REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUEET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE





Université De Saad Dahleb – Blida 1 -Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire de Fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option

Biologie Moléculaire et cellulaire

Thème

Analyses phylogénétiques des espèces du genre Saccharothrix isolées des sols sahariens d'Algérie

Présenté par :

Melle ABDI Havet Melle HADJ HACENE Yousra

Soutenue le : 15 / 07 /2021 devant le jury composé de :

M^{me}. RAHIM I. MCB Univ. de Blida 1 Présidente

M^{me}. MEKLAT A. Professeur ENS. Kouba Examinatrice

M^{me}. MATMOURA A. MAA Univ. de Blida 1 Promotrice

Année Universitaire: 2020/2021



Dédicaces



Je tiens a dédié ce modeste travail :

A mes parents, Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, et qui m'ont doté d'une éducation digne, leur amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui:

A l'être le plus cher de ma vie, ma mère

A celui qui a fait de moi une femme, mon père

A ma chère grand-mère Maternelle

A qui je souhaite une bonne santé

A la mémoire de ma chère grand-mère Paternelle et de mes grands-pères

Paternel

Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde et que ce travail soit une prière pour votre âme.

A mes chères sœurs

Pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études

A mon neveu Racim

Avoir un neveu est le plus beau cadeau qu'une sœur puisse vous faire. Tu as apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Je t'aime

A ma chère binôme, Hadj Hacene Yousra

Pour son entente et sa sympathie

A tous les membres de ma famille, a tous mes amis

Et à tous ceux qui m'aiment

ABDI Hayet

Dédicaces

Je tiens a dédié ce modeste travail:

A mes chers parents, a ceux qui mon fait de moi une femme Qui n'ont jamais cessé, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, et qui m'ont doté d'une éducation digne, leur amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui

A mon cher père Monsieur Mohamed Amine pour son soutien et la confiance qui m'a accordé

A la plus cher de ma vie, ma mère Madame Fekhar Leila pour ses encouragement, ses sacrifices, sa patience, son soutien et son amour.

A la mémoire de mes grands-parents paternels Monsieur Hadj Hacene Belkacem et Madame Bendali Rabea

A mes grands-parents maternel que dieu les protège Monsieur Fekhar Khaled et Madame Bendali Zahia

A mon support ; mon unique, à mon chère frère Mohamed Samir ; je te souhaite tout le bonheur ; la réussite, et la santé

A ma chère binôme, Abdi Hayet; Pour son entente et sa sympathie

A tous mes professeurs du parimaire, du moyen et de l'enseignement supérieurs

A tous les membres de ma famille.

Hadj Hacene Yousra

Table Des Matières

Liste des abréviations	
Index des tableaux	
Index des figures	
Index des schémas	
Résumé	
Abstract	
ملخصص	
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	_
I. GENERALITES SUR LESACTINOBACTERIES	3
1. Définition	3
2. Distribution environnementale: présence et habitats	3
2.1. Les sols	4
2.2. Les habitas marins	4
2.3. Habitat et répartition en Algérie	4
3. Taxonomie	6
3.1. Taxonomiemoléculaire	6
A. Séquençage du gène codant pour l'ARN 16S	7
B. Hybridation ADN-ADN	9
C. Le pourcentage de guanine-cytosine	9
4. Importance des actinobactéries	12
II. LE GENRE SACCHAROTHRIX	13
1.Propriétés morphologiques et chimiotaxonomiques	13
2. Position taxonomique	14
3. Espèces appartenant au genre <i>Saccharothrix</i>	16
4. Métabolites secondaires sécrétés par les espèces de Saccharothrix	18
CHAPITRE II : MATERIELS ET METODES	
I.MATERIEL	20
1. Souches du genre Saccharothrix étudiées	20
II. METHODES	20
1. Extraction d'ADN génomique	21
2. Quantification de l'ADN extrait et vérification sa pureté	21
3. Amplification du gène codant pour l'ARNr 16S par PCR	23
4. Analyse des produits PCR par électrophorèse	23
5. Séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S	24
6. Analyses phylogénétiques	24
6.1. Traitement de la séquence du gène ADNr 16S de la souche <i>CA3</i>	24
6.2. Téléchargement séquences d'ADNr 16s des espèces du genre	25
Saccharothrix étudiées	
6.3. Le teste du BLAST	26
6.4. Construction des arbres phylogénétiques	27

CHAPITRE III: RÉSULTATS ET DISCUSSION

Résultats		29
1.Étude mole	éculaire et phylogénie	29
1.1.	La souche CA3	29
1.2.	Saccharothrix algeriensis DSM 4458 ^T	30
1.3.	Saccharothrix hoggarensis DSM 45457 ^T	30
1.4.	Saccharothrix saharensis DSM 45456 ^T	30
1.5.	Saccharothrix tamanrassetensis DSM 45947 ^T	34
1.6.	Saccharothrix isguenensis DSM 46885 ^T	34
1.7.	Saccharothrix ghardaiensis DSM 46886 ^T	34
Discussion		35
CONCLUS	ION ET PERSPECTIVES	38
RÉFÉRENC	CES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES		
ANNEXE N	T° 1	
ANNEXE N	T° 2	

Index des tableaux

Tableau	Titre			
Tableau Nº01	Liste des espèces appartenant au genre Saccharothrix.	17		
Tableau Nº02	Tableau N°02 Les souches du genre Saccharothrix étudiées.			
Tableau Nº03	Résultat du blast des séquences du gène codant pour l'ARNr 16S			
	des souches étudiées avec les souches-types des espèces du genre			
	Saccharothrix.			

Index des figures

Figure	Titre	Nº			
Figure Nº01	Le nombre de nouvelles espèces d'actinobactéries collectées en Algérie durant la période allant de 2002 à 2019				
Figure Nº02	Figure N°02 Organisation du gène codant pour l'ARNr 16S				
Figure N°03	Dendrogramme montrant les relations phylogéniques entre les différentes familles de la classe des actinobactéries, établi sur la base de l'analyse des séquences du gène codant pour l'ARNr16S (Kämpfer, 2010). La barre indique 0,10 substitution par position de nucléotide.	11			
Figure Nº04	photomicrographie du genre saccharothrix selon (a), (b) et (c)	14			
Figure N°05 Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences de l'ADNr 16S et montrant les relations entre les différents genres appartenant à la famille des Pseudonocardiaceae					
Figure Nº06	Figure Nº06 Principaux composés bioactifs élaborés par les espèces du genre Saccharothrix.				
Figure Nº07	Schéma représentatif des étapes de la méthode d'extraction d'ADN génomique				
Figure Nº08	Illustration de l'obtention de la séquence du gène codant pour l'ARNr 16S à partir des deux séquences obtenues par le séquençage.	24			
Figure N°09 Diagramme montrant les étapes du téléchargement des séquences du gène ADNr 16S des six espèces du genre Saccharothrix étudiées à partir de la banque de données NCBI		25			
Figure Nº10	Diagramme montrant les étapes du BLAST	26			
Figure Nº11	Figure Nº11 Diagramme montrant la construction des arbres phylogénétiques en utilisant le logiciel MEGA version 7.0				
Figure Nº12	Bandes de l'ADNr16S de la souche CA3 révélées sur gel d'agarose	29			

Figure Nº13	Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences du gène				
	codant pour l'ARNr 16S, construit par la méthode du «neighbor-				
	joining» (Saitou et Nei, 1987). Cet arbre montre les relations entre				
	les 7 souches étudiées (en gras) appartenant au genre				
	Saccharothrix d'une part, et les souches-types des espèces				
	appartenant à ce genre, d'autre part.				

Liste des abréviations

BLAST: Basic Local Alignement Search Tool

MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis

TC: tétracycline

NCBI: National Center for Biotechnology Information

SG: SYBR Green

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

DO: Densité optique

CHV: Chitine-vitamines B agar

G+C: Guanine + Cytosine

PCR: Polymerase Chain Reaction

ADN: Acide désoxyribonucléique

LBSM: Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens

ARN: Acide ribonucléique

ISP: International Streptomyces Project

UV: fluorescence ultraviolette

EDTA: Ethylenediaminetetra acetic acid

SDS: sulfate de sodium dodecyl

dNTP: Désoxyribonucléotide triphosphate

ddNTP: Didésoxyribonucléotide triphosphate

ddATP: Didésoxyadénosine triphosphate

ddGTP: Didésoxyguanosine triphosphate

ddCTP: Didésoxycytidine triphosphate

ddTTP: Didésoxythymidine triphosphate

NRRL: Northern Regional Research Center

Résumé

Six souches d'actinobactéries appartenant au genre *Saccharothrix; S. algeriensis* DSM 4458^T, *S. hoggarensis* DSM 45457^T, *S. saharensis* DSM 45456^T, *S. tamanrassetensis* DSM 45947^T, *S. isguenensis* DSM 46885^T, et *S. ghardaiensis* DSM 46886^T isolées de sols sahariens d'Algérie, et une souche *Saccharothrix* sp. CA3 provenant de la mer méditerranée d'Algérie ont été sélectionnées pour une analyse phylogénétique.

Une étude moléculaire portant sur le séquençage du gène qui code pour l'ADNr 16S a permis de confirmer l'appartenance de cette souche *Saccharothrix*, cela a déjà été constaté lors des études morphologiques. L'alignement de sa séquence d'ADNr 16S par le blast (Basic Local Alignment Search Tools), sur Ez-taxon-e (https://www.ezbiocloud.net/) a montré qu'elle présente un pourcentage de similarité de 99,86% avec l'espèce la plus proche *S. tamanrassetensis* DSM 45947^T provenant du sol saharien, et l'arbre phylogénétique conçu en utilisant le logiciel MEGA version 7.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis program) par la méthode du "neighbor-joining" a montré qu'elle forme un cluster distinct avec cette espèce. Les séquences d'ADNr 16S des 6 souches ont été téléchargées de la base de données NCBI (National Center for Biotechnology Information).

L'alignement des séquences d'ADNr 16S par le blast des six souches de *Saccharothrix* téléchargées à montrer des taux supérieur à 98,65 % la limite de la détermination de nouvelles espèces. L'analyse phylogénétique par la méthode du "neighbor-joining" montre que *S. algeriensis* DSM 4458^T forme un cluster distinct avec *S. australiensis* DSM 43800^T et se détache des autres espèces du genre *Saccharothrix*, l'espèce *S. hoggarensis* DSM 45457^T se rapproche de trois espèces *S. ecbatanensis* UTMC 537^T, *S. isguenensis* DSM 46885^T, et *S. longispora* DSM 43749^T, et se détache des autres, l'espèce *S. saharensis* DSM 45456^T se rapprochée phylogénétiquement de

S. carnea NEAU yn17^T, l'espèce S. tamanrassetensis DSM 45947^T forme bien un cluster avec la souche CA3,et s'éloigne nettement des autres, l'espèce S. isguenensis DSM 46885^T clairement se rapproche phylogénétiquement de S. ecbatanensis DSM 44229^T, forme un cluster avec et se détache des autres, et l'espèce S. ghardaiensis DSM 46886^T se détache de ces espèces en formant une lignée bien distincte.

Les tests d'hybridations ADN-ADN réalisés pour les six séquences des souches ont montrés des pourcentages inférieurs à la limite de 70 %, ce qui a permet de conclure qu'elles sont de nouvelles espèces du genre *Saccharothrix*.

Mots clés: Saccharothrix, sols sahariens, ADNr 16S, analyse phylogénétique, Algérie.

Abstract

Six strains of actinobacteria belonging to the genus *Saccharothrix*; *S. algeriensis* DSM 4458^T, *S. hoggarensis* DSM 45457^T, *S. saharensis* DSM 45456^T, *S. tamanrassetensis* DSM 45947^T, *S. isguenensis* DSM 46885^T, and *S. ghardaiensis* DSM 46886^T isolated from Saharan soils Algeria, and a strain *Saccharothrix sp.*

CA3 from the Mediterranean Sea of Algeria were selected for phylogenetic analysis. A molecular study involving the sequencing of the 16S rDNA gene has confirmed the membership of this *Saccharothrix* strain, which has already been observed during morphological studies. The alignment of its 16S rDNA sequence by the blast (Basic Local Alignment Search Tools), on Ez-taxon-e (https://www.ezbiocloud.net/) has shown that it has a percentage similarity of 99.86% with the closest species *S. tamanrassetensis* DSM 45947^T from Saharan soil, and the phylogenetic tree designed using MEGA software version 7.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis program) by the "neighbor-joining" method has been shown to form a distinct cluster with this species.

The 16S rDNA sequences of the 6 strains were downloaded from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database. The alignment of the 16S rDNA sequences by the blast of the six strains of *Saccharothrix* uploaded to show levels exceeding 98.65% the limit of determination of new species. The phylogenetic analysis by the "neighbor-joining" method shows that *S. algeriensis* DSM 4458^T forms a distinct cluster with *S. australiensis* DSM 43800^T and is detached from other species of the genus *Saccharothrix*, the species *S. hoggarensis* DSM 45457^T approaches of three species *S. ecbatanensis* UTMC 537^T, *S. isguenensis* DSM 46885^T, and *S. longispora* DSM 43749^T, and stands out from the others, the species *S. saharensis* DSM 45456^T is phylogenetically similar to *S. carnea* NEAU yn17^T, the species *S. tamanrassetensis* DSM 45947^T does form a cluster with the strain *CA3*, and clearly distances it self from the others, the species *S. isguenensis* DSM 46885^T clearly approaches phylogenetically to *S. ecbatanensis* DSM 44229^T, forms a cluster with and detaches from the others, and the species *S. ghardaiensis* DSM 46886^T is detached from these species by forming a very distinct lineage.

DNA-DNA hybridization tests performed for the six sequences of the strains showed percentages below the 70% limit, which led to the conclusion that they are new species of the genus *Saccharothrix*.

Keywords: Saccharothrix, Saharan soils, 16S rDNA, phylogenetic analysis, Algeria.

ملخص

S. hoggarensis DSM 'S. algeriensisDSM 4458^T Saccharothrix إلى جنس S. isguenensis DSM 46885T 'S. tamanrassetensisDSM 45947^T 'S. saharensisDSM 45456^T '45457^T من البحر الأبيض المتوسط في الجزائر لتحليل النشوء والتطور. أكدت دراسة جزيئية تتضمن تسلسل جين Saccharothrix والتي تمت ملاحظتها بالفعل خلال الدراسات المور فولوجية.

أظهرت محاذاة تسلسل rDNA 16S الخاص به عن طريق الانفجار (أدوات بحث المحاذاة المحلية الأساسية) ، على rDNA 16S الظهرت محاذاة تسلسل rDNA 16S الخاص به عن طريق الانفجار (أدوات بحث المحاذاة المحلية الأساسية) أن لديه نسبة تشابه 99.86٪ مع الأقرب الأنواع. MEGA الإصدار 7.0 (برنامج تحليل الوراثة تربة الصحراء ، وقد تم إثبات أن شجرة النشوء والتطور المصممة باستخدام برنامج MEGA الإصدار 7.0 (برنامج تحليل الوراثة التطورية الجزيئية) من خلال طريقة "الارتباط بالجوار" تشكل مجموعة متميزة مع هذا النوع.

تم تنزيل تسلسل rDNA16 S للسلالات الست من قاعدة بيانات المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية (NCBI). محاذاة تسلسل rDNA16 S عن طريق انفجار السلالات الست من Saccharothrix التي تم تحميلها لإظهار مستويات تتجاوز 98.65 ٪ حد تحديد الأنواع الجديدة. يُظهر التحليل الوراثي باستخدام طريقة "الانضمام إلى الجار" أن Salgeriensis DSM 4458T تشكل مجموعة متميزة مع Saccharothrix DSM 44580 و منفصلة عن الأنواع الأخرى من جنس Saccharothrix ، وهي مقاربة الأنواع . S. isguenensis DSM 45457^TS. isguenensis DSM 45457^TS. ومن الأنواع . دومن الأنواع الأخرى ، الأنواع . تشكل مجموعة مع سلالة CA3 ، ومن الواضح أنها تنأى بنفسها عن الأنواع الأخرى ، فالنوع S. isguenensis DSM 46885^T . ويقترب بشكل واضح من سلالة . S. ghardaiensisDSM والنوع دولفط عنها ، والنوع ecbatanensis DSM 44229^T .

أظهرت اختبارات تهجين الحمض النووي والحمض النووي التي أجريت على التسلسلات الستة للسلالات نسبًا أقل من حد 70٪ ، مما أدى إلى استنتاج أنها أنواع جديدة من جنس Saccharothrix.

الكلمات المفتاحية: Saccharothrix ، التربة الصحراوية ، rDNA16 S ، تحليل النشوء والتطور ، الجزائر.

Introduction

Introduction

Les actinobactéries sont des bactéries mycéliennes à Gram positif ayant un pourcentage de guanine-cytosine élevé (supérieur à 55%) qui les différencie des autres bactéries. En outre, elles forment phylogénétiquement une branche à part et sont caractérisées par une très grande diversité morphologique (Goodfellow, 2012). L'importance des actinobactéries a de tout temps été soulignée dans divers domaines: dans le domaine industriel, dans le domaine médical et vétérinaire, dans l'agriculture et l'agroalimentaire, etc. (George *et al.*, 2012; Solecka *et al.*, 2012).

Les actinobactéries sont retrouvées pratiquement partout dans l'environnement où elles ont pu coloniser plusieurs milieux, y compris les plus extrêmes et où la vie était considérée comme étant impossible (Tiwari et Gupta, 2013). En Algérie, avec une superficie de plus de 2 millions de kilomètres carrés, et un climat impressionnant diversité allant des montagnes enneigées des régions du nord surplombant la Mer Méditerranée jusqu'au désert saharien le plus chaud du monde. Cela affecte une grande biodiversité, riche et diversifiée en actinobactéries, à laquelle correspond une large chimio diversité de métabolites.

Ces dernières années, plusieurs taxons originaux ont été signalés dans le monde, y compris dans le Sahara algérien. Les sols sahariens d'Algérie se sont révélés être relativement assez riches en actinobactéries rares ou peu fréquents (autres que *Streptomyces*), aussi bien du point de vue quantitatif et de la biodiversité générique et spécifique que du point de vue des propriétés antagonistes, que ce soit antibactériennes ou antifongiques (Sabaou *et al.*, 1998). Parmi ces genres rares *Saccharothrix*, s'est révélé être l'un des plus intéressants. Au total 23 nouvelles espèces du genre *Saccharothrix* sont découvertes dans le monde, six espèces (environ un quart du nombre total) ont été isolé par les équipes du Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de Kouba-Alger sous la direction du Professeur Sabaou Nasserdine, que Dieu lui fasse miséricorde.

Les méthodes classiques d'identification bactérienne basées sur la détermination des caractères morphologiques, culturaux, et physiologiques ont montré leurs limites (Douga *et al.*, 2005). La taxonomie moléculaire a été mise en place à partir des années 80 et consiste à l'application des méthodes d'analyses génétiques et moléculaires, notamment le séquençage du gène ADNr 16S qui code pour l'ARN ribosomique 16S (Jeffrey, 2008; Afifi *et al.*, 2012; Boughachiche, 2012). Ces techniques ont permis de tracer toute la

phylogénie des actinobactéries. Le gène ADNr 16S est l'un des gènes les mieux conservés parmi les organismes procaryotes. Il a été choisi comme marqueur phylogénétique en constituant une base de comparaison efficace et fiable pour pouvoir à la fois comparer et différencier les bactéries entre elles. Aujourd'hui, plus d'une centaine de milliers de séquences d'ARNr 16S ou du gène ADNr 16S sont mises à la disposition des scientifiques et des chercheurs sur le réseau internet, dans des bases de données généralistes comme Genbank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/), ou des bases de données spécialisées comme le ribosomal database project (RDP) (http://rdp.cme.msu.edu) à l'Université du Michigan aux États-Unis ou the European ribosomal RNA database à l'Université de Gand en Belgique (http://www.psb.ugent.be/rRNA/index.html).

Dans le présent travail, nous nous sommes fixés comme objectifs de bien maitriser quelque outils de la bioinformatique accessibles en ligne notamment les bases de données (DATA Base) comme NCBI, le BLAST (Basic Local Alignment Search Tools), et logiciel informatique MEGA 7.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis program, version 7.0) utilisé pour établir les arbres phylogénétiques, de reconstruire la phylogénie des espèces du genre *Saccharothrix* isolées de sols sahariens d'Algérie à l'aide du MEGA 7.0, et de comparer une souche *Saccharothrix* sp. isolée de la Mer Méditerranée d'Algérie, et la compare avec les espèces terrestres.

Le travail réalisé est divisé en trois parties :

- -La première partie du manuscrit présente des rappels bibliographiques sur les actinobactéries, nous avons présenté, leur définition, leur distribution, leur taxonomie, et leur importance, avec la description du genre *Saccharothrix*.
- -La deuxième partie est relative à la description du matériel et des méthodes utilisées.
- -La troisième partie présente et discute les résultats obtenus au cours de notre analyse phylogénétique et qui se termine par une conclusion et prescriptives.

Synthéses Bibliographiques

1. Généralités sur les actinobactéries

1.1. Définition

Le phylum *Actinobacteria*, affilié au domaine *Bacteria*, est nouvellement décrit dans le *Manuel de Systématique de Bergey* publié en 2012. Il est défini comme rassemblant les bactéries à Gram positif possédant un pourcentage élevé de guanine et de cytosine (G+C) (supérieur ou égal à 55 %) (Ludwig *et al.*, 2012), présentant une grande variabilité morphologique, la plupart étant mycéliens: cocci (*Micrococcus*), cycle bâtonnet-cocci (*Arthrobacter*), mycélium qui se fragmente (*Nocardia*, *Rhodococcus*, *Saccharothrix*...) et mycélium bien différencié et persistant (*Streptomyces*, *Actinomadura*, *Streptosporangium*...).

Le phylum *Actinobacteria*, comprend à l'heure actuelle 6 classes et 23 ordres, dont *Actinomycetales* en représente l'ordre-type. Toutefois, et à l'aide de la métagénomique, la cytométrie en flux (CMF) et l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), Ghai *et al.* (2013) ont pu décrire un nouveau groupe d'actinobactéries marines qui se caractérisent par la plus faible teneur en G+C signalée jusqu'ici (33 %) chez ce phylum, ainsi que par leur taille qui s'est révélée être la plus petite connue chez les procaryotes (volume cellulaire égal à 0,013 µm3). Ces mêmes auteurs ont, par la suite, proposé la création d'une nouvelle sous-classe "*Candidatus Actinomarinidae*" pour désigner ce groupe d'actinobactéries (Stackebrandt *et al.* 2002).

L'ancien nom des actinobactéries est «actinomycètes». Ce dernier provient du Grec « aktino - mycètes » ou «champignons à rayons » ou encore « champignons rayonnants» (Gottlieb, 1973).

Les actinobactéries peuvent être aérobies strictes (la majorité), anaérobies facultatives, strictement anaérobies ou micro-aérophiles. Ces microorganismes sont généralement chimio- organotrophes hétérotrophes, mésophiles (la majorité), et neutrophiles, mais certains peuvent être acidophiles, alcalophiles, psychrophiles, thermophiles, halophiles, halo-alcalophiles et même xérophiles (Saker, 2016).

1.3. Distribution environnementale: présence et habitats

Les actinobactéries sont répandus à l'échelle universelle (Tiwari et Gupta, 2013). Ils sont isolés à partir des sols (cultivés, désertiques, salés, etc.), des eaux (océans, mers, lacs, 3

rivières,

sources), de l'air, des glaciers et des sites pollués par des hydrocarbures ou par des métaux lourds (Lechevalier, 1981; Moncheva et al., 2002; Okoro et Brown et al., 2009; Zhang et al., 2012; Jiang et al., 2013). Ils sont présents au niveau des débris végétaux, ainsi qu'à l'intérieur des plantes en tant que symbiotes (Normand et al., 2007; Janso et Carter, 2010; Zhao et al., 2011). Ils sont également retrouvés dans les sources thermales (Barabote et al., 2009) et même sur les surfaces gamma-irradiées (Phillips et al., 2002).

1.2.1. Les sols

Les actinobactéries représentent 10 à 20 % de la population microbienne totale du sol. Typiquement, elles sont présentes dans le sol avec des densités de l'ordre de 106 à 109 UFC/g de sol sec (Goodfellow et Williams, 1983). Cependant, leur nombre et leur distribution sont fortement influencés par certains facteurs tels que la profondeur, le pH, la température, l'humidité, l'aération, le taux de matière organique et sa qualité, la charge microbienne, etc. (Sabaou *et al.*, 1998).

1.2.2. Les habitats marins

Les actinobactéries sont retrouvés aussi bien en milieu aquatique : dans les lacs, les rivières, les ruisseaux, qu'en milieu marin : les mers, les océans et même dans les sédiments océaniques situés à plus de 400m de profondeur (Weyland, 1986 ; Sabaou, 1988 ; Singh *et al*, 2007). En effet, un grand nombre d'espèces ont été isolées de la mer profonde, un environnement à forte pression, à basse température, absence de lumière, à concentration variable d'oxygène et de sel, preuve d'une vaste distribution de ce groupe de part le monde (Mincer *et al*, 2002 ; Pissul, 2006).

1.2.3. Habitat et répartition en Algérie

En Algérie, Avec une superficie de plus de 2 millions de kilomètres carrés, l'Algérie a un climat impressionnant diversité allant des montagnes enneigées des régions du nord surplombant la Mer Méditerranée jusqu'au désert saharien le plus chaud du monde. Cela affecte une grande biodiversité, riche et diversifiée en actinobactéries, à laquelle correspond une large chimio-diversité de métabolites.

Des actinobactéries ont été isolées dans différents écosystèmes, y compris des plantes sahariennes (Zamoum et al., 2015 ; Goudjal et al., 2013 ; Baoune et al., 2018), grottes

(Belyagoubi *et al.*, 2018), eaux usées (Silini *et al.*, 2015; Souagui *et al.*, 2019), sédiments fluviaux (Djinni *et al.*, 2018), zones hypersalines (Meklat *et al.*, 2012; Souagui *et al.*, 2015), sol du désert saharien (Sabaou *et al.*, 1998; Sabaou *et al.*, 1992) et les algues dérivées (Djinni *et al.*, 2013).

Les sols sahariens algériens, ont montré une grande diversité en genres actinobactériens, des plus abondants aux plus rares, voire même très rares dans le monde. Nous retrouvons les genres *Actinoalloteichus* (Boudjelal *et al.*, 2011), *Actinokineospora* (Aouiche *et al.*, 2015), *Actinomadura* (Badji *et al.*, 2005; Lahoum *et al.*, 2016), *Actinopolyspora* (Meklat *et al.*, 2013; Saker *et al.*, 2015). *Nocardiopsis* (Bouras *et al.*, 2015; Zitouni et *al.*, 2005), *Nonomuraea* (Badji *et al.*, 2007), *Planomonospora* (Chaabane Chaouch *et al.*, 2017), *Prauserella* (Saker *et al.*, 2015), *Saccharothrix* (Zitouni *et al.*, 2004; Boubetra *et al.*, 2013, Boubetra *et al.*, 2015), *Streptosporangium* (Boudjella *et al.*, 2006; Chaabane Chaouch *et al.*, 2016) etc. De même, les travaux menés sur l'isolement des actinobactéries à partir des sols sahariens algériens ont permis de décrire deux nouveaux genres, à savoir *Bounagaea* (Meklat *et al.*, 2015) et *Mzabimyces* (Saker *et al.*, 2014). Cependant, l'unique espèce appartenant au genre *Mzabimyces* (*M. algeriensis*), a fait l'objet d'un reclassement dans le genre *Halopolyspora*, en tant que *H. algeriensis* (Lai *et al.*, 2017).

Les études de Sabaou *et al.* (1998). ont montré le grand potentiel des habitats algériens pour les nouvelles espèces d'actinobactéries, indiquant la richesse de leur métabolisme pour la production de composés bioactifs. Un grand nombre de nouvelles espèces ont été découvertes, principalement de l'écosystème saharien, qui représente 85% de la superficie totale du pays. Le nombre de nouvelles espèces et des rares isolats d'actinobactéries rapporté des écosystèmes algériens (Zitouni *et al.*, 2004 ; Meklat *et al.*, 2015 ; Sahraoui *et al.*, 2011 ; Djaballah *et al.*, 2018) a augmenté ces dernières années, avec la découverte de six nouvelles espèces entre 2012 et 2013, pour atteindre un pic de 20 nouvelles espèces et une genre entre 2014 et 2017 et un total de 10 espèces en 2 ans au cours des périodes 2014-2015 et 2016-2017 (Figure 1).

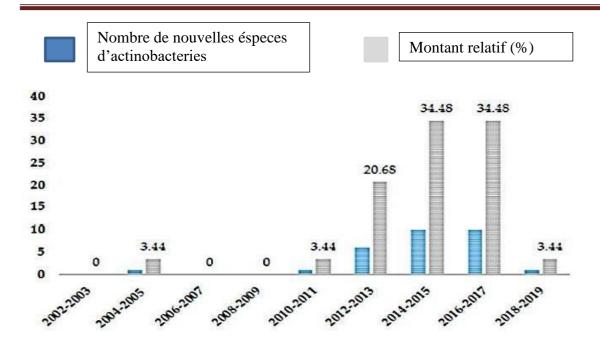


Figure 1. Le nombre de nouvelles espèces d'actinobactéries collectées en Algérie durant la période allant de 2002 à 2019 (Djinni *et al.*, 2019).

1.3. Taxonomie

La taxonomie des actinobactéries est basée sur un ensemble de caractères morphologiques, physiologiques, chimio-taxonomiques et génomiques. La taxonomie actuelle basée sur les données de la biologie moléculaire notamment le séquençage du gènecodant pour l'ARN ribosomique 16S. Ces microorganismes sont classés actuellement dans le règne des *Procaryotae*, le phylum des *Actinobacteria* et la classe des *Actinobacteria* également. Cependant, l'ordre des *Actinomycetales* a été subdivisé en plusieurs ordres (*Actinomycetales*, *Streptomycetales*, *Streptosporangiales*, *Micromonosporales*, *Micrococcales*, etc). L'ordre des *Actinomycetales* est actuellement un petit ordre représenté par peu de genres, dont *Actinomyces*. Les *Actinobacteria* sont classées, depuis 2012, dans 15 ordres, 43 familles et 203 genres (Goodfellow *et al.*, in Bergey's Manual, 2012).

1.3.1Taxonomie moléculaire

Pour distinguer les espèces entre elles, les méthodes taxonomiques classiques (caractéristiques morphologiques, chimiques et physiologiques) ne suffisent pas et l'utilisation des méthodes moléculaires fiables est impérative (Goodfellow *et al.*, 1988). Comme pour tous les procaryotes, l'application des techniques de biologie moléculaire est devenue indispensable pour la taxonomie des actinobactéries. En effet, il n'est plus possible de proposer un nouveau taxon actinobactérien sans avoir effectué des analyses moléculaires.

La détermination du pourcentage de G+C, le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S ainsi que l'hybridation ADN-ADN sont les critères les plus souvent utilisés pour l'identification moléculaire des actinobactéries. Il faut noter que l'efficacité et la fiabilité de ces techniques ont permis de réviser toute la phylogénie des actinobactéries à plusieurs niveaux hiérarchiques (Rheims *et al.*, 1999; Bergey, 2012).

A. Séquençage du gène codant pour l'ARN 16S

Le gène codant pour l'ARN ribosomique 16S (environ 1500 paires de bases) est considéré à l'heure actuelle comme un outil très important pour la classification phylogénétique et l'identification bactérienne pour plusieurs raisons:

- -Sa présence est universelle et y accomplit le même rôle chez toutes les cellules procaryotes.
- -Contient des régions très conservées, y compris celles se trouvant au niveau des extrémités 5' et 3' du gène; c'est ce qui permet ainsi de sélectionner des amorces universelles pour son amplification chez la majorité des bactéries existantes;
- -Comporte aussi des séquences internes variables qui, une fois analysées permettent de distinguer les espèces entre elles, et de les classer en fonction de leur phylogénie
- -Sa séquence est une alternance de domaines dont les vitesses d'évolution varient et permettent de comparer des espèces très proches sur des domaines hypervariables et des espèces très éloignées sur des domaines très conservés (Figure 2).
- -Il a évolué lentement au cours du temps, vraisemblablement en raison de son rôle dans la physiologie bactérienne.
- -Il n'est pas le résultat de transferts latéraux.
- -Il est préféré au 5S et au 23S en raison de sa taille moyenne et sa structure secondaire moins marquée. Sa séquence est suffisamment longue pour réaliser des comparaisons statistiquement cohérentes.

Ce gène permet à travers quelques expérimentations assez simples et rapides de

déterminer les relations phylogénétiques et d'identifier la souche étudiée (Rainey *et al.*, 1996; Stackebrandt *et al.*, 1997). Cette technique a permis d'ailleurs de retracer toute la phylogénie des actinobactéries et des autres microorganismes (Stackebrandt et Schumann, 2006; Wellington et Ul-Hassan, 2009).

Du point de vu pratique, après extraction du génome entier, le gène codant pour l'ARN ribosomique 16S est amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) avant qu'il ne soit séquencé à l'aide d'un séquenceur. Les séquences obtenues sont par la suite comparées à d'autres séquences homologues appartenant aux espèces-types disponibles dans les bases de données génomiques. Pour la confection de l'arbre phylogénétique illustrant les différents liens, des logiciels informatiques sont disponibles gratuitement dans le web. Ainsi, les séquences nucléotidiques sont d'abord traitées à l'aide de programmes informatiques tels que Clustal W et Philip, ensuite d'autres programmes (exemple: MEGA 7.0) serviront à construire le dendrogramme en employant un ensemble d'algorithmes et de techniques statistiques pour calculer les liens phylogénétiques (Stackebrandt *et al.*, 1997; Labeda et Kroppenstedt, 2000).

L'appartenance de plusieurs genres a une famille au plusieurs familles a un seul ordre doit être valider par la présence de plus de 95% des séquences des nucléotides « signatures » dans un même groupe (Stackebrandt *et al.*, 1997; Zhi *et al.*, 2009). Actuellement, il est admis qu'en dessous de 98.65% d'homologie entre les séquences d'ADNr 16S, deux souches ne peuvent pas appartenir à la même espèce (Kim *et al.*, 2014). De ce fait, les séquences qui partagent moins de 98,65% de similarité correspondent à des espèces différentes.

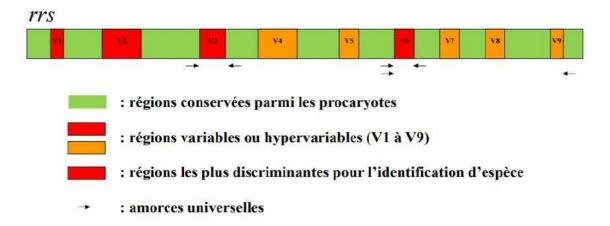


Figure 2. Organisation du gène codant pour l'ARNr 16S (Chakravorty et al., 2007)

B- Hybridation ADN-ADN

L'hybridation ADN-ADN est basée sur le calcul du taux de réassociation des brins d'ADN (génome entier) entre deux espèces. le séquençage du génome complet commence à être une méthode de routine pour la taxonomie des actinobactéries. Il occupe une place de plus en plus importante dans les projets de recherche, vu la possibilité de remplacer la technique de l'hybridation ADN-ADN qui s'est montrée être coûteuse et avec une faisabilité assez lourde. Cependant, elle est précise et indispensable pour la description de nouvelles espèces en fonction du taux de similarité basé sur l'ADNr 16S. C'est ainsi que les bases de données s'enrichissent progressivement par les nouvelles séquences génomiques, notamment celles des actinobactéries.

En effet, si le pourcentage d'homologie entre deux séquences d'ADN codant pour l'ARN16S est supérieur ou égal à 97%, seule l'hybridation ADN-ADN pourra nous renseigner sur l'appartenance des deux souches à la même espèce ou non (Stackebrandt et Goebel, 1994). Deux souches possédant entre elles un pourcentage inférieur à 97% sont classées dans deux espèces différentes, sans pour autant faire l'hybridation ADN-ADN. Ce seuil (97%) a été relevé à 98,2% par Meier-Kolthoff *et al.* (2013) qui ont pu montrer, suite à une étude statistique fine, que pour un pourcentage de similarité de 98,2%, la probabilité d'erreur de tomber avec une même espèce est de 0,01%. Cette probabilité est tellement non significative qu'il est donc inutile de faire les hybridations ADN-ADN en dessous de ce seuil. Pour pouvoir dire que deux souches appartiennent à une même espèce, il faudrait que le pourcentage d'hybridation ADN-ADN soit supérieur ou égal à 70% (Wayne *et al.*, 1987; Wellington et Ul-Hassan, 2009).

C- Le pourcentage de guanine-cytosine

En 1949, Chargaff et ses collaborateurs, montrent que le contenu en bases puriques et en bases pyrimidiques de l'ADN pouvait varier, mais qu'il était relativement constant pour les individus d'une même espèce. Chez les bactéries, les valeurs du (G+C %) sont très dispersées et elles varient de 25% à 75 %. Actuellement, on admet que des bactéries dont les (G+C %) diffèrent de plus de 5 % ne peuvent appartenir à une même espèce et que des bactéries dont les (G+C %) diffèrent de plus de 10 % ne peuvent appartenir à un même genre. Bien sûr, des valeurs du (G+C %) identiques n'impliquent pas que les bactéries sont proches car les bases peuvent être disposées de manière très différente sur l'ADN Boucheffa (2011). Grâce au pourcentage de G+C, la définition des actinobacteries (dont

l'ADN contient un pourcentage de G +C supérieur à 55%) a été reconsidérée. Ceci a permis d'inclure dans l'Ordre des *Actinomycetales* des bactéries à Gram positif qui ne possède pas un mycélium, telles que *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter* et *Micrococcus* (Wellington et Ul- Hassan, 2009) et d'exclure *Thermoactinomyces* qui a été considéré comme un actinobacterie grâce à sa forme mycélienne mais contient un taux de G+C inférieur à 55% (Yoon *et al.*, 2005).

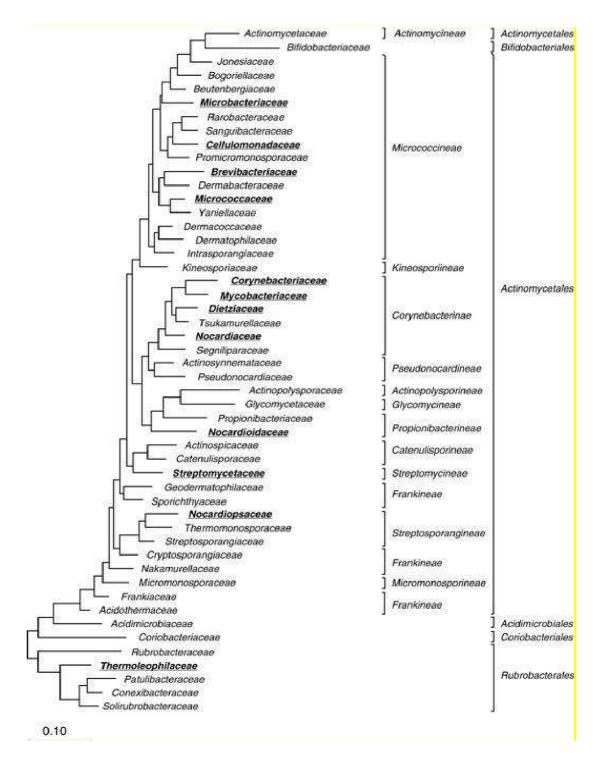


Figure 3. Dendrogramme montrant les relations phylogéniques entre les différentes familles de la classe des actinobactéries, établi sur la base de l'analyse des séquences du gène codant pour l'ARNr16S (Kämpfer, 2010). La barre indique 0,10 substitution par position de nucléotide.

1.4. Importance des actinobactéries

Dans le domaine pharmaceutique et médical, les actinobactéries sont les plus grands producteurs des composés actifs tels que les antiviraux, les antiparasitaires, les immunostimulants, les immunosuppresseurs, les enzymes, les vitamines, etc. Cependant, ils sont surtout réputés pour la production d'antibiotiques (Räty *et al.*, 2002; Takahashi et Omura, 2003; Solanki et kahana, 2008). En effet, plus de 45% des molécules bioactives d'origine microbienne sont produits par les actinobactéries (Solecka *et al.*, 2012).

En agriculture; Les actinobactéries jouent divers rôles dans leurs associations avec divers organismes supérieurs, beaucoup d'entre eux ont évolué pour vivre en symbiose avec des plantes (Anne Van Der *et al.*, 2017). Ces microorganismes, qui y hébergent, produisent une large gamme de métabolites antagonistes qui contribuent dans la défense contre les phytopathogènes, et d'autres produits qui aident à dégrader la matière organique complexe, afin de la rendre assimilable par les plantes. Les actinobactéries du sol sont également connues pour leur capacité à améliorer la santé des plantes en stimulant leur croissance et leur développement grâce à la production de phytohormones (Scott *et al.*, 2017).

En industrie; Les actinobactéries semblent être d'excellentes candidates productrices de substances aux propriétés intéressantes. Elles jouent un rôle important dans la décomposition et la minéralisation des matières organiques (lignine, cellulose..), grâce à la production de nombreuses enzymes lytiques extra cellulaires comme par exemple les analyses, les xylanases, la lipases utilisé dans les industries des détergents ; des denrées alimentaires , des oléochimiques , mais aussi les industries de domaine pharmaceutiques (Schmid et Verger , 1998). Des amylases ce qui les aide a effectuer une digestion extracellulaire .cette enzyme est très importante dans les applications biotechnologiques telles que l'industrie alimentaire ; la fermentation et les industries du textiles et du papier en raison de leur capacité à dégrader l'amidon (pandey *et al.*, 2000). Il existe une réelle demande au niveau industriel pour des enzymes d'origine microbienne afin d'améliorer certains procédés de fabrication. Les domaines d'application enzymatiques sont très divers ; industrie textile (décoloration de jeans), papeterie (procédé de blanchiment de la pâte à papier), dépollution (attaque des substances phénolique), industrie alimentaire (boulangerie).

2. Le genre Saccharothrix

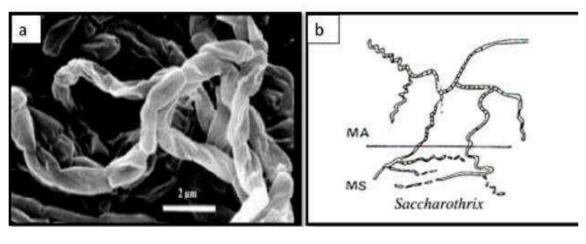
Le genre *Saccharothrix* (Saccharo = sucre, trix = cheveux) a été décrit pour la première fois par Labeda *et al.* (1984), avec comme espèce-type *S. australiensis* NRRL 11239. Il est, comme la grande majorité des actinobactéries, saprophyte, chimioorganotrophe hétérotrophe et aérobie stricte.

Bien que ce genre soit minoritaire parmi les actinobactéries mycéliennes, il a pu être isolé à partir de divers substrats et écosystèmes (Hozzein *et al.*, 2004; Zitouni *et al.*, 2005), et avec un pourcentage variant entre 8 et 15% dans plusieurs échantillons de sols sahariens (Sabaou *et al.*, 1998). De même, les travaux de (Gommeaux *et al.*, 2010) ont monté une certaine dominance de *Saccharothrix* dans des échantillons sableux prélevés des dunes, là où la matière organique est pratiquement inexistante.

2.1. Propriétés morphologiques et chimiotaxonomiques

Morphologiquement, le genre *Saccharothrix* est caractérisé par la présence d'un mycélium aérien à filaments ramifiés abondant ou très peu produit selon les espèces et les souches, se fragmentant totalement et de manière anarchique (souvent en zigzag),, en de longues chaînes de spores ovoïdes ou en bâtonnets, collées entre elles et moins individualisées non mobiles (Zitouni *et al.*, 2005). Le mycélium de substrat est ramifié, dressé et strié, il se fragmente lui aussi, de manière plus ou moins importante, en éléments coccoïdes ou allongés (Labeda et Lechevalier, 1989; Labeda et Kroppenstedt, 2000). La couleur des colonies de *Saccharothrix* diffère selon les espèces, mais la plus abondante est la couleur blanche clairsemé, blanc jaunâtre ou jaune orangé. Le dos de la colonie, qui représente le mycélium de substrat, est généralement de couleur jaune (Kim *et al.*, 2011). La figure 4 (a, et c) illustre un schéma micrographie pris au microscope électronique à balayage montrant les chaines de spores produites par le genre *Saccharothrix*.

Du point de vue chimique *Saccharothrix* possède une paroi de type III E (Labeda et Kroppenstedt, 2000; Labeda *et al.*, 2001) et une composition membranaire en phospholipides de type PII ou PIV (Lechevalier *et al.*, 1977).



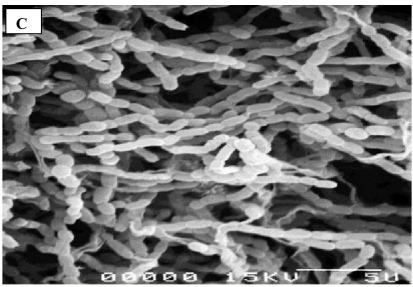


Figure 4. Photomicrographie du genre *saccharothrix* selon (a) Whitman *et al.* (2012), (b) Sabaou *et al.* (1988), et (c) Boubetra *et al.* (2015)

2.2. Position taxonomique

Ce fut en 1994 que (Warwick *et al.*, 1994) ont suggéré, pour la première fois, l'appartenance du genre *Saccharothrix* à la famille des *Pseudonocardiaceae*, avant que (Labeda *et al.*, 2000) ne le rattachent à la famille des *Actinosynnemataceae*. Actuellement, dans la dernière édition du Manuel de *Bergey* de 2012, et après les profonds remaniements opérés à l'échelle supragénérique, ce genre est actuellement classé dans la famille des *Pseudonocardiaceae* (ordre des *Pseudonocardiales*).

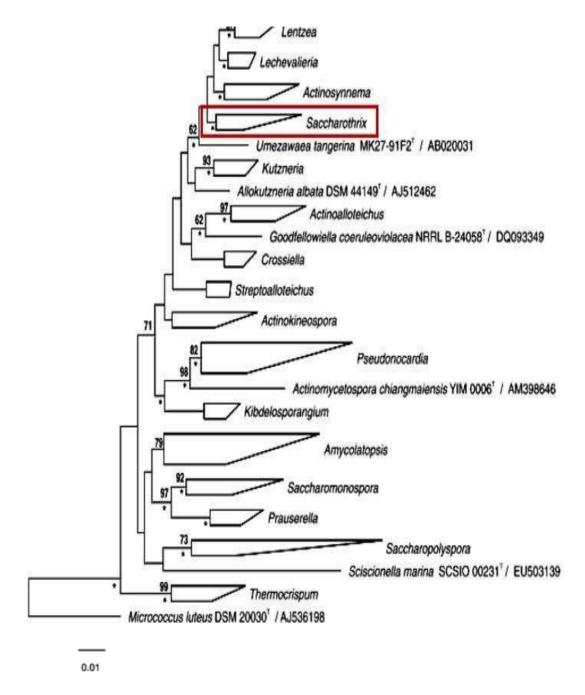


Figure 5. Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences de l'ADNr 16S et montrant les relations entre les différents genres appartenant à la famille des *Pseudonocardiaceae* (Bergey, 2012).

<u>Note:</u> Les valeurs au niveau des nœuds indiquent les taux du « bootstrap » (exprimés en pourcentage de 1000 re-échantillonnages). Ne sont donnés que les pourcentages supérieurs à 50%. La barre indique 0,01 substitution par position de nucléotide

2.3. Espèces appartenant au genre Saccharothrix

Après la création du genre, plusieurs nouvelles espèces ont été décrites. Certaines d'entre elles proviennent d'un reclassement à partir d'autres genres tels que *Nocardiopsis* et *Nocardia*, et ce, sur la base de la composition cellulaire en sucres diagnostiques et de la phylogénie (Labeda *et al.*, 2001). Cependant, plusieurs espèces de *Saccharothrix* ont été transférées dans d'autres genres; c'est le cas, par exemple, de *S. waywayendensis* et *S. aerocolonigenes*, rattachées à *Lentzea*, genre crée par (Yassin *et al.*, 1995) et *S. flava* rattachée à *Lechevalieria*, crée par (Labeda *et al.*, 2001).

Le genre *Saccharothrix* compte actuellement 23 espèces, dont deux sous-espèces comme indiqué dans (le tableau 1), l'évolution génétique de ces espèces est basée sur le séquençage du gène codant pour ARNr 16S.

Le sol, avec ses différentes natures est l'écosystème à partir duquel la majorité des espèces de *Saccharothrix* ont été isolées, dont *S. espanaensis*, qui a été isolée à partir du sol d'Espagne (Labeda et Lechevalier, 1989); *S. texasensis* a été isolée d'un sol au Texas (Labeda et Lyons, 1989), *S. variisporea* et *S. tharensis* sont isolées d'un sol en Inde (Kim et al., 2011; A.Ilbeyaima et al., 2018), *S. ecbatanensis* a été isolé du sol en Iran (Mohammadipanah et al., 2015), et *S. deserti* est d'un sol en Inde en Chine (Jinjuan Liu et al., 2020). Cependant beaucoup d'espèces ont été isolées à partir des échantillons de sols des régions désertiques de l'Algérie à savoir: *S. algeriensis* (Zitouni et al., 2004); *S. saharensis* et *S. hoggarensis* (Boubetra et al., 2013_{a, b}); *S. tamanrassetensis* (Boubetra et al., 2015); *Sa. isguenensis* (Bouznada et al., 2016) et *Sa. ghardaiensis* (Bouznada et al., 2017). De même, ce genre a été isolé à partir de l'eau, dont *S. xinjiangensis* qui a été isolée à partir de l'eau d'un lac en Chine (Labeda et Kroppenstedt, 2006).

<u>Tableau 1</u>. Liste des espèces appartenant au genre *Saccharothrix*.

N°	Espèce	Souche- type	Référence
1	S. australiensis	NRRL 11239 ^T	Labeda et al., 1984
2	S. texasensis	NRRL B-16107 ^T	Labeda et Lyons, 1989
3	S. espanaensis	DSM 44229 ^T	Labeda et Lechevalier, 1989
4	S. mutabilis subsp. mutabilis	DSM 43853 ^T	Labeda et Lechevalier, 1989
5	S. mutabilis subsp. capreolus	DSM 40225 ^T	Grund et Kroppenstedt, 1989
6	S. coeruleofusca	NRRL B-16115 ^T	Grund et Kroppenstedt, 1989
7	S. longispora	NRRL B-116116 ^T	Grund et Kroppenstedt, 1989
8	S. syringae	NRRL B-16468 ^T	Grund et Kroppenstedt, 1989
9	S. algeriensis	NRRL B-24137 ^T	Zitouni et al., 2004a
10	S. xinjiangensis	NBRC 101911 ^T	Hu et al., 2004
11	S. violaceirubra	NBRC 102064 ^T	Otoguro et al., 2009
12	S. variisporea	NRRL B-16296 ^T	Kim et al., 2011
13	S. yanglingensis	KCTC 19722 ^T	Yan et al., 2012
14	S. saharensis	DSM 45457 ^T	Boubetra et al., 2013a
14	S. hoggarensis	DSM 45456 ^T	Boubetra et al., 2013b
16	S. carnea	NEAU yn17 ^T	Liu et al., 2014
17	S. tamanrassetensis	DSM 45947 ^T	Boubetra et al., 2015
18	S. lopnurensis	YIM LPA2h ^T	Li et al., 2015
19	S. ecbatanensis	DSM 45486 ^T	Mohammadipanah et al., 2015
20	S. isguenensis	DSM 46885 ^T	Bouznada et al., 2016
21	S. ghardaiensis	DSM 46886 ^T	Bouznada et al., 2017
22	S. tharensis	KCTC 39724 ^T	A. Ilbeyaima et al., 2018
23	S. deserti	KCTC 49001 ^T	Jinjuan Liu et al.,2020

2.5. Métabolites secondaires sécrétés par le genre Saccharothrix

Les souches appartenant au genre *Saccharothrix* sécrètent plusieurs métabolites secondaires et antibiotiques de nature chimique assez diversifiée. Parmi les premiers antibiotiques décrits, nous citerons la nocamycine sécrétée par une souche de *S. syringae* (Horvath *et al.*, 1979). On peut ainsi trouver des polyamines ou des aminoglycosides (Takahashi *et al.*, 1986), des benzoquinones (Takahashi *et al.*, 1986; Isshiki *et al.*, 1989), des alcaloïdes (Suzuki *et al.*, 1991), des glycopeptides (Takeuchi *et al.*, 1992). des nucléosides carbocycliques (Bush *et al.*, 1993), des composés phosphorés acides et hydrophiles (Kimura *et al.*, 1995) des dithiolopyrrolones (hétérocycles azotés et soufrés) (Lamari *et al.*, 2002a, b), des heptadécaglycosides qui appartiennent à une nouvelle classe d'antibiotiques (Singh *et al.*, 2000), des anthracyclines (Zitouni *et al.*, 2004b, c) et des macrolides (Zitouni, 2005). La sacchathridine A, un dérivé naphtoquinonique agissant comme inhibiteurs des prostaglandines, a été aussi isolée à partir d'une souche de *Saccharothrix sp.* (Nakae *et al.*, 2013).

De même, Aouiche *et al.* (2012) ont montré qu'une souche de *Saccharothrix* sp. s'est avérée être productrice de chloramphénicol. Les études de Boubetra *et al.* (2013c) ont également mis en évidence de nouveaux composés antimicrobiens sécrétés par la souche de *S. tamanrassetensis* contre les bactéries Gram-positives, Gram-négatives et champignons filamenteux, mais pas contre les levures.

Récemment, les études menées par Lahoum (2017) ont montré que certains antibiotiques sécrétés par les *Saccharothrix spp*. sont doués d'une activité antibactérienne (anti-Gram positif et plus rarement anti-Gram négatif), comme la swalpamycine B, les galacardines, ou antifongique comme le thiazolylpyridine, ou encore antibactérienne et antifongique à la fois, comme les dithiolopyrrolones, la dopsisamine et la formamycine, la caerulomycine A, la caerulomycine F, la caerulomycinonitrile et les cyanogriside I et J.

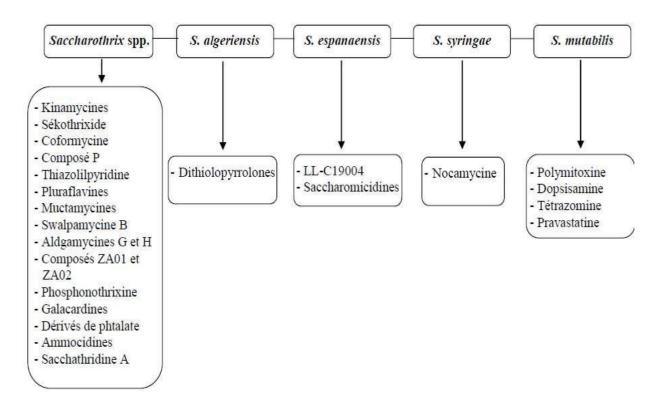


Figure 6. Principaux composés bioactifs élaborés par les espèces du genre Saccharothrix.

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Souches du genre Saccharothrix étudiées

Les souches de *Saccharothrix* étudiées dans notre travail proviennent du Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) de Kouba- Alger. Six souches ont été isolées à partir des échantillons du sol saharien provenant de différentes régions d'Algérie durant la période allant de 2004 à 2017, et les travaux des isolements ont été publiées, et une souche (CA3) a été isolée par Matmoura *et al.* (Travaux en cours) à partir d'un échantillon d'eau de mer Méditerranée prélevé de la région de Cherchell (Tipaza). (Tableau 2). Les 7 souches ont été isolées sur le milieu « Chitine-Vitamines B-agar» (Hayakawa et Nonomura, 1987) additionné d'actidione (50 μg/mL) et d'acide nalidixique (10mg/l).

Les 7 souches ont été sélectionnées pour une analyse phylogénétique en utilisant des programmes de bioinformatiques permettant d'analyser les séquences d'ADNr 16s et de construire les arbres phylogénétique.

Tableau .2 : Les souches du genre Saccharothrixétudiées.

Espèces	Région	Souche type	Numéro d'accès	Longueur d'ADNr 16S en (pb)	Références
S. algeriensis	Palmeraie d'Adrar	<u>DSM</u>	AY05497	1429	(Zitouniet al.,2004)
		<u>44581</u>	2		
S. hoggarensis	Hoggar,	<u>DSM</u>	HQ39956	1505	(Boubetraet al.,
	Tamanrasset	<u>45457</u>	4		2013)
S. saharensis	Palmeraie d'Adrar	DSM	FJ379333	1506	(Boubetraet al.,
		45456			2013)
S.	Hoggar,	DSM	KJ504176	1438	(Boubetraet al., 2015)
tamanrassetensis	Tamanrasset	45947			
S. isguenensis	Ghardaïa,	DSM	KU93325	1408	(Bouznada <i>et al.</i> ,
	Béni-isguen	46885	3		2016)
S. ghardaiensis	Ghardaïa, Metlili	DSM	KY02182	1442	(Bouznada <i>et al.</i> ,
		46886	0		2017)
CA3	Cherchell, Tipaza	/	/	1438	Travaux en cours par
					Matmouraet al

2. Méthodes

2.1. Extraction de l'ADN génomique

L'extraction de l'ADN génomique de la souche CA3 est effectuée à partir de culture souches âgée de 10 jours poussant sur le milieu ISP2. L'ADN est extrait, selon la méthode de Laassami et al, (2020), qui consiste à transférer une biomasse prélevée aseptiquement à l'aide de cure dent stérile dans un tube Eppendorf stérile de 1,5 mL. La biomasse prélevée est mise en suspension dans 500 µL d'une solution de lyse préalablement stérilisée par filtration, et composée de 400 M de tris-HCl [pH 8], 60 mM d'EDTA [pH 8], 150 mM de NaCl, et 1% de sulfate de sodium dodecyl (SDS). La biomasse est bien écrasée à l'aide de cônes stériles puis incubée à une température ambiante pendant 15 min. Le contenu des Eppendorfs est mélangé avec 150 µL d'une solution d'acétate de potassium (5 M, pH 4,8), et vortexé brièvement puis centrifugé à 12 000 rpm pendant une minute. Par la suite, un volume de 400 µL de surnageant est récupéré et transféré dans un autre tube Eppendorf stérile, puis additionné d'un même volume d'isopropanol et mélangé brièvement par inversion, avant que le mélange ne soit centrifugé à 12 000 rpm pendant 2 min. Le surnageant est éliminé et le culot est lavé avec 300 ul d'éthanol à 70 % par centrifugation à 12 000 rpm pendant 1 min. Le culot représentant l'ADN obtenu, est séché à température ambiante pendant une nuit sous une hotte, puis resuspendu dans 40 µL d'eau bidistillée stérile et conservé à -20°C pour une utilisation ultérieure.

2.2. Quantification de l'ADN extrait et vérification sa pureté

Elle consiste à déterminer la quantité d'ADN présente dans les échantillons et la vérification sa qualité en utilisant un spectrophotomètre du type NanoDrop (Genova Nano). Chaque échantillon est dilué (1/200e) dans de l'eau bidistillée stérile. La densité optique (DO) est mesurée à deux longueurs d'ondes différentes :

- -260 nm: longueur d'onde d'absorption de l'ADN et de l'ARN.
- -280 nm: longueur d'onde d'absorption des protéines.

Le rapporte DO260 nm/DO280 nm nous permet de connaître la pureté de l'ADN. Il doit être compris entre 1,8 et 2,0.

- -S'il est inférieur ou égal à 1,8, il y a une contamination par les protéines.
- -S'il est supérieur ou égal à 2,0, il s'agit d'une contamination par des ARN.

La quantité d'ADN est calculée selon la formule suivante: \geq [ADN] = DO260 nm x 50 x facteur de dilution (µg/mL). Remarque: 1 unité DO260 nm = 50 µg/mL d'ADN.

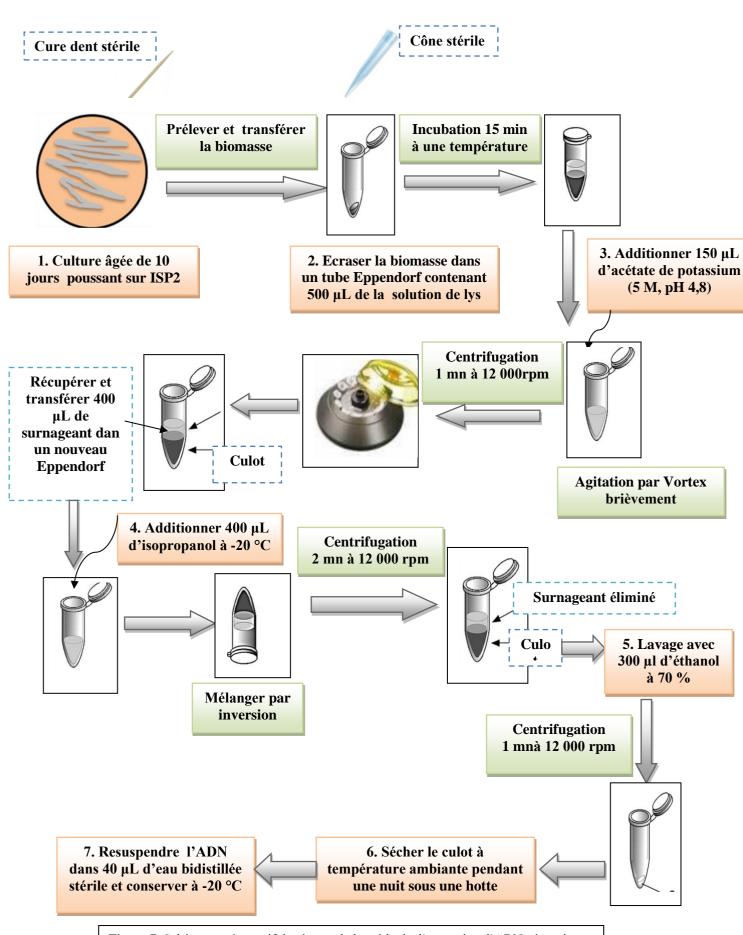


Figure 7. Schéma représentatif des étapes de la méthode d'extraction d'ADN génomique

2.3. Amplification du gène codant pour l'ARNr 16S par PCR

L'amplification de l'ADNr 16S de la souche CA3 est réalisée par PCR (Polymerase Chain Reaction) avec un kit SilverStar DNA polymerase en utilisant deux amorces :

10-30F (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCA-3')

1500R (5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3')

Le mélange réactionnel contient, pour un volume final de $30~\mu L$: 50~ng d'ADN génomique, $0.5~\mu M$ de chaque amorce 10-30F et 1500R, 1X du tampon PCR, 1.5~mM de MgCl₂, $200~\mu M$ du mélange désoxynucléoside triphosphate (dNTP) et 1~U de Taq ADN polymérase. L'amplification a été effectuée dans un thermocycleureppendorf (BIO-RAD C1000 Touch Thermal Cycler CFX96 Optics Module) selon le profil suivant:

Une étape initiale de dénaturation à 96 °C pendant 4 min, suivie d'une pause permettant l'addition de la *Taq* polymérase. Par la suite, 30 cycles d'amplification ont été effectués (dénaturation à 94 °C pendant 1 min, hybridation à 52 °C pendant 1 min, et extension à 72 °C pendant 2 min). A la fin des cycles, le mélange réactionnel est maintenu à 72 °C pendant 10 min pour l'élongation finale, puis refroidi à 4 °C.

2.4. Analyse des produits PCR par électrophorèse

Les produits de la PCR(pressée d'une bande de 1500 pb) ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose (à 0,8 %), afin de séparer les fragments d'ADN amplifiés, de vérifier leur qualité et de déterminer leur taille. Le gel d'agarose a été préparé après solubilisation de 480 mg d'agarose en poudre (DNA grade, Euromedex) dans 60 mL de tampon TAE 1X (Tris acétate- EDTA; Euromedex). Le mélange a été porté à ébullition pendant 2 min au micro-onde pour faire fondre l'agarose. Dix microlitres du Save View(un agentintercalant dans les acides nucléiques)sont ajoutés au gel en surfusion avant d'être coulé sur une plaque d'électrophorèse horizontale ($10 \times 4 \times 1$ cm). Des puits sont formés par positionnement d'un peigne, afin de déposer les échantillons. Après solidification du gel en 30 min à température ambiante le peigne est retiré. Six microlitres de chaque amplifiat obtenu par PCR sont alourdis par 1 μ L du tampon de charge contenant 0,25% du bleu de bromophénol servant de marqueur de mobilité, puis déposés dans un des puits du gel déjà immergé dans le tampon TAE 1X. Cinq μ l d'un marqueur de taille de 1Kb DNA Laddersont déposés dans un des puits pour vérifier la taille des amplifiats. La migration a lieu à 100 volts

pendant 35 min, à température ambiante. Après migration des échantillons, le gel est ensuite déposé sur un transilluminateur (table UV) d'un appareil gel Doc XR pour visualiser les bandes d'ADN à photographier. Étant un agent mutagène, le Save View s'intercale entre les acides nucléiques et fluoresce sous lumière UV à 254 nm.

2.5. Séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S

Les gènes amplifiés obtenus ont été envoyés à la compagnie *Genewiz*, Ltd. (Takeley, Royaume-Uni) pour être séquencés avec un séquenceur automatique en utilisant le même couple d'amorces que pour la PCR.

2.6. Analyse phylogénétique

2.6.1Traitement de la séquence du gène ADNr 16S de la souche CA3

Après extraction de l'ADN génomique et amplification et séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S, les deux séquences obtenues par les deux amorces sont traitées pour avoir la séquence finale du gène ADN ribosomique 16S à l'aide d'un logiciel informatique MEGA 7.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis program, version 7.0) (Kumar *etal.*, 2016).La séquence anti-sens (3'OH-5'P) est inversée puis alignée avec la séquence sens (5'P - 3'OH); pour avoir une zone de chevauchement (représentée en rouge dans la figure 8).Les deux séquences sont ensuite fusionnées à l'extrémité 3' pour la première et 5' pour la deuxième en éliminant la séquence de chevauchement de l'un des brins pour avoir une seule séquence de l'ADNr 16S, de 1400 à 1500 pb (selon la qualité et la longueur des séquences initiales) (Figure 8).

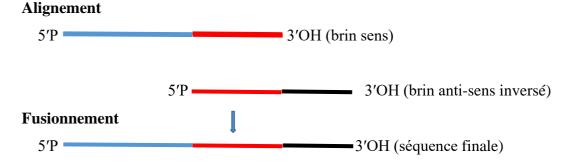
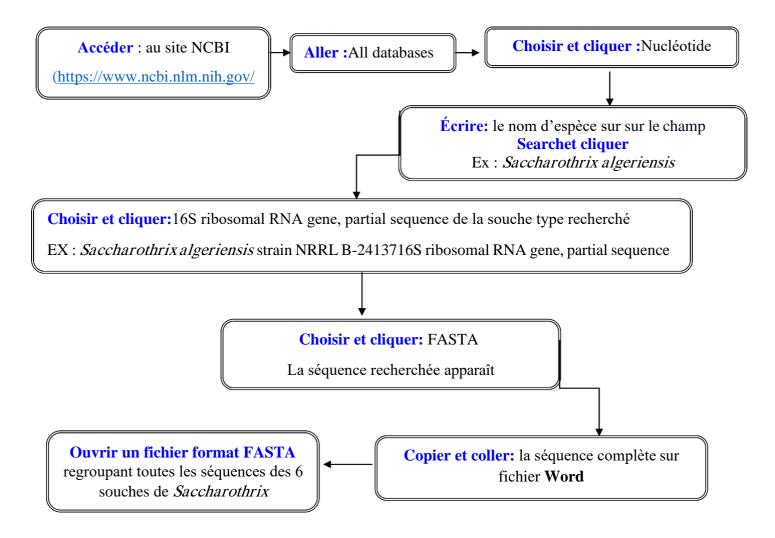


Figure 8. Illustration de l'obtention de la séquence du gène codant pour l'ARNr 16S à partir des deux séquences obtenues par le séquençage.

2.6.2. Téléchargement séquences d'ADNr 16s des espèces du genre Saccharothrix étudiées

Les séquences de l'ADNr 16S des 6 espèces du genre *Sacharothrix* ont été téléchargées à partir de la banque de données NCBI (National Center for Biotechnology Information) (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/).

Le NCBI est système automatisé qui a été créé par Claude Denson Pepper le 4 novembre 1988, pour stocker, analyser les connaissances de la biologie moléculaire, la biochimie, et la génétique, faciliter l'utilisation de ces bases de données et logiciels par la communauté scientifique et médicale, et pour coordonner les efforts de collecte d'informations sur la biotechnologie aux niveaux national et international.



<u>Figure 9.</u> Diagramme montrant les étapes du téléchargement des séquences du gène ADNr 16S des six espèces du genre *Saccharothrix* étudiées à partir de la banque de données NCBI

2.6.3. Le teste du BLAST

La position phylogénétique des souches étudiées est déterminée par comparaison, avec le teste du BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), les séquences de l'ADNr 16S de nos souches avec les séquences homologues d'espèces types de référence répertoriées dans le serveur EzTaxon-e (disponible sur le site Internet: http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/) (Kim etal., 2012; Tamuraet al., 2013), pour déterminer l'espèce la plus proche de la souche étudiée en termes de pourcentage desimilitude.

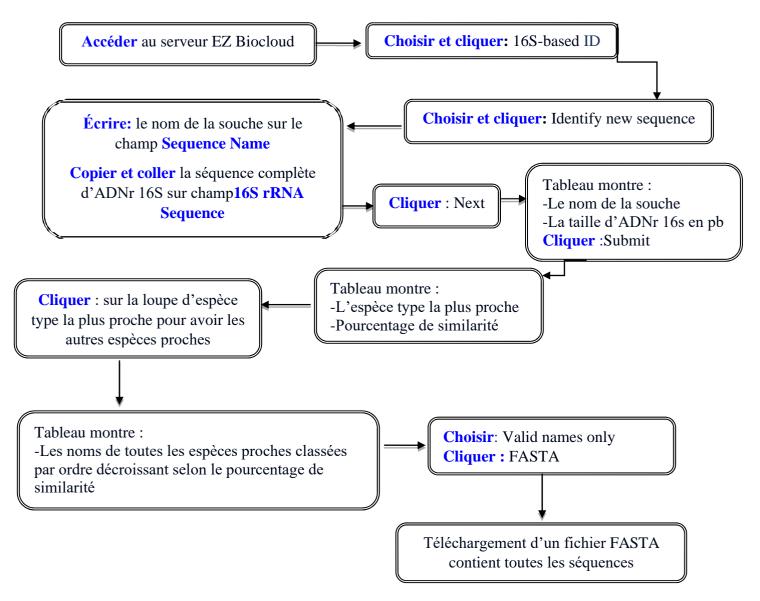
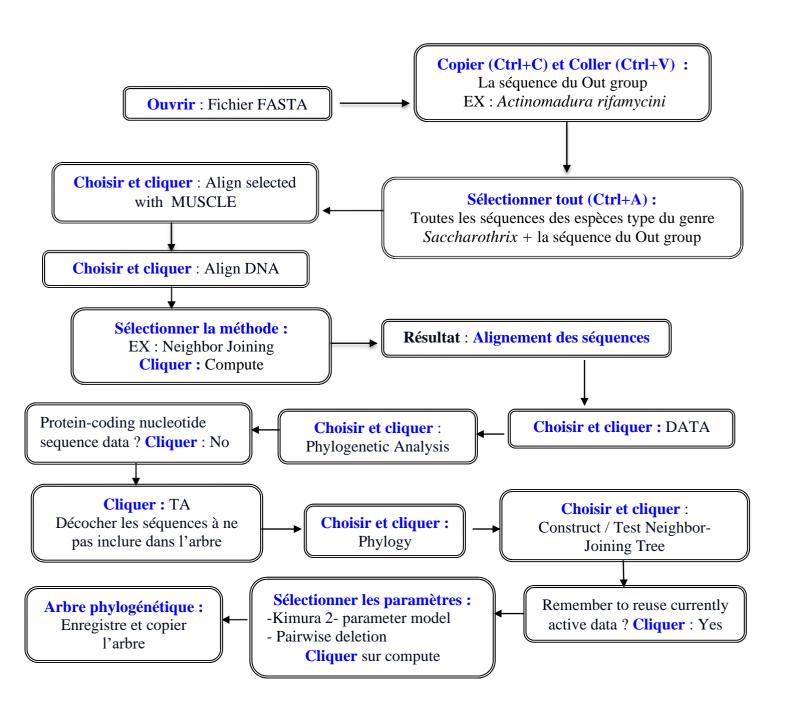


Figure 10. Diagramme montrant les étapes du BLAST

2.6.4. Construction des arbres phylogénétiques

L'analyse phylogénétique est réalisée en utilisant les outils contenus dans le logiciel MEGA version 7.0 (Tamura et al., 2013). Les séquences du gène codant pour l'ARN 16S sont alignées grâce au programme CLUSTAL W (Thompson et al., 1994). Ce dernier permet d'aligner successivement les séquences les plus proches en procédant de façon hiérarchique et d'obtenir un arbre phylogénétique basé sur l'homologie entre ces séquences. L'ensemble des données alignées est analysé phylogénétiquement afin degénérer les matrices de distance évolutive comme décrit par Jukes et Cantor (1969), et la construction de la topologie de l'arbre phylogénétique est faite par l'algorithme du "Neighbor-Joining"(Saitou et Nei, 1987). La robustesse des liens phylogénétiques (nœuds) a été évaluée statistiquement par le test du "bootstrap" dont les valeurs sont basées sur le résultat de 1000analyses (Felsenstein, 1985).



Fifure 11. Diagramme montrant la construction des arbres phylogénétiques en utilisant le logiciel MEGA version 7.0

Résultats et Discussion

1. Étude moléculaire et phylogénie

La souche CA3

Le séquençage de l'ADNr 16S a permis de rattacher la souche *CA3* (1438 paires de bases) au genre *Saccharothrix*, cela a déjà été constaté lors des études morphologiques. La séquence sera déposée au niveau de la GenBank à une date ultérieure.

L'alignement de la séquence d'ADNr 16S par le blast sur Ez-taxon-e (https://www.ezbiocloud.net/) a montré un pourcentage de similarités de 99,86% avec l'espèce la plus proche *Saccharothrix tamanrassetensis* DSM 45947^T. Des pourcentages de similarité supérieurs à 98,65 % ont été également enregistrés avec *S. australiensis* DSM 43800^T (98.89%), *S. espanaensis* DSM 44229^T (98.75%), *S. algeriensis* DSM 44581^T (98.74%), et avec deux autres espèces *S. syringae* NRRL B-16468^T *S. xijiangensis* NBRC 101911^T (98.68%). Les autres espèces de *Saccharothrix* présentent des pourcentages de similarité plus bas (97.56 à 98,54%) avec notre souche. (Tableau 3). L'arbre phylogénétique, conçu par la méthode du "neighbor-joining" a montré la position de la souche CA3 *vis-à-vis* de toutes les espèces de *Saccharothrix*. La souche CA3 forme un cluster distinct avec *Saccharothrix tamanrassetensis* DSM 45947^T dans l'arbre phylogénétique. Ce cluster est renforcé par un pourcentage de «bootstrap» 100% sur l'dendrogramme phylogénétique construit.

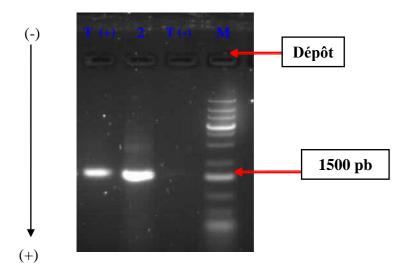


Figure 12. Bandes de l'ADNr16S de la souche CA3 révélées sur gel d'agarose **M**: marqueur de taille de 1Kb. **T** (-) : témoin négatif, **T** (+) : témoin positif, **2** : Bande de l'ADNr 16S de la souche CA3

1.2. Saccharothrix algeriensis DSM 4458^T

L'alignement de la séquence de *Saccharothrix algeriensis* DSM 4458^T (1429 paires de bases) par le blast a montré que les taux de similarité les plus proches sont obtenus avec *S. australiensis* DSM 43800^T (99,09 %), *S. tamanrassetensis* DSM 45947^T. (98,94 %) et *S. espanaensis* DSM 44229^T (98,67 %) Les autres espèces de *Saccharothrix* présentent des pourcentages de similarité nettement plus bas (97.69 à 98.39%) avec notre espèce. (Tableau 3). La phylogénie de *Saccharothrix algeriensis* DSM 4458^T illustrée par (la figure 8), montre qu'elle forme un cluster distinct avec *S. australiensis* DSM 43800^T et se détache des autres espèces du genre *Saccharothrix*.

1.3. Saccharothrix hoggarensis DSM 45457^T

L'alignement de la séquence de *Saccharothrix hoggarensis* DSM 45457^T (1505 paires de bases) par le blast avec les souches-types du genre *Saccharothrix* a montré que les espèces les plus proches sont *S. ecbatanensis* UTMC 537^T, *S. isguenensis* DSM 46885^T, et *S. longispora* DSM 43749^T avec 99.44, 99.29, et 98.96 % de similarité respectivement. Les autres espèces de *Saccharothrix* présentent des pourcentages de similarité nettement plus bas entre 96.74 et 98,68 %. (Tableau 3). L'analyse phylogénétique par la méthode du "neighbor- joining" (figure 8) montre la position taxonomique de l'espèce *Saccharothrix hoggarensis* DSM 45457^T qui se rapproche effectivement de ces trois espèces, mais qui se détache des autres.

1.4. Saccharothrix saharensis DSM 45456^T

L'alignement de la séquence de *Saccharothrix saharensis* DSM 45456^T (1506 paires de bases) par le blast a montré des pourcentages de similitude allant de 97,29 à 99,51% avec les espèces de ce genre, *S. carnea* NEAU yn17^T, *S. xijiangensis* NBRC 101911^T, et *S.texasensis* DSM 44231^T étant les espèces les plus proches avec 99.51, 99.37, et 98.96 % de similarité respectivement (Tableau 3). L'espèce *Saccharothrix saharensis* DSM 45456^T a quant à elle été rapprochée phylogénétiquement de *S. carnea* NEAU yn17^T (Figure 8).

Tableau.3 : Résultat du blast des séquences du gène codant pour l'ARNr 16S des souches étudiées avec les souches-types des espèces du genre *Saccharothrix*.

Nom d'espèce	Souche-type	N° d'accession de	Pourcentage de similarité (%)			
		la séquence	CA3	S. algeriensis	S. hoggarensis	
S. tamanrassetensis	DSM 45947	KJ504176	<u>99.86</u>	98.94	98.25	
S. australiensis	DSM 43800	RBXO01000001	98.89	<u>99.09</u>	97.71	
S. espanaensis	DSM 44229	HE804045	98.75	98.67	97.57	
S. algeriensis	DSM 44581	AY054972	98.74	100	97.41	
S. syringae	NRRL B-16468	JNYO01000115	98.68	98.39	98.05	
S. xijiangensis	NBRC 101911	AB381939	98.68	98.06	98.47	
S. carnea	NEAU yn17	KC195859	98.54	98.18	98.33	
S. deserti	BMP B8144	MF972516	98.54	97.76	98.33	
S. ghardaiensis	DSM 46886	KY021820	98.47	98.04	98.05	
S. coeruleofusca	NRRL B-16115	AF114805	98.33	98.25	97.77	
S. variisporea	DSM 43911	RBXR01000001	98.33	98.11	97.36	
S. saharensis	DSM 45456	FJ379333	98.33	98.11	98.68	
S. longispora	NRRL B-116116	AF114809	98.33	97.62	98.96	
S. mutabilis subsp. mutabilis	DSM 43853	X76966	98.16	98.30	96.96	
S. hoggarensis	DSM 45457	HQ399564	98.12	97.41	100	
S. stipae	D34	JN002085	98.08	97.79	97.29	
S. lopnurensis	YIM LPA2h	KP992900	97.98	97.20	98.26	
S. ecbatanensis	UTMC 537	JN038074	97.98	97.41	<u>99.44</u>	
S. mutabilis subsp.	DSM 40225	X76965	97.94	98.08	96.74	
capreolus						
S. isguenensis	DSM 46885	KU933253	97.79	97.29	99.29	
S. texasensis	DSM 44231	RJKM01000001	97.64	97.48	98.19	
S. violaceirubra	NBRC102064	AB284261	97.56	97.69	97.01	

Note: En gras soulignés, les pourcentages de similarité les plus élevés des espèces les plus proches pour chaque souche étudiée

Résultats

Tableau.3 : Résultat du blast des séquences du gène codant pour l'ARNr 16S des souches étudiées avec les souches-types des espèces du genre *Saccharothrix*. (**Suite**)

Nom d'espèce	Souche-type	N° d'accession de la séquence	Pourcentage de similarité (%)				
			S. saharensis	S. tamanrassetensis	S. isguenensis	S. ghardaiensis	
S. tamanrassetensis	DSM 45947	KJ504176	98.46	100	97.93	98.32	
S. australiensis	DSM 43800	RBXO010000 01	98.47	<u>98.88</u>	97.51	98.26	
S. espanaensis	DSM 44229	HE804045	98.19	98.60	97.22	<u>99.17</u>	
S. algeriensis	DSM 44581	AY054972	98.11	98.74	97.29	98.04	
S. syringae	NRRL B-16468	JNYO010001 15	98.61	98.67	97.79	98.47	
S. xijiangensis	NBRC 101911	AB381939	99.37	98.81	98.15	98.47	
S. carnea	NEAU yn17	KC195859	<u>99.51</u>	98.67	97.72	98.54	
S. deserti	BMP B8144	MF972516	97.71	98.46	98.01	98.54	
S. ghardaiensis	DSM 46886	KY021820	98.61	98.32	97.72	100	
S. coeruleofusca	NRRL B-16115	AF114805	98.40	98.39	97.58	98.33	
S. variisporea	DSM 43911	RBXR010000	98.12	98.25	97.01	98.89	
		01					
S. saharensis	DSM 45456	FJ379333	100	98.47	98.22	98.61	
S. longispora	NRRL B- 116116	AF114809	98.33	98.47	98.58	98.05	
S. mutabilis subsp. mutabilis	DSM 43853	X76966	97.81	98.09	96.90	98.52	
S. hoggarensis	DSM 45457	HQ399564	98.68	98.25	99.29	98.05	
S. stipae	D34	JN002085	98.51	97.93	96.90	99.00	
S. lopnurensis	YIM LPA2h	KP992900	97.64	97.90	98.08	98.47	
S. ecbatanensis	UTMC 537	JN038074	98.54	98.11	<u>99.86</u>	97.77	
S. mutabilis subsp.	DSM 40225	X76965	97.59	97.87	96.68	98.30	
capreolus							
S. isguenensis	DSM 46885	KU933253	98.22	97.93	100	97.72	
S. texasensis	DSM 44231	RJKM010000 01	98.96	97.48	98.01	98.68	
S. violaceirubra	NBRC102064	AB284261	97.29	97.41	96.94	97.70	

Note: En gras soulignés, les pourcentages de similarité les plus élevés des espèces les plus proches pour chaque souche étudiée

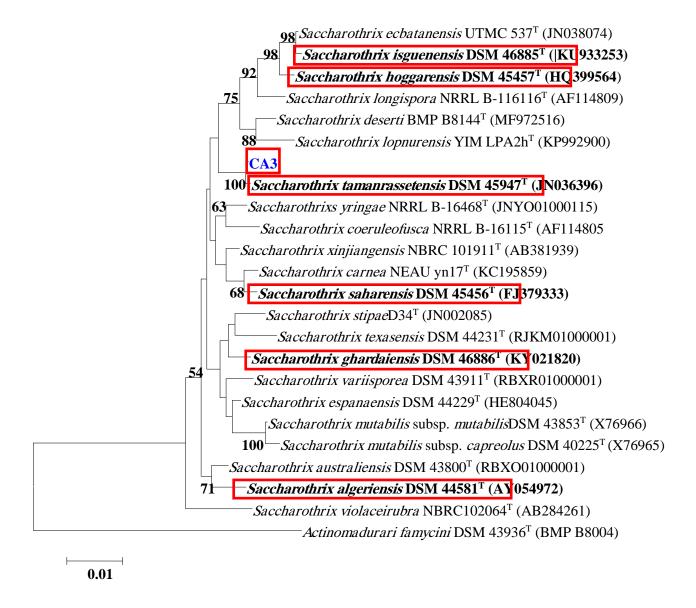


Figure 13. Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences du gène codant pour l'ARNr 16S, construit par la méthode du «neighbor-joining» (Saitou et Nei, 1987). Cet arbre montre les relations entre les 7 souches étudiées (en gras) appartenant au genre *Saccharothrix* d'une part, et les souches-types des espèces appartenant à ce genre, d'autre part.

Note: les nombres au niveau des nœuds indiquent les pourcentages (≥ 50 %) du support statistique «bootstrap» basé sur1000 rééchantillonnages. Les numéros des séquences des souches sont donnés entre parenthèses. Bar: 0,005 substitution par position de nucléotide. L'espèce *Actinomadurari famycini* DSM 43936^T est ajoutée comme "outgroup".

1.5. Saccharothrix tamanrassetensis DSM 45947^T

L'espèce *Saccharothrix tamanrassetensis* DSM 45947^T présente une séquence de 1438 paires de bases du gène codant pour l'ARNr 16S. Après alignement de cette séquence par le blast avec les espèces du genre *Saccharothrix*, des taux de similarité relativement bas ont été obtenus avec les espèces du genre *Saccharothrix* allant de 97,41 à 98,88%, les pourcentages les plus élevés étant observés avec *S. australiensis* DSM 43800^T, *S. xijiangensis* NBRC 101911^T, et *S. algeriensis* DSM 44581^T avec 98,88, 98,81, et 98,74 % de similarité respectivement (Tableau 3). Cependant, l'arbre phylogénétique obtenu (Figure 8) a montré que *Saccharothrix tamanrassetensis* DSM 45947^T s'éloigne nettement de ces espèce, et se rapproche de notre souche CA3, et forme bien un clade avec cette souche.

1.6. Saccharothrix isguenensis DSM 46885^T

L'espèce *Saccharothrix isguenensis* DSM 46885^T (1408 paires de bases) a présenté des taux de similarité relativement bas avec les espèces du genre *Saccharothrix*. Ce n'est qu'avec *S. ecbatanensis* DSM 44229^T (99,86 %) et à degré moindre *S. hoggarensis* DSM 45457^T (99,29 %) que cette espèce a présenté des pourcentages de similitude supérieurs à 98,65 % (Tableau 3). La phylogénie de *Saccharothrix isguenensis* DSM 46885^T illustrée par (la figure 8), montre clairement qu'elle se rapproche phylogénétiquement de *S. ecbatanensis* DSM 44229^T, du fait qu'elle forme un cluster avec cette espèce et se détache des autres. Ce cluster est renforcé par un pourcentage de «bootstrap» 98% sur l'dendrogramme phylogénétique construit.

1.7. Saccharothrix ghardaiensis DSM 46886^T

L'alignement de la séquence du gène codant pour l'ARNr 16S de *Saccharothrix* ghardaiensis DSM 46886^T (1442 paires de bases) par le blast a montré que les taux de similarité les plus proches sont obtenus avec avec *S. espanaensis* DSM 44229^T (99,17 %), *S. variisporea* DSM 43911^T (98,89 %) et *S. texasensis* NRRL B-16107^T (98,68 %) (Tableau 3). L'analyse phylogénétique (Figure 8) montre la position taxonomique *Saccharothrix* ghardaiensis DSM 46886^T qui se détache de ces espèces en formant une lignée bien distincte.

Discussion

Le pourcentage de similitude de la souche CA3 avec l'espèce la plus proche *Saccharothrix tamanrassetensis* DSM 45947^T est égal à 99.86 %, elle présente, Des pourcentages de similarité supérieurs à 98,65 % ont été également enregistrés avec *S. australiensis* DSM 43800^T (98.89%), *S. espanaensis* DSM 44229^T (98.75%), *S. algeriensis* DSM 44581^T (98.74%), et avec deux autres espèces *S. syringae* NRRL B-16468^T *S. xijiangensis* NBRC 101911^T (98.68%). Il est supérieur à la limite de séparation entre les espèces (98,65%) (Kim *et al.*, 2014). ce qui ne laisse suggérer que la souche CA3 pourrait constituer une nouvelle espèce, sous réserve d'une hybridation ADN-ADN avec les espèces les plus proches.

Plusieurs hypothèses sont disponibles dans la littérature qui disent que les actinobactéries sont principalement considérées comme des bactéries terrigènes en raison de leur large présence et abondance dans le sol. Leur répartition dans le milieu aquatique reste en grande partie non décrite pendant de nombreuses années. Elles produisent des spores résistantes qui sont connus pour être transportés de la terre vers la mer et d'autres corps aquatiques où ils peuvent rester dormants pendant de nombreuses années. En fait, ils étaient considérés comme originaires des spores dormantes qui ont été lavées de la terre. Mais aussi elles comprennent de nouveaux phénotypes qui ont clairement divergé de ceux connu pour se produire sur terre. (Goodfellow, M et al., 1983).

Les séquences d'ADNr 16S des 6 souches ont été téléchargées de la base de données NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). L'alignement des séquences d'ADNr 16S par le blast des six souches *S. algeriensis* DSM 4458^T, *S. hoggarensis* DSM 45457^T, *S. saharensis* DSM 45456^T, *S. tamanrassetensis* DSM 45947^T, *S. isguenensis* DSM 46885^T, et *S. ghardaiensis* DSM 46886^T à monté des taux de supérieur à 98,65 % la limite de la détermination de nouvelles espèces. Cela a nécessité des tests d'hybridation ADN-ADN, les résultats montrent des taux de similarité génomique nettement inférieur à la limite de 70 % seuil de délimitation des espèces entre elles proposé par Wayne et *al* (1987). Ceci a permet de conclure que les souches représentent des nouvelle espèces, elles ont été déposées dans la collection mondiale, la DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Inhoffenstraße 7B, Braunschweig, Allemagne) sous le numéro DSM 46886

Lorsque le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S d'une souche présente un taux

de similarité inférieur à 97 % avec les espèces connues, cette souche était considérée comme étant une nouvelle espèce, et ce, sans être obligé d'effectuer le test d'hybridation ADN-ADN (Wayne et al 1987; Genilloud et al., 2011). Ce seuil (97 %) a été relevé à 98,2 % par (Meier-Kolthoff et al., 2013) qui ont pu montrer, suite à une étude statistique fine, que pour un pourcentage de similarité de 98,2 %, la probabilité d'erreur de tomber avec une même espèce est de 0,01 %. Cette probabilité est tellement basse qu'il est donc inutile de faire les hybridations ADN-ADN en dessous de ce seuil. Actuellement, il est admis qu'en dessous de 98,65 % d'homologie entre les séquences d'ADNr 16S, deux souches ne peuvent pas appartenir à la même espèce (Kim et al., 2014). De ce fait, les séquences qui partagent moins de 98,65 % de similarité correspondent à des espèces différentes. En effet, la corrélation des pourcentages d'homologie entre les séquences d'ADNr 16S et des pourcentages de réassociation ADN-ADN a montré que les séquences d'ADNr 16S ayant des similarités inférieures à 98,65 %, ne correspondaient pas à des pourcentages de réassociation ADN-ADN égaux ou supérieurs à 70 %. Si le pourcentage d'homologie est supérieur à 98,65 %, le placement de 2 souches dans une même espèce ou pas dépend des résultats de l'hybridation ADN-ADN.

Le sol, avec ses différentes natures, est l'écosystème à partir duquel la majorité des espèces de *Saccharothrix* ont été isolées, dont *S. espanaensis*, qui a été isolée à partir du sol d'Espagne (Labeda et Lechevalier,1989), *S. texasensis* a été isolée d'un sol au texas (Labeda et Lyons,1989) et *S. variisporea* est isolé d'un sol en Inde (Kim *et al.*,2011)... etc. Cependant beaucoup d'espèces ont été isolées à partir des échantillons e sols des régions désertiques de l'Algérie à savoir : *S. algeriensis* (Zitouni *et al.*, 2004) , *S. saharensis* et *S. hoggarensis* (Boubetra *et al.*, 2013a,b), *S. tamanrassetensis* (Boubetra *et al.*, 2015), *S. isguenensis* (Bouznada *et al.*, 2016) et *S. ghardaiensis* (Bouznada *et al.*, 2017). De même, ce genre a été isolé à partir de l'eau, dont *S. xinjiangensis* qui a été isolée à partir de l'eau d'un lac en Chine (Labeda et Kroppenstedt, 2006)

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les sols du Sahara algérien ont une biodiversité importante en actinobactéries. En conséquence, différentes souches d'actinobactéries ont été isolées, leur activité antimicrobienne a fait l'objet de nombreux travaux. La plupart des travaux effectués sur les actinobactéries isolées des terres désertiques proviennent du Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de l'École Normale Supérieure du Kouba. *Saccharothrix* est le genre le plus récupéré partagé à travers les sites d'Adrar, de Ghardaia et de Tamanrasset et qui représentant 20,68 % du total des nouvelles espèces d'actinobactéries du Sud Régions d'Algérie

Le présent travail a comme objectif l'analyse phylogénétique de 6 nouvelles des espèces du genre *Saccharothrix* isolées de sols sahariens d'Algérie, ainsi que l'étude moléculaire d'une souche *Saccharothrix* sp. (CA3) isolée de la Mer Méditerranée d'Algérie en utilisant la base de données (DATA Base) NCBI, le teste du BLAST, et logiciel MEGA 7.0.

La caractérisation morphologique préliminaire a permis de rattacher l'isolat CA3 d'une manière présomptive au *Saccharothrix*. Le séquençage de l'ADN ribosomique 16S avec une étude phylogénétique approfondie ont été réalisé pour la souche CA3, ce qui nous a permis de la rapproché a l'espèce *Saccharothrix tamanrassetensis*es avec un pourcentage de similarité égale à 99.86 %. Une hybridation ADN-ADN permettra de statuer définitivement sur sa position taxonomique.

Des taux de similitude du gène codant pour l'ARNr 16S supérieur à 98,65 %, ont été notés pour toutes les souches étudiées. Une hybridation ADN-ADN réalisée pour les souches avec les espèces les plus proches a confirmé leur appartenance à de nouvelles espèces lesquelles ont été nommées Saccharothrix algeriensis sp. nov., Saccharothrix hoggarensis sp. nov., Saccharothrix saharensis sp. nov., Saccharothrix tamanrassetensis sp. nov., Saccharothrix isguenensis sp. nov., et Saccharothrix ghardaiensis sp. nov.

Notre travail confirme la richesse des sols sahariens d'Algérie par les représentants du genre *Saccharothrix*, aussi bien du point de vue quantitatif que du point de vue de la biodiversité spécifique, et montre la présence d'une souche *Saccharothrix* sp. isolée de sol sahariens d'Algérie dans des échantillons d'eau de mer Méditerranée (peu étudiés auparavant)

Le travail effectué ouvre des perspectives multiples qui concernent:

- La détermination de position taxonomique définitive et confirmer l'originalité de la souche CA3 par la réalisation d'hybridation ADN-ADN avec les espèces les plus proches.
- L'analyse phylogénétique des espèces du genre *Saccharothrix* en se basant sur l'analyse des séquences du génome entier, et les séquences des gènes codant pour la synthèse d'antibiotiques.
- L'analyse phylogénétique des nouvelles espèces terrestres et marines appartenant aux autres genres *Streptomyces*, *Nocardiopsis*, *Actinomadura* etc., provenant de la collection du laboratoire de biologie des systèmes microbiens (LBSM)

Liste des références

Liste des references

- Afifi M.M., H. M. Atta, A.A. (2012). Elshanawany, U.M. Abdoul-raouf and A.M. El-Adly, -Biosynthesis of Hygromycin-B Antibiotic by Streptomyces crystallinus AZ151 Isolated from Assuit, Egypt, Bacteriol. J., vol. 2, pp. 46-65.
- Aouiche, A., Sabaou, N., Meklat, A., Zitouni, A., Bijani, C., Mathieu, F. & Lebrihi, A. (2012). *Saccharothrix* sp. PAL54, a new chloramphenicol-producing strain isolated from a Saharan soil. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 28: 943–951.
- Badji, B., Mostefaoui, A., Sabaou, N., Lebrihi, A., Mathieu, F., Seguin, E. & Tillequin, F. (2007). Isolation and partial characterization of antimicrobial compounds from a new strain Nonomuraea sp.NM94. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 34: 403–412.
- Badji, B., Riba, A., Mathieu, F., Lebrihi, A. & Sabaou, N. (2005). Activité antifongique d'une souche d'Actinomadura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxinogènes. J. Mycol.Médicale, 15: 211–219.
- Baoune, H.; Ould El Hadj-Khelil, A.; Pucci, G.; Sineli, P.; Loucif, L.; Polti, M.A. (2018) Petroleum degradation by endophytic Streptomyces spp. isolated from plants grown in contaminated soil of southern Algeria. Ecotoxicol. Environ. Safety, 147, 602–609.
- Barabote RD, Xie G, Leu DH, Normand P, Necsulea A, Daubin V, Medigue C, Adney WS et al. (2009) Complete genome of the cellulolytic thermophile Acidothermus cellulolyticus 11B provides insights into its ecophysiological and evolutionary adaptations. Genome Res 19:1033–1043.
- Belyagoubi, L.; Belyagoubi-Benhammou, N.; Jurado, V.; Dupont, J.; Lacoste, S.; Djebbah, F.; Ounadjela, F.Z.; Benaissa, S.; Habi, S.; Abdelouahid, D.E.; et al. (2018). Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi isolated from Chaabe cave, Algeria. Int. J. Speleol. 47, 189–199.
 - Benlahrache N. (2007). Optimisation Multi-Objectif pour l'Alignement Multiple de Séquences. Thèse de Magister. Université Mentouri de Constantine. 125 P.
- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition. Volume 5 (2012). The *Actinobacteria*. Editors: Whitman W. B., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.-J., Trujillo M. E., Ludwig W. Suzuki K.-I., Parte A. 1750 p.
- BOUBETRA et coll. (2013a) Boubetra D., Sabaou N., Zitouni A., Bijani C., Lebrihi A., Mathieu F., 2013a.- Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by Saccharothrix SA198 isolated from a Saharan soil. Microbiol. Res., 168: 223–230.

- Boubetra, D., Sabaou, N., Zitouni, A., Bijani, C., Lebrihi, A. & Mathieu, F. (2013c). Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Saharan soil. *Microbiol. Res.*, 168: 223–230.
- Boubetra, D., Zitouni, A., Bouras, N., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Sproer, C., Klenk, H.-P.& Sabaou, N. (2013b). Saccharothrix hoggarensis sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 63: 549–553.
- Boubetra, D., Zitouni, A., Bouras, N., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N. (2015). *Saccharothrix tamanrassetensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 65: 1316–1320
- Boucheffa K. (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyèniques : Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits. These de Magister En microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes. Université Abderrahmane Mira, Bejaia. 90p
- Boudjelal, F., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A. & Sabaou, N. (2011). Taxonomic study and partial characterization of antimicrobial compounds from a moderately halophilic strain of the genus Actinoalloteichus. Braz. J. Microbiol., 42: 835–845.
- Boudjella, H. (1994). Influence des milieux de culture, des antibiotiques et du pré-traitement des échantillons à la chaleur sur la sélection des genres et des espèces d'actinomycètes rares de quelques sols sahariens. Mémoire de Magistère en Microbiologie. École Normale Supérieure de Kouba, Alger.177 p.
- Boudjella, H., Bouti, K., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A. & Sabaou, N. (2006). Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of Streptosporangium Sg 10 isolated from a Saharan soil. Microbiol. Res., 161: 288–298.
- Boudjella, H., Bouti, K., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A. & Sabaou, N. (2006). Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of Streptosporangium Sg 10 isolated from a Saharan soil. Microbiol. Res., 161: 288–298.
- Boughachiche F. (2012). -Étude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre Streptomyces, isolées de Sebkha, Thèse de doctorat, Université Mentouri- Constantine., Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Algérie, 164p.
- Bouras, N., Meklat, A., Zitouni, A., Mathieu, F., Schumann, P., Spröer, C., Sabaou, N. & Klenk, H.-P.(2015). Nocardiopsis algeriensis sp. nov., an alkalitolerant actinomycete isolated from Saharan soil Antonie van Leeuwenhoek, 107: 313–320.
- Bouras, N., Merrouche, R., Lamari, L., Mathieu, F., Sabaou, N., & Lebrihi, A. (2008). Precursordirected biosynthesis of new dithiolopyrrolone analogs by Saccharothrix algeriensis NRRL B-24137. Process Biochemistry, 43(11), 1244–1252.

- Bouznada, K., Bouras, N., Mokrane, S., Chaabane Chaouch, F., Zitouni, A., Pötter, G., Spröer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N. (2016b). *Saccharothrix isguenensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from desert soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 66: 4785–4790
- Bouznada, K., Bouras, N., Mokrane, S., Chaabane Chaouch, F., Zitouni, A., Pötter, G., Spröer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N. (2017). *Saccharothrix ghardaiensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110: 399–405.
- Brazhnikova M. G., Konstantinova N.V., Potapova N. P. and Tolstykh I. V. (1977). Physicochemical characteristics of the new antineoplastic antibiotic, nocamycin. *Antibiotiki.*, 22, 486-489
- Brenner, D. J., Fanning, G. R., Rake, A. V. & Johnson, K. E. (1969). Batch procedure for thermal elution of DNA from hydroxyapatite. Anal. Biochem., 28: 447–459.
- Bush, B. D., Fitchett, G. V., Gates, D. A. & Langley, D. (1993). Carbocyclic nucleosides from a species of *Saccharothrix*. *Phytochemistry*, 32: 737–739.
- Cai Y., Xue Q., Chen Z. and Zhang R. (2009). Classification and salt-tolerance of actinomycetes in the Qinghai Lake water and Lakeside saline soil. J. Sustainable Dev., 2, 107-110.
- Chaabane Chaouch, F., Bouras, N., Mokrane, S., Bouznada, K., Zitouni, A., Pötter, G., Spröer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N. (2017). Planomonospora algeriensis sp. nov., an actinobacterium isolated from a Saharan soil of Algeria. Antonie van Leeuwenhoek, 110: 245–252.
- Chaabane Chaouch, F., Bouras, N., Mokrane, S., Zitouni, A., Schumann, P., Spröer, C., Sabaou, N. & Klenk, H.-P. (2016a). Streptosporangium becharense sp. nov., an actinobacterium isolated from desert soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 66: 2484–2490.
- Chaabane Chaouch, F., Bouras, N., Mokrane, S., Zitouni, A., Schumann, P., Spröer, C., Sabaou, N. & Klenk, H.-P. (2016b). Streptosporangium saharense sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 66: 1371–1376.
- 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. Journal of microbiological methods, 69(2), 330–339. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.02.005
- Dgigal D. (2003). Interaction entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactérivores: effet sur la nutrition

- minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse doc : université Cheikh Anta Diop De Dakar. Pp:157
- Djaballah, C.E.; Kitouni, M.; Raoult, D.; Khelaifia, S. (2018). Streptomyces massilialgeriensis sp. nov., a new bacterial species isolated from an extremely saline soil collected from the dry lake of Ank el Djamel in Algeria. New Microbes New Infect. 21, 18–19.
- Djinni, I., Defant, A., Kecha, M., & Mancini, I. (2019). Actinobacteria Derived from Algerian Ecosystems as a Prominent Source of Antimicrobial Molecules. Antibiotics (Basel, Switzerland), 8(4), 172. https://doi.org/10.3390/antibiotics8040172
- Djinni, I.; Defant, A.; Kecha, M.; Mancini, I. (2013). Antibacterial polyketides from the marine alga-derived endophitic Streptomyces sundarbansensis: A study on hydroxypyrone tautomerism. Mar. Drugs. 11, 124–135.
- Djinni, I.; Djoudi, W.; Souagui, S.; Rabia, F.; Rahmouni, S.; Mancini, I.; Kecha, M. (2018). Streptomyces thermoviolaceus SRC3 strain as a novel source of the antibiotic adjuvant streptazolin: A statistical approach toward the optimized production. J. Microbiol. Meth. 148, 161–168.
- Douga C , Joel D, Abdelghani S, (2005). -La diversité insoupçonnée du monde microbien, MEDECINE/SCIENCES, vol. 21, pp. 290-296.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution, 39:783.
- George, M., Anjumol, A., George, G. & Mohamed Hatha, A. A. (2012). Distribution and bioactive potential of soil actinomycetes from different ecological habitats. Afr. J. Microbiol. Res., 6.
- Ghai, R., Mizuno, C. M., Picazo, A., Camacho, A. & Rodriguez-Valera, F. (2013). Metagenomics uncovers a new group of low GC and ultra-small marine Actinobacteria. Sci. Rep., 3.
- Gommeaux, M., Barakat, M., Montagnac, G., Christen, R., Guyot, F. & Heulin, T. (2010). Mineral and bacterial diversities of desert sand grains from south-east morocco. *Geomicrobiol. J.*, 27: 76–92.
- Goodfellow M. (2012). Actinobacteria phyl. nov. In: Whitman WB, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Ludwig W, Suzuki Ki, Parte A (Eds). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 5: The Actinobacteria. 2ème édition, Springer, New York. p. 33.
- Goodfellow M., Mordarski M. and Williams S. T. (1988). The biology of the actinomycetes. Academic Press, London. pp. 7-164.

- Goodfellow M., Mordarski M. and Williams S. T. (1988). The biology of the actinomycetes. Academic Press, London. pp. 7-164.
- Goodfellow, M. & Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. Annu. Rev. Microbiol., 37: 189–216.
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M.E., Suzuki, K.-i., Ludwig, W. & Whitman, W.B. (2012). Volume Five. The Actinobacteria. In G.M. Garrity (ed.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition. Springer-Verlag, New York: [i]-xxiv, 1-2083.
- Gottlieb D. (1973). General consisteration and implication of the Actinomycetales. In: Actinomycetales characteristics and practical importance. Edited by G. Sykes and F. A. Sk
- Goudjal, Y.; Toumatia, O.; Sabaou, N.; Barakate, M.; Mathieu, F.; Zitouni, A. (2013). Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: Indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. World J. Microbiol. Biotechnol. 29, 1821–1829.
- Grund, E. & Kroppenstedt, R. M. (1989). Transfer of five Nocardiopsis species to the genus Saccharothrix Labedaet al. 1984. Syst. Appl. Microbiol., 12: 267–274.
- Horvath, G., Brazhnikova, M. G., Konstantinova, N. V., Tolstykh, I. V. & Potapova, N. P. (1979). The structure of nocamycin, a new antitumor antibiotic. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 32: 555–558
- Hozzein, W. N., W.J. Li, M.I. Ali, O. Hammouda, A.S. Mousa, L.H. Xu and C.L. Jiang. (2004). Nocardiopsis alkaliphila sp. nov., a novel alkaliphilic actinomycete isolated from desert soil in Egypt. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54: 247–252.
- Hu Y.T., Zhou P.J., Zhou Y-G., Liu Z-H. and Liu S-J. (2004). Saccharothrix xinjiangensis sp. nov., a pyrene-degrading actinomycete isolated from Tianchi lake, Xinjiang, China. Int. Syst. Evol. Microbiol., 54, 2091-2094.
- Isshiki, K., Sawa, T., Naganawa, H., Matsuda, N., Hattori, S., Hamada, M., Takeuchi, T., Oosono, M., Ishizuka, M. & other authors. (1989). 3-O-isobutyrylkinamycin C and 4-deacetyl-4-Oisobutyrylkinamycin C, new antibiotics produced by a *Saccharothrix* species. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 42: 467–469
- J. Microbiol. Methods. 69, 330-339.
- Jain T.C., Newman D.J. and Shearer M.C. (1982). Polynitroxin antibiotics produced by Nocardiopsis mutabilis Shearer sp. nov. ATCC 31520. U.S. 4, 317-812.

- Janso J.E., Carter G.T., (2010).- Biosynthetic potential of phylogenetically 594 unique endophytic. Actinomycetes from tropical plants. Appl. Environ. Microbiol., 76:4377–4386
- Janso JE, Carter GT (2010) Biosynthetic potential of phylogenetically unique endophytic actinomycetes from tropical plants. Appl Environ Microbiol 76:4377–4386.
- Jeffrey, L. S. H., (2008). Isolation, characterization and identification of actinomycetes from agriculture soils at Semongok, Sarawak, African Journal of Biotechnology, Vol. 7, n°. 20, pp. 3697-3702, October.
- Jiang Y, Chen X, Lou K, Mao P (2013) Cultivable soil actinomycete communities in some areas of western China. Acad J Biotechnol 1(1):1–13.
- Johnson J.A., Citarasu T. and P. A. Mary Helen P.A. (2012). Screening of antibiotic producing actinomycetes from streams. J. Chem. Bio. Phy. Sci., 2, 1363-1370.
- Jukes, T. H. & Cantor, C. R. (1969). Evolution of Protein Molecules. In Mamm. Protein Metab., pp. 21–132. Elsevier.
- Kämpfer P. The genus Streptomyces., In: Goodfellow S, editor. second edition, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 5, second edition New York: Springer; 2010. p. 1455—767.
- Kim OS, Cho YJ, Lee K, Yoon SH, Kim M, Na H, Park SC, Jeon YS, Lee JH, Yi H, Won S, Chun J (2012). Introducing EzTaxon-e: aprokaryotic 16S rRNA Gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. Int J Syst Evol Microbiol 62:716–721
- Kim Y. J., Furihata K., Shimazu A., Furihata K. and Seto H. (1991). Isolation and structural elucidation of sekothrixide, a new macrolide effective to overcome drug-resistance of cancer cells. J. Antibiot., 44, 1280-1282.
- Kim, B.-Y., Brown, R., Labeda, D. P. & Goodfellow, M. (2011). Reclassification of _Dactylosporangium variesporum' as Saccharothrix variisporea corrig. (ex Tomita et al. 1977) sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 61: 310–314.
- Kim, B.-Y., Brown, R., Labeda, D. P. & Goodfellow, M. (2011).Reclassification of _Dactylosporangiumvariesporum' as Saccharothrix variisporea corrig.(ex Tomita et al. 1977) sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 61: 310–314.
- Kim, M., Oh, H.-S., Park, S.-C. & Chun, J. (2014). Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 64: 346–351.

- Kimura, T., Nakamura, K. & Takahashi, E. (1995). Phosphonothrixin, a novel herbicidal antibiotic produced by *Saccharothrix* sp. ST-888. II. structure determination. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 48: 1130–1133
- Kirby J.P., Maise W.M., Testa R.T. and Labeda D.P. (1987). New antibacterial LL C 19004 cpd-prepd. by fermentation of Saccharothrix espanaensis. U.S., 4, 699-790.
- Laassami, A., Yekkour, A., Meklat, A., Djemouai, N., Zitouni, A., Mokrane S., Lecomte Pascal, R. P., Berraf-Tebbal, A. (2020). Actinobacteria associated with vineyard soils of Algeria: Diversity, antifungal potential against grapevine trunkpathogens and plant growth promoting ability. Current Microbiology. Published. https://doi.org/10.1007/s00284-020-02097-x
- Labeda D. P. and Kroppenstedt R. M. (2006). Goodfellowia gen. nov., a new genus of the Pseudonocardineae related to Actinoalloteichus, containing Goodfellowia oeruleoviolacea gen. nov., comb. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 56 (6): 1203-1207.
- Labeda, D. P. & Kroppenstedt, R. M. (2000). Phylogenetic analysis of *Saccharothrix* and related taxa: proposal for *Actinosynnemataceae* fam. *nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50: 331–336.
- Labeda, D. P. & Lechevalier, M. P. (1989). Amendment of the genus Saccharothrix Labeda et al. 1984 anddescriptions of Saccharothrix espanaensis sp. nov., Saccharothrix cryophilis sp. nov., and Saccharothrix mutabilis comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 39: 420–423.
- Labeda, D. P. & Lechevalier, M. P. (1989). Amendment of the genus Saccharothrix Labeda et al. 1984 and descriptions of Saccharothrix espanaensis sp. nov., Saccharothrix cryophilis sp. nov., and Saccharothrix mutabilis comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 39: 420–423.
- Labeda, D. P. & Lyons, A. J. (1989). Saccharothrix texasensis sp. nov. and Saccharothrix waywayandensis sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 39: 355–358.
- Labeda, D. P. & Lyons, A. J. (1989). Saccharothrix texasensis sp. nov. and Saccharothrix waywayandensis sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 39: 355–358.
- Labeda, D. P., Hatano, K., Kroppenstedt, R. M. & Tamura, T. (2001). Revival of the genus *Lentzea* and proposal for *Lechevalieria* gen. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51: 1045–1050.
- Labeda, D. P., Testa, R. T., Lechevalier, M. P. & Lechevalier, H. A. (1984). *Saccharothrix*: a new genus of the *Actinomycetales* related to *Nocardiopsis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 34: 426–431

- Lahoum, A. (2017). Souches d'actinobactéries mycéliennes des sols sahariens: mise en évidence de nouvelles espèces et de nouveaux antibiotiques et réduction de la concentration en aflatoxine B1. Thèse de doctorat. École Normale Supérieure (ENS) de Kouba, Alger. 269 p
- Lahoum, A., Bouras, N., Mathieu, F., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N. (2016a). Actinomadura algeriensis sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. Antonie van Leeuwenhoek, 109: 159–165.
- Lahoum, A., Bouras, N., Verheecke, C., Mathieu, F., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N. (2016b). Actinomadura adrarensis sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 66: 2724–2729.
- Lai, H., Jiang, Y., Saker, R., Chen, X., Bouras, N., Klenk, H.-P., Wei, X., Jiang, Y. & Sabaou, N. (2017). Reclassification of Mzabimyces algeriensis Saker et al. 2015 as Halopolyspora algeriensis comb. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 67: 2787–2790.
- Lamari, L., Zitouni, A., Boudjella, H., Badji, B., Sabaou, N., Lebrihi, A., Lefebvre, G., Seguin, E. and Tillequin, F. (2002a) New dithiolopyrrolone antibiotics from Saccharothrix sp. SA 233. I. Taxonomy, production, isolation and biological properties. J Antibiot (Tokyo) 55, 696-701
- Lamari, L., Zitouni, A., Dob, T., Sabaou, N., Lebihi, A., Germain, P., Seguin, E. and Tillequin, F. (2002b) New dithiolopyrrolone antibiotics from Saccharothrix sp. SA 233. II. Physicochemical properties and structure elucidation. J Antibiot (Tokyo) 55,702-707.
- Lechevalier MP .(1981) Ecological associations involving actinomycetes. In: Shaal et Pulverer (Eds). Actinomycetes. Zbl Bakt suppl 11:159–166. Lechevalier MP, Debievre C, Lechevalier HA
- Lechevalier, M. P., De Bievre, C. & Lechevalier, H. (1977). Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochem. Syst. Ecol.*, 5: 249–260.
- Li, Y.-Q., Liu, L., Cheng, C., Shi, X.-H., Lu, C.-Y., Dong, Z.-Y., Salam, N., An, D.-D. & Li, W.-J.(2015). Saccharothrix lopnurensis sp. nov., a filamentous actinomycete isolated from sediment of LopNur. Antonie van Leeuwenhoek, 108: 975–981.
- Liu, C., Guan, X., Wang, S., Zhao, J., Wang, H., He, H., Xiang, W. & Wang, X. (2014). Saccharothrixcarnea sp. nov., an actinobacterium isolated from soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 64: 4033–4037.
- Ludwig W, Euzeby J, Schumann P, Busse H-J, Trujillo ME, Kämpfer P, Whitman WB. (2012). Road map of the phylum Actinobacteria. In Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd ed. (eds Goodfellow M, Kämpfer P, Busse H-J, Trujillo ME, Suzuki K-I, Ludwig W, Whitman WB, editors), pp. 1–28 New York: Springer.

- Matsuo N, Negishi A, Negishi Y. (2003) . Pravastatin manufacture with Nocardia nova and Saccharothrix mutabilis (Godo Shusei Co. Ltd., Japan), Jpn Kokai Tokkyo Koho. 6 p.
- Meier-Kolthoff, J. P., Göker, M., Spröer, C. & Klenk, H.-P. (2013). When should a DDH experiment be mandatory in microbial taxonomy? Arch. Microbiol., 195: 413–418.
- Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Sproer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N. (2013a). Actinopolyspora mzabensis sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from an Algerian Saharan soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 63: 3787–3792.
- Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N. (2013b). Actinopolyspora righensis sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from Saharan soil in Algeria. Antonie van Leeuwenhoek, 104: 301–307.
- Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N. (2013c). Actinopolyspora saharensis sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil of Algeria. Antonie van Leeuwenhoek, 103: 771–776.
- Meklat, A.; Bouras, N.; Mokrane, S.; Zitouni, A.; Schumann, P.; Spröer, C.; Klenk, H.P.; Sabaou, N. (2015). Bounagaea algeriensis gen. nov., sp. nov., an extremely halophilic actinobacterium isolated from a Saharan soil of Algeria. Antonie Leeuwenhoek. 108, 473–482.
- Meklat, A.; Bouras, N.; Zitouni, A.; Mathieu, F.; Lebrihi, A.; Schumann, P.; Sproer, C.; Klenk, H.P.; Sabaou, N. (2012). Actinopolyspora algeriensis sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil. Extremophiles. 16, 771–776.
- Merrouche R., Bouras N., Coppel Y., Mathieu F., Monje M. C., Sabaou N. and Lebrihi A.(2010). Dithiolopyrrolone antibiotic formation induced by adding valeric acid to the culture broth of Saccharothrix algeriensis. J. Nat. Products, 73 (6): 1164-1166.
- Merrouche, R., Bouras, N., Coppel, Y., Mathieu, F., Sabaou, N., & Lebrihi, A. (2011). New dithiolopyrrolone antibiotics induced by adding sorbic acid to the culture medium of Saccharothrix algeriensis NRRL B-24137. FEMS Microbiology Letters, 318(1), 41–46.
- Mohammadipanah, F., Hamedi, J., Carmen Montero-Calasanz, M. del, Spröer, C., Klenk, H.-P. &Schumann, P. (2015).Saccharothrix ecbatanensis sp. nov., an actinobacterium isolated from soil. Int.J. Syst. Evol. Microbiol.,65: 4544–4549.

- Moncheva P, Tishkov S, Dimitrova N, Chipeva V, Antonova-Nikolova S, Bogatzevska N. (2002) Characteristics of soil actinomycetes from antarctica. Journal Cult Collect 3:3–14.
- Murakami R, Shinozaki J, Kajiura T, Kozone I, Takagi M, Shin-Ya K, et al. (2009). Ammocidins, B, C and D, new cytotoxic 20-membered macrolides from Saccharothrix sp. AJ9571. J Antibiot 62:123–127.
- Nakae, K., Kurata, I., Kojima, F., Igarashi, M., Hatano, M., Sawa, R., Kubota, Y., Adachi, H. & Nomoto, A. (2013). Sacchathridine A, a prostaglandin release inhibitor from *Saccharothrix* sp. *J. Nat. Prod.*, 76: 720–722.
- Nakamura K, Kimura T, Takahashi E. (1999). Synthesis and biological activities of phosphonothrixin. Phosphorus, Sulfur and Silicon and the related elements. Naturstoffen Angew Chem 69:50–58.
- Normand P, Lapierre P, Tisa LS, Gogarten JP, Alloisio N, Bagnarol E, Bassi CA, Berry AM, et al. (2007) Genome characteristics of facultatively symbiotic Frankia sp. strains reflect host range and host plant biogeography. Genome Res 17:7–15
- Okoro CK, Brown R, Jones AL, Andrews BA, Asenjo JA, Goodfellow M, Bull AT (2009) Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. Antonie van Leeuwenhoek 95:121–133.
- Otoguro, M., Tamura, T., Suzuki, K. -i. & Hayakawa, M. (2009).Saccharothrix violaceirubra sp. nov.,isolated from soil and plant litter. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.,59: 1504–1507.
- Pandey ,R k,Maranville, J.W.,& Chetima,M M (2000) . Deficit irrigation and nitrogene effects on maize in a sahelian environment : II.Shoot growth, nitrogene uptake and water extraction . Agricultural Water Management , 46(1), 15-27 .
- Perry D.A., Tone J., Maeda H., (1990). Antiparasitic menaquinones from Saccharothrix. (Pfizer Ltd., UK). Brit. UK Pat. Appl, pp. 28.
- Phillips RW, Wiegel J, Berry CJ, Fliermans C, Peacock AD, White DC, Shimkets LJ (2002) Kineococcus radiotolerans sp. nov., a radiation-resistant, gram-positive bacterium. Int J Syst Evol Microbiol 52:933–938.
- Phillips RW, Wiegel J, Berry CJ, Fliermans C, Peacock AD, White DC, Shimkets LJ (2002) Kineococcus radiotolerans sp. nov., a radiation-resistant, gram-positive bacterium. Int J Syst Evol Microbiol 52:933–938.
- Rainey FA, Ward-Rainey N, Kroppenstedt RM, Stackebrandt E. (1996) The genus Nocardiopsis represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage: Proposal of Nocardiopsaceae fam. nov. Int J Syst Bacteriol 46:1088–1092.

- Räty K, Kantola J, Hautala A, Hakala J, Ylihonko K, Mantsala P (2002) Cloning and characterization of Streptomyces galilaeus aclacinomycins polyketide synthase (PKS) cluster. Gene 293:115–122.
- Sabaou, N. (1988). Contribution à l'étude des actinomycètes des sols des palmeraies algériennes: systématique et écologie. Thèse de Doctorat Es Sciences Naturelles, option Microbiologie, USTHB, Alger.192 p.
- Sabaou, N., Boudjella, H., Bennadji, A., Mostefaoui, A., Zitouni, A., Lamari, L., Bennadji, H., Lefèbvre, G. & Germain, P. (1998). Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes, rares producteurs d'antibiotiques. Sécheresse, 9: 147–153.
- Sabaou, N., Hacène, H., Bennadji, A., Bennadji, H. & Bounaga, N. (1992). Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne. Can. J. Microbiol., 38: 1066–1073.
- Sahraoui, N.; Ballif, M.; Zelleg, S.; Yousfi, N.; Ritter, C.; Friedel, U.; Amstutz, B.; Yala, D.; Boulahbal, F.;Guetarni, D.; et al. (2011). Mycobacterium algericum sp. nov., a novel rapidly growing species related to the Mycobacterium terrae complex and associated with goat lung lesions. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 61, 1870–1874.
- Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4: 406–425.
- Saker, R. (2016). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Sétif. 181 p.
- Saker, R., Bouras, N., Meklat, A., Zitouni, A., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P. & Sabaou, N.(2015b). Actinopolyspora biskrensis sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from northern Sahara. Curr. Microbiol., 70: 423–428.
- Saker, R., Bouras, N., Meklat, A., Zitouni, A., Schumann, P., Sproer, C., Sabaou, N. & Klenk, H.-P.(2015a). Prauserella isguenensis sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from desert soil. Int. J.Syst. Evol. Microbiol., 65: 1598–1603.
- Saker, R., Bouras, N., Zitouni, A., Ghoul, M., Rohde, M., Schumann, P., Spröer, C., Sabaou, N. & Klenk, H.-P. (2014). Mzabimyces algeriensis gen. nov., sp. nov., a halophilic filamentous actinobacterium isolated from a Saharan soil, and proposal of Mzabimycetaceae fam. nov. Antonie van Leeuwenhoek, 106: 1021–1030..
- Sato T., Hirayama F. and Saito T. (1991). A new alkaloïd antibiotic tetrazomine. Structure determination. J. Antibiot., 44, 1367-1370.
- schmid, R.D., & Verger, R (1998). Lipases: interfacial enzymes with attractive applications. Angewandte Chemie International Edition, 37(12), 1608-1633

- Seto H, Shimazu A. (1992). Novel anticancer cyclic compound CF-24 and its manufacture with Saccharothrix species. Jpn Kokai Tokkyo Koho. 7 pp.
- Silini, S.; Ali-Khodja, H.; Boudemagh, A.; Terrouche, A.; Bouziane, M. (2015). Isolation and preliminary identification of actinomycetes isolated from a wastewater treatment plant and capable of growing on methyl ethyl ketone as a sole source of carbon and energy. Desalin. Water Treat. 57, 12108–12117.
- Singh, M. P., Petersen, P. J., Weiss, W. J., Kong, F. & Greenstein, M. (2000). Saccharomicins, novel heptadecaglycoside antibiotics produced by *Saccharothrix espanaensis*: antibacterial and mechanistic activities. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44: 2154–2159
- Solanki R, Khanna M, Lal R. (2008) Bioactive compounds from marine actinomycetes. Indian J Microbiol 48:410–431.
- Solecka J., Zajko J., Postek M. and Rajnisz A. (2012). Biologically active secondary metabolites from actinomycetes. Cent. Eur. J. Biol., 7, 373-390.
- Souagui, S.; Djoudi, W.; Boudries, H.; Béchet, M.; Leclère, V.; Kecha, M. (2019). Modeling and statistical optimization of culture conditions for improvement of antifungal compounds production by Streptomyces albidoflavus S19 strain of wastewater origin. Anti Infect. Agents. 17, 39–49.
- Souagui, Y.; Tritsch, D.; Grosdemange-Billiard, C.; Kecha, M. (2015). Optimization of antifungal production by an alkaliphilic and halotolerant actinomycete, Streptomyces sp. SY-BS5, using response surface methodology.J. Mycol. Med. 25, 108–115.
- Stackebrandt E, Goebel BM. (1994) A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. Int J Syst Bacteriol 44:846–849.
- Stackebrandt E, Rainey FA, Ward-Rainey NL. (1997) A proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. Int J syst Bacteriol 47:479–491.
- Stackebrandt E, Schumann P. (2006) Introduction to the Taxonomy of Actinobacteria. Prokaryotes 3:297–321.
- Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G. M., Grimont, P. A. D., Kämpfer, P., Maiden, M. C. J., Nesme, X., Rosselló-Mora, R., Swings, J. & other authors. (2002). Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 52: 1043–1047.
- Sugawara T., Tanba T., Kaneda Y., Yamamoto H. and Adachi T. (1999). Antifungal thiazolylpyridine compound from Saccharothrix species and pharmaceutical compositions containing it. Jpn. Kokai Tokkyo Koho, pp.10.

- Suzuki, K., Sato, T., Morioka, M., Nagai, K., Abe, K., Yamaguchi, H., Saito, T., Ohmi, Y. & Susaki, K. (1991). Tetrazomine, a new antibiotic produced by an actinomycete strain.
- Takahashi Y, Omura S. (2003) .Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. J Gen Appl Microbiol 49(3):141–154.
- Takahashi Y, Omura S. (2003) Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. J Gen Appl Microbiol 49(3):141–154.
- Takahashi, A., Hottan, K., Saito, O., Morioka, M., Okami, Y. & Umezawa, H. (1986). Production of novel antibiotic, dopsisamine, by a new subspecies of *Nocardiopsis mutabilis* with multiple antibiotic resistance. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 39: 175–183.
- Takeuchi, M., Takahashi, S., Enokita, R., Sakaida, Y., Haruyama, H., Nakamura, T., Katayama, T. & Inukai, M. (1992). Galacardins A and B, new glycopeptide antibiotics. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 45: 297–305.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Mol. Biol. Evol., 30: 2725–2729.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res., 22: 4673–4680.
- Tiwari K, Gupta RK. (2013) Diversity and isolation of rare actinomycetes: an overview. Crit Rev Biotechnol 39:256–294.
- Tsuboya S., Takayuki D., Takenori I. and Kenji H. (1996). Substance P antagonists manufacture with microorganism. Jpn. Kokai Tokkyo Koho, pp.16.
- Vertesy L, Barbone FP, Cashmen E, Decker H, Ehrlich K, Jordan B, Knauf M, Schummer D, et al.(2001). Pluraflavins, potent antitumor antibiotics from Saccharothrix sp. DSM 12931. J Antibiot 54:718–729.
- Wang L, Zhang Y, Lu Z, Shi Y, Liu Z, Maldonado L, Goodfellow M. (2001) . Nocardia beijingensis sp. nov., a novel isolate from soil. Int J Syst Evol Microbiol 51:1783–1788.
- Warwick, S., Bowen, T., McVEIGH, H. & Embley, T. M. (1994). A *Phylogenetic* analysis of the family *Pseudonocardiaceae* and the genera *Actinokineospora* and *Saccharothrix* with 16S rRNA sequences and a proposal to combine the genera *Amycolata* and *Pseudonocardia* in an emended *genus Pseudonocardia*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44: 293–299.
- 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., Murray, Rge. & other authors. (1987). Report of

- the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 37: 463–464.
- Wellington E. M., Ul-Hassan A. (2009). Actinobacteria. Encyclopedia of Microbiology (Moselio Schaechter, Ed.), pp. 26-44, Oxford: Elsevier
- Wellington EM, Ul-Hassan A. (2009) Actinobacteria. In: Moselio, Schaechter (Ed). Encyclopedia of Microbiology. Elsevier, Oxford. pp. 26–44.
- Whitman, W., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M., Ludwig, W. & Suzuki, K. (2012). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria. Springer Science & Business Media.
- Woese, C. R. (1987). Bacterial evolution. Microbiol. Rev., 51: 221–271.
- Yan, X., Huang, L.L., Tu, X., Gao, X.N., and Kang, Z.S. (2012) .Saccharothrix yanglingensis sp. nov., an antagonistic endophytic actinomycete isolated from cucumber plant. Antonie Van Leeuwenhoek 101: 141-146.
- Yassin, A. F., Rainey, F. A., Brzezinka, H., Jahnke, K. D., Weissbrodt, H., Budzikiewicz, H., Stackebrandt, E. & Schaal, K. P. (1995). *Lentzea* gen. nov., a new genus of the order *Actinomycetales*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 45: 357–363.
- Zamoum, M.; Goudjal, Y.; Sabaou, N.; Barakate, M.; Mathieu, F.; Zitouni, A. (2015). Biocontrol capacities and plant. growth-promoting traits of endophytic actinobacteria isolated from native plants of Algerian Sahara. J. Plant Dis. Prot. 2015, 122, 215–223.
- Zhang DC, Schumann P, Redzic M, Zhou YG, Liu HC, Schinner F, Margesin R (2012). Alpinus sp. nov., a psychrophilic actinomycete isolated from alpine glacier cryoconite. Int J Syst Evol Microbiol 62:445–450.
- Zhao GZ, Li J, Huang HY, Zhu WY, Zhao LX, Tang SK, Xu LH, Li WJ (2011) Pseudonocardia artemisiae sp. nov., isolated from surface-sterilized Artemisia annua L. Int J Syst Evol Microbiol 61:1061–1065.
- Zhi X Y, Li W, Stackebrandt E. (2009). An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 59, 589–608.
- Zitouni, A. (1995). Les genres Nocardiopsis et Saccharothrix (Actinomycetales) dans les sols sahariens: taxonomie numérique ; extraction ; purification et caractérisation de quelques antibiotiques synthétisés. Mémoire de magistère en microbiologie. E.N.S. de Kouba (Algérie).

- Zitouni, A., Boudjella, H., Lamari, L., Badji, B., Mathieu, F., Lebrihi, A. & Sabaou, N. (2005). Nocardiopsis and Saccharothrix genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. Res. Microbiol., 156: 984–993.
- Zitouni, A., Boudjella, H., Mathieu, F., Sabaou, N. & Lebrihi, A. (2004b). Mutactimycin PR, a new anthracycline antibiotic from *Saccharothrix* sp. SA 103: I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 57: 367–372.
- Zitouni, A., Lamari, L., Boudjella, H., Badji, B., Sabaou, N., Gaouar, A., Mathieu, F., Lebrihi, A. & Labeda, D. P. (2004a). *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54: 1377–1381
- Zubia Rashid, Syed Muddassar Hussain Gilani, Asma Ashraf, Sitwat Zehra, Abid Azhar, K.A. Al-Ghanim, F. Al-Misned, S. Mahboob, Saddia Galani, (2020). Benchmark taxonomic classification of chicken gut bacteria based on 16S rRNA gene profiling in correlation with various feeding strategies, Journal of King Saud University Science, Volume 32, Issue 1, Pages 1034-1041, ISSN 1018-3647, https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.09.013

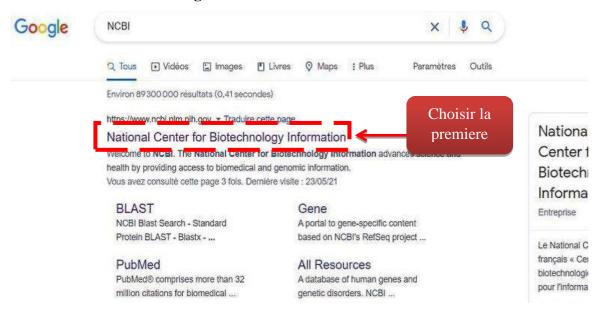
Annexe

ANNEXE N° 1

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/about/mission/.

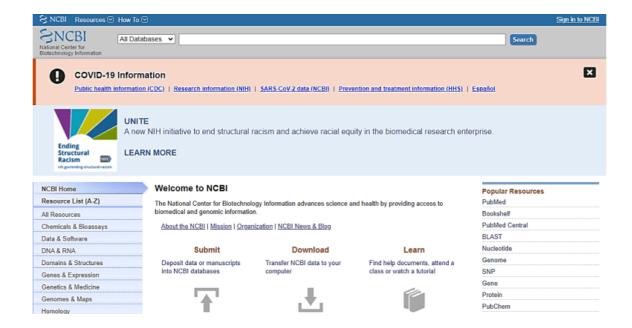
Etape 1:

• Chercher **NCBI** sur **Google**.



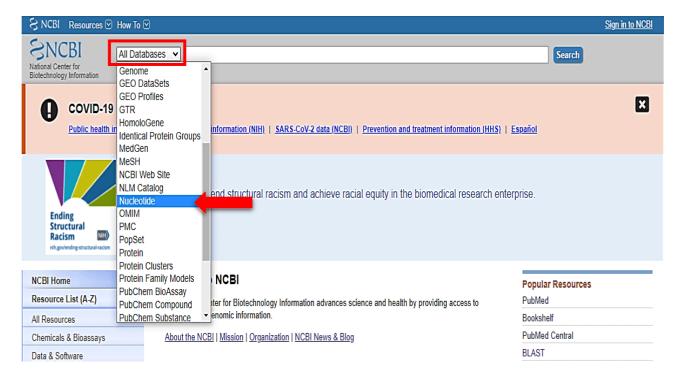
Etape 2:

• Accéder a la plate forme **NCBI**.



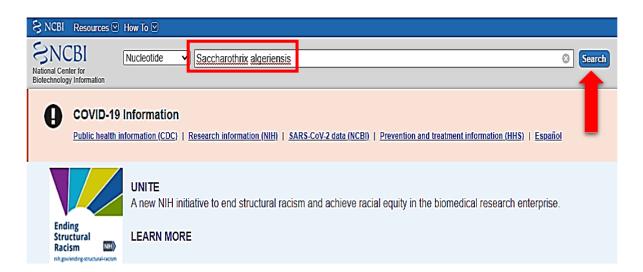
Etape 3:

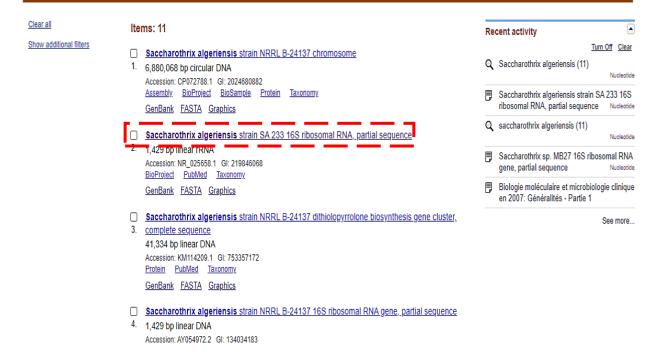
- Cliquer sur « All Databases V ».
- Choisir Nucleotide.



Etape 4:

- **Taper sur Search « Saccharothrix algeriensis »**.
- **↓** Une fois terminer, cliquer sur **Entrée** ou **Search**.
- ♣ Choisir « Saccharothrix algeriensis strain SA233 16s ribosomal RNA. Partial sequence » parce que c'est exactement la souche et L'ARNr 16s qui nous intéresse dans notre travail.

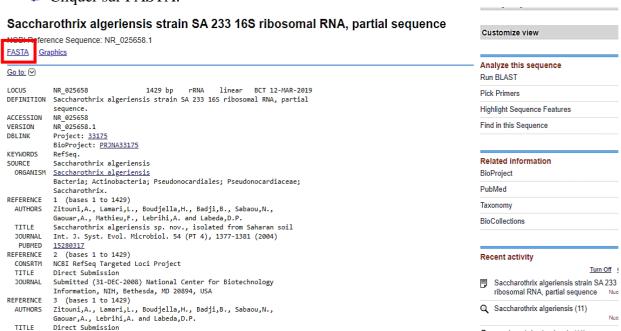




Etape 5:

↓ Vous verrez cette page qui contient toutes les informations sur cette souche.

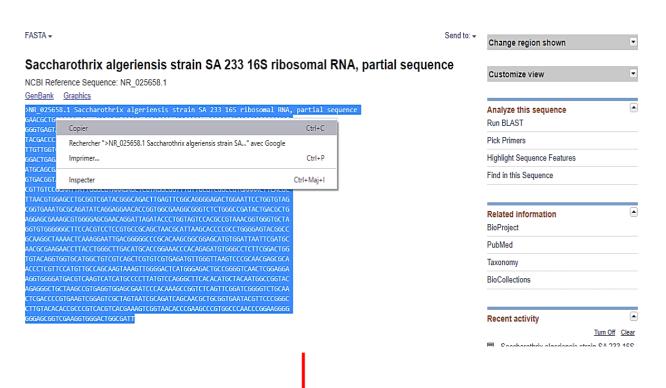
♣ Cliquer sur FASTA.



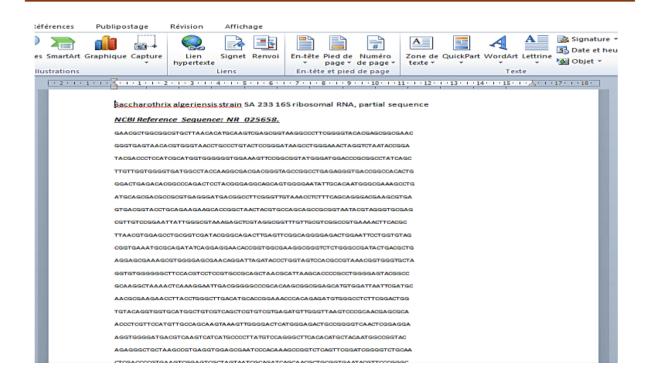
♣ Ici, la séquence de la souche bactérienne à utiliser apparaît.

FASTA • Change region shown Saccharothrix algeriensis strain SA 233 16S ribosomal RNA, partial sequence **Customize view** NCBI Reference Sequence: NR 025658.1 >NR_025658.1 Saccharothrix algeriensis strain SA 233 16S ribosomal RNA, partial sequence Analyze this sequence GAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAAC Run BLAST GGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGTACTCCGGGATAAGCCTGGGAAACTAGGTCTAATACCGGA TACGACCCTCCATCGCATGGTGGGGGGTGGAAAGTTCCGGCGGTATGGGATGGACCCGCGGCCTATCAGC Pick Primers TTGTTGGTGGGTGATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTG Highlight Sequence Features GGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTG ATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGACGAAGCGTGA Find in this Sequence GTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAG ${\tt CGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTTGCGTCGGCCGTGAAAACTTCACGC}$ TTAACGTGGAGCCTGCGGTCGATACGGGCAGACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAG CGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTG Related information BioProject GGTGTGGGGGGCTTCCACGTCCTCCGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCACCCCGCCTGGGGAGTACGGCC GCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGC PubMed AACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGCACCGGAAACCCACAGAGATGTGGGCCTCTTCGGACTGG TGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA Taxonomy ACCCTCGTTCCATGTTGCCAGCAAGTAAAGTTGGGGACTCATGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGA AGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTAC BioCollections AGAGGGCTGCTAAGCCGTGAGGTGGAGCGAATCCCACAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAA ${\tt CTCGACCCCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGC}$ CTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCGTGGCCCAACCCGGAAGGGG GGGAGCGGTCGAAGGTGGGACTGGCGATT Recent activity

♣ Copier la séquence complète de « Saccharothrix algeriensis » et la coller sur Word comme suivant :

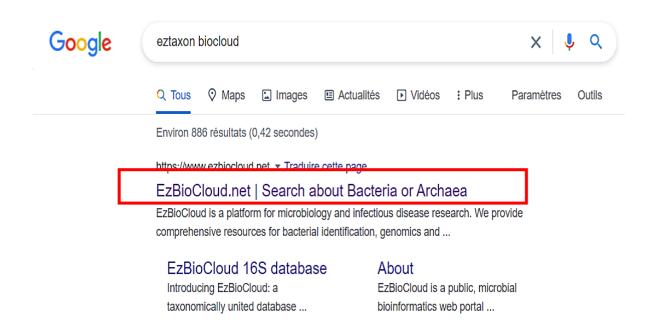


Matériel et méthode

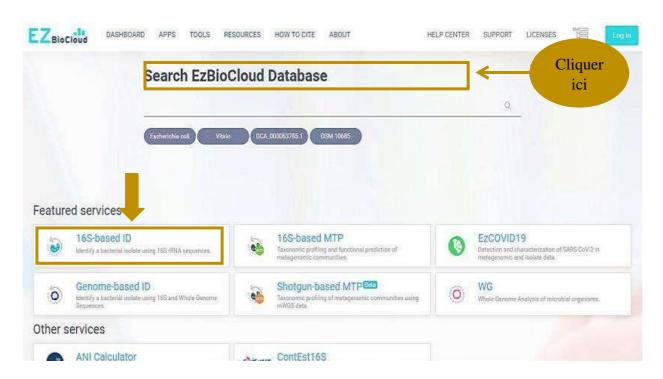


Etape 1:

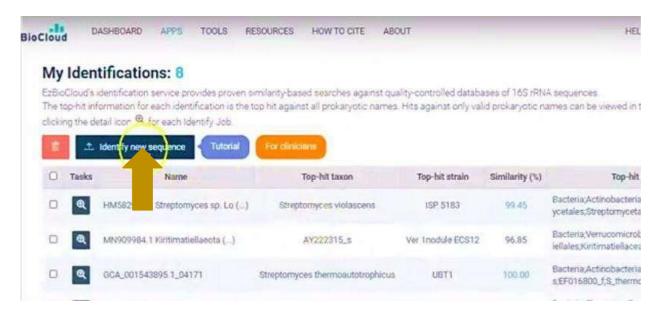
♣ Accéder au Serveur « **EzBioCloud** »(http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/)via **Google.**



Choisir 16S-based ID.

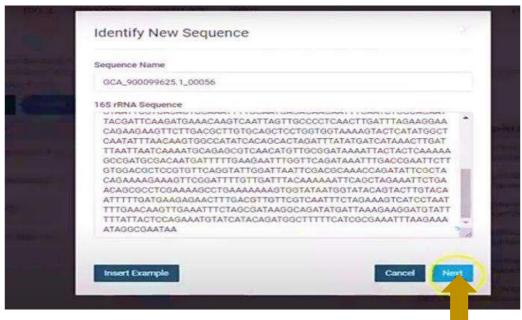


• Cliquer sur « Identify new sequence ».

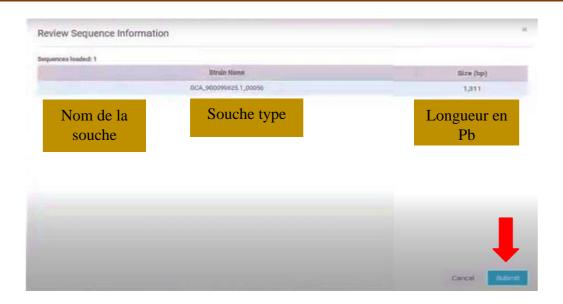


- Ramener la séquence entière qu'on a déjà coller sur **Word** ; celle de « *Saccharothrix algeriensis* » et la recoller ici .
- ✓ Une case pour coller le nom de la Souche *Saccharothrix algeriensis* « SA233 », et une autre pour coller la séquence entière , puis cliquer sur **Next** .



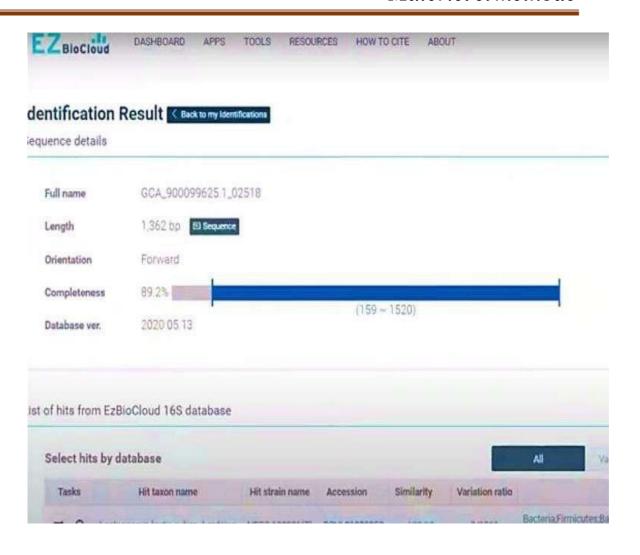


• Vous verrez ce tableau qui contient le « nom de la souche , la souche type et la longueur de l'ADNr 16s de cette souche en paire de base » , puis cliquer sur **Submit** .



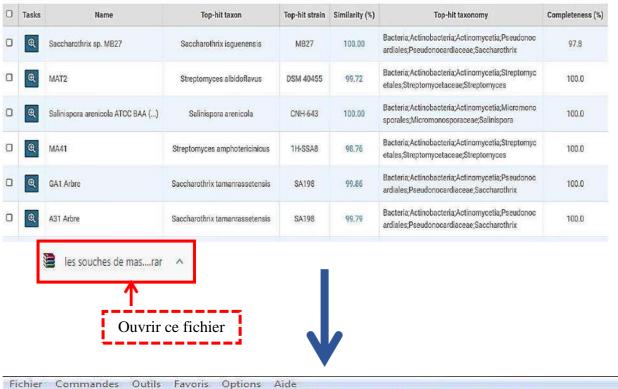


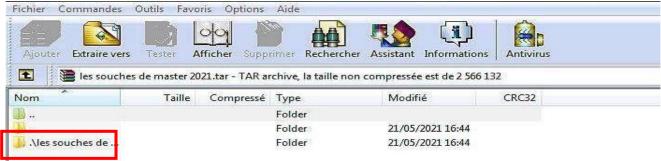
• Vous verrez une deuxième page qui contient beaucoup plus d'informations sur la souche étudiée et en dessous un tableau qui représente les espèces les plus proches a notre souche plus le taux de similarité avec chaque espèce dans le tableau.



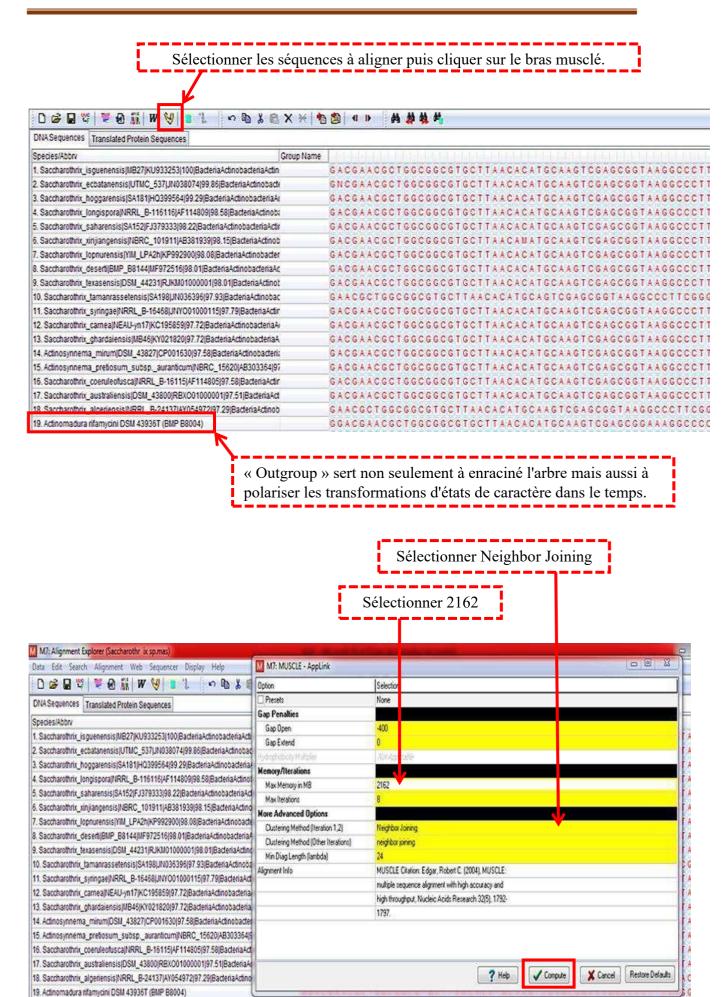


Construction des arbres phylogenetiques

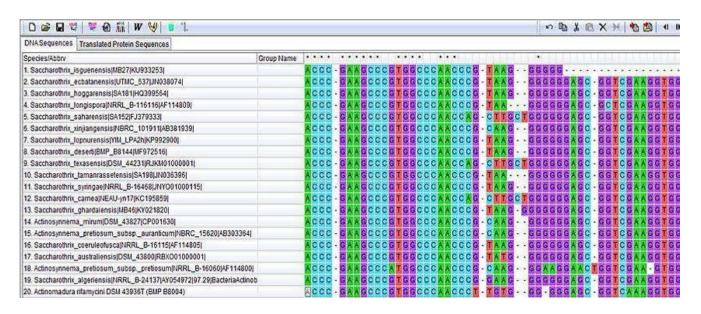




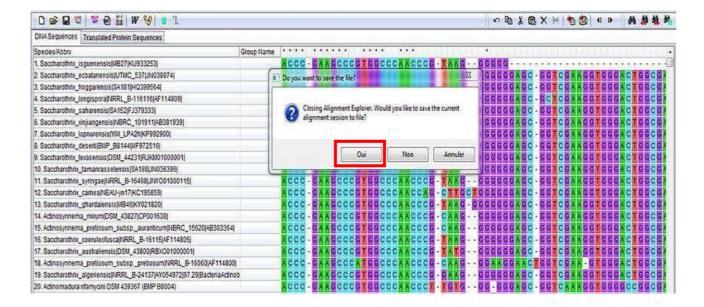




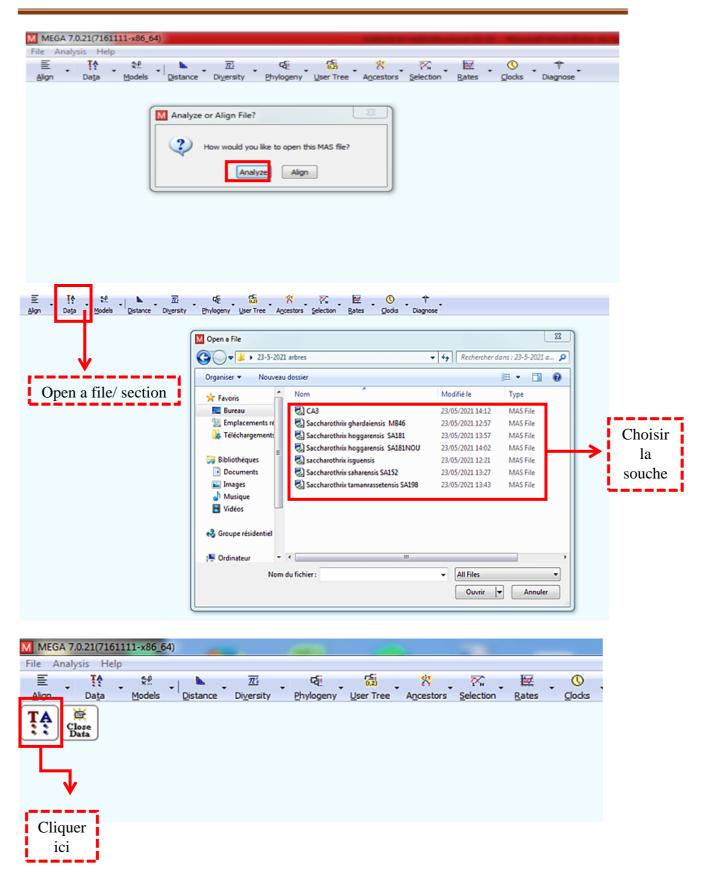
Le résultat de l'alignement

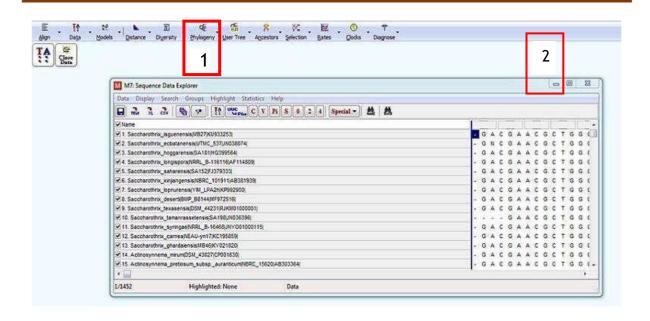


 Remarque : À chaque fois on doit fermer et enregistrer en remplaçant le fichier précédent.

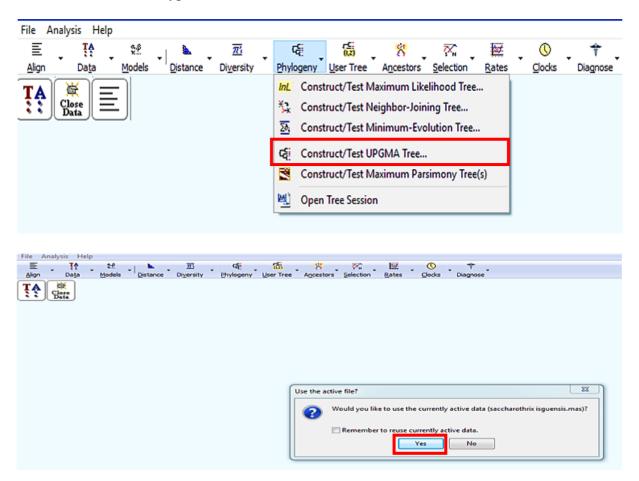


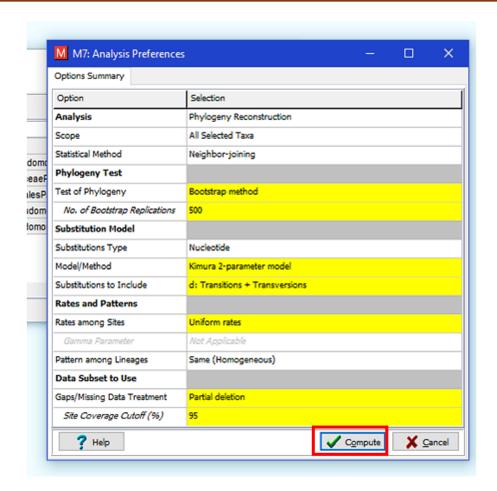
Matériel et méthode

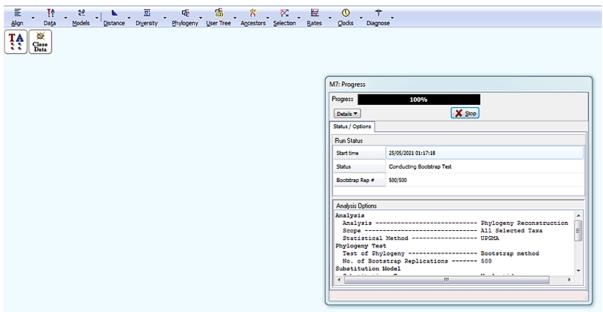




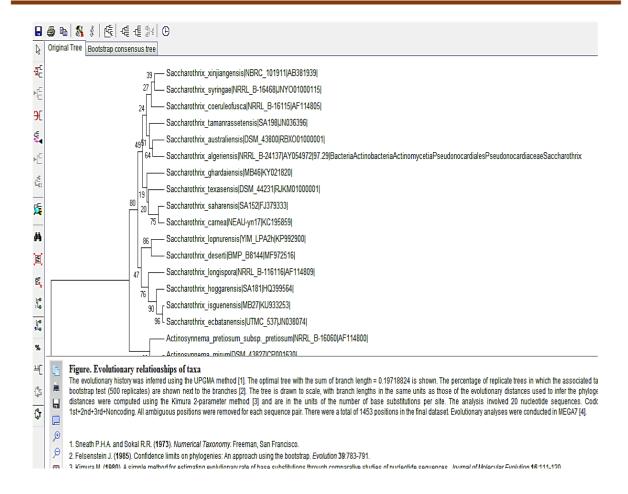
♣ Sélectionner le type d'arbre à construire



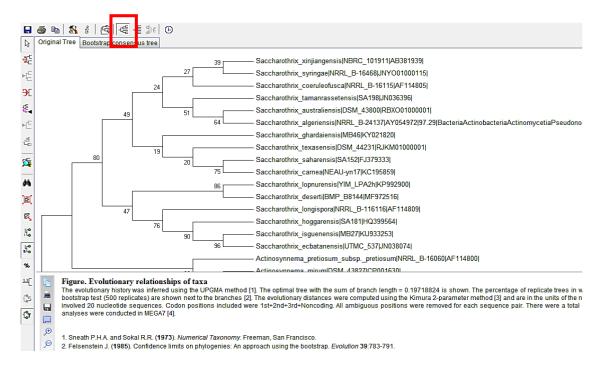








♣ Pour espacer les nœuds cliquer sur



↓ Laisser que les numéros qui égale ou dépasse 50.

