5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'). Le mélange réactionnel contient, pour un volume final de 50 µL : Tampon PCR 1X (Tris-HCl 10 mM, KCl 50 mM, pH 9,0 à 25°C); MgCl₂: 1,5 mM; dNTP: 200 mM; Amorce 27f: 1 mM; Amorce 1492r: 1 mM; Taq DNA polymérase: 1,25 U; Extrait ADN: 1 µL (500 ng). L'amplification est réalisée dans un thermocycleur " STRATAGENE RoboCycler Gradient 96" selon le profil suivant :

- une étape initiale de dénaturation à 98°C pendant 3 min, suivie de l'addition de Taq polymérase.
- 30 cycles d'amplification à 94°C pendant 1 min, 52°C pendant 1 min et 72°C pendant 2 min.
- une étape finale d'extension à 72°C pendant 10 min.

Les amplifias obtenus sont visualisés sur gel d'agarose comme décrit précédemment.

2.2.4. Séquençage de l'ADNr 16S

Après l'amplification par PCR, le séquençage a été effectué par la compagne MilleGen (Toulouse-France) en utilisant les mêmes amorces utilisées en PCR.

2.2.5.- Etude phylogénétique

2.2.5.1.- correction et traitement des séquences brutes

Les séquences brutes obtenues (800 à 1100 pb) sont traitées informatiquement grâce au programme MEGA-X 10.2 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis program, version 10) pour extraire la séquence du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S (ADNr 16S). Dans ce traitement, La séquence anti-sens est inversée puis alignée avec la séquence sens; les séquences en communes sont ensuite enlevées et l'extrémité 3' de la première avec celle 5' de la deuxième sont rattachées pour avoir une seule séquence d'ADNr 16S, de 1400 à 1500 pb (selon la qualité et la longueur des séquences initiales). Les séquences obtenues après ce traitement sont déposées en annexe.

2.2.5.2.- Comparaison avec la banque des séquences

Une fois les séquences d'ADNr 16S sont déterminées, ces dernières sont comparées, grâce au BLAST, aux séquences homologues d'espèces de référence répertoriées dans la banque génomique NCBI. Cette comparaison a été faite par le biais de serveur EzTaxon (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon> ; Kim *et al.*, 2012). Cette comparaison permet d'établir le pourcentage d'identité de nos souches avec les espèces les plus proches pour déterminer l'affiliation phylogénétique.

2.2.5.3.- Alignement multiple des séquences

L'alignement multiple des séquences est une tâche cruciale en biologie moléculaire. Il permet d'analyser des séquences d'ADN ou de protéines et déterminer les régions homologues entre les séquences. L'alignement multiple est utilisé dans la construction des arbres phylogénétiques (Benlahrache, 2007). Les séquences de l'ADNr 16S des 15 espèces type du genre *Streptomyces* ont été récupérées de la banque génomique NCBI. L'alignement des séquences est effectué à l'aide du logiciel MEGA-X 10.2. Les séquences des souches d'actinobactéries sont alignées avec les séquences de références par l'outil CLUSTAL W, puis l'ensemble des données alignées est utilisé pour l'analyse phylogénétique avec le logiciel MEGA-X 10.2.

2.2.5.4.- Construction des arbres phylogénétiques

Les arbres phylogénétiques ont été construits avec le programme Mega version X 10.2. Les matrices des distances d'évolution sont générées comme décrit par Jukes et Cantor (1969). Les algorithmes de construction des topologies des arbres phylogénétiques sont celles de la méthode du neighbor-joining (Saitou et Nei 1987). La validation statistique des liens phylogénétiques établis est effectuée par le test du Bootstrap dont les valeurs sont basées sur le résultat de 1000 analyses (Felsenstein, 1985).



Fig 6. Interface du logiciel MEGA-X 10.2

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

L'étude taxonomique des deux isolats G61 et B31 a été faite sur deux axes : morphologique et moléculaire

1.- Etude morphologique des isolats

1.1.- Résultats

1.1.1.- Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolats

Les résultats des caractéristiques culturelles et morphologiques des 2 isolats cultivés sur différents milieux solides (ISP2, ISP3, ISP4, Bennett et GN), sont rapportés dans le tableau 3. Les caractéristiques culturelles de chaque isolat sont les suivantes:

1.1.1.1.- Caractéristiques culturelles de l'isolat *Streptomyces* G61

La croissance de l'isolat G61 est bonne sur les milieux ISP2, ISP3 et BN, moyenne sur ISP4 et GN après 2 semaines d'incubation à 30°C. Il a un mycélium aérien gris blanchâtre sur tous les milieux. Ses chaînes de spores sont en crochets ou en boucles fermées (type RA = *Retinaculum Apertum*) et contiennent 3 à 10 spores non mobiles portées par des courts sporophores (figure 8a). Son mycélium de substrat n'est pas fragmenté, de couleur gris jaunâtre sur ISP3 et BN, gris clair sur ISP2 et ISP4 et jaune clair sur GN (**Figure 7**). Les pigments diffusibles ne sont pas produits sur tous les milieux.

1.1.1.4.- Caractéristiques culturelles de l'isolat *Streptomyces* B31

L'isolat B31 est caractérisé par une bonne croissance sur les milieux de culture : ISP2, ISP3, ISP4, Bennett et GN. Cet isolat a une morphologie typique des *Streptomyces* de type S (spira), il possède un mycélium de substrat n'est pas fragmenté de couleur marron foncé sur ISP2, ISP3 et ISP4 et marron claire sur BN et GN (**Figure 7**). Le mycélium aérien est blanc jaunâtre contenant des chaînes spirales (6 à 8 tours) de 10 à 50 spores (**Figure 8**).

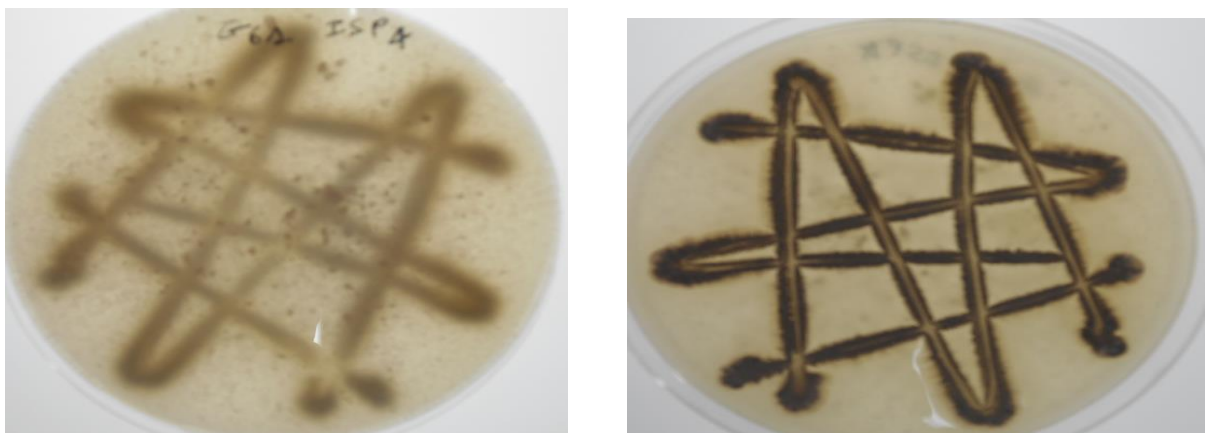


Fig 7. Macromorphologie des deux isolats G61 et B31 sur milieu ISP4 montrant la couleur du mycélium de substrat

Tableau 03. Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolats

Isolat	Milieu	Croissance	Macromorphologie			Micromorphologie
			M.A.	M.S.	P.S.	
G61	ISP2+ISP4	+++,,+	gris blanchâtre	gris claire	-	type RA, 3 à 10 spores.
	ISP3 + BN	+++	gris blanchâtre	gris jaunâtre	-	type RA, 3 à 10 spores.
	GN	++	gris blanchâtre	jaune claire	-	type RA, 3 à 10 spores.
B31	ISP2+ISP3+	+++	blanc jaunâtre	Marron foncé	-	type S, 10 à 50 spores.
	ISP4					
	BN+GN	+++	blanc jaunâtre	Marron claire	-	type S, 10 à 50 spores.

Note: + = croissance faible; ++ = croissance moyenne; +++ = bonne croissance. - pas de pigment soluble; RA = Retinaculum-Apertum; (Chaînes en crochets ou en boucles). S = Spira (chaînes spiralées)

M.A : Mycelium, Aerien ; **M.S :** Mycelium de Substrat; **P.S :** Pigments solubles

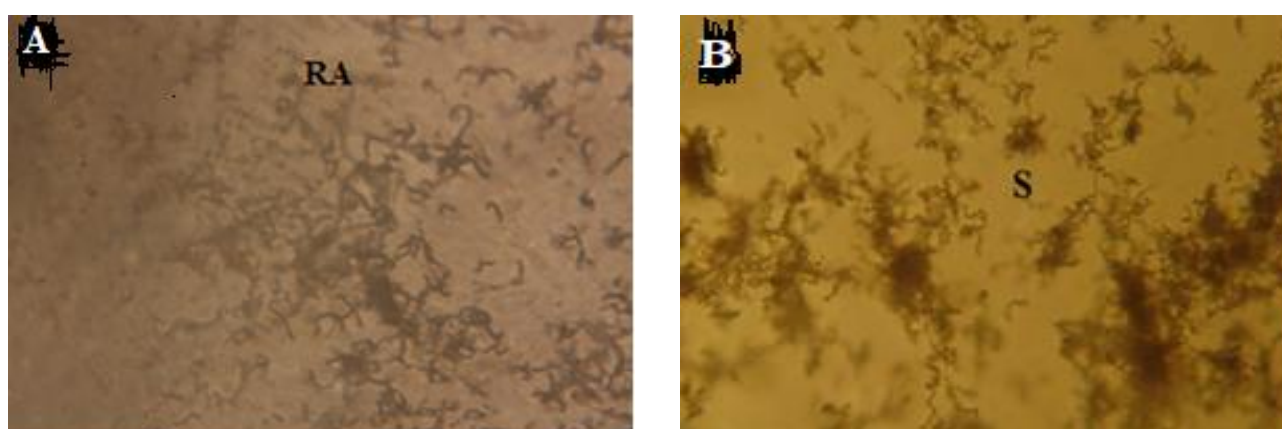


Fig. 8. Micromorphologie des 2 isolats sur les deux milieux de culture (ISP4 et ISP2) en microscope optique (Gx40).

A = chaînes de spores de type RA de l'isolat G61 cultivé sur ISP4

B = chaînes de spores de type S de l'isolat B31 cultivé sur ISP2

2.- Etude moléculaire des isolats

2.1.- Résultats

L'extraction de l'ADN génomique ainsi que l'amplification par PCR et le séquençage des gènes ont permis l'obtention de séquences nucléotidiques de (1474 pb pour G61 et 1485 pour B31). Après, une comparaison des séquences obtenues avec celles disponibles au niveau de la banque de données NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) en utilisant le programme BLAST (**Benson et al., 2013**) via le serveur EzTaxon a montré que les isolats appartiennent au genre *Streptomyces* et se rapprochent des souches types avec le même pourcentage de similarité 100% (**figure 9**).


Les séquences des deux isolats ont été déposées dans Genbank et sont enregistrées sous des numéros d'accèsion (**tableau 4**).

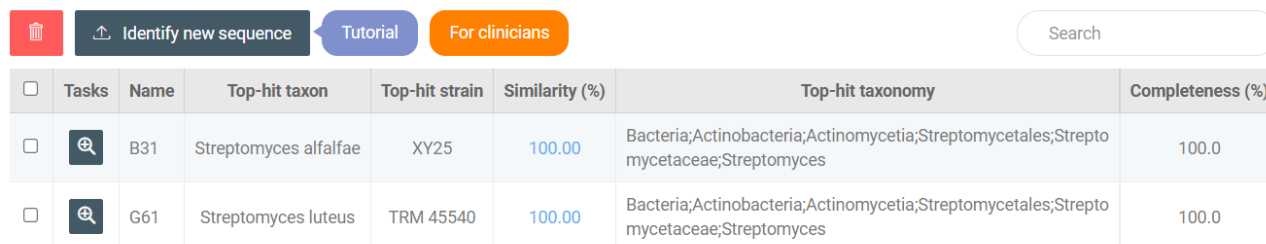
Tableau 4. Taille des séquences et leurs numéros d'accèsion dans la GenBank.



Souche séquencée	Taille de séquence ADN 16S (pb)	Nombre d'accèsion
G61	1474	KM999988
B31	1485	KM999986

My Identifications: 2

EzBioCloud's identification service provides proven similarity-based searches against quality-controlled databases of 16S rRNA sequences.

The top-hit information for each identification is the top hit against all prokaryotic names. Hits against only valid prokaryotic names can be viewed in the details page, which can be accessed by clicking the detail icon  for each Identify Job.



<input type="checkbox"/>	Tasks	Name	Top-hit taxon	Top-hit strain	Similarity (%)	Top-hit taxonomy	Completeness (%)
<input type="checkbox"/>		B31	Streptomyces alfalfae	XY25	100.00	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	100.0
<input type="checkbox"/>		G61	Streptomyces luteus	TRM 45540	100.00	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	100.0

Showing 1 to 2 of 2 rows

Fig 9. Capture d'écran montrant l'identification des deux isolats sur le serveur EZtaxon

L'alignement multiple en utilisant le programme CLUSTAL W des séquences d'ADNr 16S des isolats et ceux présentant un haut degré de similitude a permis de mettre en évidence leur phylogénie et la détermination des espèces apparentées. Les résultats du BLAST et l'arbre phylogénétique pour chaque isolat sont les suivants:

2.1.1.- Etude moléculaire de l'isolat G61

D'après les résultats du blast (tableau 5) et l'arbre phylogénétique (figure 10), il apparaît que l'isolat G61 appartient au genre *Streptomyces* et se rapproche des deux souches *Streptomyces luteus* NBRC TRM 455405(T)/ KN039946 et *Streptomyces mutabilis* NBRC 12800(T)/ AB184156 avec le même pourcentage de similitude 100%. Cet isolat forme un cluster avec les deux espèces précédentes par une branche unique (indice de bootstrap très élevé 96%).

Tableau 5. Comparaison des résultats du blast de la séquence 16S de l'ADNr de G61 avec les souches-types des espèces les plus proches du genre *Streptomyces*.

Espèce	Souche-type	Numéros d'accèsion	nt/ T nt ^a	% de similarité
<i>S. luteus</i>	TRM 455405(T)	KN039946	0/1450	100
<i>S. mutabilis</i>	NBRC 12800(T)	AB184156	0/1444	100
<i>S. rochei</i>	NRRL B-2410(T)	MUMD01000370	4/1448	99.72
<i>S. enissocaesilis</i>	NRRL B-16365(T)	DQ026641	4/1448	99.72
<i>S. plicatus</i>	NBRC 13071(T)	AB184291	4/1447	99.72

<i>S. geysiriensis</i>	NBRC 15413(T)	AB184661	5/1447	99.65
<i>S. vinaceusdrappus</i>	NRRL 2363(T)	AY999929	6/1443	99.58
<i>S. tuirus</i>	NBRC 15617(T)	AB184690	8/1438	99.44
<i>S. djakartensis</i>	NBRC 15409(T)	AB184657	9/1435	99,37
<i>S. aurantiogriseus</i>	NBRC 12842(T)	AB184188	12/1447	99.17

Note: ^a =Nombre de nucléotides différents/nombre total de nucléotides considérés.
T: souche-type de l'espèce.s ; S: *Streptomyces*.

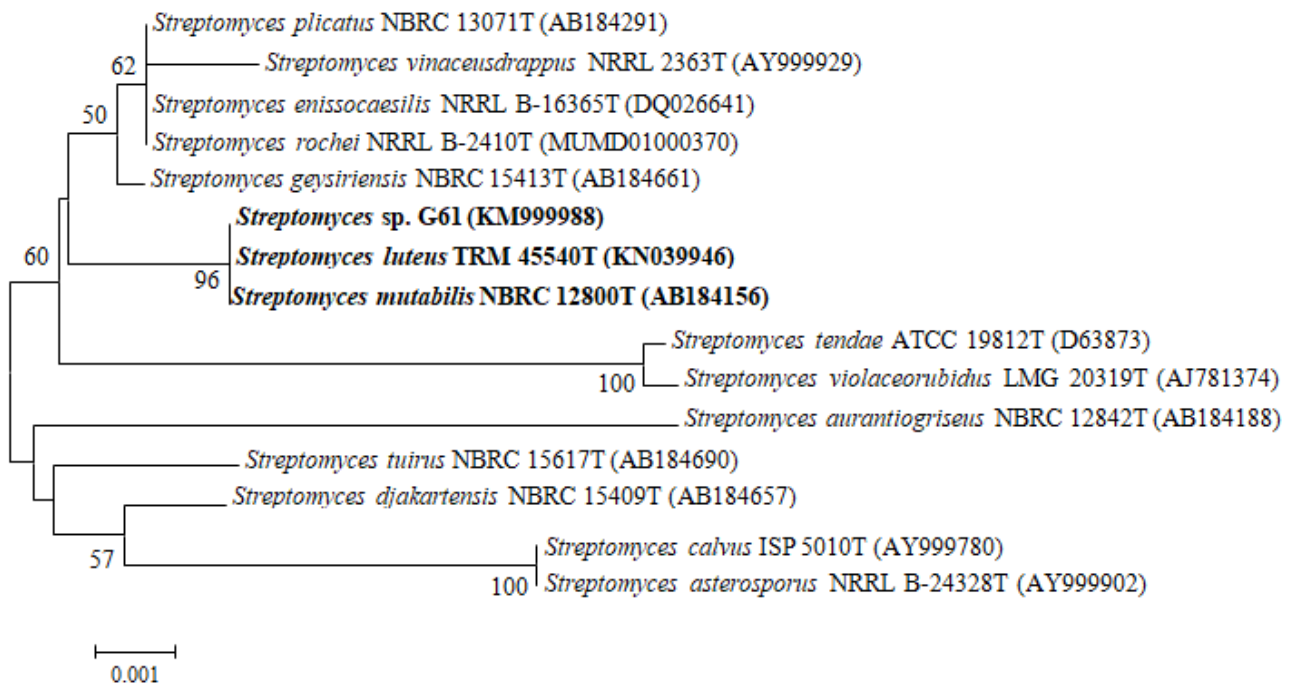


Fig. 10. Arbre phylogénique basé sur l'analyse des séquences d'ADNr 16S et montrant les relations entre l'isolat G61 et les souches-types des espèces du genre *Streptomyces* les plus proches.

Les nombres figurant au niveau des nœuds indiquent les pourcentages du support «bootstrap ». La barre indique 0,001 substitutions par position de nucléotide. Les numéros des séquences des souches sont donnés entre parenthèses.

2.1.2.- Etude moléculaire de l'isolat B31

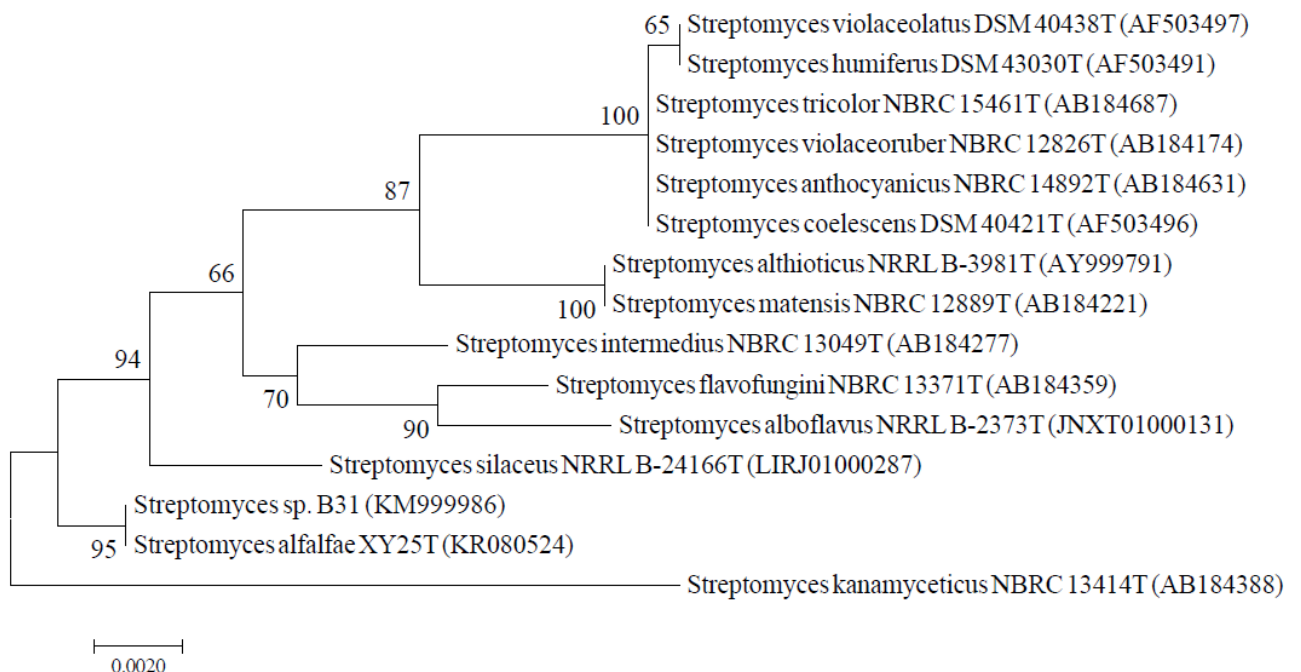
L'alignement de la séquence de L'ADNr 16S de l'isolat B31 avec les séquences de l'ADNr 16S des actinobactéries disponibles sur « Genbank » par le blast a donné un pourcentage de similarité de 100% avec la souche type la plus reliée *Streptomyces alfalfae* XY25(T) (KR080524). L'isolat B31 forme un clade avec *Streptomyces alfalfae* avec un indice bootstrap de 95% (**tableau 6**) (**figure 11**).

Tableau 6 . Comparaison des résultats du blast de la séquence 16S de l'ADNr de B31 avec les souches-types des espèces les plus proches du genre *Streptomyces*.

Espèce	Souche-type	Numéros d'accèsion	nt/ T nt ^a	% de similarité
<i>S. alfalfae</i>	XY25(T)	KR080524	0/1450	100
<i>S. silaceus</i>	NRRL B-24166(T)	LIRJ01000287	13/1447	99.10
<i>S. flavofungini</i>	NBRC 13371(T)	AB184359	22/1445	98.48
<i>S. intermedius</i>	NBRC 13049(T)	AB184277	23/1446	98.41
<i>S. althioticus</i>	NRRL B-3981(T)	AY999791	25/1441	98.27
<i>S. matensis</i>	NBRC 12889(T)	AB184221	25/1433	98.26
<i>S. coelestis</i>	DSM 40421(T)	AF503496	26/1448	98.20
<i>S. anthocyanicus</i>	NBRC 14892(T)	AB184631	26/1447	98.20
<i>S. kanamyceticus</i>	NBRC 13414(T)	AB184388	26/1446	98.20
<i>S. violaceoruber</i>	NBRC 12826(T)	AB184174	26/1442	98.20

Note: ^a = Nombre de nucléotides différents/nombre total de nucléotides considérés.

T: souche-type de l'espèce.s ; S: *Streptomyces*.

**Fig 11.** Arbre phylogénique basé sur l'analyse des séquences d'ADNr 16S et montrant les relations entre l'isolat B31 et les souches-types des espèces du genre *Streptomyces* les plus proches.

Les nombres figurant au niveau des nœuds indiquent les pourcentages du support «bootstrap». La barre indique 0,002 substitutions par position de nucléotide. Les numéros des séquences des souches sont donnés entre parenthèses.

2.2.- Etude comparative

2.2.1. L'isolat G61

L'isolat G61 se rapproche de l'espèce *Streptomyces luteus* (Luo *et al.*, 2017) avec un pourcentage de similarité 100%. La comparaison de quelques caractères morphologiques avec cette espèce montre que l'isolat G61 partage en commun les mêmes couleurs des mecyliums, mais il se diffère par la production des pigments solubles. Il utilise les mêmes sucres testé par les auteurs comme seul source de carbone. Il s'agit de : glucose, arabinose, xylose et rhamnose. La production des pigments mélanoides n'est pas déterminée par les auteurs. La deuxième espèce qui est proche de notre isolat aussi avec le même pourcentage de similarité 100% est *Streptomyces mutabilis* (Preobrazhenskaya et Ryabova, 1957 *in* Bergey's Manual, 2012). L'isolat G61 a une grande congruence avec celle-ci sur le plan morphologique et physiologique. Il exhibe avec elle un mycélium aérien dans la série «gris», des spores regroupées dans des chaînes de type «RA». Il utilise avec elle toutes les sources de carbone (glucides et dérivés) testées et il diffère que par l'utilisation du mannose. Il partage avec elle l'absence de la production de pigments solubles et de pigments mélanoides. (tableau 7).

Tableau 7. Caractéristiques morphologiques et physiologiques de *Streptomyces* sp. G61 et l'espèce les plus reliées phylogéniquement *Streptomyces luteus* et *Streptomyces mutabilis*.

Caractéristiques	G61	<i>S. luteus</i>	<i>S. mutabilis</i>
Couleur du MA sur ISP2	gris blanchâtre	gris	gris
Couleur du MS sur ISP2	gris jaunâtre	jaunâtre	ND
Type chaînes de spores sur ISP2	RA	RF	S et RA
PS sur ISP2	-	+	-
Dégradation des glucides et dérivés			
Glucose	+	+	+
Arabinose	+	+	+
Saccharose	+	ND	+
Xylose	+	+	+
Myo-inositol	+	ND	+
Mannose	-	ND	+
Fructose	+	ND	+
Rhamnose	+	+	+
Raffinose	-	ND	-
Production de pigments mélanoides	-	ND	-

Note. Note: +: test positif ; -: test négatif, MA: mycélium aérien; MS: mycélium du substrat ; PS : pigments solubles ; S : spira ; RA: Retinaculum-Apertum ; RF : Rectus Flexibilis ND : non déterminé.

2.2.2. L'isolat B31

Au niveau morphologique l'isolat B31 partage en commun avec la souche type *Streptomyces alfalfae* (She *et al.*, 2016) l'absence de la production de pigments solubles sur tous les milieux utilisés. Par contre, il s'en diffère par la couleur des mycéliums. En ce qui concerne les tests physiologiques notre isolat présente des similitudes avec la souche précédente par rapport à la dégradation de: glucose, saccharose, mannose, xylose, myo-inositol, fructose, rhamnose, et raffinose. Cependant, il s'en diffère que par rapport à la dégradation d'arabinose (**tableau 8**).

Tableau 8. Caractéristiques morphologiques et physiologiques de *Streptomyces* sp. B31 et l'espèce la plus reliée phylogéniquement *Streptomyces alfalfae*

Caractéristiques	B31	<i>S. alfalfae</i>
Couleur du MA sur ISP2	blanc jaunâtre	blanc
Couleur du MS sur ISP2	marron foncé	Brun claire
Chaines de spores sur ISP2	S (10 à 50 spores/chaine)	ND
PS sur ISP2	-	-
Dégradation des glucides et dérivés		
Glucose	+	+
Arabinose	-	+
Saccharose	+	+
Xylose	+	+
Myo-inositol	-	-
Mannose	+	+
Fructose	+	+
Rhamnose	+	+
Raffinose	+	+
Production de pigments mélanoides	-	-

Note: +: test positif ; -: test négatif, ± : Tests douteux (ou faiblement positif); **MA**: mycélium aérien; **MS**: mycélium du substrat ; **PS** : pigments solubles ; **S**: spira; **ND** : non déterminé.

3. Discussion

Afin de réaliser l'étude morphologique, les deux isolats G61 et B31 ont été cultivés sur cinq milieux de culture différents, il s'agit d'ISP2, ISP3, ISP4, BN et GN. Ces différents milieux sont généralement utilisés pour les actinobactéries du genre *Streptomyces* (Shirling et Gottlieb, 1966). Les résultats ont montré que les isolats ayant une bonne croissance presque sur tous ces milieux. Il est important de signaler l'importance de l'utilisation de plusieurs milieux de culture dans l'étude de la morphologie puisque l'observation des chaînes de spores ne s'effectue que sur les milieux donnant une bonne croissance (maturation complète) (Shirling et Gottlieb, 1966). Les deux isolats produisent un mycélium de substrat non fragmenté et un mycélium aérien constitué de filaments ramifiés qui se terminent par des chaînes de spores de type RA (Retinaculum-Apertum) pour l'isolat G61 et de type S (spira) pour l'isolat B31. La présence de ces types de chaînes de spores et le mycélium non fragmenté indiquent les traits typiques du genre *Streptomyces* ce qui nous laisse supposer que les deux isolats appartenant à ce genre. Selon Shirling et Gottlieb (1976), l'étude des caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) des isolats d'actinobactéries est largement utilisée pour caractériser les genres d'actinobactéries. Il faut rappeler que le genre *Streptomyces* contenant actuellement 975 espèces (Euzéby, 2021). Il est le plus grand genre de l'ordre des *Actinomycetales* dans la classe des *Actinobacteria* (Stackebrandt et al., 1997). Ce résultat rejoint l'observation faite par Locci et al. (1989) et (Thakur et al., 2007) que les souches présentant une croissance sur une large gamme de milieu de culture, montrent généralement une morphologie typique des Streptomycètes. Il est à noter que l'isolat G61 peut être classé dans la série des *Streptomyces* "Gris", tandis que l'isolat B31 dans la série des *Streptomyces* "Blanc". Ce classement a été créé par Pridham. (1965). Selon la couleur du mycélium aérien.

Bien que la détermination phénotypique constitue une partie indispensable et essentielle à l'identification des micro-organismes du sol, elle est cependant imprécise et limitée. Afin d'affiner les résultats obtenus une caractérisation moléculaire est nécessaire. L'étude moléculaire qui consiste en l'extraction de l'ADN génomique, l'amplification et le séquençage de l'ADN 16S suivi d'un BLAST a confirmé l'appartenance des 2 isolats au genre *Streptomyces*. Les résultats ont montré que l'isolat G61 se rapproche des deux espèces *Streptomyces luteus* et *Streptomyces mutabilis* avec le même pourcentage de similarité 100%. La comparaison des caractéristiques morphologiques et physiologiques de cet isolat avec celles de l'espèce *Streptomyces luteus* décrites par Luo et al. (2017) a montré une correspondance presque totale. Il est à noter que l'espèce *Streptomyces luteus* a été confirmées une nouvelle espèce par la technique d'hybridation ADN/ADN (Luo et al., 2017). Une correspondance presque totale aussi a été remarquée entre les caractéristiques de G61 avec celles de l'espèce de *Streptomyces mutabilis* contenues dans le (Bergey's Manual of Systematic Bacteria, 2012 volumes 5). Selon Xu et al. (2005) ; Zhu et al. (2007), en plus l'étude phylogénétique qui se base

sur le séquençage de l'ADNr 16S, la comparaison des caractères physiologiques permet de conforter l'appartenance de deux souches à la même espèce ou encore de prouver la différenciation métabolique qu'elles peuvent acquérir. En ce qui concerne l'isolat B31, les résultats nous ont permis de la rattacher avec l'espèce *Streptomyces alfalfae*. Cette dernière a été découverte et confirmée une nouvelle espèce par la technique d'hybridation ADN/ADN (She *et al.*, 2016). Cette technique consiste à estimer le taux de réassociation (hybridation) de l'ADN génomique d'un taxon avec celui des espèces les plus proches. Deux espèces sont considérées différentes si elles ont un taux de ressemblance de l'ADN génomique inférieur à 70% (Wayne *et al.*, 1987). Malgré que les pourcentages de similarité obtenus étaient très élevés (100%), la confirmation ou non de l'appartenance de nos isolats à ces espèces ne peut être effectuée que par une étude d'hybridation ADN-ADN. En effet, plusieurs espèces du genre *Streptomyces* validées par la technique d'hybridation ADN-ADN ayant des pourcentages de similarités très élevés peuvent atteindre parfois même 100%. Nous pouvons citer comme exemples: *S. bellus* et *S. coerulescens* (100%); *S. mediolani* et *S. sindenensis* (100%); *S. aureocirculatus* et *S. novaecaesareae* (99.5%) (Kämpfer, 2012). *S. lutues* et *S. mutabilis* (99.65%) (Luo *et al.*, 2017). *S. alfalfae* et *S. silaceus* (99.11%) (She *et al.*, 2016)....

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif de notre travail était une étude taxonomique pour deux souches de *Streptomyces* G61 et B31 isolées à partir de sols Sahariens. La première partie de l'étude est consacrée pour la morphologie. Les résultats obtenus ont montré l'appartenance des deux isolats au genre *Streptomyces*. L'isolat G61 est apparu avec un mycélium aérien de couleur grise blanchâtre sur tous les milieux utilisés et avec des chaînes de spores de type RA (Retinaculum-Apertum), alors que le mycélium de substrat est non fragmenté et coloré différemment d'un milieu à un autre. L'isolat B31 a présenté un mycélium aérien de couleur blanche jaunâtre et porte des chaînes de spores de type S (Spira). Le mycélium de substrats non fragmenté varié entre marron foncé et marron claire selon les milieux de culture. Les pigments solubles ne sont pas produits sur tous les milieux pour les deux souches. La deuxième partie du travail a été réservée pour l'étude moléculaire. Cette étude a conforté l'étude morphologique et a confirmé l'appartenance des deux isolats au genre *Streptomyces*. Il s'est avéré que l'isolat G61 est plus proche des espèces *Streptomyces lutues* et *Streptomyces mutabilis* avec le même pourcentage de similarité 100%. Par contre, l'isolat B31 est proche de l'espèce *Streptomyces alfalfae* avec un taux de similarité 100%.

Nous considérons que cette étude d'identification n'est qu'un travail préliminaire qui nous incite à poursuivre les recherches de manière plus approfondie et de ce fait, nous pouvons citer des perspectives qui sont nécessaires à court terme :

- Afin de déterminer l'identification finale des deux isolats, Il est souhaitable de faire l'hybridation ADN-ADN entre chacune des 2 souches (G61 et B31) et les 3 espèces de *Streptomyces* désignées par l'analyse des ADNr 16S comme étant les plus proches.
- Compte tenu que ces souches ont été sélectionnées pour leurs activités antifongiques intéressantes, il est préférable de continuer le travail dans ce côté-là et évaluer cette activité en passant par le chemin connu d'extraction et séparation des composés actifs puis détermination de leur structure chimique en utilisant les outils spectroscopiques indispensables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anandan, R. Dharumadurai, D. Manogaran, G-P. (2017)** à l'Introduction to Actinobacteria. **In : Dhanasekaran, D. Jiang, Y. (eds) Actinobacteria : Basics and Biotechnological Applications**, Intech, p3-37.
- Andriambololona, T. (2010)**. Etude biologique et chimique des résultats secondaires des actinomycètes tellurique cas de la foret d'Ankafobe.
- Badji, B. (2006)**. Etude de la taxonomie et des antibiotiques antifongiques de trois souches d'actinomycètes d'origine saharienne appartenant aux genres *Actinomadura* et *Nonomura*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Maamri de Tizi-Ouzou. P 226.
- Badji, B. Riba, A. Mathieu, F. Lerbrihi, et Sabou, N. (2005)**. Antifungal activity of saharan *Actinomadura* strain against various pathogenic and toxigenic fungi. *J, Mycol Med.* 15 : 211,219.
- Becker B., Lechevalier M.P. and Lechevalier H.A. (1965)**. - Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various form genera of aerobic actinomycetes. *Appl. Microbiol.*, **13**, 236-242.
- Belghit S., (2016)**.- Actinobacteries des sols sahariens algériens antagonistes de *Candida albicans*: taxonomie et caractérisation de leurs antifongiques. These de doctorat. ENS kouba, P47
- Benson D.A., Cavanaugh M., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J. and Sayers E.W. (2013)**. Genbank. *Nucleic Acids Res.* 41; D1: D36-D42.
- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. (2012)**.- Whitman WB, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse H.J., Trujillo M.E., Ludwig W., Suzuki Ki, Parte A (Eds). vol 5: The *Actinobacteria*. 2^{ème} édition, Springer, New York., p. 1750.
- Boudjelal-Bencheikh, F. (2012)**. Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus sp* AH97. Thèse Doctorat. Algérie. Bruxelles : 805-825.
- Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N. & Alland, D. (2007)**. A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J. Microbiol. Methods.* 69, 330-339.
- Cheknane, B. S Igoud, F Zermane, F Souahi. (2007)**. Biométhanisation des eaux usées pour la production de l'énergie renouvelable et la protection de l'environnement-Etude d'effet et analyse statistique des données *Journal Revue des Energies Renouvelables*, ICRES-07 Tlemcen
- D.Yala, A.S. Merad. D. Mohamdi, M.N. Ouar Korichi.** Classification et mode d'action des antibiotiques.
- Dgigal, D. (2003)**. Interaction entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactéricivores ; effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse Doctorat. Université Cheikh Anta De Dakar.

- Djaballah C. (2010).** Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés se la sebkha de Ain M'Lila. Mémoire de l'obtention du Diplôme de Magister en Microbiologie. Université Mentouri Constantine.
- Djaballah C. (2010).** Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés se la sebkha de Ain M'Lila. Memoire de l'obtention du Diplome de Magister en Micbiologie. Université Mentouri Costantine : p73.
- Djemai, S et Djemai, M. (2019).** Caractérisation de qlq isolat d'Actinomycètes et mis en évidence de production de molécules bioactives. Mémoire de fin d'étude en vue d'obtention de Diplôme Master. Université Djilali Bounaama Khmiss Mlyana.
- Eunice, J. (1983).** Mycelial growth and barnching of *streptomyces coelicolor*. A3(2) on solid medium. J. gen, 2029-2036.
- Euzeby J.P. (2021).**List of bacterial names with standing in nomenclature, *Streptomycetaceae*.
<http://www.bacterio.net /streptomycesa.html>.
- Felsenstein, J. (1985).** Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist*, 1–15.
- Fitch W. M. (1971).** Towrd defining the course of evolution: minimum change for a specifie tree topology. *Syst. Zool.* 20: 406-416.
- Fukamizo T. et Brzezinski R. (1997).** Chitosanase from *Streptomyces* sp. strain N174: a comparative review of its structure and function. *Biochemistry and cell biology* 75 (6): 687–696.
- George M., Anjumol A., George G., Mohamed Hatha AA. (2012).** Distribution and bioactive potential of soil actinomycetes from different ecological habitats. *Afr J Microbiol Res.*, 6: 2265
- Gerard, T et al., (2001).** Microbiologie. 2^{ème} édition. Canada, p152-154.
- Getha, K. Vikineswary, S. (2005).** Evaluation of streptomyces sp. Strain g10 for suppression of Fusarium wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. P 24-32.
- Goldman B. S., Nierman W. C., Kaiser D., Slater S. C., Durkin A. S., Eisen J., Ronning C. M., Barbazuk W. B., Blanchard M., Field C., Halling C., Hinkle G., Iartchuk O., Kim H. S., Mackenzie C., Madupu R., Miller N., Shvartsbeyn A., Sullivan S. A., Vaudin M., Wiegand R., and Kaplan H. B. (2006).** Evolution of sensory complexity recorded in a myxobacterial genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103:15200-15205.
- Goodfellow M. (1989).** - Suprageneric classification of actinomycetes. *In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 4. Williams ST, Sharpe ME and Holt JG (Eds.) Williams & Wilkins, Baltimore. pp 2333-2339.
- Goodfellow, M., Williams ST. (1983).**Ecology of actinomycetes. *Ann Rev Microbiol.*, 37:189–216.
- Haas Drago. (2015).** Mtabolisme secondaire de *Streptomyces ambofaciens* : exploration

genomique et étude du groupe de gènes dirigeant la synthèse du sphydrofurane. Thèse de doctorat. Université Paris Sud.

Hodgson D. A. (2000). Primary metabolism and its control in streptomycetes: a most unusual group of bacteria. *Advances in microbial physiology* 42: 47–238.

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

Hopwood DA., Bibb MJ., Chater KF., Kieser T., Bruton CJ., Kieser HM., Lydiate DJ., Smith CP., Ward JM., Schrempf H., (1985). Genetic Manipulation of *Streptomyces*: A Laboratory Manual. Norwich, UK: John Innes Foundation.

Hwang, K.K., Eissenberg, J.C., Worman, H.J. (2001). Transcriptional repression of euchromatic genes by *Drosophila* heterochromatin protein 1 and histone modifiers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98(20): 11423--11427.

Lechevalier, H.A. et Lechevalier, M.P. (1981). Introduction to the order Actinomycetales, dans: Starr M.P., Stolp H., Truper H.G., Ballows A. et Schlegel H.G. *The prokaryote* (volume 2). Springer-Verlag Edition Berlin: 1915-1922.

Int J Syst Evol Microbiol., 64:346–351.

Jukes T. H. et Cantor C. R. (1969). Evolution of protein molecules. *Mammalian protein metabolism* 3 (21): 132.

Kämpfer P. (2012). Genus I. *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339 emend. Witt and Stackebrandt 1990, 370 emend. Wellington, Stackebrandt, Sanders, Wolstrup and Jorgensen 1992, 159. *Bergey's manual of systematic bacteriology* 5: 1455–1767

Kämpfer, P. (2006). The family Streptomycetaceae. Part I: taxonomy. In: Dworkon, M. (Ed.), *The Prokaryotes*, Springer, New York, pp. 538-604.

Kämpfer P., Kroppenstedt RM. and Dott W. (1991). A numerical classification of the genera *Streptomyces* and *Streptoverticillium* using miniaturized physiological tests. *J. Gen. Microbiol.* 137:1831-1891.

Kang M. J., Strap J. L. et Crawford D. L. (2010). Isolation and characterization of potent antifungal strains of the *Streptomyces violaceusniger* clade active against *Candida albicans*. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 37:35-41.

Khelili, K. (2015). Application des outils biomoléculaires 16S, MALDI-TOF et métagénomique pour la détermination des variantes taxonomiques bactériennes telluriques. Thèse de doctorat

Kim M., Oh HS., Park SC., Chun J. (2014). Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes.

Kim S.B., Lee S.D., Kim S.Y., Oh H.M., Kang S.O. and Hab Y. C., (1996). Numerical classification of actinomycetes isolated from volcanic soil. *Jour. Microbiol.* 34: 2.105-116.

- Kitouni, M. (2007).** Isolement de bactéries *Actinomycetales* productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes, identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire de substances élaborées. Thèse de Doctorat. Université Mentouri Constantine.
- Kudo T., Matsushima K., Itoh T., Sasaki J. et Suzuki K. (1998).** Description of four new species of the genus *Kineosporia*: *Kineosporia succinea* sp. nov., *Kineosporia rhizophila* sp. nov., *Kineosporia mikuniensis* sp. nov. and *Kineosporia rhamnosa* sp. nov., isolated from plant samples, and amended description of the genus *Kineosporia*. *Int J Syst Bacteriol.*48: 1245-1255.
- Labeda D.P. (1989).** - Genus *Saccharothrix* Labeda *et al.* 1984. *In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 4, Williams S.T., Sharpe M.E. and Holt J.G. (Eds). Williams and Wilkins Co., Baltimore. pp. 2599-2601.
- Labeda, D. et Goodfellow, M. et Brown R. et Ward A. C. et Lanoot, B., Vannanneyt M., Lacey, J. (1997).** Actinomycètes in compost. *Ann Agric Environ Med.* 4, 113–121
- Lakshmipathy D. T. et Kannabiran K. (2009).** A morphological, biochemical and biological studies of halophilic *Streptomyces* sp. isolated from Saltpan environment. *Am J Infect Dis.* 5 (3): 207-213.
- Lamari, L. (2006).** Production de nouveaux antibiotiques de groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycètes. Thèse de Doctorat. Université de Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou.
- Lamoril, J. et Ameziane, N. et Deybach, J-C. et Bouizegarène, P. et Bogard, M (2008).**
- Larpent J.P. et Sanglier J.J. (1989).** - Biotechnologie des antibiotiques. Masson, Paris, p. 481..
- Larpent-Gourgaud M. et Sanglier J.J. (1992).**- Biotechnologies. Principes et méthodes. Doin editeurs, Paris.
- Lechevalier H.A. and Lechevalier M.P. (1970).** - A critical evaluation of genera of aerobic actinomycetes. *In: The Actinomycetales.* Prauser H. (Eds.). G. Fisher Verlag, Jena, 393-405.
- Lechevalier M.P. and Gerber N. (1970).** - The identity of madurose with 3-0-methyl-D-galactose. *Carbohyd. Res.*, **13**, 451-454.
- Lechevalier, HA., Lechevalier MP. (1981).** Introduction to the order Actinomycetales. *In: The prokaryotes*, Starr M. P., H. Stolp, H. G. Truper, A. Ballows and H. G. Schlegel. Eds. Springer-Verlag, Berlin. pp. 1915–1922.
- Leveau, J. Bouix, M. (1993).** Microbiologie Industrielle. Ed Paris. p424-439.
- Li X, Huang Y. et Whitman W. B. (2015).** The relationship of the whole genome sequence identity to DNA hybridization varies between genera of prokaryotes. *Antonie van Leeuwenhoek* 107 (1): 241–249.
- Liu D., Coloe S., Baird R. et Pedersen J. (2000).** Rapid mini-preparation of fungal DNA for PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 38 (1): 471–471.

- Locci R. & Schofield G.M. (1989).** Genus *Streptoverticillium* Baldacci 1958, 15, emend.mut.char.
- Locci R., (1976).** «Developmental micromorphology of actinomycetes». In: Actinomycetes, the boundary microorganisms. pp. 170-180. Arai T. Ed., Tokyo.
- Logan N. A. (1994).** Bacterial Systematics. Oxford: Blackwell Scientific Publication: 44-67.
- Luchetta P., Maurel M.C., Higuete D. et al. (2005).** Evolution moléculaire Dunod. Paris. 232 P.
- Luo, X.X., Kai, L., Wang, Y., Wan, C., Zhang, L.L.(2017).** *Streptomyces luteus* sp. nov., an actinomycete isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 67:543–547
- Madigan, M., Martinko J., Stahl. D. et Clark D. (2012).** Brock Biology of Microorganisms. (13th) Pearson Education. San Francisco, USA.
- Manteca A., Alvarez R., Salazar N., Yague P. et Sanchez J. (2008).** Mycelium differentiation and antibiotic production in submerged culture of *Streptomyces coelicolor*. *Appl & Environ Microb.* 74: 3877-3886.
- Mariat, F. et Sebald, M. (1990).** Actinomycètes. In: Bactériologie Médicale. Le Minor L. et Véron M. (Eds), 2ème édition, Flammarion. Paris. 935-949.
- Marinelli F. (2009).** Antibiotics and Streptomyces: the futur and antibiotic discovery. *Microbiology today.* 2: 20-23.
- Moore, B. Trischman, J. Seng, D. Kho, D. Jensen, P. Fenical, W. (1999).** Antiinflammatory despsipeptides from a marin streptomyces. *J. org. Chem.* 64. 1145-1150.
- Niraula N. P., Shrestha P., Oh T. G. et Sohng J. K. (2010).** Identification and characterization of a NADH oxidoreductase involved in phenylacetic acid degradation pathway from *Streptomyces peucetius*. *Microbiological research* 165 (8): 649–656.
- Oskay M. (2009).** Antifungal and antibacterial compound from *Streptomyces* strains. *Afr J Biotechnol.* 8 (13): 3007-3017.
- Oskay, M. Tamer, AU. Azeri, C. (2004).** Antibacterial activity of some actinomycètes isolated from furming soils of Turkey. *African Journal Of biotechnology.* Vol 3(9), p441.446.
- Oulmi, L. (2014).** Etude des infections causées par les actinomycètes aérobies autres que les mycobactéries dans la région de constantine.
- Pace N. R., (1997).** A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Sci.* 276, 734-740.
- Petrosyan P., Gartia-Varela M., Luz-Madriral A., Huitron C. et Flores M.E. (2003).** *Streptomyces mexicanus*, a xylanolytic microorganism isolated from soil. *Int J Sys Budevo Microbiol.* 53: 269-273.
- Petti, C. A. (2007).** Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. *Clinical Infectious Diseases* 44, 1108-1114.
- Pine L. (1970).** Classification and phylogenetic relationship of microaerophilic actinomycetes. *Int. J. Bacteriol.* 20 : 445-474.

- Pizzul, I. (2006).** Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Actinomycetes. Thèse de Doctorat. Université d'Uppsala (Suède).
- Prescott, L. et Harley, J.** Microbiologie. 3^{ème} édition. Paris, p 589-603.
- Prescott, L.M., Harley J.P. et Klein D.A. (2007)** Microbiologie.
- Pridham, T.G. 1965.** Color and streptomycetes. Report of an international workshop on determination of color of streptomycetes. *Applied Microbiology*, 13:43-61.
- Reddy G. S. N., Pradhan S., Manorama R. et Shivaji S. (2010).** *Cryobacterium roopkundense* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from glacial soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 60 (4): 866–870.
- Saib, RH. Et Habibatni, I. (2014).** Analyse bio-informatique et phylogénétique des gènes nod et nif de *Rhizobium* sp. Mémoire présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université de Constantine 1. P1
- Saker, R. (2015).** Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Mémoire présentée en vue de l'obtention du DOCTORAT 3^{ème} CYCLE. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Stackebrandt E., Rainey F. A. et Ward-Rainey N.L., (1997)** Proposal for a new hierarchic classification system Actinobacteria classis nov. *Int J Syst Bacteriol.* 47 : 479-491.
- She, W., Sun, Z., Yi, L., Zhao, S., Liang, Y. (2016).** *Streptomyces alfalfae* sp. nov. and comparisons with its closest taxa *Streptomyces silaceus*, *Streptomyces flavofungini* and *Streptomyces intermedius*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 66, 44–49
- Shirling E.B. et Gottlieb D. (1966).** Methods for characterization of *Streptomyces* species 1. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 16 (3): 313–340.
- Shirling, E.B. et Gottlieb, D.(1976).** Retrospective evaluation of international *Streptomyces* project taxonomic criteria- the Boundary Microorganisms. *Toppan Printing Co Ltd.*, 161 , 9–41.
- Smaoui, S. (2010).** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France. 207p.
- Sokolovska, I. Rozenberg, R. Riez, C. Rouxhet, P-G. Agathos, S-N. Wattiau P. (2003).** Carbon source-induced modification in mycolic acid content and cell wall permeability of *Rhodococcus erythropolis* El : Application. *Environnement. Microbiology*, 69-701.
- Stackebrandt E. et Goebel B. M. (1994).** Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 44 (4): 846–849.

- Stackebrandt E. et Schumann P. (2006).** Introduction to the Taxonomy of Actinobacteria, Dans : Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K., Stackebrandt E. Prokaryotes. Springer Science, Business Media.
- Stackebrandt E., Wunner-Fiissl B., Fowler V.J. and Schleifer K.H. (1981).** - Deoxyribonucleic acid homologies and ribosomal ribonucleic acid similarities among sporeforming members of the order *Actinomycetales*. *Int. J. System. Bacteriol.*, **31**, 420-431.
- Swerdlow H., Zhang J., Chen D., Harke H., Grey R., Wu S. et al. (1991).** Three DNA sequencing methods using capillary gel electrophoresis and laser-induced fluorescence. *Anal. Chem.***63(24):**2835-41.
- Swings J. et al. (2012).** Phylogenetic study of the species within the family streptomycetaceae. Antonievan Leeuwenhoek. 101
- Tammine, I. et Kikaia, A. (2015).** Étude morphologique et phylogénétique d'une souche actinomycétale. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. P9,14,15.
- Thakur D., Yadav A., Gogoi B. K. et Bora T. C. 2007.** Isolation and screening of Streptomyces in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology* 17 (4): 242–249.
- Umezawa, H. (1988).** - Low molecular-weight enzyme inhibitors and immunodifiers. *In: Actinomycetes in biotechnology.* Goodfellow M., Williams S.T. and Mordarski M (Eds.). London: Academic Press, p. 285-325.
- Watve M.G., Tickoo R., Jog M.M. et Bhole B.D. (2001).** How many antibiotics are produced by the genus Streptomyces? *Arch Microbiol.* 176: 386-390.
- Wayne L.G., Brenner D.J., Colwell R.R., Grimont P.A.D., Kandler O., Krichevsky M.I., Moore L.H., Moore W.E.C., (1987).** Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic and Bacteriology*,**37**, 463–464.
- Williams, S. T. 1989.** Genus Streptomyces waksman and henrici 1943 . *BERGEY's Manual of Syntematic Bacteriology* 4: 2452–2492.
- Woese, C. R. (1987).** Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51, 222-270.
- Xu D. B., Ye W. W., Han Y., Deng Z. X. et Hong K. (2014).** Natural products from mangrove actinomycetes. *Marine drugs* 12 (5): 2590-2613.
- Xue, M., Lin, Y.Q., Pan, H., Reim, K., Deng, H., Bellen, H.J., Rosenmund, C. (2009).** Tilting the balance between facilitatory and inhibitory functions of mammalian and Drosophila Complexins orchestrates synaptic vesicle exocytosis. *Neuron* 64(3) : 367--380.

Yamaguchi T. (1965). – Comparison of the cell-wall composition of morphologically distinct actinomycetes. *J. Bacteriol.*, **89**, 444-453.

Yilma, s-s. (2008). Large- conductance cholesterol-amphotericine B channels in reconstitute lipide bilayers. *Biosensors bioelectron*, 969-987.

Zhang J.H., Wu L.Y., Zhang X.S. (2003). Reconstruction of DNA sequencing by hybridization. *Bioinformatics*. **19(1)**:14-21.

Zhu H. H., Guo J., Yao Q., Yang S. Z., Deng M. R., Hanh V. T., Ryan M. J. (2007). *Streptomyces vietnamensis* sp. nov., a streptomycete with violet–blue diffusible pigment isolated from soil in Vietnam. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* **57** (8): 1

ANNEXE 1 :

Milieux utilisés pour l'étude morphologique des actinobactéries Milieux ISP (Shirling et Gottlieb, 1966):

- **Milieu ISP2:** Extrait de levure: 4 g; extrait de malt: 10 g; glucose: 4 g; eau distillée q.s.p.: 1000 mL; agar: 20g. pH = 7,2.
- **Milieu ISP3:** Farine d'avoine: 20 g; solution saline standard: 1 mL; agar: 20 g; eau distillée q.s.p.: 1000 mL. pH = 7,2.
- * Solution saline standard: FeSO₄, 7H₂O: 0,1 g; MnCl₂, 4H₂O: 0,1 g; ZnSO₄, 7H₂O: 0,1 g; eau distillée q.s.p.: 1000 mL.
- **Milieu ISP4:** Amidon: 10 g; K₂HPO₄: 1 g; MgSO₄, 7H₂O: 1 g; NaCl: 1 g; (NH₄)₂SO₄: 2 g; CaCO₃: 2 g; solution saline standard (voir ISP 3): 1 mL; agar: 20 g; eau distillée q.s.p.: 1000 mL. pH = 7,2.
- **Milieu Bennett (Warren *et al.*, 1955)** Glucose: 10 g; peptone: 2 g; extrait de levure: 1 g; extrait de viande: 1 g; eau distillée: q.s.p. 1000 ml; pH 7,2.
- **Gélose nutritive:** peptone: 5 g; extrait de viande: 1 g; extrait de levure: 2 g; NaCl: 5 g; agar: 15 g; eau distillée q.s.p.: 1000 mL. pH = 7,5.

ANNEXE 2 :

Les séquences d'ADN 16S obtenues après le traitement par MEGA

>G61

TGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCAC
 CTTCGGGTGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCAC
 TCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACTGACCCTCGCAGGCATCT
 GCGAGGTTCGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTAGTTGGT
 GAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCA
 CACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGC
 ACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTG
 TAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCG
 GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTA
 TTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGGCTTGTACGTCGGTTGTGAAAGCCCGGGGCTTA
 ACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTC
 CTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGAT
 CTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGAT
 ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCACTAGGTGTGGGCAACATTCCACGTTG
 TCCGTGCCCGCAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAA
 AACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTTCGAC
 GCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAAACCCTGGAGACAGGG
 TCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGAT

GTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTTGCCAGCAGGCCCTTGT
GGTGCTGGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGAC
GTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAA
TGAGCTGCGATACCGCGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTG
GGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGC
TGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGT
AACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCTGTCTGAAGGTGGGACTG
GCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTA

>B31

TCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAG
CCCTTCGGGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCA
CTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACTCTCTCTCGCATGG
GAGAGGGTTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTAGTTGGT
GAGGTAGAAGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGGCGACCGGCCA
CACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGC
ACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTG
TAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCG
GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTA
TTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCGGTTGTGAAAGCCCGGGGCTTA
ACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTC
CTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGAT
CTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGGTGGGAACTAGGTGTGGGCGACATTCCACGTCG
TCCGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCGCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAA
AACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGAC
GCAACCGCAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAAGCATCAGAGATGGTG
CCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGAT
GTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTTGCCAGCAAGCCCCTTC
GGGGGTGTTGGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGAC
GACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTA
CAATGAGCTGCGATACCGCGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGA
TTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAT
TGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTC
GGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCTGTCTGAAGGTGGG
ACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGAAGCTCCCCCT

ANNEXE 3 :

1- Fenêtre du serveur EzTaxon montrant le blast de la séquence G61

Ezbiocloud.net x +

ezbiocloud.net/identify/result?id=60c8c386a839f03031c6a671

EZBioCloud DASHBOARD APPS TOOLS RESOURCES HOW TO CITE ABOUT HELP CENTER SUPPORT LICENSES

List of hits from EzBioCloud 16S database

Select hits by database **All** Valid names only Excel FASTA EzEditor2

Tasks	Hit taxon name	Hit strain name	Accession	Similarity	Variation ratio	Hit taxonomy	Completeness (%)
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces luteus</i>	TRM 45540(T)	KN039946	100.00	0/1450	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	100.0
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces mutabilis</i>	NBRC 12800(T)	AB184156	100.00	0/1444	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	99.6
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces rochei</i>	NRRL B-2410(T)	MUMD01000370	99.72	4/1448	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	100.0
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces enissocaealis</i>	NRRL B-16365(T)	DQ026641	99.72	4/1448	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	100.0
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces plicatus</i>	NBRC 13071(T)	AB184291	99.72	4/1447	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	99.9
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces geysiriensis</i>	NBRC 15413(T)	AB184661	99.65	5/1447	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	99.9

2- Fenêtre du serveur EzTaxon montrant le blast de la séquence B31

Ezbiocloud.net x +

ezbiocloud.net/identify/result?id=60c8c3a8e866e12acbfcc62

EZBioCloud DASHBOARD APPS TOOLS RESOURCES HOW TO CITE ABOUT HELP CENTER SUPPORT LICENSES

List of hits from EzBioCloud 16S database

Select hits by database **All** Valid names only Excel FASTA EzEditor2

Tasks	Hit taxon name	Hit strain name	Accession	Similarity	Variation ratio	Hit taxonomy	Completeness (%)
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces alfalfae</i>	XY25(T)	KR080524	100.00	0/1450	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	100.0
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces silaceus</i>	NRRL B-24166(T)	LIRJ01000287	99.10	13/1447	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	100.0
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces flavofungini</i>	NBRC 13371(T)	AB184359	98.48	22/1445	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	99.9
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces intermedius</i>	NBRC 13049(T)	AB184277	98.41	23/1446	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	99.9
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces althioticus</i>	NRRL B-3981(T)	AY999791	98.27	25/1441	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	100.0
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces matensis</i>	NBRC 12889(T)	AB184221	98.26	25/1433	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	99.4
<input type="checkbox"/>	<i>Streptomyces coelestis</i>	DSM 40421(T)	AF503496	98.20	26/1448	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Streptomycetales;Streptomycetaceae;Streptomyces	100.0

ANNEXE 4:

1- Insertion des séquences sur MEGA. X 10.2

Molecular Evolutionary Genetics Analysis

File Analysis Help

ALIGN DATA MODELS DISTANCE DIVERSITY PHYLOGENY USER TREE ANCESTORS SELECTION RATES CLOCKS DIAGNOSE

MX: Alignment Explorer (All hits for G61 (1).fasta)

Data Edit Search Alignment Web Sequencer Display Help

DNA Sequences Translated Protein Sequences

Species/Abbrv

1. Query of G61
2. Streptomyces luteus|TRM 45540|KN039946|100|Bacteria Actin
3. Streptomyces mutabilis|NBRC 12800|AB184156|100|Bacteria Actin
4. Streptomyces rochei|NRRL B-2410|JUMD01000370|99.72|Bact
5. Streptomyces geysiriensis|NBRC 15413|AB184661|99.65|Bact
6. Streptomyces enissocaealis|NRRL B-16365|DQ026641|99.72|Bact
7. Streptomyces pilatus|NBRC 13071|AB184291|99.72|Bacteria
8. Streptomyces vinaceus|drappus|NRRL 2363|AY999299|99.58|Bact
9. Streptomyces tuius|NBRC 15617|AB184690|99.44|Bacteria Actin
10. Streptomyces djakartensis|NBRC 15409|AB184657|99.37|Bact
11. Streptomyces aurantiogriseus|NBRC 12842|AB184188|99.17|Bact
12. Streptomyces tendae|ATCC 19812|D63873|99.1|Bacteria Actin
13. Streptomyces violaceorubridus|LMG 20319|AJ781374|99.03|Bact
14. Streptomyces calvus|ISP 5010|AY999780|98.96|Bacteria Actin
15. Streptomyces asterosporus|NRRL B-24328|AY99902|98.96|Bact
16. Streptomyces flavoviridis|NBRC 12772|AB18482|98.96|Bact
17. Streptomyces pilosus|NBRC 12607|AB184161|98.96|Bacteria
18. Streptomyces levis|NBRC 15423|AB184670|98.95|Bacteria Actin
19. Streptomyces luteogriseus|NBRC 13402|AB184379|98.95|Bact
20. Streptomyces violaceus|NRRL B-2867|KL569104|98.9|Bact
21. Streptomyces tritolerans|DAS 165|DQ345779|98.9|Bacteria Actin
22. Streptomyces anandii|NRRL B-3590|AY999803|98.89|Bact
23. Streptomyces rubrogriseus|LMG 20318|AJ781373|98.89|Bact
24. Streptomyces vires|NRRC 15901|AB184713|98.89|Bacteria

2- Alignement des séquences par CLUSTAL W

Molecular Evolutionary Genetics Analysis

File Analysis Help

ALIGN DATA MODELS DISTANCE DIVERSITY PHYLOGENY USER TREE ANCESTORS SELECTION RATES CLOCKS DIAGNOSE

MX: Alignment Explorer (All hits for G61 (1).fasta)

Data Edit Search Alignment Web Sequencer Display Help

DNA Sequences Translated Protein Sequences

Species/Abbrv

1. Query of G61
2. Streptomyces luteus|TRM 45540|KN039946|100|Bacteria Actin
3. Streptomyces mutabilis|NBRC 12800|AB184156|100|Bacteria Actin
4. Streptomyces rochei|NRRL B-2410|JUMD01000370|99.72|Bact
5. Streptomyces geysiriensis|NBRC 15413|AB184661|99.65|Bact
6. Streptomyces enissocaealis|NRRL B-16365|DQ026641|99.72|Bact
7. Streptomyces pilatus|NBRC 13071|AB184291|99.72|Bacteria
8. Streptomyces vinaceus|drappus|NRRL 2363|AY999299|99.58|Bact
9. Streptomyces tuius|NBRC 15617|AB184690|99.44|Bacteria Actin
10. Streptomyces djakartensis|NBRC 15409|AB184657|99.37|Bact
11. Streptomyces aurantiogriseus|NBRC 12842|AB184188|99.17|Bact
12. Streptomyces tendae|ATCC 19812|D63873|99.1|Bacteria Actin
13. Streptomyces violaceorubridus|LMG 20319|AJ781374|99.03|Bact
14. Streptomyces calvus|ISP 5010|AY999780|98.96|Bacteria Actin
15. Streptomyces asterosporus|NRRL B-24328|AY99902|98.96|Bact