

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
HOUARI BOUMEDIENE - ALGER

INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE

THESE

PRÉSENTÉE

par

HACENE Hocine

EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE MAGISTER
EN SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : Microbiologie des Sols

**DETERMINATION DES ACTINOMYCETES
PRODUCTEURS D'ANTIBIOTIQUES ISOLES DU SOL
DE TROIS PALMERAIES DU SUD-OUEST ALGERIEN**

Soutenu le Juin 1986
devant la Commission d'Examen

PRÉSIDENT:

Mr A. CHIKHI

DIRECTEURS DE T

Mr N. SABAOU

Mme N. BOUNAI

EXAMINATEURS:

Mme F. BOULAF

Mr T. BATHNAG

MAG / 574-26 / 01

13/20

A la mémoire de mon père

A toute ma famille

S O M M A I R E

	<u>Pages</u>
INTRODUCTION	1
• DISTRIBUTION ET IMPORTANCE DES ACTINOMYCETES	3
• HISTORIQUE DE L'ETUDE DES ACTINOMYCETES ET SYSTEMATIQUE	6
<u>CHAPITRE 1 : MATERIEL D'ETUDE</u>	9
I - PRESENTATION ET CARACTERISTIQUE DES ECHANTILLONS DE SOL	10
1 - Palmeraie de Béni-Abbès	10
2 - Palmeraies d'Adrar et de Timimoun	10
II - ISOLEMENT DES ACTINOMYCETES	11
III - PRELEVEMENTS ET REPARTITION DES ISOLATS	11
1 - Palmeraie de Béni-Abbès	11
2 - Palmeraies d'Adrar et de Timimoun	12
IV - MICROORGANISMES - TEST	12
1 - Bactéries	12
2 - Champignons	15
3 - Levure	17
V - CONSERVATION DES MICROORGANISMES	17
<u>CHAPITRE 2 : TESTES D'ANTAGONISME</u>	18
I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL	19
1 - Méthode des traits ou "stries croisées"	19
2 - Méthode des disques d'agar	19
2.1 - Antagonisme "Actinomycètes-bactéries"	20
2.2 - Antagonisme "Actinomycètes-champi- gnons et levure"	20

مكتبة كلية العلوم
ملحققة البيولوجيا



II - RESULTATS ET DISCUSSION	21
1 - Tests d'antibiiose effectués par la méthode des traits	21
1.1 - Action antagoniste des actinomycètes	21
1.2 - Distribution des actinomycètes pro- ducteurs d'antibiotiques	21
1.2.1 - Horizons de sol de surface et profonds de la palmeraie de Béni-Abbès	22
1.2.2 - Horizons de surface des pal- meraies de Béni-Abbès, d'Adrar et de Timimoun	23
2 - Tests d'antibiiose effectués par la méthode des disques d'agar	23
2.1 - Antagonisme "actinomycètes - bactéries à Gram ⁺ "	23
2.2 - Antagonisme "actinomycètes - bactéries à Gram ⁻ "	24
2.3 - Antagonisme "actinomycètes - champi- gnons et levure"	24
III - CONCLUSION	24
 <u>CHAPITRE 3 : DETERMINATION DES ACTINOMYCETES PRODUCTEURS D'ANTIBIOTIQUES</u>	 26
I - CRITERES MORPHOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES	27
1 - Identification des genres	27
2 - Identification des espèces	27
2.1 - La couleur du mycélium aérien	28
2.2 - La morphologie des chaînes de spores	28
2.3 - L'ornementation de la surface des spores	28

	<u>Pages</u>
2.4 - La production ou non de pigments mélanoïdes	29
2.5 - La couleur du mycélium végétatif	29
2.6 - La production et la couleur des pigments solubles	29
2.7 - Utilisation de huit sources de carbone	29
 II - CRITERES CHIMIQUES	 30
 <u>MATERIEL ET METHODE</u>	 31
 I - ETUDE MORPHOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE	 31
1 - Etude morphologique	31
1.1 - Couleur des colonies et des pigments solubles	31
1.2 - Morphologie des chaînes de spores	31
1.3 - Ornementation de la surface des spores	32
2 - Etude physiologique	32
2.1 - Production de mélanines	32
2.2 - Utilisation des sucres	32
 II - ANALYSE DES CONSTITUANTS CELLULAIRES	 33
1 - Mise en évidence de l'acide diaminopimélique (D.A.P) et de la glycine	33
2 - Analyse des sucres	34
 <u>RESULTATS ET DISCUSSION</u>	 35
 I - ANALYSE DES CONSTITUANTS CELLULAIRES	 35
1 - Clé d'identification	35
2 - Identification des isomères de l'acide diamino- pimélique (D.A.P) et de la glycine	35
3 - Identification des sucres	35

	<u>Page</u>
II - ETUDE MORPHOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE	37
1 - Actinomycètes à paroi de type I	37
1.1 - Identification des genres	37
1.2 - Identification des espèces du genre <i>Streptomyces</i>	37
1.2.1 - Série des "Gris"	39
1.2.2 - Série des "Rouge"	50
1.2.3 - Série des "Bleu"	57
1.2.4 - Série des "Jaune"	60
1.2.5 - Série des "Vert"	62
1.3 - Identification des espèces du genre <i>Streptoverticillium</i>	63
1.4 - Identification de l'espèce du genre <i>Elytrosporangium</i>	64
2 - Actinomycètes à paroi de type II	65
3 - Actinomycètes à paroi de type III	67
3.1 - Clé de détermination des genres	67
3.2 - Identification des genres	67
3.2.1 - Identification des espèces de <i>Spirillospora</i>	67
3.2.2 - Identification de l'espèce d' <i>Actinomadura</i>	70
3.2.3 - Identification des espèces de <i>Nocardiosis</i>	70
4 - Actinomycètes à paroi de type IV	72
4.1 - Clé de détermination des genres	72
4.2 - Identification des genres	72
4.2.1 - Identification de l'espèce de <i>Saccharopolyspora</i>	74
4.2.2 - Identification de l'espèce de <i>Saccharomonospora</i>	76
<u>DISCUSSION GENERALE</u>	80
CONCLUSION GENERALE - RESUME	87
BIBLIOGRAPHIE	91
ANNEXES	

AVANT-PROPOS

Au terme de ce travail réalisé à l'U.R.Z.A (Unité de Recherche sur les Zones Arides, U.S.T.H.B), il m'est agréable de remercier vivement tous ceux qui, grâce à leur aide précieuse, ont permis cette réalisation.

Je dois remercier particulièrement :

Monsieur CHIKHI A., Professeur à l'U.S.T.H.B., qui a bien voulu me faire l'honneur de présider ce Jury.

Madame BOULAHBAL F., Professeur à l'I.S.M., pour m'avoir permis d'acquérir certains techniques de manipulation des germes pathogènes et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Monsieur BATHNAGAR T., Professeur à l'U.S.T.H.B., qui a bien voulu accepter de lire le manuscrit. Ses suggestions et ses conseils m'ont été extrêmement utiles. Il me fait l'honneur de juger mon travail pour une deuxième fois.

Madame BOUNAGA N., Maître de Conférences à l'U.S.T.H.B. et Directeur de l'U.R.Z.A., qui n'a ménagé aucun effort pour résoudre les problèmes rencontrés, malgré ses nombreuses charges. Ses interventions ont été déterminantes.

Monsieur SABAOU N., Chargé de Cours à l'E.N.S., qui est à l'origine de ce travail. Malgré son incorporation au Service National, il n'a pas cessé de me porter aide lorsque cela a été possible.

Je tiens également à exprimer ma gratitude à :

Monsieur KEDAD, pour m'avoir permis d'utiliser le microscope électronique.

Mademoiselle BENHASSIR F., pour son aide lors des manipulations du microscope électronique.

Monsieur GUEMATI pour avoir consacré beaucoup de son temps à m'apprendre les différentes techniques utilisées en microbiologie.

Monsieur et Madame BENADJI, Monsieur et Madame AMIR, pour leur soutien de la collaboration et leurs encouragements.

SALAH OUELHADJ

Messieurs BRAC DE LA PERRIERE; BENSAD, SAHNOUN, HABILA, pour leur aide.

Madame MEKEBEL pour les soins qu'elle a porté lors de la frappe de ce texte.

Enfin, cela a été un plaisir de travailler avec mes collègues de Laboratoire : ALI OUSALAH, BERBERI, BOUTAIBA, MEHDI, LOTMANI,....

I N T R O D U C T I O N

Les précédents travaux effectués à l'U.R.Z.A (Unité de Recherche sur les Zones Arides) ont montré que plusieurs échantillons de sols des palmeraies de Béni-Abbès et d'Adrar contiennent un fort pourcentage en actinomycètes (60 à 90 %) (SABAOU *et al.*, 1980; AMIR *et al.*, 1985). Environ 50 % des isolats provenant du sol d'Adrar ont montré une action antibiotique contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, champignon responsable de la fusariose du palmier dattier (*Phoenix dactylyfera*) (SABAOU *et al.*, 1980). A partir de ces résultats, il fut établi à l'U.R.Z.A. un programme de recherche qui consistait à :

- rechercher systématiquement les actinomycètes producteurs d'antibiotiques antifongiques ou antibactériens dans les sols de plusieurs palmeraies algériennes,
- étudier ces actinomycètes de manière à connaître les espèces qui peuvent s'adapter aux sols des zones arides et avoir un aperçu sur les antibiotiques qu'ils peuvent produire;
- isoler, purifier et déterminer les antibiotiques intéressants et trouver les meilleures conditions de production.

Dans le cadre de ce programme, nous nous sommes proposés d'isoler et de déterminer de nombreux actinomycètes mésophiles producteurs d'antibiotiques contre plusieurs germes pathogènes ou non et provenant des sols de trois palmeraies du Sud-Ouest algérien : Béni-Abbès, Adrar et Timimoun.

Ces travaux seront complétés par ceux de nos collègues A. BOUTAIBA, sur les actinomycètes mésophiles des sols de quelques palmeraies du Sud-Centre et Sud-Est et A. ALI OUSALAH, sur les actinomycètes thermophiles des mêmes palmeraies, ainsi que celles du Sud-Ouest algérien.

DISTRIBUTION ET IMPORTANCE DES ACTINOMYCETES

Les actinomycètes sont des bactéries mycéliennes Gram positives et hétérotrophes. Ils présentent certaines analogies avec les champignons qui sont en fait superficielles, puisqu'il ne s'agit que d'une convergence de forme : structure mycélienne présentant des ramifications, formation fréquente d'un mycélium aérien et de conidies, absence de turbidité en milieu liquide agité, etc... Cependant, ils ont une organisation cellulaire typiquement procaryote. Leurs filaments mycéliens sont très fins (1 à 1,5 um en moyenne). Ils sont sensibles aux antibiotiques antibactériens et aux phages.

Ils sont universellement répandus. En dehors de quelques espèces parasites de l'homme, des animaux et des plantes, on les rencontre dans le sol, dans les eaux, dans les aliments et dans l'atmosphère.

Dans le sol, ils sont largement distribués. Ils représentent en général 10 à 30 % du total des microorganismes telluriques (DOMMERMUES et MANGENOT, 1970). Leur proportion peut être parfois plus importante dans certains sols. REED RODRIGUES COELHO et DROZDOWICZ (1978) ont montré que dans certains sols acides du Brésil, les actinomycètes représentent 76 à 98 % du total des microorganismes.

Le genre le plus important numériquement est *Streptomyces*. Il constitue environ 70 % des actinomycètes telluriques (DOMMERMUES et MANGENOT, 1970).

Cette large distribution serait due en partie à leur capacité à dégrader des matières organiques complexes que d'autres microorganismes ne peuvent utiliser (DOMMERMUES et MANGENOT, 1970; HAWKER et LINTON, 1971; BONNEAU et SOUCHIER, 1979); par conséquent, ils jouent un rôle dans la fertilité des sols.

C'est parmi les actinomycètes que l'on retrouve le plus grand pourcentage de microorganismes producteurs d'antibiotiques (DOMMERMUES et MANGENOT, 1970; ASSELINEAU et ZALTA, 1973; STANIER *et al.*, 1982; SASSON, 1983; TIRABY et ETIENNE, 1983). DOMMERMUES et MANGENOT (1970) rapportent que 50 à 75 % des actinomycètes actuellement connus sont capables de sécréter des substances antibiotiques qui peuvent agir sur des bactéries, mais aussi sur des champignons.

La découverte de la streptomycine en 1943, produite par *S. griseus*, et de son intérêt thérapeutique, a suscité un important effort de recherche dans le secteur pharmaceutique. Depuis, des centaines de substances antibiotiques ont été extraites de cultures d'actinomycètes et en particulier de *Streptomyces*. KURLOWICZ (1976) rapporte que sur 1 530 antibiotiques produits par les actinomycètes, 1 467 le sont par des *Streptomyces*. Un nombre appréciable de ces substances a trouvé une application en médecine (tétracyclines, chloramphénicol, érythromycine, nystatine, etc...).

La découverte de l'action anticancéreuse de l'actinomycine a stimulé la recherche de composés inhibant la croissance tumorale synthétisés par les microorganismes, en particulier des actinomycètes. Les travaux effectués ces dernières années ont abouti à l'obtention d'antibiotiques anticancéreux dont certains sont utilisés pour le traitement de certaines tumeurs : l'olivomycine (GAUZE *et al.*, 1962); la brunéomycine (KOUDRINA *et al.*, 1966); la rubomycine (PREOBRAZHENSKAIA *et al.*, 1966); la chartreusine (MAKOTO *et al.*, 1980).

Dans le sol, plusieurs facteurs interfèrent avec la production des antibiotiques et leur mise en évidence est délicate (CLARK, 1969; ROTTHROCK et GOTTLIEB, 1981). Cependant, l'utilisation de l'activité antagoniste des actinomycètes a attiré l'attention des phytopathologistes pour lutter contre les agents pathogènes de certaines plantes. Les amendements organiques stimulant une microflore antagoniste ont été utilisés et en particulier, la chitine qui a donné des résultats dans la lutte contre les fusarioses (MITCHEL *et al.*, 1961; MITCHEL, 1963; SCHIPPERS *et al.*, 1972; BAKER et COOK, 1974; GUY et BAKER, 1977). L'effet favorable de cet amendement est attribué à la stimulation des actinomycètes antagonistes dont un fort pourcentage est capable de dégrader la chitine.

Par ailleurs, certains actinomycètes et en particulier les *Streptomyces*, sont de grands producteurs d'enzymes. La glucose isomérase est extraite de nombreux *Streptomyces*; celle de *S. violaceoniger* est très utilisée dans l'industrie de l'amidon (TIRABY et ETIENNE, 1983).

De nombreuses autres substances (polypeptides, inhibiteurs de diverses activités enzymatiques, vitamines) sont isolées à partir de nombreuses espèces de *Streptomyces*. Certaines substances produites par des actinomycètes ont une activité déodorisante (OHTA et IKEDA, 1978). De plus, l'utilisation des techniques du génie génétique chez les *Streptomyces*, pour améliorer la production de nombreuses molécules utiles, est prometteuse (SASSON, 1983; TIRABY et ETIENNE, 1983).

Quelques actinomycètes (espèces du genre *Frankia*) sont des fixateurs symbiotiques de l'azote atmosphérique (BECKING, 1974) et actinorhizent de nombreuses plantes.

HISTORIQUE DE L'ETUDE DES ACTINOMYCETES ET SYSTEMATIQUE

C'est en 1875 que COHN décrit le premier actinomycète qu'il appela *Streptothrix foeresteri* (nom non validé car donné auparavant à un champignon). Trois années plus tard, HARZ isola l'agent étiologique des actinomycoses du bétail et le nomma *Actinomyces bovis*. ORLA YENSEN (1909) créa la famille des *Actinomycetaceae* qui comprend un seul genre *Actinomyces*. Après une période qui correspond à la découverte des germes pathogènes, une autre se rapportant à l'étude des actinomycètes du sol, débuta en 1900. KRAINSKY (1914) et WAKSMAN et CURTIS (1916) ont isolé et décrit de nombreuses espèces d'actinomycètes du sol. BUCHANAN (1917) créa l'ordre des *Actinomycetales* comprenant la famille des *Actinomycetaceae*, et WINSLOW et al., (1920) inclurent également les *Mycobacteriaceae* dans cet ordre. Le genre *Actinomyces* (appartenant à la première famille citée) regroupait 226 espèces qui présentaient des propriétés morphologiques et physiologiques extrêmement diversifiées. Il représentait en fait la plupart des genres actuels. C'est ainsi que plusieurs auteurs, se basant sur certains critères morphologiques, ont scindé ce genre en plusieurs autres.

ORSKOV (1923) créa le genre *Micromonosproa* et y inclua les actinomycètes produisant des spores isolées dans le mycélium végétatif et ne formant pas de mycélium aérien.

YENSEN (1934) regroupa certains actinomycètes, dont le mycélium végétatif se fragmente, dans le genre *Proactinomyces* (remplacé actuellement par *Nocardia*).

A partir de l'année 1943 commença l'époque des antibiotiques produits par les actinomycètes avec la création du genre *Streptomyces* (WAKSMAN et HENRICI, 1943) et l'isolement de la streptomycine. C'est en combinant les noms des genres *Streptothrix* et *Actinomyces* que ces auteurs créèrent le genre *Streptomyces* qui regroupe les actinomycètes à mycélium végétatif non fragmenté et à mycélium aérien produisant de longues chaînes de spores non mobiles. Le nom de *Actinomyces* est réservé aux actinomycètes anaérobies ou anaérobies facultatifs, ne produisant ni spores, ni mycélium aérien et dont la plupart sont pathogènes.

En 1958, PRIDHAM *et al.*, proposèrent un système de classification des *Streptomyces* basé sur la morphologie des sporophores et la couleur du mycélium aérien. ETTLINGER *et al.* (1958) introduirent un autre caractère important pour la différenciation des espèces : la production des pigments mélanoides.

A partir de 1958, de très nombreux genres et espèces ont été créés et la taxonomie des actinomycètes est devenue de plus en plus complexe. Pour améliorer leur systématique, plusieurs auteurs ont proposé de nouveaux critères, tels que :

- l'utilisation des actinophages (BRADLEY *et al.*, 1961),
- l'ornementation de la surface des spores (TRESNER *et al.*, 1961; HUTTER, 1962 et 1967; PREOBRAZHENSKAYA *et al.*, 1965),
- la production de structures spéciales comme les sporanges, sclérotés, zoospores, ... (THIRUMALACHAR, 1955; LECHEVALIER *et al.*, 1968),
- la couleur des mycéliums aérien et végétatif (WAKSMAN, 1961; TRESNER et BACKUS, 1963; SHIRLING et GOTTLIEB, 1966; SZABO, 1978),
- la sensibilité aux antibiotiques (LYONS et PRIDHAM, 1973),
- l'analyse du pourcentage en guanine-cytosine des actinomycètes (YAMAGUCHI, 1967; BRADLEY *et al.*, 1973),
- l'analyse des constituants cellulaires (BECKER *et al.*, 1964 et 1965; LECHEVALIER et LECHEVALIER, 1965 et 1970(a); MINNIKIN *et al.*, 1977; LECHEVALIER *et al.*, 1977; YAMADA *et al.*, 1977).

Ces critères chimiques complémentaires de l'étude morphologique, jouent un rôle très important dans la reconnaissance des actinomycètes au niveau des genres. Ils ont permis d'une part, de classer ceux dont la position taxonomique était douteuse, et d'autre part, la création de nouveaux genres : *Kitasatosporia* (OMURA *et al.*, 1982); *Saccharothrix* (LABEDA *et al.*, 1984); *Glycomyces* (LABEDA *et al.*, 1985); *Kibdelosporangium* (SHEARER *et al.*, 1985).

Certains auteurs ont utilisé la taxonomie numérique pour différencier un très grand nombre d'espèces et de genres d'actinomycètes (GOODFELLOW, 1971; CROSS et GOODFELLOW, 1973; GOODFELLOW *et al.*, 1979; MCCARTHY et CROSS, 1983; ATHAYLE *et al.*, 1985).

Si la classification des espèces autres que celles des *Streptomyces*, est relativement aisée, il en est autrement pour celles appartenant à ce genre, qui constituent environ 70 % du total des actinomycètes (463 espèces décrites dans la huitième édition du Bergey's Manual, 1974). De plus, en raison des recherches de nouveaux antibiotiques, plusieurs centaines de souches intéressantes sont décrites dans la littérature et considérées comme de nouvelles espèces. KUTZNER (1982) rapporte que le nombre d'espèces de *Streptomyces* peut excéder 1 000. C'est pourquoi la notion d'espèce chez les *Streptomyces* demande à être clarifiée, car malgré le nombre et la diversité des antibiotiques et autres substances utiles produites, ils sont très proches génétiquement comme l'a montré la détermination du pourcentage en guanine cytosine qui varie très peu à l'intérieur du genre (70-73 %) (TIRABY et ETIENNE, 1983). De nombreux "noms d'espèces" ne sont en fait que des synonymes et ceci est confirmé par PELCZAR *et al.* (1986) qui rapportent que 340 espèces et 39 sous-espèces de *Streptomyces* sont reconnues officiellement.

Le travail que nous exposons dans ce mémoire, se compose de trois chapitres :

- le Chapitre 1 comporte le matériel d'étude,
- dans le Chapitre 2, nous étudions l'activité antagoniste des actinomycètes producteurs d'antibiotiques. Les isolats les plus intéressants sont sélectionnés,
- le Chapitre 3 concerne l'identification des actinomycètes producteurs d'antibiotiques.

Enfin, la répartition des genres et espèces d'actinomycètes producteurs d'antibiotiques dans différents horizons de sol est discutée.

CHAPITRE 1 : MATERIEL D'ETUDE

I - PRESENTATION ET CARACTERISTIQUE DES ECHANTILLONS DE SOL

Les sols étudiés proviennent des palmeraies de trois oasis du Sud-Ouest algérien : Béni-Abbès, Adrar et Timimoun. Ils ont été prélevés durant le mois de février 1984 pour la palmeraie de Béni-Abbès et février 1985 pour les palmeraies d'Adrar et de Timimoun.

1 - Palmeraie de Béni-Abbès

Les prélèvements d'échantillons de sols sont effectués en suivant la toposéquence réalisée par A. BENADJI (1), qui passe par le milieu de la palmeraie. Neuf fosses d'environ 2 mètres de profondeur et distantes les unes des autres de 20 à 40 mètres, sont creusées le long de cette toposéquence. Les horizons de sol ont été déterminés dans chacune des fosses.

D'autres prélèvements sont effectués en dehors de cette toposéquence et en surface. Les échantillons de sol ont été prélevés lors de l'expérience réalisée par H. BENADJI (1), qui consistait à suivre l'évolution de la dégradation de la matière organique. Pour cela, le sol a été enrichi avec des fragments de paille d'orge ou de palmes de dattier, de manière à ce que la quantité de carbone ajoutée dans le sol soit de 1 %. Les prélèvements ont été effectués 9 mois après l'amendement du sol.

La dénomination des différents horizons, leur profondeur, le nombre d'échantillons analysés ainsi que quelques caractéristiques des sols, sont donnés dans le tableau 1.

2 - Palmeraies d'Adrar et de Timimoun

Quatre échantillons de sol de surface (0 à 20 cm de profondeur) sont prélevés par palmeraie. Quelques caractéristiques de ces sols sont données dans le tableau 1. D'autres analyses pédologiques de ces échantillons sont entreprises à l'U.R.Z.A.

(1) A. BENADJI et H. BENADJI : Travaux en cours de réalisation et non publiés U.R.Z.A (Alger).

II - ISOLEMENT DES ACTINOMYCETES

746 souches d'actinomycètes sont isolées des différents horizons de sol. L'isolement est effectué par la méthode des suspensions-dilutions. Les milieux de culture utilisés sont :

- la gélose nutritive dont la composition est la suivante :

- . peptone 5 g
- . extrait de viande 2 g
- . extrait de levure 1 g
- . eau distillée 1 000 ml

- le milieu à base de chitine (LINGAPPA et LOCKWOOD, 1962),
- le milieu à base d'amidon (KUSTER et WILLIAMS, 1964),
- l'extrait de terre gélosé (POCHON et TARDIEUX, 1962).

Le pH est ajusté à 7 - 7,2. Après stérilisation à l'autoclave, ces milieux sont additionnés d'un antifongique (50 µg/ml) : le cycloheximide ou actidione.

Les isolats ont été purifiés par la méthode des stries sur corn-meal-agar (Difco) et gélose nutritive.

La température d'incubation est de 28 - 30°C.

III - PRELEVEMENTS ET REPARTITION DES ISOLATS

Nous avons isolé le plus grand nombre de souches les plus représentatives et toutes les colonies particulières (colonies ponctiformes, aspects particuliers, couleurs caractéristiques, etc...).

Les souches isolées se répartissent comme suit :

1 - Palmeraie de Béni-Abbès

554 isolats. Leur répartition au niveau des différents horizons de sol est donnée dans le tableau 1. Ces isolats sont numérotés 1, 2, 3,



2 - Palmeraies d'Adrar et de Timimoun

Nous avons prélevé 104 souches du sol d'Adrar et 98 de celui de Timimoun. Pour les différencier, ces isolats numérotés, sont précédés de AD (pour Adrar) et TM (pour Timimoun).

IV - MICROORGANISMES - TEST

Les microorganismes utilisés pour les tests d'antagonisme vis-à-vis des actinomycètes sont :

1 - Bactéries

Six espèces de bactéries Gram positives dont trois pathogènes et neuf bactéries Gram négatives dont 5 pathogènes. Le tableau 2 donne la liste et l'origine de chaque souche.

Pour avoir un aperçu sur la sensibilité des souches de bactéries à différents antibiotiques, nous avons effectué des antibiogrammes sur gélose nutritive. Ce milieu est additionné de 5 % de sang de mouton pour les bactéries exigeantes en éléments nutritifs : *Corynebacterium diphtheriae* et *Streptococcus pyogenes*.

Les disques d'antibiotiques utilisés sont commercialisés par l'Institut Pasteur de Paris.

- β lactamines : oxacilline (5 μ g) et pénicilline G (6 μ g)
- Aminosides : framycétine (30 UI), gentamycine (10 UI), Kanamycine (30 UI), paramomycine (30 UI), streptomycine (10 UI) et tobramycine (10 UI)
- Phénicolés : chloramphénicol (30 μ g)
- Tétracyclines : tétracycline (30 UI)
- Macrolides : érythromycine (15 UI), lincomycine (15 UI) et spiramycine (15 UI)
- Synergistines : pristinamycine (15 μ g et virginiamycine (15 μ g)

Tableau 1 : Quelques caractéristiques des horizons de sols des palmeraies de Béni-Abbès, d'Adrar et de Timimoun. Nombre et origine des isolats d'actinomycètes prélevés

Palme-raie	Hori-zone	Profondeur des prélèvements	Nbre d'échantillons par horizons	Nbre d'isolats d'actinomycètes par origine	Quelques caractéristiques des sols			
					Texture	Ca CO ₃ (%)	pH eau (1/2,5)	Carbone (%)
B E N I A B B E S	V1 T	0 - 20cm	10	161	sablo-limoneuse	8,7	8,2	0,7
	V1 L	0 - 20cm	3	95	" "	8,2	8,2	1,0
	V1 M	0 - 20cm	3	91	" "	8,2	8,2	1,0
	V2	30 - 40cm	2	16	sableuse	1,41	8,8	0,1
	V3	55 - 70cm	2	3	sableuse	3,11	8,3	0,1
	V1B	70 - 80cm	2	10	sableuse	5,92	8,3	0,17
	V4	100 - 110cm	1	12	sableuse	0,13	8,6	0,06
	V5	110 - 180cm	9	146	sablo-argileuse	17,16	8,15	0,20
	V6	180 - 200cm	1	10	sableuse	11,5	8,0	0,11
A D R A R	Surface	0 - 20 cm	4	104	sablo-limoneuse	13,2	8,2	0,16
Ti- MI- MOUN	Surface	0 - 20 cm	4	98	Analyses pédologiques en cours à l'O.R.Z.A			

V1 T : horizon de sol non amendé

V1 L : horizon de sol enrichi avec la paille d'orge

V1 M : horizon de sol enrichi avec des palmes de dattier.

Tableau 2 : Origine et mode de vie des souches de bactéries utilisées pour les tests d'antibiogramme

Gram	Genres et espèces	Mode de vie	Origine
Gram ⁺	1 - <i>Micrococcus luteus</i>	Souche saprophyte	Collection de l'URZA
	2 - <i>Bacillus subtilis</i>	Souche saprophyte	" "
	3 - <i>Bacillus cereus</i>	Souche saprophyte	" "
	4 - <i>Staphylococcus aureus</i>	Souche pathogène, responsable de diverses infections cutanées	Institut Pasteur d'Alger
	5 - <i>Streptococcus pyogenes</i>	" " " "	" "
	6 - <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Souche pathogène, agent de la diphtérie	" "
Gram ⁻	1 - <i>Escherichia coli</i>	Souche saprophyte	Université d'Oran
	2 - <i>Enterobacter hafniae</i>	Souche saprophyte	" "
	3 - <i>Proteus mirabilis</i>	Souche saprophyte	" "
	4 - <i>Escherichia coli</i> (12 F 12)	Agent de la gastro-entérite infantile	Institut Pasteur d'Alger
	5 - <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Agent de la pneumonie	" "
	6 - <i>Salmonella typhi</i>	Agent de la typhoïde	" "
	7 - <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Souche saprophyte	" "
	8 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Souche pathogène, responsable d'infections diverses (infections urinaires, souillures des plaies, ...)	" "
	9 - <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Responsable de la galle du collet chez de nombreuses plantes cultivées.	Laboratoire de Microbiologie, Université Laval, Canada.

- Sulfamides et associations :
 - . sulfamides (200 µg)
 - . T.S.U. : mélange de deux substances : triméthoprim (1,25 µg) + sulfamides (23,73 µg).
- Polypeptides : colimycine (50 µg)
- Divers : acide fusidique (10 µg) et rifampicine (30 µg).

Ces antibiogrammes montrent que :

- . Les bactéries à Gram⁺ saprophytes (*M.luteus*, *B. subtilis* et *B.cereus*) sont sensibles à tous ou à la plupart des antibiotiques.
- . Les bactéries à Gram⁺ pathogènes *S. aureus* et surtout *C. diphtheriae* et *S. pyogenes* présentent une plus grande résistance vis-à-vis de certains antibiotiques (colimycine, T.S.U,...).
- . Les bactéries à Gram⁻ pathogènes *S. typhi*, *A. tumefaciens* et *P.aeruginosa* sont les plus résistantes, notamment *P. aeruginosa* qui n'est sensible qu'à la gentamycine et à la framycétine.
- . Les autres bactéries à Gram⁻ présentent des degrés de sensibilités variables suivant les antibiotiques, mais sont relativement plus résistantes que les bactéries à Gram⁺ (Tableau 3).

2 - Champignons

Deux champignons provenant de la collection du Laboratoire de Botanique (U.R.Z.A) sont utilisés :

- *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* (souche M₂) : agent de la fusariose du palmier dattier (Bayoud).
- *Aspergillus flavus* (souche Af₁) : isolé du sol. Cette espèce est normalement saprophyte, mais certaines souches sont responsables de nombreuses épidémies mortelles chez les animaux domestiques (volailles, ovins, bovins), et peuvent être très dangereuses pour l'homme à cause des aflatoxines cancérogènes qu'elles sécrètent (MOREAU, 1969).

Tableau 3 : Sensibilité des bactéries à quelques antibiotiques

Antibiotiques \ Bactéries	Bactéries															
	<i>H. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>C. diphtheriae</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli (12672)</i>	<i>S. typhi</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. tumefaciens</i>	
Pénicilline G*	24	28	21	R***	18	10	10	10	R	R	R	10	R	R	R	
Oxacilline	17	27	R	R	10	12	R	15	R	R	R	R	R	R	R	
Streptomycine	20	28	28	10	R	15	25	28	23	15	21	R	21	R	R	
Kanamycine	21	29	23	11	R	18	18	10	20	22	R	13	14	R	R	
Gentamycine	29	30	23	R	R	13	19	30	20	R	10	17	18	24	R	
Tobramycine	21	29	23	13	R	16	18	30	22	22	R	17	23	R	R	
Paromomycine	21	28	25	13	10	R	16	24	R	16	R	16	10	R	R	
Framycétine	29	31	23	10	12	R	16	30	18	19	R	17	17	19	R	
Tétracycline	25	30	17	20	17	14	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
Erythromycine	14	31	20	27	14	21	R	R	13	12	R	09	R	R	R	
Spiramycine	35	24	25	10	20	17	R	30	15	11	R	08	R	R	R	
Lincomycine	07	15	17	13	14	18	13	R	R	R	R	R	R	R	R	
Pristinamycine	35	25	22	22	R	14	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
Virginiamycine	35	24	20	14	R	14	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
Sulfamides	29	17	R	22	21	R	19	16	R	21	R	13	19	R	30	
T.S.U.	32	23	R	R	R	R	24	28	24	22	R	13	R	R	29	
Colimycine	19	19	09	09	R	R	20	15	21	R	14	13	13	R	23	
Rifampicine	35	25	15	35	R	R	15	15	14	15	R	10	10	R	10	
Fucidine	35	24	15	11	R	15	10	17	R	R	R	R	R	R	R	
Chloramphénicol	35	28	23	10	12	19	23	25	10	12	28	27	09	R	R	

* : pour chaque antibiotique, les mesures représentent la moyenne de trois répétitions.

** : Diamètre en mm de la zone d'inhibition (y compris le diamètre du disque d'antibiotique qui est de 6 mm).

R*** : Résistant

CHAPITRE 2 : TESTS D'ANTAGONISME

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL

1 - Méthode des traits ou "stries croisées"

Les 746 isolats d'actinomycètes sont testés par la méthode des traits. Cette méthode de "screening" nous permet :

- d'étudier la répartition des souches productrices d'antibiotiques dans les horizons de sols des différentes palmeraies;
- d'isoler un grand nombre de souches performantes.

Les "microorganismes test" utilisés sont non pathogènes pour l'homme :

. Bactéries :

Gram⁺ : *B. subtilis*, *B. cereus*, et *M. luteus*

Gram⁻ : *P. mirabilis*, *E. coli* (souche saprophyte), *E. hafiniae*,
A. tumefaciens et *P. fluorescens*.

. Champignons :

F.O. albedinis (souche M₂) et *A. flavus* (Souche Af₁).

Les isolats d'actinomycètes sont ensemencés à la surface du milieu gélose nutritive en un seul trait. Après incubation à 28°C pendant une semaine, on ensemence les bactéries ou les champignons âgés respectivement de 24 heures et de 2 à 4 jours par stries perpendiculaires à la culture de l'actinomycète.

Après 24 heures d'incubation à 37°C. pour les bactéries et 2 à 4 jours pour les champignons, on note les zones d'inhibition.

A l'issue de ce screening, les actinomycètes, dont les capacités antagonistes se sont révélées intéressantes, sont testés par la méthode des disques d'agar.

2 - Méthode des disques d'agar

Cette méthode, préconisée par PATEL et BROWN (1969), nous permet de confirmer les résultats obtenus précédemment et de mesurer les zones d'inhibition.

Tous les microorganismes saprophytes ou pathogènes sont testés par cette méthode. Le milieu de culture utilisé est la gélose nutritive. Dans le cas de *C. diphtheriae* et *S. pyogenes*, ce milieu est additionné de 5 % de sang de mouton.

2.1 - Antagonisme "Actinomycètes - bactéries"

Un inoculum prélevé à partir d'une culture bactérienne pure de 24 heures est mis en suspension dans 10 ml d'eau distillée stérile. Après homogénéisation, 2 à 3 gouttes de la suspension sont mises au centre des boîtes contenant de la gélose nutritive, puis étalées uniformément en utilisant un éta-loir en verre stéril. Trois disques d'agar de 5 mm de diamètre d'une culture d'actinomycètes âgée d'une semaine, sont déposés à la surface du milieu ensemencé au préalable une nuit à 4°C, de manière à arrêter momentanément la croissance des bactéries et permettre la diffusion des antibiotiques, puis incubées à 37°C.

Les lectures sont effectuées après 24 heures d'incubation. Elles consistent à mesurer le diamètre de l'auréole d'inhibition.

2.2 - Antagonisme "Actinomycètes - champignons et levure"

La souche de *C. albicans* est testée de la même manière que les bactéries. Pour les champignons, la méthode est la même que la précédente; seulement pour chaque isolat, quatre disques d'actinomycètes sont déposés à 2 cm autour d'une colonie de champignons âgée de 2 à 4 jours.

Les lectures se font après 7 jours. Elles consistent à mesurer le diamètre d'inhibition et apprécier visuellement l'intensité de l'action antifongique.

II - RESULTATS ET DISCUSSION

1 - Tests d'antibiiose effectués par la méthode des traits

1.1 - Action antagoniste des actinomycètes

L'activité antibiotique des 746 isolats d'actinomycètes apparaît à la lecture de la planche 1. En reprenant les résultats du tableau 3, nous remarquons qu'il existe une corrélation entre la sensibilité des bactéries aux antibiotiques testés et leur sensibilité aux substances sécrétées par les actinomycètes.

Nous notons également que les bactéries à Gram⁻ et les champignons sont plus résistants que les bactéries à Gram⁺.

Environ 40 % des isolats sont actifs sur *B. subtilis* et *M. luteus* (sensibles à tous les antibiotiques testés) et 34 % sur *B. cereus* (résistante à l'oxacilline et aux sulfamides).

Parmi les bactéries à Gram⁻, plus résistantes aux antibiotiques que les bactéries à Gram⁺, la plus sensible est *P. mirabilis* (27 % d'isolats). 11 % des actinomycètes sont actifs sur *P. fluorescens* et *E. coli* et 7 % sur *E. haenkei*. La bactérie la plus résistante est *A. tumefaciens* (2 % d'isolats actifs) laquelle n'est sensible qu'aux sulfamides, à la colimycine et au chloramphénicol sur 20 antibiotiques testés.

Le pourcentage d'actinomycètes actifs sur les deux champignons est également faible (environ 11 %).

Sur les 746 isolats testés :

- 446 sont inactifs envers tous les germes testés,
- 80 exercent une action faible sur les bactéries à Gram⁺ et nulle sur les bactéries à Gram⁻ et les champignons,
- 220 présentent une activité antibiotique appréciable sur les bactéries à Gram⁺ et parfois même sur les bactéries à Gram⁻ et les champignons. Ces 220 isolats sont retenus pour étude.

1.2 - Distribution des actinomycètes producteurs d'antibiotiques

Les résultats sont donnés dans la planche 2.

PLANCHE 1

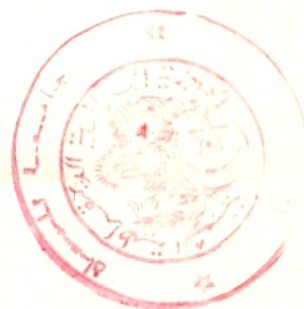
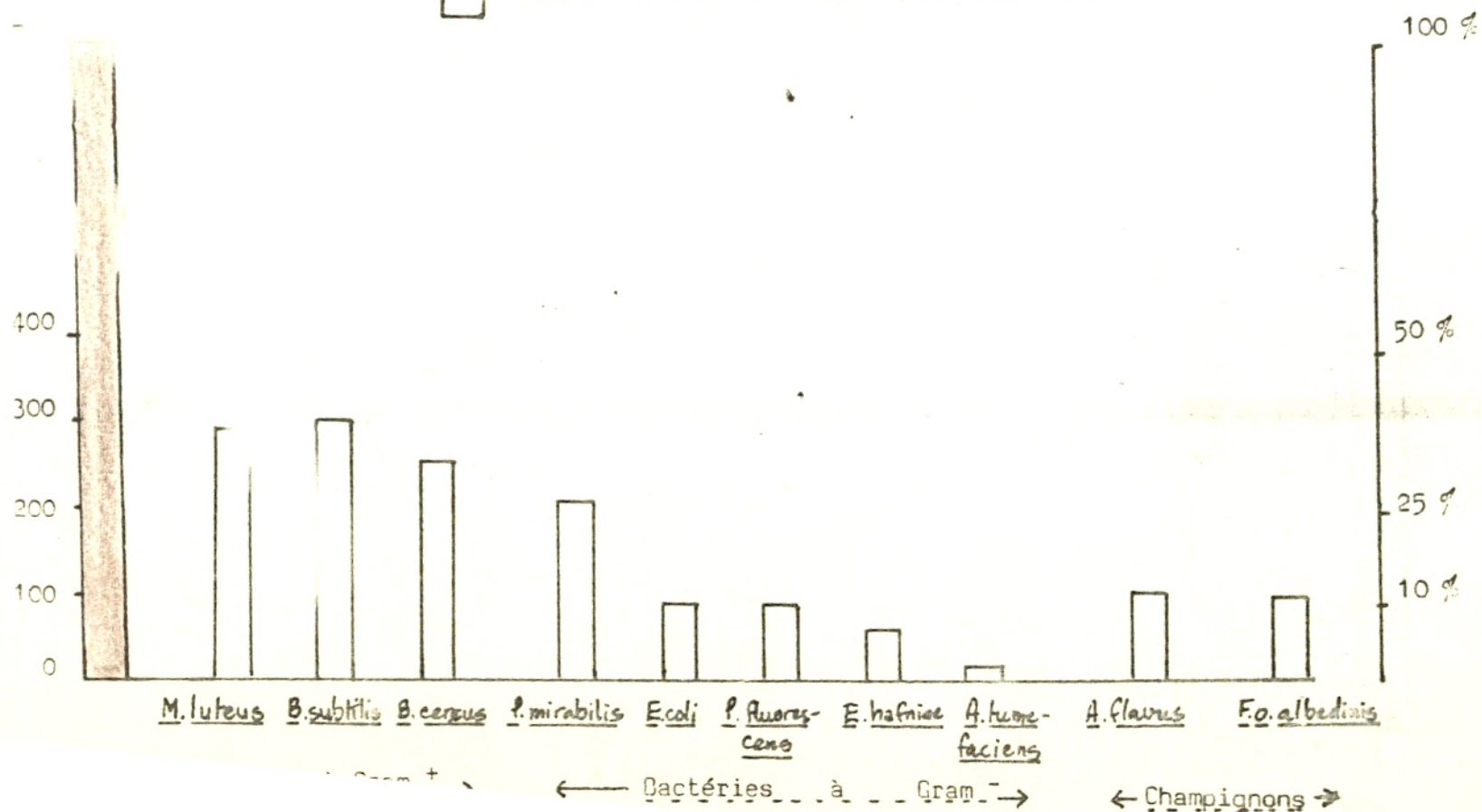
POUVOIR ANTIBIOTIQUE DES 736 ISOLATS D'ACTINOMYCETES.



Nombre total d'isolats d'actinomycètes testés.



Nombre d'isolats d'actinomycètes actifs.



Microorganismes-test

1.2.1 - Horizons de sol de surface et profonds de la palmeraie de Béni-Abbès

Nous constatons que le pourcentage d'actinomycètes producteurs d'antibiotiques est plus important dans les sols enrichis avec des palmes de dattier ou de paille d'orge que dans le sol non amendé.

Cette remarque est valable pour tous les microorganismes testés (à l'exception de *A. tumefaciens*). Ce pourcentage est en général deux fois plus élevé et les différences observées entre le sol amendé et non amendé deviennent particulièrement significatives en considérant les bactéries à Gram⁺ et *P. mirabilis* sensibles à de nombreux isolats d'actinomycètes.

Les travaux effectués dans notre Laboratoire ont montré que l'addition de paille d'orge ou de palmes de dattier dans le sol provoque la prolifération d'isolats appartenant à une même espèce et qui représente environ 80 % du total des actinomycètes. La plupart des isolats prélevés dans ces sols, appartiennent à cette espèce et présentent une action antibiotique contre les bactéries à Gram⁺ et à Gram⁻, ce qui expliquerait donc le pourcentage élevé d'actinomycètes actifs.

En comparant l'effet de la paille d'orge avec celui des palmes de dattier, nous constatons que les différences observées ne sont pas significatives, même si la paille favorise légèrement la prolifération des actinomycètes "anti-bactéries à Gram⁺" et les palmes de dattier ceux qui sont "anti-bactéries à Gram⁻".

Parmi les horizons de sol profonds, seul le V5 a été considéré, car trop peu d'isolats d'actinomycètes des autres horizons ont été testés. Les résultats montrent que cet horizon, bien que profond (prélèvement effectué entre 110 et 180 cm) renferme un potentiel assez riche en actinomycètes producteurs d'antibiotiques. Cependant, le pourcentage d'isolats actifs est en général moins important que dans le cas du sol de surface non amendé.

1.2.2 - Horizons de surface des palmeraies de Béni-Abbès, d'Adrar et de Timimoun

Le pourcentage d'actinomycètes antibactériens est en général deux fois plus élevé dans les sols d'Adrar et de Timimoun que dans le sol non amendé de Béni-Abbès. Par contre, nous ne notons pas de différence importante entre les sols amendés de Béni-Abbès et ceux d'Adrar et de Timimoun. En comparant les sols de ces deux dernières palmeraies, nous remarquons également que les différences ne sont pas significatives, même si à Adrar le pourcentage d'actinomycètes "anti-bactéries à Gram⁺" est plus élevé, alors qu'à Timimoun c'est celui des "anti-bactéries à Gram⁻" qui l'est.

En ce qui concerne les actinomycètes antifongiques, le pourcentage d'actifs sur *A.flavus* est environ deux fois plus élevé à Adrar qu'à Timimoun et Béni-Abbès (sol non amendé). Pour ce qui est de *F.o.albedinis*, les différences ne sont pas significatives.

2 - Tests d'antibiose effectués par la méthode des disques d'agar

L'activité antibiotique des 220 isolats d'actinomycètes apparaît à la lecture des histogrammes de la planche 3. Cette activité varie suivant les microorganismes testés.

2.1 - Antagonisme "actinomycètes - bactéries à Gram⁺" (Histogramme n° 1)

Les 220 isolats exercent tous une action sur *B.subtilis* et *M.luteus*, ce qui confirme les résultats obtenus par la méthode des traits.

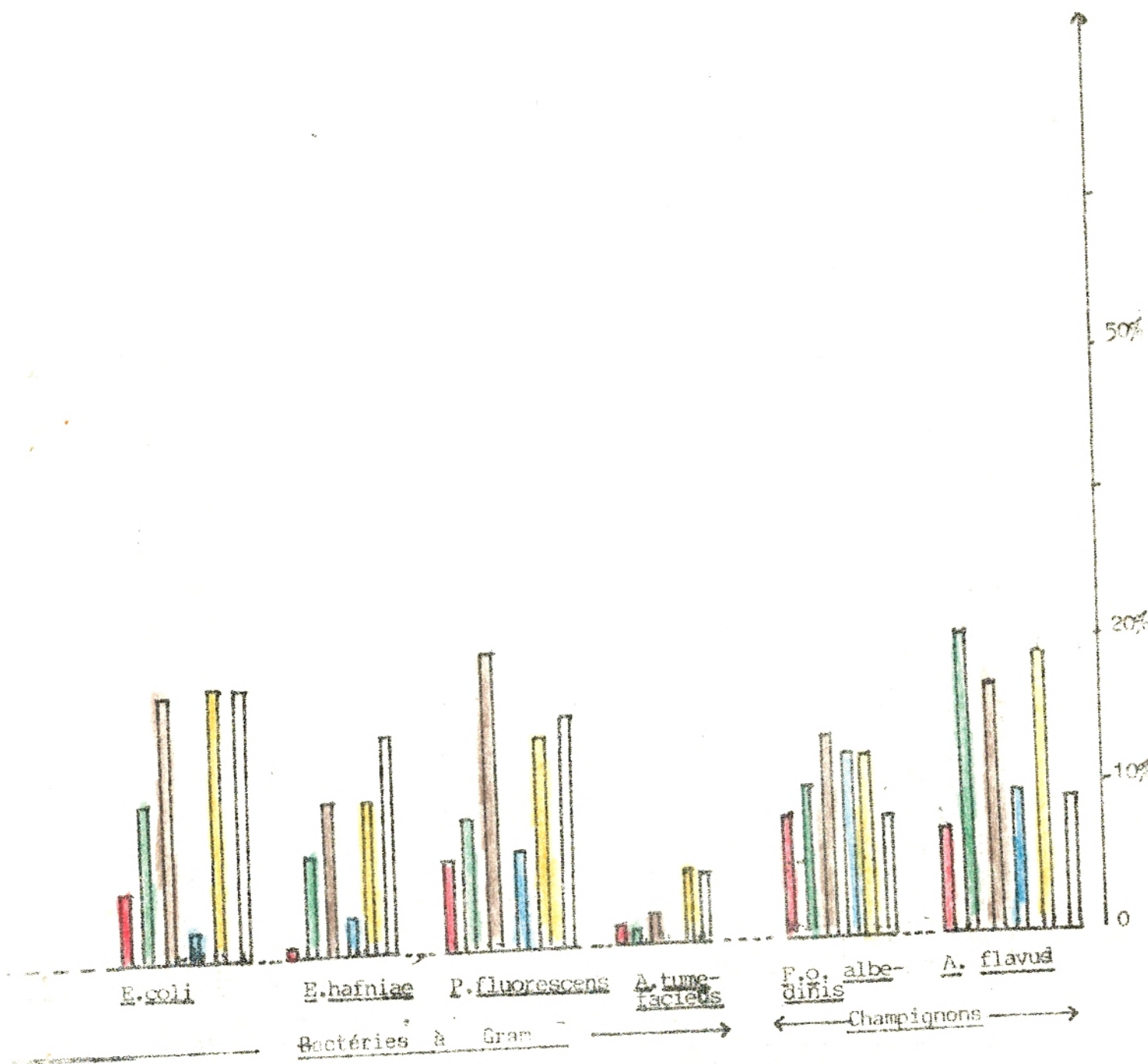
Les bactéries pathogènes et en particulier *C.diphtheriae* et *S.pyogenes*, moins sensibles aux antibiotiques, ont montré une plus grande résistance. En effet, sur les 220 isolats testés, environ 150 sont inactifs sur elles. En testant ces deux bactéries sur gélose au sang, nous avons pu constater par contre que 18 souches d'actinomycètes ont un effet hémolytique parfois très important.

Les pourcentages d'actinomycètes exerçant une forte action antibiotique (diamètre d'inhibition supérieur à 20 mm) sur les bactéries, sont les suivants : environ 50 % sur *M.luteus* et *B.subtilis*, 16 % sur *S.aureus*, 10 % sur *B.cereus* et seulement 3 % sur *C.diphtheriae* et *S.pyogenes*.

PLANCHE 2

PALMIERAIRES D'ADRAR ET DE TIMIMOUN.

- Souches isolées du sol de surface d'Adrar
 - " " " " " de Timimoun.



2.2 - Antagonisme "actinomycètes - bactéries à Gram⁻" (Histogramme n° 2)

Les souches pathogènes sont plus résistantes que les souches saprophytes et toutes les bactéries à Gram⁻ sont nettement plus sensibles que les bactéries à Gram⁺ à l'action antibiotique des actinomycètes.

Parmi les 220 isolats, environ 30 %, 5 % et 2 % ont une forte action respectivement sur *P.mirabilis*, *E. coli* (souche saprophyte) et *E.hafniae*. Aucun isolat n'exerce une très forte action sur les bactéries pathogènes et *P.fluorescens*. Le pourcentage d'actinomycètes à activité moyenne (diamètre d'inhibition compris entre 10 et 19 mm) varie de 0 à 31 %.

Les plus résistants sont incontestablement *P. aeruginosa* et *A. tumefaciens*, puisque seuls, respectivement 4 % et 8 % d'isolats exercent sur elles une action antagoniste, de surcroît assez faible. Ces deux bactéries ont également montré une résistance à presque tous les antibiotiques testés.

2.3 - Antagonisme "actinomycètes - champignons et levure" (Histogramme n° 3)

Sur les 220 actinomycètes testés :

- 82 inhibent la croissance de *F.o.albedinis*, dont 27 fortement
- 93 inhibent la croissance de *A.flavus*, dont 21 fortement
- 83 exercent une action sur *C.albicans*, dont 10 fortement.

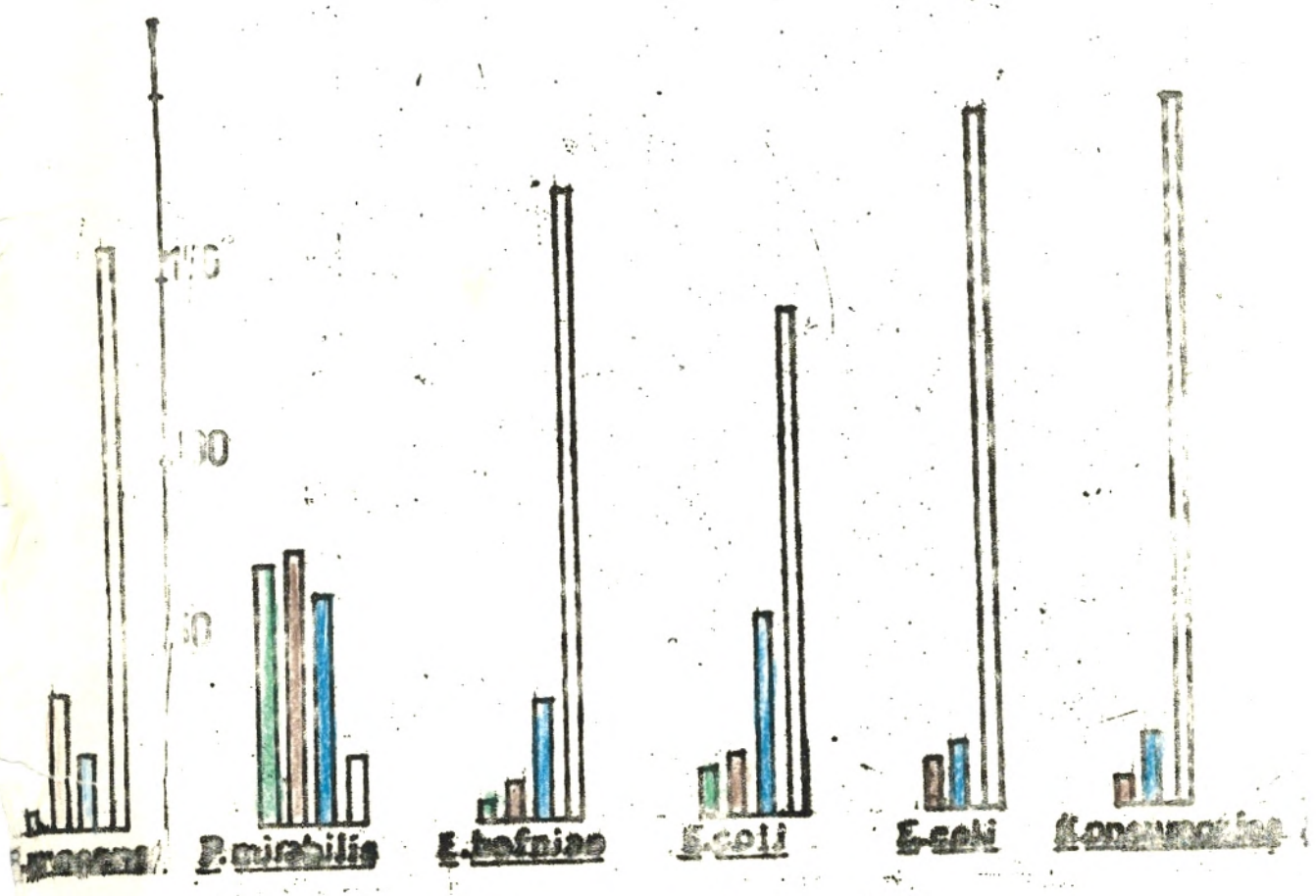
III - CONCLUSION

Sur 746 actinomycètes testés, 220 présentant une activité antibiotique appréciable, sont sélectionnés pour être déterminés. La répartition de ces isolats dans les sols des différentes palmeraies se fait comme suit :

1 - Adrar	32 isolats
2 - Timimoun	36 isolats
3 - Béni-Abbès	152 isolats

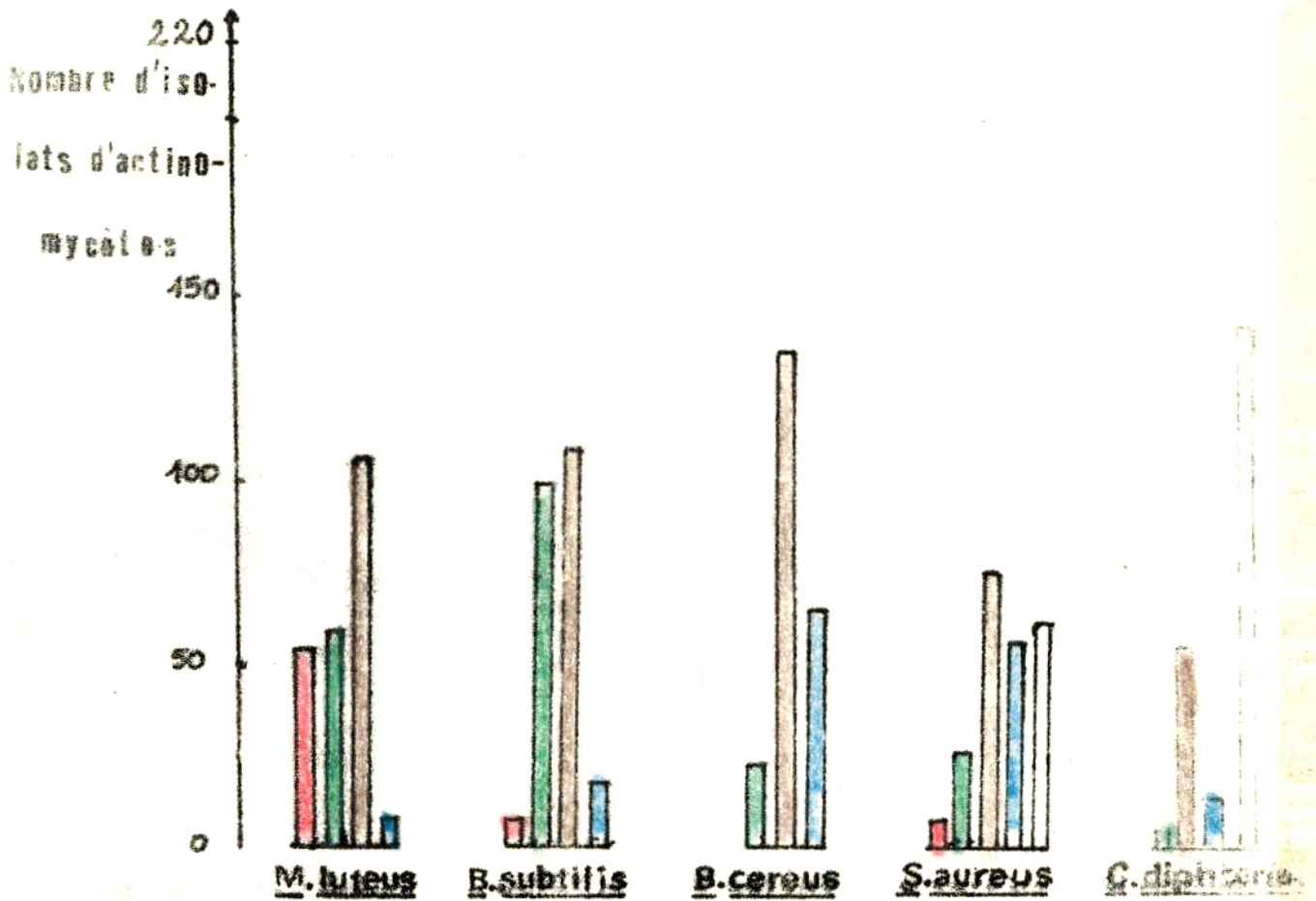
ACTIVITE ANTIBIOTIQUE DES 220 ISOLATS BACTERIENS

- Très forte action antibiotique : diamètre d'inhibition plus de 20 mm
- Forte action antibiotique : diamètre de 15 à 20 mm
- Action antibiotique moyenne : diamètre de 10 à 15 mm
- faible : diamètre de 7 à 10 mm
- nette : diamètre de 7 mm



Bactérius à Gram

histogramme 2



← Bactéries à Gram⁺ →

histogramme 1

Horizons de surface : 114 isolats

- . sol non amendé 40
- . sol enrichi avec de la paille d'orge 39
- . sol enrichi avec des palmes de dattier 35

Horizons profonds : 38 isolats

- . V1 2 isolats
- . V4 3 isolats
- . V18 2 isolats
- . V5 27 isolats
- . V6 4 isolats

CHAPITRE 3 : DETERMINATION DES ACTINOMYCETES
PRODUCTEURS D'ANTIBIOTIQUES

La systématique des actinomycètes est basée sur trois types de critères : morphologiques, physiologiques et chimiques.

I - CRITERES MORPHOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

1 - Identification des genres

La morphologie est un des critères essentiels d'identification. Elle précède l'étude chimique des constituants cellulaires pour délimiter les genres et les familles.

De nombreux critères micromorphologiques permettent de différencier les genres appartenant à une même famille. Ces critères varient d'une famille à l'autre. Nous pouvons citer :

- la production ou non d'un mycélium aérien,
- la formation de spores et leurs nombres dans le mycélium aérien et/ou dans le mycélium végétatif,
- la fragmentation ou non du mycélium végétatif,
- la présence ou l'absence de sporanges dans le mycélium aérien et/ou dans le mycélium végétatif, leurs formes, le nombre de spores qu'ils renferment et la mobilité des sporangiospores,
- la production ou non de sclérotés.

2 - Identification des espèces

BALDACCI et LOCCI (1975) rapportent que 70 % des espèces d'*Actinomycetales* appartiennent au genre *Streptomyces*. Plus de 400 espèces ont été décrites par SHIRLING et GOTTLIEB (1966, 1968a, 1968b, 1969 et 1972), lors de l'International *Streptomyces* Project. Cette importance numérique a fait que de nombreuses clés de détermination des *Streptomyces* ont été proposées, dont les plus importantes sont celles de KUSTER (1972), PRIDHAM et TRESNER (1974), NONOMURA (1974), SZABO et al. (1975) et SZABO (1978).

Ces différents clés d'identification se basent sur certains caractères morphologiques et physiologiques. Elles ont permis de différencier les *Streptomyces* en séries, sections, groupes,...

Ces caractères sont par ordre d'importance :

2.1 - La couleur du mycélium aérien

PRIDHAM (1974) sépara plusieurs centaines d'espèces de *Streptomyces* en sept séries d'après la couleur du mycélium aérien : blanc, gris, rouge, jaune, bleu, vert et violet. Mais ces sept couleurs ne peuvent décrire avec précision les nuances que l'on peut rencontrer chez différentes espèces de *Streptomyces* : blanc-gris, gris-jaune, etc.. C'est pourquoi une charte de couleurs est nécessaire pour la détermination exacte de la couleur du mycélium aérien.

2.2 - La morphologie des chaînes de spores

Elle permet de diviser les espèces d'une même série en sections :

- chaînes de sporés droites à flexueuses : type "*Rectus-flexibilis*" = RF
- chaînes de spores en forme de crochets ou de boucles plus ou moins enroulées : type "*Retinaculum-apertum*" = RA
- chaînes de spores spiralées : type "*Spira*" = S.

Cependant, certaines espèces peuvent produire à la fois deux types de chaînes de spores : RA et RF, RA et S, RF et S et sont désignées respectivement par RA-RF, RA-S et RF-S.

Le nombre de spores par chaîne peut également varier suivant les espèces.

2.3 - L'ornementation de la surface des spores

Elle permet de diviser chaque section en groupe d'espèces. Les spores peuvent avoir une surface :

- . lisse : type "*Smooth*" = Sm
- . rugueuse : type "*Warty*" = Wa
- . épineuse : type "*Spiny*" = Sp
- . chevelue : type "*Hairy*" = Ha

2.4 - La production ou non de pigments mélanoides

Elle est étudiée dans des milieux bien spécifiques.

2.5 - La couleur du mycélium végétatif

Comme pour le mycélium aérien, la pigmentation du mycélium végétatif varie également. Elle est déterminée en observant le côté opposé des colonies. Le mycélium végétatif peut avoir une couleur :

- non caractéristique : non coloré ou coloré de manière claire: jaunâtre, brun jaune, olive clair, brun orange clair,.... Ces couleurs peuvent se rencontrer chez différentes souches appartenant à une même espèce;
- caractéristique : coloré de manière vive ou foncée : rouge, vert, bleu violet, jaune vif, brun foncé, noir,... Dans ce cas, ces couleurs permettent de caractériser les espèces. La couleur du mycélium végétatif peut varier en fonction du pH du milieu.

2.6 - La production et la couleur des pigments solubles

Comme pour le mycélium végétatif, les pigments solubles peuvent avoir une couleur caractéristique ou non et varier en fonction du pH du milieu.

2.7 - Utilisation de huit sources de carbone

L. arabinose, D. fructose, I.inositol, D.mannitol, raffinose, rhamnose, saccharose et D.xylose.

Bien qu'initialement conçus pour la différenciation des espèces de *Streptomyces*, ces critères morphologiques et physiologiques sont aussi utilisés pour la caractérisation de nombreuses espèces d'Actinomycétales appartenant à d'autres genres.

II - CRITERES CHIMIQUES

Les travaux de BECKER *et al.* (1964), YAMAGUCHI (1965) et LECHEVALIER et LECHEVALIER (1970a) ont montré que certains constituants cellulaires ont une grande importance dans la classification des actinomycètes. Ces constituants sont :

- dans les parois cellulaires : l'acide diaminopimélique (D.A.P) qui peut être sous forme LL ou méso (DL) et la glycine qui peut être présente ou non,
- dans les cellules entières : l'absence ou la présence de certains sucres caractéristiques tels que : l'arabinose, la galactose et le xylose.

Ainsi, plusieurs types de parois cellulaires sont reconnus (LARPENT et LARPENT-GOURGAUD, 1985); les plus importants sont :

- . Type I : LL.DAP + glycine (sucres non caractéristiques)
- . Type II : méso-DAP+ glycine + xylose-arabinose
- . Type III : méso-DAP, pas de glycine et sucres non caractéristiques
- . Type IV : méso-DAP, pas de glycine + arabinose - galactose.

Les autres types de parois sont rencontrés chez les actinomycètes à mycélium rudimentaire (*Mycobacterium*, *Actinomyces*,...), que nous n'étudions pas.

MATERIEL ET METHODE

I - ETUDE MORPHOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE

1 - Etude morphologique

Les propriétés culturales et morphologiques sont déterminées sur des milieux de culture spécifiques recommandés par SHIRLING et GOTTLIEB (1966).

Ces milieux sont :

- I.S.P2 : extrait de levure - extrait de malt - agar (PRIDHAM *et al.*, 1957)
- I.S.P3 : farine d'avoine agar (KUSTER, 1959)
- I.S.P4 : amidon - sels minéraux - agar (KUSTER, 1959)
- I.S.P5 : glycérol - asparagine - agar (PRIDHAM et LYONS, 1961).

D'autres milieux sont utilisés tels que : le milieu czapeck (RAPILLY, 1968), l'extrait de terre gélosé (POCHON et TARDIEUX, 1962) et la chitine (LINGAPPA et LOCKWOOD, 1962).

1.1 - Couleur des colonies et des pigments solubles

La couleur du mycélium aérien, du mycélium végétatif et des pigments solubles est déterminée après 7, 14 et 21 jours d'incubation à 28°C.

La charte de couleur utilisée est : "ISCC-NBS Color Name Charte illustrated with centroid color".

Les changements de couleur du mycélium végétatif et des pigments solubles sont également notés après addition d'une base (NaOH 0,5 N) ou d'un acide (Hcl 0,5N), d'après la méthode décrite par Szabo (1978).

1.2 - Morphologie des chaînes de spores

Elle est déterminée en utilisant un microscope du type "Leitz". L'observation est faite directement aux faibles grossissements avec les objectifs 10, 25 et 40. Cette technique nous permet d'observer *in situ* la morphologie des chaînes de spores, des sporophores et des sporanges sans pour autant altérer leurs structures et leur configuration, de même qu'elle nous permet de compter le nombre de spores par chaîne. L'observation au fort grossissement (objectif 100) est effectuée après montage entre lame et lamelle, afin de déterminer la taille et la forme des spores (en utilisant un micromètre oculaire).

1.3 - Ornementation de la surface des spores

Elle est déterminée en utilisant un microscope électronique à transmission de type Hitachi HU-12A. La technique utilisée est celle de TRESNER *et al.* (1961).

2 - Etude physiologique

Les tests physiologiques sont ceux recommandés par SHIRLING et GOTTLIEB (1966). Ce sont la formation des pigment mélanoïdes et l'utilisation des sucres comme seules sources de carbone.

2.1 - Production de mélanine

L'habilité des isolats à produire des mélanine est testée sur les milieux :

- I.S.P6 : peptone - sels de fer - agar (TRESNER et DANGA, 1958)
- I.S.P7 : tyrosine-agar (SHINDOH, 1958).

2.2 - Utilisation des sucres

La capacité des isolats à utiliser huit sources de carbone est déterminée en utilisant le milieu I.S.P9 (sels minéraux - agar) préconisé par PRIDHAM et GOTTLIEB (1948). Les sources de carbone sont additionnées au milieu minéral de base de manière à obtenir une concentration finale de 1 %. Les sources sont : le L. arabinose, le D. fructose, l'I. inositol, le D. mannitol, le raffinose, le rhamnose, le saccharose et le D. xylose. Le milieu I.S.P9 sans sucres sert de témoin négatif, tandis que le milieu I.S.P9 additionné de D. glucose sert de témoin positif.

Cependant, des tests additionnels sont nécessaires pour la détermination de espèces autres que les *Streptomyces*, tels que :

- l'utilisation de nombreux autres sucres ou dérivés : adonitol, cellobiose, érythritol, mélézirose, α mélibiose et alicine (SHIRLING et GOTTLIEB, 1966),
- l'utilisation des sels de sodium suivants : acétate, benzoate, citrate, pyruvate, succinate et tartrate (GORDON, 1966),
- Hydrolyse de la cellulose (FALCAO DE MORAIS *et al.* 1965).

- l'hydrolyse de l'amidon, de la caséine du lait, du D.N.A et de la gélatine (MARCHAL et BOURDON, 1966),
- l'hydrolyse de l'esculine (GORDON, 1966);
- la réduction des nitrates (MARCHAL et BOURDON, 1966),
- la croissance en présence du lysozyme (GORDON et BARNET, 1977),
- la croissance à différentes températures : ce test est réalisé sur gélose nutritive aux températures suivantes : 20, 40, 45, 50 et 55°C.

II - ANALYSE DES CONSTITUANTS CELLULAIRES

Les isolats d'actinomycètes sont cultivés en milieu agité (bouillon nutritif) à une température de 30°C pendant 7 jours. Le mycélium est recueilli par centrifugation, lavé plusieurs fois à l'eau distillée puis séché.

1 - Mise en évidence de l'acide diaminopimélique (D.A.P) et de la glycine (BECKER et al., 1964)

Après hydrolyse du mycélium à l'acide chlorhydrique 6N, les hydrolysats sont filtrés puis le liquide obtenu est évaporé à 40°C. Le résidu est dissout dans 1 ml d'eau distillée puis soumis à une nouvelle évaporation. Ce processus est répété plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un pH compris entre 5,5 et 7. Le résidu final est récupéré une dernière fois dans 0,3 ml d'eau distillée puis analysé.

Les isomères de l'acide D.A.P ainsi que la glycine, sont détectés par chromatographie descendante sur papier Watman n° 1. Le solvant est un mélange de méthanol, eau distillée, Hcl 10N et pyridine : 80/17,5/2,5/10 (V/V).

Les chromatogrammes sont révélés avec une solution de 0,2 % de ninhydrine dans l'acétone (W/V).

Les taches de l'acide D.A.P. sont de couleur vert pâle virant rapidement au jaune, alors que celles de la glycine sont de couleur violette. La forme LL de l'acide D.A.P migre plus vite que la forme méso.

2 - Analyse des sucres (LECHEVALIER et LECHEVALIER, 1970)

Le mycélium sec de chaque isolat est hydrolysé à l'acide sulfurique 1N. Le pH est ajusté à 5 - 5,5 en ajoutant une solution saturée d'hydroxyde de baryum. Le précipité obtenu est éliminé par centrifugation. Le surnageant est évaporé à 40°C et le résidu final est dissout dans 0,3 ml d'eau distillée puis analysé.

La composition cellulaire en sucres est déterminée par chromatographie descendante. Le solvant utilisé est un mélange composé de n.butanol, eau distillée, pyridine et toluène 5/3/3/4 (V/V).

Après développement, les chromatogrammes sont révélés avec une solution acide de phtalate d'aniline.

RESULTATS ET DISCUSSION

I - ANALYSE DES CONSTITUANTS CELLULAIRES

1 - Clé d'identification

La clé d'identification basée sur la composition chimique des cellules d'actinomycètes est donnée dans le tableau 4.

2 - Identification des isomères de l'acide diaminopimélique (D.A.P) et de la glycine

L'analyse de l'acide D.A.P a révélé que 12 isolats seulement contiennent dans leur paroi, l'isomère méso. Les autres, contenant l'isomère LL et la glycine ont une paroi de type I caractéristique de la famille des *Streptomycetaceae*.

Des 12 isolats à méso-D.A.P, seul le numéro 190 contient de la glycine.

3 - Identification des sucres

L'analyse des sucres des isolats contenant la forme méso de l'acide D.A.P est déterminante.

- L'isolat 190, possédant le couple arabinose-xylose, a une paroi de type II et fait donc partie de la famille des *Micromonosporaceae* ou des *Actinoplanaceae*.
- 6 isolats : 163, 200, 525, 719, 720 et TM 30 ne contiennent pas de sucres caractéristiques. Ils ont une paroi de type III. Ils peuvent appartenir à la famille des *Actinoplanaceae*, ou au genres : *Actinomadura*, *Nocardiopsis*, *Spirillospora*,...
- Les autres isolats : 22, 23, 160, 174 et AD 73 contiennent le couple arabinose-galactose. Ils possèdent une paroi de type IV caractérisant les *Nocardiaceae*.

Une étude morphologique est essentielle pour distinguer les familles ou genres ayant une paroi de même type.

Tableau 4 : Clé de détermination des familles d'actinomycètes basée sur la composition chimique des cellules (d'après LECHEVALIER et LECHEVALIER, 1970)

Acide diaminopimélique	Glycine	Sucres caractéristiques	Type de paroi	Familles ou genres correspondants
LL	+	-	I	<i>Streptomycetaceae</i>
Méso	+	arabinose - xylose	II	<i>Micromonosporaceae</i> <i>Actinoplanaceae</i>
Méso	-	-	III	<i>Actinoplanaceae</i> <i>Thermomonosporaceae</i> Genres : <i>Actinomadura</i> <i>Nocardopsis</i>
Méso	-	arabinose-galactose	IV	<i>Nocardioceae</i>

+ : présence

- : absence

II - ETUDE MORPHOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE

1 - Actinomycètes à paroi de type I

1.1 - Identification des genres

Avant d'identifier les genres, nous donnons dans le tableau 5, une clé de détermination sommaire des 6 genres de la famille de *Streptomycetaceae* (d'après FALCAO DEMORAIS, 1967; LECHEVALIER ET LECHEVALIER, 1970a et PRIDHAM et TRESNER, 1974).

Sur les 208 isolats :

- 201 produisent des sporophores non verticillés portant des spores en chaînes. Aucune structure ressemblant à des sporanges ou à des sclérotés n'a été observée. Ils appartiennent donc au genre *Streptomyces* (WAKSMAN et HENRICI).
- 4 ne produisent ni sporanges, ni sclérotés, mais leurs spores en chaînes sont formées sur des sporophores verticillés (Planche). Ils sont rattachés au genre *Streptoverticillium* (BALDACCI).
- 3 produisent, sur le mycélium végétatif, des sporanges en forme de gous-
ses contenant 2 à 10 spores alignées et non mobiles (Planche).
Ces isolats appartiennent donc au genre *Elytrosporangium* (FALCAO DE MORAIS
et al., 1966).

1.2 - Identification des espèces du genre *Streptomyces*

En raison du nombre trop élevé d'isolats de *Streptomyces* (201), et pour faciliter leur description, nous avons utilisé les abréviations suivantes :

- M.A mycélium aérien
- M.V mycélium végétatif
- P.S pigments solubles
- Sucres .. ara (L.arabinose), fru (D.fructose), glu (D.glucose),
ino (I.inositol), man (D.mannitol), raf (raffinose),
rha (rhamnose), sac (saccharose) et xyl (D.xylose).

Tableau 5 : Clé de détermination des genres de la famille des Streptomycetaceae (d'après FALCAO DEMORAIS, 1967; LECHEVALIER et LECHEVALIER, 1970a et PRIDHAM et TRESNER, 1974).

Caractères morphologiques		Genres
Absence de sporanges	- chaînes de spores droites, flexueuses ou spiralées, non verticillées et portées uniquement par le mycélium aérien	<i>Streptomyces</i>
	- chaînes de spores portées par des sporophores verticillés sur le mycélium aérien	<i>Streptoverticillium</i>
	- Présence de sclérotés, chaînes de spores non verticillées	<i>Chainia</i>
Présence de sporanges	- Sporangies en massue dans le mycélium végétatif uniquement, contenant des spores non mobiles. Le mycélium aérien porte des sporophores non verticillés et des spores en chaînes	<i>Elytrosporangium</i>
	- Sporangies en massue, dans les mycéliums aérien et végétatif, contenant 2 à 5 spores mobiles. Le mycélium aérien porte aussi des sporophores et des chaînes de spores	<i>Kitasatoa</i>
	- Sporangies en forme de gousse produits dans les mycéliums aérien et végétatif contenant de 1 à 8 spores immobiles et disposées en chaîne.	<i>Microellobo-sporea</i>

D'après la couleur du mycélium aérien, la morphologie des chaînes de spores, l'ornementation de la surface des spores et la production des mélanines, qui sont les caractères essentiels de détermination des espèces, nous avons divisé les isolats de *Streptomyces* en séries, sections et groupes (Tableau 6).

1.2.1 - Série des "Gris"

1.2.1.1 - Section I : chaînes de spores de type "S"

Groupe 1 : spores lisses et mélanines produites

Isolat 155

M.A : gris-rose; M.V et P.S : rouge à rouge violet

Sucres : tous utilisés

Particularités : chaînes de spores formant de grandes masses globuleuses

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺

Espèce : *S. massaporeus*, SHINOBU et KAWATO; qui, d'après PRIDHAM et TRESNER (1974) a des activités antimicrobiennes.

Isolat 620

M.A : gris à gris-bleu; M.V et PS. : orange-rouge sur I.S.P2; non caractéristique sur les autres milieux (brun).

Sucres : ara, man, raf et rha non utilisés

Particularités : production de masses de spores globuleuses

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺

Espèce probable : *S. bottropensis*, WAKSAMN; mais celle-ci ne forme pas de masses de spores et utilise tous les sucres. D'après PERLMAN (1982), cette espèce produit un antibiotique actif sur les bactéries (Gram⁺ et Gram⁻) : la bottromycine.

Tableau 6 : Division des 201 isolats de *Streptomyces*
en séries, sections et groupes

Série : couleur du mycélium aérien	Sections : morphologie des chaînes de spores (1)	Groupes : surface des spores (2) et pigments mélanoides (PM) (3)
Série des "Gris" 120 isolats	Section I : "S" 106 isolats	Groupe 1 : Sm et PM + : 5 isolats Groupe 2 : Sm et PM - : 6 isolats Groupe 3 : Wa et PM + : 1 isolat Groupe 4 : Sp et PM - : 87 isolats Groupe 5 : Ha et PM + : 3 isolats Groupe 6 : Ha et PM - : 4 isolats
	Section II : "S-RA"	Groupe 1 : Sm et PM + : 2 isolats Groupe 2 : Sm et PM - : 1 isolat Groupe 3 : Sm-Sp et PM + : 1 isolat Groupe 4 : Sp et PM - : 1 isolat
	Section III : "RA"	1 groupe : Sm et PM + : 7 isolats
	Section IV : "RA-RF"	Groupe 1 : Sp et PM - : 1 isolat Groupe 2 : Sm et PM + : 1 isolat
Série des "Rouge" 36 isolats	Section I : "S"	1 groupe : Sm et PM + : 1 isolat
	Section II : "RA-S"	Groupe 1 : Sm et PM + : 7 isolats Groupe 2 : Sm et PM - : 3 isolats
	Section III : "S-RF"	1 groupe : Sm et PM + : 3 isolats
	Section IV : "RA"	Groupe 1 : Sm et PM + : 2 isolats Groupe 2 : Sm et PM - : 5 isolats
	Section V : "RA-RF"	1 groupe : Sm et PM - : 1 isolat
	Section VI : "RF"	Groupe 1 : Sm et PM + : 6 isolats Groupe 2 : Sm et PM - : 8 isolats

Tableau 6 (suite et fin)

Série : couleur du mycélium aérien	Sections : morphologie des chaînes de spores (1)	Groupes : surface des spores (2) et pigments mélanoides (PM) (3)
Série des "Bleu" 27 isolats	Section I : "S"	Groupe 1 : Sm et PM + : 1 isolat Groupe 2 : Sp et PM + : 21 isolats Groupe 3 : Sp et PM - : 2 isolats
	Section II : "RF"	1 groupe : Sm et PM + : 3 isolats
Série des "Jaune" 16 isolats	Section I : "S"	1 groupe : Sm et PM - : 4 isolats
	Section II : "RA"	1 groupe : Sm et PM - : 4 isolats
	Section III : "RA-RF"	1 groupe : Sm et PM - : 6 isolats
	Section IV : "RF"	1 groupe : Sm et PM - : 2 isolats
Série des "Vert" 2 isolats	Section I : "S-RA"	1 groupe : Sp-Ha et PM - : 2 isolats

(1) "S" : chaînes de spores spiralées

"RA" : chaînes de spores en forme de boucles + enroulées

"RF" : chaînes de spores droites à flexueuses

(2) Surface des spores : Sm = lisse

Wa = rugueuse

Sp = épineuse

Ha = chevelue

(3) PM + : pigments mélanoides produits

PM - : pigments mélanoides non produits

Isolat 140

M.A : abondant, gris foncé. M.V : non caractéristique (non coloré à jaune orangé). P.S : non produits.

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺.

Espèce : *S.diastatochromogenes* (KRAINSKY) WAKSMAN et HENRICI; qui est connue pour produire un antibiotique actif sur les bactéries à Gram⁺ : l'ansamycine (MALLAMS, 1982).

Isolat 24

M.A : peu produit, blanc-gris à gris clair; M.V : non caractéristique (non coloré à jaune orangé). P.S : non produits.

Sucres : tous utilisés.

Propriétés antagonistes : action faible sur les bactéries à Gram⁺ et forte à l'égard du *F.o.albedinis*.

Espèce : *S.versipellis*, OLIVER *et al.*

Isolat 621

M.A : gris à gris-rosâtre; M.V. et P.S : non caractéristiques (brun jaune à brunâtre).

Sucres : man non utilisé.

Particularités : action hémolytique.

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries à Gram⁺.

Espèce : *S.galilaeus*, ETLINGER *et al.* D'après PRIDHAM et TRESNER (1974), cette dernière produit deux antibiotiques antibactériens : la ferrymycine et la cinérubine.

Groupe 2 : spores lisses et mélanines non produites.

6 isolats : 328, 480, 482, AD 79, TM 55 et TM 72

M.A : blanc-gris, M.V et P.S : non caractéristiques (brun jaune)

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺.

Espèce : *S. parvullus*, WAKSMAN et GREGORY; mais celle-ci n'utilise pas le raffinose, alors que les nôtres le font. Cette espèce est connue pour la production de l'actinomycine D (PRIDHAM et TRESNER, 1974) qui est utilisée pour le traitement de tumeurs malignes (ASSELINEAU et ZALTA) et la parvuline qui est active sur les bactéries à Gram⁺ (PERLMAN, 1982).

Groupe 3 : spores rugueuses et mélanines produites

Isolat 393

M.A : gris foncé; M.V. et P.S : violet sur ISP2 virant au rose à pH acide.

Sucres : tous utilisés.

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et forte vis-à-vis des champignons et *C.albicans*.

Espèce : Cet isolat ne correspond à aucune espèce décrite par SHIRLING et GOTTLIEB (1966, 1968a, 1968b, 1969 et 1972) ou PRIDHAM et TRESNER (1974).

Groupe 4 : spores épineuses et mélanines non produites

55 isolats, similaires entre eux, présentent les caractères suivants :

M.A : gris et rose sur ISP2 et ISP5, gris sur ISP3 et ISP4

M.V et P.S : brun foncé à brun rouge sur ISP2 et ISP5; non caractéristique sur ISP3 et ISP4 (non coloré à brun jaune)

Sucres : tous utilisés à l'exception du raf. qui ne l'est que faiblement.

Propriétés antagonistes : action forte sur les bactéries à Gram⁺ et faible sur les bactéries à Gram⁻.

Espèce : *S. griseoincarnatus* (PREOBRAZHENSKAYA et al.), PRIDHAM et al., connue par ses activités antibactériennes (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

28 isolats : similaires entre eux, ont les propriétés suivantes :

M.A : gris sur tous les milieux.

M.V et P.S : non caractéristiques (brun clair).

Sucres : raf faiblement utilisé

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries à Gram⁺

Espèce : *S. toyocaensis* NISHIMURA et al., qui d'après BLOCH (1982) produit un antibiotique actif sur *Mycobacterium* et *Candida* : la toyocamycine.

2 isolats : AD 3 et AD 123

M.A : gris vert-jaune sur ISP₄, gris sur les autres milieux.

M.V. et P.S : non caractéristiques (brun clair)

Sucres : INo et sac faiblement utilisés

Propriétés antagonistes : action forte sur les bactéries à Gram⁺ et faible sur les bactéries à Gram⁻ et *C. albicans*.

Espèce : *S. virido-diastaticus* (BALDACCI et al.), PRIDHAM et al., connue par l'enzyme qu'elle sécrète : la diastase (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

2 isolats : 201 et 230

M.A : gris; M.V et P.S : non caractéristiques (brun clair)

Sucres : raf non utilisé

Particularités : spores à surface épineuse ou rugueuse

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺.

Espèce : *S. antimycoticus*, WAKSMAN.

D'après PRIDHAM et TRESNER (1974), cette espèce produit le complexe endomycine (mélange d'antifongique) et possède des activités antibactériennes.

Groupe 5 : spores chevelues et mélanines produites

3 isolats : 238, 387 et 565

M.A : gris à vert olive sur ISP4 et ISP5, gris sur ISP2 et ISP3.

M.V et P.S : non caractéristiques (jaune orange à brun très clair).

Sucres : ara, raf et sac non utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺.

Espèce : *S. flavoviridis*, KRASIL'NIKOV, mais celle-ci utilise l'arabinose, alors que les trois isolats ne le font pas.

Groupe 6 : spores chevelues et mélanines non produites

Isolat 204

M.A : blanc-rose à gris; M.V : rouge-orange à rouge-brique,

P.S : marron sur ISP4.

Sucres : ara, ino, man, raf, rha et xyl non utilisés

Particularités : spores chevelues mais parfois épineuses.

Propriétés antagonistes : action forte sur les bactéries à Gram⁺ et moyenne sur les bactéries à Gram⁻.

Espèce la plus proche : *S.heimi* (DUCHE) PRIDHAM *et al.*, mais celle-ci produit un mycélium végétatif de couleur non caractéristique et n'utilise pas le raffinose seulement.

3 isolats : 288, 296 et 347

M.A : gris; M.V : non caractéristique (jaune orangé)

P.S : brun orange sur ISP4, non caractéristique sur les autres milieux (non coloré à jaune orangé)

Sucres : man non utilisé

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries à Gram⁺ et moyenne sur *C.albicans*

Espèce : *S.flaveolus* (WAKSMAN) WAKSMAN et HENRICI, mais cette dernière utilise le D.mannitol. Cette espèce a des activités antibactériennes faibles (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

1.2.1.2 - Section II : chaînes de spores de type "S-RA"

Groupe 1 : Spores lisses et mélanines produites

Isolat 664

M.A : gris sur ISP4, peu produit sur les autres milieux,

M.V et P.S : non caractéristiques (brun)

Sucres : ara, man, raf et rha non utilisés

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries à Gram⁺.

Espèce la plus proche : *S.galbus*, FROMMER; mais celle-ci utilise l'arabinose, le mannitol et non le saccharose et la formation de masses de spores n'a pas été signalée. Cette espèce produit le complexe actinomycine X qui a des propriétés antibactériennes et antitumorales (PERLMAN, 1982).

Isolat 40

M.A : gris à blanc-gris. M.V : non caractéristique (non coloré)

P.S : non produits

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action faible sur les bactéries à Gram⁺ et forte sur les champignons.

Espèce : *S. rishiriensis*; KAWAGUCHI *et al.* Cette dernière produit les complexes coumermycine (PRIDHAM et TRESNER, 1974) et roshirilides (ASSELINÉAU et ZALTA, 1973) qui ont des activités antibactériennes (BLOCH, 1982).

Groupe 2 : spores lisses et mélanines non produites

Isolat 172

M.A : gris sur ISP2, ISP3 et ISP5; gris-vert sur ISP4.

M.V et P.S : brun orange caractéristique

Sucres : fru non utilisé

Propriétés antagonistes : action très forte sur les bactéries à Gram⁺ et faible sur les bactéries à Gram⁻.

Espèce probable : *S. sioyaensis*, NISHIMURA *et al.*, mais celle-ci forme un mycélium végétatif de couleur non caractéristique (gris-jaune verdâtre) et n'utilise pas l'arabinose et le rhamnose. Cette espèce produit un antibiotique antibactérien : la siomycine (IKEDA *et al.*, 1985) lequel a trouvé une application vétérinaire au Japon (PERLMAN, 1982).

Groupe 3 : spores lisses-épineuses et mélanines produites

Isolat 326

M.A : gris à blanc-gris. M.V et P.S : non caractéristiques (brun jaune à brun clair)

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries à Gram⁺ et sur les champignons.

Espèce : *S. griseochromogenes*, FUKUNAGA. La seule différence concerne l'utilisation du rhamnose.

Cette espèce produit les blasticidines A, B, C et la cytomy-
cine, actifs sur les champignons phytopathogènes (PRIDHAM et
TRESNER, 1974). Elle produit également la blasticidine S qui
est utilisée pour le traitement de certaines maladies du riz
au Japon (BLOCH, 1982).

Groupe 4 : spores épineuses et mélanines non produites

Isolat 503

M.A : blanc-grisâtre à gris, non produit sur ISP5.

M.V : non caractéristique sur ISP2, ISP3 et ISP4 et rose sur ISP5.

P.S : non produits

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries (Gram⁺ et
Gram⁻ et les champignons.

Espèce : *S. werraensis* WALLHAUSSER *et al.*, qui, d'après PRIDHAM et
TRESNER (1974, produit un complexe d'antibiotiques antibacté-
riens et la werramycine.

1.2.1.3 - Section III : chaînes de spores de type "RA"

Un seul groupe : spores lisses et mélanines produites

7 isolats : 2, 92, 108, 110, 138, 139 et 616

M.A : gris, non produit sur ISP5.

M.V : non caractéristique (brun olive)

P.S : non produits

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action faible sur les bactéries à Gram⁺ et
forte à l'égard des champignons

Espèce : *S.griseosporus*, NIIDA et OGASAWA; celle-ci est connue pour produire un antibiotique actif sur les bactéries à Gram⁺ : la taïtaumycine (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

1.2.1.4 - Section IV : chaînes de spores de type "RA-RF"

Groupe 1 : spores épineuses et mélanines non produites

Isolat TM 112

M.A : blanc gris à gris.

M.V : non caractéristique (brun jaune à jaune orangé)

P.S : jaunâtre sur ISP4, non produits sur les autres milieux.

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries à Gram⁺ et *P.mirabilis*

Espèce probable : *S.macrosporeus*, ETLINGER *et al.*, mais celle-ci n'utilise pas le saccharose et la raffinose. Cette espèce produit deux antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram⁺ : la carbomycine A (PRIDHAM et TRESNER, 1974) et la janjemycine (PERLMAN, 1982).

Groupe 2 : spores lisses et mélanines produites

Isolat 55

M.A : blanc-gris à gris. M.V : non caractéristique (non coloré à jaune olive)

P.S : non produits

Sucres : non utilisés

Propriétés antagonistes : action faible sur les bactéries à Gram⁺ et forte sur *F.o.albedinis*

Espèce probable : *S.lavanduligriseus*, ROUTIEN, cependant cette dernière n'utilise pas le raffinose, le rhamnose et le saccharose.

1.2.2 - Série des "Rouge"

Les 36 isolats de cette série forment tous des spores à surface lisse. Dans ce cas, les groupes sont différenciés entre eux par la production de mélanines.

1.2.2.1 - Section I : chaînes de spores de type "S"

Un seul groupe : mélanines produites

Isolat 402

M.A : blanc-rose à rose

M.V : non caractéristique sur ISP2 et ISP3, brun foncé à brun orange sur ISP4 et ISP5.

P.S : brun orange sur ISP4 et ISP5

Sucres : ino non utilisé.

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺

Espèce probable : *S. vinaceus-drappus*. PRIDHAM *et al.*, mais celle-ci forme un mycélium rose, légèrement gris et utilise l'inositol. Elle produit les antibiotiques antibactériens suivants : l'amycétine A, B, C et la streptoline (PRIDHAM et TRESNER, 1974). L'amycétine est aussi utilisée dans le traitement de certaines tumeurs (BLOCH, 1982).

1.2.2.2 - Section II : chaînes de spores de type "RA-S"

Groupe 1 : mélanines produites

2 isolats : AD 91 et AD 94

M.A : blanc-rose à rose, non produit sur ISP5.

M.V et P.S : rose orange sur ISP5 virant au jaune à pH basique.

Sucres : tous faiblement utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne envers les bactéries à Gram⁺.

Espèce : *S.toxytricini* (PREOBRAZHENSKAYA et SVESHNIKOVA), PRIDHAM *et al.* Cette espèce est connue pour la production de la toxytricine à action antibactérienne. (PRIDHAM et TRESNER, 1974) et hémolytique (ASSELINÉAU et ZALTA, 1973).

4 isolats : AD 19, AD20, TM 11 et TM 13

M.A : rose à rose-violet.

M.V et P.S : non caractéristiques (brun jaune)

Sucres : tous faiblement utilisés

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries à Gram⁺ et les champignons, action moyenne envers les bactéries à Gram⁻ et *C.albicans*.

Espèce : *S. vinaceus*, JONES, qui est connue pour produire la vitamine B12 (PRIDHAM et TRESNER, 1974) et la viomycine : un antibiotique actif sur les bactéries à Gram⁺ et à Gram⁻ (WAKSMAN, 1967).

Isolat TM 96

M.A : rose

M.V et P.S : non caractéristiques (brun)

Sucres : tous non utilisés à l'exception du glu et du fru.

Propriétés antagonistes : action forte sur les bactéries à Gram⁺ et moyenne sur les bactéries à Gram⁻

Espèce : *S.lavandulae* (WAKSMAN et CURTIS) WAKSMAN et HENRICI. Cette espèce produit le complexe streptothricine et la framycétine qui possèdent une activité contre de nombreuses bactéries à Gram⁺ mais ont une activité limitée contre les bactéries à Gram⁻ (ASSELINÉAU et ZALTA, 1973; PRIDHAM et TRESNER, 1974).

1.2.2.3 - Section III : chaînes de spores de type
"S-RF"

Un seul groupe : mélanines produites

3 isolats : 357, 369 et 389

M.A : rose à rose violace

M.V et P.S : non caractéristiques (brun jaune à brun orange clair)

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action très forte sur les bactéries à Gram⁺,
forte sur les bactéries à Gram⁻ et les champignons, faible sur *C.albicans*.

Espèce : *S.chromogenus*, ISONO *et al.*; qui, d'après MALLAMS (1982) produit un antibiotique antifongique : la chromine.

1.2.2.4 - Section IV : chaînes de spores de type "RA"

Groupe 1 : mélanines produites

2 isolats : 206 et 380

M.A : rose à rose violet

M.V : non caractéristique (brun jaune à brun orange)

P.S : non produits

Sucres : tous non utilisés à l'exception du glu et du man

Propriétés antagonistes : action forte sur les bactéries à Gram⁺ et
faible sur les champignons.

Espèce : *S.katrae*, GUPTA et CHOPRA, mais celle-ci n'utilise pas le D.mannitol. Cette espèce a des activités antibactériennes et antifongiques (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

Groupe 2 : mélanines non produites

5 isolats : TM 38, TM 51, AD 62, AD 65 et AD70

M.A : peu produit sur ISP2 et ISP4, abondant et rose sur ISP3 et ISP5.

M.V : non caractéristique (jaune orange)

P.S : non produits

Sucres : ara, ino, man, rha et sac non utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries (Gram⁺ et Gram⁻), les champignons et *C.albicans*.

Espèce : *S. fradiae* (WAKSMAN et CURTIS), WAKSMAN et HENRICI. Celle-ci produit les complexes néomycine, fradicine et l'érythromycine (PRIDHAM et TRESNER, 1974), qui ont des activités antibactériennes (Gram⁺ et Gram⁻).

1.2.2.5 - Section V : chaînes de spores de type "RA-RF"

Un seul groupe : mélanines non produites

Isolat TM 95

M.A : blanc rose à rose

M.V et P.S : non caractéristiques (brun jaune)

Sucre : man et rha non utilisés

Particularités : production de très courtes chaînes de spores (moins de 20 spores par chaîne)

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et *C.albicans*

Espèce probable : *S.roseus* (KRAINSKY) PRIDHAM *et al.*, mais celle-ci n'utilise pas les sucres suivants : arabinose, inositol, raffinose et saccharose.

D'après PERLMAN (1982), cette espèce produit deux antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram⁺ : la sulfactine et l'arsimycine.

1.2.2.6 - Section VI : chaînes de spores de type "RF"

Groupe 1 : mélanines produites

3 isolats : AD 9, AD25 et AD 104

M.A : peu produit, blanc rosâtre à rose

M.V : jaune orangé, orange vif à orange rouge.

P.S : non caractéristique sur ISP2 et ISP5 (brun jaune), non produits sur ISP3 et ISP4.

Sucres : rha non utilisé

Particularités : action hémolytique moyenne

Propriétés antagonistes : action forte sur les bactéries à Gram⁺ et les champignons, moyenne sur les bactéries à Gram⁻ et *C. albicans*.

Espèce : *S. fulvissimus* (JENSEN) WAKSMAN et HENRICI; celle-ci a des activités antibactériennes et antifongiques (PRIDHAM et TRESNER, 1974) et produit un antibiotique actif sur les bactéries à Gram⁺ : la valinomycine (ASSELINEAU et ZALTA, 1973).

Isolat 120

M.A : blanc rose à rose

M.V : jaune orange à rouge orange

P.S : non produits

Sucres : rha et sac non utilisés

Particularités : sporophores en pseudoverticilles

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et faible sur les bactéries à Gram⁻.

Espèce : *S. spectabilis*, DIETZ, qui n'utilise pas l'arabinose. Cette espèce produit le complexe streptovaricine et la spectinomycine actifs sur les bactéries Gram⁺ et Gram⁻ (NEUMAN, 1979; DANIELS, 1982; ANTOSZ, 1982).

Isolat TM 27

M.A : blanc-rose

M.V : orange sur ISP3, jaune citron sur ISP7 et non caractéristique sur les autres milieux

P.S : rose sur ISP3, non produits sur les autres milieux

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et *P. mirabilis*

Espèce : *S. pseudovenezuelae* (KUCHAEVA *et al.*) PRIDHAM, qui est connue pour produire le chloramphénicol, un antibiotique à large spectre (NEUMAN, 1979).

Isolat 260

M.A : blanc-rose

M.V : non caractéristique (brun jaune)

P.S : non produits

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et faible sur les bactéries à Gram⁻.

Espèce : *S. phaeochromogenes* (CONN) WAKSMAN. Cette dernière a des activités antibactériennes (PRIDHAM et TRESNER, 1974) et produit deux antibiotiques ayant des propriétés antivirales : les kikumycines A et B (ASSELINEAU et ZALTA, 1973). Elle produit également un antibiotique actif sur les bactéries (Gram⁺ et Gram⁻) (PERLMAN, 1982).

Groupe 2 : mélanines non produites

2 isolats : 528 et 532

M.A : peu produit sur ISP2 et ISP3, rose à orange sur ISP4 et ISP5.

M.V : rouge orange virant au rouge rose à pH acide.

P.S : violet à violet rouge sur ISP3 et ISP4

Sucres : tous utilisés.

Propriétés antagonistes : action faible sur les bactéries (Gram⁺ et Gram⁻) et *C. albicans* et forte sur les champignons.

Espèce probable : *S. californicus* (WAKSMAN et CURTIS), WAKSMAN et HENRICI; mais celle-ci n'utilise pas les sucres suivants : arabinose, inositol, raffinose, rhamnose et saccharose. Cette espèce produit les complexes viomycine et griséorhodine actifs sur les bactéries Gram⁺ et Gram⁻ (PRIDHAM et TRESNER, 1974; PERLMAN, 1982).

2 isolats : AD 81 et AD 97

M.A : blanc rose à rose

M.V : brun à brun rougeâtre sur ISP2, non caractéristique sur les autres milieux (brun jaune).

P.S : brun foncé virant au brun rouge à pH acide sur ISP2, non produits sur les autres milieux

Sucres : fru, ino, man et xyl faiblement utilisés

Particularités : action hémolytique moyenne

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺.

Espèce probable : *S. roseofulvus* (PREOBRAZHENSKAYA), PRIDHAM *et al.*, celle-ci forme un mycélium végétatif jaune pâle et n'utilise pas le fructose et l'inositol. Cette espèce a des activités antibactériennes (PRIDHAM et TRESNER, 1974) et produit la frenolicine et la desoxyfrenolicine actifs sur les champignons (IWAI *et al.*, 1978). La frenolicine a aussi des activités contre les coccidioses du poulet (OMURA *et al.*, 1985).

Isolat 132

M.A : rose, M.V et P.S : non caractéristiques (jaune pâle à brun clair).

Sucres : ino, man et raf non utilisés

Particularités : production de longues chaînes de spores dans le mycélium végétatif (propriété assez rare chez les *Streptomyces*).

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et *C.albicans*

Espèce probable : *S. exfoliatus* (WAKSMAN et CURTIS) WAKSMAN et HENRICI, malgré les différences observées dans l'utilisation du raffinose et du saccharose.

Cette espèce a des activités antibactériennes et antifongiques (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

3 isolats : 466, 468 et 517

M.A : rose; M.V et P.S : brun foncé à brun rougeâtre sur ISP2, non caractéristiques sur les autres milieux (brun clair)

Sucres : tous utilisés

Particularités : production de longues chaînes de spores dans le mycélium végétatif.

Propriétés antagonistes : action moyenne sur *M.luteus*, *S. aureus* et *P. Fluorescens*.

Espèce probable : *S. prunicolor* (RYABOVA et PREOBRAZHENSKAYA) PRIDHAM *et al.*, cependant la production de spores dans le mycélium végétatif n'a pas été signalée. Cette espèce a des activités antibactériennes (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

1.2.3 - Série des "Bleu"

1.2.3.1 - Section I : chaînes de spores de type "S"

Groupe 1 : spores lisses et mélanines produites

Isolat 11

M.A : bleu; M.V. : rouge orange à violet rouge

P.S : orange sur ISP3 et ISP5, non caractéristique sur ISP2 et ISP4.

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et *F.o.albedinis*, faible sur *C.albicans*

Espèce la plus proche : cet isolat se rapproche par certains caractères de *S.azureus*, KELLY *et al.*, mais il s'en distingue par la couleur du mycélium végétatif (jaune brunâtre clair dans le cas de *S.azureus*) et la production de pigments solubles (*S.azureus* n'en produit pas).

Cette espèce produit un antibiotique antibactérien : le thiostrepton (PERLMAN, 1982) et un antifongique : l'antifongine (DROFF, 1979)

Groupe 2 : spores épineuses et mélanines produites

Isolat 10

M.A : bleu; M.V et P.S : brun orange à orange

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺.

Espèce : *S.coeruleorubidus* PREOBRAZHENSKAYA, qui est connue pour la production d'un antibiotique anticancéreux : la rubomycine (PREOBRAZHENSKAYA *et al.*, 1966) et pour ses activités antibactériennes et antifongiques (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

12 isolats : 452, 492, 493, 505, 509, 523, 526, 527, 543, 545, 571 et 600

M.A : bleu; M.V : non caractéristique (brun jaune à jaune orange)

P.S : bruns

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action forte sur *M.luteus*, variable sur *F.o. albedinis*, moyenne sur *S.aureus* et faible sur *C.albicans*.

Espèce : *S.coerulescens* (PREOBRAZHENSKAYA) PRIDHAM *et al.*, cette dernière produit la coeruléomycine et les gilvovaricines qui sont actifs sur les bactéries (Gram⁺ et Gram⁻) et les champignons (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

6 isolats : 5, TM 1, TM 14, TM 36, TM 106 et TM 107

M.A : bleu; M.V : non caractéristique (brun jaune)

P.S : jaune vif

Sucres : tous utilisés

Particularités : les sporophores sont arrangés en pseudoverticilles.

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries à Gram⁺.

Espèce : *S.chartreusis* LEACH *et al.*, qui est connue pour produire un antibiotique antibactérien : la chartreusine (PRIDHAM et TRESNER, 1974). Cet antibiotique a aussi une activité anticancéreuse (MAKOTO *et al.*, 1980).

2 isolats : AD 90 et AD 96

M.A : peu produit sur ISP2 et ISP5, blanc à bleu clair et abondant sur ISP3 et ISP4.

M.V : non caractéristique (brun jaune)

P.S : non produits

Propriétés antagonistes : forte action sur les bactéries à Gram⁺

Espèce : *S. peruviansis* ANONYME.

Groupe 3 : spores épineuses et mélanines non produites

2 isolats : AD 95 et AD 106

M.A : rose virant progressivement au bleu

M.V : orange à rouge vif

P.S : brun rouge devenant brun à pH basique

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺

Espèce : la comparaison des caractéristiques morphologiques et culturelles de ces deux isolats avec les espèces de *Streptomyces* "Bleu", montre qu'ils s'en distinguent par deux caractères essentiels :

- . la couleur du mycélium aérien variable
- . la pigmentation du mycélium végétatif

1.2.3.2 - Section II : chaînes de spores de type "RF"

Un seul groupe : spores lisses et mélanines produites

3 isolats : 26, 35 et 45

M.A : bleu

M.V : non caractéristique (brun olive)

P.S : brun orangé sur czapeck, non produit sur les autres milieux

Sucres : man non utilisé

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et

F.o. albedinis.

Espèce : *S. achchabadicus* PREOBRAZHENSKAYA; celle-ci présente une activité antibiotique faible envers les bactéries à Gram⁺ (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

1.2.4 - Série des "jaunes"

Les 16 isolats de cette série sont tous caractérisés par :

- la formation de spores à surface lisse
- la non production de mélanines

1.2.4.1 - Section I : chaînes de spores de type "S"

4 isolats : 598, 667, 686 et 704

M.A : jaune à jaune grisâtre

M.V : non caractéristique (brun jaune à olive)

P.S : jaune sur ISP2.

Sucres : sac non utilisé

Propriétés antagonistes : action forte sur les bactéries à Gram⁺, faible sur les bactéries à Gram⁻, les champignons et *C.albicans*.

Espèce probable : *S. aurigineus* (KRASIL'NIKOV et al.) PRIDHAM; mais celle-ci n'utilise pas l'inositol, le mannitol et le raffinose. Cette espèce produit le complexe actinomycine B (PRIDHAM et TRESNER, 1974) qui a des activités antibactériennes, antifongiques et antitumorales.

1.2.4.2 - Section II : chaînes de spores de type "RA"

4 isolats : 320, 368, 403 et 429

M.A : blanc crème à gris-jaune

M.V : non caractéristique (brun jaune à brun clair)

P.S : non produits

Sucres : ara, sac et xyl non utilisés

Particularités : chaînes de spores courtes (10 à 30 spores par chaîne).

Action hémolytique moyenne.

Propriétés antagonistes : action moyenne à forte envers les bactéries à Gram⁺ et *P.mirabilis* et faible envers *A.flavus*.

Espèce probable : *S.diastaticus* (KRAINSKY) WAKSMAN et HENRICI; mais celle-ci n'utilise pas l'inositol, le raffinose et le rhamnose. Cette espèce produit l'antibiotique S.520 actif sur les mycobactéries (PERLMAN, 1982) et un antifongique : la distamycine (MALLAMS, 1982).

1.2.4.3 - Section III : chaînes de spores de type "RA - RF"

6 isolats : 361, TM 46, AD 26, AD 49, AD 61 et AD 69

M.A : jaune gris

M.V et P.S : non caractéristiques (brun olive)

Sucres : ino, raf et sac non utilisés

Particularités : chaînes de spores de type "RA" : courtes; et de type "RF" : longues.

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et *P.mirabilis*, faible envers *A.flavus*.

Espèce : *S.wilmorei* (ERIKSON) WAKSMAN et HENRICI.

1.2.4.4 - Section IV : chaînes de spores de type "RF"

Isolat 660

M.A : jaune à vert olive

M.V : rouge sur ISP4 et non caractéristique sur les autres milieux (brun jaune).

P.S : rouge sur ISP4, non caractéristique sur les autres milieux (brun jaune)

Particularités : production de longues chaînes de spores sur le mycélium végétatif.

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et faible sur *A.flavus*.

Espèce : *S. corofaciens* SCHMIDT-TOME *et al.*; qui d'après MALLAMS (1982) produit un antibiotique antifongique : la takemycine.

Isolat TM 26

M.A : jaune à jaune-gris

M.V et P.S : non caractéristiques (brun jaune)

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺,
P.mirabilis et *F.o.albedinis*.

Espèce probable : *S.coellulosae* (KRAINSKY) WAKSMAN et HENRICI; mais celle-ci n'utilise pas l'arabinose. Cette espèce exhibe des activités antibactériennes (PRIDHAM et TRESNER, 1974) et produit la fungichromine (MALLAMS, 1982).

1.2.5 - Série des "Vert"

Une section : chaînes de spores de type "S - RA"

Un seul groupe : spores épineuses-chevelues et mélanines non produites

2 isolats : 584 et 655

M.A : vert-olive-gris

M.V et P.S : non caractéristiques (brun jaune)

Sucres : ino non utilisé

Propriétés antagonistes : action forte sur *S.pyogenes*, moyenne sur les autres bactéries à Gram⁺ et *S.typhi*.

Espèce : *S. viridosporus* PRIDHAM *et al.*, qui est connue par ses activités antibactériennes et pour la production d'un antibiotique antifongique : la sistomycine (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

Espèce : *S. corofaciens* SCHMIDT-TOME *et al.*; qui d'après MALLAMS (1982) produit un antibiotique antifongique : la takemycine.

Isolat IM 26

M.A : jaune à jaune-gris

M.V et P.S : non caractéristiques (brun jaune)

Sucres : tous utilisés

Propriétés antagonistes : action moyenne sur les bactéries à Gram⁺,
P.mirabilis et *F.o.albedinis*.

Espèce probable : *S.coellulosae* (KRAINSKY) WAKSMAN et HENRICI; mais celle-ci n'utilise pas l'arabinose. Cette espèce exhibe des activités antibactériennes (PRIDHAM et TRESNER, 1974) et produit la fungichromine (MALLAMS, 1982).

1.2.5 - Série des "Vert"

Une section : chaînes de spores de type "S - RA"

Un seul groupe : spores épineuses-chevelues et mélanines non produites

2 isolats : 584 et 655

M.A : vert-olive-gris

M.V et P.S : non caractéristiques (brun jaune)

Sucres : ino non utilisé

Propriétés antagonistes : action forte sur *S.pyogenes*, moyenne sur les autres bactéries à Gram⁺ et *S.typhi*.

Espèce : *S. viridosporus* PRIDHAM *et al.*, qui est connue par ses activités antibactériennes et pour la production d'un antibiotique antifongique : la sistomycine (PRIDHAM et TRESNER, 1974).

Tableau 7 : Comparaison des caractères morphologiques et physiologiques des isolats 27, 28 et 53 avec ceux des trois espèces d'*Elytrosporangium*

Caractères :		Isolats 27, 28 et 53	<i>E. brasiliense</i>	<i>E. carpinense</i>	<i>E. spirale</i>
Morphologiques	Milieu				
M.A	ISP2	blanc	blanc à gris-vert	gris foncé	blanc
M.V		orange	marron	marron	marron
P.S		- (1)	-	-	-
M.A	ISP3	blanc	blanc à vert	gris foncé	blanc
M.V		jaunâtre	non coloré	marron noir	beige
P.S		-	-	-	-
M.A	ISP4	-	blanc	gris foncé	blanc
M.V		brun jaunâtre	crème	marron à noir	crème à marron clair
P.S		-	-	-	-
M.A	ISP5	-	gris	gris foncé	beige à marron
M.V		brun jaunâtre	non coloré à crème	vert olive	jaune marron
P.S		-	-	-	-
M.A	czapeck	-	-	gris foncé	peu produit
M.V		non coloré	crème brillant	jaune	non coloré
P.S		-	-	-	marron clair
Morphologie des chaînes de spores*		"RF" (+ de 50 spores par chaîne)	"RA" à "S" (moins 10 spores/chaîne)	"S" et "RA"	"S" (10 à 50 spores par chaîne)
Physiologiques					
Mélanines		+(2)	-	-	-
Utilisation des sucres		tous utilisés	Inositol et xylose non utilisés	saccharose non utilisé	tous utilisés
Hydrolyse de : amidon		+	+	+	+
gélatine		+	+	+	+
Croissance sur cellulose		excellente	faible	-	NE (3)
Réduction des nitrates		+	-	+	V (+ et -) (4)

(1) - = non produit; (2) + = positif; (3) NE : test non effectué; (4) V = variable

* "RF" : chaînes de spores droites à flexueuses; "RA" : chaînes de spores en forme de boucles; "S" : chaînes de spores spiralées.

De plus, ces isolats ont en commun les propriétés suivantes :

- le mycélium aérien est blanc à blanc-beige; il porte de longs filaments de spores de type "RF"
- le mycélium végétatif est jaunâtre à brun
- ils sécrètent des mélanines et utilisent tous les sucres
- ils hydrolysent la cellulose, l'amidon, la gélatine et réduisent les nitrites en nitrites
- ils ont une action spécifique sur *B.subtilis* et *C.albicans* et une forte action hémolytique.

Le genre *Elytrosporangium* est représenté seulement par trois espèces :

- E. brasiliense* FALCAO DE MORAIS *et al.* (1966)
- E. spirale* FALCAO DE MORAIS *et al.* (1970) *et*
- E. carpinense* FALCAO DE MORAIS *et al.* (1971).

Nos trois isolats diffèrent de ces trois espèces par la morphologie des chaînes de spores et la production des mélanines (Tableau 7).

Ils diffèrent également de :

- *E. brasiliense* par la couleur du mycélium aérien sur les milieux ISP2 et ISP3 et l'utilisation de certains sucres;
- *E. carpinense* par la couleur des mycéliums aérien et végétatif et l'utilisation du saccharose,
- *E. spirale* par la couleur du mycélium végétatif sur ISP2 et la non production de pigments solubles sur le milieu czapeck.

Ces différences fondamentales nous conduisent à penser que trois isolats appartiendraient à une nouvelle espèce d'*Elytrosporangium*.

2 - Actinomycètes à paroi de type II

Un seul isolat possède une paroi de type II, le numéro 190. Il appartient à la famille :

- des *Actinoplanaceae*, dont les représentants produisent des sporanges sur le mycélium végétatif et peu de mycélium aérien,

- ou des *Micromonosporaceae*, sans sporanges, dont un seul genre ne produit pas de mycélium aérien : *Micromonospora*.

Identification du genre et de l'espèce

L'isolat 190 se différencie de tous les autres isolats étudiés par l'absence de mycélium aérien. Il ne forme pas de sporanges. Il produit un mycélium végétatif non fragmenté et des spores uniques rattachées sur le mycélium par de courts sporophores (Planche).

Il appartient donc au genre *Micromonospora* ORSKOV. LUEDMAN (1974) différencia 16 espèces de *Micromonospora* sur la base de critères morphologiques (couleur des colonies, croissance sur milieu czapeck, arrangement des sporophores, production ou non de pigments diffusibles caractéristiques) et physiologiques (utilisation de l' α mélibiose, du raffinose, du rhamnose et l'hydrolyse de la cellulose).

L'isolat 190 produit un mycélium végétatif orange virant au brun noir et un pigment soluble brun orange clair. Le centre des colonies est noir.

Il se caractérise par une croissance lente sur les milieux czapeck et ISP2 et un bon développement sur les autres milieux.

Il utilise tous les sucres, y compris l' α mélibiose et ne produit pas de mélanines.

Il exerce une action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et une action faible sur certaines bactéries à Gram⁻ (*P. fluorescens*, *P. mirabilis* et *S. typhi*).

La comparaison de notre isolat avec les espèces de *Micromonospora* montre qu'il est très proche de *M. chalcea* (FOULERTON) ORSKOV, qui produit un antibiotique antibactérien et anticancéreux : la tétrocarbine et un antifongique : la néorustmycine (ABE et al., 1985).

3 - Actinomycètes à paroi de type III

3.1 - Clé de détermination des genres

Les isolats 163, 200, 525, 719, 720 et TM 30 ont une paroi de type III (méso D.A.P et sucres non caractéristiques).

Afin d'identifier les genres auxquels appartiennent ces isolats, nous donnons une clé de détermination des principaux genres d'actinomycètes à paroi de type III dans le tableau 8 (d'après COUCH et BLAND, 1974; CROSS, 1974; MEYER, 1979; PELCZAR *et al.*, 1986).

3.2 - Identification des genres

Les isolats 719 et 720 produisent des sporanges globuleux sur le mycélium aérien. Leurs sporangiospores sont en forme de bâtonnets droits, incurvés ou légèrement spiralés et mobiles. Le mycélium végétatif ne se fragmente pas. Ces deux isolats appartiennent donc au genre *Spirillospora* COUCH (1963).

Les quatre autres isolats ne produisent pas de sporanges.

- L'isolat 200 produit de courtes chaînes de spores portées par des sporophores (planche). Le mycélium végétatif n'est pas fragmenté. Ces propriétés sont celles du genre *Actinomadura* LECHEVALIER et LECHEVALIER (1970b).
- Les isolats TM 30, 163 et 525 sont caractérisés par la fragmentation du mycélium végétatif en bâtonnets et en coçcoïdes de taille variable et par la production, de manière irrégulière, de très longues chaînes de spores sur le mycélium aérien (planche). Ces trois isolats sont des *Nocardiopsis* MEYER (1976).

3.2.1 - Identification des espèces de *Spirillospora*

Les isolats 719 et 720 forment un mycélium aérien généralement blanchâtre et utilisent tous les sucres. Cependant, des différences entre ces deux isolats sont observées :

Tableau 8 : Caractéristiques morphologiques majeures des principaux genres d'actinomycètes à paroi de type III

Sporanges	Morphologie et type de sporulation du mycélium aérien (M.A)	Morphologie du mycélium végétatif	Genres correspondants
Produits (1)	Sporanges globuleux, spores mobiles en bâtonnets droits, incurvés ou légèrement spiralés	non fragmenté	<i>Spirillospora</i>
	Sporanges globuleux, spores immobiles	non fragmenté	<i>Streptosporangium</i>
	Sporanges allongés avec une seule spore	non fragmenté	<i>Planomonospora</i>
	Sporanges allongés avec deux spores	non fragmenté	<i>Planobiospora</i>
Non produits	M.A abondamment ramifié. Chaînes de spores courtes (3 à 20 spores par chaîne) Sporophores bien distincts	non fragmenté	<i>Actinodura</i> (2)
	M.A se fragmente irrégulièrement en de très longues chaînes de spores, disposées souvent en zigzag. Pas de sporophores	se fragmente en bâtonnets	<i>Nocardioopsis</i> (2)
	Chaînes de quatre spores	non fragmenté	<i>Microtetraspora</i> (2)
	Spores par deux	non fragmenté	<i>Microbiospora</i> (3)

(1) d'après la description de COUCH et BLAND (1974)

(2) d'après la description de MEYER (1979) et PELCZAR *et al.* (1986)

(3) d'après la description de CROSS (1974).

Isolat 719

Il produit des sporanges sur ISP3 seulement (12 μm de diamètre en moyenne (planche), et sa croissance sur ISP4 est faible.

Le mycélium végétatif est brun rouge sur ISP2 et les pigments solubles sont de couleur rouge sur ISP2, ISP3, ISP5 et czapeck, brun rouge sur ISP7. Les mélanines ne sont pas produites.

Il est actif sur les bactéries à Gram⁺ et les champignons.

Isolat 720

Il produit des sporanges sur ISP3 et ISP4 où sa croissance est excellente et sur le milieu minéral ISP9 contenant le fructose, le raffinose et le saccharose.

Les sporanges produits par cet isolat sont plus volumineux que ceux de l'isolat 719. Leur diamètre est de 20 μm en moyenne. Cet isolat sécrète des mélanines sur ISP6 seulement et est actif sur les bactéries à Gram⁺.

Comparaison des isolats 719 et 720 avec *Sp.albida*.

La comparaison des isolats 719 et 720 avec l'unique espèce *Sp.albida* montre que :

l'isolat 720 est similaire au *Sp.albida* COUCH (1963), tandis que l'isolat 719 en diffère par les caractères suivants :

- . la production de sporanges sur ISP3 seulement
- . la couleur caractéristique du mycélium végétatif brun rouge (jaunâtre pâle dans le cas de *Sp.albida*)
- . la production d'un pigment soluble rouge caractéristique. Cependant, COUCH et BLAND (1974) rapportent que 8 souches sur 14 de *Sp.albida* produisent un pigment bleu caractéristique : la spirillimycine
- . la production d'un pigment rouge sur ISP7 (gris dans le cas de *Sp.albida*).

Nous pouvons donc dire que ces différences sont assez importantes et que l'isolat 719 pourrait être considéré comme une nouvelle espèce ou sous-espèce de *Sp. albida*.

3.2.2 - Identification de l'espèce d'*Actinomadura*

L'isolat 200 forme un mycélium aérien blanc à blanc-rose et un mycélium végétatif brun jaune. Le mycélium aérien produit de courtes chaînes de spores (5 à 20 spores par chaîne) de type "RA" et "S". La surface des spores est rugueuse (planche).

Il ne produit pas de mélanines et n'utilise pas l'arabinose.

Il se développe aussi bien à 28°C qu'à 40°C, mais ne pousse pas à 50°C.

La comparaison de l'isolat 200 avec les espèces d'*Actinomadura* montre qu'il se rapproche de trois espèces : *A. ferruginea*, *A. libanotica* et *A. salmonea* (Tableau 9).

Toutefois, la souche 200 diffère de :

- *A. ferruginea* par la production du mycélium aérien et la couleur du mycélium végétatif sur les milieux ISP2, ISP4, ISP5 et czapeck.
- *A. libanotica* par la couleur du mycélium aérien sur ISP2 et czapeck, la morphologie des chaînes de spores et l'utilisation de certains sucres.

Par contre, elle se rapproche plus de *A. salmonea* MEYER, bien qu'elle en diffère par la couleur du mycélium végétatif sur le milieu ISP2.

3.2.3 - Identification des espèces de *Nocardioopsis*

Parmi les trois isolats de *Nocardioopsis* :

- les souches 163 et 525 sont caractérisées par :
 - . un mycélium aérien abondant de couleur gris-jaunâtre.
 - . un mycélium végétatif et des pigments solubles généralement bruns,
 - . la non production de mélanines et l'utilisation de tous les sucres,
 - . une action moyenne sur les bactéries à Gram⁺.

Comparée aux espèces de *Nocardioopsis*, ces deux souches sont très similaires au *N. dassonvillei* MEYER (1976) (Tableau 10). Cette dernière produit un pigment pourpre qui a des activités antimicrobiennes : l'iodinine (BERGER, 1982).

Tableau 9 : Caractéristiques morphologiques et physiologiques de l'isolat 200 et de trois espèces d'*Actinomadura*

Caractères	Isolat 200	<i>A. ferruginea</i> (1)	<i>A. libanotica</i> (1)	<i>A. salmonea</i> (1)	
ISP2	M.A*	blanchâtre - rose pâle	blanchâtre - rose pâle	blanchâtre - rose pâle	blanchâtre-rose pâle
	M.V**	brun à brun jaunâtre	rose	brun jaunâtre	rouge foncé
ISP3	M.A	traces	orange-rose	rose pâle	traces
	M.V	brun jaune	brun rougeâtre foncé	brun jaunâtre	brun clair
ISP4	M.A	blanchâtre	non produit	non mentionnés	blanchâtre
	M.V	brun jaune	brun pâle		brun
ISP5	M.A	blanchâtre	non produit	non mentionnés	blanchâtre
	M.V	brun jaune	rose pâle		brun
Czapeck	M.A	blanchâtre	non produit	rose pâle	blanchâtre
	M.V	non coloré	rose	blanc jaunâtre	blanc jaunâtre
Morphologie des chaînes de spores (2)	RA et S (5 à 20 spores par chaîne)	RA ou S	RF-RA (5 à 12 spores par chaîne)	RA - S	
Surface des spores	rugueuse	rugueuse	rugueuse	rugueuse	
Utilisation des sucres	arabinose non utilisé	mannitol, raffinose et fructose non utilisés	tous utilisés	tous utilisés	

(1) d'après la description de MEYER (1979) et ATHALYE *et al.* (1985)

(2) RF : chaînes de spores droites à flexueuses
 RA : chaînes de spores en forme de boucles
 S : chaînes de spores spiralées

* : M.A = mycélium aérien

** : M.V = mycélium végétatif

- L'isolat TM 30 est caractérisé par :

- . un mycélium aérien jaune pâle à jaune citron
- . un mycélium végétatif vert à brun jaunâtre-verdâtre
- . des pigments solubles verdâtres sur ISP2, ISP3 et ISP5,
- . la non production de mélanines et l'utilisation de tous les sucres
- . une action moyenne sur les bactéries à Gram⁺.

Comparé aux espèces de *Nocardioopsis* (Tableau 10), l'isolat TM 30 en diffère par :

- la couleur des mycéliums aérien et végétatif
- la couleur des pigments solubles
- la longueur des chaînes de spores.

Il pourrait appartenir à une nouvelle espèce ou sous-espèce de *Nocardioopsis*.

4 - Actinomycètes à paroi de type IV

4.1 - Clé de détermination des genres

Les isolats 22, 23, 160, 174 et AD 73 ont une paroi de type IV et forment un mycélium aérien qui produit des spores.

Certains genres à paroi de type IV ne produisent pas de mycélium aérien (*Mycobacterium*). Les autres qui présentent ces caractères, figurent dans le tableau 11 (d'après McLUNG, 1974; LACEY et GOODFELLOW, 1975; KURIH, 1981).

Ces genres sont différenciés par certains critères morphologiques comme :

- la fragmentation ou non du mycélium végétatif
- la production de spores dans le mycélium végétatif et/ou dans le mycélium aérien.

4.2 - Identification des genres

Les isolats 22, 23 produisent un mycélium végétatif, peu fragmenté, et non producteurs de spores. Ils forment également un mycélium aérien qui produit de courtes chaînes de spores (10 à 30 spores par chaîne) (Planche).

Tableau 10 : Caractéristiques morphologiques et physiologiques des isolats TM 30, 163, 525 et de quatre espèces de *Nocardioopsis*

Caractères	Isolat TM30	Isolats 163 et 525	<i>N.dassonvillei</i> (1)	<i>N.dassonvillei</i> sub <i>ps prasina</i> (2)	<i>N. mutabilis</i> (3)	<i>N. flava</i> (4)
Mycélium aérien	jaune pâle à jaune citron	gris-jaune	gris-jaune	blanc-vert	blanc	blanc
Mycélium végétatif	vert-brun à jaune verdâtre	brun jaunâtre à olive	brun jaunâtre à olive	non coloré	brun jaune à jaune orangé	jaune citron à brun jaune
Pigments solubles	vert à vert jaune clair	brunâtre	non coloré à jaunâtre, jaune verdâtre ou brun	non produits	brun clair	non produits
Pigments mélanoïdes	-	-	-	-	-	non mentionnés
Utilisation des sucres	+	+	+	Rhamnose non utilisé	+	non mentionné
Morphologie des chaînes de spores	chaînes de spores assez larges	longues chaînes de spores	longues chaînes de spores	longues chaînes de spores	longues chaînes de spores	longues chaînes de spores
Fragmentation du mycélium végétatif	se fragmente beaucoup	se fragmente peu	se fragmente peu	se fragmente peu	se fragmente totalement	se fragmente

(1) d'après la description de MEYER (1976)

(2) d'après la description de MIYASHITA *et al.* (1984)

(3) d'après la description de SHEARER *et al.* (1983)

(4) d'après la description de PREOBRAZHENSKAYA *et al.* (1982)

- : non produits

+ : utilisation des 9 sucres (glucose, arabinose, mannitol, fructose, saccharose, raffinose, inositol, xylose et rhamnose.

Ce sont des *Saccharopolyspora* LACEY et GOODFELLOW (1975).

Les autres isolats : 160, 174 et AD.73, forment un mycélium végétatif non fragmenté. Ils produisent des spores isolées portées par de courts sporophores sur le mycélium aérien (Planche).

Ils appartiennent donc au genre *Saccharomonospora* NONOMURA et OHARA, 1971.

4.2.1 - Identification de l'espèce de *Saccharopolyspora*

Les isolats 22 et 23 sont caractérisés par :

- un mycélium aérien généralement rose, un mycélium végétatif et des pigments solubles bruns à brun-rougeâtres,
- des sporophores qui portent de courtes chaînes de sporophores (10 à 30 spores par chaîne) du type "RA"="S" et des spores à surface chevelue (planche)
- la non production de mélanines
- l'utilisation de tous les sucres et dérivés : adonitol, arabinose, cellobiose, érythritol, fructose, glucose, inositol, lactose, mannitol, mélézitose, raffinose, rhamnose, saccharose et salicine,
- l'utilisation des sels de sodium suivants : acétate, citrate, pyruvate, succinate et tartrate,
- la non utilisation du benzoate de sodium
- une bonne croissance sur milieu ISP9 sans sucre
- une forte hydrolyse de l'amidon
- la sensibilité au lysozyme
- une croissance très lente à 28°C, optimale à 40-45°C et nulle à 50°C,
- une très forte action sur les bactéries à Gram⁺.

Comparaison des isolats 22 et 23 avec l'espèce de *Saccharopolyspora*

Une seule espèce *S.hirsuta* représente le genre *Saccharopolyspora* LACEY et GOODFELLOW (1975). Une sous-espèce *S.hirsuta* subsp. *kobensis* a été décrite par IWASAKI et al. (1979).

Tableau 11 : Clé de détermination des genres d'actinomycètes à parois de type IV et produisant un mycélium aérien (d'après McLUNG, 1974; LACEY et GOODFELLOW, 1975; KURUP, 1981).

- Reproduction par fragmentation irrégulière des hyphes du MA et du MV. Spores non produites sur les deux mycéliums.	<i>Nocardia</i>
- Croissance acropétale, production de blastospores dans le MA et dans le MV.	<i>Pseudonocardia</i>
- Courtes chaînes de spores sur les deux mycéliums	<i>Micropolyspora</i>
- Le MV se fragmente peu, mais ne produit pas de chaînes de spores. Le MA produit des chaînes de spores.	<i>Saccharopolyspora</i>
- Le MA produit des spores isolées portées par de courts sporophores. MV non fragmenté.	<i>Saccharomonospora</i>

MA : mycélium aérien

MV : mycélium végétatif

Nous avons comparé les deux isolats avec *S.hirsuta* (souche 1146) qui nous a été envoyée par le Professeur LACEY et à sa sous-espèce. Ils ont en commun, les caractères suivants :

- la morphologie des chaînes de spores ("RA" - "S")
- la surface des spores (chevelue)
- la non production de mélanines
- l'utilisation de l'amidon et la sensibilité au lysozyme
- la température optimale de croissance (40°C)
- ils sont très actifs sur les bactéries à Gram⁺.

Cependant, les deux isolats s'en distinguent par (Tableau 12) :

- . la couleur des mycéliums aérien et végétatif et des pigments solubles
- . la croissance sur milieu ISP9 sans sucre et l'utilisation de l'arabinose
- . la non utilisation du cellobiose et de l'adonitol.

En plus de ces différences, les isolats 22 et 23 se distinguent de :

- *S.hirsuta* par l'utilisation du tartrate de sodium et la croissance à 50°C
- *S.hirsuta* subsp. *kobensis* par l'utilisation de l'inositol, du rhamnose et du xylose.

Compte-tenu du nombre de caractères distinctifs parfois très importants tels que la couleur des mycéliums aérien et végétatif, nous pouvons dire que les isolats 22 et 23 appartiennent à une nouvelle espèce ou sous-espèce de *Saccharopolyspora*.

4.2.2 - Identification de l'espèce de *Saccharomonospora*

Les isolats 160, 174 et AD 73 ont, en commun les propriétés suivantes :

- . la production d'un mycélium aérien vert-gris à vert-bleu et d'un mycélium végétatif généralement brun jaune
- . les spores sont allongées et ont une surface lisse
- . la non production de mélanines
- . ils n'utilisent pas les sucres et hydrolysent la caséine, l'esculine et l'acide désoxyribonucléique (A.D.N)
- . la croissance et la sporulation sont très lentes à 28°C; elles sont optimales à 40-42°C et nulles à 50-55°C. Ce sont donc des isolats à tendance thermophiles
- . ils ont une action moyenne sur les bactéries à Gram⁺ et faible sur *P.mirabilis*.

Tableau 12 : Comparaison des caractéristiques morphologiques et physiologiques des isolats 22 et 23 avec *S.hirsuta* et sa sous-espèce *Kobensis*

Caractères	Isolats 22 et 23	<i>S.hirsuta</i> (1)	<i>S.hirsuta</i> subsp. <i>Kobensis</i> (2)
Morphologiques			
Mycélium aérien	rose	blanc	blanc
Mycélium végétatif	brun à brun-rouge	non coloré à beige	beige
Pigments solubles	orange à brun-rouge	non coloré à jaune	jaune à brun-rouge
Physiologiques			
Croissance sur ISP9 sans sucre	+	-	-
Utilisation de :			
arabinose	+ (3)	-	-
adonitol	- (3)	+	+
cellobiose	-	+	+
rhamnose	+	+	-
inositol	+	+	-
xylose	+	+	-
tartrate de sodium	+	-	NE (4)
mélézitose	+	-	+
croissance à 50°C	-	+	+

(1) D'après la description de LACEY et GOODFELLOW (1975)

(2) D'après la description de IWASAKI et al. (1979)

(3) + : utilisé - : non utilisé ± : douteux

(4) NE : test non effectué

Cependant, l'isolat 160 diffère des souches AD 73 et 174 par la production d'un pigment soluble vert.

Comparaison des isolats 160, 174 et AD 73 avec les espèces de *Saccharomonospora*

Le genre *Saccharomonospora* regroupe trois espèces : *S.viridis* NONOMURA et OHARA (1971), *S.internatus* KURUP (1981) et *S.caesia* KURUP (1981).

La comparaison des caractéristiques morphologiques et physiologiques des isolats 160, 174 et AD 73 et des espèces de *Saccharomonospora* (Tableau 13) montre que :

- . l'isolat 160 est similaire au *S.viridis* NONOMURA et OHARA (1971)
- . les isolats 174 et AD 73 qui produisent un pigment soluble brun, appartiennent également au *S.viridis*, car HOLLICK et KURUP (1983) rapportent que certaines souches de *S.viridis* ne produisent pas de pigment soluble vert.

Tableau 13 : Caractéristiques morphologiques et physiologiques des isolats AD 73, 160, 174 et des espèces de *Saccharomonospora*

Caractères	Isolats AD 73, 160 et 174	<i>S. viridis</i> (1)	<i>S. caesia</i> (2)	<i>S. internatus</i> (2)
Mycélium aérien	vert grisâtre à vert-bleu	vert grisâtre à verdâtre	bleu à bleu-gris	blanc devient vert-bleu
Mycélium végétatif	brun jaune parfois verdâtre	non coloré à vert foncé	blanc devient gris-vert	non mentionné
Pigments solubles	vert (160) brun (AD 73 et 174)	vert foncé à bleu-vert	non produits	non produits
Nombre de spores par chaînes	1	1	1 à 2, occasionnellement 2 à 4	1 à 6
Décomposition de :				
- caséine	+ (*)	+	+	-
- esculine	- (**)	-	+	-
- ADN (***)	-	-	+	-

(1) d'après la description de NONOMURA et OHARA (1971)

(2) d'après la description de KURUP (1981)

+ (*) : hydrolysé

- (**) : non hydrolysé

ADN : acide désoxyribonucléique

DISCUSSION GÉNÉRALE

Un grand nombre d'isolats d'actinomycètes s'est montré antagoniste envers les microorganismes testés. Les bactéries à Gram⁺ (et en particulier les saprophytes) se sont révélées plus sensibles que les bactéries à Gram⁻ et les champignons. Les germes les plus résistants sont *A. tumefaciens* et *P. aeruginosa*. Très peu d'actinomycètes leur sont antagonistes.

Etudiant l'activité antagoniste de 554 isolats d'actinomycètes, ROUAT *et al.* (1951) montrèrent que 59 %, 10 % et 9 % de ces isolats ont une action envers, respectivement *B. subtilis*, *E. coli* et *P. aeruginosa*.

Le tableau 14 donne la répartition des différents genres et espèces d'actinomycètes et leurs propriétés antagonistes.

Il ressort que 91 % du total des isolats producteurs d'antibiotiques sont des *Streptomyces*. Le reste des genres, au nombre de 8, ne représente qu'une faible proportion.

Etudiant les sols désertiques du Koweït, DIAB et AL ZAIDAN (1976) montrèrent que 94 % des isolats d'actinomycètes antagonistes sont des *Streptomyces*. NAZAR (1979) isole 102 souches d'actinomycètes producteurs d'antibiotiques, 10 seulement ne sont pas des *Streptomyces*. TIRABY et ETIENNE (1983) rapportent que l'abondance et la diversité structurale des antibiotiques synthétisés par les *Streptomyces* ne se retrouvent dans aucun autre genre microbien ou organisme supérieur.

Les isolats de la série des "gris" sont les plus nombreux puisqu'ils représentent environ 60 % du total des *Streptomyces* producteurs d'antibiotiques, contre 18 % (série des "rouge"), 13 % (série des "bleu"), 8 % (série des "jaune") et seulement 1 % (série des "vert"). WIECZORECK *et al.* (1977) isolèrent de 10 échantillons de sols différents de la Syrie, 35 souches de *Streptomyces* ayant des propriétés antagonistes. Les plus nombreux sont les *Streptomyces* de la série des "gris" (35).

En comparant les différents horizons des sols étudiés, nous remarquons que :

- 1 - Dans la palmeraie de Béni-Abbès, le nombre d'espèces est plus élevé dans les échantillons de sol de surface non amendé (12 espèces sur 21 isolats) que dans ceux enrichis avec de la paille d'orge (6 sur 33 isolats) ou de palmes de dattier (seulement 3 sur 28 isolats). Ce résultat est dû au fait que la paille d'orge et les palmes de dattier ont favorisé la croissance d'une même espèce : *S. griseoincarnatus* (série des "gris"), active sur les bactéries à Gram⁺ et à Gram⁻. Des dénombrements effectués à l'U.R.Z.A ont montré que cette espèce représente environ 80 % des actinomycètes dans ces sols amendés. L'augmentation considérable de la quantité de spores de *S. griseoincarnatus* pourrait être dû au fait que cette espèce soit cellulolytique et/ou ligninolytique.

- 2 - L'horizon profond de sol (V5) de la palmeraie de Béni-Abbès contient beaucoup d'isolats appartenant à l'espèce *S. coeruleus* (série des "bleu"). Les travaux effectués à l'U.R.Z.A ont montré que cette espèce représente environ 80 % du total des actinomycètes des horizons profonds V5 et V6. Cette prolifération semble être due au fait que cette espèce peut se multiplier dans les sols où la tension en oxygène est faible, alors que la plupart des microorganismes compétitifs sont éliminés.

 Nous remarquons également que la distribution des différents genres est plus importante dans les horizons de sols de surface que dans les horizons profonds. HAMDI et ALTAI (1977) et HAMDI et al. (1980), travaillant sur les sols de différentes régions d'Irak, ont aussi constaté que la fréquence des genres d'actinomycètes diminue avec la profondeur.

- 3 - Les espèces les plus fréquentes sont : *S. griseoincarnatus* (55), *S. toyocaensis* (28), *S. coeruleus* (12), *S. griseosporus* (7), *S. parvulus*, *S. chartreusis* et *S. wilmorei* (6). Les deux premières sont isolées des sols de surface des trois palmeraies. *S. coeruleus* se retrouve exclusivement dans les horizons profonds de Béni-Abbès (particulièrement

le V5), *S. griseosporca* dans le sol de surface non arrosé de la même palmeraie, tandis que *S. charbonensis* et *S. wilmorei* sont surtout isolées respectivement des sols de Timimoun et d'Adrar.

- 4 - Si les isolats de la série des "gris" prédominent dans les sols de surface de Béni-Abbès et de Timimoun et les isolats "bleu" dans les couches profondes de Béni-Abbès, par contre ce sont ceux de la série des "rouge" qui sont plus nombreux à Adrar. C'est parmi les isolats de cette série que l'on retrouve les actinomycètes ayant des activités assez fortes contre la plupart des microorganismes testés, et particulièrement *S. chromogenus*, *S. fradiae*, *S. fulvissimus* et *S. vinaceus*. Les isolats de la série des "jaune" et des "vert" sont les moins nombreux; les premiers sont présents dans tous les sols, tandis que les seconds ne sont retrouvés que dans les horizons profonds.
- 5 - Parmi les actinomycètes autres que les *Streptomyces*, les deux espèces de *Streptovercillium* : *Stv. olivoreticuli* et *Stv. luteovercillatum* ont une forte action antibactérienne et antifongique. *Saccharopolyspora* sp. et *Spirillospora* sp. ont une très forte action respectivement contre les bactéries à Gram⁺ et les champignons, alors que *Elytrosporangium* sp. inhibent *B. subtilis* et *C. albicans*.
- 6 - Parmi les 220 isolats sélectionnés : 9 n'ont pu être rattachés à aucune des espèces décrites à ce jour :
- 3 isolats (27, 28 et 53) appartenant au genre *Elytrosporangium*
 - 2 isolats (22 et 23) appartenant au genre *Saccharopolyspora*
 - l'isolat TM 30 rattaché au genre *Nocardioopsis*
 - l'isolat 719 rattaché au genre *Spirillospora*
 - les isolats 11 et 393 appartenant au genre *Streptomyces*
 - les isolats AD 94 et AD 106 appartiennent au genre *Streptomyces* de la série des "bleu", mais différent de toutes les espèces décrites par la couleur du mycélium aérien (d'abord rose, puis vire au bleu)

Tableau 14 : Répartition et propriétés antagonistes des genres et espèces d'actinomycètes producteurs d'antibiotiques

Séries	Espèces	Palmeraie de Beni-abbès			Adrar Timimoun		TOTAL	Activité antagoniste sur :			
		Horizons de surface (1)			Horizons de surface			Gram +	Gram -	Champi- gnons	C. albicans
	<i>S. griseoincarnatus</i>	4	20	21	-	1	55	forte	faible	-	-
	<i>S. toyocaensis</i>	2	8	5	-	6	28	forte	-	-	-
	<i>S. griseosporus</i>	6	-	-	1	-	7	moyenne	-	forte	-
	<i>S. parvulus</i>	1	-	-	2	1	6	moyenne	-	-	-
	<i>S. flavoviridis</i>	-	2	-	1	-	3	moyenne	-	-	-
G	<i>S. flavo-olus</i>	-	1	2	-	-	3	forte	-	-	moyenne
R	<i>S. antimycoticus</i>	1	-	1	-	2	2	moyenne	-	-	-
I	<i>S. virido-diastrichus</i>	-	-	-	-	2	2	forte	faible	-	-
S	<i>S. verrucosus</i>	-	-	-	1	-	1	forte	moyenne	forte	-
	<i>S. griseochromogenes</i>	-	1	-	-	-	1	forte	-	moyenne	-
	<i>S. siogaensis</i>	-	1	-	-	-	1	forte	faible	-	-
	<i>S. macrosporeus</i>	-	-	-	-	-	1	forte	-	-	-
120	<i>S. diastatochromogenes</i>	1	-	-	-	-	1	moyenne	-	-	-
iso-	<i>S. versipellis</i>	1	-	-	-	-	1	faible	-	forte	-
lats	<i>S. kishinouyei</i>	1	-	-	-	-	1	faible	-	moyenne	-
	<i>S. lavanduliformis</i>	1	-	-	-	-	1	faible	-	-	-
	<i>S. massasporicus</i>	1	-	-	-	-	1	moyenne	-	-	-
	<i>S. bottropensis</i>	-	-	-	-	-	1	moyenne	-	-	-
	<i>S. galilaeus</i>	-	-	-	-	-	1	forte	-	-	faible
	<i>S. galbus</i>	-	-	-	-	-	1	forte à moyenne	-	-	-

Tableau 14 : suite

Séries	Espèces	Palmerie de Réni-Abbès				Adrar Timimoun	Total	Activité antagoniste sur : (3)			
		Horizons de surface (1)		Horizons profonds	Gram +			Gram -	Champignons	C. abbécans	
		T	L								M
GRIS 120 isolats	<i>Sarcotomycetes</i> sp.	1	-	-	-	-	1	forte à moyenne	-	forte	moyenne
	<i>S. heimé</i>	1	-	-	-	-	1	forte	moyenne	-	-
R	<i>S. radiée</i>	-	-	-	-	3	5	forte	faible	moyenne	moyenne
O	<i>S. vinaceus</i>	-	-	-	-	2	4	forte	moyenne	forte	moyenne
U	<i>S. fulvissimus</i>	-	-	-	-	3	3	forte	moyenne	forte	moyenne
U	<i>S. chromogenus</i>	-	1	2	-	-	3	très forte	forte	forte	faible
G	<i>S. prunicolor</i>	-	-	-	3	-	3	faible	moyenne	-	-
E	<i>S. roseo-lilacinus</i>	-	-	-	-	1	3	moyenne	-	-	-
E	<i>S. katrae</i>	-	2	-	-	-	2	forte	-	-	faible
E	<i>S. californicus</i>	-	-	-	2	-	2	faible	faible	forte	faible
36	<i>S. roseofulvus</i>	-	-	-	-	2	2	moyenne	-	-	-
iso-	<i>S. vinaceus-drappus</i>	1	-	-	-	-	1	moyenne	-	-	-
lats	<i>S. roseus</i>	-	-	-	-	-	1	moyenne	-	-	moyenne
lats	<i>S. spectabilis</i>	1	-	-	-	-	1	moyenne	faible	-	-
lats	<i>S. pseudovenezuelae</i>	-	-	-	-	-	1	moyenne	-	-	-
lats	<i>S. phaeochromogenes</i>	-	1	-	-	-	1	moyenne	faible	-	-
lats	<i>S. lavandulae</i>	-	-	-	-	-	1	forte	moyenne	-	-
lats	<i>S. toxicitricini</i>	-	-	-	-	2	2	moyenne	-	-	-
lats	<i>S. exfoliatus</i>	1	-	-	-	-	1	moyenne	-	-	moyenne

Tableau 14 : (suite et fin)

Genres et espèces	Palmeraie de Béni-Abbès			Adrar Timimoun		Activité antagoniste sur : (3)				
	Horizons de surface (1)			Horizons de surface		TOTAL	Gram ⁺	Gram ⁻	Cham-pignons	C. albicans
	T	L	M	V5(2)	Aut. hor.					
<i>Streptovorticillium olivoreticul</i>	1	-	-	-	-	1	forte	moyenne	forte	forte
<i>Streptovorticillium luteovorticillatum</i>	-	-	-	3	-	3	forte	moyenne	forte	faible
<i>Elytrosporangium sp.</i>	3	-	-	-	-	3	faible	-	-	moyenne
<i>Micromonospora chalybea</i>	1	-	-	-	-	1	moyenne	faible	-	-
<i>Spirillospora albida</i>	-	-	-	-	1	1	moyenne	-	faible	-
<i>Spirillospora sp.</i>	-	-	-	-	1	1	moyenne	-	forte	-
<i>Actinomatina salmonea</i>	-	-	1	-	-	1	moyenne	-	-	-
<i>Nocardopsis dassonvillei</i>	1	-	-	1	-	2	moyenne	-	-	-
<i>Nocardopsis sp.</i>	-	-	-	-	-	1	moyenne	-	-	-
<i>Saccharopolyspora sp.</i>	2	-	-	-	-	2	très forte	-	-	-
<i>Saccharomonospora viridis</i>	1	-	1	-	-	3	moyenne	-	-	-

(1) Horizons de surface : 0,20 cm de profondeur :

T = sol non amendé

L = sol enrichi avec des fragments de paille d'orge

M = sol enrichi avec des fragments de palmes de dattier

(2) V5 = horizon de sol profond (110 à 180 cm)

(3) Intensité de l'action antagoniste : - très forte : diamètre de la zone d'inhibition : + de 30 mm
 (diamètre du disque d'actinomycète compris)

- forte : diamètre compris entre 20 et 30 mm

- moyenne : diamètre compris entre 12 et 20 mm

- faible : diamètre de 7 à 12 mm

CONCLUSION GENERALE - RESUME

Cette identification a montré qu'ils appartiennent à 9 genres d'actinomycètes.

- 201 isolats sont des *Streptomyces*. Ils sont classés dans 5 séries d'après la couleur du mycélium aérien : "Gris" (120), "Rouge" (36), "Bleu" (27), "Jaune" (16) et "Vert" (2). Les isolats "Gris" produisant des chaînes de spores spiralées et des spores à surface épineuse sont les plus nombreux (106).

Ces 201 isolats sont rattachés à 50 espèces différentes. Les plus fréquentes sont :

- . Série des "Gris" *S. griseoincarnatus* (55), *S. toyocaensis* (20),
S. griseosporus (7) et *S. parvullus* (6)
 - . Série des "Rouge"..... *S. fradiae* (5)
 - . Série des "Bleu"..... *S. coeruleus*(12) et *S. chartreusis* (6)
 - . Série des "Jaune"..... *S. wilmorei* (6).
- 4 isolats sont des *Streptoverticillium*. Une souche est similaire au *Stv. divoreticuli*, les autres sont identifiées à l'espèce *Stv. luteoverticillatum*.
 - 3 isolats appartiennent au genre *Elytrosporangium*. Ils diffèrent des 3 espèces d'*Elytrosporangium* par plusieurs caractères et pourraient appartenir à une nouvelle espèce.
 - 1 isolat appartient à l'espèce *Micromonospora chalcea*.
 - 6 isolats sont identifiés aux espèces : *Actinomadura salmonica* (1 isolat), *Nocardiosis dassonvillei* (2 isolats), *Nocardiosis* sp. (1 isolat) qui diffère des espèces de *Nocardiosis*, notamment par la couleur des mycélium aérien et végétatif, *Spirillispora albida* (1 isolat) et *Spirillispora* sp. (1 isolat). Cette dernière diffère de l'unique espèce de *Spirillispora* par la couleur du mycélium végétatif et la production d'un pigment rouge orange.

- 3 isolats appartiennent à l'espèce *Saccharomonospora viridis* et 2 au genre *Saccharopolyspora*. Les souches de *Saccharopolyspora* diffèrent par certains caractères morphologiques et physiologiques de l'unique espèce *S.hirsuta* et de sa sous-espèce *S.hirsuta subsp. kobensis*.

La répartition des isolats producteurs d'antibiotiques dans les différents sols étudiés indique que :

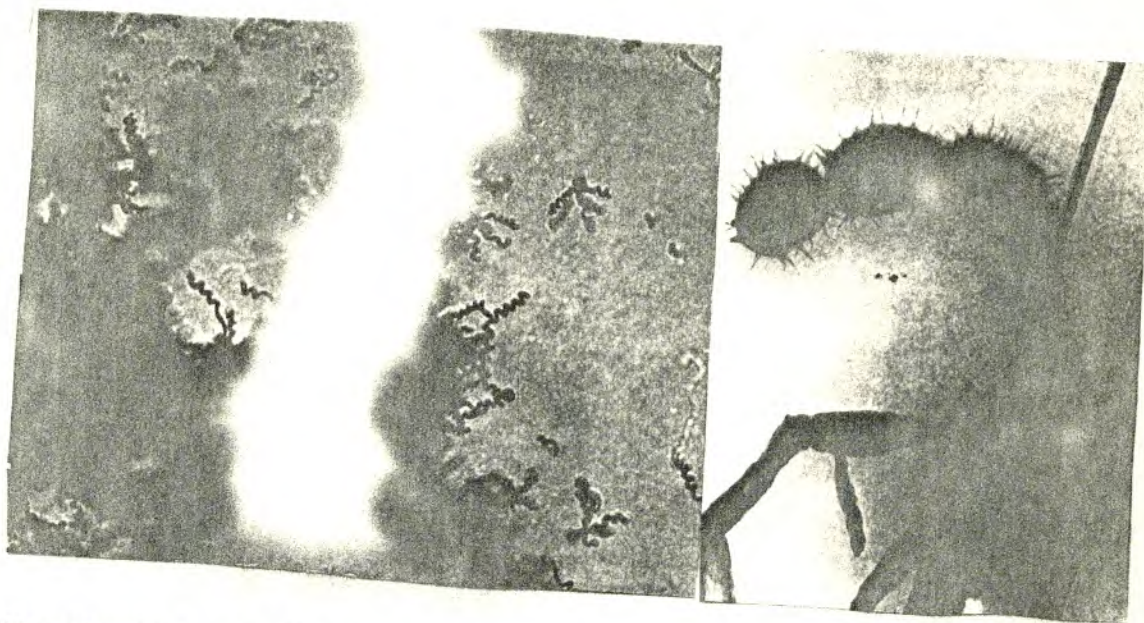
- . Les *Streptomyces* représentent plus de 90 % du total des isolats. Le reste des genres, au nombre de 8, ne représente qu'une faible proportion.
- . Les isolats de *Streptomyces* sont largement distribués dans les sols de surface et dans les horizons profonds. Cependant, *S. coeruleus*, espèce à mycélium aérien bleu prédomine dans les couches profondes, tandis que les espèces à mycélium aérien gris sont plus abondantes dans les horizons de surface. Parmi ces espèces, *S. griseocarnatus* prédomine dans les sols enrichis avec des fragments de paille d'orge ou de palmes de dattier.

Quant aux autres genres, leur nombre et leur distribution sont nettement moins importants.

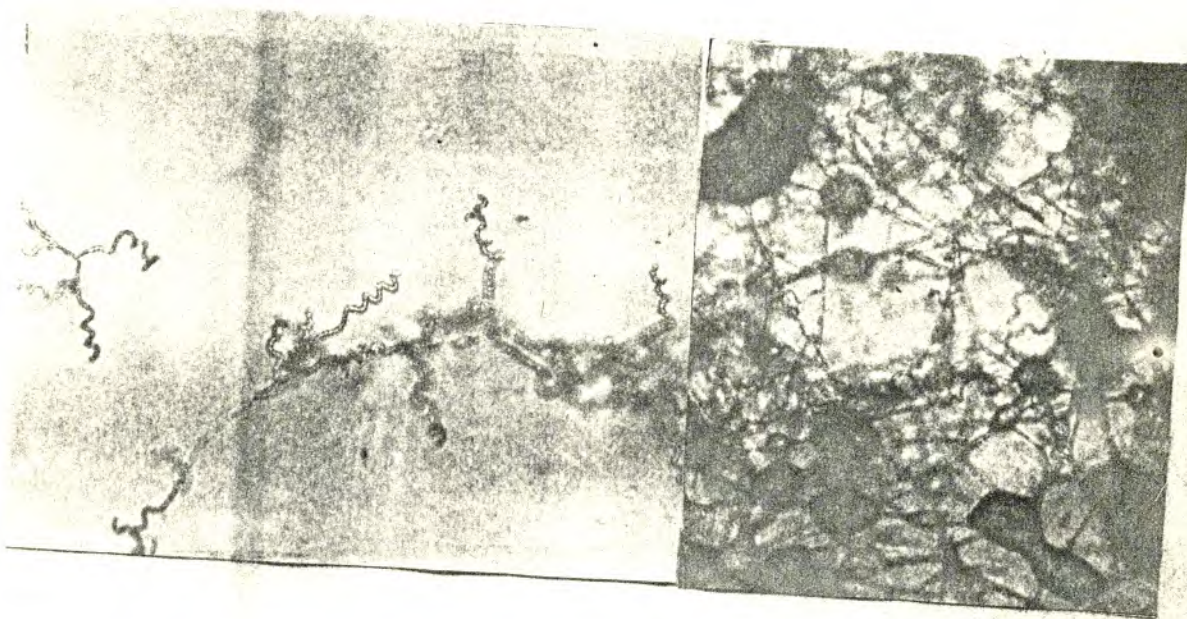
Des études ultérieures seront entreprises pour clarifier d'une manière précise la position taxonomique de certains isolats et caractériser les substances antibiotiques les plus performantes.

MICROMORPHOLOGIE DES ACTINOM.

- PLANCHES 4, 5, 6 et 7 : Isolats appart au genre *Streptomyces*
- PLANCHES 8 : Isolats appartenant aux genres : *Streptoverticillium*,
Elytrosporangium et *Micromonospora*
- PLANCHE 9 : Isolats appartenant aux genres : *Actinomadura*
Nocardiopsis
- PLANCHE 10 : Isolats appartenant aux genres : *Spirillospora*,
Saccharopolyspora et *Saccharomonospora* .

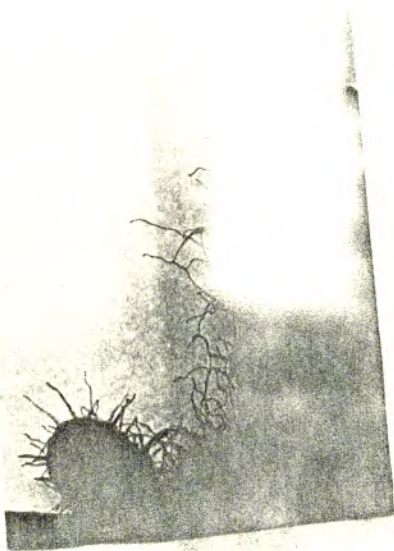


Streptomyces griseoincarnatus (isolat 250) : a) chaînes de spores spiralées (x250). b) surface des spores épineuse (x17000). Culture de 7 jours sur oatmeal-agar.

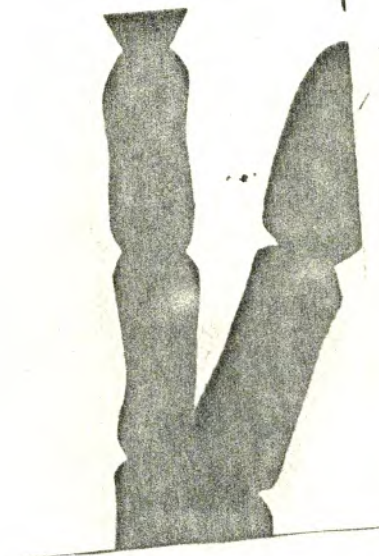


c) *Streptomyces* sp. (isolat 393) chaînes de spores spiralées (x250). Culture de 7 jours sur corn meal-agar.

d) *Streptomyces bottropensis* (isolat 620) Masses de spores globuleuses sur le mycélium aérien (x400). Culture de 7 jours sur extrait de terre-agar.



a) *Streptomyces flavoviridis* (isolat 387) surface des spores chevelue (x15000). Culture de 7 jours sur oatmeal-agar.



b) *Streptomyces vinaceus* (isolat TMI3). Surface des spores lisse (x17000). Culture de 7 jours sur oatmeal-agar.



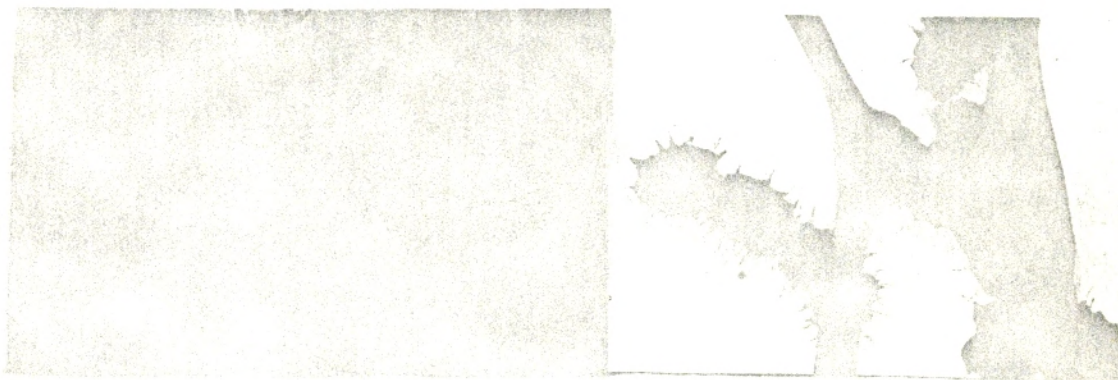
c) *Streptomyces chromogenus* (isolat 369) longues chaînes de spores droites à flexueuses et spiralées (RF-S) (x150).



d) *Streptomyces katrae* (isolat 380). Longues chaînes de spores en forme de boucles (RA). (x150).

c et d): Cultures de 7 jours sur extrait de terre-agar.

PLANCHE 6



Streptomyces coeruleus (isolat 493). a) chaînes de spores spiralées (x250). b) Surface des spores épineuse (x10000). Cultures de 7 jours sur oatmeal-agar.



Streptomyces wilmorei (isolat AD 6I). c) Chaînes de spores courtes et flexueuses (x150). d) Surface des spores lisse (x17000). Cultures de 7 jours sur oatmeal agar.



a) *Streptomyces prunicolor* (isolat 468). Chaînes de spores droites et flexueuses (RF) sur le mycélium aérien. Le mycélium végétatif se fragmente (→)x250.

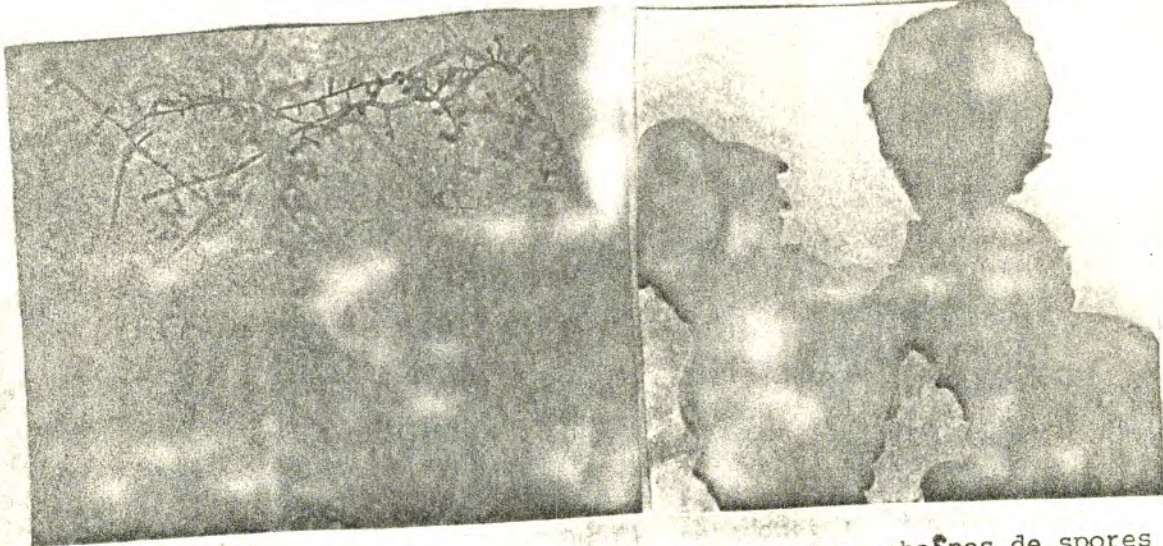


b) *Streptomyces chartreusis* (isolat 5). Surface des spores épineuse et sporophores spiralées (x10000).

Culture de 7 jours sur extrait de terre-agar (a et b).



Streptomyces sp. (isolat AD I06). c) Chaînes de spores spiralées (x250). d) Surface des spores épineuse (x15000). Cultures de 7 jours sur extrait de terre-agar.



Actinomadura salmona (isolat 200). a) très courtes chaînes de spores de type RA et S sur le mycélium aérien (x250). b) surface des spores rugueuse (x 25000) sur oatmeal-agar.



c) *Nocardiosis dassonvillei* (isolat 525). Production de très longues chaînes de spores sur le mycélium aérien disposées en zigzag sur oatmeal-agar (x 250).



d) *Nocardiosis* sp. (isolat TM 30) Chaînes de spores en zigzag très fragmentés sur gélose nutritive (x 250).

PLANCHE 10



a) *Spirillospora* sp. (isolat 719). Sporangies globuleux portés par le mycélium aérien (→) x 250. Culture de 30 jours sur oatmeal-agar.



b) *Saccharopolyspora* sp. (isolat 23). Chaînes de spores en forme de boucles et spirales (P.A.S.). Culture de 7 jours sur oatmeal-agar. x 250.



c) *Saccharomonospora viridis* (isolat 160). Spores isolées portées par de très courts sporophores sur le mycélium aérien (→) x 250. Culture de 7 jours sur gélose nutritive.

BIBLIOGRAPHIE

- ABE Y., NAKAYAMA H., SHIMAZA A., FURIHATA K., IKEDA K., SETO H., OTAKE N., 1985.- Neorustmicin, a new macrolide antibiotic active against wheat rust fungus.- J. Antibiotics, 38, 1810-1812.
- AMIR H., BENACEUR M., LAOUFI Z., AMIR A., BOUNAGA N., 1985.- Le palmier dattier et la fusariose. XIII.- Contribution à l'étude de l'écologie microbienne du sol de deux palmeraies sahariennes atteintes de bayoud. Rev. Ecol. Biol. sol., 22 (3); 313-330.
- ANTOSZ F.J., 1982.- Antibiotics (ansamacrolides), pp. 71-89. In : Antibiotics, chemotherapeutics & antibacterial agents for disease control. Encyclopedia Reprint Series, M. Grayson, Ed. London.
- ASSELINEAU J., ZALTA J.P., 1973.- Les antibiotiques. Structure et exemples de mode d'action. HERMANN, Ed., Paris.
- ATHALYE M., GOODFELLOW M., LACEY J., WHITE R.P., 1985.- Numerical classification of *Actinomadura* and *Nocardiosis*. Int. J. Syst. Bacteriol., 35, 86-98.
- BAKER K.F., COOK J.R., 1974.- Biological control of plant pathogens.- W.H. Freeman and Cie, San Fransisco.
- BALDACCI E., LOCCI R., 1975.- Alcune vicende della sistematica degli actinomicete negli ultimi cinquanta anni. Morgagni, 8 (3/4), 71-82.
- BECKER B., LECHEVALIER M.P., GORDON R.E., LECHEVALIER H.A., 1964.- Rapid differentiation between *Nocardia* and *Streptomyces* by paper chromatography of whole-cell hydrolysates. Appl. Microbiol., 12, 421-423.
- BECKER B., LECHEVALIER M.P., LECHEVALIER H.A., 1965.- Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various from genera of aerobic actinomycetes. Appl. Microbiol., 13, 236-243.
- BECKING J.H., 1974.- Family III *Frankiaceae*. BECKING, 1970. pp. 701-706. In : Bergey's manual of determinative bacteriology, 8 th. Ed. R.E. Buchanan and N.E. Gibbons, Co. Ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- BERGER J., 1982.- Antibiotics (Phenazines). pp. 275-301. In : Antibiotics, chemotherapeutics and antibacterial agents for disease control. Encyclopedia Reprint Series, M. Grayson, Ed. London.

- BLOCH A., 1982.- Antibiotics (nucleosides" pp. 181-205; in: Antibiotics, chemotherapeutics and antibacterial agents for disease control. Encyclopedia reprint series. M. Grayson, Ed. London.
- BONNEAU M., SOUCHIER B., 1979.- Pédologie. 2 constituants et propriétés du sol. MASSON Ed., Paris.
- BRADLEY S.G., ANDERSON D.L., JONES L.A., 1961.- Phylogeny of actinomycetes as revealed by susceptibility to actinophage. Develop. Industr. Microbiol., 2, 223-237.
- BRADLEY S.G., BROWNELL G.H., CLARK J., 1973.- Genetic homologies among *Nocardiae* and other actinomycetes. Can. J. Microbiol., 19, 1007-1014.
- BUCHANAN R., 1917.- In :GOTTLIEB O., 1974.- Actinomycetales. In : Bergey's manual of determinative bacteriology, 8 th. ed. R.E. Buchanan and N.E. Gibbons, co. Ed., the Williams and Wilkins, Co., Baltimore.
- CLARK F.E., 1969.- Associations écologiques entre microorganismes du sol. In : Biologie des sols. Compte-rendus de recherches. UNESCO, 125-
- COHN F., 1875.- Untersuchungen über bacterien. II. Beitr. Biol. Pflanz, I, 141-207.
- COUCH J.N., 1963.- Some new genera and species of the *Actinoplanaceae*. J. Elisha Mitchel Sci. Soc., 79, 53-70.
- COUCH J.N., BLAND C.E., 1974.- Family IV : *Actinoplanaceae* COUCH, 1955 : pp. 706-723. In : Bergey's manual of determinative bacteriology, 8 th. Ed., R.E. Buchanan and N.E. Gibbons, Co. Ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- CROSS T., GOODFELLOW M., 1973.- Taxonomy and classification of the actinomycetes. pp. 78-82. In : G. SYKES and F.A. SKINNER, Ed. Actinomycetales : characteristics and practical importance. Academic Press Inc., New-York.
- CROSS T., 1974.- Genus VI. *Micropolyspora*, LECHEVALIER, SOLOTOROVSKI and McDURMONT, 1961.- pp. 861-865. In : BERGEY'S manual of determinative bacteriology, 8 th Ed., R.E. Buchanan and W.E. Gibbons, Co. Ed. The Williams and Wilkins, Co., Baltimore.
- DANIELS P.J.L., 1982.- Antibiotics (aminoglycosides) pp. 38-71. In : Antibiotics, chemotherapeutics and antibacterial agents fort disease control. Encyclopedia Reprint series. M. Grayson, Ed. London.
- DIAB A., AL ZAIDAN A., 1976.- Actinomycètes in the desert of Kuwaït. Zbl. Bakt. Abt. II, 131, 545-554.

- DOMMERMUES Y., MANGENOT F., 1970.- *Ecologie microbienne du sol*.- Masson et Cie, Ed., Paris.
- DOUDNIK I.V., GAUZE G.F., 1965.- In : *Antibiotics anticancéreux. v/o medexport, Moscou, 1965*.
- ETTLINGER L., CORBAZ R., HÜTTER R., 1958.- Zur Systematik der Actinomyceten 4. Ein Artenbeitrag zur Systematik der Gattung *Streptomyces* WAKSMAN et HENRICI. Arch. Mikrobiol., 31, 326-358.
- FALCAO DE MORAIS J.O., BASTA C.A., MASSA D.M.G., 1966.- *Elytrosporangium*: a new genus of the family Actinomycetales. Mycopathologia, 30, 161-171.
- FALCAO DE MORAIS J.O., 1967.- The genus *Elytrosporangium* and its relationship to *Microcella* and *Microsporia* and *Streptomyces*. Hindustan Antibiol. Bull., 9, 135.
- FALCAO DE MORAIS J.O., 1970.- *Elytrosporangium spirale*: nova especie de Actinoplanaceae do genero *Elytrosporangium*. Rev. Microbiol., 1 (2) 79-84.
- FALCAO DE MORAIS J.O., OLIVEIRA DA SILVA J., MACHADO C., 1971.- Uma terceira especie de Actinomycetales do genero *Elytrosporangium*, *E. carpinense* sp. nov., isolado de solo em Pernambuco. Rev. Microbiol., 21(4), 203-206.
- GAUZE G.F., UKHOLINA R.A., SVECHNIKOVA M.A., 1962.- In : *Antibiotiques anticancéreux, v/o Medexport, Moscou, 1970*.
- GOODFELLOW M., 1971.- Numerical taxonomy of some nocardioform bacteria. J. Gen. Microbiol., 69, 33-80.
- GOODFELLOW M., ALDERSON G., LACEY J., 1979.- Numerical taxonomy of Actinomyces and related actinomycetes. J. Gen. Microbiol., 112, 95-111.
- GORDON R.E., 1966.- Some criteria for the recognition of *Nocardia madurae*. J. Gen. Microbiol., 45, 355-364.
- GORDON R.E., BARNET D.A., 1977.- Resistance to rifampicin and lysozyme of strains of some species of *Mycobacterium* and *Nocardia* as a taxonomic tool. Int. J. Syst. Bacteriol., 27 (3), 176-178.
- GUY S.G., BAKER R., 1977.- Inoculum potentiel in relation to biological control of *Fusarium* wilt of pea. Phytopathology, 67, 72-78.
- HAMDI Y.A., AL TAI A., 1977.- Occurrence of actinomycetes in Iraki soils. SLR, Tech. Bull., 33.
- HAMDI Y.A., DEWEDAR A., AL TAI A.M., 1980.- Genera and species of actinomycetes isolated from Iraki soils.- Eqyp. J. Microbiol., 15 (1/2), 7-21.

- HARZ C.O., 1877.- *Actinomyces bovis*, ein neuer Schimmel in den Geweben des Rindes. In: Jahresbericht der K. Central Thierarznei. Schule in München für 1877-1878, 5, 125-140.
- HAWKER L.E., LINTON A.H., 1971.- Microorganismes : fonction, form and environment. L.E. HAWKER and H. LINTON, Co.Ed.
- HOLLIK G.E., KURUP V.P., 1983.- Isolation and identification of thermophilic actinomycetes associated with hypersensitivity pneumonitis. Tech. Com. Microbiology, 14 (1), 39-44.
- HUTTER R., 1962.- Zur Systematic der Actinomyceten. 8. Quirlbildende Streptomyceten. Arch. Mikrobiol., 49, 365-391.
- HUTTER R., 1967.- Systematik der Streptomyceten unter besonderer Berücksichtigung der von ihnen gebildeten Antibiotica. Bibliotheca Microbiol. Fasc. 6., S. Karger, Basel.
- IKEDA Y., GOMI S., YOKOSE K., NAGANAWA H., IKEDA T., MANABE M., HAMADA M., KONDO S., UMEZAWA, 1985.- A new streptomycin group antibiotic produced by *S.sioyaensis*. J. antibiotics, 38, 1803-1805.
- IWAI Y., KORA A., TAKAHASHI Y., HAYASHI T., AWAYA J., MASUMA R., OIWA R., OMURA S., 1978.- Production of desoxyfrenolicin and a new antibiotic frenolicin by *S.roseofulvus* strain AM. 3867. J. Antibiotics, 31, 959-965.
- IWASAKI A., ITOH H., MORI T., 1979.- Taxonomic studies on the sporadicine producing strain *Saccharopolyspora hirsuta subsp kobensis* nov. subsp. J. Antibiotics, 3, 180-186.
- KOUDRINA E.S., OLKHOVATOVA O.L., MOURAVIEVA L.I., GAUZE G.F., 1966.- In : Antibiotics anticancéreux, v/o Medexport, Moscou, 1970.
- KRAINSKY A.V., 1914.- Die Aktinomyceten und ihre Bedeutung in der Natur. Cbl., Bakt., 41, 649-688.
- KURUP V.P., 1981.- Taxonomic study of some members of *Micropolyspora* and *Saccharomonospora*. Microbiologica, 4, 249-259.
- KURYLOWICZ M., 1976.- In : WILLIAMS S.T., WELLINGTON E.M.H., 1982. Principles and problems of selective isolation of microbes. Ed. J.D. Bu'lock Nisbet L.J. and Winstanley D.J. co.Ed., London and New-York.
- KUSTER E., 1959.- Outline of a comparative study of criteria used in characterization of the actinomycetes. Bull. Bact. Nomen and Taxon., 9, 98-104.

- KUSTER F., WILLIAMS S.T., 1964.- Selection of media for isolation of Actinomycetes. Nature, 202, 928-929.
- KUSTER E., 1972.- Simple working key for the classification and identification of named taxa included in the International *Streptomyces* Project. Int. J. Syst. Bacteriol., 22, 139-148.
- KUTZNER H.J. 1981.- The family *Streptomycetaceae* pp. 2 029 - 2 090. In : STARR M.P., STOLP H., TRUPER H.G., SCLEGEL H.G. (Eds). : The pro-caryotes : a handbook of habitats, isolation and identification of ~~bacteria~~. Springer-Verlag, New-York.
- LABEDA D.P., TESTA R.T., LECHEVALIER M.P., LECHEVALIER H.A., 1984.- *Saccharothrix* : a new genus of the *Actinomycetales* related to *Nocardio-opsis*. Int. J. Syst. Bacteriol., 34 (4), 426-431.
- LABEDA D.P., TESTA R.T., LECHEVALIER M.P., LECHEVALIER H.A., 1985.- *Glycomyces*, a new genus of the *Actinomycetales*. Int. J. Syst. Bacteriol 35 (4), 417 - 421.
- LACEY J., GOODFELLOW M., 1975.- A novel Actinomycete from sugar-cane Bagane *Saccharopolyspora hirsuta* gen. and sp. nov. J. General Microbiol. 88, 75-85.
- LARPENT J.P., LARPENT-GOURGAUD M., 1985.- *Éléments de microbiologie*. Herman Ed. Paris.
- LECHEVALIER H.A., LECHEVALIER M.P., 1965.- Classification des actinomycètes aérobies, basée sur leur morphologie et leur composition chimique. Ann. Inst. Pasteur, 108, 662-673.
- LECHEVALIER M.P., LECHEVALIER H.A., HOLBERT P.E., 1968.- *Sporichthya*, un nouveau genre de *Streptomycetaceae*. Ann. Inst. Pasteur, 114, 277-286.
- LECHEVALIER M.P., LECHEVALIER H.A., 1970a.- Composition of whole-cell hydrolysates as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes pp. 311-316. In : H. PRAUSER, Ed. *The Actinomycetales*, Veb. G. Fisher Verlag, Jena.
- LECHEVALIER H.A., LECHEVALIER M.P., 1970b.- A critical evaluation of genera of aerobic actinomycetes. pp. 393-405. In : H. PRAUSER, Ed., *The Actinomycetales*, Veb. G. Fisher Verlag, Jena.
- LECHEVALIER M.P., DE BIEVRE C., LECHEVALIER H.A., 1977.- Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes : Phospholipid composition. Biochem. Syst. Ecol., 5, 249-260.
- LINGAPPA Y., LOCKWOOD J.L., 1962.- Chitin media for selective isolation and cultures of actinomycetes. Phytopathology, 52, 317-323.
- LUEDMAN G.M., 1974.- Genus *I. Micromonospora* ORSKOV, 1923. pp. 846-855. In : Bergey's manual of determinative bacteriology, 8 th. Ed., R.E. Buchanan and N.E. Gibbons, Co. Ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore.

- LYONS A.J., PRIDHAM T.G., 1973.- Standart antimicrobial spectra as Aids in characterization and identification of *Actinomycetales*. Develop. Ind. Microbiol., 14, 205-211.
- MAKOTO T., YOSHIMASA U., BEISLER J.A., 1980.- Synthesis and antitumor activity of analogs of the antitumor antibiotic chartreusin. J. Med. Chem. 23 (5), 549-553.
- MALLAMS A.K., 1982.- Antibiotics (Macrolides) pp. 156-180. In : antibiotics, chemotherapeutics and antibacterial agents for disease control. Encyclopedia reprint series, M. Grayson, Ed. London.
- MARCHAL N., BOURDON J.Ī., 1973.- Milieux de culture et identification biochimique des bactéries. Doin, Ed. Paris.
- MCCARTHY A.J., CROSS T., 1984.- A taxonomic study of *Thermonospora* and other Monosporic actinomycetes. J. Gen. Microbiol., 130, 5-25.
- McLUNG N.M., 1974.- Family VI. *Nocardiaceae*. pp. 726-747. In : Bergey's manual of determinative bacteriology, 8 th Ed., R.E. Buchanan and N.E. Gibbons, co. Ed., Baltimore.
- MEYER J., 1976.- *Nocardiosis*, a new genus of the order *Actinomycetales*. Int. J. Syst. Bacteriol., 26, 487-493.
- MEYER J., 1979.- New species of the genus *Actinomadura*. Z. Allg. Mikrobiol., 19, 37-44.
- MINNIKIN D.E., GOODFELLOW M., PIROUZ T., 1977.- Polar lipid composition in the classification of some *Actinomadura* species. Int. J. Syst. Bacteriol., 27, 118-121.
- MITCHEL R., ALEXANDER M., 1961.- In : DOMMERGUES Y., MANGENOT F., 1970.- Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie, Ed., Paris.
- MITCHEL R., 1963.- Addition of fungal cell-wall components to soil for biological disease control. Phytopathology, 53, 1068-1071.
- MIYASHITA K., MIKAMI Y., ARAI T., 1984.- Alkalophilic actinomycete : *Nocardiosis dassonvillei* subsp. *prasina* subsp. nov., isolated from soil. Int. J. Syst. Bacteriol., 34, 405-409.
- MOREAU C., 1968.- Moisissures toxiques dans l'alimentation.- P. LECHEVALIER, Paris.
- NAZAR M., 1979.- Actinomycetales of Pakistani soils.- Pak. J. sci. res. 31 (1/2), 49-57.

- NEUMAN M., 1979.- Vade Mecum des antibiotiques et agents chimiothérapiques antiinfectieux, 4ème Ed., Maloine S.A. Ed. Paris.
- NONOMURA H., OHARA Y., 1971.- Distribution of actinomycetes in soil. XI some new species of the new species of the genus *Actinomadura* LECHEVALIER and LECHEVALIER. J. Ferment. Technol., 49, 904-912.
- NONOMURA H., 1974.- Key for classification and identification of 458 species of the streptomycetes included in I.S.P. J. Ferment. Technol., 52, 78-92.
- OHTA Y., IKEDA M., 1978.- Deodorization of pig feces by actinomycetes. Appl. Environ. Microbiol., 36 (3), 487-491.
- OMURA S., TAKAHASHI Y., IWAI Y., TANAKA H., 1982.- *Kitasatosporia*, a new genus of the order Actinomycetales. J. Antibiotics, 8, 1013-1019.
- OMURA S., TSUZUKI K., IWAI Y., KISHI M., WATANABE S., SHIMIZU H., 1985.- Anticoccidial activity of frenolicin and its derivatives. J. Antibiotics, 38, 1447-1448.
- ORLA-JENSEN S., 1909.- Die Hamptlinien des Natürlichen Bakteriensystems. Cbl. Bakt., 32, 305-346.
- ORSKOV J., 1923.- Investigations in to the morphology of the ray fungi. Levin-Munksgaard Publisbers Copenhagen.
- PATEL J.J., BROWN M.E., 1969.- Interactions of Azotobacter with rhizosphere and root-surface microflora. Plant and soil., 31, 273-281.
- PELCZAR M.J., CHAN E.C.S., KRIG N.R., 1986.- Microbiology, 5 th. Ed. Mc Graw-Hill Book Company, New-York.
- PERLMAN D., 1966.- Microbial process for the préparation of radioactive antibiotics ; In : Biosynthesis of antibiotics. Ed. J.F. Snell, Ed. London.
- PERLMAN D., 1982.- Antibiotics (peptides). pp. 210-255. In : Antibiotics, chemotherapeutics and antibacterial agents for disease control. Encyclopedia reprint series, M. Grayson, Ed., London.
- POCHON J., TARDIEUX P., 1962.- Techniques d'analyse en microbiologie du sol, Collection "Techniques de bases", Ed. de la Tourelle, Seine.
- PREOBRAZHENS KAYA T.P., MAKSIMOVA T.S., LUKIVANOVICH V.M., EVKO E.I., 1965.- Application of the carbon replica method to the electron microscopic study of the surface of actinomycete spores. Mikrobiologiya, 34, 445-448.
- PREOBRAZHENS KAYA T.P., MANAFOVA N.A., GAUZE G.F., 1966.- In : Antibiotics

- PREOBRAZHENSKAYA T.P., SVESHNIKOVA M.A., GAUZE G.F., 1982.- The transfert of certain species belonging to the genus *Actinomadura* in the genus *Nocardiopsis*. Mikrobiologiya, 51 (1), 111-113.
- PRIDHAM T.G., GOTTLIEB D., 1948.- The utilization of carbon compounds by some Actinomycetales as an aid for species determination. J. Bacteriol., 56, 107-114.
- PRIDHAM T.G., ANDERSON P., FOLEY C., LINDEN FELSER L.A., HESSELTINE C.W., BENEDICT R.G., 1957.- A selection of media for maintenance and taxonomy study of streptomycetes. Antibiotics Ann., 947-953.
- PRIDHAM T.G., HESSELTINE C.W., BENEDICT R.G., 1958.- A guide for the classification of streptomycetes according to selected groups. Placement of strains in morphological sections. Appl. Microbiol., 6, 52-79.
- PRIDHAM T.G., LYONS A.J., 1961.- *Streptomyces albus*. (ROSSI DORIA) WAKSMAN and HENRICI: Taxonomic study of strains labeled *Streptomyces albus*. J. Bacteriol., 81, 431-441.
- PRIDHAM T.G., 1974.- In : WILLIAMS S.T., WELLINGTON E.M.H., Micromorphologie and fine structure of actinomycetes pp. 139-150. In : Microbiological classification and identification. Ed. M. Goodfellow and R.G. Board, co. Ed., Academic Press, London, New-York.
- PRIDHAM T.G., TRESNER H.D., 1974.- Family VII : *Streptomycetaceae* WAKSMAN and HENRICI, 1943. In : Bergey's manual of determinative bacteriology, 8 th. Ed., R.E. Buchanan and N.E. Gibbons, Co. Ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- RAPILLY F., 1968.- Techniques de mycologie en pathologie générale. Ann. Epiphyties, 19, numéro hors série.
- REED RODRIGUEZ COELHO R., DROZDOWICZ A., 1978.- The occurrence of actinomycetes in a cerrado soil in Brazil. Rev. Ecol. Biol., 15, 459-473.
- ROSE A.H., 1979.- Secondary products of metabolism. A.H. ROSE Ed. Academic Press, London, New-York, San Francisco.
- ROTTHROCK C.S., GOTTLIEB D., 1981.- Importance of antibiotic production in antagonism of selected *Streptomyces* species to two soil-borne plant pathogens. J. antibiotics, 34, 830-835.
- ROWATT J.W., LECHEVALIER M., WAKSMAN S.A., 1951.- Distribution of antagonistic properties among actinomycetes isolated from different soils. In : ROUTIEN J.B., FINLAY A.C., 1952.- Problems in the search for microorganisms producing antibiotics. Bacteriol. Rev., 16, 51-67.

- SABAOU N., AMIR H., BOUNAGA D., 1980.- Le palmier dattier et la fusariose. X. Dénombrement des actinomycètes de la rhizosphère; leur antagonisme vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Ann. Phytopathol., 12, 253-257.
- SASSON A., 1983.- Les biotechnologies. Défis et promesses. UNESCO, 336p.
- SCHIPPERS B., DEMEYER W.M., 1972.- Chlamyospore formation and lysis of macroconidies of *Fusarium solani*, *F. cucurbitae* in chitine amended soils. Neth. J. Plant. Pathol.; 78, 45-54.
- SHEARER M.C., COLMAN P.M., NASH C.H., 1983.- *Nocardiopsis mutabilis*, a new species of nocardioform bacteria. Int. J. Syst. Bacteriol., 53, 369-374.
- SHEARER M.C., ACTOR P., BOWI B.A., GRAPPAL S.F., NASH C.H., NEWMAN D.J., OHI Y.K., PAN C.H., NISBET L.J., 1985.- Aridicins, novel glucopeptide antibiotics. I. Taxonomy, production and biological activity. J. Antibiotics, 38(5), 555-560.
- SHINOBU R., 1958.- Physiological and cultural study for the identification of soil actinomycete species. Mem. Osaka, Univ. B. Nat. Sci., 7, 1-76.
- SHIRLING E.B., GOTTLIEB D., 1966.- Methods for characterization of *Streptomyces* Species. Int. J. System. Bacteriol., 16, 313-340.
- SHIRLING E.B., GOTTLIEB D., 1968 a.- Coöperative description of type cultures of *Streptomyces*. II. Species description from first study. Int. J. Syst. Bacteriol., 18, 69-189.
- SHIRLING E.B., GOTTLIEB D., 1968b.- Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. III, additional species descriptions from first and second studies. Int. J. Syst. Bacteriol., 18, 279-392.
- SHIRLING E.B., GOTTLIEB D., 1969.- Coöperative description type cultures of *Streptomyces*. IV. Species description from the second, third and fourth studies. Int. J. Syst. Bacteriol., 19, 391-512.
- SHIRLING E.B., GOTTLIEB D., 1972.- Coöperative description of type strains of *Streptomyces*. V. additionnal descriptions. Int. J. Syst. Bactér. 22, 265-394.
- SKERMAN V.B.D, MCGOWAN V., SNEATH P.H.A. (ed.) 1980.- Approved lists of bacterial names. Int. J. Syst. Bacteriol., 30, 225-420.
- STANIER R.Y., ADELBERG E.A., INGRAHAM J.L., 1982.- The microbial world, 4th.Ed., Prentice-Hall, Englewood cliffs, New-Jersey.
- SZABO I.M., MARTON M., 1975.- A diagnostic for the identification of species of *Streptomyces* and *Streptoverticillium* included in the International *Streptomycetes* Project. Acta Botanica Acad. Sci. Hung. 21

- SZABO I.M., 1978.- Sixteen color groups of the substrate mycelium pigments of *Streptomyces*. Acta Microbiol., Acad. Sci. Hung., 25, 51-54.
- THIRUMALACHAR M.A., 1955.- *Chainia*, a new genus of the actinomycetales. Nature (Lond.) 176, 934-935.
- THIRUMALACHAR M.J., 1970.- Evaluation of some characteres used in the taxonomy of actinomycetales. pp. 425-429. In : H. PRAUSER, Ed. *The Actinomycetales* Veb G. Fisher Verlag, Jena.
- TIRABY G., ETIENNE G., 1983.- L'avenir des *Streptomyces*. *Biofutur*, 33-37.
- TRESNER H.D., DANGA F., 1958.- Hydrogen sulfide production by *streptomyces* as a criterion for species diffrentiation. J. Bactériol., 76, 239-244.
- TRESNER H.D., DAVIES M.C., BACKUS E.J., 1967.- Electron microscopie of *Streptomyces* spore morphology and its role in species differentiation. J. Bacteriol., 81, 70-80.
- TRESNER H.D., BACKUS E.J., 1963.- System of color wheels for streptomycetes taxonomy. Appl. Microbiol., II, 335-338.
- WAKSMAN S.A., CURTIS R.E., 1916.- The *Actinomyces* of the soil. Soil. Sci., 1, 99-134.
- WAKSMAN S.A., HENRICI A.T., 1943.- The nomenclature and classification of the actinomycetes. J. Bacteriol., 46, 337-341.
- WAKSMAN S.A., 1961.- The actinomycetes. Vol. II, the WILLIAMS and WILKINS Company, Baltimore.
- WAKSMAN S.A., 1967.- The actinomycetes : a summary of current knowledge. The Ronald press Company, New-York.
- WIECZOREK J., KRZIWY T., BASMADJI K., INGLOT O.- 1977.- Actinomycetes of the genus *Streptomyces* in soil from Syria. Arch. Immun. Therap. Exp. 25, 123-137.
- WINSLOW C.E.A., BROADHURST J., BUCHANAN R.E., KRUMWEDE E.Jr. ROGERS L.A., SMITH J.H., 1917.- The families and genera of bacteria. J. Bacteriol. 2, 505-566.
- YAMADA Y., YAMASHITA M., TAHARA Y., KONDO K., 1977.- The menaquinone system in the classification of the genus *Actinomadura*. J. Gen. App. Microbiol., 23, 331-335.

YAMAGUCHI T., 1967.- Similarity in D.N.A. of various morphologically distinct actinomycetes. J. Gen. Appl. Microbiol., 13, 63-71.

YENSEN H., 1934.- Studies on saprophytic *Mycobacteria* and *Corynebacteria* Proc. Lin. Soc. N.S. Wales, 59, p. 19.