

ÉTUDE TAXONOMIQUES DE DEUX GENRES D'ACTINOBACTÉRIE ISOLÉS DE SOLS SAHARIENS ALGÉRIEN

NOUASRI Ahmed^{1*}, ZITOUNI Abdelgani² et TOUMI Mohamed³

1. Laboratory of bioactive products and biomass valorization research. Departement of Chemistry ENS Kouba, Address: BP92, Vieux Kouba Algiers, Algeria.
2. École Normale Supérieure de Kouba, Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM), Vieux Kouba, Alger, Algeria
3. Laboratoire d'éthnobotanique et substances naturelles LESN ENS Kouba

Reçu le 12/11/2023, Révisé le 08/12/2023, Accepté le 10/12/2023

Résumé

Description du sujet : Dans ce travail, nous avons étudié taxonomiquement, 58 isolats des sols sahariens appartenant au deux genres d'actinobactéries peu fréquents de par le monde : *Sacchamonospora* et *Thermomonospora*.

Objectifs : L'idée principale de ce travail, est bien de chercher des nouveaux taxons appartenant à ces genres.

Méthodes : Par le biais d'étude taxonomique basé sur la morphologie des souches et les caractéristiques physicochimiques et biochimiques des isolats.

Résultats : Sur les 58 souches, 48 à *Sacchamonospora* et 10 à *Thermomonospora*. Un dendrogramme fut obtenu, avec plusieurs groupes physiologiques, ou clusters, définis à un niveau de similarité de 70%. Chaque cluster correspond généralement à un taxon donné. Quatre clusters de *Sacchamonospora* ne correspondent pas à aucunes espèces décrites et pourraient représenter 4 taxons originaux.

Conclusion : Vue les données intéressantes issues de cette étude, il est recommandé de poursuivre la recherche sur les 2 genres pour valider ces résultats et cela, par une analyse ADN 16s.

Mots clés : Actinobactéries; *Sacchamonospora* et *Thermomonospora*; taxonomie.

TAXONOMIC STUDY OF FOUR GENERA OF ACTINOBACTERIA ISOLATED FROM ALGERIAN SAHARAN SOIL

Abstract

Description of the subject: In this work, we taxonomically studied 58 isolates from Saharan soils belonging to four genera of actinobacteria that are rare throughout the world: *Sacchamonospora* and *Thermomonospora*.

Objective : The main idea of this work is to seek new taxa belonging to these genera. **Methods:** Through taxonomic study based on the morphology of the strains and the physicochemical and biochemical characteristics of the isolates.

Methods : Through taxonomic study based on the morphology of the strains and the physicochemical and biochemical characteristics of the isolates.

Results : Of the 58 strains, 48 belong to *Sacchamonospora* and 10 to *Thermomonospora*. A dendrogram was obtained, with several physiological groups, or clusters, defined at a level of similarity of 70%. Each cluster generally corresponds to a given taxon. Four cluster of *Sacchamonospora* do not correspond to any described species and could represent 4 original taxa.

Conclusion: Given the interesting data from this study, it is recommended to continue research on the 4 genera to validate these results and that, by a 16s DNA analysis.

Keywords: Actinobactéries; *Sacchamonospora*; *Thermomonospora*; taxonomy.

*Auteur correspondant : NOUASRI Ahmed, E-mail: ahmed.nouasri@g.ens-kouba.dz

INTRODUCTION

Les actinomycètes sont parmi les plus dispersés groupe de micro-organismes dans la nature. Ils se trouvent abondamment dans tous les sols, tant cultivés que vierges, dans les sols fertiles et infertiles, et dans divers écosystèmes à travers le monde [1]. Les actinobactéries (procaryotes), elles sont des bactéries à Gram positif qui présentent des caractéristiques morphologiques de croissance très variables. Les actinobactéries sont des productrices de large spectre de métabolites secondaires bioactifs et représentent environ 70 à 80 % de tous les composés antimicrobiens isolés. Environ 23 000 antibiotiques ont été découverts de micro-organismes et parmi ceux-ci environ 10 000 elles ont été isolées d'actinobactéries [2]. Les actinobactéries extrémophiles peuvent être divisées en acidophiles, alcalinophiles, haloalcaliphiles, halophiles, psychrophiles, thermophiles et xérophiles [3]. Le genre *Streptomyces* est l'actinobactérie dominante dans sols et la source d'une large gamme de composés bioactifs. Cependant, d'autres genres d'actinobactéries rares tels que *Saccharothrix*, *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Nocardopsis* et *Nocardia* se sont avérés être des sources importantes d'antibiotiques utiles industriellement. que *Streptomyces* [4]. Plus de 20 nouvelles espèces d'Actinobactéries ont été décrites du Sahara algérien comme *Actinokineospora mzabensis*, *Saccharothrix ghardaiensis*, *Actinophytocola algeriensis*, *Streptosporangium becharense* et *Prauserella isguenensis*. Ceci, rend les sols sahariens algériens riches et diversifiés en Actinobactéries. Comme signalé, les actinobactéries des habitats extrêmes sont considérées non seulement comme ayant de grande diversité taxonomique, mais ont également un potentiel intéressant pour synthétiser d'importantes molécules naturelles dans les études physiologiques, chimiotaxonomiques et moléculaires ainsi que pour le criblage d'activités antifongiques [5]. Plusieurs échantillons de sols sahariens collectés dans des écosystèmes arides ont été explorés, et de nombreux nouveaux taxons ont été obtenus. Dans le cadre de ce programme de criblage, nous nous sommes intéressés aux membres du genre *Sacchamonospora* et *Thermomonospora*, connus pour produire plusieurs métabolites secondaires. Dans le présent article, nous avons rapporté les méthodes utilisées pour l'isolement et

l'identification de ces isolats en utilisant une approche polyphasique basée sur des investigations morphologiques, physiologiques, et chimiotaxonomiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Échantillons de sol et isolement des souches d'actinomycètes

1.1. Échantillons de sol

Au total, 25 échantillons de sols sahariens non rhizosphériques ont été prélevés dans les vingt premiers centimètres. Au niveau de cinq palmeraies sud-ouest et sud-est algérien, ainsi que dans trois autres régions arides Dix-sept échantillons, provenant de parcelles habituellement cultivées, sont prélevés au niveau des palmeraies, dont : trois à Béni-Abbès, deux à Adrar, un seul à Bouda, sept à Tolga et ses environs, quatre à Touggourt, quatre autres sols sont issus du Hoggar (région de Tamanrasset), deux échantillons, sont originaires d'une plaine aride située au nord de M'sila et enfin les deux derniers échantillons sont issus d'un reg de la région de Gassi-Touil (sud de Ourgala). Les échantillons ont été stockés dans des récipients stériles et transférés au laboratoire d'analyse.

1.2. Isolement des souches d'actinomycètes

Nous avons utilisé 3 milieux de culture : Milieu R8 (Amner et al., 1989), pour la mise en évidence des *Saccharomonospora* (et quelquefois des *Thermomonospora*), présents dans les sols en quantités très réduite. Il peut être additionné ou non de rifampicine à raison de 5 mg/l, incubé à 50°C durant 4 et 8 jours et enfin le milieu trypticase-soy-agar (T.S.A) Mc Carthy & Cross [7], additionné de 25 mg/l de kanamycine, permet d'isoler un nombre appréciable de colonies appartenant à l'espèce *Thermomonospora chromogena* [8]. Le rajout d'antibiotiques dans les différents milieux est pour inhiber la croissance d'autres champignons ou bactéries. Les ensemencements sont effectués en utilisant la méthode de suspensions-dilutions (de 10⁻¹ à 10⁻⁵), ou 0.1 mL de chaque dilution est étalé sur les différents milieux précédemment coulés dans des boîtes de Pétri stériles et trois répétitions sont réalisées [8]. Après l'incubation, les colonies ont été observées au microscope optique (×40) pour discerner les isolats de type Actinobactérie.

Des isolats représentatifs de chaque groupe morphologique de notre étude, ont été prélevés et purifiés sur milieu International Streptomyces Project (ISP₂) [9], puis maintenus à 4°C.

2. Étude taxonomique des souches d'actinobactéries isolées

Au total, 74 isolats d'actinomycètes ont été isolés, purifiés et étudiés. La détermination des genres a été réalisée sur la base de caractéristiques morphologiques et chimiques (analyse chimique des composants cellulaires) [1].

2.1. Étude morphologique

Elle consiste en une observation macromorphologique des colonies sur différents milieux de culture, et également microscopique.

2.1.1. Étude macromorphologique

Dans ce cas, il s'agit de noter, à l'aide d'une charte (color name chart illustrated with centroid color ISCC-NBS), la couleur des mycéliums aériens et celui du substrat et aussi celle des pigments sécrétés. Les milieux de culture utilisés sont ceux qui permettent une croissance appréciable et préconisés par différents auteurs suivant les genres étudiés. *Saccharomonospora* : ISP₂, gélose nutritive : G.N. et R8 [9, 6]. et pour *Thermomonospora* : R8, G.N. et C.Y.C (Czapeck-yest extract-casein) [6, 10, 11].

2.1.2. Étude micromorphologique

Elle consiste à observer directement les colonies (bien sporulantes) poussant sur milieu solide, au microscope optique, puis à noter la présence ou non de spore, la forme et la disposition des spores etc.... Deux souches ont fait l'objet d'une étude au microscope électronique à balayage à la faculté de médecine de Nancy (France).

2.2. Analyse chimique des constituants cellulaires

Pour l'analyse chimique, qui a été faite sur quelques souches seulement appartenant aux 4 genres étudiés. Des précultures (3 mL) âgées de 48h servent à ensemercer des milieux contenus dans des erlenmeyers de 250 mL (50 mL par erlen), de milieu ISP-2 pour *Saccharomonospora* sous agitation constante dans un sheker à 140tours/mn. Sa durée est de 5

à 8 jours à 30°C et pour *Thermomonospora* le bouillon nutritif, ou l'incubation a lieu à 45°C dans des conditions statiques et dure environ 5 à 7 Jours. Après l'incubation, lorsque les cultures deviennent denses, la biomasse est recueillie par filtration puis rincée plusieurs fois à l'eau distillée et une dernière fois avec l'éthanol avant d'être mise à sécher durant une nuit à 30°C. La biomasse ainsi obtenue est conservée à -20°C.

Toutes les analyses chimiques des composants cellulaires ont été effectuées comme indiqué par Goodfellow et Minnikin [12]. La forme isomère de l'acide diaminopimélique et la présence (ou non) de glycine dans la paroi cellulaire ont été réalisées par chromatographie descendante sur papier chromatographique Whatman n°1 en utilisant la ninhydrine comme réactif. La composition des sucres des cellules entières a été déterminée par chromatographie descendante sur papier de chromatographie Whatman n°1 en utilisant le phtalate d'aniline comme réactif [11].

2.3. Étude physiologique

Les tests physiologiques (77 tests) utilisés dans cette étude, sont ceux utilisés généralement par les taxonomistes pour la différenciation des espèces. Pour l'utilisation des composés glucidiques et quelques-uns de leurs dérivés (au nombre de 26), le milieu de base est : le milieu de Mc Carthy [13], pour les *Saccharomonospora* et les *Thermomonospora*. La méthode employée pour le test de décarboxylation des sels de sodium est celle de Gordon et al. [9], et pour les autres composés organiques comme le tween 80 [14], la testostérone [15], l'amidon, l'arbutine, l'esculine et la gélatine [16], l'adénine, la caséine du lait, la guanine de l'hypoxanthine, la tyrosine et xanthine [9]. Pour maîtriser en évidence la production de pigments mélanoides sur les milieux ISP₆, et ISP₇ [18], et de la nitrate réductase sur bouillon nitraté décrit par Marchal et Bourdon [16]. La tolérance à différentes températures à 30, 45, 50, et 60°C pour *Saccharomonospora* et *Thermomonospora* (sur R8). et pH (5, 7 et 9) a été testée milieu nutritif tamponné, et une croissance visible a été enregistrée comme résultat positif. La sensibilité au lysozyme a été examinée selon les méthodes de Gordon et Barnett (1977) [17].

La sensibilité au crystal-violet (0,001%), au tellurite de potassium (0,005 et 0,01%), à l'azide de sodium (0,001 et 0,01%), au phénol (0,005 et 0,05%) et au NaCl (3, 5 et 7, 8 et 9%). La croissance en présence d'antibiotiques chloramphénicol, kanamycine et oxytétracycline (25 mg/L), cyclosérine, érythromycine, novobiocine, pénicilline et streptomycine (10 mg/L), gentamicine, rifampicine et vancomycine (5 mg/L) sur gélose nutritive.

3. Analyse statistique

Nous avons exploité l'ensemble de nos résultats grâce à l'outil informatique, en utilisant la taxonomie numérique. Par le biais de logiciel stat-Itcf version 5, la technique proprement dite est la classification hiérarchique ascendante et l'indice employé est celui de Jaccard, le critère d'agrégation est celui de la moyenne des distances pondérées. Une fois le dendrogramme confectionné et après

délimitation des différents 'clusters' ou groupes d'isolats présentant une certaine affinité entre eux, nous avons aussi calculé manuellement l'indice Sokal et Michener (ISM) entre les isolats d'un même cluster ou de clusters différents. Cette démarche nous permet de mieux comparer nos données avec celle de la littérature. L'ISM étant plus employé que l'indice de Jaccard. $Sa, b = \frac{Sm+ * Sm-}{Sm+ * Sm+ * d}$. Avec : Sm^- = nombre de tests négatifs similaire entre a et b

RÉSULTATS

1. Etude systématique des isolats de *Saccharomonospora*

1.1. Origine des isolats

48 isolats sont mis en évidence et purifiés. Ils proviennent de 11 échantillons de sols (tableau 1). La moitié est issue des échantillons TL2 de Tolga et BA de Béni-Abbès.

Tableau 1 : Origine des isolats de *Saccharomonospora* et antibiotiques ayant permis leur mise en évidence.

Échantillons de sol	T	Rifampicine 5mg/l	Polymyxine 25mg/l	Novobiocine 10mg/l	Kanamycine 25mg/l	Total 5mg/l
Adrar : AD1	2	0	0	0	0	2
Béni-Abbès : BA1	2	2	0	0	0	4
: BA2	4	1	3	0	1	9
Bouda : TB4	0	0	0	1	0	1
Hoggar : Hg1	5	0	0	0	0	5
: Hg2	2	0	0	0	0	2
: Hg3	1	0	0	0	0	1
: Hg5	4	0	0	0	0	4
Gassi-Touil : GS2	1	0	0	0	0	1
Touggourt : TG4	4	0	0	0	0	4
Tolga : TL2	0	15	0	0	0	15
Total	25	18	3	1	1	48

T : témoin (milieu sans antibiotique), Aucune *Saccharomonospora* n'a été détectée dans les autres échantillons de sols ou sur le milieu contenant des agents sélectifs que ceux mentionnés dans le tableau. Les souches sont recueillies à partir du milieu R8 (à 55°C) à l'exception de huit d'entre elles (sur chitine-vitamine B à 30°C), 90 % sont isolées à partir des milieux sans agent sélectifs ou avec rifampicine (5 mg/l). Sur les 48 souches, 14 ont été isolées par Boudjella [19].

1.2. Étude morphologique

Les 48 isolats présentent la même micromorphologie, à savoir, un mycélium du substrat stérile et non fragmenter, surmonté d'un mycélium aérien dont les hyphes ramifiés portent de part et d'autre, des spores ovoïdes (1 × 1.5 cm), sessiles et isolées. Suivant les caractéristiques culturelles des colonies sur milieu R8, ISP2 et gélose nutritive, nous avons

subdivisé les 8 isolats en 6 groupes morphologiques (tableau 2), les groupes G3 et G4 renferment des souches dont les mycélia aérien et du substrat, non coloré, blanc à bleu pâle, contrastent fortement avec deux autres souches (couleurs foncées dans le bleu, le vert-bleu, le bleu-noir etc...), des pigments solubles bruns (G2, G3 et G5) ou bleu grisâtre (G1) peuvent être sécrétés.

Tableau 2 : Caractéristiques culturales des isolats de *Saccharomonospora*

Groupes Morphologiques	Isolats	Mycélium aérien	Mycélium du substrat	Pigments solubles	Températures d'isolement
G1 (5 isolats)	SB3, SB4, SB5, SB10 et SB 13	Bleu-gris très foncé	Bleu-noir à Bleu-gris foncé	Bleu-grisâtre su GN	55°C
G3 (22 isolats)	SB1, S1, S2, S3, S4, S1, S7, S9, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S19, S20, S21, S22, S3, S24, S25	Bleu-grisâtre, bleu verdâtre foncé	Vert-grisâtre, vert bleuté foncé	Brun sur R8	55°C
G3 (6 isolats)	S28, S30, S34, S36, S38, et S40	Blanc, blanc bleuté, bleu pâle	Non coloré avec secteur vert-bleuté	Brun sur R8	30°C
G4 (4 isolats)	SB15, SB7, SB8, et S35	Blanc à bleu pâle	Non coloré avec secteur vert-bleu	Non produits	55°C sauf l'isolat S35 (30°C)
G5 (5 isolats)	SBD6, SP, SB2, SB19 et S26	Bleu-grisâtre foncé et bleu pâle	Bleu-verdâtre foncé avec secteur non coloré	Brun sur R8	55°C sauf l'isolat S26 (30°C)
G6 (4 isolats)	SB6, SB14, S18, et S41	Bleu grisâtre foncé et bleu pâle	Vert-bleu très foncé	Non produits	55°C

GN= gélose nutritive, les souches ayant un code débutant, par SB ont été isolées par Boudjella [19].

1.3. Détermination de l'isomère de l'acide diaminopimélique et sucres cellulaires

L'analyse chimique des constituants cellulaire a été effectuée sur 6 souches, une de chaque groupe : SB5 (G1), S17 (G2), S34 (G3), SB15 (G4), SBD6 (G5) et SB6 (G6). Les résultats ont montré la présence de l'isomère DL de l'acide diaminopimélique, avec absence de glycine, et la présence d'une forte quantité du couple 'arabinose-galactose'. Du glucose et du ribose sont aussi détectés. Ceci nous permet donc de dire que les souches possèdent le chimotype IV A tel que défini dans la littérature (voir chapitre I) et correspondant parfaitement à celui des *Saccharomonospora*.

1.4. Étude physiologique

L'étude physiologique a été réalisée sur 23 souches, soit 3 à 6 par groupe morphologique (les souches de chaque groupe présentent une grande homogénéité entre elles). Les résultats sont présentés au niveau du tableau 3. Des différences dans l'utilisation des composés organiques et dans la résistance à certains facteurs physiques et chimiques sont nettement perceptibles. Cependant, vue le nombre de tests assez important, les relations entre les souches ne prouvent être bien déterminées qu'après l'interprétation des données par le logiciel, que nous présenterons dans le paragraphe 5.2 relatif à la taxonomie numérique.

Tableau 3 : Résultats des tests physiologiques des isolats de *Saccharomonospora*

Tests Physiologique	Isolats																						
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6	N°7	N°8	N°9	N°10	N°11	N°12	N°13	N°14	N°15	N°16	N°17	N°18	N°19	N°20	N°21	N°22	N°23
Dégradation de :																							
Amidon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Arbutine	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Esculine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Utilisation des sucres et dérivés :																							
Arabin-ose	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Dextrine	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Erythri-tol	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Fructose	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-
Galact-ose	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycérol	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
Glyco-gène	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Maltose	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+
Man-nose	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Mélibio-se	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
α-méthyl-D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-glucoside																							
Raffi-nose	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Rham-nose	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Ribose	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
Saccharose	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
Tréhalose	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Xylose	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Dégradation de sels de sodium :																							
Acétate	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Benzoate	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
Butyrate	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Propionate	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pyruvate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
succinate	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croiss-ance à :																							
30°C	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
pH9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Croissance en présence de :																							
NaCl à 5 %	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl à 7 %	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
NaCl à 8 %	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
NaCl à 9 %	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
Tellurite de potassium à 0.001 %	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tellurite de potassium à 0.01 %	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Azide à 0.001 %	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-
Azide à 0.01 %	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Crystal violet à 0.001 %	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Lysozyme à 0.005 %	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Résistance aux antibiotiques																							
Chloramphénicol (25 mg/l)	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-
Gebtamycine (5 mg/l)	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kanamycine (25mg/l)	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Novobiocine (10mg/l)	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-
Oxytétracycline (25mg/l)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pénicilline (10 mg/l)	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
Rifampicine (5 mg/l)	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
Streptomycine (10 mg/l)	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-

Du N°1 au N°23 les souches comme suite: SB5, SB10, SB13, S17, SB2, S7, SB1, SB15, SB8, SB35, SBD6, SP, SB2, S26, SB6, SB14, SB18, S28, S39, S38, S34, S30 et S31. Tous les isolats dégradent la caséine du lait, la gélatine, le tween 80, la tyrosine, l'adonitol, la cellobiose et le glucose. Aucune ne dégrade l'adénine, la guanine, l'hypoxanthine, la testostérone, la xanthine, l'inositole, le mélizitose, le sorbitol, le dulcitol, l'oxalate, le tartarate et les nitrates. La totalité, croît en présence de NaCl (3 %) et de phénol (0.05 %), est résistante à la cyclosérine (10 mg/l) et l'érythromycine (10 mg/l) et est sensible à la vancomycine (5 mg/l). Les pigments mélanoides ne sont pas produits sur ISP6 et ISP7. Les souches ne poussent pas à 60°C.

2. Étude systématiques des isolats de *Thermomonospora*

2.1. Origine des isolats

Dix isolats ont été mis en évidence sur milieu R8 sans agents sélectifs (à 55°C) à partir uniquement des échantillons TL2 de Tolga (souches *Thm.* 3, *Thm.* 4, *Thm.* 6 et *Thm.* 8) et BA 1 (*Thm.* 1, *Thm.* A et *Thm.* B) et BA 2 (*Thm.* C et *Thm.* D) de Béni-Abbes. Elles n'ont pas été retrouvées sur milieu chitine-vitamines B et sur

d'autres échantillons de sol. Le milieu TSA (trypticase-soy-agar) additionné de 25 mg/l de kanamycine, préconisé dans la littérature pour l'isolement de l'espèce *Thermomonospora chromogena*, n'a pas permis la détection de cette dernière. Il est à noter que *Thm.* A, B, C et D ont été isolés par Boudjella [19].

2.2. Étude morphologique

Les 10 isolats forment un groupe homogène tant par la macro que par la micromorphologie.

La croissance est bonne sur R8, GN, et CYC et très faible sur l'ISP2. Sur les trois premiers milieux, le MA (abondant) est blanc à beige pâle et le MS, blanc jaunâtre à jaune pâle. Les pigments solubles ne sont pas secrétés. Le MS est stérile et non fragmenté. Seul le MA porte des spores arrondies (1 à 1.5 cm de diamètre), non réfringentes et isolées. Les spores sont portées par des courts sporophores ramifiés de manière dichotomique conférant ainsi à l'ensemble, l'aspect de 'bouquets de fleurs'.

2.3. Détermination de l'isomère de DAP et des sucres cellulaires

Cette analyse a été effectuée sur les souches *Thm. A* et *B*. Le DAP est du type DL. La glycine et les sucres caractéristiques sont absents. Cependant, du glucose, du ribose et du galactose sont détectés en petites quantités. Ces résultats attestent que l'on est en présence du chimiotype III C correspondant bien à celui des *Thermomonospora*.

2.4. Étude physiologique

En raison de l'homogénéité parfaite observée sur les 10 souches, quatre d'entre elles uniquement ont fait l'objet d'une étude physiologique : *Thm. 1*, *Thm. 3* et *Thm. 6* *Thm. A*. Les 4 souches se ressemblent beaucoup du point de vue physiologique puisque les différences concernent seulement 6 tests ou moins sur les 77 réalisés, ce qui laisse supposer la présence d'une même espèce.

2.4.1. Dégradation des composés organiques, réduction des nitrates et production de pigments solubles

Les tests positifs sont les suivants : amidon, arbutine, caséine, cellobiose, gélatine, érythritol, dextrine, fructose, glycogène, lactose (sauf *Thm. 1*), ribose, tréhalose, xylose (sauf *Thm. 1* et *Thm. 6*), *glucose*, maltose, saccharose et acétate de sodium (sauf *Thm. 1*). Les tests négatifs sont : adénine, hypoxanthine, guanine, testostérone, tween 80, tyrosine, xanthine, adonitol, arabinose, galactose, inositol, mannitol, mélibiose, L-méthyl D-glucoside, raffinose, ribose, sorbitol, dulcitol, glycérol, benzoate, butyrate, citrate, oxalate, propionate, succinate, pyruvate et tartare de sodium. Réduction des nitrates et production de pigments mélanoides ne sont pas produits sur ISP6 et ISP7.

2.4.2. Sensibilité ou résistance à différents agents physiques et chimiques

Les souches sont sensibles au lysozyme (à 0,005%), au NaCl à 7 % à l'azide de sodium (à 0,001 et 0,01%), au tellurite de potassium (à 0,01%), au phénol (à 0,05%), au cristal violet (à 0,001%), à tous les antibiotiques testés (voir matériel et méthodes). Elles ne croissent pas à pH 5 et à 30°C et à 60°C. Les souches ont par contre résisté au NaCl à 3% et 5 % (sauf *Thm. 3* pour cette dernière concentration), au tellurite de potassium à 0,001 (sauf *Thm. 1* et *Thm. 3*), au cristal violet à 0,00002% (*Thm. 1* est aussi résistante à 10 mg/l de cyclosérine). Elles croissent à pH 9 à 45, 53 et 55°C.

3. Classification hiérarchique ascendante

Elle nous permet d'obtenir un dendrogramme (Fig. 5) qui montre de manière très nette la séparation entre les 2 genres d'actinomycètes. Le pourcentage de similarité (indice de Jaccard=IJ) est très bas : seulement 29% entre *Saccharomonospora* et *Thermomonospora*. Pour analyser ce dendrogramme, nous avons ainsi défini, à un niveau de 70% (IJ) des groupes de similarité physiologiques appelés dans ce cas 'cluster' et ce, pour les différencier des groupes morphologiques précédemment déterminés. Le, que niveau 70% (IJ) équivaut en général à un indice de Sokal et Michener avoisinant les 80-85%, c'est-à-dire les isolats d'un même cluster appartiendraient vraisemblablement à une espèce identique. Au total, 12 clusters ont été obtenus.

3.1. Isolats du genre *Saccharomonospora*

Les 23 isolats choisis pour l'étude physiologique ont montré une plus grande hétérogénéité que ceux du genre précédent, puisque pas moins de huit clusters ont été définis (C1 à C8). Cependant, nous avons constaté qu'il n'y a pas de concordance entre ces clusters et les groupes morphologiquement, particulièrement la macromorphologie, ce qui peut signifier que cette dernière n'a pas une grande incidence sur la détermination des espèces.

Cluster C1 : Il comprend 5 isolats : S26, SBD6, (G5), S30, S34, (G3) et S35 (G4). Le C1 est défini à un niveau de 72% (IJ). L'ISM intra-cluster varie entre 86 et 90%. Les 5 isolats appartiennent donc à une même espèce.

Cluster C2 : Il est composé par l'unique isolat (G3). L'IJ avec le C1 est de 68%. Cependant, l'ISM varie entre 77 et 87% (ISM moyen=81,75%).

L'isolat S31 pourrait appartenir à une sous-espèce de celle qui constitue le C3 ou éventuellement à une espèce distincte.

Cluster C3 : Deux isolats sont inclus dans ce cluster : S18 (G6) et S39 (G3); ils appartiennent à une espèce (IJ=77% et avec un ISM=86%). Les indices de similarité entre ce cluster et les deux précédents (C3 et C4) sont de 65% pour l'IJ et de 75 à 82 (moyenne : 78%) pour l'ISM, ce qui signifie que l'on est en présence d'une espèce à part.

Cluster C4 : Il comprend un seul isolat : SB1 (G2). Le cluster le moins différent reste le C5 (IJ : 69% et l'ISM : 78 à 82%). La possibilité d'une sous-espèce de celle du C5 n'est pas à écarter.

Cluster C7 : Il comprend l'isolat SP (G5) lequel présente un IJ de 64% avec le C7 et le C8 et un ISM moyen de 76%, ce qui signifie son appartenance à une espèce différente des précédentes.

Cluster C8 : Le C10 est constitué par trois isolats : S2, S7, et S17, du groupe morphologique G2 et appartenant à une même espèce (IJ=81% et ISM=91%). Ce cluster est le plus éloigné des autres : IJ=56 % et ISM < à 71%, et forme de cela une espèce à part.

3.2.-Isolats du genre *Thermomonospora*
Quatre isolats également composent le cluster C9 de *Thermomonospora*. Ils peuvent être tous inclus à l'intérieur d'une même espèce sachant que l'IJ entre eux est de 79% et l'ISM, compris entre 93 et 97%.

Cluster C5 : Il est constitué par six isolats : SB8, SB15 (G4), S38, S28 (G3), SB6 et SB14 (G4). Ce cluster est défini à un niveau de similarité (IJ) de 77%, correspondant à un ISM de 84 à 90% (moyenne : 87%); les isolats le composant font partie d'une même espèce qui reste cependant différente de celles constituant les précédents clusters (IJ : 61 % et ISM < à 77%).

Cluster C6 : Quatre isolats y sont inclus : SB2, (G6) et ceux du G1 ; SB5, SB10 et SB13. L'IJ intra-cluster est de 74% et l'ISM entre 85 et 92. Le cluster C8 se distingue nettement du C7 (IJ : 69,5 % et ISM moyen : 75%) qui est pourtant le moins différent et représente ainsi une espèce autre que celles des autres clusters.

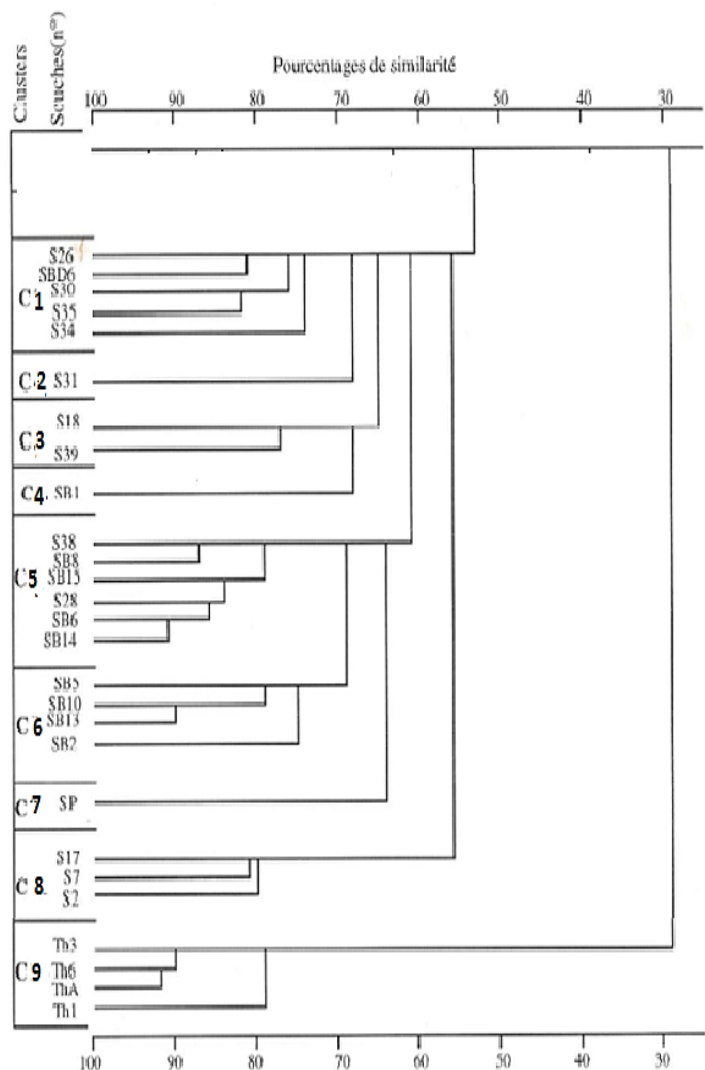


Figure 1: Dendrogramme montrant les relations entre les clusters de *Microellobosporia*, de *Saccharomonospora*, et de *Thermomonospora*, définis à un niveau de similarité (indice de Jaccard) de 70%.

DISCUSSION

A partir des sols sahariens, 58 souches ont été isolées. D'après leur morphologie (appuyée par l'analyse des constituants cellulaires). Elles furent rattachées aux genres : *Saccharomonospora* (48 iso.) et *Thermomonospora* (10 iso.).

Le milieu R8 alcalin et ζ base de proline, préconisé par Amner et al. [6] pour la sélection des *Saccharomonospora*, s'est révélé effectivement être intéressant pour ce genre et à un degré moindre pour *Thermomonospora*.

D'une manière générale, nous pouvons dire que les 2 genres sont fréquents ou même assez rare bien dans les sols sahariens [19, 20], que dans les sols d'autres régions de par le monde comme cela a été signalé dans le manuel de systématique de Bergy [21].

La taxonomie numérique basée sur 77 tests physiologiques nous a permis de définir 9 clusters : 8 de *Saccharomonospora* et 1 de *Thermomonospora*, chaque cluster pouvant représenter une espèce. Pour chaque genre, les clusters seront comparés aux espèces existantes dans la littérature, de manière à procéder à leur identification.

1. Détermination des isolats de *Saccharomonospora*

Le genre *Saccharomonospora* était représenté depuis longtemps par une seule espèce ; *Sm. Viridis* [10, 22], proposa, dix années plus tard, une seconde espèce : *Sm. caesia* classée auparavant dans le genre *Microspolyspora* à partir de 1982 par Mc Carthy et Cross, [23] ; Greiner-Mai et al. [24]. Ces travaux ont conduit à la création d'une troisième espèce : *Sm. glauca* [24]. Parallèlement, deux espèces furent décrites : *Sm. azurea* par Runmao [25] et *Sm. cyanea* par Runmao et al. [26]. Au total, cinq espèces existent actuellement et ont été citées par Holt et al. [27], dans le dernier manuel de détermination de Bergy.

Notre étude a porté sur 48 isolats de *Saccharomonospora* rattachés à 7 groupes morphologiques suivant la couleur du MA, du MS et des PS. La taxonomie numérique (effectuée sur 23 souches) basée sur de nombreux tests physiologiques ; a conduit à la formation de clusters qui ne correspondent pas tout à fait aux groupes morphologiques. Ceci laisse donc penser que la couleur des colonies n'intervient pas véritablement dans la discrimination des espèces de *Saccharomonospora*, tout comme l'ont

d'ailleurs souligné certains auteurs notamment Greiner-Mai et al. [24] et Ruan et al. 19 [28].

Une comparaison entre la physiologie de nos isolats et les 5 espèces de *Saccharomonospora* est donnée au niveau du tableau 4, nous constatons que :

Les isolats du cluster C8 correspondent parfaitement à l'espèce *Sm. viridis*. Le C8, rappelons-le, très différent des autres clusters qui ne peuvent de ce fait être rattachés également à cette espèce.

-Les souches appartenant aux clusters C1 et C2, lesquels sont proches entre eux (ISM=82%) se rapprochent énormément de 2 espèces ; *Sm. caesia* et *Sm. glauca*. Ces dernières ne se distinguent entre elles que par la croissance à 30°C. Le fait que nos souches du C1 et du C2 croient bien à cette température permet de les rapprocher beaucoup plus de *Sm. caesia*. Si les souches du C1 correspondent assez bien à cette espèce, celle du C2 (n° =S31) se distingue par sa capacité à dégrader le saccharose mais non l'arabinose. Elle pourrait donc présenter une sous-espèce.

-Les isolats du cluster C3 présentent aussi plusieurs similarités avec *Sm. caesia* (différence dans l'utilisation du mélibiose) et *Sm. glauca* (différence dans l'aptitude à croître à 30°C). Ils ne peuvent être rattachés à *Sm. caesia* sachant que le C3 est assez différent du C1 et du C2 lesquels correspondent mieux à cette espèce. En raison de l'absence de données supplémentaires dans la littérature, nous rapprochons provisoirement les isolats du cluster C3 de *Sm. glauca*.

-les souches incluent dans les clusters C4, C5, C6 et C7 diffèrent des 3 espèces citées précédemment par certains caractères physiologiques et encore plus des 2 autres espèces. *Sm. azurea* et *Sm. cyanea*. Les isolats du C4, C5 et C6 sont les seuls à être résistants au lysozyme, fait unique chez les *Saccharomonospora*. Les 4 clusters correspondent probablement à 4 nouvelles espèces.

Cependant, au-delà de nos résultats obtenus après une taxonomie numérique approfondie et qui nous a permis de distinguer huit clusters, soit un nombre supérieur à celui des espèces existantes (cinq), il y a lieu de signaler la faiblesse encore perceptible dans la discrimination des espèces par des caractères phénétiques, et ce, dans la littérature. Ceci est particulièrement valable dans le cas de *Sm. caesia* et *Sm. glauca*.

Ces deux dernières ont été différenciées entre elles par leur profil enzymatique (par électrophorèse) et par l'utilisation de bactériophage [24]. Une analyse phylogénétique du genre *Saccharomonospora*, grâce au séquençage de l'ARN ribosomique 16s a été récemment entreprise [29]. Elle a permis de distinguer les 5 espèces entre elles. Cependant, cette méthode 'trop lourde' ne permet pas d'effectuer des tests physiologiques qui ont donné des résultats intéressants pour distinguer

les clusters entre eux, entre autres, la résistance à certains agents chimiques tels que la novobiocine, le chloramphénicol, la pénicilline, la gentamycine et le Crystal violet. Ces tests devraient être appliqués aux espèces connues pour mieux évaluer leur importance taxonomique. Enfin, nous signalons que les quelques isolats de *Saccharomonospora* mis en évidence par Sabaou [20] à partir de certains sols sahariens, ont été rattachés par ces auteurs à *Sm. viridis* et *Sm. Caesia*.

Tableau 4 : comparaison des souches de *Saccharomonospora* isolées des sols sahariens avec les espèces décrites dans la littérature.

Test physiologique	Espèces					Clusters							
	<i>Sm. viridis</i>	<i>Sm. glauca</i>	<i>Sm. caesia</i>	<i>Sm. cyanea</i>	<i>Sm. azurea</i>	C3 C4	C5	C5	C7	C8	C9	C10	
Dégradation de :													
Arabinose	-	+	+	-	-	V	+	-	+	+	+	-	
Erytritol	+	NM	NM	NM	NM	V	+	+	+	-	+	+	
Fructose	-	V	V	+	+	+	-	-	V	+	+	V	
Glycérol	+	+	NM	+	+	+	+	+	V	+	+	V	
Glycogène	-	NM	NM	NM	NM	+	+	+	+	+	+	V	
Lactose	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
Mannitol	-	+	+	-	-	+	V	-	+	+	+	-	
Mannose	NM	NM	NM	+	+	V	+	-	V	+	+	+	
Mélibiose	NM	NM	-	-	+	-	+	-	V	+	+	-	
Raffinose	-	-	-	+	-	-	V	+	-	+	-	-	
Ribose	NM	NM	NM	+	+	-	+	-	-	+	+	-	
Rhamnose	-	-	-	+	+	-	-V	-	+	+	+	V	
Saccharose	V	-	-	+	+	V	-V	-	V	+	-	-	
Xylose	-	V	V	+	+	+	+	+	V	+	+	-	
Glucose	V	+	V	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Croissance à :													
30°C	V	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
50°C	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
55°C	+	+	V	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
pH9	+	NM	NM	NM	NM	+	+	+	+	+	-	+	
Résistance aux :													
NaCl 7%	-	+	NM	+	-	+	V	+	+	+	+	-	
Lysozyme	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
Cristal violet	V	NM	NM	NM	NM	-	V	+	+	+	-	+	
Novobiocine	-	NM	-	NM	NM	-	-	-	+	+	+	V	
Rifampicine	V	NM	NM	NM	NM	+	+	+	+	V	-	+	
Chloramphénicol	-	NM	NM	NM	NM	-	-	-	+	+	+	-	
Gentamycine	-	NM	NM	NM	NM	-	-	-	-	+	-	-	
Kanamycine	V	NM	NM	NM	NM	-	-	-	-	+	-	-	
Pénicilline	V	NM	NM	NM	NM	+	-	-	++	+	-	-	
streptomycine	-	NM	NM	NM	NM	-	-	-		V	-	-	

Toutes les souches dégradent l'amidon, et la caséine mais pas l'adénine, la xanthine, l'hypoxanthine et l'inositol : + = tests positifs (dégradation, croissance, résistance) pour 80 à 100 % des souches d'une même espèce ou d'un même cluster ; - = tests négatifs sur 80 à 100 % des souches ; V= variable, test positifs (ou négatifs) pour 21 à 79% des souches ; NM=non mentionné dans la littérature. Les données concernant les espèces de *Saccharomonospora* sont celles de Kurup et Funk (1975), Kurup (1981 a et b) [30, 22, 31], Goodfellow et Pirouz (1982) [32], Hollick et Kurup (1983) [33], Runmao (1987) [25], Greiner-Mai et al., (1988) [24], Mac Carthy (1989) [15] et Holt et al., (1994) [27].

2. Détermination des isolats de *Thermomonospora*

Actuellement, six espèces de *Thermomonospora* existent : *Thm. alba*, *Thm. chromogena*, *Thm. curvata*, *Thm. fusca*, *Thm. formosensis* et *Thm. mesophila* [34, 15, 27].

Les 4 premières sont thermophiles et les deux dernières, mésophiles. Nos isolats de *Thermomonospora* sont thermophiles. Ils ont été inclus dans un même cluster (C9) et appartiennent à un même taxon.

Ils ont été comparés aux six espèces de *Thermomonospora* (tableau 5). Ceci nous a permis de constater que nos souches sont très proches de *Thm. alba* ou nous notons seulement une seule différence (utilisation du ribose).

Dans les sols sahariens, Sabaou [20].a mis en évidence quelques isolats de *Thm. fusca* et de *Thm. chromogena* et Boudjella [19]. *Thm. mesophilus* (mesophile) et *Thm. alba*. Seules cette dernière espèce a été détectée dans notre cas

Tableau 5 : Comparaison des souches de *Thermomonospora* isolées des sols sahariens avec les espèces décrites dans la littérature.

Macromorphologie et tests physiologiques	Espèces						Cluster C12
	<i>Thm. alba</i>	<i>Thm. curvata</i>	<i>Thm. fusca</i>	<i>Thm. chromogena</i>	<i>Thm. mesophila</i>	<i>Thm. formosensis</i>	
Mycélium aérien Mycélium du substrat	Blanc Jaune claire	Blanc Jaune à orange	Blanc Jaune claire	Blanc brun gris	Blanc brun	Blanc Rose à orange	Blanc beige jaune claire
Pigment solubles	-	-	-	Brun foncé	-	-	-
Sporophore dichotomiques	v	-	+	+	-	-	+
Dégradation de :							
Amidon	+	+	+	-	+	-	+
Gélatine	+	-	+	NM	+	+	+
Hypoxantine	-	-	-	+	+	NM	-
Tyrosine	-	-	-	+	+	NM	-
Xanthine	-	-	-	+	+	NM	-
Nitrate	v	+	-	+	+	-	-
Arabinose	-	-	-	-	+	-	-
Fructose	v	+	v	v	+	-	+
Galactose	v	-	+	+	+	+	-
Lactose	v	-	+	-	+	-	+
Maltose	+	+	+	v	-	-	+
Mannitol	-	-	-	v	+	+	-
Mélicitose	-	v	+	-	-	NM	-
Ribose	-	+	-	v	-	NM	+
Saccharose	+	+	+	-	-	+	+
Xylose	v	v	-	-	-	-	v
Croissance à :							
30°C	v	v	-	-	+	+	-
50°C	v	+	+	+	-	-	+
Résistance aux :							
NaCl à 3%	v	-	v	v	-	-	+
Azide de na 0,01%	v	v	v	+	+	NM	-
Kanamycine (25mg/l)	-	-	-	+	-	NM	-
Novobiocine (10mg/l)	-	-	-	-	+	NM	-

+ = test positif pour 80% à 100% des souches ; - = test négatif pour 80% à 100% des souches ; V = variable : test positif (ou négatif) pour 21% à 79% des souches ; NM = non mentionné dans la littérature. Les données concernant les espèces de *Thermomonospora* sont celles de Kurup (1979), Mc Carthy et Cross (1984), Mc Carthy (1989) et Holt et al. (1994) [34, 23, 13, 27]..

CONCLUSION

Les études morphologique, chimique et physiologique (taxonomie numérique) nous ont permis de déterminer les espèces des 2 genres qui nous intéressent : *Saccharomonospora* et *Thermomonospora*.

Parmi les *Saccharomonospora*, *Sm. viridis*, *Sm. caesia* et éventuellement *Sm. glauca* ont été identifiées. Par contre, 4 clusters, représentent 4 taxons, sont différents, parfois très nettement, des espèces existantes.

Il faut cependant signaler les insuffisances constatées dans la taxonomie des *Saccharomonospora*, dans la littérature, ce qui rend intéressant la poursuite de l'étude de ces isolats par identification par analyse de séquence d'ARNr 16S. Les 4 isolats de *Thermomonospora* sont rattachés à l'espèce *Thm. alba*

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Mokrane S., Bouras N., Sabaou N. and Mathieu F. (2013). Actinomycetes from saline and non-saline soils of Saharan palm groves: Taxonomy, ecology and antagonistic properties. *African Journal of Microbiology Research*. 7(20), pp. 2167-2178, 14 May, 2013.
- [2]. Saadi S. A., Meklat A., Mokrane S., Yaiche-Achour H., Holtz M., Klenk H.-P., Bouras N. (2021). Isolation and characterization of a new *Saccharothrix* Strain AHO23 with antimicrobial activity from an unexploited Algerian Saharan region. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie Original Paper Tom. XXVIII, Issue: 1, 2021*, pp. 71.
- [3]. Meklat A., Bouras N., Mokrane S., Zitouni A., Djemouai N., Klenk H.-P., Sabaou N., and Mathieu F. (2020). Isolation, Classification and Antagonistic Properties of Alkalitolerant Actinobacteria from Algerian Saharan Soils. *Geomicrobiology Journal*, Taylor & Francis, 2020, 37 (9), pp.826-836.
- [4]. Bouti K., Boudjella H., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Sabaou N. (2019). Taxonomy and antimicrobial activity of *Streptosporangium* Strain SG163 isolated from Algerian Saharan Soils. *Lebanese Science Journal*, Vol. 20, No. 1, 2019.
- [5]. Benssaid N., Verheche-Vessen C. Bouras N., Meklat A. (2019). Taxonomy and antifungal activity of thermophilic strain NT-T1 of *Streptomyces* sp. Isolated from Saharan soil of Algeria. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie Original Paper Tom. XXIX, Issue: 2, 2022*, pp. 125-132.
- [6]. Amner W., Edwards C. and McCarthy A. J., (1989). Improved medium for recovery and enumeration of the farmer's lung organism *Saccharomonospora viridis*. *Appl. Environment. Microbiol.*, 55 (10), 2669-2674.
- [7]. McCarthy A. J., Cross T. (1981). A Note on a Selective Isolation Medium for the Thermophilic Actinomycete *Thermomonospora chromogena*. *J. Appl. Bacteriol.*, 51, 299-302.
- [8]. Laassami A., Yekkour A., Meklat A. Djemouai N., Zitouni A., Mokrane S., Lecomte P., Rey P., Berrqf-Tabbal A. (2020). Actinobacteria Associated with Vineyard Soils of Algeria: Classification, Antifungal Potential Against Grapevine Trunk Pathogens and Plant Growth-Promoting Features. *Curr Microbiol* 77, 2831–2840.
- [9]. Gordon R.E., Barnett D.A., Handarhan J.E. and Hor-Nay-Pang C. (1974). *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica* and the nocardin strains. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 24, 54-63.
- [10]. Nonomura H. and Ohara Y. 1971. Distribution of actinomycetes in soil. XI. Some new species of the genus *Actinomadura* Lechevalier and Lechevalier. *J. Ferment. Technol.*, 49, 904-912.
- [11]. Lacey J. et Cross T. 1989. Genus *Thermoactinomyces* Tsiklinsky 1899, 501AL. In : « *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* ». Vol. 4, pp. 2574-2585.
- [12]. Goodfellow M, Minnikin DE (1985). *Chemical Methods in Bacterial Systematics*. Academic Press, London.
- [13]. McCarthy A. J. (1989). Genus *Saccharomonospora* Nonomura et Ohara. In : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 4. Williams S. T., Sharpe M. E. and Holt J. G. (Eds). Williams and Wilkins Co., Baltimore, pp. 2402-2404.
- [14]. Sierra G., (1957). Simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 23, 15-22.
- [15]. Goodfellow M. (1971). Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 69, 33-90.
- [16]. Marchal N. et Bourdon J. (1973). *Milieux de culture et identification biochimique des bactéries*. Doin (Eds.), Paris.
- [17]. Gordon R.E. and Barnett D.A. (1977). Resistance to rifampicin and lysozyme of strains of some species of *Mycobacterium* and *Nocardia* as a taxonomic tool. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 27, 176-178.
- [18]. Shirling B. and Gottlieb D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 16, 3313-3340.
- [19]. 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. *Magister de Microbiologie, E.N.S. de Kouba*. 177 p.
- [20]. 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.
- [21]. Ludwig W., Euzéby J., William W.B. (1989). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology - Vol. 4. The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes* (Eds.). Williams and Wilkins Co., Baltimore, p. 2648.
- [22]. Kurup V.P. (1981a). Thermophilic actinomycetes associated with hypersensitivity pneumonitis. *Science. Ciencia*, 8 (2), 5-10.
- [23]. McCarthy A. J. AND Cross T., (1984). A Taxonomic Study of *Thermomonospora* and Other Monosporic Actinomycetes. *J. Gen. Microbiol.* 130, 5-25.
- [24]. Greiner-Maie E., Wendisch F. K. and Kutzner H. J. (1988). Taxonomic revision of the genus *Saccharomonospora* and description of *Saccharomonospora glauca* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 38, 398-405.
- [25]. Runmao H., (1987). *Saccharomonospora azurea* sp. Nov., a new spice from soil. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 37, 60-61.
- [26]. Runmao H., Lin C and Guzhen W. (1988). *Saccharomonospora cyanea* sp. Nov., a new spice from soil. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 38, 444-446.
- [27]. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T. and Williams S.T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Ninth Edition. Williams and Wilkins editors, Baltimore, p. 787.
- [28]. Ruan J. S., Lang Y., Shi Y., Qu L. and Yu X., (1994). Chemical and molecular classification of *Saccharomonospora* strains. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44, 704-707.

- [29]. Kim S.B., Yoon J.H., Kim H., Lee S.T., Park Y.H., Goodfellow M. (1995). A phylogenetic analysis of the genus *Saccharomonospora* conducted with 16S rRNA gene sequences. *Int J Syst Bacteriol.* **45**(2),351-6.
- [30]. Kurup V.P., Fink J.N. (1975). A scheme for the identification of thermophilic actinomycetes associated with hypersensitivity pneumonitis. *J Clin Microbiol.* **2** (1),55-61.
- [31]. Kurup, V. P. (1981b). Taxonomic study of some members of *Micropolyspora* and *Saccharomonospora*. *Microbiology* **4**, 249-259.
- [32]. Goodfellow M. and Pirouz T. (1982). Numerical classification of sporoactinomycetes containing mesodiaminopimelic acid in the cell wall. *J. Gen. Microbiol.*, **128**, 503-527.
- [33]. Gary E. Hollick, Viswanath P. (1983). Isolation and Identification of Thermophilic Actinomycetes Associated with Hypersensitivity Pneumonitis, *Laboratory Medicine.*, 14 (1), 39-44.
- [34]. Kurup V.P. (1979). Characterization of some members of the genus *Thermomonospora*. *Current Microbiology* **2**, 267-272.