

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Ghardaïa



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

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

En : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

**Par: BOURAS Soumia
FARTAS Sihem**

Thème

Etude de comparaison chimiotaxonomique (à la base de coefficient de Jaccard) et moléculaire du genre *Actinoalloteichus*

Soutenu publiquement, le 13/ 06 /2021
Devant le jury composé de :

M. IDER Soufian	MCB	Univ. de Ghardaïa	Président
M^{me}. DJEMOUAI Nadjette	MAA	Univ. de Ghardaïa	Examinatrice
M. BOURAS Nouredine	Professeur	Univ. de Ghardaïa	Promoteur

Année universitaire: 2020/2021

REMERCIEMENTS

Nos remerciements tout d'abord le bon Dieu qui nous a donné le courage et la patience pour terminer ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à Monsieur le Professeur Noureddine BOURAS de l'université de Ghardaïa d'avoir accepté de diriger ce travail, et pour son aide très précieuse ainsi que pour ses orientations et ses observations enrichissantes ainsi que pour ses nombreux conseils et son soutien tout au long de ce mémoire.

Nous voudrions également exprimer toutes mes gratitude et mes remerciements aux membres du jury qui nous ont honorés en acceptant d'examiner ce travail.

A monsieur Soufian IDER Maitre de conférences B pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.

A madame Nadjette DJEMOUAI, Maitre assistante A d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Enfin toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace



Je dédie ce travail



A mon cher père

A ma chère mère

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.

A mes chers grand-pères

A mes chères grand-mères

Qui je souhaite une bonne santé

Que dieu les protège et leurs donne une longue vie.

A ma chère sœur **Nassima**

A mon cher frère **Yacine**

Pour leurs soutiens moraux et leurs conseils tout au long de mes études.

A ma chère enseignante **Mme. Hamida LAGHOUTER**

Qu'elle m'apprit les premières lettres

Pour son amour et son encouragement

A ma chère binôme **Soumia**

Pour son entente et sa sympathie

A mes chères amies **Hana, Hafida, Ihssane, Zoulikha, Soumia, wissame, Soumia**, Qui
m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite
plus de succès

A toute ma famille

Source d'espoir et de motivation

A vous chers lecteurs

Sihem



Dédicace

Je dédie ce mémoire

Spécialement à mes très chers parents

Les personnes les plus dignes de mon estime et de mon respect.

Ma mère, pour son affection, ses encouragements et ses sacrifices.

Mon père, l'épaule solide pour son soutien, sa patience et la confiance qu'il m'a accordé.

Que Dieu les préserve et les procure santé et longue vie

À Ma grand-mère, mon grand trésor

À Mes sœurs merveilleuses : Aicha, Khadidja, Amina et Zineb

À mon cher frère : Mohammed

Source de joie et de bonheur

À tous mes enseignants de mon parcours scolaire

À mon amie et chère binôme : Sihem, qui m'a partagé les moments difficiles et pour tout ce qu'elle a fait pour la réussite de ce mémoire.

À mon amie Nabila

À tous mes collègues de ma vie scolaire

du primaire jusqu'à l'université particulièrement

Soumia, Zoulikha, Hafida, Hssène, Aicha et Fouzia

À toute ma famille, source de ma fierté.

Soumia

ملخص

تم إجراء دراسة كيميائية- تصنيفية (بناءً على معامل *Jaccard*) ودراسة جزيئية على 6 أنواع من البكتيريا الهيفية التي تنتمي إلى جنس *Actinoalloteichus*، وهي على التوالي: *A. cyanogriseus*, *A. spitiensis*, *A. hymeniacidonis*, *A. nanshanensis*, *A. hoggarensis* و *A. fjordicus*.

الهدف من هذه الدراسة هو استنتاج المسافات التطورية بين الأنواع المعينة بفضل الدراسة التصنيفية الكيميائية من ناحية، و الدراسة الجزيئية من ناحية أخرى، إذ تم إجراء مقارنة بين الدراستين، والتي سمحت بشكل أساسي بتحديد النوع الأكثر تشابهاً للنوع *A. hoggarensis* من بين الأنواع المدروسة والتي تشترك مع هذه الأخيرة بنسبة كبيرة من التشابه.

تم إجراء التحليل باستخدام مؤشر *Jaccard* الإحصائي، باستخدام البيانات التي تم الحصول عليها من التحليل الكيميائي للتركيب الخلوي للأنواع أثناء الدراسة الكيميائية. و أثناء الدراسة الجزيئية باستعمال خوارزميات المعلوماتية الحيوية القادرة على محاذاة تسلسل النوكليوتيدات من أجل إبراز أوجه التشابه بين الأنواع.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من كلا الدراستين أن النوع *A. fjordicus* هو أقرب الأنواع إلى *A. hoggarensis* وهذا يعني أن الدراسة الكيميائية التصنيفية لا تتناقض مع الدراسة الجزيئية بل تؤكدها.

الكلمات المفتاحية: *Actinoalloteichus*، الدراسة التصنيفية الكيميائية، مؤشر *Jaccard*، التشابه، *A. hoggarensis*

Résumé

Une étude chimiotaxonomique (à la base du coefficient de *Jaccard*), et moléculaire, a été réalisée sur 6 espèces d'actinobactéries appartenant au genre *Actinoalloteichus* (*A. cyanogriseus*, *A. spitiensis*, *A. hymeniacidonis*, *A. nanshanensis*, *A. hoggarensis* et *A. fjordicus*).

L'objectif de cette étude est de déduire les distances évolutives entre les espèces désignées, grâce à une approche chimiotaxonomique d'une part, et moléculaire d'autre part, une comparaison entre les deux études aura lieu, et permet principalement de déterminer parmi les espèces étudiées l'espèce la plus proche à *Actinoalloteichus hoggarensis*, c'est celle qui partage avec cette dernière le degré le plus élevé de similarité.

L'analyse a été réalisée par l'utilisation d'un indice statistique de *Jaccard*, en exploitant les données issues d'une analyse chimique de la composition cellulaire des espèces lors de l'étude chimiotaxonomique et à l'aide des logiciels spécialisés, lors de l'étude moléculaire, reposant sur des algorithmes de la bioinformatique capables d'effectuer des alignements des séquences nucléotidiques afin de mettre en évidence les ressemblances entre les espèces.

Les résultats obtenus par les deux études montrent que l'espèce *A. fjordicus* est l'espèce la plus proche à *A. hoggarensis*. Ce qui assure que l'étude chimiotaxonomique n'est pas en contradiction avec l'étude moléculaire mais elle l'a renforcée.

Mots clés : *Actinoalloteichus*, chimiotaxonomie, indice de *Jaccard*, similarité, *A. hoggarensis*

Abstract

A chemotaxonomic (based on *Jaccard's* coefficient) and molecular study was carried out on 6 species of *Actinobacteria* belonging to the genus of *Actinoalloteichus* (*A. cyanogriseus*, *A. spitiensis*, *A. hymeniacidonis*, *A. nanshanensis*, *A. hoggarensis* and *A. fjordicus*).

The objective of this study is to deduce the evolutionary distances between the designated species by using a chemotaxonomic approach on the one hand, and a molecular approach on the other hand, a comparison between the both studies were carried out, and mainly allows to determine among the species studied the closest species to *Actinoalloteichus hoggarensis*, it is the one which shares with the latter the highest degree of similarity.

The analysis was carried out by using the *Jaccard* statistical index calculated manually, using the data obtained from the chemical analysis of the cellular composition of the species during the chemotaxonomic study and using specialized software with the molecular study was based on algorithms of bioinformatics able to carry out alignments of the nucleotide sequences in order to highlight the similarities between the species.

The results obtained from both studies showd that *A. fjordicus* is the closest species to *A. hoggarensis*. This ensures that the chemotaxonomic study does not constrain with the molecular study but it did strengthen it.

Key words: *Actinoalloteichus*, chemotaxonomy, *Jaccard* index, similarity, *A. hoggarensis*.

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Table de matières

Chapitre I : Revue bibliographique	2
I.1. TAXONOMIE DES ACTINOBACTERIES	2
I.1.1 Taxonomie générale des actinobactéries.....	2
I.1.1.2 Définition	2
I.1.2. Critères d'identification des genres.....	3
I.1.3. Critères d'identification des espèces	9
II. ECOLOGIE DES ACTINOBACTERIES	11
II.1. Distribution générale des actinobactéries	11
II.1.1. Environnement terrestre.....	12
II.1.2. Environnement aquatique	12
II.1.3. Air.....	13
II.1.4. Composts	13
III. GENRE <i>ACTINOALLOTEICHUS</i>	14
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	15
II.1. Espèces étudiées	15
II.2. Etude chimiotaxonomique	16
II.2.1. Mesure de similarité	16
II.2.2. Indice de <i>Jaccard</i>	16
II.2.3. PAST3 (PAleontological STatistics 3)	17
II.2.4. MEGA 4 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis 4).....	18
II.3. Etude moléculaire	20

II.3.1. EzTaxon	20
Chapitre III : Résultats et discussion	Erreur ! Signet non défini.
III.1. Etude chimiotaxonomique	23
III.1.1. Sucres	23
III.1.2. Acides aminés	24
III.1.3. Ménaquinones	25
III.1.4. Phospholipides	27
III.1.5. Acides gras	28
III.2. Résultats de calculs de similarité (à la base de coefficient de Jaccard)	36
III.3. Etude moléculaire	37

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

Acide LL-DAP : acide LL- diamino-pémilique.

Acide *méso*-DAP : acide méso-diamino-pémilique (= DL-DAP).

ADN : acide désoxyribose nucléique.

ARNr : acide ribonucléique ribosomique.

Blast : *Basic Local Alignment Search Tool*.

FASTA : *FAST-All*.

MEGA 4: *Molecular Evolutionary Genetics Analysis*.

NCBI: *National Center of Biotechnology Information*.

PAST3: *PAleontological STatistics3*.

PCR: *Polymerase Chain Reaction*.

Liste des tableaux

Tableau 1: Les cinq chimiotypes des sucres chez les actinobactéries.....	5
Tableau 2: Les chimiotypes des acides amines chez les actinobactéries	6
Tableau 3: Profils phospholipidiques présents chez les actinobactéries.....	7
Tableau 4: Profils d'acides gras chez les actinobactéries.	7
Tableau 5. Types des ménaquinones retrouvés chez les <i>Actinomycetales</i>	8
Tableau 6: Les habitats de certains genres d'actinobactéries	14
Tableau 7: Sucres caractéristiques de la paroi des espèces d' <i>Actinoallotheicus</i>	23
Tableau 8: Acides amines caractéristiques de la paroi des espèces d' <i>Actinoalloteichus</i>	24
Tableau 9: Les ménaquinone caractéristiques de la composition cellulaire (en %) des espèces d' <i>Actinoalloteichus</i>	25
Tableau 10: Les ménaquinones caractéristiques de la composition cellulaire des espèces d' <i>Actinoalloteichus</i> (présence/absence).....	26
Tableau 11: Phospholipides caractéristiques de la membrane des six espèces.....	27
Tableau 12: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire (en %) des espèces étudiées.....	28
Tableau 13 : Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire (en %) des espèces étudiées (suite).....	29
Tableau 14: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (suite).....	30
Tableau 15: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (suite).....	31
Tableau 16: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (présence/absence).	32
Tableau 17: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (présence/absence).	33
Tableau 18: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (présence/absence).	34
Tableau 19: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (présence/absence).	35
Tableau 20: Pourcentages de similarité obtenus par l'indice de <i>Jaccard</i>	36

Tableau 21: Le degré de similarité entre <i>A. hoggarensis</i> et les autres espèces d' <i>Actinoalloteichus</i>	38
Tableau 22: Comparaison de similarité entre l'étude chimiotaxonomique et l'étude moléculaire.....	39

Liste des figures

Figure 1: Micromorphologie de quelques genres d'actinobactéries. -----	5
Figure 2: Structure chimique de ménaquinones. -----	8
Figure 3: Acides mycoliques. -----	9
Figure 4: Différents écosystèmes des actinobactéries. -----	13
Figure 5: Logiciel Past3. -----	17
Figure 6: Logiciel MEGA 4. -----	18
Figure 7: Base de données NCBI. -----	18
Figure 8: Les séquences nucléotidiques avant l'alignement. -----	19
Figure 9: Utilisation du MEGA 4 (alignement des séquences par clustal W). -----	19
Figure 10: La base de données eztaxon. -----	20
Figure 11: La séquence et son nom. -----	21
Figure 12: Copier-coller la séquence (à partir du site NCBI). -----	21
Figure 13: Résultat d'identification.. -----	22
Figure 14: Dendrogramme de classification ascendante hiérarchique (cah) représentant les distances évolutives entre les espèces d' <i>Actinoalloteichus</i> (à la base d'indice de <i>Jaccard</i>) en fonction des caractères chimiotaxonomiques (présence/absence). -----	36
Figure 15: Séquences nucléotidiques après l'alignement des séquences d'arnr 16S de six espèces d' <i>Actinoalloteichus</i> (par le logiciel MEGA 4). -----	37
Figure 16: Dendrogramme représentant les distances évolutives entre les espèces par l'utilisation d'EzTaxon. -----	38



INTRODUCTION

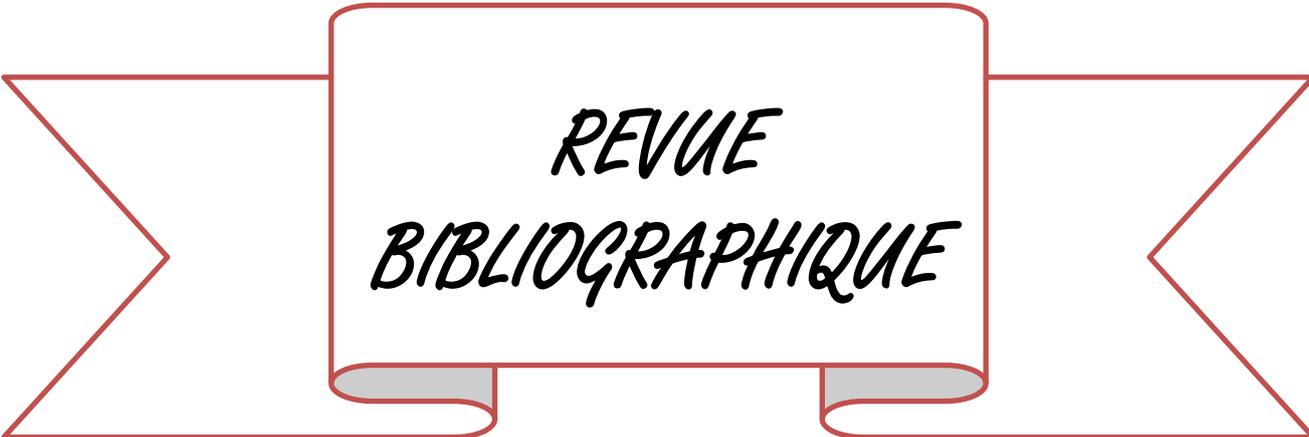
Introduction

Depuis environ 2700 millions d'années, les actinobactéries sont présentes dans la nature; et aujourd'hui, elles sont considérées comme des cosmopolites, distribuées dans tous les écosystèmes de la planète Terre (Lewin *et al.*, 2016), sachant que le type d'espèce présentée dans le sol peut être influencé par la température et l'oxygène.

Les actinobactéries constituent actuellement la source la plus importante pour la production des métabolites secondaires bioactives, tels que les agents antitumoraux, les antifongiques, les antibiotiques, les enzymes, etc., qui ont une grande nécessité pharmaceutique, médicale, alimentaire, etc. (Boudjelal, 2012).

Les actinobactéries sont des micro-organismes filamenteux saprophytes, à Gram positif, caractérisées par une croissance mycélienne, avec un teneur élevé de G+C, elles sont présentes dans plusieurs et différents habitats extrêmes : éponges marines, régions chaudes, sols, eaux douces, sédiments des grands fonds, compost et rhizosphère, cette dernière est la meilleure source d'isolement des actinobactéries (Anandan *et al.*, 2016). Elles contribuent à la dégradation de la matière organique, à la formation d'humus, ainsi qu'au nettoyage de l'environnement en collaboration avec les autres bactéries et les champignons et, ce qui illustre leur fonction écologique (www.universalis.fr).

L'objectif de ce travail est de faire une comparaison chimiotaxonomique (basée sur l'indice de *Jaccard*) et moléculaire entre les six espèces du genre *Actinoalloteichus* et montrer la similarité par une construction des dendrogrammes afin d'ordonner ces espèces du plus semblable au plus éloigné à *Actinoalloteichus hoggarensis*, une espèce signalée pour la première fois en Algérie (Boudjelal *et al.*, 2015). L'intérêt de cette comparaison est de savoir si l'étude taxonomique (relativement simple) peut remplacer l'étude moléculaire (généralement, plus compliquée) pour déterminer l'espèce (ou les espèces) le (ou les) plus proche(s) par rapport à une espèce déterminée (*Actinoalloteichus hoggarensis* dans cette étude).



*REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE*

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. TAXONOMIE DES ACTINOBACTERIES

I.1.1 Définition

Actinobacteria fait un principal phylum parmi les lignées existant dans le domaine bactérien (Ait Barka *et al.*, 2016), elles sont des Gram positif, à un taux élevé de guanine + cytosine (G+C), ce sont des organismes qui se caractérisent par un mycélium (Anandan *et al.*, 2016), de nombreux métabolites secondaires sont produits par ce type de bactéries, tels que les antibiotiques, les molécules antifongiques et anticancéreuses.

La majorité des actinobactéries sont appelées également actinomycètes, parce qu'ils sont caractérisés par certains caractères de champignons tel que le mycélium qui est sous forme stable ou fragmentaire et présentent des filaments ramifiés (Dgigal, 2003).

I.1.1.2 Taxonomie générale des actinobactéries

Les actinobactéries appartiennent à l'ordre des *Actinomycetales* (Mariat et Sebald, 1990). Le phylum *Actinobacteria*, comprend 5 classes, 21 ordres, 49 familles et plus de 210 genres (Manuel de Bergey, 2012).

À ce jour, il existe 6 espèces qui appartiennent au genre *Actinoalloteichus*, prenant un exemple où on peut établir cette classification :

Domaine : *Bacteria* (Bactéries)

Phylum : *Actinobacteria* (Actinobactéries)

Classe : *Actinobacteria* (Actinobactéries)

Sous-classe : *Actinobacteridae*

Ordre : *Actinomycetales* (Actinomycétales)

Sous-ordre : *Pseudonocardineae* (Pseudonocardineae)

Famille : *Pseudonocardiaceae* (Pseudonocardiacées)

Genre : *Actinoalloteichus*

Espèce : *Actinoalloteichus hoggarensis* (Boudjelal *et al.*, 2015).

I.1.2. Critères d'identification des genres

L'identification des actinobactéries est basée sur des différents critères afin de les classer, notamment les critères morphologiques, chimiques (chimiotaxonomiques) et moléculaires.

I.1.2.1. Critères morphologiques

Les études de classification des actinobactéries sont basées premièrement sur la morphologie qui est essentielle pour décrire les genres, et on distingue des critères macromorphologiques et micromorphologiques (Meklat, 2012).

I.1.2.1.1. Caractéristiques macromorphologiques

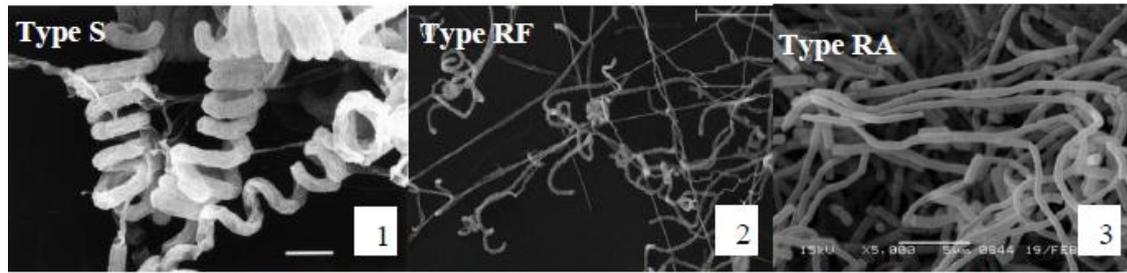
Des caractéristiques observées à l'œil nu sont considérées pour identifier quelques genres des actinobactéries, on mentionne :

- Production ou non d'un mycélium aérien (MA) et son couleur.
- Couleur, présence ou absence du mycélium du substrat (MS).
- Détermination des pigments diffusibles dans les milieux de cultures.
- Détermination des pigments mélanoïdes.

I.1.2.1.2. Caractéristiques micromorphologiques

Selon Meklat (2012), les caractéristiques observées par le microscope optique ou électronique (à balayage ou en transmission) sont :

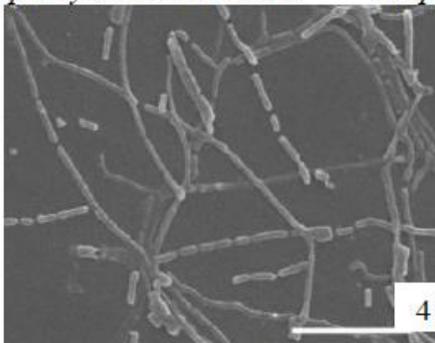
- Fragmentation du MS et/ou du MA ou non.
- Formation ou non des spores sur MS et/ou sur MA.
- Mobilité des spores (*Actinoplanes*, etc.) ou non (*Actinomadura*, etc.).
- Agencement des spores peut être : isolées, par deux, par quatre ou en chaînes.
- Forme et taille des spores.
- Ornementation des spores (lisses, épineuses, etc.).
- Formation des sporanges sur le MS et/ou sur le MA, la longueur, la forme, la taille, le nombre des spores par sporange.



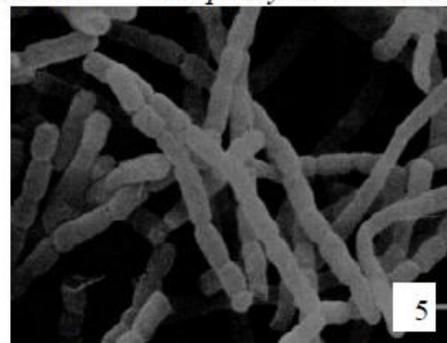
Streptomyces avermectinius

Streptomyces aomiensis

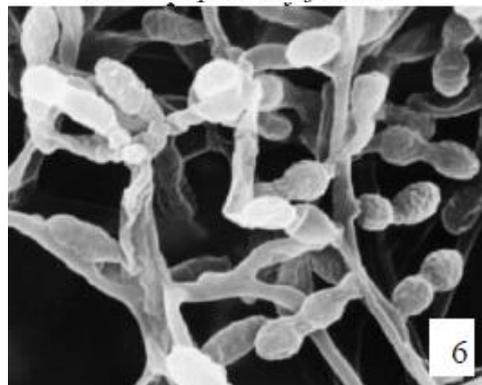
Streptomyces xiamenensis



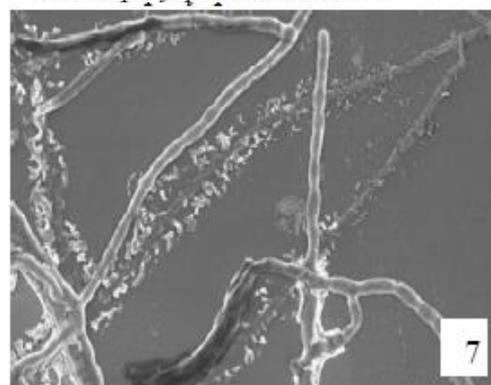
Nocardioopsis valliformis



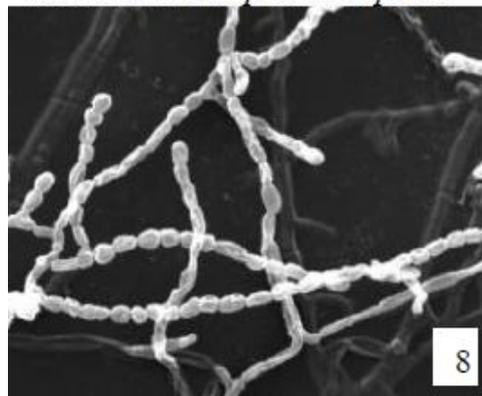
Actinopolyspora mortivallis



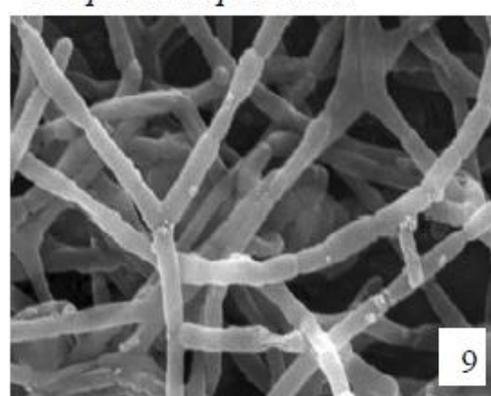
Saccharomonospora halophila



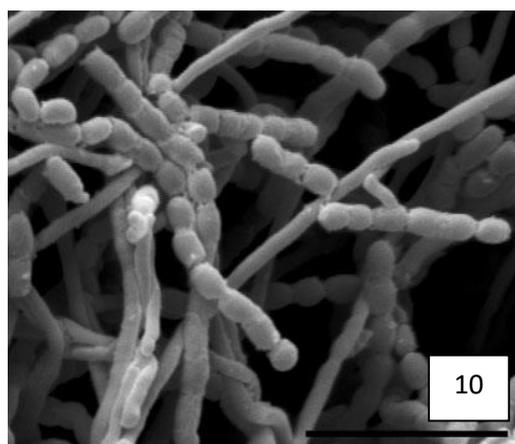
Streptomonospora alba



Saccharopolyspora qijiaojingensis



Prauserella halophila



Actinoalloteichus hymeniacidonis

Figure 1: Micromorphologie de quelques genres d'actinobactéries.

Micrographies selon Takahashi *et al.*, 2002 (1), Nagai *et al.*, 2010 (2), Xu *et al.*, 2009 (3), Yang *et al.*, 2008 (4), Yoshid *et al.*, 1991 (5), Al-Zarban *et al.*, 2002 (6), Li *et al.*, 2003a (7), Tang *et al.*, 2009 (8), Li *et al.*, 2003b (9) et Zhang *et al.*, 2006 (10).

I.1.2.2. Chimiotaxonomie (critères chimiques)

Chez certains genres d'actinobactéries, les critères morphologiques sont insuffisants pour faire l'identification, où il est nécessaire de les combiner avec des critères chimiques qui reflètent la composition de la paroi bactérienne et de la membrane plasmique en sucres, acides aminés, ménaquinones, phospholipides, acides gras et acides mycoliques.

L'analyse de ces constituants se fait après une lyse cellulaire par plusieurs méthodes chimiques comme par exemple, une méthanolyse, une hydrolyse acide, etc. (Zitouni, 2005)

I.1.2.2.1. Sucres

L'étude chimiotaxonomique de la paroi cellulaire, a montré la présence de cinq groupes caractéristiques, les sucres trouvés sont considérés comme des marqueurs afin de classer les actinobactéries (Lechevalier et Lechevalier, 1970; Labeda et Lechevalier, 1989; Stackebrandt *et al.*, 1994).

Tableau 1: Les cinq chimiotypes des sucres chez les actinobactéries (Lechevalier et Lechevalier, 1970; Labeda et Lechevalier, 1989; Stackebrandt *et al.*, 1994).

Sucres	Exemple
Arabinose-galactose (Groupe A)	<i>Nocardia</i>
Madurose (Groupe B)	<i>Actinomadura</i>
Xylose-arabinose (Groupe D)	<i>Actinoplanes</i>
Rhamnose-galactose (Groupe E)	<i>Actinoalloteichus</i>
Absence de sucres caractéristiques (pas d'arabinose, xylose, rhamnose et madurose) (Groupe C)	<i>Streptomyces</i>

I.1.2.2.2. Acides aminés

La paroi cellulaire des actinobactéries constitue de différents acides aminés, et spécialement l'isomère de l'acide diaminopimélique (DAP), LL ou DL (*méso*), et souvent la glycine. Cette analyse des acides aminés et des sucres permet de distinguer différents chimiotypes d'actinobactéries (Meklat, 2012) qui sont :

Tableau 2: Les chimiotypes des acides aminés chez les actinobactéries (Larpent, 2000).

Type	Acides aminés	Exemple
Type I C	LL DAP + glycine et absence de sucres importants	<i>Streptomyces</i>
Type II D	arabinose + xylose + DL DAP + glycine	<i>Micromonospora</i>
Type III B	madurose + DL DAP	<i>Actinomadura</i>
Type III C	DL DAP et absence de sucres	<i>Nocardopsis</i>
Type III E	rhamnose + galactose + DL DAP	<i>Actinoalloteichus</i>
Type IV A	arabinose + galactose + DL DAP	<i>Nocardia</i>
Type V	ornithine + lysine	<i>Actinomyces</i>
Type VI	lysine	<i>Oerskovia</i>
Type VII	acide diaminobutyrique + glycine (lysine variablement présente)	<i>Agromyces</i>
Type VIII	ornithine	<i>Cellulomonas</i>

I.1.2.2.3. Lipides membranaires

Outre l'étude analytique des sucres et des acides aminés, il est nécessaire de faire une analyse de la membrane plasmique afin de déterminer les lipides caractéristiques tels que les phospholipides (lipides polaires), les acides gras et les ménaquinones. Cela nous permet de décrire et d'identifier les différents genres d'actinobactéries.

I.1.2.2.3.1. Phospholipides

L'analyse des membranes cellulaires a montré la présence des lipides polaires : phosphatidylcholine, phosphatidyléthanolamine, phosphatidyl contenant glucosamine et phosphatidylglycérol qui permet de distinguer cinq profils phospholipidiques (Lechevalier *et al.*, 1977). Ces profils sont présentés dans le tableau 3 ci-dessous :

Tableau 3: Profils phospholipidiques présents chez les actinobactéries (Lechevalier *et al.*, 1977).

Types de phospholipides	PC	PE	PCG	PG	Exemples
PI	–	–	–	v	<i>Actinomadura, Spirullospora,</i>
PII	–	+	–	–	<i>Streptomyces, Pseudonocardia,</i>
PIII	+	–	–	v	<i>Actinopolyspora,</i>
PIV	–	+	+	–	<i>Amicolatopsis,</i>
PV	–	–	+	+	<i>Nonomuraea, Prauserella</i>

PC : Phosphatidylcholine; **PE** : Phosphatidyléthanamine; **PCG** : Phosphatidyl contenant glucosamine; **PG** : Phosphatidylglycérol.

+ : présent ; – : absent ; v : variable.

I.1.2.2.3.2. Acides gras

La composition en acides gras dépend de plusieurs facteurs comme la température, le pH, la phase de croissance, la composition du milieu de culture et la concentration en sel (Smith *et al.*, 1980).

On distingue deux groupes des acides gras l'un comporte de 20 à 90 atomes de carbone qui présente les acides mycoliques qui caractérisent les genres : *Nocardia*, *Mycobacterium* et *Rhodococcus* (Larpent et Larpent Gourgaud, 1985) et l'autre comporte 12 à 20 atomes de carbone, saturées ou non (Meklat, 2012).

Les principaux profils d'acides gras sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4: Profils d'acides gras chez les actinobactéries (Kroppenstedt et Eventushenko, 2006).

Genres	Type	Iso-15:0	Anté-iso-15:0	Iso-16:0	16:0	10-Méthyle 16:0	Iso-17:0	Anté-iso-17:0	17:0	17:1	10-Méthyle 17:0	Iso-18:0	18:0	18:1	10-Méthyle 18:0	2-OH	Cyclo 19:0
<i>Corynebacterium</i>	1a	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	+	+++	-	-	-
<i>Nocardia</i>	1b	-	-	-	+++	++	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	-	-
<i>Actinomyces</i>	1c	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	+	++	-	-	++
<i>Saccharomonospora</i>	2a	+	-	+++	++	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	++	-
<i>Thermoactinomyces</i>	2b	+++	++	++	+	-	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Streptomyces</i>	2c	++	+++	+++	+	-	+	++	-	-	-	-	-	-	-	V	-
<i>Actinoplanes</i>	2d	+++	++	++++	++	-	++	-	+	+	-	+	+	++	-	-	-
<i>Actinomadura</i>	3a	-	-	++	+++	+	-	+	+	+	+	+	+	++	-	-	-
<i>Micromonospora</i>	3b	++++	+	++	-	-	++	++	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Microtetraspora</i>	3c	++	+	+++	+	+	+	+	++	++	++	+	+	-	-	-	-
<i>Nocardioopsis</i>	3d	+	+	+++	+	-	+	+++	+	+	++	+	+	++	-	-	-
<i>Pseudonocardia</i>	3 ^e	++	-	++++	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Amycolatopsis</i>	3f	++	+	++++	+	-	+	+	++	++	+	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharothrix</i>	3g	++	+	++++	+	-	+	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Symboles: +, représente 1-5% du total des acides gras; ++, représente 5-10% du total des acides gras; +++, 15-20% du total des acides gras; +++++, 25% du total des acides gras; -, absent et (v), variable, généralement moins de 2% pour un composant.

Type 1, dominance d'acides gras non ramifiés saturés et insaturés; type 2, dominance d'acides gras ramifiés iso/antéiso; type 3, dominance d'acides gras ramifiés iso/antéiso et d'acides gras ramifiés et méthylés.

I.1.2.2.3.3. Ménaquinones

Ce sont des lipides membranaires solubles constitués d'un noyau naphtoquinone méthylé (2-méthyl-1-4- naphtoquinone) et d'une chaîne carbonée aliphatique contenant des unités isoprènes. Deux critères de classification sont considérés : nombres d'unités d'isoprène et le degré d'hydrogénation (Meklat, 2012).

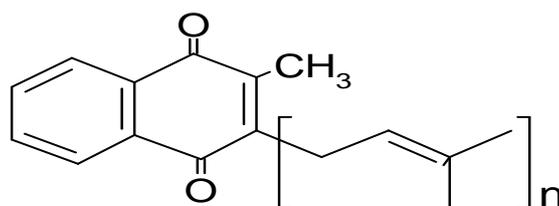


Figure 2: Structure chimique de ménaquinones.

Selon Kroppenstedt (1985) il existe plusieurs types de ménaquinones (tableau 5).

Tableau 5. Types des ménaquinones retrouvés chez les *Actinomycetales* (Kroppenstedt, 1985).

Type	Description	Principaux ménaquinones	Genres
1a	Absence d'unités isoprènes hydrogénées	MK-7	<i>Thermoactinomyces</i>
1b		MK-9	<i>Gordona</i>
2a	Présence d'un seul type de ménaquinones souvent dihydrogénées ou tétrahydrogénées avec 8 ou 9 unités isoprènes	MK-8(H ₂)	<i>Rhodococcus</i>
2b		MK-8(H ₄)	<i>Nocardia</i>
2c		MK-9(H ₂)	<i>Mycobacterium</i>
2d		MK-9(H ₄)	<i>Geodermatophilus</i>
3a	Présence de ménaquinones tétrahydrogénées	MK-8(H ₄), MK-9(H ₄)	<i>Saccharomonospora</i>
3b		MK-9(H ₄), MK-10(H ₄)	<i>Actinoplanes</i>
4a	Présence de ménaquinones ayant la même longueur mais avec des degrés de saturation différents	MK-9(H ₂), MK-9(H ₄), MK-9(H ₆)	<i>Microtetraspora</i>
4b		MK-9(H ₄), MK-9(H ₆), MK-9(H ₈)	<i>Streptomyces</i>
4c		MK-10(H ₄), MK-10(H ₆)	<i>Nocardiopsis</i>

I.1.2.2.3.4. Acides mycoliques

Les acides mycoliques caractérisent les actinobactéries qui possèdent le chimiotype IV A, ce sont des molécules contenant les acides gras à longue chaîne aliphatique qui se trouve dans les parois cellulaires des actinobactéries (Mordarska *et al.*, 1972).

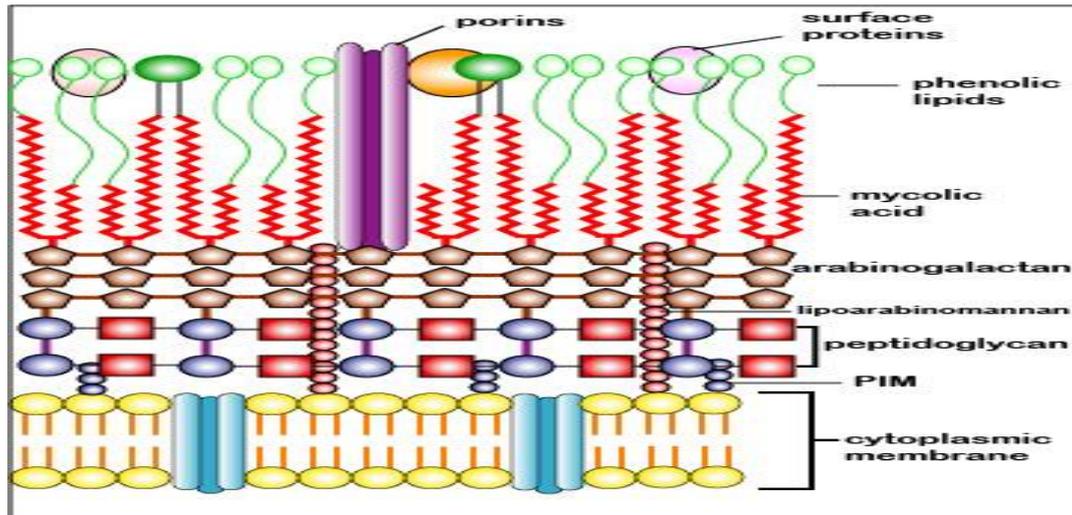


Figure 3: Acides mycoliques (www.faculty.ccbcmd.edu).

I.1.3. Critères d'identification des espèces

En basant sur des critères physiologiques, biochimiques et moléculaires, il est possible d'identifier les différentes espèces bactériennes.

I.1.3.1. Critères physiologiques et taxonomie numérique

I.1.3.1.1. Critères physiologiques

Dans le but de différencier les espèces de même genre, des études physiologiques ont été réalisées concernant la dégradation ou non des molécules particulières de nature glucidiques, protéiques, lipidiques et stéroïdiennes, etc. (Meklat, 2012). Les tests réalisés reposent sur plusieurs caractères physiques tel que la température et le pH, et chimiques comme le degré de résistance à la salinité, ainsi que la résistance aux antibiotiques.

I.1.3.1.2. Taxonomie numérique

Une méthode de comparaison entre différentes espèces ayants plusieurs caractères phénotypiques (physiologiques et biochimiques). L'analyse est basée sur le degré de similitude (similarité) entre les souches ou les espèces bactériennes où l'apparition de caractère s'exprime par (1 : présence) et/ou (0 : absence). Les résultats obtenus sont traités par des logiciels informatisés développés fait utiliser des coefficients (de *Jaccard*, de *Sokal et Michener*, etc.), et traduits en dendrogrammes (un arrangement de groupes générés par un regroupement hiérarchique). Généralement, lorsque le degré de similarité est supérieur à 80%, dans ce cas les taxons sont considérés comme étant de la même espèce.

Outre les études chimiotaxonomiques et moléculaires, la taxonomie numérique joue un rôle important pour une identification plus précise des espèces (Meklat, 2012).

I.1.3.2. Critères moléculaires

Le développement de la biologie moléculaire contribue à la création des nouvelles techniques reposant sur la manipulation des gènes au niveau des acides nucléiques, dans le but de classer et d'identifier les genres et les espèces bactériennes comme les actinobactéries. Plusieurs méthodes moléculaires fondamentales ont été réalisées, tel que le séquençage de gène qui code pour l'ARN ribosomique (ARNr 16S), ainsi que la technique de l'hybridation ADN-ADN. Cependant, en cas de création des nouveaux genres, il est indispensable de déterminer le pourcentage G+C (Boudjelal, 2012).

Les critères moléculaires permettent de réaliser une taxonomie plus fiable, pouvant même dans certains cas de corriger une taxonomie donnée en basant uniquement sur des critères morphologiques, physiologiques et chimiques (Meklat, 2012).

I.1.3.2.1. Etude de l'ARN ribosomique (ARNr 16S)

La méthode de séquençage du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S connu par ADNr 16S (possède environ 1500 paires de bases), qui a été introduite dans la taxonomie des actinobactéries (Stacketbrand *et al.*, 1981 et 1983), est une méthode caractérisée par l'efficacité, en donnant d'une manière fiable la position taxonomique entre les espèces, et la rapidité lors du traitement des résultats, en effet, l'analyse fait utilisée deux moyens : l'amplification par une technique appelée PCR (*Polymerase Chain Reaction*), à l'aide d'une enzyme appelée ADN polymérase (*Taq* polymérase) et le séquençage.

Au niveau des banques génomiques sur le web, une comparaison sera réalisée entre les séquences valides des espèces-types qui servent comme des références et les séquences des espèces lesquelles la recherche se fait afin de les mettre dans la position taxonomique adéquate.

Des programmes sont exploités qui se reposent sur des calculs générant des résultats sur l'analyse réalisée, en utilisant différents techniques de traitement (techniques de bioinformatique), tel que la conversion entre les différents formats des fichiers des séquences, utilisation des outils de l'inversion des séquences, des outils d'alignement (simple et multiple).

Les logiciels informatisés sont dotés d'une haute fiabilité et performance, en citant par exemple : Clustal W, Philip, Blast, etc., tout en assurant une comparaison avec les banques génomiques, ainsi que des autres traitements cités (Boudjelal, 2012).

Parmi les méthodes utilisées pour faire une étude phylogénétique, il y a :

- Bootstrap : repose sur des statistiques afin de valider les liens phylogéniques établis.
- Jukes et Cantor : consiste à calculer les matrices de distance d'évolution.

Du fait que les extrémités de l'ARNr 16S sont identiques chez toutes les espèces et que la séquence est spécifique à chaque espèce, cela présente un avantage pour faire une comparaison entre les souches ou les espèces bactériennes et déduire leur appartenance à un genre ou à une espèce bien déterminée, où les souches sont regroupées au sein d'une même espèce si le degré de similitude est supérieur de 97%. En revanche, si celui-ci est inférieur ou égale à 97%, dans ce cas les espèces sont considérées comme étant différent (Boudjelal, 2012).

I.1.3.2.2. Détermination du pourcentage de guanine-cytosine

Cette approche moléculaire qui utilise le coefficient de Chargaff (pourcentage de G+C), qui est le même chez les individus de la même espèce (Meklat, 2012), a permet en outre de caractériser les genres, de reconnaître ainsi les familles des actinobactéries, où le matériel génétique contient un taux supérieur de 55% de guanine + cytosine. Généralement, les bactéries sont considérées de la même espèce, si la différence du pourcentage de G+C est inférieure de 5%, et du même genre, si la différence de G+C est inférieure de 10 %.

La détermination du pourcentage de guanine-cytosine chez les actinobactéries permet la reconsidération de sa définition, en effet, des bactéries ont été incluses comme les genres *Cellulomonas*, *Arthrobacter* et *Micrococcus*, et d'autres ont été exclues comme le genre *Thermoactinomyces*, même si elles possèdent un mycélium, mais ne présentent pas un taux de G+C supérieur à 55%, qui reste une caractéristique majeure des actinobactéries.

II. ECOLOGIE DES ACTINOBACTERIES

II.1. Distribution générale des actinobactéries

Les actinobactéries sont très abondants; on les trouve dans de nombreux habitats allant des environnements terrestres, marins, aquatiques, aériens et extrêmes ainsi qu'en association avec des organismes supérieurs.

II.1.1. Environnement terrestre

Les actinobactéries sont trouvées majoritairement dans le sol (les déserts, les régions salées, les forêts et les champs, des matières organiques en décomposition, etc.), à la surface (80%) bien que dans les profondeurs (Lahoum, 2012). Leur distribution terrestre est fortement influencée par des facteurs comme : l'humidité, le pH, le taux de matière organique, la température, l'aération, la charge microbienne, etc. (Lahoum, 2012). Le pH optimal est de 7 à 8 et le taux d'humidité optimale est généralement compris entre 5 à 25%.

Certaines actinobactéries se trouvent dans les sols désertiques, considérés comme des milieux extrêmes et d'autres colonisent d'autres régions comme les sols alcalins, sols sableux et les sols limoneux sableux, etc. (Ranjani *et al.*, 2016).

II.1.2. Environnement aquatique

Dans les milieux aquatiques les actinobactéries présentent une diversité plus large que celles des milieux terrestres, on les trouve dans les eaux douces, marins, rivières et lacs, etc. (Ranjani *et al.*, 2016). Elles sont généralement des genres *Micromonospora* (Goodfellow et Haynes, 1984), *Actinoplanes* (Parenti et Coronelli, 1979) et *Halichondria* (Wichels *et al.*, 2006; Schneemann *et al.*, 2010).

II.1.2.1. Eaux douces

Les eaux douces représentent des milieux de vie pour quelques espèces d'actinobactéries tels que : *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*; elles sont caractérisées par leur isolement relativement facile, elles sont distribuées principalement dans les poissons, les éponges, les algues, les mollusques et la mangrove.

II.1.2.2. Marins

Certaines actinobactéries préfèrent les milieux salés; leur abondance dans les mers dû à leur transport par des facteurs terrigènes, c'est-à-dire les éléments d'origine continentale intervenant dans la sédimentation marine (Eak-hour, 1975). Les actinobactéries marines vivant dans des environnements extrêmement différents (salinité élevée, température basse ou élevée, etc.), elles produisent des métabolites secondaires bioactifs rares, généralement différent de celles produites par les actinobactéries terrestres et possèdent une grande

importance thérapeutique. En outre elles participent à la décomposition des débris végétaux, ce qu'il donne aux eaux une odeur et une saveur spéciale (Zermane, 2007).

II.1.3. Air

L'air est considéré comme un agent de transport des actinobactéries, mais pas un habitat lui-même. Les actinobactéries produisent des spores disperses dans l'environnement et entraînent, dans certains cas, des maladies respiratoires lorsqu'ils sont inhalés (Mazodier, 1974).

II.1.4. Composts

Les *Thermoactinomyces* et les *Faenia*, des genres d'actinomycètes qui préfèrent les habitats de composts, les foins en fermentation ou les condenseurs de réfrigérateurs et de climatiseurs (www.ecosociosystemes.fr).

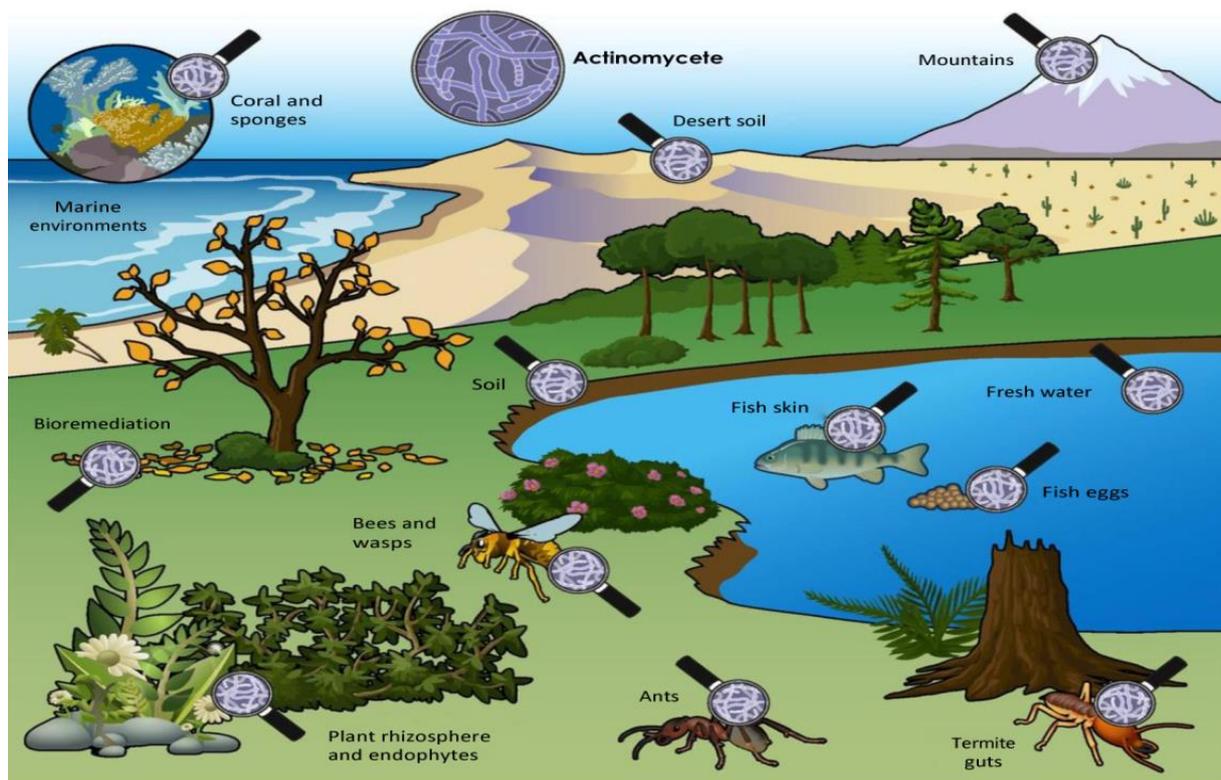


Figure 4: Différents écosystèmes des actinobactéries (semanticscholar.org/paper).

Les actinobactéries décomposent les matières organiques complexes présentes dans les composts comme la cellulose, l'hémicellulose, la lignine et la kératine (Zermane, 2007). Les principaux habitats des actinobactéries sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6: Les habitats de certains genres d'actinobactéries (Grigorova et Norris, 1990).

Actinobactérie	Habitat
<i>Actinoplanes</i>	L'eau douce, la litière, le sol
<i>Frankia</i>	Les nodules racinaires des non-légumineuses
<i>Micromonospora</i>	L'eau douce, les sédiments, les sols humides
<i>Nocardia</i>	Les boues activées
<i>Thermoactinomyces</i>	Le compost
<i>Streptomyces</i>	le sol, la litière végétale, l'eau
<i>Rhodococcus</i>	Les déjections animales, l'eau, le sol
<i>Saccharopolyspora</i>	Moisi du foin

III. GENRE *ACTINOALLOTEICHUS*

Le genre *Actinoalloteichus* a été décrit pour la première fois par Tamura *et al.* (2000), dont *Actinoalloteichus cyanogriseus* est considéré une espèce-type, c'est-à-dire la première espèce de ce genre.

Ce genre appartient au phylum d'*Actinobacteria*, et à la famille des *Pseudonocardiaceae* qui renferme les bactéries mycéliennes à Gram positif, septés, saprophytes, avec un teneur de G+C égale à 72 à 73 % (Tamura *et al.*, 2000). Il constitue l'ordre d'actinomycetales qui regroupe peu de genres dont *Actinoalloteichus* et appartient à la famille des *Pseudonocardiaceae*.

Actinoalloteichus est un genre rare, et jusqu'à l'heure actuelle est constitué de six espèces seulement : *A. cyanogriseus* (Tamura *et al.*, 2000), *A. spitiensis* (Singla *et al.*, 2005), *A. hymeniacidonis* (Zhang *et al.*, 2006), *A. nanshanensis* (Xiang *et al.*, 2011), *A. hoggarensis* (Boudjelal *et al.*, 2015) et *A. fjordicus* (Nouioui *et al.*, 2017).

Les espèces de ce genre sont caractérisées par un mycélium aérien et un mycélium de substrat avec des spores droites. Leur composition cellulaire montre la présence d'acide diaminopimélique, acide glutamique, alanine et glucosamine. MK-9(H₄) est le majeur ménaquinone avec la présence de MK-8(H₄) et MK-9(H₂) en petites quantités. Concernant les acides gras il y a l'iso-C_{15:0}, antiso-C_{15:0}, iso-C_{16:0} et C_{17:0}. Les principaux phospholipides qui caractérisent ce genre sont la phosphatidyléthanamine et le phosphatidylmonométhyl-éthanamine (Nouioui *et al.*, 2017).



*Matériel et
Méthodes*

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Espèces étudiées

Six espèces du genre *Actinoalloteichus* ont été choisies pour réaliser une comparaison entre l'étude chimiotaxonomique (à la base de coefficient de *Jaccard*) et l'étude moléculaire. Les six espèces sont (par ordre chronologique de découverte):

- *Actinoalloteichus cyanogriseus* : est une espèce qui présente des chaînes caractérisées par un mycélium aérien bleu gris, elle produit des pigments solubles, contient un taux de G+C de 69,54% (Tamura *et al.*, 2000). Cette espèce a été isolée à partir d'un échantillon de sol prélevé sur la province chinoise du Yunnan (Liu *et al.*, 1984).
- *Actinoalloteichus spitiensis*: est une espèce qui possède des ramifications, dépourvu du mycélium aérien, elle ne produit pas des pigments, caractérisée par un taux de G+C de 72%. Cette espèce a été isolée à partir d'un désert froid de l'Himalaya indien (Singla *et al.*, 2005).
- *Actinoalloteichus hymeniacidonis*: est une actinobactérie aérobie, présente des hyphes végétatifs ramifiés, produit des pigments noirs, avec un contenu de G+C de 68,08% (Zhang *et al.*, 2006; Nouioui *et al.*, 2017). L'éponge marine *Hymeniacidon perlevis*, constitue un habitat pour cette espèce à partir duquel a été isolée.
- *Actinoalloteichus nanshanensis*: est une actinobactérie aérobie, caractérisée par la production des pigments noirs, possède des hyphes végétatifs ramifiées non fragmentées, son teneur en G+C est de 76,6%, isolée d'une rhizosphère d'un arbre de figue (Wensheng *et al.*, 2011).
- *Actinoalloteichus hoggarensis*: est une espèce aérobie, filamenteuse, caractérisée par un mycélium aérien de couleur diffère selon les milieux de culture, on distingue : le bleu verdâtre au bleu grisâtre à jaunâtre pâle. Elle produit des pigments diffusibles brun à noir (Boudjelal *et al.*, 2015), et présente un pourcentage de G+C de 71,15% (Nouioui *et al.*, 2017). Cette espèce a été isolée du Hoggar (Tamanrasset), une saharienne du sud algérien.
- "*Actinoalloteichus fjordicus*" : est une espèce non validée qui possède les caractéristiques habituelles du genre *Actinoalloteichus*, aérobie, possède des hyphes aériens portées par un mycélium ramifié du substrat et ne sécrète pas des pigments diffusibles, et un taux de G+C marqué de 70,09% (Nouioui *et al.*, 2017). Cette espèce a été isolée d'une éponge marine de type *Anthodichotome* sp.

II.2. Etude chimiotaxonomique

Nous avons basé dans cette étude sur les composants cellulaires de six espèces du genre *Actinoalloteichus*, principalement les sucres, les acides aminés, les phospholipides, les acides gras et les ménaquinones.

Ces composants ont été analysés lors des études précédentes, où un caractère binaire « présence, absence » a été utilisé pour comparer la composition de la paroi et de la membrane cytoplasmique. Si l'espèce porte la caractéristique, elle va être attribuée par une valeur de 1, et 0 si en est dépourvue de cette caractéristique. Les données obtenues sont présentées dans un tableau, les lignes réfèrent les six espèces, et les colonnes représentent les constituants biochimiques (sucres, acides aminés, ménaquinones, etc.).

II.2.1. Mesure de similarité

Plusieurs caractéristiques sont considérées lors de la mesure de similarité afin de montrer les similitudes et les différences entre les espèces étudiées. Pour notre étude, nous avons choisi l'indice de similarité de *Jaccard*.

II.2.2. Indice de *Jaccard*

L'indice de *Jaccard* est un coefficient quantitatif qui permet de calculer le pourcentage de similitude entre deux espèces (www.alpesoiseaux.free.fr/). L'indice de *Jaccard* est appelé également 'coefficient de communauté' dans la publication d'origine (Jaccard, 1901).

Cet indice est calculé par la relation suivante :

$$J = \frac{a}{a+b+c}$$

Matrice de distance

	1	0
1	a	b
0	c	d

a = (1, 1); **b** = (0, 1); **c** = (1, 0); **d** = (0, 0).

Exemple :

Caractère Espèce	C1	C2	C3	C4	C5
E1	1	1	0	0	0
E2	0	1	1	1	0
E3	0	0	1	0	1
E4	1	1	1	1	1

- La similitude entre E1 et E2:

$$a(1, 1) = 1; b(0, 1) = 2; c(1, 0) = 1; d(0, 0) = 1.$$

$$J = \frac{1}{1+2+1} = 0,75 \rightarrow 75\%.$$

Le degré de similitude entre E1 et E2 est de 75%.

- ✚ Dans ce travail, deux logiciels qui reposent sur l'exploitation des bases de données sur le web, ont été utilisés :

II.2.3. PAST3 (*PAleontological Statistics 3*)

C'est un logiciel qui permet d'analyser les données numériques (+ ou -, c'est-à-dire 1 ou 0), et donc qui permet de construire des dendrogrammes détaillés à partir de différents fichiers : fichiers texte, Excel, document RAW (*Research and Analysis Wing*), etc.

PAST

PAleontological STatistics

Version 3.22



Figure 5: Logiciel *PAST3*.

II.2.4. MEGA 4 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis 4*)

Cette quatrième version du logiciel (MEGA 4), assure plusieurs tâches et contribue à l'étude taxonomique des espèces après le traitement de leurs séquences nucléotidiques d'une manière automatique, par la réalisation d'un alignement qui permet de déduire les distances d'évolution, et par conséquent, de construire les arbres phylogénétiques (dendrogrammes précis) qui sont à la base d'une classification concrète des souches (ou des espèces) bactériennes.



Figure 6: Logiciel MEGA 4.

II.2.4.1. Création d'alignements de séquences multiples

En utilisant les séquences nucléotidiques de l'ARNr 16S des six espèces prises à partir de la base de données NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), sous format *FASTA* (format du texte utilisé pour le stockage des séquences biologiques) commençant par *A. hoggarensis* pour la comparer avec les séquences d'autres espèces.

Les données (les séquences de l'ARNr 16S) sont disponibles sur l'adresse suivante (www.ncbi.nlm.nih.gov).



Figure 7: Base de données NCBI.

Un alignement multiple des séquences se fait par le logiciel MEGA 4. Suivant les étapes ci-dessous :

- Démarrer le logiciel MEGA 4 et Sélectionner l'icône Alignement pour lancer l'explorateur d'alignement.
- Sélectionner Data/ Open/ Get Séquences, pour récupérer les séquences non alignées stockées dans les fichiers sous format *FASTA*.

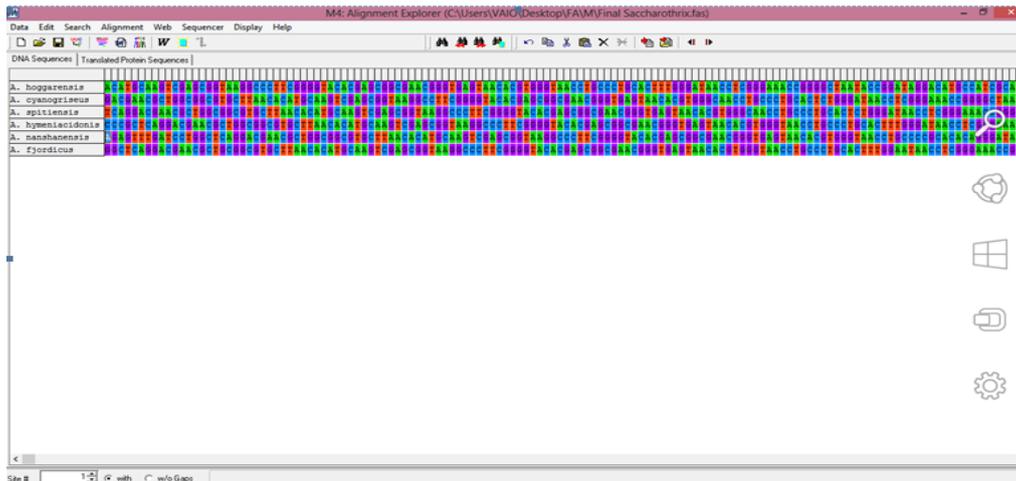


Figure 8: Les séquences nucléotidiques avant l'alignement.

- Cliquer sur Edit/ Select All, afin d'aligner l'ensemble des séquences.
- Sélectionner Alignment/ Align by ClustalW, pour effectuer un alignement des séquences sélectionnées en utilisant l'algorithme Clustal W.



Figure 9: Utilisation du MEGA 4 (alignement des séquences par Clustal W).

- Afin d'enregistrer l'alignement réalisé, en cliquant sur Data/Save Session, pour restaurer la session d'alignement prochainement.
- Quitter l'explorateur d'alignement, et répondre par " oui " sur un message qui va apparaître afin d'enregistrer l'alignement sous un fichier MEGA, puis le renommer pour faciliter son ouverture pour une autre fois sur MEGA 4 (Tamura *et al.*, 2007).

II.3. Etude moléculaire

L'étude des relations de parenté entre les espèces fait intervenir la phylogénie moléculaire, en utilisant les séquences nucléotidiques de l'ARNr 16S, afin de mieux comprendre l'évolution des espèces à partir des données de séquençage (Lopez *et al.*, 2002).

Une comparaison des caractères distincts d'un groupe d'individus, permet d'estimer l'histoire commune ou non entre ces individus, c'est le principe majeur de la phylogénie.

L'étude moléculaire est basée principalement sur l'exploitation des logiciels informatisés fiables et rapides, qui traitent et analysent les données introduites, et expriment par conséquent, les positions taxonomiques, qu'elles seront par la suite traduites en dendrogrammes.

II.3.1. EzTaxon

C'est une base de données basée sur une classification des séquences d'ARNr 16S à partir de leur vraisemblance. Cette base de données contient 207 phylums, 433 classes, 1019 ordres, 2805 familles, 11446 genres, 61700 espèces et 387 sous-espèces (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Cette base de données est disponible gratuitement sur internet ([https : www.ezbiocloud.net/](https://www.ezbiocloud.net/)).

La séquence d'*Actinialloteichus hoggarensis* est introduite dans EzTaxon pour déterminer le taux de similarité avec les autres espèces. La base de données traduit les séquences en tableau de similarité, et qui montre les distances évolutives entre les espèces.

Le traitement se fait par les étapes suivantes :

- Accéder à la plateforme ([https : www.ezbiocloud.net/](https://www.ezbiocloud.net/)).

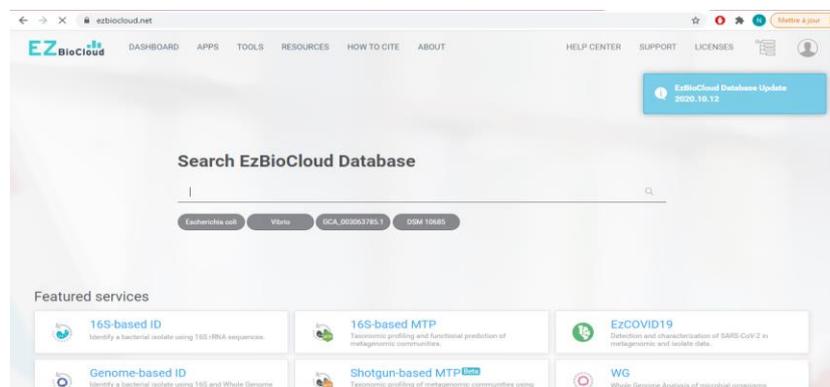


Figure 10: La base de données EzTaxon.

Donner un nom à la séquence analysée.

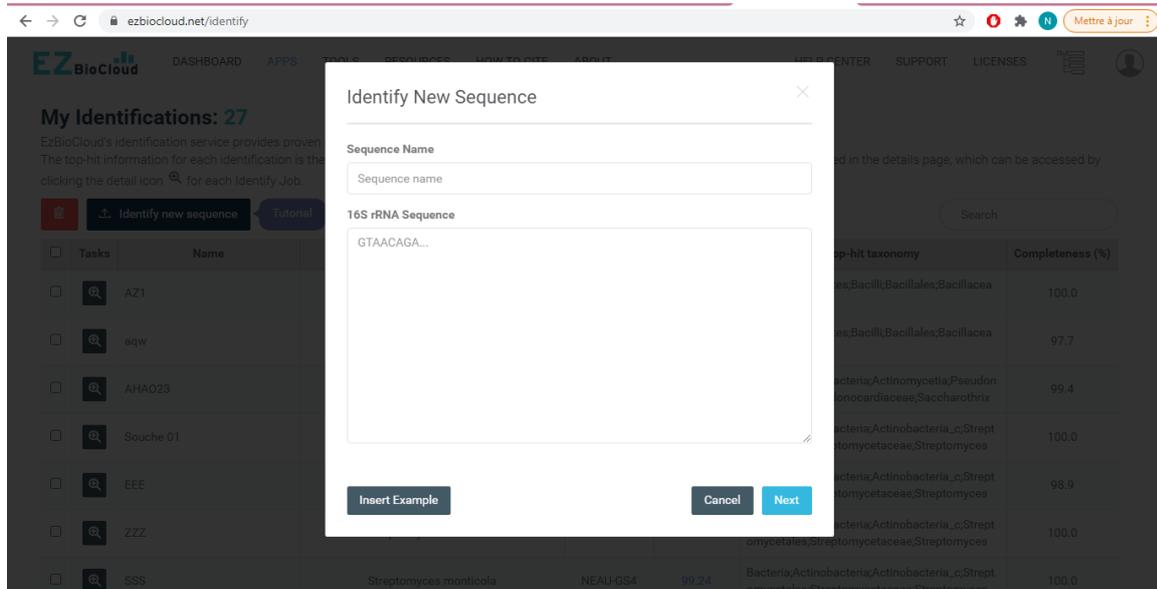


Figure 11: La séquence et son nom.

Introduire la séquence nucléotidique d'ARNr 16S (format FASTA); la séquence d'*Actinoalloteichus hoggarensis* dans ce cas-là.

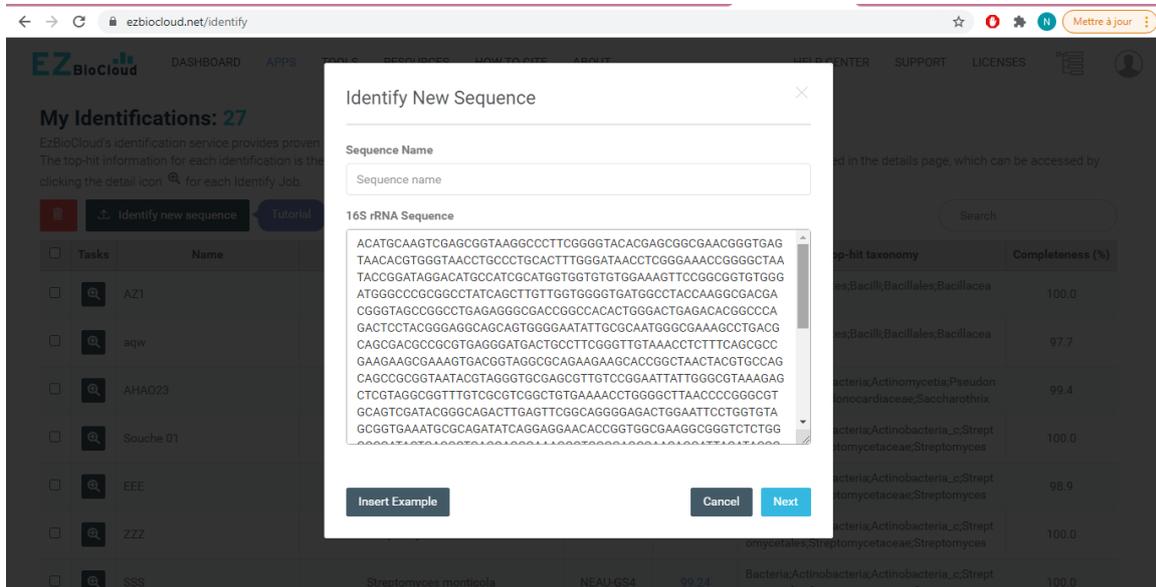


Figure 12: Copier-coller la séquence (à partir du site NCBI).

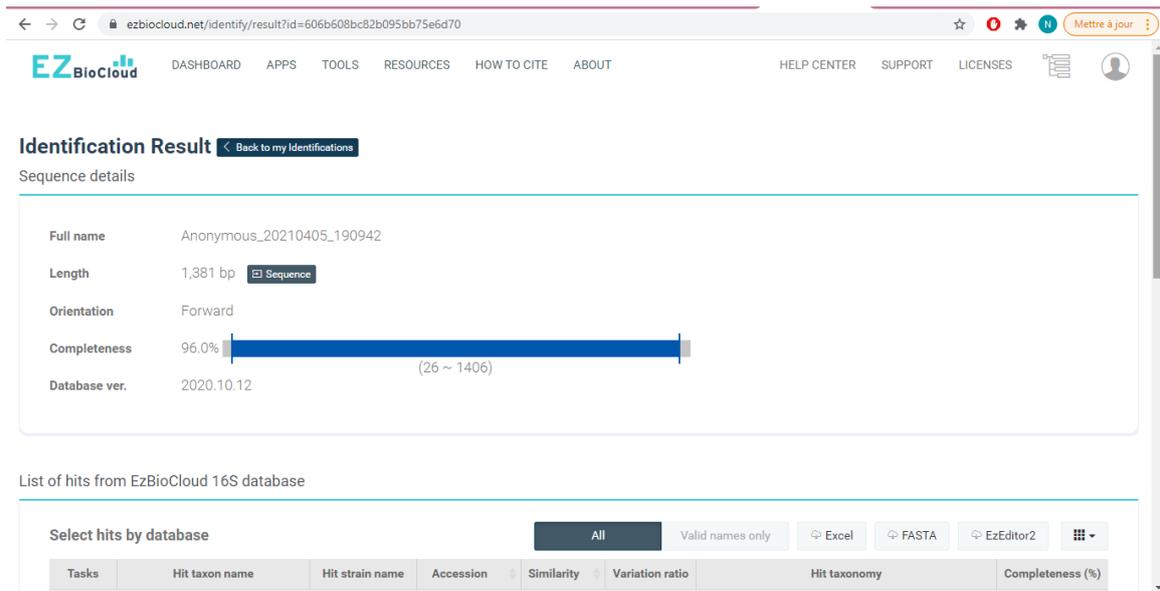


Figure 13: Résultat schématisé de l'identification.



Résultats et discussion

III.1. Etude chimiotaxonomique

La lecture attentive des publications de six espèces d'*Actinoalloteichus*, publiées dans le journal *Antonie Van Leeuwenhoek* pour l'espèce non validée "*Actinoalloteichus fjordicus*", et le journal *IJSEM (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology)* pour les autres cinq espèces, nous a permis de comparer d'une manière détaillée la chimiotaxonomie de six espèces.

Les résultats obtenus après cette étude chimiotaxonomique reflètent la présence «+» et l'absence «-» de certains composés cellulaires ont été résumés dans les tableaux suivants.

III.1.1. Sucres

Les sucres trouvés dans la paroi cellulaire de six espèces d'*Actinoalloteichus* sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7: Sucres caractéristiques de la paroi des espèces d'*Actinoallotheicus* (par ordre chronologique).

Espèce	Glucose	Mannose	Galactose	Rhamnose	Ribose
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)/ (Labeda et Kroppenstedt, 2006)	+/+	+/+	+/+	(+)*/-	+/+
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)	+	+	+	+	+
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	+	+	+	-	+
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	+	+	+	+	+
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	+	+	+	-	+
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+	+	+	trace (+)	+
Fréquence	6/6	6/6	6/6	3/6	6/6
	100%	100%	100%	50%	100%

* : Apparemment il s'agit d'une erreur dans la publication de Labeda et Kroppenstedt (2006).

L'analyse des articles publiés a permis de noter la présence de quatre sucres (glucose, mannose, galactose et ribose) chez toutes les espèces d'*Actinoalloteichus* étudiées, c'est-à-dire quatre biomarqueurs glucidiques existent pour ce genre; mais nous avons observé la présence du rhamnose dans la moitié des espèces de ce genre.

La littérature scientifique indique la présence du couple 'rhamnose-galactose' (Groupe E), autrement-dit la présence obligatoire du rhamnose au sein de ce genre; ceci

correspond au chimiotype IC tel que défini par Lechevalier et Lechevalier (1970). En revanche, nous avons remarqué l'absence du rhamnose chez au moins deux espèces : *A. hymeniacidonis* (Zhang *et al.*, 2006) *A. hoggarensis* (Boudjelal *et al.*, 2015). De plus, le mannose est présent chez toutes les espèces étudiées, alors que la littérature scientifique ne considère pas ce sucre comme caractéristique du genre *Actinoalloteichus*.

III.1.2. Acides aminés

Les acides aminés présentés dans la membrane plasmique des espèces étudiées sont illustrés dans le tableau 8.

Tableau 8: Acides aminés caractéristiques de la paroi des espèces d'*Actinoalloteichus*.

Espèce	Glu	Ala	Gly	Glucosamine	acide LL-DAP	acide méso-DAP
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)	+	+	(+) <1%	–	–	+
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)	–	–	–	–	–	+
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	–	–	–	–	–	+
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	–	–	–	–	–	+
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	–	–	–	–	–	+
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	–	–	–	+	–	+
Fréquence	1/6	1/6	1/6	1/6	0/6	6/6
	16,67%	16,67%	16,67%	16,67%	0%	100%

Glu : acide glutamique; **Ala** : alanine; **Gly** : glycine; **acide méso-DAP** : acide méso-diaminopimélique; **acide LL-DAP** : acide LL-diamino-pémilique.

Les résultats de l'analyse des articles publiés ont indiqué que le genre *Actinoalloteichus* est caractérisé par la présence de l'isomère DL de l'acide diaminopimélique (*meso*-DAP) dans la paroi cellulaire (comme biomarqueur); ceci correspond au chimiotype IVA tel que défini par Lechevalier et Lechevalier (1970). De plus, nous avons remarqué l'absence de l'isomère LL de l'acide diaminopimélique (LL-DAP), de glycine, de l'acide glutamique, de l'alanine, et de glucosamine.

III.1.3. Ménaquinones

Les principales ménaquinones localisées dans la membrane des six espèces sont présentées dans le tableau 9.

Tableau 9: Les ménaquinones caractéristiques de la composition cellulaire (en %) des espèces d'*Actinoalloteichus*.

Espèce	MK-8(H ₄)	MK-9(H ₀)	MK-9(H ₂)	MK-9 (H ₄)
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)	10	–	9	75
<i>A. cyanogriseus</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	10	–	9	75
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)	5	–	–	82
<i>A. spitiensis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	5	–	–	82
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	–	–	–	64
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	1,4	–	0,96	78,95
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	–	1.7	–	54
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	3,6	–	0,4	58,1

Espèce	MK-9(H ₆)	MK-9(H ₈)	MK-10(H ₄)	MK-10(H ₆)
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)	2	–	3	–
<i>A. cyanogriseus</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	2	–	3	–
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)	2	–	9	–
<i>A. spitiensis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	2	–	9	–
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	23	12	–	–
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	1,96	–	16,76	–
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	3,2	–	34,2	2,4
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	4,1	–	9,4	–

Tableau 10: Les ménaquinones caractéristiques de la composition cellulaire des espèces d'*Actinoalloteichus* (présence/absence).

Espèce	MK-8(H ₄)	MK-9(H ₀)	MK-9(H ₂)	MK-9 (H ₄)
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	+/+	-/-	+/+	+/+
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	+/+	-/-	-/-	+/+
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	-	-	-	+
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	+	-	+	+
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	-	+	-	+
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+	-	+	+
Fréquence	4/6	1/6	3/6	6/6
	66,67%	16,67%	50%	100%

Espèce	MK-9(H ₆)	MK-9(H ₈)	MK-10(H ₄)	MK-10(H ₆)
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	+/+	-/-	+/+	-/-
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	+/+	-/-	+/+	-/-
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	+	+	-	-
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	+	-	+	-
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	+	-	+	+
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+	-	+	-
Fréquence	6/6	1/6	5/6	1/6
	100%	16,67%	83,33%	16,67%

L'étude des publications a montré que toutes les espèces du genre *Actinoalloteichus* sont caractérisées par la présence de deux ménaquinones : MK-9 (H₄) et MK-9 (H₆). Il est possible de déduire que ces deux ménaquinones représentent des biomarqueurs ménaquinoniques de ce genre.

III.1.4. Phospholipides

La composition de la membrane des espèces étudiées en phospholipides est représentée dans le tableau 11.

Tableau 11: Phospholipides caractéristiques de la membrane des six espèces.

Espèce	PE	PI	PC	PCG	PG	PIM	DPG	GPL	GL	PME	LI
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)/ (Labeda et Kroppenstedt, 2006)	+/-	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)/ (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+/+	+/+	-/-	+/-	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
Fréquence	4/6	6/6	0	1/6	6/6	5/6	4/6	1/6	0/6	2/6	1/6
	66,6 %	100 %	0 %	16,6 %	100 %	83,8 %	66,6 %	16,6 %	0 %	33,3 %	16,6 %

PE : phosphatidyléthanolamine ; **PI** : phosphatidylinositol ; **PC** : phosphatidylcholine ; **PCG** : phospholipide contenant glucosamine ; **PG** : phosphatidylglycérol ; **PIM** : phosphatidylinositol-mannoside ; **DPG** : diphosphatidylglycerol ; **GPL** : glycophospholipides ; **GL** : glycolipides ; **PME** : phosphatidylmonométhyl-éthanolamine.

Le profil phospholipidique du genre *Actinoalloteichus* est caractérisé principalement par la présence de phosphatidyléthanolamine (PE), phosphatidylglycérol (PG), diphosphatidylglycerol (DPG), phosphatidylinositol (PI), phosphatidylinositolmannosides (PIM) et des lipides non identifiés, qui correspond aux phospholipides de type PII (Lechevalier *et al.*, 1977).

En revanche, les publications du genre *Actinoalloteichus* ont montré la présence de deux phospholipides caractéristiques comme biomarqueurs: phosphatidylinositol (PI) et phosphatidylglycérol (PG) chez toutes les espèces du genre *Actinoalloteichus* étudiées, et

l'absence, chez certaines espèces, de phospholipides caractéristiques du genre comme le phosphatidyléthanolamine (PE).

III.1.5. Acides gras

Les différents acides gras présentés dans la composition cellulaire des six espèces sont citées dans le tableau 12.

Tableau 12: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire (en %) des espèces étudiées.

Espèce	iso-C _{14:0}	iso-C _{15:1} G	iso-C _{15:0}	anteiso-C _{15:0}	C _{15:1} B	C _{15:1}	C _{15:0}
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)	5	–	15	10	–	–	trace
<i>A. cyanogriseus</i> (Labeda et Kroppenstedt, 2006)	4,62	–	20,3	12	–	1,83	3,6
<i>A. cyanogriseus</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	5	–	15	10	–	–	–
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)	–	–	17	7	–	–	–
<i>A. spitiensis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	6	–	17	7	–	–	–
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	4	–	6	20	–	–	6
<i>A. hymeniacidonis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	4,07	1,84	13,84	18,57	0,72	–	3,27
<i>A. hymeniacidonis</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	4	–	–	20	–	–	6
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	–	–	6,31	19,48	–	–	2,05
<i>A. nanshanensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	7,06	1,47	23,96	14,53	0,48	–	5,91
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	3,66	1,84	21,61	11,68	–	–	4,13
<i>A. hoggarensis</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	3,7	–	21,6	11,7	–	–	4,1
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	2,1	–	10,6	20,1	–	–	5,6

Tableau 13 : Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire (en %) des espèces étudiées (suite).

Espèce	iso-C _{16:1} G	iso-C _{16:1}	iso-C _{16:0}	C _{16:1} w9c	C _{16:0}	C _{16:1}	anteiso-C _{17:1} C
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)	–	8	19	–	2	2	–
<i>A. cyanogriseus</i> (Labeda <i>et</i> Kroppenstedt, 2006)	–	4,99	16,32	2,33	1,95	–	1,88
<i>A. cyanogriseus</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	–	8	19	–	2	2	–
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)	–	–	33	–	–	–	–
<i>A. spitiensis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	–	6	33	–	2	2	–
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	–	–	16	–	–	–	–
<i>A. hymeniacidonis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	4,62	–	21,69	1,23	1,41	–	1,03
<i>A. hymeniacidonis</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	6	–	–	–	–	–	–
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	–	–	21,45	–	–	6,43	–
<i>A. nanshanensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	1,08	–	13,43	0,84	2,01	–	–
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	5,79	–	18,16	–	–	–	1,02
<i>A. hoggarensis</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	5,8	–	18,2	–	–	–	–
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	2,2	–	10,9	–	1,6	–	–

Tableau 14: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (suite).

Espèce	iso-C _{17:0}	anteiso-C _{17:0}	C _{17:1} w9c	C _{17:0}	10-Methyl C _{17:0}	Cyclo C ₁₇	C _{17:1} w8c
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)	3	20	–	trace	–	–	–
<i>A. cyanogriseus</i> (Labeda et Kroppenstedt, 2006)	–	15,38	6,61	2,84	–	–	–
<i>A. cyanogriseus</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	3	20	–	–	–	–	–
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)	–	8	–	–	–	–	–
<i>A. spitiensis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	3	8	–	–	–	–	–
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	–	4	–	11	–	–	19
<i>A. hymeniacidonis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	3,46	6,7	10,44	7,12	–	–	–
<i>A. hymeniacidonis</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	–	4	19	11	–	–	19
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	1,02	14,86	–	5,9	–	1,52	5,61
<i>A. nanshanensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	2,86	3,21	9,4	11,69	–	–	–
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	3,98	4,21	10,64	8,82	4,46	–	–
<i>A. hoggarensis</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	4	4,2	–	8,8	–	–	–
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	2	9,6	10,3	18,3	–	–	10,3

Tableau 15: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (suite).

Espèce	iso-C _{16:0} G	C _{18:0}	C _{18:1 cis 9}	Iso-C _{16:0}	Iso-C _{15:0}
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)	–	trace	–	–	–
<i>A. cyanogriseus</i> (Labeda et Kroppensted, 2006)	–	–	0,93	–	–
<i>A. cyanogriseus</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	–	–	–	–	–
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)	–	–	–	–	–
<i>A. spitiensis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	–	–	–	–	–
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	6	–	–	–	–
<i>A. hymeniacidonis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	–	–	–	–	–
<i>A. hymeniacidonis</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	–	–	–	16	6
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)	–	14,69	–	–	–
<i>A. nanshanensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	–	0,51	–	–	–
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	–	–	–	–	–
<i>A. hoggarensis</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	–	–	–	–	–
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	–	–	–	–	–

Tableau 16: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (présence/absence).

Espèce	iso-C _{14:0}	iso-C _{15:1} G	iso-C _{15:0}	anteiso-C _{15:0}	C _{15:1} B	C _{15:1}	C _{15:0}
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)/ (Labeda et Kroppensted, 2006)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	+/+/+	-/-/-	+/+/+	+/+/+	-/-/-	-/+/-	trace/+/-
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	-/+	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)/ (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)/ (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+/+/+	-/+/-	+/+/-	+/+/+	-/+/-	-/-/-	+/+/+
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)/ (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	-/+	-/+	+/+	+/+	-/+	-/-	+/+
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)/ (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+/+	+/-	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+	-	+	+	-	-	+
Fréquence	6/6 100%	3/6 50%	6/6 100%	6/6 100%	2/6 33,3%	1/6 16,6%	5/6 83,3%

Tableau 17: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (présence/absence).

Espèce	iso-C _{16:1} G	iso-C _{16:1}	iso-C _{16:0}	C _{16:1} w9c	C _{16:0}	C _{16:1}	anteiso-C _{17:1} C
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)/ (Labeda et Kroppensted, 2006)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	-/-/-	+ / + / +	+ / + / +	- / + / -	+ / + / +	+ / - / +	- / + / -
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	- / -	- / +	+ / +	- / -	- / +	- / +	- / -
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)/ (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)/ (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	- / + / +	- / - / -	+ / + / -	- / + / -	- / + / -	- / - / -	- / + / -
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)/ (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	- / +	- / -	+ / +	- / +	- / +	+ / -	- / -
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)/ (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+ / +	- / -	+ / +	- / -	- / -	- / -	+ / -
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+	-	+	-	+	-	-
Fréquence	4/6 66,6%	2/6 33,3%	6/6 100%	3/6 50%	5/6 83,3%	3/6 50%	3/6 50%

Tableau 18: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (présence/absence).

Espèce	iso- C _{17:0}	anteiso- C _{17:0}	C _{17:1} w9c	C _{17:0}	10-Methyl C _{17:0}	Cyclo C ₁₇	C _{17:1} w8c
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)/ (Labeda <i>et</i> Kroppensted, 2006)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	+/-/+	+/+/+	-/+/-	trace/+/-	-/-/-	-/-/-	-/-/-
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	-/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)/ (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)/ (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	-/+/-	+/+/+	-/+/+	+/+/+	-/-/-	-/-/-	+/-/+
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)/ (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	+/+	+/+	-/+	+/+	-/-	+/-	+/-
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)/ (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+/+	+/+	+/-	+/+	+/-	-/-	-/-
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+	+	+	+	-	-	+
Fréquence	6/6	6/6	5/6	5/6	1/6	1/6	3/6
	100%	100%	83,3%	83,3%	16,6%	16,6%	50%

Tableau 19: Acides gras caractéristiques de la composition cellulaire des espèces étudiées (présence/absence).

Espèce	iso-C _{16:0} G	C _{18:0}	C _{18:1 cis 9}	ISO-C _{16:0}	Iso-C _{15:0}
<i>A. cyanogriseus</i> (Tamura <i>et al.</i> , 2000)/ (Labeda et Kroppensted, 2006)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	-/-/-	trace/-/-	-/+/-	-/-/-	-/-/-
<i>A. spitiensis</i> (Singla <i>et al.</i> , 2005)/ (Zhang <i>et al.</i> , 2006)	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>A. hymeniacidonis</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2006)/ (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)/ (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	+/-/-	-/-/-	-/-/-	-/-/+	-/-/+
<i>A. nanshanensis</i> (Wensheng <i>et al.</i> , 2011)/ (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)	-/-	+/+	-/-	-/-	-/-
<i>A. hoggarensis</i> (Boudjelal <i>et al.</i> , 2015)/ (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>A. fjordicus</i> (Nouioui <i>et al.</i> , 2017)	-	-	-	-	-
Fréquence	1/6	2/6	1/6	1/6	1/6
	16,6%	33,33%	16,67%	16,67%	16,67%

L'analyse des publications des espèces d'*Actinoalloteichus* a montré la présence de six acides gras caractéristiques de ce genre: iso-C_{14:0}, iso-C_{15:0}, anteiso-C_{15:0}, iso-C_{16:0}, iso-C_{17:0}, anteiso-C_{17:0}, c'est-à-dire des acides gras biomarqueurs (rencontré chez toutes les espèces d'*Actinoalloteichus* étudiées).

III.2. Résultats de calculs de similarité (à la base de coefficient de *Jaccard*)

Après les calculs réalisés reposant sur l'utilisation de coefficient de *Jaccard* le tableau 20 a été obtenu.

Tableau 20: Pourcentages de similarité obtenus par l'indice de *Jaccard*.

Paire des séquences	M ₁₁	M ₀₁	M ₁₀	M ₀₀	Coefficient (Similarité) de <i>Jaccard-Sneath</i> $J = M_{11} / (M_{11} + M_{01} + M_{10})$	Pourcentage
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. hoggarensis</i>	28	0	0	28	$28/28 = 1$	100%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. cyanogriseus</i>	23	13	5	15	$23/23+13+5 = 0,561$	56,1%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. spitiensis</i>	19	6	9	22	$19/19+6+9 = 0,558$	55,8%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. hymeniacidonis</i>	22	10	6	18	$22/22+10+6 = 0,578$	57,8%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. nanshanensis</i>	22	11	6	17	$22/22+11+6 = 0,564$	56,4%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. fjordicus</i>	21	7	7	21	$21/21+7+7 = 0,6$	60%

Le dendrogramme de classification ascendante hiérarchique (CAH) des espèces d'*Actinoalloteichus* (à la base d'indice de *Jaccard*, en fonction de la présence et l'absence des caractères chimiotaxonomiques) a été réalisé par le logiciel Past3, le résultat est montré dans la figure 14.

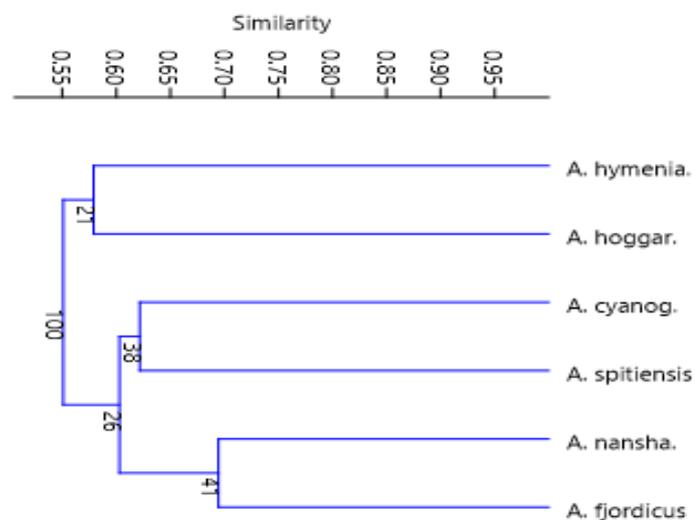


Figure 14: Dendrogramme de classification ascendante hiérarchique (CAH) représentant les distances évolutives entre les espèces d'*Actinoalloteichus* (à la base d'indice de *Jaccard*) en fonction des caractères chimiotaxonomiques (présence/absence).

Les résultats obtenus de la similarité ou de similitude (calculée à la base de l'indice de *Jaccard*) montrent que les espèces d'*Actinoalloteichus* les plus proches par rapport à l'espèce *Actinoalloteichus hoggarensis* sont par ordre : *A. fjordicus* (60% de similarité), *A. hymeniacidonis* (57,8%), *A. nanshanensis* (56,4%), *A. cyanogriseus* (56,1%) et finalement *A. spitiensis* (55,8%).

III.3. Etude moléculaire

Le dendrogramme des espèces d'*Actinoalloteichus* (à la base des séquences d'ARNr 16S) a été réalisé par le logiciel MEGA4; la figure 15 montre les séquences nucléotidiques après l'alignement.

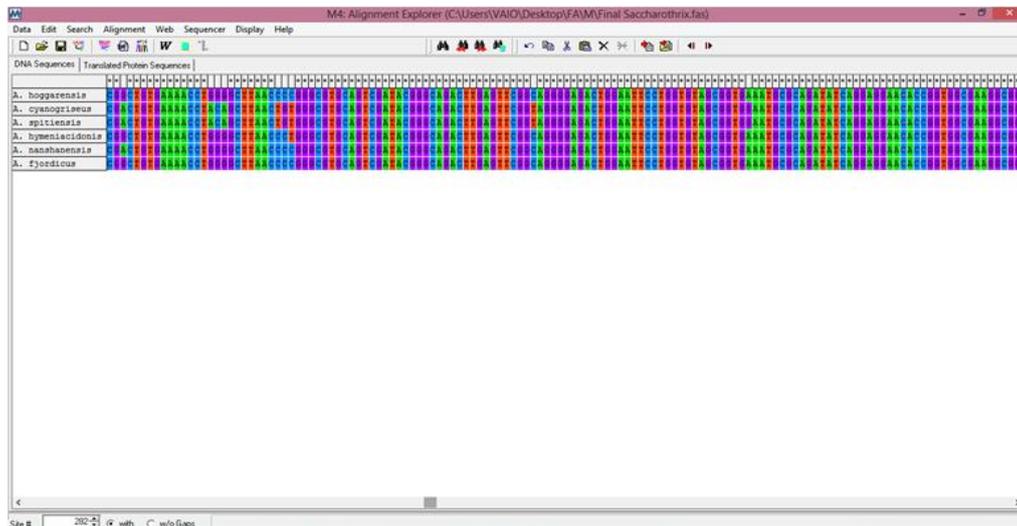


Figure 15: Séquences nucléotidiques après l'alignement des séquences d'ARNr 16s de six espèces d'*Actinoalloteichus* (par le logiciel mega4).

- Le dendrogramme obtenu est présenté par la figure 16.

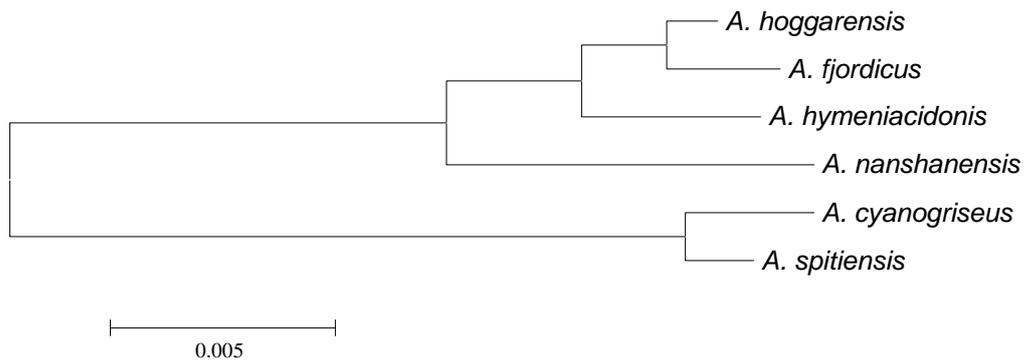


Figure 16: Dendrogramme représentant les distances évolutives entre les espèces par l'utilisation d'EzTaxon.

Le dendrogramme de la similarité (basé sur les séquences d'ARNr 16S) montre que les espèces les plus proches par rapport à l'espèce *Actinoalloteichus hoggarensis* sont par ordre : *A. fjordicus*, *A. hymeniacidonis*, *A. nanshanensis*, *A. spitiensis* et finalement *A. cyanogriseus*.

Ces résultats ont été confirmés par la base de données EZbiocloud (EzTaxon), comme indiqué dans le tableau 21.

Tableau 21: Le degré de similarité entre *A. hoggarensis* et les autres espèces d'*Actinoalloteichus*.

Tasks	Hit taxon name	Hit strain name	Accession	Similarity	Variation ratio	Hit taxonomy	Completeness (%)
	<i>Actinoalloteichus hoggarensis</i>	DSM 45943(T)	CP022521	100.00	0/1381	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Pseudonocardiales;Pseudonocardiaceae;Actinoalloteichus	100.0
	<i>Actinoalloteichus fjordicus</i>	ADI127-7(T)	CP016076	99.86	2/1381	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Pseudonocardiales;Pseudonocardiaceae;Actinoalloteichus	100.0
	<i>Actinoalloteichus hymeniacidonis</i>	HPA177(T)	CP014859	99.28	10/1381	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Pseudonocardiales;Pseudonocardiaceae;Actinoalloteichus	100.0
	<i>Actinoalloteichus nanshanensis</i>	NEAU-119(T)	GQ926935	98.70	18/1381	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Pseudonocardiales;Pseudonocardiaceae;Actinoalloteichus	100.0
	<i>Actinoalloteichus spitiensis</i>	RMV-1378(T)	AGVX02000100	96.67	46/1381	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Pseudonocardiales;Pseudonocardiaceae;Actinoalloteichus	100.0
	<i>Actinoalloteichus cyanogriseus</i>	DSM 43889(T)	AUBJ01000042	96.60	47/1381	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Pseudonocardiales;Pseudonocardiaceae;Actinoalloteichus	100.0
	<i>Goodfellowiella coeruleoviolacea</i>	NRRL B-24058(T)	JNYI01000138	96.38	50/1381	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Pseudonocardiales;Pseudonocardiaceae;Goodfellowiella	100.0
	<i>Umezawaea tangerina</i>	NRRL B-24463(T)	JNYU01000173	95.44	63/1381	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Pseudonocardiales;Pseudonocardiaceae;Umezawaea	100.0
	<i>Crossiella equi</i>	NRRL B-24104(T)	MUMG01000050	95.29	65/1381	Bacteria;Actinobacteria;Actinomycetia;Pseudonocardiales;Pseudonocardiaceae;Crossiella	100.0

Les résultats obtenus par la base de données EZbiocloud (EzTaxon) donnent l'ordre de la similarité (degré de similitude), par rapport à l'espèce *A. hoggarensis* en pourcentage: *A. fjordicus* (99,86% de similarité), *A. hymeniacidonis* (99,28%), *A. nanshanensis* (98,70%), *A. spitiensis* (96,67%) et finalement *A. cyanogriseus* (96,60%).

Le tableau 22 montre la comparaison entre la similarité obtenue par les deux méthodes, l'étude chimiotaxonomique (basée sur la présence et l'absence des caractères chimiotaxonomiques) et l'étude moléculaire (basée sur les séquences de l'ARNr 16S).

Tableau 22: Comparaison de similarité entre l'étude chimiotaxonomique et l'étude moléculaire.

Relation par rapport à l'espèce <i>A. hoggarensis</i>	Etude chimiotaxonomique	Etude moléculaire
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. hoggarensis</i>	100%	100%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. cyanogriseus</i>	56,1%	96,60%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. spitiensis</i>	55,8%	96,67%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. hymeniacidonis</i>	57,8%	99,28%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. nanshanensis</i>	56,4%	98,70%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. fjordicus</i>	60%	99,86%
Ordre de similarité	H/HFYNCS	H/HFYNSC

H : *A. hoggarensis*; **C :** *A. cyanogriseus*; **S :** *A. spitiensis*; **Y :** *A. hymeniacidonis*; **N :** *A. nanshanensis*; **F :** *A. fjordicus*.

La comparaison entre les deux méthodes montre que l'ordre de similarité est le même pour les premières quatre espèces (*A. hoggarensis*, *A. fjordicus*, *A. hymeniacidonis* et *A. nanshanensis*); en revanche l'ordre des deux dernières espèces (*A. cyanogriseus* et *A. spitiensis*) est inversé.

Ce résultat indique qu'il est possible, d'une manière globale, de déterminer les espèces les plus proches par rapport à une espèce donnée, en utilisant l'indice de *Jaccard*, dans le cadre de planifier par exemple l'hybridation ADN-ADN. Autrement dit, il est possible, même sans séquencer le gène ARNr 16S, d'avoir une idée globale sur les espèces les plus proches par rapport à l'espèce étudiée.

Il est important d'indiquer que l'ordre de similarité n'est pas forcément le même à 100% entre les deux méthodes. La nature de chaque étude est unique, l'étude moléculaire est basée sur un seul gène du génome bactérien (l'ARNr 16S); en revanche, l'étude chimiotaxonomique est basée sur les résultats d'expression d'un ensemble important de gènes (gènes de biosynthèses de sucres, d'acides aminés, de phospholipides, de ménaquinones et d'acides gras).

Concernant les composés biologiques cellulaires, c'est-à-dire l'étude chimiotaxonomique, nous avons remarqué qu'un certains nombres de molécules comme le glucose, mannose, galactose et ribose, l'acide *méso*-DAP, MK-9 (H₄), MK-9 (H₆), phosphatidylinositol, phosphatidylglycérol, iso-C_{14:0}, iso-C_{15:0}, anteiso-C_{15:0}, iso-C_{16:0}, iso-C_{17:0}, anteiso-C_{17:0} est présent chez toutes les espèces d'*Actinoalloteichus* (un pourcentage de présence de 100%). Il est possible de considérer ces constituants comme des marqueurs biologiques (biomarqueurs) qui caractérisent les espèces du genre *Actinoalloteichus*.

D'autres composés, comme le rhamnose, phosphatidyléthalamine, phosphatidylinositol-mannoside, diphosphatidylglycerol, MK-8(H₄), MK-10(H₄), C_{15:0}, iso-C_{16:1} G, C_{16:0}, C_{17:1} w^{9c}, C_{17:0}, ont été identifiés chez la majorité des espèces d'*Actinoalloteichus*, avec des taux compris entre 66,67% et 83,33% de présence.

Pour les restes constituants, ils ont été exprimés chez quelques espèces seulement, par des pourcentages compris entre 16, 67% et 50%.

L'acide aminé LL-DAP, n'est pas inclus dans la composition cellulaire du genre *Actinoalloteichus*, car n'a pas été identifié chez aucune espèce.

L'étude chimiotaxonomique, à la base de coefficient de *Jaccard*, montre que l'espèce *A. fjordicus* est la plus proche par rapport à l'espèce *A. hoggarensis*, par un pourcentage de similarité égale à 60%, puis les espèces *A. hymeniacidonis*, *A. nanshanensis*, *A. cyanogriseus* et *A. spitiensis*, avec un pourcentage de 57.8%, 56.4%, 56.1% et 55.8%, respectivement.

En ce qui concerne l'étude moléculaire basée sur les séquences d'ARNr 16S traités par EzTaxon, le résultat de similarité obtenu indique que les espèces les plus proches par rapport à *A. hoggarensis* sont : *A. fjordicus*, *A. hymeniacidonis*, *A. nanshanensis*, *A. spitiensis*, *A. cyanogriseus* avec un pourcentage de 99,86%, 99,28%, 98,70%, 96,67%, 96,60%, respectivement.

L'étude chimiotaxonomique (à la base d'indice de *Jaccard*) et l'étude moléculaire (à la base de séquences d'ARNr 16S) ont donné quasiment les mêmes résultats en ce qui concerne l'ordre de similitude entre les espèces, donc les analyses chimiotaxonomiques peuvent être prises en considération lors d'identification et de classification des espèces actinomycétales; malgré que les techniques moléculaires basées sur l'information génétique permettent de servir des résultats plus précis et plus fiables dans la détermination de la position taxonomique des espèces.



*Conclusion et
perspectives*

Conclusion

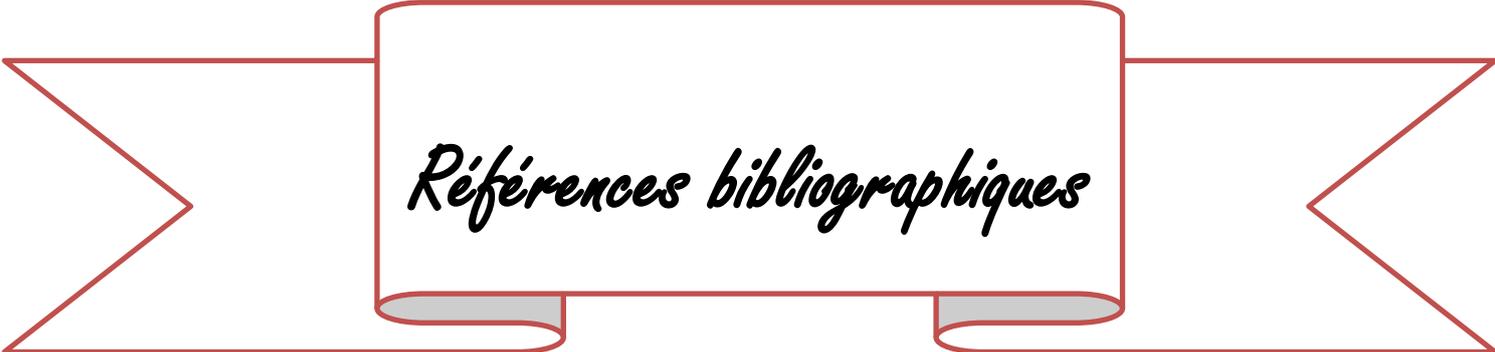
Ce travail a été réalisé en vue de chercher la similarité entre les espèces du genre *Actinoalloteichus* en basant sur deux études l'une consiste à déterminer la composition chimique cellulaire (chimiotaxonomique) qui permet d'identifier différents constituants biochimiques notamment : les sucres, les acides aminés, les ménaquinones, les phospholipides et les acides gras tout en basant sur un indice de calcul de similarité qui est le coefficient de *Jaccard*, et l'autre est l'étude moléculaire qui repose sur le patrimoine génétique, et précisément les séquences de l'ARNr 16S, qui utilise des analyses bioinformatiques tel que les alignements multiples des séquences par l'intervention des différents algorithmes et logiciels.

Ces deux études réalisées nous amènent à conclure que les résultats obtenus sont presque identiques, elles permettent de déduire les distances évolutives entre les espèces et construire les arbres phylogénétiques et particulièrement de déterminer l'espèce la plus proche en descendance à *A. hoggaensis* qui est l'*A. fjordicus* dans le premier ordre, cette dernière qui partage avec lui des caractères communs, par un degré de similarité égale à 60% (l'étude chimiotaxonomique), et 99,86% (l'étude moléculaire), tandis que les espèces identifiées comme les plus éloignées sont *A. spitiensis* et *A. cyanogriseus*.

L'étude chimiotaxonomique peut être prise en considération comme une base de classification des espèces, car ses informations fournies sur l'apparenté des espèces ne diffèrent pas à celles fournies par l'étude moléculaire ce qui lui donne une valeur scientifique, ainsi elle est moins chère. Mais les analyses moléculaires restent la méthode la plus précise et la plus efficace et rapide pour mieux établir la taxonomie hiérarchique des genres et des espèces.

À l'issue de ce travail, nous émettons quelques réflexions et recommandations sous forme de perspectives pour améliorer les résultats obtenus :

- Focaliser la caractérisation phénotypique (l'étude chimiotaxonomique) sur plusieurs combinaisons, sucres uniquement, phospholipides uniquement, sucres combinés avec les phospholipides, phospholipides combinés avec les ménaquinones, etc.
- Élargir la caractérisation phénotypique vers d'autres indices de similarité comme l'indice de *Dice*, *Simple Matching*, etc.
- Élargir l'étude vers d'autres genres de la famille des *Pseudonocardiaceae*.



Références bibliographiques

- Anandan, R., Dharumadurai, D., & Manogaran, G. P. (2016).** *An introduction to actinobacteria. In Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications.* Intechopen.
- Barka, EA, Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, HP, ... et van Wezel, GP (2016).** Taxonomie, physiologie et produits naturels des *Actinobacteria*. *Revue de microbiologie et de biologie moléculaire: MMBR*, 80 (1), 1.
- Boudjelal, F., Zitouni, A., Bouras, N., Schumann, P., Spröer, C., Sabaou, N., et Klenk, HP (2015).** *Actinoalloteichus hoggarensis* sp. nov., un actinomycète isolé du sol saharien. *Revue internationale de microbiologie systématique et évolutionnaire*, 65 (6) : 2006-2010.
- Boudjelal-bencheikh, F. (2012).** Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger, Algérie.
- Chea, E. H. (1975).** *Actinomycètes aérobies des eaux douces* (Doctoral dissertation).
- Dgigal D. (2003).** Interaction entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactéricivores : effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop De Dakar. Pp. 157.
- Goodfellow M. and Haynes J. A. (1984).** - *Actinomycetes in marine sediments. In: Biological, biochemical and biomedical aspects of actinomycetes (edited by Ortiz-Ortiz, Bojalil and Yakoleff).* Academic Press, Orlando, pp. 453–472.
- Grigorova, R., et Norris. J.R. (1990).** *Methods in microbiology*, Volume 22: *Techniques in Microbial Ecology*.
<http://www.ecosociosystemes.fr/actinomycetes.html>
- Hubert A. LECHEVALIER**, consulté le 29 mai. 2021. « ACTINOMYCÈTES », Encyclopædia Universalis [en ligne], URL : <https://www.universalis.fr/encyclopedie/actinomycetes>.
- Kaiser, Gary E**, consulté le 6 juin 2021. <http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/lecguide/unit1/prostruct/u1fig11.html>
- Kroppenstedt R. M. (1985).** - *Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. In: Chemical Methods in Bacterial Systematics.* Goodfellow M. et Minnikin D. E (Eds). Academic Press. London. pp. 173-199.
- Kroppenstedt R.M. and Eventushenko L.I. (2006).** - *The Family Nocardiopsaceae. Prokaryote*, 3, 754-795.

- Labeda D. P. and 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 (4): 420-423.
- Lahoum, A.** taxonomie et activités antimicrobiennes de quelques souches d'*Actinomadura*, de *nonomuraea*, de *nocardiopsis* et de *saccharothrix* isolées des sols d'Adrar, de Béni-abbès et du Hoggar. Mémoire de Magister. École normale supérieure de kouba, Alger, 91 p.
- Larpent J.P., Larpent-Gourgaud M. (1985).** *Eléments de Microbiologie.* Hermann Paris, 264 p.
- Larpent, J. P. (2000).** Introduction à la nouvelle classification bactérienne: les principaux groupes bactériens.
- Lechevalier M. P. and Lechevalier H. A. (1970).** - *Composition of whole-cell hydrolysates as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. In: The Actinomycetales.* Prauser H. (Eds.) G. Fisher Verlag, Jena. pp. 311-316.
- Lechevalier M. P., de Bièvre C. and Lechevalier H. A. (1977).** - *Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. Biochem. Syst. Ecol.*, 5 (4): 249-260.
- Lewin, G.R. Carlos, C. Chevrette, M. G. Horn, H.A. McDonald, B. R. Stankey, R. J. Fox, B. G. Currie, C.R. (2016).** *Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenergy Applications. The Annual Review of Microbiology.* (70) 235-254.
- Li W. J., Tang S. K., Stackebrandt E., Kroppenstedt R. M., Schumann P., Xu L. H. and Jiang C. L. (2003a).** - *Saccharomonospora paurometabolica sp. nov., a moderately halophilic actinomycete isolated from soil in China. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **53**: 1591-1594.
- Li W. J., Xu P., Tang S. K., Xu L. H., Kroppenstedt R. M., Stackebrandt E. and Jiang C. L. (2003b).** - *Prauserella halophila sp. nov. and Prauserella alba sp. nov., moderately halophilic actinomycetes from saline soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **53**: 1545-1549.
- Liu, Z., Zhang, Y. & Yan, X. (1984).** *A new genus of the order Actinomycetales. Acta Microbiol Sin* 24, 295-298.
- Lopez, P., Casane, D., & Philippe, H. (2002).** Phylogénie et évolution moléculaires-Bio-informatique (5). *médecine/sciences*, 18(11), 1146-1154.
- Mariat, F., & Sebald, M. (1990).** Les actinomycètes. *Leminor L. Bactériologie.*
- Mazodier J. (1974).** Sociétés industrielles et déchets solides. *Science et vie*, 106, 109-115. 205. McCormick J.R., Flardh K. (2012). *Signals and regulators that govern Streptomyces development. FEMS Microbiology Reviews* 2012 Jan, 36(1), 206-31.

- Meklat, F., (2012).** Taxonomie et potentiel antagoniste des actinomycètes halophiles des sols sahariens et mise en évidence de nouvelles espèces d'actinopolyspora. Thèse de doctorat. École normale supérieure de kouba-Alger, 130 p.
- Nagai A., Khan S. T., Tamura T., Takagi M. and Shin-ya K. (2011).** *Streptomyces aomiensis* sp. nov., a novel species of *Streptomyces* isolated from a soil sample using the membrane filter method. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 61: 947-950.
- Nouioui, I., Rückert, C., Willemse, J., van Wezel, GP, Klenk, HP, Busche, T., et Zotchev, SB (2017).** *Actinoalloteichus fjordicus* sp. nov. isolé à partir d'éponges marines: caractérisation phénotypique, chimiotaxonomique et génomique. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110 (12), 1705-1717.
- Parenti F. and Coronelli C. (1979).** - *Members of the genus Actinoplanes and their antibiotics. Ann. Rev.* 33: 389-411.
- Paul Jaccard. 1901.** Distribution de la flore alpine dans le bassin des Dranses et dans quelques régions voisines. Bulletin de la Société vaudoise des sciences naturelles, 37, 241-272.
- Rolland, C,** consulté le 7 juin 2021. Indices de similitude, URL : http://alpesoiseaux.free.fr/indice_similitude.htm
- Schneemann I., Nagel K., Kajahn I., Labes A., Wieseand J. and Imhoff J. F. (2010a).** - *Comprehensive investigation of marine actinobacteria associated with the sponge Halichondria panacea. Appl. Environ. Microbiol.*, 76 (11): 3702-3714.
- Schneemann I., Ohlendorf B., Zinecker H., Nagel K., Wiese J. and Imhoff J. F. (2010b).** - *Nocapyrones A-D, γ -Pyrones from a Nocardiosis strain isolated from the marine sponge Halichondria panacea. J. Nat. Prod.*, 73 (8): 1444-1447.
- Singla, AK, Mayilraj, S., Kudo, T., Krishnamurthi, S., Prasad, GS et Vohra, RM (2005).** *Actinoalloteichus spitiensis* sp. nov., une nouvelle actinobactérie isolée d'un désert froid de l'Himalaya indien. *Revue internationale de microbiologie systématique et évolutionnaire*, 55 (6), 2561-2564.
- Smith D.D.J and Norton S.J. (1980).** - *S-Adenosylmethionine, cyclopropane fatty acid synthase, and the production of lactobacillic acid in Lactobacillus plantarum. Arch. Biochem. Biophys.*, 205, 564-570.
- Stackebrandt E. and Goebel B. M. (1994).** - *Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44 (4): 846-849.
- Stackebrandt E., Kroppenstedt R. M. and Fowler V. J. (1983).** - *A phylogenetic analysis of the family Dermatophilaceae. J. Gen. Microbiol.*, 129 (6): 1831-1838.
- Stackebrandt E., Winner-Fussl B., Fowler V. J. and Schillfer K. H. (1981).** - *Deoxyribonucleic acid homologies and ribosomal ribonucleic acid similarities among*

spore forming members of the order Actinomycetales. Int. Syst. Bacteriol., 31: 420-431.

Takahashi, Y., Matsumoto, A., Seino, A., Ueno, J., Iwai, Y., & Omura, S. (2002). *Streptomyces avermectinius* sp. nov., une souche productrice d'ivermectine. *Journal international de microbiologie systématique et évolutive*, 52 (6), 2163-2168.

Tamura, T., Zhiheng, L., Yamei, Z. et Hatano, K. (2000). *Actinoalloteichus cyanogriseus* gen. nov., sp. nov. *Revue internationale de microbiologie systématique et évolutionnaire*, 50 (4), 1435-1440.

Tan GYA., Goodfellow M. (2012). *Genus V. Amycolatopsis Lechevalier et al. 1975. In Goodfellow et al. (Editors). Bergey Manual of Systematic Bacteriology*, vol. V. *The Actinobacteria*, part A, New York, Dordrecht, Heidelberg, London, Springer. pp. 1334–1358.

Tang S. K., Wang Y., Wu J. Y., Cao L. L., Lou K., Xu L.H., Jiang C. L. and Wen J. L. (2009). -*Saccharopolyspora qijiaojiangensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a salt lake. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59: 2166-2170.

Van der Meij. A, Worsley. S, Hutchings. M, GV van. (2017). Wezel Écologie chimique de la production d'antibiotiques par les actinomycètes. [Journal] volume (41 3), pp (392-416).

Wichels A., Würtz S., Döpke H., Schütt C. and G. Gunnar. (2006). - *Bacterial diversity in the breadcrumb sponge Halichondria panacea* (Pallas). *FEMS Microbiol. Ecol.*, 56 (1): 102-118.

Xiang, W., Liu, C., Wang, X., Du, J., Xi, L. et Huang, Y. (2011). *Actinoalloteichus nanshanensis* sp. nov., isolé de la rhizosphère d'un figuier (*Ficus religiosa*). *Revue internationale de microbiologie systématique et évolutionnaire*, 61 (5), 1165-1169.

Xu J., Wang Y., Xie S. J., Xu J., Xiao J. and Ruan J. S. (2009). - *Streptomyces xiamenensis* sp. nov., isolated from mangrove sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59: 472-476.

Yang R., Zhang L. P., Guo L. G., Shi N., Lu Z. and Zhang X. (2008). - *Nocardiopsis valliformis* sp. nov., an alkaliphilic actinomycete isolated from alkali lake soil in China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58: 1542-1546.

Yoshida M., Matsubara K., Kudo T. and Horikoshi K. (1991). - *Actinopolyspora mortivallis* sp. nov., a moderately halophilic actinomycete. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41: 15-20.

Zermane, F. (2007). Etude des caractéristiques culturelles des actinomycètes impliquées dans la biodégradation de la cellulose, des substances pectiques et des composés organiques de synthèse, p. 33-38.

Zhang, H., Zheng, W., Huang, J., Luo, H., Jin, Y., Zhang, W., ... et Huang, Y. (2006). *Actinoalloteichus hymeniacidonis* sp. nov., un actinomycète isolé de l'éponge marine *Hymeniacidon perleve*. *Revue internationale de microbiologie systématique et évolutionnaire*, 56 (10), 2309-2312.



Annexe I

Séquences d'ARNr 16S des six espèces d'*Actinoalloteichus* étudiées**Name:** *Actinoalloteichus cyanogriseus* Tamura et al. 2000

>Actinoalloteichus_cyanogriseus__IFO_14455__AB006178

GACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCTTCGGGGTACA
 CGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCCTGCACTCTGGGATAACCTCG
 GGAAACCGGGGCTAATACCGGATACGACCTTCCCCCGCATGGGGGTGGGTGGAAAGTTCC
 GGCGGTGCARATGGGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGC
 GACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGATACGGCCAG
 ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGA
 CGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCGCCGAAGAAGCGAA
 AGTGACGGTAGGCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG
 TAGGGTGCAGCGTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTCCGCT
 CGACTGTGAAAACCTACAGCTTAACTGTGGGCGTGCAGTCGATACGGGCAGACTTGAGTTC
 GGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCCAGATATCAGGGAACAC
 CGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGC
 GAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGGGA
 TTTCCACGTCCTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGC
 AAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAA
 TTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATGCACTGGATCGCTCAGAGATGG
 GGTTCGTAAGGTCAGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATG
 TTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCATGTTGCCAGCACGTAATGGTGGG
 GACTCATGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGAGGTCAAGTCATCA
 TGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGAAATC
 GCAAGGTGGAGCGAATCTCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACC
 CCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCG
 GGCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCGTGGCCCA
 ACCCTTGTGGGGGGAGCGGTGCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGG
 TAGCCGTACCGGAAGGTGC

Name: *Actinoalloteichus spitiensis* Singla et al. 2005

>Actinoalloteichus_spitiensis__MTCC_6194__AY426714

TCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGG
 GTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCCTGCACTCTGGGATAA
 CCTCGGAAACCGGGGCTAATACCGGATATGACCTGTCCCTGCATGGGGGTGGGTGGAAA
 GTTCCGGCGGTGCAGGATGGGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGATGGCCTACC
 AAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGATACG
 GCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACG
 CAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCGCCGAAGA
 AGCGAAAGTGACGGTAGGCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT
 AATACGTAGGGTGCAGCGTGTGTCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTG
 TCGCGTCGACTGTGAAAACCTACAGCTTAACTGTGGGCGTGCAGTCGATACGGGCAGACTT
 GAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAG
 GAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTG
 GGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGT
 GGGGATTTCCACGTCCTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTAC
 GGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGT
 GGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATGCACTGGATCGCCTCA
 GAGATGGGGTTTCCGTAAGGTCAGTGTGCAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTG
 TGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCATGTTGCCAGCACGTAA
 TGGTGGGGACTCATGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGAGGTCAA
 GTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTG
 CGAAATCGTAAGGTGGAGCGAATCTCTTAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAA
 CTCGACCCCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATAC
 GTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCG
 TGGCCCAACCCTTGTGGGGGGAGCGGTGCAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGT
 AACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGG

Name: *Actinoalloteichus hymeniacidonis* Zhang et al. 2006

>Actinoalloteichus_hymeniacidonis__HPA177(T)__DQ144222

CCGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCT
 TCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGCACTTTGG
 GATAACCTCGGGAACCGGGGCTAATACCGGATATGACATGCCATCGCATGGTGGTGTGT
 GGAAAGTTCCGGCGGTGTGGGATGGGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGATGG
 CCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAG
 ACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCC
 TGACGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCAGCGCCG
 AAGAAGCGAAAGTGACGGTAGGCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
 GCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGC
 GGTTCGCGTTCGGCTGTGAAAACCTGGGGCTTAACCTGGGCGTGCAGTCGATACGGGC
 AGACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATAT
 CAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAA
 AGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCT
 AGGTGTGGGGGATTTCCACGTCTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCCGCTGG
 GGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGCGG
 AGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATGCACCGGAC
 AGCCTCGGAGACGGGGTTTCCGCAAGGTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCT
 CGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATTCCATGTTGCCAG
 CACGTAATGGTGGGGACTCATGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACG
 ACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAA
 AGGGCTGCTAAACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCATAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGG
 GTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCG
 GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCC
 GAAGCCCATGGCCCAACCCGCAAGGGGGGAGTGGTTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGG
 ACGAAGTCGTAACCAAGGTAGCCGA

Name: *Actinoalloteichus nanshanensis* Xiang et al. 2011

>Actinoalloteichus_nanshanensis__NEAU_119__GQ926935

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGC
 GGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCC
 CCGCACACAGGGATAACCTCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAGGACATACCATCGCA
 TGGTGGTGTGTGGAAAGTTCCGGCGGTGTGGGATGGGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGT
 GGGGTGACGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACA
 CTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAAT
 GGGCGAAAGCCTGACGCAGCGACCGCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCT
 CTTTCAGCGCCGAAGAAGCGAGAGTAGCGGTGAGCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACG
 TGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGGTGCAGGCGTGTCCGGGAATTATTGGGCGTAAAG
 AGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGCTCGACTGTGAAAACCTGGGGCTTAACCCCGGGCTGCAG
 TCGATACGGGCAGACTTGAGTTCCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAA
 TGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGC
 TGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
 CGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGGATTTCCACGTCTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCG
 CCCCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAC
 AAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACA
 TGCACCGGACAGCCTCAGAGATGGGGTTTCCGTAAGGTTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCT
 GTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTC
 ATGTTGCCAGCACGTGATGGTGGGACTCATGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAA
 GGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATG
 GCCGGTACAAAGGGCTGCCAAACCGTGAGGTGGAGCGAATCCAGAAAGCCGGTCTCAGT
 TCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGC
 AACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCG
 GTAACACCCGAAGCCCGCGGCCCAACCCGTCAGGGAGGGAGTGGTTCGAAGGTGGGACTGG
 CGATTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCT
 T

Name: *Actinoalloteichus hoggarensis* Boudjelal *et al.* 2015

>Actinoalloteichus_hoggarensis__AH97__KJ504175

ACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACA
 CGTGGGTAACCTGCCCTGCACTTTGGGATAACCTCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATA
 GGACATGCCATCGCATGGTGGTGTGTGGAAAGTTCCGGCGGTGTGGGATGGGCCCGCGGC
 CTATCAGCTTGTGGTGGGGTGTATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGA
 GGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGG
 GGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACTGCCT
 TCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCGCCGAAGAAGCGAAAGTGACGGTAGGCGCAGAAGAAG
 CACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTGTCCGGAA
 TTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGGTTTGTGCGCTCGGCTGTGAAAACCTGGGGCTTA
 ACCCGGGCGGTGCAGTCGATACGGGCAGACTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCT
 GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTG
 GGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGT
 AGTCCACGCCGTAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGGGATTTCCACGTCTCCGTGCCGTAG
 CTAACGCATTAACGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATT
 GACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCT
 TACCTGGGTTTGCATGCACCCGACAGCCTCAGAGATGGGGTTTCCGCAAGGTCGGTGTAC
 AGGTGGTGCATGGCTGTCGTACGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAG
 CGCAACCCTTATTCCATGTTGCCAGCACGTGATGGTGGGGACTCATGGGAGACTGCCGGGG
 TCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTCA
 CACATGCTACAATGGCCGGTACAAAGGGCTGCTAAGCCGTGAGGTGGAGCGAATCCCAGA
 AAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGT
 AATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTC
 CGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCCATGGCCCAACCCGTGAGGGGGG

Name: "*Actinoalloteichus fjordicus*" Nouioui *et al.* 2017

>Actinoalloteichus_fjordicus__DSM_46855T_-_MF440323

GGCTCAGGACGAACGCTGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAAGGCCCTTCG
 GGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTGCACTTTGGAAT
 AACCTCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATATGACATGTCATCGCATGGTGGTGTGTGGA
 AAGTTCGGCGGTGTGGGATGGGGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGTATGGCCTA
 CCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACA
 CGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGA
 CGCAGCGACCGCGGTGAGGGATGACTGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCGCCGAAG
 AAGCGAAAGTGACGGTAGGCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG
 GTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTGCCGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTT
 TGTGCGTTCGGCTGTGAAAACCTGGGGCTTAACCCCGGGCGTGCAGTCGATACGGGCAGA
 CTTGAGTTCGGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAG
 GAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGC
 GTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGTAGTCCACGCGTAAACGGTGGGCGCTAGGT
 GTGGGGGATTTCCACGTCTCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGT
 ACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACGAGCGGCGGAGCAT
 GTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGGTTTGCATGCACCGGACAGCCT
 CAGAGATGGGGTTTCCGCAAGGTCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTGTCGTCAGCTCGTGT
 CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTCCATGTTGCCAGCACGT
 AATGGTGGGACTCATGGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTC
 AAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACATGCTACAATGGCCGGTACAAAGGGC
 TGCTAAGCCGTGAGGTGGAGCGAATCCCAGAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTG
 CAACTCGACCCCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAA
 TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGC
 CCATGGCCCAACCCGTGAGGGGGGAGTGGTTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAG
 TCGTAACAAGGT

Annexe II

Pourcentages de similarité obtenus par l'indice de Jaccard.

Paire des séquences	M ₁₁	M ₀₁	M ₁₀	M ₀₀	Coefficient (Similarité) de Jaccard-Sneath $J = M_{11} / (M_{11} + M_{01} + M_{10})$	Pourcentage
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. hoggarensis</i>	28	0	0	28	28/28 = 1	100%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. cyanogriseus</i>	23	13	5	15	23/23+13+5 = 0,561	56,1%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. spitiensis</i>	19	6	9	22	19/19+6+9 = 0,558	55,8%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. hymeniacidonis</i>	22	10	6	18	22/22+10+6 = 0,578	57,8%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. nanshanensis</i>	22	11	6	17	22/22+11+6 = 0,564	56,4%
<i>A. hoggarensis</i> / <i>A. fjordicus</i>	21	7	7	21	21/21+7+7 = 0,6	60%
<i>A. cyanogriseus</i> / <i>A. cyanogriseus</i>	36	0	0	20	36/36 = 1	100%
<i>A. cyanogriseus</i> / <i>A. spitiensis</i>	23	1	14	18	23/23+1+14 = 0,605	60,5%
<i>A. cyanogriseus</i> / <i>A. hymeniacidonis</i>	23	9	13	11	23/23+9+13 = 0,511	51,1%
<i>A. cyanogriseus</i> / <i>A. nanshanensis</i>	27	6	10	13	27/27+6+10 = 0,627	62,7%
<i>A. cyanogriseus</i> / <i>A. fjordicus</i>	23	5	13	15	23/23+5+13 = 0,560	56%
<i>A. spitiensis</i> / <i>A. spitiensis</i>	24	0	0	32	24/24 = 1	100%
<i>A. spitiensis</i> / <i>A. hymeniacidonis</i>	17	15	7	17	17/17+15+7 = 0,435	43,5%
<i>A. spitiensis</i> / <i>A. nanshanensis</i>	23	10	3	20	23/23+10+3 = 0,638	63,8%
<i>A. spitiensis</i> / <i>A. fjordicus</i>	20	8	4	24	20/20+8+4 = 0,625	62,5%
<i>A. hymeniacidonis</i> / <i>A. hymeniacidonis</i>	32	0	0	24	32/32 = 1	100%
<i>A. hymeniacidonis</i> / <i>A. nanshanensis</i>	26	7	6	17	26/26+7+6 = 0,666	66,6%
<i>A. hymeniacidonis</i> / <i>A. fjordicus</i>	21	7	11	17	21/21+7+11 = 0,538	53,8%
<i>A. nanshanensis</i> / <i>A. nanshanensis</i>	33	0	0	23	33/33 = 1	100%
<i>A. nanshanensis</i> / <i>A. fjordicus</i>	25	3	8	20	25/25+3+8 = 0,694	69,4%
<i>A. fjordicus</i> / <i>A. fjordicus</i>	28	0	0	28	28/28 = 1	100%

Annexe III

Mesures de similarités calculées par PAST 3 reposant sur le coefficient de Jaccard

	A. hoggar.	A. cyanog.	A. spitiensi:	A. hymenia	A. nansha.	A. fjordicus
A. hoggar.	1	0,56097561	0,52941176	0,57894737	0,56410256	0,6
A. cyanog.	0,56097561	1	0,62162162	0,51111111	0,64285714	0,56097561
A. spitiensi:	0,52941176	0,62162162	1	0,43589744	0,58333333	0,625
A. hymenia	0,57894737	0,51111111	0,43589744	1	0,66666667	0,53846154
A. nansha.	0,56410256	0,64285714	0,58333333	0,66666667	1	0,69444444
A. fjordicus	0,6	0,56097561	0,625	0,53846154	0,69444444	1