

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar TELIDJI – Laghouat -

جامعة عمار تليجي - الأغواط -

Faculté des Sciences

كلية العلوم

Département des Sciences Agronomiques

قسم العلوم الفلاحية



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Agronomie
Option : Protection des Végétaux et Environnement

Thème

**Utilisation de quelques agents de lutte biologique contre le
Fusarium oxysporum f.sp *radicis lycopersici* J. l'agent
causal de la pourriture des racines et du collet de la tomate**

présenté par : Djekaba Messaoud

Le: 22-06-2014

Encadré par : Goudjal-Zaamoum, M. (*Maître-assistant A*)

JUIN 2014

Remerciements

Avant toute chose, je remercie mon Dieu

De me donnée la force

Et le courage d'aboutir à ce travail.

Je remercie notre encadreuse

« Mme : Goudjal-Zaamoum Miyada ».

*Non seulement pour avoir accepté de diriger ce
travail, mais aussi pour son enthousiasme
commutatif, sa compétence, sa patience et surtout sa
disponibilité.*

Je remercie tous les membres de jury d'avoir accepter

de présider et d'examiner Notre Travail

je remercie tous les enseignants de département

d'agronomie

Merci pour toutes les personnes

Qui nous ont aidés

Dédicaces

Je dédie mon travail aux

Mon père « Mostefa » et ma mère « Lamria »

Mes frères et mes Sœurs

A toute la famille,

Mes profs,

Toute ma promotion

*Et mes camarades : Nadir, Kheider, Khalil,
Karima, Chahra.*

Djekaba Messaoud

Utilisation de quelques agents de lutte biologique contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*, l'agent causal de la pourriture des racines et du collet de la tomate.

Résumé

La fusariose des racines et du collet de la tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) causée par *Fusarium oxysporum* f. sp *radicis lycopersici* (Forl) est une maladie importante qui peut provoquer des pertes jusqu'à 90% de plants de tomate dans certaines serres. L'absence de méthodes de lutte efficaces contre ce pathogène nous a poussé à chercher d'autres alternatives de lutte pour contrôler cette maladie. Dans cette étude, nous avons testé l'effet de six souches d'actinomycètes endophytes vis-à-vis de la croissance de *Forl*.

L'identification préliminaire des isolats purifiés nous a permis de classer tous les isolats parmi le genre *Streptomyces*

Ces isolats avaient une activité variable sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* *in vitro* sur milieu ISP2 (par deux méthodes, la méthode des stries croisées et la méthode des disques). Tous les isolats qui ont été étudiés pour leur potentiel de lutte biologique contre la pourriture racinaire et du collet *in vitro* causée par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*, ont permis de sélectionner la souche TL8 comme meilleur souche qui donne un effet protecteur plus élevé par rapport à celui du Sérénade®.

Les résultats du biocontrôle *in vivo* de ces isolats ont montré que les souches TL3, DN4, TL2 avaient une action inhibitrice sur l'agent pathogène par rapport au Sérénade®.

En plus, le poids frais et le poids sec des plantules de tomate et la longueur des tiges obtenus par les traitements avec les spores des souches TL2, TL3 s'avèrent les plus élevés comparativement aux les autres traitements.

Mots clés: Actinomycète endophyte, biocontrôle, pourriture racinaire, *Lycopersicon esculentum*, Sérénade®.

Djekaba Messaoud

Use of some biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*, the causal agent of crown and root rot of tomato.

Summary

Fusarium crown and root rot of tomato (*Lycopersicon esculentum* M.) caused by *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (Forl) is an important disease that can cause losses up to 90% of tomato plants in some greenhouses. The absence of effective methods of struggle against this pathogen has prompted us to seek other alternatives struggle to control this disease. In this study, we tested the effect of six strains endophytic actinomycetes vis-à-vis the growth of Forl.

The preliminary identification of purified isolates allowed us to classify all isolates from the genus *Streptomyces*.

These isolates had variable activity on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* *in vitro* ISP2 medium (for methods, the method of cross-striations and disk method). All isolates were examined for their potential biological control against root rot and collar *in vitro* caused by *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* have made it possible to select the best TL8 strain as strain giving a greater protective effect compared to the Serenade ®.

The results of *in vivo* biocontrol isolates of these strains showed that TL3, DN4, TL2 had an inhibitory action on the pathogen relative to Serenade ®.

In addition, fresh and dry weight of tomato seedlings and stem length obtained by treatment with spores stem weight TL2, TL3 prove the highest compared to other treatments.

Keywords: Actinomycete endophytic biocontrol, root rot, *Lycopersicon esculentum*, Serenade ®.

استعمال بعض عوامل مكافحة البيولوجية ضد *Fusarium oxysporum f.sp radidis lycopersici*, العامل المسبب لمرض تعفن جذور وتاج الطماطم.

ملخص

مرض تعفن جذور وتاج الطماطم (*Lycopersicon esculentum*) الذي يسببه الفطر *Fusarium oxysporum f. sp radidis lycopersici* هو مرض خطير يسبب خسائر قد تصل إلى نسبة 90% في المحصول في بعض البيوت البلاستيكية. غياب طرق المكافحة الفعالة ضد هذا المرض يدفعنا إلى البحث عن طرق مكافحة أخرى من أجل مراقبة هذا المرض.

في هذه الدراسة نختبر تأثير 6 أنواع من الأكتينومييسات ضد تطور هذا الفطر. التحديد الأولي لتنقية المعزولات أثبت أن كل المعزولات تنتمي إلى الجنس ستريتومييساس. كل المعزولات كانت لديها نشاط على النمو الفطري ل *Fusarium oxysporum f. sp radidis lycopersici* (FORL) في المخبر. كل المعزولات تمت دراستها أيضا في المخبر لإثبات نشاطها في المكافحة البيولوجية ضد مرض تعفن الجذور. هذه الدراسة سمحت بتصنيف المعزولة TL8 كأحسن سلالة.

نتائج المكافحة البيولوجية لهذا الفطر في البيت البلاستيكي سمحت بتصنيف المعزولات TL2, DN4, TL3 كأفضل سلالات في المكافحة البيولوجية مقارنة بسيرناد.

بالإضافة إلى ذلك، الوزن الحي والوزن الجاف وطول الساق لشتلات الطماطم المحصل عليها عن طريق المعالجة مع الجراثيم الجذعية ل: TL2 و TL3 أثبت أنه الأعلى مقارنة مع العلاجات الأخرى .

الكلمات الدالة (الكلمات المفتاحية): الأكتينومييسات, ستريتومييساس, المكافحة البيولوجية, تعفن جذور الطماطم, (*Lycopersicon esculentum*), سيرناد.

Sommaire

Résumé	
Remerciements	I
Dédicaces	II
Sommaire	III
Liste des tableaux	V
Liste des figures	VI
Liste des abréviations	VII
Introduction générale	01
I. Données bibliographiques.....	03
I.1. GENERALITES SUR LA TOMATE	04
I.1.1. Historique et origine de la tomate	04
I.1.2. La position taxonomique	04
I.1.3. Caractéristiques morphologiques de la tomate	04
I.1.3.1. Appareil végétatif	04
I.1.3.2. Appareil reproducteur	05
I.1.4. Exigences édapho-climatiques de la tomate.....	07
I.1.5. Les variétés les plus utilisées en Algérie	08
I.1.6. Principales maladies et ravageurs de la tomate	09
I.2. LA POURRITURE RACINAIRE ET DU COLLET DE LA TOMATE	11
I.2.1. Historique	11
I.2.2. Symptomatologie de la maladie	11
I.2.2.1. Les symptômes externes	11
I.2.2.2. Les symptômes internes	12
I.2.3. L'agent causal	13
I.2.4. La taxonomie de l'agent causal	13
I.2.5. Morphologie de l'agent causal	13
I.2.6. Biologie du <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i>	14
I.2.7. Conditions favorables au développement de l'agent phytopathogène	14
I.3. LES MOYENS DE LUTTE	15
I.3.1. Lutte culturale	15
I.3.2. Lutte génétique	15
I.3.3. Lutte chimique	16
I.3.4. Lutte intégrée	16
I.3.5. Lutte biologique	16

I.3.5.1. L'intérêt de la lutte biologique dans le contrôle des maladies phytopathogènes.....	18
I.3.5.2. Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés	19
I.3.5.2.1. Sérénade® (<i>Bacillus Subtilis</i> QST713)	19
I.3.5.2.2. Les actinomycètes	20
I.3.5.2.2.1. Agents de lutte biologique à base d'actinomycète	22
II. MATERIEL ET METHODES	24
II.1. Matériel.....	24
II.1.1. Matériel végétal	24
II.1.2. Matériel biologique	24
II.1.2.1. L'Agent phytopathogène	24
II.1.2.2. Les isolats d'actinomycètes	24
II.2. METHODES	25
II.2.1. Identification de l'agent phytopathogène	25
II.2.2. Identification préliminaire des isolats d'actinomycètes	25
II.2.3. Test d'antibiose	25
II.2.3.1. Méthode des stries croisées	25
II.2.3.2. Méthode des disques	26
II.2.2. Contrôle biologique <i>in vitro</i>	27
II.2.3. Contrôle biologique <i>in vivo</i>	30
II.2.4. Analyses statistiques	31
III. RESULTATS ET DISCUSSION	33
III.1. Identification préliminaire de l'agent pathogène	33
III.2. Identification préliminaire des isolats d'actinomycètes	34
III.3. Résultats d'antibiose <i>in vitro</i>	36
III.3.1. La méthode des stries croisées	36
III.3.2. La méthode des disques	39
III.4. Le biocontrôle <i>in vitro</i>	40
III.5. Le biocontrôle <i>in vivo</i>	43
III.6. Effet des actinomycètes endophytes sur la promotion de la croissance de plante de tomate	46
IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVE	53
Références bibliographiques	56
Annexes	65

Liste des Tableaux

Tableau 1: Les principales maladies et ravageurs de la culture de tomate	09
Tableau 2: Les isolats d'actinomycètes utilisés en lutte biologique	23
Tableau 3: Identification préliminaire des actinomycètes endophytes	34
Tableau 4: Activités d'antibiose des actinomycètes endophytes contre quelques champignons phytopathogènes selon de la méthode des stries croisées	37
Tableau 5: Le taux d'inhibition exercé par les actinomycètes endophytes contre le <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i> selon la méthode des disques	39
Tableau 6: Résultats de biocontrôle <i>in vitro</i> contre le <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i>	40
Tableau 7: Résultats de l'analyse de variance d'essai <i>in vitro</i>	42
Tableau 8: Comparaison multiple des moyennes du test <i>in vitro</i>	42
Tableau 9: Résultats de biocontrôle <i>in vivo</i> contre le <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i>	43
Tableau 10: Résultats de l'analyse de variance d'essai <i>in vivo</i>	45
Tableau 11: Comparaison multiple des moyennes de test <i>in vivo</i>	45
Tableau 12: Résultats des poids frais et poids sec des plantules de tomate	46
Tableau 13: Résultats de l'analyse de variance de poids frais	47
Tableau 14: Comparaison multiple des moyennes des poids frais	48
Tableau 15: Résultats de l'analyse de variance de poids sec	48
Tableau 16: Résultats de la longueur des racines et des tiges des plantules de tomate.	48
Tableau 17: Résultats de l'analyse de variance de la longueur des racines	50
Tableau 18: Résultats de l'analyse de variance de la longueur des tiges	50
Tableau 19: Comparaison multiple des moyennes de la longueur des tiges	50

Liste des figures

Figure 1. Morphologie de la tomate : (A) Système racinaire, (B) la Tige, (C) les Feuilles, (D) fleur, (E) les fruits, (F) les graines	06
Figure 2. (A) Pourriture du collet, (B) Nécrose racinaire.....	12
Figure 3. Brunissement du pivot	12
Figure 4: micromorphologie du <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i>	14
Figure 5. Méthode des stries croisées.....	26
Figure 6. La méthode des disques.....	27
Figure 7. Schéma du protocole de désinfection des semences	28
Figure 8. Schéma du protocole de la préparation des suspensions des spores	29
Figure 9. Schéma du dispositif expérimental d'essai <i>in vitro</i>	30
Figure 10. Schéma de dispositif expérimental d'essai <i>in vivo</i>	31
Figure 11. Aspect macroscopique du <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i> cultivé sur milieu PDA	33
Figure 12. Observation microscopique du <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i>	34
Figure 13. Quelques aspects macroscopiques des actinomycètes isolés à partir des plantes	35
Figure 14. Observation microscopique du type de chaîne de spore (type spirale).....	36
Figure 15. Résultats de l'activité antifongique des actinomycètes sur la croissance mycélienne des champignons phytopathogènes selon la méthode des stries croisées....	37
Figure 16. Résultats de la méthode des stries croisées	38
Figure 17. Résultats de l'activité d'antibiose de la méthode des disques	39
Figure 18. Résultats de la méthode des disques	40
Figure 19. L'incidence de la maladie causée par <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i> dans le biocontrol <i>in vitro</i>	41
Figure 20. (A) Symptôme de fonte du semis <i>in vitro</i> , (B) Symptôme de nécrose racinaire.....	42
Figure 21. Résultats de l'activité de biocontrôle <i>in vivo</i> de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i>	44
Figure 22. (A) Symptôme de fonte du semis <i>in vivo</i> , (B) Symptôme de nécrose racinaire	44

Figure 23. Résultats de biocontrôle <i>in vivo</i> représenté les différents traitements	45
Figure 24. Résultats du poids frais et poids sec des plantules de tomate	47
Figure 25. Résultats de la longueur des racines et des tiges des plantules de tomates..	49

Liste des abréviations

°C: Degré Celsius.

AgraQuest : Société de biotechnologie leader dans le développement de produit naturels de lutte antiparasitaire.

CM : Carrée Moyenne.

ddl : degré de liberté.

DN : Deglet Nour.

f. sp: Forme spécialisée.

Fc: *Fusarium culmorum*.

Fg: *Fusarium gramineum*.

Fm: *Fusarium moniliforme*.

Foa: *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*.

Fol: *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*.

Forl: *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*.

Fs: *Fusarium Solani*.

Gr: Gramme.

ISP: International *Streptomyces* Project.

LDS: Low Difference Significant

MA: Matière active.

ML: *Medicago laciniata*

mm: Millimètre.

PDA : Potato-Dextrose-Agar.

PGPR: *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* ou (rhizobactéries stimulant la croissance des plantes).

pH: Potentiel d'hydrogène.

PPDS : Plus petite différence significative.

q.s.p : Quantité suffisante pour.

Rs: *Rhizoctonia Solani*.

S: Spirale.

SCE : Sommes Carrées des Ecartes.

TL : *Terfezia leonis*.

UFC : Unité formatrice de colonies.

Introduction

La culture de tomate est sujette à de nombreuses attaques parasitaires par une gamme assez large de ravageurs (mouche blanche, pucerons, thrips, nématodes...) et maladies cryptogamiques (mildiou, oïdium, pourriture grise et fonte des semis...) causant ainsi des pertes remarquables de rendement (Id-El Mouden, 2010). La pourriture des racines et du collet causé par le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. Est une maladie très fréquente en Algérie elle peut causer une perte plus importante à l'échelle mondiale. Alors, La prévention à cette maladie est extrêmement importante pour la culture de la tomate (Shankara *et al.*, 2005).

Face à cette situation, les producteurs de tomate font recours à une panoplie de méthodes de lutte. Cependant, la lutte chimique demeure le pilier de toute protection vue sa rapidité et sa facilité (Shankara *et al.*, 2005).

La lutte chimique est actuellement en vigueur, ce sont essentiellement des pesticides de synthèse qui sont utilisés contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* l'agent causale de la pourriture des racines et du collet (Kouassi, 2001). Ces produits chimiques sont considérés comme l'arme la plus efficace, mais ces substances ont des conséquences néfastes sur l'environnement. Beaucoup de ces composés de synthèse ont un large spectre d'action, détruisant non seulement les agents nuisibles, mais également les autres populations de l'écosystème, en plus, l'apparition des mécanismes de résistance chez les agents pathogènes (Kouassi, 2001 et Thakore, 2006).

Au regard de ces inconvénients, il est important de trouver des solutions alternatives qui permettront de continuer à lutter contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* tout en diminuant l'utilisation de produits chimiques. L'utilisation de certains microorganismes non pathogènes en tant que biopesticides est une technologie émergente et écologiquement compatible considérée comme alternative prometteuse aux pesticides de synthèse (Minuto *et al.*, 2006).

Ces biopesticides peuvent être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes) ou de microorganismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis des agents phytopathogènes (Fravel, 2005 et Lee *et al.*, 2006).

Tout comme les autres agents de lutte biologique, les biopesticides sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue

vis-à-vis des agents phytopathogènes contre lesquels ils sont dirigés. Ils sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non ciblés de la microflore endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes (Saravanakumar *et al.*, 2007).

De plus, les biopesticides sont souvent efficaces en faibles quantités et leurs activités protectrices peuvent relever de mécanismes multiples et déclenchent donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène. Parmi les biopesticides, les produits à base de bactéries représentent 74% du marché mondial (Lourenco Junior *et al.*, 2006).

L'objectif de notre travail est de tester l'effet de six isolats d'actinomycètes endophytes des plantes de notre région (Laghouat), contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* l'agent causal de la pourriture des racines et du collet de la tomate. Pour cela, nous nous sommes intéressés à étudier l'activité d'antibiose de nos souches en utilisant deux méthodes : la méthode des disques et la méthode des stries croisées. En outre, nous avons évalué le potentiel de ces souches d'actinomycètes endophytes dans le biocontrôle *in vitro* et *in vivo* du *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. Tout en comparant leur effet avec celui du Sérénade[®]. Nous nous sommes intéressées également à évaluer des paramètres de croissance tel que (longueurs des racines et des tiges, poids frais et poids sec).

I.1. GENERALITEES SUR LA TOMATE

I.1.1. Historique et origine de la tomate

La tomate (*Lycopersicum esculentum* M.) est une plante herbacée appartenant à la famille des *Solanacées*, cette famille regroupe d'autres espèces qui sont également bien connues, telle que la pomme de terre, le tabac, le poivron et l'aubergine. Elle est généralement cultivée comme plante annuelle (Chaux et Foury, 1994).

La tomate est originaire des Andes d'Amérique du sud. Elle fut tout d'abord domestiquée au Mexique, puis introduite en Europe en 1544. De là, sa culture s'est propagée en Asie du sud et de l'est, en Afrique et au Moyen orient (Shankara *et al.*, 2005).

I.1.2. La position taxonomique

La tomate a été classé par Philippe Miller (1754) comme *Lycopersicum esculentum*. Et Gaussen *et al.*, (1982), rappellent que la tomate appartient à la classification suivante :

Règne :	Planta
Sous Règne :	Trachenobionta
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous Classe :	Asteridae
Ordre :	Soloniales
Famille :	<i>Solanaceae</i>
Genre :	<i>Solanum</i> ou <i>Lycopersicum</i>
Espèce :	<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.

I.1.3. Caractéristiques morphologiques de la tomate

I.1.3.1. Appareil végétatif

a. Le système racinaire :

Le système racinaire de la tomate est puissant, très ramifié à tendance fasciculée (Voir figure1A). Il est très actif sur les 30 à 40 premiers centimètres. En sol profond, on peut trouver des racines jusqu'à 1 mètre de profondeur (Chaux et Foury, 1994).

b. La tige

La tige est de forme anguleuse, épaisse aux entre nœud pubescent (couvert de poil) (Voir figure1B), de consistance herbacée en début de croissance, se lignifie en vieillissant.

La tige porte deux types de poils, simple ou glanduleux. Ces derniers contenant une huile essentielle donnant une odeur caractéristique à la plante (Kolev, 1976). Ces rameaux

issus des bourgeons axillaires produisent des feuilles à chaque nœud et se terminent par une inflorescence (Chaux et Foury, 1994).

c. Les feuilles

Les feuilles sont composées de 5 à 7 folioles principales, longues de 10 à 25 cm et d'un certain nombre de petites folioles intercalaires ovales un peu dentés sur les bords, grisâtre à la face inférieure. Elles sont souvent repliées en forme de cuillères ou même à bords roulés en dessus (Voir figure1C). Ces feuilles sont alternées sur la tige (Raemaekers, 2001).

I.1.3.2. Appareil reproducteur

a. La fleur

Les fleurs sont regroupées sur le même pédoncule en bouquet lâche d'inflorescences formant des grappes plus ou moins bifurquées de 3 à 8 fleurs chez les variétés fixées et au-delà chez les hybrides (Voir figure1D) (polese, 2007). Elles s'épanouissent du printemps à l'été (de fin Mai à Septembre) dans l'hémisphère nord (Doré et Varoquaux, 2006).

b. Le fruit

Le fruit de tomate est une baie charnue. L'épiderme est lisse brillant et peut présenter sur des fruits murs des colorations très diverses (Voir figure 1E). La couleur du fruit varie du rouge foncé, rose, bleuâtre, orange, jaune, et même blanche (Chaux et Foury, 1994).

c. Les graines

Chaque fruit contient un nombre important de graines qui varie de 80 à 500 graines par fruit (Voir figure 1F). Elles sont recouvertes d'un mucilage qui présente à la maturité un albumen et embryon à courbe, à germination épigée (Doré et Varoquaux, 2006).



A



B



C



D



E



F

Source: ITCM, 2012.

Figure 1. Morphologie de la tomate : (A) Système racinaire, (B) la Tige, (C) les Feuilles, (D) fleur, (E) les fruits, (F) les graines

I.1.4. Exigences édapho-climatiques de la tomate

La tomate s'adapte à une grande diversité des conditions édaphiques et climatiques, allant du climat tempéré vers le climat tropical chaud et humide (Naika *et al.*, 2005).

I.1.4.1. le sol

La tomate peut convenir et s'adapter à toutes les textures, allant des sols argileux, aux sables dunaires, à conditions que les travaux du sol soient effectués convenablement. La production de la tomate peut être augmentée de près de 50 % en passant des sols sableux légers, à des sols limoneux plus lourds (Khorsi, 1993). Une profondeur de sol de 15 à 20 cm est favorable à la bonne croissance d'une culture saine (Laumonier, 1979).

I.1.4.2. La température

La température est le premier facteur dont dépendent le pourcentage de levée et la vitesse de germination. Cette dernière augmente avec la température jusqu'à une valeur optimale de 25 °C, et entre 15 à 20 °C on aura un meilleur pourcentage de levée et pour assurer son cycle végétatif complet (Rey et Costes, 1965). La fécondation s'arrête à des températures inférieures à 15 °C. En dessous de 10 °C et en dessus de 38 °C, les tissus végétaux sont endommagés (Naika *et al.*, 2005).

I.1.4.3. Le pH

La culture de la tomate tolère une large gamme de pH. Néanmoins sur des sols à pH basique. Certains micro-éléments (Fe, Mn, Zn, Cu) restent peu disponibles pour la plante. Selon Chauv et Foury (1994), ce pH varie de 4,5 à 8,5. Le meilleur équilibre nutritionnel est assuré à des pH compris entre 6 et 7.

I.1.4.4. L'humidité

L'humidité optimale du sol pour des terres argilo-siliceuses est de 75 à 80 % de la capacité au champ, et l'abaissement de l'humidité et de la température du sol crée un déficit hydrique, et par conséquent réduit la photosynthèse et la transpiration (Heller, 1981). La tomate est très sensible à l'hygrométrie, il semble qu'une hygrométrie relativement ambiante de 60 à 65 % soit la meilleure. Elle joue un rôle important dans la fécondation. Si l'humidité est trop élevée, le pollen est difficilement libéré. Par ailleurs, le développement des maladies cryptogamiques est lié à des fortes humidités accompagnées de la chaleur (Taibi et Guenfoud, 2013).

I.1.4.5. La salinité

La tomate est moyennement sensible à la salinité du sol. Elle peut supporter des teneurs en sels allant de 2 à 4 g/l. La période pendant laquelle la tomate est plus sensible à la salinité, correspond à la germination et au début du développement de la plante (Bentvelsen, 1980).

I.1.4.6. L'aération

Un sol bien aéré détermine un pourcentage élevé de levée des plantules, par contre un sol non aéré exerce un effet défavorable sur les racines durant la période de croissance végétative (Chaux et Foury, 1994).

I.1.4.7. La lumière

La tomate n'est pas sensible au photopériodisme, cependant son développement exige de fortes quantités de lumière. La longueur de l'obscurité est essentielle pour le contrôle de la croissance et le développement de la tomate. Le développement reproducteur de la tomate est fortement influencé par la quantité totale d'énergie que reçoit la plante quotidiennement (Kinet, 1985).

I.1.5. Les variétés les plus utilisées en Algérie

Les variétés de tomate sont très nombreuses. A cet effet, ces dernières peuvent être classées selon leur croissance qui peut être du type indéterminé ou du type déterminé (Snoussi, 2010). Pour le type indéterminé, les variétés à caractères fixés les plus utilisées sont : Marmande et Saint pierre. Les hybrides : Actana, Agora, Bond, Nedjma, Tafna, Tavira, Toufan, Tyerno et Zahra sont les plus utilisées en Algérie (Snoussi, 2010).

Pour le type déterminé, la variété à caractère fixé, la plus utilisée est la variété Aicha. Les hybrides: Farouna, Joker, Luxor, Super red, Tomaland, TOP 48, Suzana, Zigana et Zeralda sont les plus cultivées en Algérie (ITCMI, 2012).

I.1.6. Principales maladies et ravageurs de la tomate

Les principales maladies et ravageurs de la tomate en Algérie sont présentées dans le tableau suivant (tableau 1)

Tableau 1. Les principales maladies et ravageurs de la culture de tomate en Algérie

Maladies	Agent causal	Symptomes
Chancre Bactérien	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp <i>michiganensis</i>	Sur tige: jaunissement de la moelle en bordure des vaisseaux. Sur fruit : petite tache blanche, brunes au centre.
Gale bactérienne	<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>vesicatoria</i>	Les plants sévèrement infectés perdent leurs feuilles. Sur fruit : lésions sous forme de pustules liégeuse entourées d'un halo huileux.
Moucheture bactérienne	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>tomato</i>	Sur feuille: elle se manifeste par des petits points noirs qui, habituellement, ne font pas plus de 2 mm de diamètre. Sur fruit : petites taches noires (de moins de 1 à 3 mm) légèrement surélevées et souvent cernées d'une fine auréole allant du vert au jaune.
Alternariose	<i>Alternaria dauci</i> , <i>Alternaria solani</i>	Sur feuille des plantes, taches nécrotiques noires de taille variable (3 à 6 mm) plus ou moins arrondies souvent entourées un halo jaune. Sur fruit, tache noires bien délimitées, déprimées de 1 à 2 cm, débutant souvent a l'aisselle du calice.
Fusariose ou pourriture fusarienne	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i> ,	Pourriture du système racinaire, jaunissement unilatéraux des folioles. Le collet peut présenter un chancre recouvert d'un mucus rose saumon. Les symptômes consistent en un flétrissement de la plante qui se produit au moment où les fruits grossissent et durant les fortes chaleurs. Brunissement des vaisseaux au niveau du collet.
		Suite.....

Mildiou	<i>Phytophthora infestans</i>	Sur feuilles : larges plages brunes auréolées à marge vert pâle à la face supérieure, se desséchant en leur centre et correspond à un duvet blanc sur la face inférieure. Sur fruit : taches brunes, dures et marbrées avec parfois un feutrage blanc.
CMV	<i>Myzus persicae</i> , <i>Aphis gossypii</i> , A. <i>craccivora</i> , <i>A. fabae</i> .	Symptômes de mosaïque foliaire. Lorsque l'infection est précoce, on observe une stérilité des plantes ou une malformation des fruits.
TICV	<i>Crini virus</i>	Un jaunissement inter varié sur les feuilles basales puis médianes. Un retard de développement de la plante.
Mineuse	<i>Tuta absoluta</i>	Les pertes pouvant aller jusqu'à 80-100%. Les galeries se nécrosent et brunissent. Les tomates présentent des nécroses sur le calice ou des trous de sortie à leur surface.
Nématodes	<i>Meloidogyne</i> spp.	Sur les racines, des nécroses juste au dessous de la peau. La partie aérienne peut présenter une croissance réduite accompagnée d'un jaunissement des feuilles.

Source: Blancard, 1988 et ITCMI, 2012.

I.2. LA POURRITURE DES RACINES ET DU COLLET DE TOMATE

I.2.1. Historique

La pourriture des racines et du collet de tomate est une maladie découverte pour la première fois au Japon en 1969 et s'est propagée à travers le monde à partir de 1970 (Yamamoto *et al.*, 1974). Elle a été signalée dans plusieurs pays (Algérie, Tunisie,.....) où elle est plus ou moins dommageable (Blancard, 1997). Elle peut provoquer de pertes de rendement jusqu'à 90% en fonction des conditions climatiques (Hibar *et al.*, 2006)

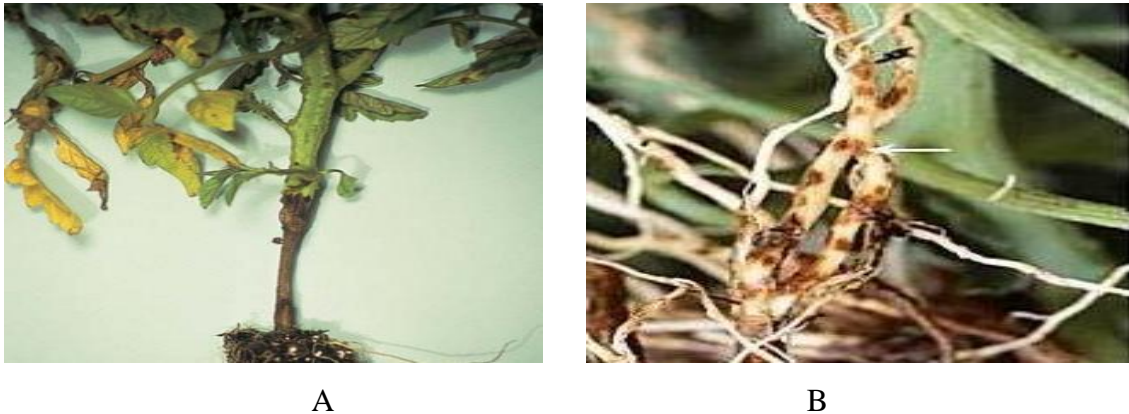
I.2.2. Symptomatologie de la maladie

Cette affection se manifeste souvent par une pourriture ou un petit collet boudiné rougeâtre ou brun à la base de la tige des plantules. Les plantules se dessèchent, deviennent filiformes et meurent. Par la suite, une fois que la maladie est apparue, il existe peu de recours pour la contrer. Il est alors plus simple de se débarrasser des plants morts que de tenter de les sauver (Zaid, 2010; ITCMI, 2012 et Wojciech *et al.*, 2013).

I.2.2.1. Les symptômes externes

Contrairement aux maladies vasculaires notamment, des flétrissements plus ou moins importants apparaissent sur les folioles du sommet de la tige, dans cette zone, la tige est fortement amincie (Blancard, 1997). Ces flétrissements peuvent être dans un premier temps réversible durant la nuit, et leur incidence peut varier en fonctions des conditions climatiques. Ils peuvent évoluer très rapidement vers la nécrose et le dessèchement des folioles et des feuilles, et peuvent aussi conduire à la mort des plantes (Henni, 1998).

Certains auteurs signalent aussi l'apparition de jaunissements foliaires situés à la périphérie du limbe des vieilles feuilles. Ceux-ci sont suivis de la nécrose des pétioles et de la chute des feuilles. Certaines plantes affectées précocement voient leur croissance réduite. Quelle que soit la gravité des flétrissements, les symptômes primaires sont à rechercher sur les racines et le collet des plantes. Sur les racines apparaissent de nombreuses lésions brun rougeâtres, humides, évoluant rapidement en pourriture. Plus le diamètre des racines est faible, plus celles-ci pourrissent et se décomposent rapidement (Blancard, 1988).



Source : Agrios, 2005 et Blancard, 2009.

Figure 2. (A) Pourriture du collet, (B) Nécrose racinaire.

I.2.2.2. Les symptômes internes

Il convient à noter que le système vasculaire présente aussi quelques symptômes, bien que nous n'ayons pas à faire à une maladie uniquement vasculaire. D'une manière générale, le cylindre central des grosses racines révèle des brunissements assez marqués. Il en est de même pour les tissus vasculaires du pivot et ceux situés de part et d'autre de ces derniers (Henni, 1998).

Le brunissement (voir figure 3) peut s'étendre jusqu'à la tige sur plusieurs dizaines de centimètres au-dessus du collet. Des racines adventives se développent parfois sur la tige pour faire face à l'attaque du champignon (Blancard, 1997 et Hibar et *al.*, 2007a).



Source : Blancard et al., 2009.

Figure 3. Brunissement du pivot

I.2.3. L'agent causal

La pourriture des racines et du collet de la tomate est causé par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (Forl) (Jarvis et Shoemaker, 1979).

Le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* est un champignon imparfaits appartenant à la classe de *Ascomycètes*, à l'Ordre des *Hypocreales* et à la famille des *Nectriaceae*. Ce champignon est capable de se conserver longtemps dans le sol (parfois plus de 4 années) et se disséminer dans les cultures et de provoquer des dégâts importants. Il attaque les racines, progresse dans les vaisseaux des racines et de la base de la tige, qui brunissent. Au collet, des chancres sont observés avec parfois des fructifications du champignon facilitant la dissémination de la maladie (Booth, 1971 et champion, 1997).

I.2.4. La taxonomie de l'agent causal

La classification de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* est la suivante :

Règne :	Champignons
Embranchement:	Ascomycota
Classe:	Sordariomycetes
Sous-classe:	Hypocreomycetidae
Ordre :	Hypocreales
Famille:	Nectriaceae
Genre:	<i>Fusarium</i>
Espèce:	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i> (Jarvis et Shoemaker, 1979).

I.2.5. Morphologie de l'agent causal

I.2.5.1. Caractères cultureux

Le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* se développent bien sur milieu PDA (Annexe 1). La température optimale de croissance varie entre 22 et 37°C. Les colonies duveteuses ou cotonneuses sont de couleur variable (blanc, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les souches (Chebasse *et al.*, 2002).

I.2.5.2. Micromorphologie

Les microphialides (10 à 14 x 3,5 à 5 µm) peuvent s'agréger en sporodochies. Les microconidies sont ellipsoïdales, isolées ou potées par des conidiophores courts et ramifiés. Les microconidies sont abondantes, ovoïdes. Les macrophialides sont éparses ou groupées en sporodochies. Les macroconidies sont fusiformes, plus ou moins courbées, pointues aux deux extrémités, présentant 3 à 5 cloisons. Elles mesurent 27 à 65 x 3 à 5 µm. Les chlamydospores, terminales ou intercalaires, formées dans le mycélium et dans les conidies, sont sub-globuleuses et hyalines (5 à 15 µm de diamètre) (Roquebert, 1998).



Source : Roquebert, 1998.

Figure 4: micromorphologie du *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*.

I.2.6. Biologie du *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*

Le champignon se conserve dans le sol grâce à des chlamydospores et au mycélium capable de survivre sur les débris. L'infection a surtout lieu à partir des conidies formées sur les chancres (stade de croissance plus avancé) (Blancard, 1988 et Anastasia et al., 2002).

La dissémination du champignon se fait au niveau du sol par les eaux de ruissellement, le vent, les éclaboussures, ou les importations dans l'exploitation de terreau ou de plants contaminés (Anastasia et al., 2002). Le champignon semble plus agressif sur des cultures ayant connu un stress (excès d'eau ou température trop basse) (Hibar et al., 2007b).

I.2.7. Conditions favorables au développement de l'agent phytopathogène

Il semble qu'il puisse survivre quelle que soit la température du sol. Jusqu'à présent, on avait tendance à le considérer comme un parasite des sols ou des substrats relativement « froids » affectant surtout les plantes des cultures précoces et les zones des abris les plus froides (les températures optimales étant de l'ordre de 18 à 20 °C). Dans certains pays et en France, cette maladie s'est exprimée à plusieurs reprises en période estivales durant lesquelles les températures étaient supérieures à 26 °C. La gravité de la maladie dépend aussi de l'agressivité des souches et les conditions climatiques (Blancard, 1997).

I.3. LES MOYENS DE LUTTE CONTRE LE *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP *RADICIS LYCOPERSICI*

La mise en œuvre d'une stratégie de lutte impose une démarche globale intégrant des considérations phytopathologiques, phytotechniques et économiques où il y a plusieurs types de lutte. Le choix de type de lutte doit prendre en considération le contexte socioéconomique dans lequel cette mesure va devoir s'appliquer (Suty, 2010a).

I.3.1. Lutte culturale

Les pratiques culturales peuvent avoir des conséquences sur les développements de la maladie en agissant sur l'inoculum de l'agent pathogène ainsi que sur les paramètres qui régissent le développement des épidémies (Lepoivre, 2003b).

Les rotations jouent un rôle important dans l'élimination de l'inoculum primaire. Cette seule pratique n'est cependant pas suffisante pour éliminer le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. Comme dans certaines zones, la destruction d'un inoculum d'agent pathogène tellurique peut être obtenue par l'inondation des terres en Chine, dans les régions de cultures maraichères intensives, la conservation des champs en rizières élimine les chlamydospores de *Fusarium oxysporum* qui ne survivent pas en conditions anaérobiques (Lepoivre, 2003b).

I.3.2. Lutte génétique

L'amélioration des plantes en matière phytopathologique vise l'obtention de génomes des végétaux qui présentent, avec l'agent pathogène considéré, un rapport d'incompatibilité plus ou moins marqué, ou qui produisent adéquatement l'infection par l'agent concerné.

Tout programme d'amélioration génétique de la résistance à la pourriture des racines et du collet causé par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* implique le choix des sources de résistance, la disponibilité d'un protocole d'identification des individus porteurs des caractères de résistance, l'introgession des gènes de résistance dans une variété, la mise en œuvre d'une stratégie de déploiement de cette variété afin d'assurer la durabilité de sa résistance (Lepoivre, 2003a).

I.3.3. Lutte chimique

Les traitements chimiques contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* sont largement utilisés pour combattre cette maladie (Thirame, Tachigaren 360 « MA. Hymexazol », Manèbe 80, Benlate 50 « MA. Benomyl ») (Hibar et al., 2007a).

Les matières actives utilisées dans ces produits chimiques sont des molécules organiques de synthèse, et des substances minérales dont le soufre élémentaire et des produits cupriques, ainsi que les antibiotiques autorisées dans certains pays contre quelques agents phytopathogènes (Lepoivre, 2003). Ces matières sont utilisées depuis plusieurs décennies en pulvérisation sur des parties aériennes des plantes ou traitements de semences (Leroux, 2003 et Rocher, 2004).

L'application non raisonnée des produits chimiques induit à un phénomène de résistance des microorganismes. Pour cela, nous cherchons à substituer cette lutte chimique par d'autres mécanismes biologiques (Leroux et Gardon, 2003).

I.3.4. Lutte intégrée

La protection intégrée des cultures s'inscrit délibérément dans une perspective d'agriculture durable. La protection intégrée veut combiner les différentes stratégies de protection de la culture de la tomate vis-à-vis du *Forl* (lutte chimique, lutte génétique, pratiques culturales, lutte biologique) dans le but d'optimiser la relation entre la production (tant en termes quantitatifs que qualitatifs) et les coûts directs et indirects qu'elle entraîne (Corbaz, 1990 ; Lepoivre et Semal, 2003 et Hibar et al., 2006).

I.3.5. Lutte biologique

La lutte biologique contre les agents pathogènes des plantes est définie comme l'utilisation de processus biologiques pour diminuer la densité d'inoculum des agents pathogènes dans le but de réduire leur capacité à induire la maladie (Jijakli, 2003 et Suty, 2010).

La lutte biologique peut être conduite de manière directe ou indirecte. Les stratégies directes comportent, par exemple, l'utilisation d'amendements du sol de façon à augmenter la population d'antagonistes microbiens indigènes contre un agent pathogène spécifique une autre approche indirecte, la protection croisée consiste à stimuler les défenses

naturelles des plantes contre un agent pathogène virulent en faisant une préinoculation de la plante avec une souche avirulente (Suty, 2010b).

Les principaux critères de sélection d'un agent de lutte biologique contre des agents pathogènes des plantes sont: la stabilité génétique de la souche, son efficacité à faible concentration et sur un grand nombre de pathogènes, ses faibles exigences nutritionnelles, sa capacité d'adaptation et de survie aux conditions environnementales, la possibilité de production de masse faible cout, son absence de toxicité sur d'autres organismes, sa résistance aux pesticides et compatibilité avec d'autres traitements (Lepoivre, 2003 et Jijakli, 2003). Pour avoir une chance de trouver un agent de lutte biologique efficace, il faut récolter un grand nombre de souches de microorganismes, soit en milieu naturel, soit dans différentes banques existantes (Suty, 2010b).

Au niveau de la rhizosphère et du contrôle des agents pathogènes telluriques, la lutte se fait principalement par des bactéries appartenant aux genres *Streptomyces*, *Bacillus*, *Agrobacterium* et *Pseudomonas*, et des champignons des genres *Ampelomyces*, *Candida*, *Coniothyrium* et *Trichoderma* (Benizri *et al.*, 2001).

Ces microorganismes utilisent différents mécanismes pour lutter contre les agents phytopathogènes du sol, à savoir : L'antibiose, la compétition, le parasitisme et/ou l'induction des mécanismes de la résistance de la plante (Dunne *et al.*, 1996 ; Loqman, 2009).

La compétition nutritive est un moyen important de la lutte biologique du fait que le manque de nutriments peut engendrer automatiquement la mort du pathogène (Benitez *et al.*, 2004). La compétition nutritionnelle et la compétition spatiales contribuent dans la réduction des infections racinaires provoquées par les agents phytopathogènes (Benitez *et al.*, 2004 et Compant *et al.*, 2005).

La compétition pour le fer est la mieux documenté. Quoique très abondant, cet élément se trouve souvent sous la forme de polymères d'hydroxydes ferriques très insoluble. Les bactéries possèdent un mécanisme très spécifique de captation des ions ferriques basé sur la production des sidérophores en condition de carence en fer. Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire chélatrices du Fe^{3+} et servant de transporteur de l'ion ferrique à l'intérieur de la cellule végétale (Lepoivre, 2003 et Jijakli, 2003).

L'antibiose est la sécrétion des substances antifongiques par les microorganismes, ces substances qui agissent comme des «antibiotiques» et qui inhibent la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents phytopathogènes (Jijakli, 2003).

Le parasitisme consiste en l'interaction directe entre deux microorganismes où les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre. L'agent antagoniste sécrète des enzymes dégradant les parois cellulaires des agents pathogènes comme les protéases, les chitinases et les glucanases (Helluy et Holmes, 2005).

I.3.5.1. L'intérêt de la lutte biologique dans le contrôle des maladies phytopathogènes

En plus de son rôle dans la restauration de la biodiversité dans les écosystèmes, la lutte biologique présente un rôle important dans le contrôle des maladies phytopathogènes. Emmert et Handelsman (1999) affirment que la lutte biologique peut être aussi efficace dans le contrôle des maladies phytopathogènes que l'utilisation des fongicides chimiques. Singh *et al.*, (2003) ont montré que *Pseudomonas fluorescens* peut réduire jusqu'à 78% des pertes causée par la pourriture du collet de la plante de piment rouge causé par *Sclerotium rolfsii*. Également, Mao *et al.* (1998) ont pu réduire dans le champ les maladies de la tomate due aux *S. rolfsii*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* par l'utilisation de deux agents biologiques *Gliocladium vireus* et *Burkholderia cepacia*.

La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme. L'utilisation de plusieurs modes d'action par un seul agent antagoniste et sa capacité d'adaptation à la rhizosphère contribuent à ce que la lutte biologique devient plus durable que les produits chimiques (Cook, 1993). Actuellement, plusieurs produits de lutte biologique sont commercialisés et utilisés dans le monde comme : Mycostop[®], Actinovate[®], Sérénade[®], Sonata, Polyversum (Fravel, 2005; Errakhi, 2008)

La réussite de la lutte biologique nécessite l'application d'un agent de biocontrôle efficace. L'efficacité est notamment liée à la capacité de l'agent de lutte biologique à coloniser et à s'installer dans le milieu rhizosphérique des plantes (Singh *et al.*, 2003).

Ce paramètre correspond à la compétence rhizosphérique (Whipps, 2001). Cette dernière réside dans l'adaptation de l'agent antagoniste aux conditions biotiques

et abiotiques du sol. L'agent aussi doit être doté d'une capacité à coloniser les racines de la plante hôte (Whipps, 2001). En plus de cette compétence, l'agent de biocontrôle doit disposer de divers mécanismes de lutte biologique lui permettant d'inhiber le développement de l'agent phytopathogène et de réduire ainsi l'incidence de la maladie qu'il provoque (Errakhi, 2008).

I.3.5.2. Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés

Plusieurs microorganismes ont été utilisés dans le contrôle des maladies phytopathogènes (Errakhi, 2008). Parmi les champignons les plus utilisés, nous pouvons citer *Trichoderma* spp. Ce dernier a été utilisé comme agents de lutte biologique contre un large spectre de pathogènes aussi bien telluriques que foliaire. Ils agissent par différents mécanismes comme la production des enzymes lytiques (chitinases, bêta-1-3 -glucanases et bêta-1-4-glucanase), la production d'antibiotiques, la compétition spatiale et nutritionnelle (Elad *et al.*, 1999), l'induction des systèmes de résistance des plantes (Brimner et Boland, 2003) et l'inactivation des enzymes de l'agent pathogènes (Elad *et al.*, 1999). Une souche de *Trichoderma* spp. S'est avéré active contre de nombreux phytopathogènes à savoir : *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*, *Pythium ultimum*, *Botrytis cinerea* et *Rhizoctonia solani* (Mukherjee *et al.*, 2008). Certaines bactéries à Gram positif sont employées comme agent de lutte biologique. Elles contrôlent plusieurs maladies phytopathogènes. Parmi ces bactéries, les souches de *Pseudomonas* spp., les souches de *Bacillus subtilis* et les actinomycètes sont les plus étudiés.

La plupart des espèces actinomycètes vivent dans le sol, qui est leur réservoir principal. Ils peuvent agir par différents mécanismes d'action (Emmert et Handelsman, 1999).

L'action antagoniste de ce groupe bactérien dans la lutte biologique a été démontrée contre *Fusarium oxysporum* f.sp *albedenis* (Sabaou *et al.* 1998), *Alternaria* sp. (Khamna *et al.*, 2009) *Phytophthora* sp. (Xiao *et al.*, 2002), *Pythium ultimum* (Mahadevan et Crawford, 1997), *Colletotrichum lindemuthianum* (Tu, 1988).

I.3.5.2.1. Sérénade® (*Bacillus Subtilis* QST713)

Le Sérénade est un biofongicide à base de *Bacillus subtilis*. Il s'agit d'une bactérie gram positive en forme de bâtonnet et munies des flagelles. Elle se retrouve abondamment dans le sol, l'eau et l'air. La souche contenue dans ce biofongicide est la souche QST713. Cette souche de *Bacillus* a été découverte dans un verger de la Californie par les chercheurs de la compagnie Agra Quest (Marrone, 2002). Ce biofongicide se présente sous plusieurs

formes, soit en poudre mouillable, granules mouillables ou suspension aqueuse (AgraQuest, 2003).

Bacillus subtilis souche QST713 est un antagoniste de nombreux champignons et bactéries phytopathogènes (comme : *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* et *Rhizoctonia solani*). Cet antagonisme peut être atteint de plusieurs façons, notamment par compétition pour les éléments nutritifs, par exclusion du site, par colonisation et par fixation des bactéries sur le champignon pathogène. De même, ces bactéries produisent des composés pouvant induire une résistance systémique contre les agents pathogènes chez les plantes (AgraQuest, 2003). Les cellules vivantes de *Bacillus subtilis* QST713 produisent des lipopeptides qui ont un effet antifongique et un effet antibactérien. Ces lipopeptides sont des «iturins», des «agrastatins», «plipastatins» et des «surfactins». Les «agrastatins» et les «surfactins» agissent en synergie avec les «iturins» pour inhiber la germination des spores, la croissance des tubes germinatifs, la croissance du mycélium, le développement bactérien et l'attachement de l'agent pathogène au niveau foliaire (Marrone, 2002 et AgraQuest, 2003).

I.3.5.2.2. Les actinomycètes

Les actinomycètes ont été à l'origine de la découverte de l'actinomycine par Waksman en 1940 à partir d'une culture de *Streptomyces antibioticus* (Waksman et Woodruff, 1940) et de la streptomycine chez *Streptomyces griseus*.

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, séptées, ramifiées, à coloration de Gram positive (Nanjwad et *al.*, 2010). La morphologie des différents groupes d'actinomycètes est très variable. Elle a des formes peu évoluées comme *Mycobacterium*, à des formes très évoluées comme celles des genres *Streptomyces* qui forme un véritable mycélium non fragmenté et sporulant (Smaoui, 2010).

Les actinomycètes présentent un important potentiel d'agents contre des maladies phytopathogènes. En effet, ces dernières décennies, plusieurs études se sont intéressées aux rôles que pourrait jouer les actinomycètes dans la suppression des phytopathogènes.

Le premier produit de lutte biologique commercialisé à base d'actinomycètes a été fabriqué à partir de *Streptomyces griseoviridis* pour contrôler les agents phytopathogènes comme le *Botrytis* et le *Fusarium* (Errakhi, 2008).

Les actinomycètes sont des bactéries saprophytes capables de dégrader la matière organique dans le sol et d'utiliser des molécules plus complexes pour leur croissance

(Lechevalier et Lechavalier, 1970). Ceci leur permet de s'adapter et de coloniser différents milieux rhizosphériques. Cette caractéristique est essentielle dans la lutte biologique. Ainsi, les actinomycètes peuvent agir par différents mécanismes d'action comme l'antibiose, la compétition nutritionnelle ou spatiale ou encore le parasitisme (Errakhi, 2008).

La plupart des études ont utilisé des *Streptomyces* comme agents potentiels de lutte biologique contre les champignons pathogènes (Yuan et Crawford, 1995; Xiao *et al.*, 2002). Cependant, et par rapport aux *Streptomyces* les informations sur le potentiel d'autres genres d'*Actinomycetales* est encore relativement faible.

Le parasitisme des mycéliums de champignons par les actinomycètes a été démontré par plusieurs travaux (Yuan et Crawford, 1995; Tréjo-Estrada *et al.*, 1998; El-Tarabily et Sivasithamparam, 2006). Plusieurs enzymes chitinolytiques ont été identifiées chez certaines espèces d'actinomycètes dont *Streptomyces antibioticus*, *Streptomyces lividans*, *Streptomyces lydicus* (Mahadevan et Crawford, 1997), *Streptomyces plicatus* (Abd Allah, 2001) et *Streptomyces halsteii* AJ-7 (Joo, 2005).

La compétition rhizosphérique semble être une condition requise pour le succès la lutte biologique. Ainsi, l'incapacité de coloniser les racines peut expliquer l'échec d'un biocontrôle fiable observé dans de nombreuses études (Weller, 1988). La capacité des actinomycètes à s'adapter à différentes conditions rhizosphériques, leur capacité à produire des antibiotiques et des enzymes lytiques, leur permet d'être parmi les meilleurs agents antagonistes. Sabaou *et al.*, (1983) ont rapporté qu'une souche de *Nocardopsis dassonvillei* a montré des activités antibiotique, mycolytique et parasitaires contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (Getha *et al.*, 2005 et El-Tarabily et Sivasithamparam, 2006).

Tréjo-Estrada *et al.*, (1998) ont montré qu'il y' a une corrélation entre la production d'antibiotiques dans le sol et l'efficacité des actinomycètes dans la lutte contre les phytopathogènes. Par exemple *Streptomyces violaceusniger* YCED9 produits trois antifongiques : la nigrecine, la geltanamycine et la guanidylfingine impliqués dans la lutte contre les champignons phytopathogènes (Tréjo-Estrada *et al.*, 1998). Le genre *Streptomyces griseus* produit plusieurs antibiotiques antifongiques, comme l'actidione (Whiffen *et al.*, 1946), le candicidine et les bafilomycines (Campelo et Gil, 2002).

I.3.5.4. Agents de lutte biologique à base d'actinomycète

I.3.5.4.1. Mycostop®

Mycostop® est un biofongicide en poudre mouillable fabriquée à partir d'une souche bactérienne (*Streptomyces griseoviridis* strain K61). Ce biofongicide à usage préventif spécialement conçu pour lutter contre le *Fusarium* qui attaque les racines et le collet des plantes ornementales et maraichères. En serre, il protège également les racines contre d'autres pathogènes du sol comme *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Alternaria* et *Phomopsis* (Mohammadi, 1992).

En plus, il stimule la croissance et induit les mécanismes de défense des plantes. Il est efficace dans les milieux de culture organiques et de synthèse. Compatible avec les programmes de lutte biologique et intégrée (Ben cherchafa et Merad, 2013).

I.3.5.4.2. Actinovate®

C'est un fongicide biologique à base d'un *Streptomyces* gris (*Streptomyces lydicus* strain WYEC 108) qui permet de réprimer la pourriture grise (oïdium dans les fraises de grande culture et cultivées en serre ; oïdium sur les poivrons de grande culture et cultivées en serre ; oïdium sur les gerbéra de grande culture et cultivées en serre), le blanc (*Podosphaera xanthii*) dans les cucurbitacées le blanc (*Leveillula taurica*, oïdium *lycopersicum*) dans les tomates de grande culture et cultivées en serre.

L'Actinovate® peut réduire des symptômes de pourriture de fruit tel que l'antracnose sur les fraises causée par (*Colletotrichum acutatum*). Il permet également de remédier aux maladies suivantes : flétrissure fusarienne sur les cyclamens, pourridié pythien sur les pétunias, la pourriture des racines et du collet causé par *Rhizoctonia* sur les géraniums et le blanc sur les verbenas (Yuan et Crawford, 1995 et Ben cherchafa et Merad, 2013).

II.1 Matériel et méthodes

II.1.1. Matériel végétal

Les semences de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) utilisées dans cette étude sont représentées par la variété Marmande. Le choix de la variété de tomate est basé sur sa très large utilisation en culture sous serre en Algérie (Snoussi, 2010) ainsi que sa sensibilité vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (Azouaou et Kiboub, 2012).

II.1.2. Matériel biologique




II.1.2.1. L'Agent phytopathogène

L'isolat de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* qui a été utilisé dans notre travail a été isolé à partir des racines de tomate présentant des symptômes caractéristiques de la maladie en 2013 au laboratoire de biologie (université de Laghouat).

II.1.2.2. Les isolats d'actinomycètes

Six isolats d'actinomycètes ont été utilisés pour des testes d'antibiose, biocontrôle *in vitro*, et biocontrôle *in vivo*. Ces isolats ont été isolés à partir des plantes en 2013 au laboratoire de biologie (l'université de Laghouat) (voir tableau 2).

Tableau 2. Les isolats d'actinomycètes utilisés.

Souches	Origines
DN19	 <i>Phoenix dactilifera</i> L. « variété Deglet nour »
DN4	
ML4	 <i>Medicago laciniata</i>
TL2	 <i>Terfezia leonis</i>
TL3	
TL8	

II.2. METHODES

II.2.1. Identification préliminaire de l'agent phytopathogène

L'identification préliminaire de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* à été réalisé en prenant en considération les caractères cultureux : type de colonie, couleur du mycélium et de substrat, et les caractères microscopiques : type de spore : macro et microconidies, présence ou absence des chlamydospores...etc.

II.2.2. Identification préliminaire des isolats d'actinomycètes

La détermination des isolats d'actinomycètes appartenant au genre *Streptomyces* a été effectuées selon la méthode utilisée par Sabaou *et al.*, (1998), les caractéristiques morphologiques et culturelles (couleur du mycélium du substrat, mycélium aérien, pigments diffusibles, type de la chaine de spores) ont été déterminées.

II.2.3. Test d'antibiose

Deux méthodes ont été utilisées pour étudier l'activité d'antibiose *in vitro* des isolats d'actinomycètes endophytes. La méthode des disques vis-à-vis de : *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* et la méthode des stries croisées vis-à-vis de : *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium gramineum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium Solani*, et *Rhizoctonia Solani* (Annexe 2).

II.2.3.1. Méthode des stries croisées

Dans le but d'évaluer l'activité antifongique des isolats d'actinomycètes endophytes vis-à-vis de : *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (*Forl*), *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (*Fol*), *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (*Foa*), *Fusarium culmorum* (*Fc*), *Fusarium gramineum* (*Fg*), *Fusarium moniliforme* (*Fm*), *Fusarium Solani* (*Fs*), *Rhizoctonia Solani* (*Rs*), la méthode des stries croisées décrite par Boubetra *et al.*, (2004) à été utilisée. Le principe de la méthode consiste à inoculer l'actinomycète selon une strie latérale à la surface du milieu ISP2 (Annexe 1) (Shirling et Gottlieb, 1966) en boîte de Pétri (90 mm de diamètre). La culture serait ensuite incubée à 30°C pendant 5 jours

Après cette période d'incubation, les souches testes (*Forl*, *Fol*, *Foa*, *Fc*, *Fg*, *Fs*, *Fm*, *Rs*) sont inoculées selon des stries perpendiculaires à celle de l'actinomycète en parallèle. La boîte sera réincubée à nouveau et la zone d'inhibition est évaluée en millimètre (mm) après une incubation de 3 jours à 25 ± 0,5 °C (voir figure 5). Une culture témoin des agents pathogènes, dans les mêmes conditions, a été effectuée en absence de l'actinomycète.

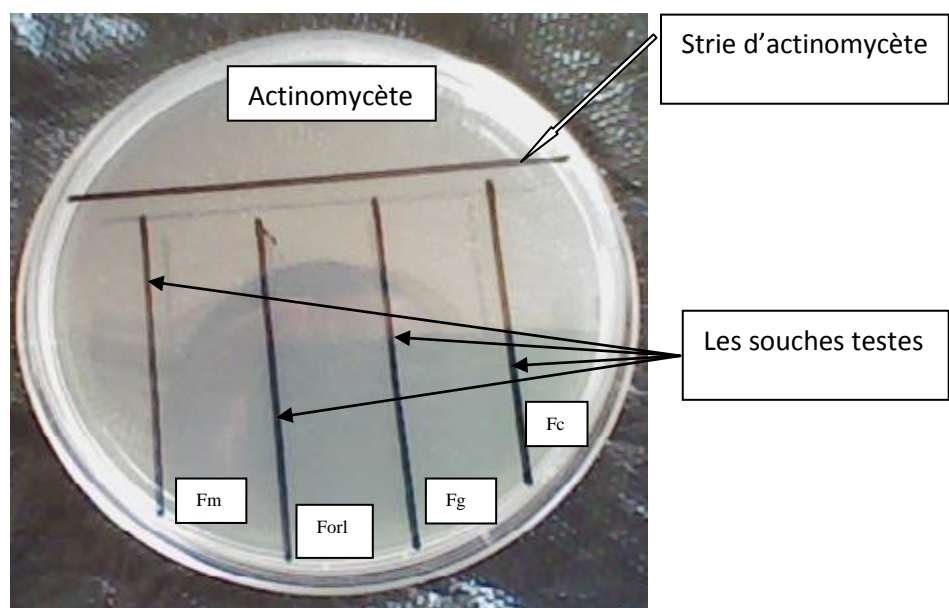
Le taux d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$I(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

I(%) : Taux d'inhibition

A : zone de croissance longitudinale de l'isolat fongique en présence d'actinomycètes (mm).

B : zone de croissance longitudinale de l'isolat fongique en absence d'actinomycètes (mm).



(Originale, 2014)

Figure 5. Méthode des stries croisées.

II.2.3.2. Méthode des disques

La méthode des disques décrite par Suzuki *et al.*, (2000) a été utilisée pour tester l'effet des isolats d'actinomycètes vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. Cette technique consiste à déposer, dans une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre contenant le milieu ISP2, deux disques de 6 mm de diamètre d'une culture bioactive de l'actinomycète à 1 cm de la périphérie de la boîte de Pétri puis incubés à 30 °C pendant 5 jours (voir figure 6).

Après d'incubation, un disque de même diamètre d'une culture du pathogène a été appliqué au centre de la boîte. Les boîtes ont été ensuite incubées à nouveau à 25 °C et les zones d'inhibition (en mm) ont été mesurées après 3 jours.

En vue d'exprimer l'inhibition de l'agent pathogène (en %), une culture d'un témoin négatif de l'agent pathogène a été effectuée dans les mêmes conditions (en absence de l'actinomycète).

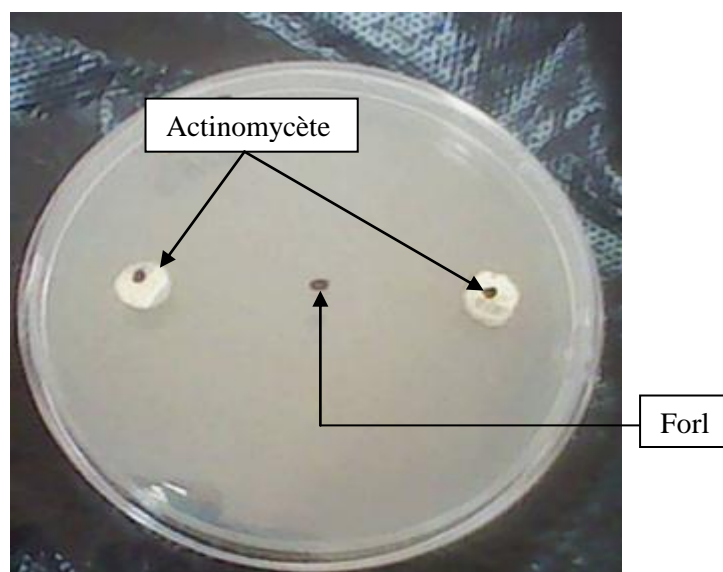
Le taux d'inhibition a été calculé selon la formule utilisée par Hibar *et al.*, (2005) :

$$I (\%) = \frac{(1 - C_n)}{C_o} \times 100$$

C_n : Diamètre moyen de la croissance du pathogène en présence de l'antagoniste.

C_o : Diamètre moyen de la croissance du pathogène en absence de l'antagoniste.

$I(\%)$: Taux d'inhibition.



(Originale, 2014)

Figure 6. La méthode des disques.

II.2.4. Contrôle biologique *in vitro*

Afin de déterminer l'effet des actinomycètes endophytes sur l'activité du *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (*Forl*), des essais de contrôle biologique *in vitro* ont été effectués. Dans ce test, nous avons réalisées quatre traitements :

- Témoin négatif : semences désinfectées
- Témoin positif : semences infectées par le *Forl*
- Traitement 1 : semence infecté par *Forl* et traitée par le sérénade
- Traitement 2 : semence infecté par *Forl* et traitée par les actinomycètes.

Pour cela, le protocole de la préparation des suspensions des spores et de la désinfection et traitement des semences est le suivant :

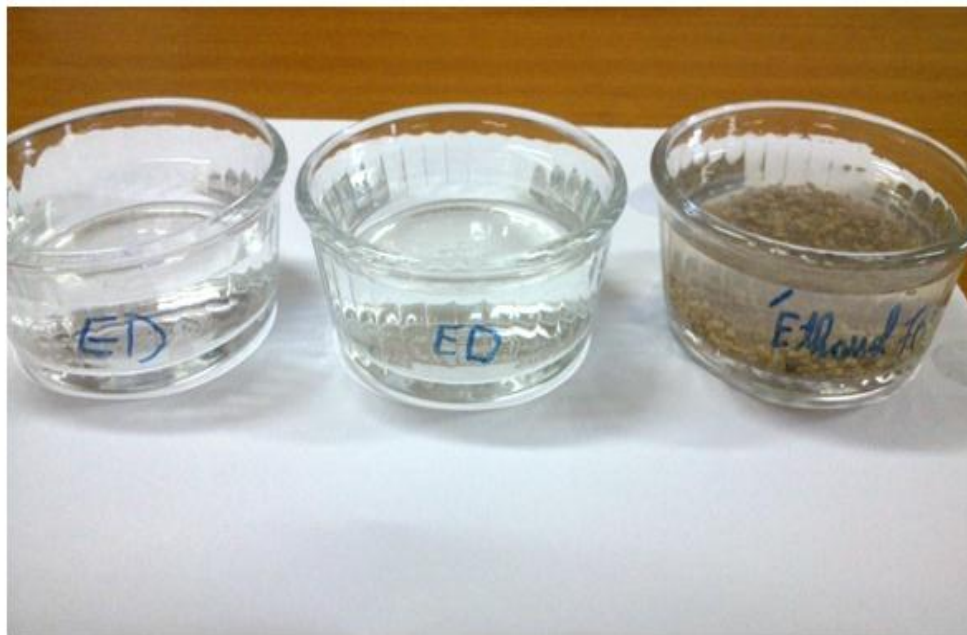
a. Suspensions de spores

Les suspensions de spores ont été préparées par un raclage de la surface de la culture des actinomycètes, et celle de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*.

Une solution de récupération (tween 80 à 0,005%) à été ajoutée à la surface des cultures en boîte de Pétri. Les suspensions de spores étaient ensuite ajustées à 10^6 ufc/ml pour les agents de lutte, et à 10^5 ufc/ml pour les agents pathogènes et cela à l'aide d'une cellule de Thoma (voir Figure 8).

b. Désinfection et traitement des semences

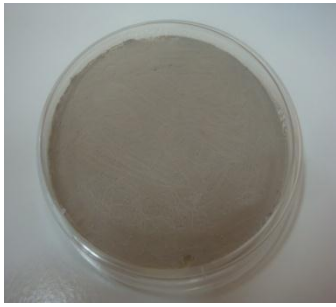
Une désinfection des semences de la variété Marmande était effectuée par trempage dans l'éthanol à 70% pendant 5 min, suivie de deux rinçages successifs à l'eau distillée stérile pour éliminer le reste de l'agent désinfectant (voir Figure 7).



(Originale, 2014)

Figure 7. Schéma du protocole de désinfection des semences

Les traitements des semences est réalisé par un trempage des semences dans les eppendorphes contenant la suspension de spores pendant 30 min suivi d'un séchage sous hotte à température ambiante.



Culture de tapis

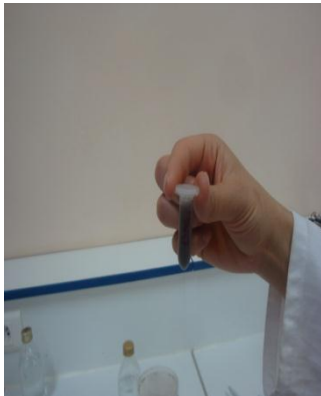
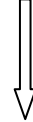


ajoute d'une solution de récupération
à la surface des culture.



raclage de la surface de la

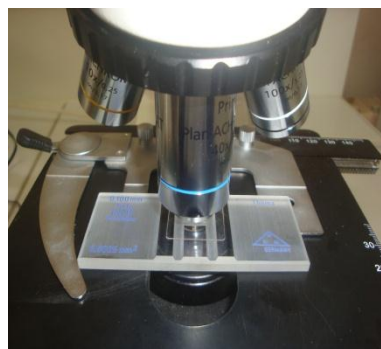
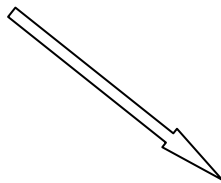
Culture



Suspension de spores



récupération de la solution



Cellule de Thoma

(Ajustement des concentrations des suspensions)

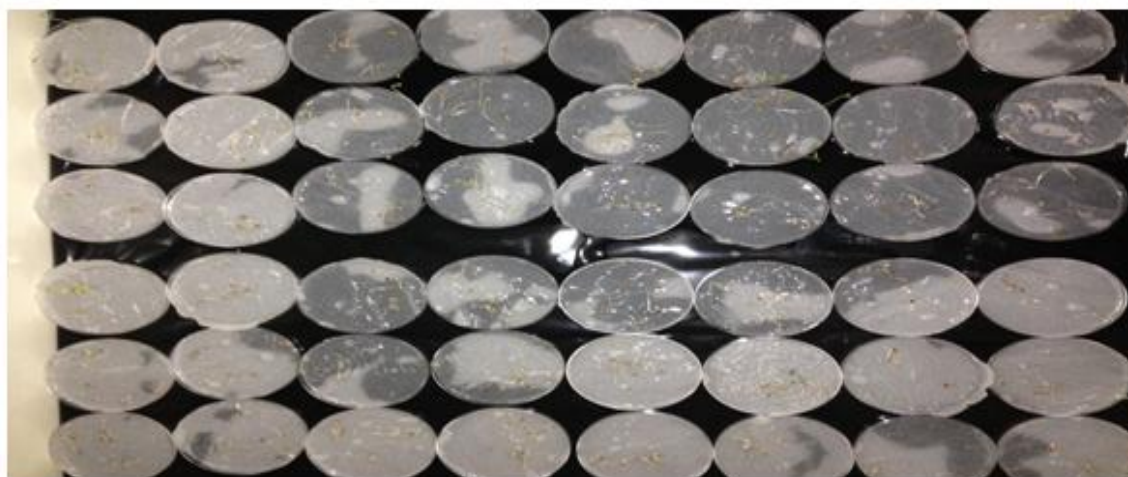
(Originale, 2014)

Figure 8. Schéma du protocole de la préparation des suspensions des spores

c. Dispositif expérimental

La germination des graines était effectuée dans des boîtes de Pétri contenant du papier buvard imbibé d'eau distillée stérile. Dix semences traitées (par les actinomycètes, et sérénade) ont été déposées à la surface du papier buvard avec 3 répétitions. Les cultures sont ensuite contaminées par (3 ml) de la suspension de spores (10^5 ufc/ml) de l'agent pathogène (*Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*).

Les boîtes ont été maintenues humides par addition de 3 ml d'eau distillée quotidiennement, afin d'éviter le dessèchement des graines. Après 10 jours de culture, le taux de germination final était évalué et le matériel végétal était récupéré dans le but de déterminer le taux des plantules infectées (incidence de la maladie) (voir Figure 9).



(Originale, 2014)

Figure 9. Schéma du dispositif expérimental d'essai *in vitro*.

II.3.5. Contrôle biologique *in vivo*

Dans le but de confirmer le pouvoir antagoniste des agents de lutte : Six isolats d'actinomycètes endophytes et Sérénade[®], sur l'activité du *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*, les essais de lutte *in vivo* sont mis en place.

Le protocole de la désinfection et de la préparation des suspensions des spores sont similaires à ceux réalisés pour le contrôle biologique *in vitro* (II.2.4).

Le dispositif expérimental utilisé pour cet essai est un dispositif en randomisation totale à un facteur : le facteur correspond les différents traitements (Figure 9).

Le semis a été effectué en sol sableux prélevé de la région d'El-Khneg à Laghouat. Le sol utilisé a subi une stérilisation par l'autoclavage à 120°C pendant 20 mn afin d'éliminer toute forme de vie pouvant affecter la germination et la croissance des plantules.

Des pots en polyéthylène ont été conditionnés par le sol stérile pour être semés ensuite à raison de six graines par pots avec cinq répétitions par traitement. Les pots sont ensuite déposés selon un dispositif en randomisation totale dans une chambre de culture à température ambiante (environ 25°C) et sous un éclairage naturel (environ 14h de lumière par jour). L'irrigation des cultures est effectuée régulièrement dans le but de maintenir une certaine humidité du sol. Après 4 semaines de culture, le taux de plantules infectées (l'incidence), la longueur des racines et des tiges, le poids frais et le poids sec des plantules sont évalués.



(Originale, 2014)

Figure 9. Schéma de dispositif expérimental d'essai *in vivo*.

II.3. Analyses statistiques

Les résultats obtenus de biocontrôle *in vitro* et *in vivo* ont fait l'objet d'une analyse de la variance (*ANOVA analysis*) en utilisant le logiciel *Statbox* pour *Windows*. Les différences ont été comparées en utilisant le test PPDS (*Fischer's protected LSD test at P = 0.05*).

RESULTATS ET DISCUSSION**I. 1. Identification préliminaire de l'agent phytopathogène****I.1.1. L'observation macroscopique :**

L'aspect macroscopique de l'isolat purifié a permis de distinguer un seul morphotype à savoir le morphotype cotonneux avec une variabilité de la couleur du mycélium. Elle varie entre le blanc et le violet (voir Figure 11).



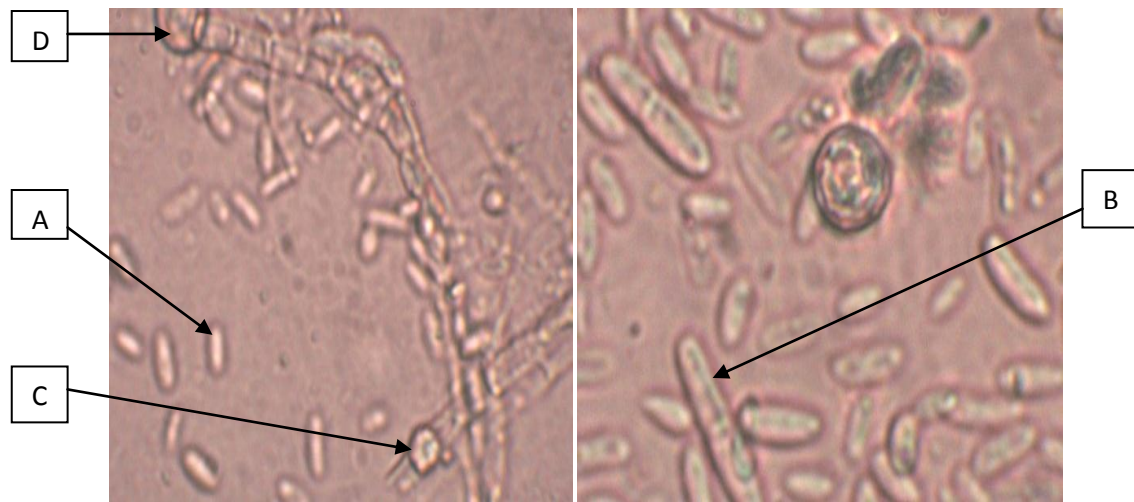
(Originale, 2014)

Figure 11. Aspect macroscopique du *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* cultivé sur milieu PDA.

I.1.2. L'observation microscopique :

L'observation microscopique de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (Forl) a montré la présence d'un mycélium septé, de microconidies isolées ou agglomérées en fausses têtes (voir figure 12A), des macroconidies de taille variable avec 3 à 4 cloisons (voir figure 12B), des chlamydozoospores intercalaires (voir figure 12C) ou terminales, (voir figure 12D) et des monophialides courts perpendiculaires aux filaments mycéliens.

Les microconidies et les macroconidies, issues de la multiplication végétative, sont insérées sur des conidiophores et sont utiles à la dissémination du champignon (Nelson *et al.*, 1983).



(Originale, 2014) (Gr : 10x3.2)

Figure 12. Observation microscopique du *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*

- (A) microconidie,
- (B) macroconidie,
- (C) chlamydospore intercalaire,
- (D) Chlamydospore terminale

Ces critères macroscopiques et microscopiques sont confirmés avec la description donnée par (Nelson, 1983 et Champignon, 1997)

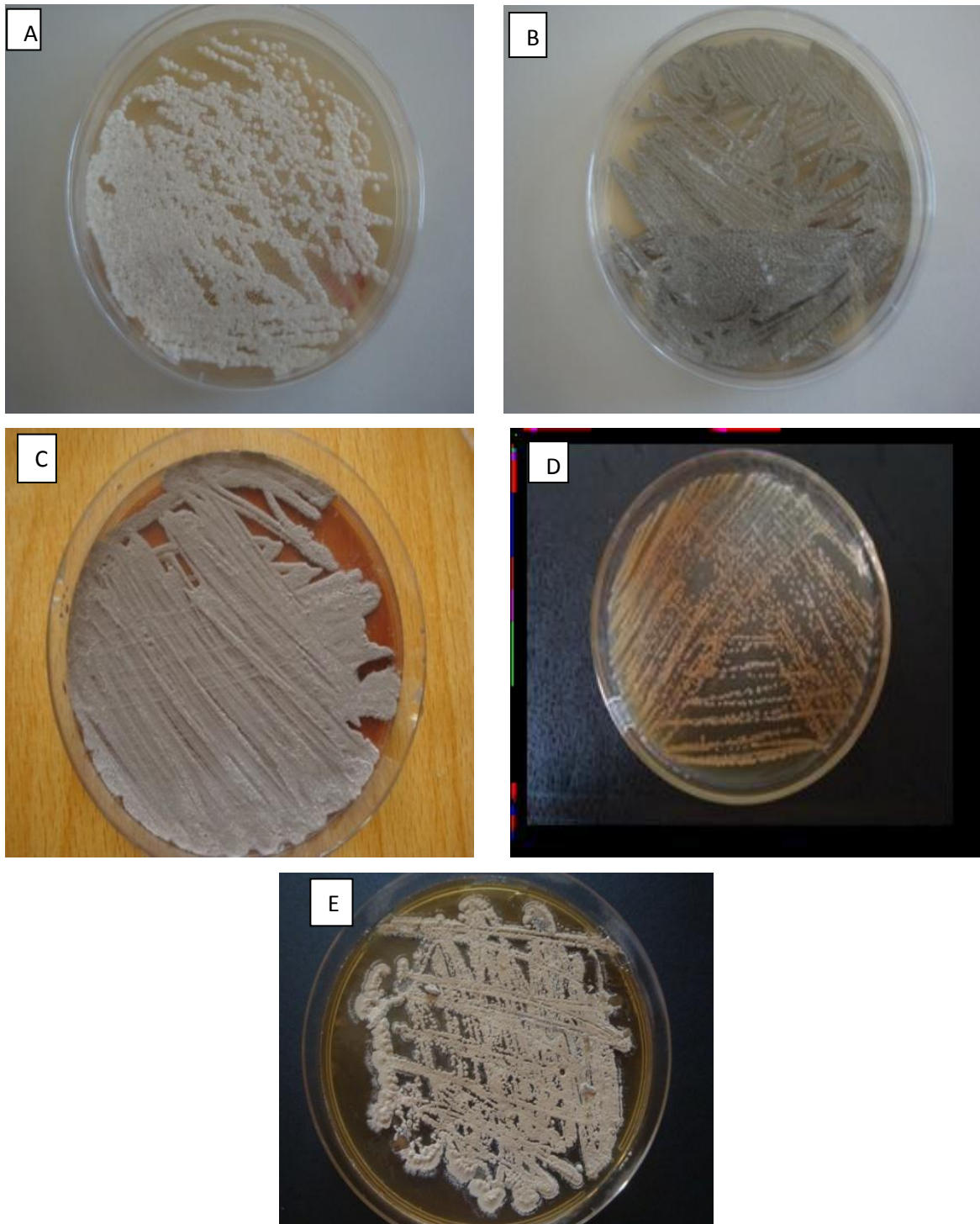
I.2. Identification préliminaire des actinomycètes endophytes

Un nombre de 6 souches d'actinomycètes ont été isolés à partir de trois plantes (*Phoenix dactylifera* « Deglet Nour », *Medicago laciniata*, *Terfezia leonis*). L'identification des isolats d'actinomycètes appartenant au genre *Streptomyces* a été effectuée selon la méthode utilisée par Sabaou *et al.* (1998). Les caractéristiques morphologiques et culturales (couleur du mycélium du substrat, mycélium aérien, pigments diffusibles, type des chaînes de spores) ont été déterminées (voir figure 13). Les résultats d'identification préliminaires sont donnés par le tableau 3 (voir tableau 3).

Tableau 3. Identification préliminaire des actinomycètes endophytes

isolats	Couleur du			Type de chaîne de spores	Genre
	Mycélium de substrat	Mycélium aérien	Pigment diffusible		
DN4	Gris	Gris	Absent	S	<i>Streptomyces</i>
DN19	Gris	Gris	Absent	S	<i>Streptomyces</i>
ML4	Jaunâtre	Marron clair	Jaune	S	<i>Streptomyces</i>
TL2	Marron foncé	Gris	Marron	S	<i>Streptomyces</i>
TL3	Marron foncé	Gris clair	Jaune	S	<i>Streptomyces</i>
TL8	Marron foncé	Gris	Marron	S	<i>Streptomyces</i>

S : Spiral (chaînes spirales)



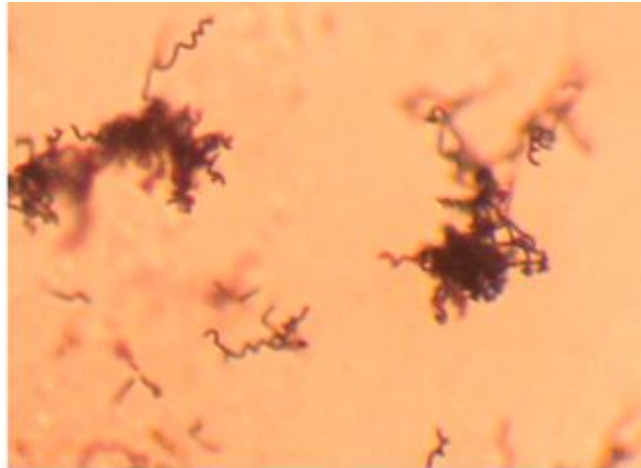
(Originale, 2014)

Figure 13. Quelques aspects macroscopiques des actinomycètes isolés à partir des plantes

- A : mycélium aérien blanc et pigment diffusible Jaune
- B : mycélium aérien gris et absence du pigment
- C : mycélium aérien gris et pigment marron foncé
- D : mycélium aérien marron clair et absence du pigment
- E : mycélium aérien gris clair et pigment jaune

Les caractéristiques morphologiques de la couleur du mycélium du substrat, mycélium aérien et pigments diffusibles et du type de chaînes de spores ; ont permis de classer tous les actinomycètes endophytes parmi le genre *Streptomyces*.

Ainsi qu'il y a une variable de couleur du mycélium de substrat et mycélium aérien et la couleur du pigment diffusible, tous les *Streptomyces* isolés ont une chaîne de spores de type S (figure 14).



(Originale, 2014) (Gr : 10 X 3.2)

Figure 14. Observation microscopique du type chaîne de spore (type spirale).

Il est à noter que plusieurs études rapportent la dominance du genre *Streptomyces* dans la rhizosphère et même à l'intérieur des tissus racinaires (Suzuki *et al.*, 2000).

Ces résultats sont en accord avec Goodfellow et Simpson, (1987) confirmant que la majorité des actinomycètes endophytes appartiennent au genre *Streptomyces*. En outre, El-Tarabily *et al.*, (2009) qui confirment la dominance de *Streptomyces* de type S chez les actinomycètes endophytes.

II. Tests d'antibiose:

II.1. Test des stries croisées

Le screening des activités antifongiques des isolats d'actinomycètes endophytes vis-à-vis de : *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium gramineum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* a été effectué (voir figure 15) et les résultats obtenus sont représentés par le tableau 4.

Tableau 4. Activités d'antibiose des actinomycètes endophytes contre quelques champignons phytopathogènes selon de la méthode des stries croisées

agent pathogène agent de lutte	Taux d'inhibition (%)							
	<i>Fc</i>	<i>Fg</i>	<i>Forl</i>	<i>Fm</i>	<i>Fol</i>	<i>Foa</i>	<i>Rs</i>	<i>Fs</i>
DN19	4.11	2.74	2.74	2.74	2.74	1.37	8.22	2.74
DN4	15.07	12.33	4.11	1.37	1.37	2.74	49.31	1.37
ML4	4.11	2.74	1.37	1.37	2.74	1.37	2.74	1.37
TL2	1.37	0	2.74	0	2.74	1.37	2.74	0
TL3	1.37	0	0	0	1.37	1.37	4.11	0
TL8	8.22	2.74	2.74	1.37	2.74	2.74	1.37	4.11

Les résultats du taux d'inhibition sont représentés graphiquement par les histogrammes de la figure 15.

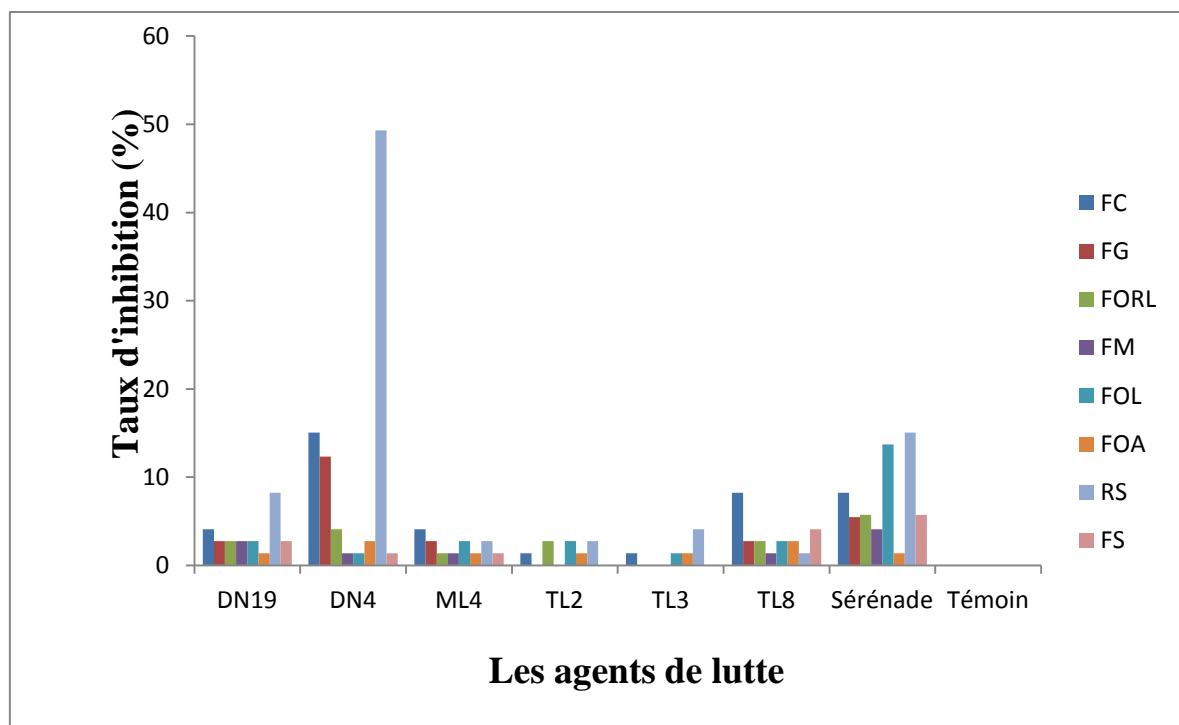
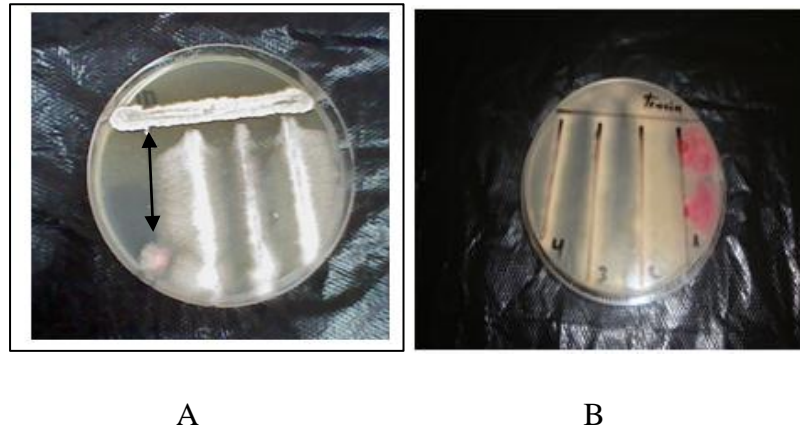


Figure 15. Résultats de l'activité antifongique des actinomycètes sur la croissance mycélienne des champignons phytopathogènes selon la méthode des stries croisées



(Originale, 2014)
Figure 16. Résultats de la méthode des stries croisées

A : zone d'inhibition

B : témoin (sans actinomycète)

Les histogrammes de la figure 15 montrent clairement que les différentes souches ont une activité variable selon la souche teste. A l'exception des isolats TL3 et TL2, où le taux d'inhibition est très faible, tous les autres isolats ont présenté, une activité antifongique contre l'un des champignons testés. Généralement, le maximum d'activité d'antibiose contre les huit champignons phytopathogènes testés été atteint par la souche DN4 où le taux d'inhibition est le plus élevé contre le *Rs* (49.31%)

Les résultats des activités antifongiques sont confirmés par plusieurs travaux où ils ont constaté un effet inhibiteur de certaines espèces du genre *Streptomyces* contre plusieurs champignons phytopathogènes.

Cette activité antifongique de actinomycètes endophytes semble être du à la production des substances antifongiques qui agissent spécifiquement sur certains constituants des parois des champignons, comme les chitinases et les glucanases (Schottel et *al.*, 2001; Kunoh, 2002; El-Tarabily, 2003; Boudjella et *al.*, 2006; Singh et Chhatpar, 2010, et Yekkour et *al.*, 2012). En outre, Les *Streptomyces* à eux seuls sont à l'origine de plus de 80% des antibiotiques secrétés par les actinomycètes (Breton et *al.*, 1989).

II.2. Méthode des disques

Les six isolats d'actinomycètes endophytes ont été étudiés pour leur activité d'antibiose vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. Les résultats de la méthode des disques utilisés contre le FORL sont donnés par le tableau 5 et la figure 18.

Tableau 5. Le taux d'inhibition exercé par les actinomycètes endophytes contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* selon la méthode des disques

Les souches	DN19	DN4	ML4	TL2	TL3	TL8	Sérénade	témoin
Taux d'inhibition(%)	65	67.29	43.75	69.2	43.75	50	67.25	0

Les résultats des activités d'antibiose des actinomycètes endophytes contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* sont représentés graphiquement par l'histogramme de la figure 17.

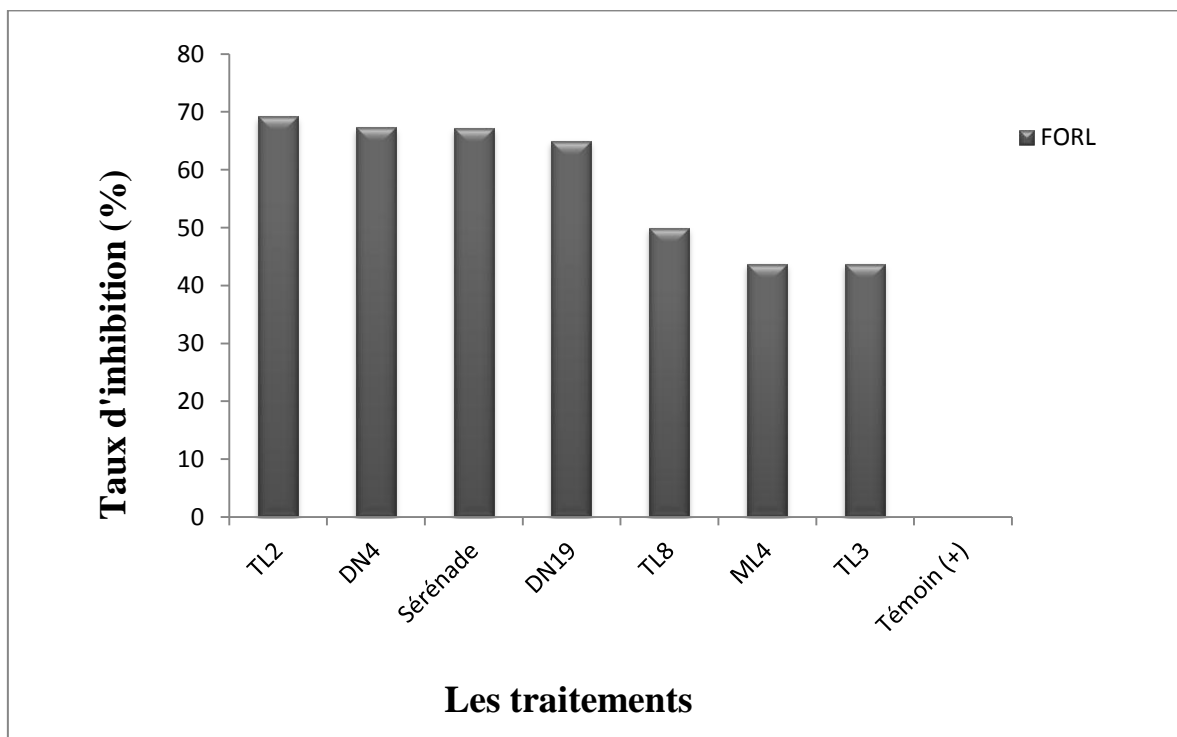
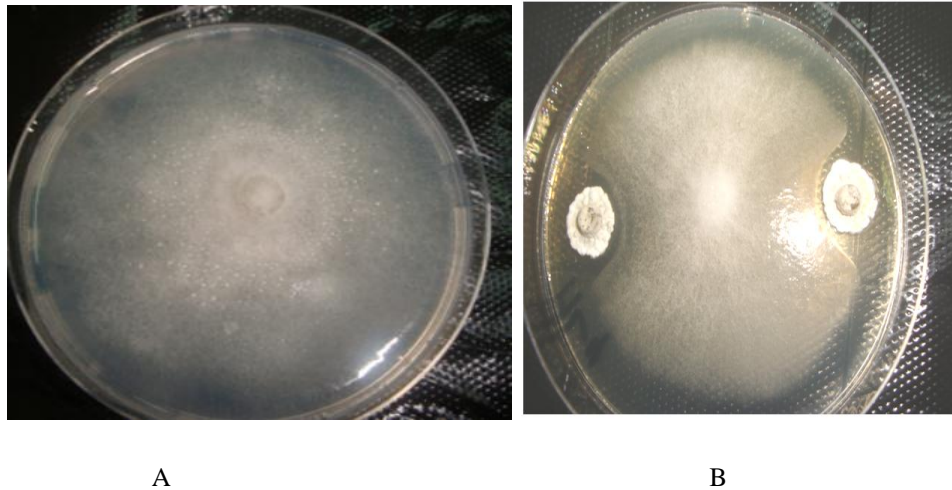


Figure 17. Résultats de l'activité d'antibiose de la méthode de disque



(Originale, 2014)

Figure 18. Résultats de la méthode des disques (A) : Témoin, (B) : Inhibition de *Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici* par l'actinomycète

Les analyses des résultats de la méthode des disques montrent clairement que les différentes souches ont une activité variable vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici*. Tous les isolats ont présenté une activité antifongique contre le champignon testé. Le maximum d'activité antifongique été atteint par les souches *Streptomyces* spp. TL2 et DN4 où les taux d'inhibition sont les plus élevés (69.2% et 67.29%).

L'activité antifongique des actinomycètes a été également constatée par plusieurs chercheurs en utilisant la méthode des disques (Hibar et *al.*, 2007b ; Toumatia, 2010 et Yekkour, 2012) où ils ont confirmé la production des antibiotiques par purification en utilisant l'HPLC.

III. Le Biocontrôle *In vitro*

Les résultats du contrôle biologique *in vitro* de la pourriture racinaire de la tomate causée par *Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici* sont représentés par le tableau 6 et les histogrammes de la figure 19.

Tableau 6. Résultats de biocontrôle *in vitro* contre le *Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici*.

Souches	DN19	DN4	ML4	TL2	TL3	TL8	sérénade	Témoin(+)
Incidence (%)	76.74	93.25	74.19	63.49	67.08	30	69.69	95.45

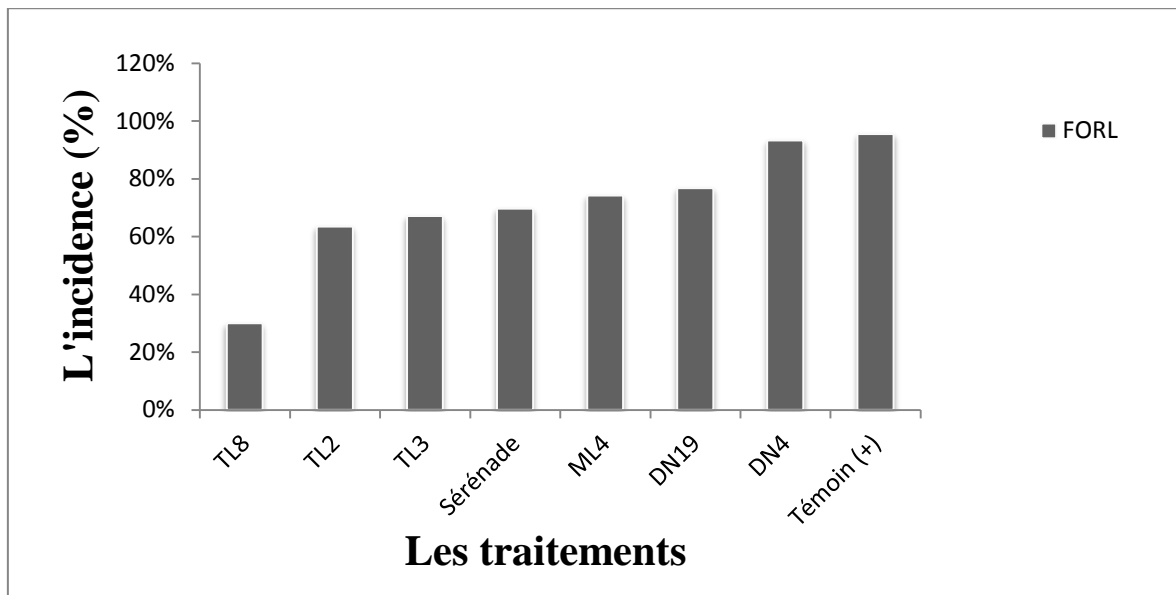
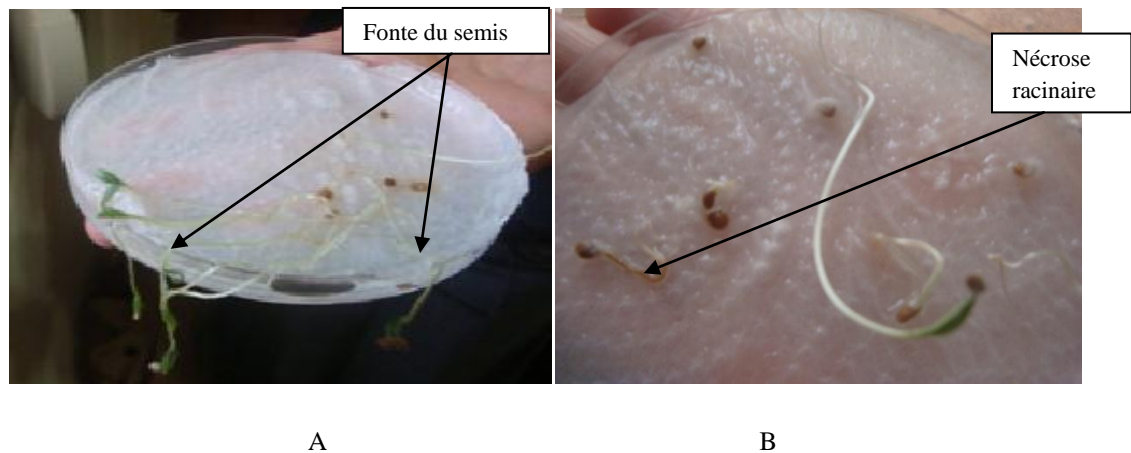


Figure 19. L'incidence de la maladie causée par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* dans le biocontrol *in vitro*

Les résultats de l'histogramme de la figure 19 montrent clairement que les différentes souches ont une activité variable sur le *Forl*. Les isolats TL8, TL2, TL3 donne une incidence faible (TL8 = 30%). Ces trois souches montrent une incidence plus faible que le sérénade qui est un biopesticide utilisé spécifiquement contre les maladies causées par le genre *Fusarium*. De ce fait, ces souches donnent une meilleure protection de la plante contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. Cependant, les isolats ML4, DN19 et DN4 donnent un taux des plantes infectées plus élevés comparativement avec le Sérénade.

D'après ces résultats nous constatons la sensibilité de la variété Marmande à la fonte du semis causée par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (Figure 18) où le taux de plantules infectées est de 95.45% obtenues dans le cas du témoin positif. L'enrobage des semences par les spores de la souche TL8 a permit d'atteindre le meilleur taux de protection (70%).



(Originale, 2014)

Figure 20. (A) Symptôme de fonte du semis *in vitro*, (B) Symptôme de nécrose racinaire.

Le traitement statistique de ces résultats montrent une différence très hautement significative (Tableau 7) et cela indique qu'il ya une variabilité du comportement de nos souches vis-à-vis de *Forl*. Le test *LSD* à 5%, classe nos souches en 5 groupes homogènes. Le groupe A est représenté par la souche TL8 où l'incidence est la plus faible, le groupe B est représenté par les souches TL2, TL3 où l'incidence est relativement faible, le groupe C est représenté par le sérénade, le groupe D est représenté par les souches ML4 et DN19, et en dernier le groupe E c'est le témoin où l'incidence est la plus élevé (voir tableau 8)

Tableau 7. Résultats de l'analyse de variance d'essai *in vitro*

Source de variabilité	ddl	SCE	CM	F _{obs}	F _{théo}	P
traitements	7	8676,274	1239,468	175,061	2,74	0,05
Variabilité résiduelles	16	113,283	7,080			
Variabilité totale	23	8789,557	382,155			
				CV= 3,733		

Tableau 8. Comparaison multiple des moyennes de test *in vitro*

traitements	Modalité	Moyenne	Groupes homogènes
TL8	F1n6	30.000	A
TL2	F1n4	63.490	B
TL3	F1n5	67.080	B, C
Sérénade	F1n7	69.690	C
ML4	F1n3	74.523	D
DN19	F1n1	76.740	D
DN4	F1n2	93.250	E
Témoin (+)	F1n8	95.450	E

D'après les résultats obtenus de comparaison multiple des moyennes, le traitement TL8 se présente donc comme étant le meilleur, du fait qu'elle assure la meilleure protection contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*.

Il est à noter que certaines souches, permettant un seuil de protection élevé *in vitro*, se dotaient d'une faible activité d'antibiose sur milieu ISP2. A titre d'exemple nous citons le cas de la souche TL8 dont le potentiel d'antibiose sur milieu ISP2 n'était que de 50% alors que son effet contre la pourriture des racines *in vitro* était de 70%. Ce taux d'inhibition *in vitro* peut être expliqué par le fait que l'interaction (actinomycètes, *Forl* et plante) donne des résultats plus intéressants et cela peut être dû à différents mécanismes d'action tel que les effets PGPR (promotion de la croissance des plantes, longueur des tiges et racines, le poids frais et poids sec) et l'induction de la résistance chez la plante. Ces résultats sont confirmés par Baniyadi *et al.*, (2009). Rapportant que le potentiel du contrôle biologique *in vitro* n'est pas proportionnel aux résultats des activités d'antibiose sur milieu de culture (ISP2). La souche *Streptomyces* sp. DN4 avait la meilleure activité d'antibiose sur milieu ISP2. Le taux de protection atteint dans les essais de contrôle biologique *in vitro* n'était que d'incidence plus de 93%.

IV. Le biocontrôle *in vivo*

Les résultats de l'activité de biocontrôle *in vivo* de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (*Forl*) obtenus par traitement des semences de tomate avec les spores des différents isolats d'actinomycètes endophytes sont donnés par les histogrammes de la figure 21 et par le tableau 9.

Tableau 9. Résultats de biocontrôle *in vivo* contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*.

Souches	DN19	DN4	ML4	TL2	TL3	TL8	sérénade	Témoin(+)
Incidence (%)	18.18	0	8.33	5.55	0	23.08	15.38	27.77

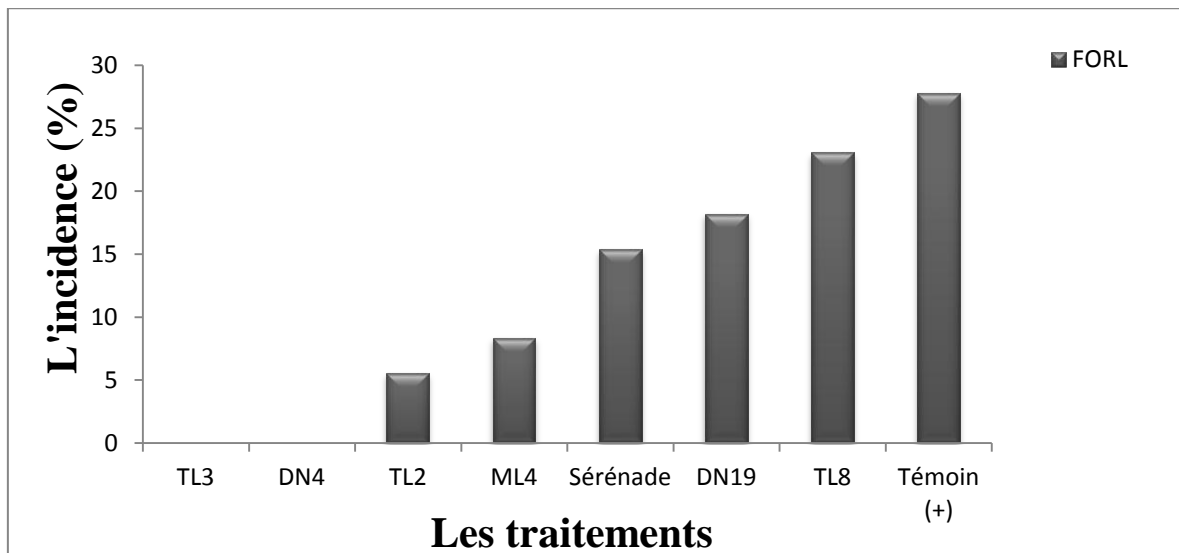
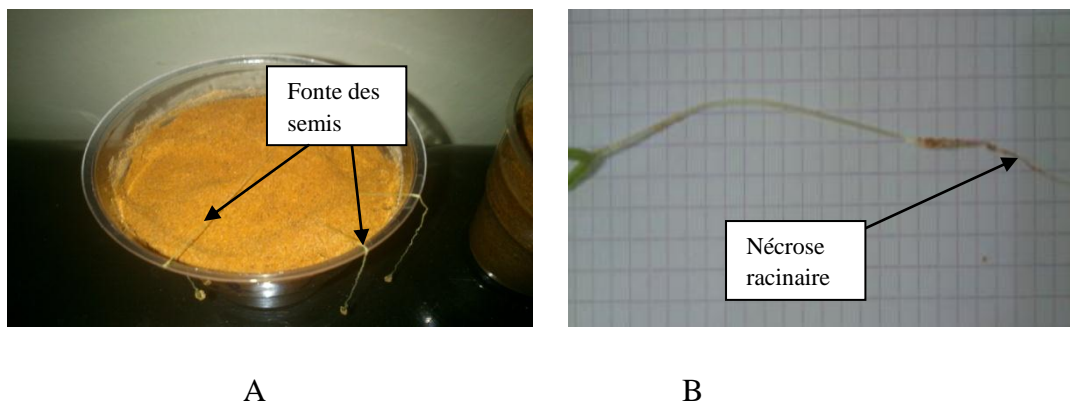


Figure 21. Résultats de l'activité de biocontrôle *in vivo* de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicans lycopersici*

L'analyse de ces résultats montre que les souches TL3, DN4, TL2 et ML4 a permis d'atteindre faibles incidences et par voie de conséquence, une meilleure protection des radicelles et racines des plantules de tomate contre la pourriture racinaire provoquée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicans lycopersici* (Forl).



A

B

(Originale, 2014)

Figure 22. (A) Symptôme de fonte du semis *in vivo*, (B) Symptôme de nécrose racinaire.

Le traitement statistique de ces résultats montrent une différence très hautement significative (Tableau 10) et cela indique qu'il y a une variabilité du comportement de nos souches vis-à-vis de FORL. Le test *LSD* à 5%, classe nos souches en 7 groupes homogènes. Le groupe A est représenté par les souches DN4, TL3 où l'incidence est la plus faible (0%), le groupe B est représenté par la souche TL2 où l'incidence est relativement faible, le groupe C est représenté par la souche ML4 où l'incidence est moyenne, le groupe D c'est le sérénade, le groupe E est représenté par la souche DN19, puis

le groupe F (TL8), et en fin le groupe G est représenté par le témoin où l'incidence est la plus élevée (voir tableau 11).

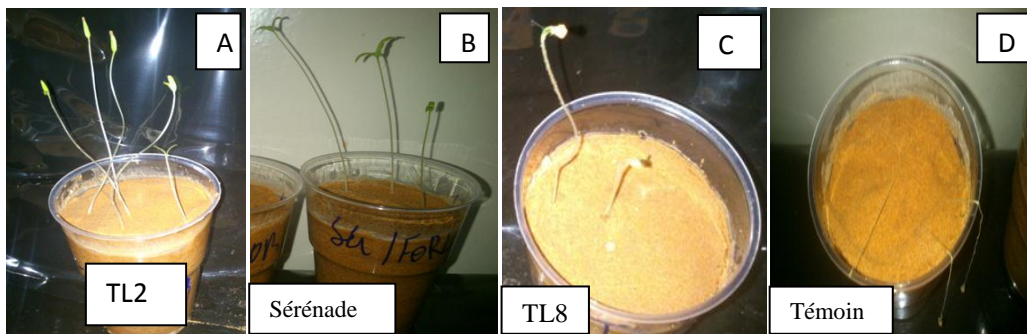
Tableau 10. Résultats de l'analyse de variance de biocontrôle *in vivo*

Source de variabilité	ddl	SCE	CM	F _{obs}	F _{théo}	P
traitements	7	2290,476	327,211	282,361	2,74	0,05
Variabilité résiduelles	16	18,541	1,159			
Variabilité totale	23	2309,017	100,392			
				CV= 8,762		

Tableau 11. Comparaison multiple des moyennes de biocontrôle *in vivo*.

traitements	Modalité	Moyenne	Groupes homogènes
DN4	F1n2	0.000	A
TL3	F1n5	0.000	A
TL2	F1n4	5.550	B
ML4	F1n3	8.330	C
Sérénade	F1n7	15.380	D
DN19	F1n1	18.180	E
TL8	F1n6	23.080	F
Témoin (+)	F1n8	27.770	G

Les résultats du biocontrol *in vivo* à confirmer la sensibilité de la variété Marmande. Ceci se voit clairement par le taux élevé des plantules infectés obtenue dans le cas du témoin (+) où les graines sont cultivés dans un sol contaminé par le pathogène et n'ont subit aucun traitement.



(Originale, 2014)

Figure 23. Résultats de biocontrôle *in vivo* représentés les différents traitements

A : Semences traité par la souche TL2.

B : Semences traité par le Sérénade.

C : Semences traité par la souche TL2.

D : Semences infecté par le *Forl* (Témoin +).

Plusieurs travaux ont rapportés que des tests de biocontrol *in vivo* ont donné des résultats satisfaisants en utilisant des *Streptomyces* contre quelques pathogènes d'origine tellurique tel que *Alternaria brassicola*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium debaryanum*, *Phomopsis sclerotoides*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, (Tahvonen et Avikainen, 1987 et Mohammadi et Lahdenpera, 1992 et Hibar et *al.*, 2007).

IV.1. Effet des actinomycètes sur la promotion de la croissance des plantules de la tomate (PGPR)

Les différents traitements des semences par les effets des actinomycètes endophytes ont été également menés pour étudier l'effet PGPR.

IV.1.1. Effet des actinomycètes sur le poids frais et poids sec des plantules de tomate

Les résultats des effets d'actinomycètes sur les poids frais et sec des plantules de tomate sont représentés par le tableau 12, et représentés graphiquement par la figure 24.

Tableau 12. Résultats des poids frais et poids sec des plantules de tomate

traitements	<i>DN19</i>	<i>DN4</i>	<i>ML4</i>	<i>TL2</i>	<i>TL3</i>	<i>TL8</i>	<i>sérénade</i>	<i>témoin</i>
Poids frais (g)	0.042	0.031	0.043	0.059	0.032	0.034	0.12	0.064
Poids sec (g)	0.011	0.007	0.083	0.010	0.011	0.0065	0.028	0.015

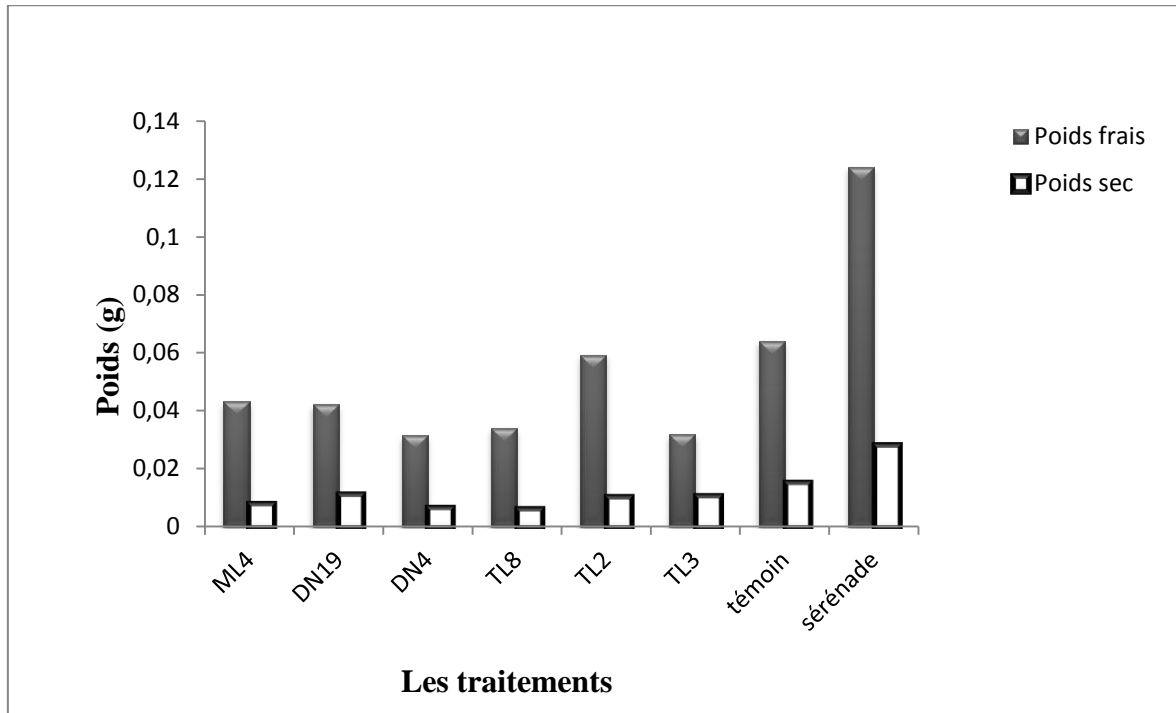


Figure 24. Résultats du poids frais et poids sec des plantules de tomate

L'analyse de ces résultats montre que le sérénade donne un meilleur résultats sur le poids frais et poids sec des plantules de tomate (0.12 g pour le poids frais et 0.028 g pour le poids sec), par contre, la souche DN4 qui donne le poids la plus faible (0.031 g pour le poids frais et 0.007 g pour le poids sec).

Le traitement statistique de ces résultats montrent une différence significatif (Tableau 13) et cela indique qu'il ya une variabilité du comportement de nos souches vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. Le test *LSD* à 5%, classe nos souches en 2 groupes homogènes. Le groupe A est représenté par le sérénade qui donne un meilleur résultat pour le poids frais et groupe B est représenté par les autres traitements (voir tableau 14).

Tableau 13. Résultats de l'analyse de variance de poids frais

Source de variabilité	ddl	SCE	CM	F _{obs}	F _{théo}	P
traitements	7	0,037	0,005	3,020	2.51	0.05
Variabilité résiduelles	24	0,043	0,002			
Variabilité totale	31	0,080	0,003			
				CV= 75.192		

Tableau 14. Comparaison multiple des moyennes des poids frais.

traitements	Modalité	Moyenne	Groupes homogènes
Sérénade	F1n7	0.142	A
Témoin (+)	F1n8	0.064	B
TL2	F1n4	0.059	B
ML4	F1n3	0.043	B
DN19	F1n1	0.042	B
TL8	F1n6	0.034	B
DN4	F1n2	0.033	B
TL3	F1n5	0.032	B

Tableau 15. Résultats de l'analyse de variance de poids sec.

Source de variabilité	ddl	SCE	CM	F _{obs}	F _{théo}	P
traitements	7	0,002	0,000	2,172	2.51	0.05
résiduelles	24	0,004	0,000			
totale	31	0,006	0,000			
				CV= 94,502		

Le traitement statistique des résultats des poids sec montrent une différence non significative (Tableau 15), donc les huit traitements qu'exerce le même effet sur le poids sec des plantules de tomate.

IV.1.2. effet des actinomycètes sur la longueur des racines et des tiges des plantules de tomate

Les résultats des effets d'actinomycètes sur la longueur des racines et des tiges des plantules de tomate sont représentés par les tableaux (16, 17), et représentés graphiquement par le figure 25.

Tableau 16. Résultats des longueurs des racines et des tiges des plantules de tomate

Souches	<i>DN19</i>	<i>DN4</i>	<i>ML4</i>	<i>TL2</i>	<i>TL3</i>	<i>TL8</i>	<i>sérénade</i>	<i>témoin</i>
Longueur des racines (mm)	45.75	40.9	38.86	48.15	39.88	39.63	46.4	47.75
Longueur des tiges (mm)	56.98	25.1	44.88	45.88	61.12	43.45	40.83	41.12

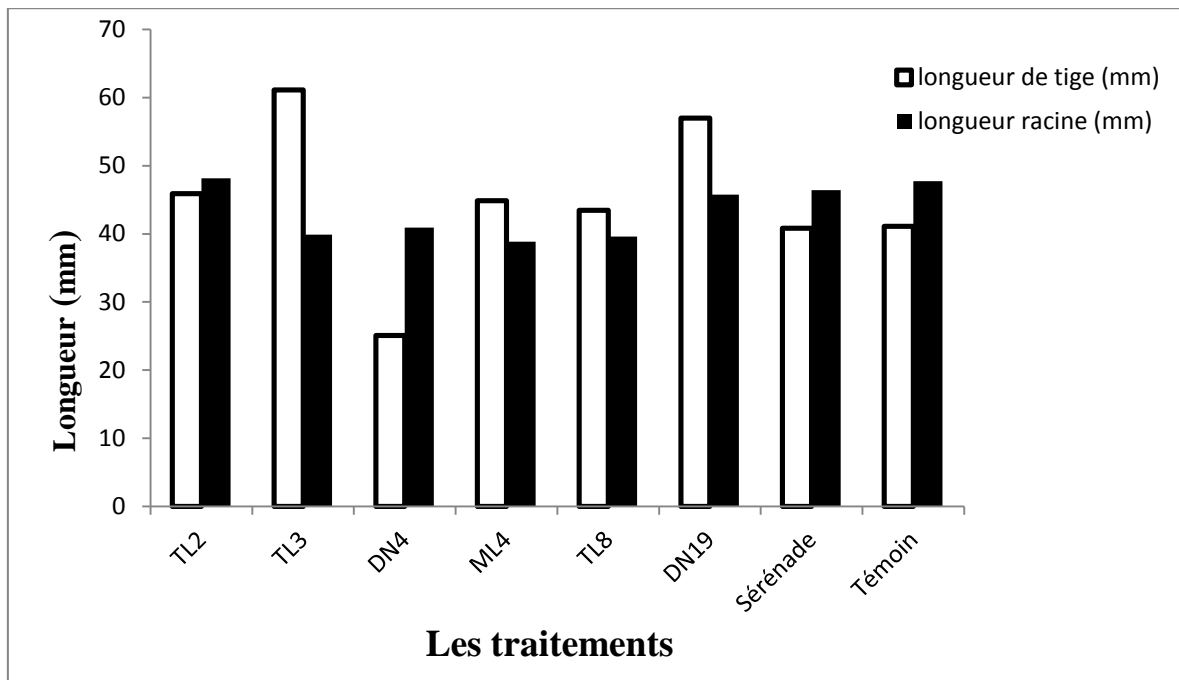


Figure 25. Résultats des longueurs des racines et des tiges des plantules des tomates

Les résultats obtenus montrent que la souche TL3 est donne un meilleur effet sus la promotion de longueur des tiges (61.12mm), par contre la meilleur souche qui donne un effet sur la promotion de longueur des racines c'est la souche TL2 (48.15mm).

Le traitement statistique de ces résultats montrent une différence non significative pour l'effet des souches sur la longueur des racines (voir tableau 18) et une différence très hautement significative sur la longueur des tiges (Tableau 19) et cela indique qu'il ya une variabilité du comportement de nos souches vis-à-vis de *Forl*. Le test *LSD* à 5%, classe nos souches en 7 groupes homogènes. Le groupe A est représenté par la souche TL3 où la longueur de tige est la plus élevé (61.12 mm), le groupe B est représenté par la souche DN19 où la longueur de tige est relativement élevé, le groupe C est représenté par la souche TL2 où longueur de tige est moyen, le groupe D est représenté par la souche ML4. Le groupe E est représenté par la souche TL8, puis le groupe F qui regroupe par le sérénade et le témoin, et en fin le groupe G qui représenté par la souche DN4 où la longueur des tiges est la plus faible (voir tableau 19).

Tableau 17. Résultats de l'analyse de variance de la longueur des racines

Source de variabilité	ddl	SCE	CM	F _{obs}	F _{théo}	P
traitements	7	4285091,784	612155,969	0,994	2.74	0.05
résiduelles	16	9848921,367	615557,585			
totale	23	14134013,151	614522,311			
				CV= 385,212		

Tableau 18. Résultats de l'analyse de variance de la longueur des tiges.

Source de variabilité	ddl	SCE	CM	F _{obs}	F _{théo}	P
traitements	7	2506,127	109,090	1950,610	2.74	0.05
résiduelles	16	2,937	358,018			
totale	23	2509,064	0,184			
				CV= 0,954		

Tableau 19. Comparaison multiple des moyennes des longueurs des tiges

traitements	Modalité	Moyenne	Groupes homogènes
TL3	F1n5	61.120	A
DN19	F1n1	56.980	B
TL2	F1n4	45.880	C
ML4	F1n3	44.880	D
TL8	F1n6	43.317	E
Témoin (+)	F1n8	41.120	F
Sérénade	F1n7	40.830	F
DN4	F1n2	25.100	G

Pour la promotion de la croissance des plantules exprimées en poids frais de plantule de tomate, nous constatons que le meilleur traitement pour la variété Marmande était observé par les souches. TL2, ML4, DN19 (voir Figure 21).

Globalement, les souches DN19, TL3, TL2 ont permis une augmentation maximale de la longueur des racines et des tiges (cv. Marmande).

Une hétérogénéité est observée pour les résultats de la longueur racinaire obtenue par les différents traitements effectués (voir Figure 22). Nous constatons que la souche TL2 permet une croissance maximale des racines des plantules de tomate de la variété Marmande. Par contre, la longueur maximale de la tige des plantules de la tomate a été observée par le traitement des semences avec les spores de la souche TL3.

A l'issus de ces résultats, nous pouvons dire que certains isolats d'actinomycètes endophytes étudiés ont contribué dans la protection des plantules de tomate contre la pourriture des racines et du collet causé par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (notamment les souches DN4, TL2 et TL3) ainsi que dans la promotion de leur croissance. Une hétérogénéité des résultats était observée pour leur effet dans la promotion du poids frais, poids sec et longueur des tiges.

Des traitements des semences par des combinaisons de suspension de spores pourrait être plus intéressent pour maximiser l'effet PGPR sur les plantules de tomate.

Plusieurs travaux en montré le rôle d'actinomycètes dans la lutte biologique contre les microorganismes phytopathogènes notamment la pourriture racinaire et du collet de la tomate causée par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (Forl) (El-Tarabily et Sivasithamparam, 2006 et Hibar et al., 2006). D'autres travaux ont montré le rôle des actinomycètes endophytes dans la promotion de la croissance de leur plante hôte indigène et d'autres plantes cultivées (Kunoh, 2002 et Hibar et al., 2007b).

Ces propriétés ont fait que certains actinomycètes sont exploités dans le secteur agricole comme biopesticide et promoteur de la croissance des plantes. A titre d'exemple, nous citons le cas d'actinovate[®] et Mycostope[®] qui sont des fongicides biologiques à base d'un *Streptomyces*. Le Mycostope[®] est homologué comme biofongicide pour la maîtrise partielle de la fonte des semis causée par *Pythium*, de la pourriture des racines et des collets causée par *Phytophthora*, et de la flétrissure due à *Fusarium* dans les cultures.

Le Mycostope[®] joue un rôle d'un stimulateur de la croissance des plantes et induit les mécanismes de défense des plantes (la résistance induite, et l'effet PGPR sur les plantules de tomate). L'Actinovate[®] peut réduire les symptômes de pourriture des racines de la tomate. Il permet également de remédier aux maladies telles que la pourriture des racines et du collet causé par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*.

De ceci, et selon nos résultats expérimentaux, les isolats d'actinomycètes endophytes efficace contre le FORL (TL2 et TL3) peuvent être étudié et valoriser dans le sens d'une formulation des biopesticides. Pour un meilleur, effet protecteur contre la pourriture des racines et du collet et celui de la promotion de la croissance des plantules de tomate.

CONCLUSION

La pourriture des racines et du collet causée par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* (*Forl*) est une maladie très fréquente en Algérie et cause des dégâts considérables. Pour cela, nous avons testé l'effet de six souches d'actinomycètes endophytes vis-à-vis de la croissance de *Forl*.

Parmi les souches d'actinomycètes endophytes testées *in vitro*, pour l'activité d'antibiose sur milieu de culture ISP2, par la méthode des stries croisées vis-à-vis des huit champignons phytopathogènes, quatre souches ont une activité sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. Les souches DN4, DN19, TL8 avaient une activité d'antibiose élevée contre la majorité des champignons testés.

La méthode des disques réalisée pour évaluer l'effet des souches d'actinomycètes sur la croissance de *Forl* a révélé une inhibition de la croissance mycélienne du pathogène testé par les souches TL2 et DN4.

Le biocontrôle *in vitro*, nous a permis de montrer l'effet inhibiteur élevé de la souche TL8 contre le *Forl* où l'incidence de la maladie était de 30%. L'effet inhibiteur de cette souche est élevé par rapport à celui du sérénade, ce dernier qui est utilisé spécialement contre les maladies causées par le genre *Fusarium*.

Le biocontrôle *in vivo* du *Fusarium oxysporum* f. sp *radicis lycopersici* a montré que les souches TL3, DN4, TL2, ML4 et Sérénade[®] avaient une action inhibitrice sur l'agent pathogène, et cela s'exprime par le taux de plantules saines obtenues après enrobage des semences de tomate par ces derniers.

En plus de l'effet protecteur des souches TL2, TL3 contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* agent responsable de la pourriture racinaire et du collet de la tomate, elles stimulent la longueur du plant le poids frais et le poids sec des plantules de tomate.

D'après ces résultats, nous pouvons conclure que ces agents de lutte biologique (TL2 et TL3), peuvent être utilisés d'une part pour la biocontrôle de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*, agent responsable de la pourriture racinaire de la tomate, et cela comme alternative à la lutte chimique, et d'autre part comme des biofertilisants qui améliorent la croissance des plantules de tomate.

Conclusion et perspectives

En perspectives, nous projetons de continuer à étudier les souches TL2, et TL3 et confirmer l'identification des espèces par des techniques plus précises. Il serait intéressant également de tester la combinaison de ces deux souches pour évaluer leur effet sur la croissance du *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*, ainsi, il est également important d'évaluer l'aptitude des souches TL2 et TL3 à produire des composés antifongiques, tout en étudiant leurs structures chimiques, et étudier leurs effets au champ afin de les utiliser comme fongicides biologiques contre le *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* ou comme stimulateurs de la croissance des plantes et d'étudier leurs potentiels protecteurs vis-à-vis d'autres agents phytopathogènes responsables de la fonte des semis de la tomate.

Références bibliographiques

Abd-Allah, E.F. 2001. *Streptomyces plicatus* as a model biocontrol agent. *Folia Microbiol.*, vol. 46. P. 309-314.

AgraQuest. 2003. *Serenade biofungicide*. [en ligne]. [avril 2012]. <http://www.agraquest.com/serenade/sermain.html>.

Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. 5^{ème} édition. California: Elsevier Academic Press. P. 524-539.

Anastasia L. Lagopodi, Arthur F. J. Ram, et al. 2002. *Novel Aspects of Tomato Root Colonization and Infection by Fusarium oxysporum f. sp radicle-lycopersici Revealed by Confocal Laser Scanning Microscopic Analysis Using the Green Fluorescent Protein as a Marker*, vol. 15, N. 2, P. 272-278.

Azouaou, K et Kiboub, I. 2012. *Contribution à la mise en évidence d'actinomycètes endophytes en lutte biologique contre la fonte du semis de la tomate (Lycopersicon esculentum) (cv. Marmande) causée par Fusarium oxysporum f.sp radicle lycopersici*. Mémoire d'ingénieur en Agronomie : Université de Laghouat. 72p.

Baniasadi, F., Shahidi Bonjar, A., Baghizadeh, A., Karimi, N. et Jorjandi M. 2009. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum*, causal agent of sunflower head and stem rot disease, by use of soil borne actinomycetes isolates. *Americana Journal Agricola Biology Science*, vol. 4, P. 146-151.

Ben cherchafa, A et Merad, I. 2013. *Isolement, partielle caractérisation et potentiel d'actinomycètes endophytes dans la promotion de la croissance des plantules de tomate (Lycopersicum esculentum)*. Mémoire d'ingénieur en Agronomie, option : production et amélioration des plantes : Université de Laghouat. 47p.

Benitez, T., Rincón, A-M., Limón, M-C Codón, A-C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, vol.7, P. 249-260.

Benizri, E., Baudoin, E. et Guckert, A. 2001. Root colonization by inoculated plant growth rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology*, vol. 11, P. 557-574.

Bentvelsen, C.L.M. 1980. *Réponse des rendements à l'eau*. Edition. Dunod. P. 235.

- Blancard, D. 1988. *Maladies de la tomate : Observer, Identifier, Lutter*. Ed. Espagnole: INRA. P. 151-187.
- Blancard, D. 1997. *Les maladies de la tomate*. Edition. Paris : INRA. 212 p.
- Blancard, D., latterot, H., Marchaud, G et Candresse, T. 2009. *Les maladies de tomate*. éd. Paris : Quae. 679 p.
- Booth, C. 1971. *The genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 237p.
- Boubetra, D., Sabaou, N., Zitouni, A., Bijani, C., Lebrihi, A., Mathieu, F. 2013. Taxonomy and characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Sahran soil. *Microbiol Res*, vol. 168. P. 23-30.
- Boudjella, H., Zitouni, A., Coppel, Y., Mathieu, F., Monje, M-C., Sabaou, N et Lebrihi, A. 2010. Antibiotic R2, a new angucyclinone compound from *Streptosporangium* sp. *The Journal of Antibiotics*, vol. 63, P. 709–711.
- Breton, A., Theilleux, J., Sanglier, J.J., et al. 1989. Organismes producteurs : biologie, taxonomie et écologie. In Larpent, J.P. et Sanglier, J.J. *Biotechnologie des Antibiotiques*. Paris: Masson. P. 33-70.
- Brimner, A., Boland G.J. 2003. A review of the non-target effects of fungi used to biologically control of plant diseases, *Agronomie Ecosysteme Environnement*, vol. 100, p. 3-16.
- Campelo, A.B., Gil J.A. 2002. The candicidin gene cluster from *Streptomyces griseus* IMRU. *Microbiol*, vol. 148, P. 51-59.
- Champion, R. 1997. *Identifier les champignons transmis par les semences*. Edition. Paris: INRA. P.181-182.
- Chaux, C.L et Fourry. 1994. *Cultures légumineuses et maraichères : légumineuses potagères, légumes fruits*. Tome III. Paris : TEC et Doc Lavoisier. P.563.
- Chebasse, D., Cimon, B., Brun, S. et al.. 2002. *Cahier de formation biologie médicale : Les moisissures d'intérêt médical*. Paris. 78 p.

- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C. et Barka, E-A. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 71, P. 4951-4959.
- Cook, R.J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annual Revue Phytopathology*, vol 31, p. 53–80.
- Corbaz, R. 1990. *Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes*. Presses polytechniques universitaires, Paris. 650p.
- Doré, C. et Varoquaux, F. 2006. *Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées*. Paris : INRA. 698p.
- Dunne, C., Delany, I., Fenton, A., O’Gara, F. 1996. Mecanisms involoved in biocontrol by microbiol inoculants. *Agronomy*, vol. 16. P. 721-729.
- Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., Delen, N. 2004. Botrytis sp and diseases they cause in agricultural systems an introduction. In Kluwer, A., Publishers, D. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. The Netherlands. P. 1-9.
- El-Tarabily, K-A., Nasser, A-H., Hardy, J., Sivaithamparam, K. 2009. Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *Journal of Applied Microbiology*, vol.106, P. 13-26.
- El-Tarabily, K.A. and Sivasithamparam K. 2006. Non-Streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology Biochem*, vol. 38, P. 1505-1520.
- El-Tarabily K-A. 2003. An endophytic chitinase-producing isolate of *Actinoplanes missouriensis*, with potential for biological control of lupine caused by *Plectosporium tabacinum*. *Australian Journal of Botany*, vol. 51, P. 257-266.
- Emmert E.A.B.; Handelsman J. 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram) positive perspective. *FEMS Microbiol Lett*, vol. 171, P. 1- 9.
- Errakhi, R. 2008. *Contribution d’actinomycètes (Actinobactéries) à la lutte biologique contre Sclerotium rolfsii et rôle de l’acide oxalique dans l’induction des mécanismes de défense*. Thèse de Doctorat : Université Cadi Ayyad, Marrakech Maroc. 262p.

- Fravel, D-R. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. *Phytopathol*, vol. 43, P. 337-359.
- Gaussen, H., Lefoy, J., Ozenda, P. 1982. *Précis de botanique*. 2^{ème} éd. Paris : Masson. 172p.
- Getha, K., Vikineswary, S., Wong, W-H., Seki, T., Ward, A., Goodfellow, M. 2005. Evaluation of *Streptomyces* sp. Strain g10 for suppression of *Fusarium* wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. *Journal Indian Microbiology Biotechnology*, vol. 32, P. 24-32.
- Goodfellow, M., Simpson, K.E. 1987. Ecology of *Streptomyces*. *Front Applied Microbiology*, vol. 2, P. 97-125.
- Helluy, S., Holmes, J-C. 2005. Parasitic manipulation: further consideration. *Behavioural Processes*, vol. 68, P. 205-210.
- Henni, J.E. 1998. *Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état : Université d'Oran. 171 p.
- Hibar, K., Daami-Remadi, M., Hamada W., El-Mahjoub, M. 2007a. Effets de certains fongicides de synthèse et biologiques sur la croissance mycélienne et l'agressivité de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Tunisian Journal of Plant Protection*, vol. 25, n. 3, p. 146-152.
- Hibar, K., Daami-Remadi, M., El Mahjoub, M. 2007b. Induction of resistance in tomato plants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* by *Trichoderma* spp. *Tunisian Journal of Plant Protection*, vol. 2, P. 47-58.
- Hibar, K., Daami-Remadi, M., Hamada W., El-Mahjoub, M. 2006. Bio-fungicides as an alternative for tomato *Fusarium* crown and root rot control. *Tunisian Journal of Plant Protection*, vol. 1, P. 19-29.
- Hibar, k., Daami-Remadi, M., Khiareddine, H., El Mahjoub, M. 2005. Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, vol 9, p.163–171.
- ID- EL Mouden, O.2010. *Quantification des résidus de pesticide sur la tomate et le poivron et l'étude de la dégradation de difenoconazole sous l'effet de photo-oxydants*

- atmosphériques à l'interface solide /gaz*. Thèse de doctorat : Université de Reims Champagne-Ardenne (Agadir). 160p.
- ITCMI. 2012. *Principaux désordres physiologiques, maladies et ravageurs présents en Algérie : les tomates*. ITCM. 64p.
- Jarvis, W-R., Shoemaker, R-A. 1979. Taxonomy status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. *Phytopathol*, vol. 68, P. 1679- 1680.
- Jijakli, M.H. 2003. La lutte biologique en phytopathologie. In Lepoivre, P. *Phytopathologie*. Ed : De Boeck et Larcier. Bruxelles. P. 290-317.
- Joo, G.J. 2005. Purification and characterization of an extracellular chitinase from the antifungal biocontrol agent *Streptomyces halstedii*. *Biotechnol. Lett*, vol. 27, p. 1483-1486.
- Khamna, S, Yokota A et Lumyong, S. 2009. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal Microbiol Biotechnol*, vol. 25, P. 649–655.
- Khorsi, S. 1993. *Influence de quelques facteurs pédologiques et des équilibres ioniques sur la production et la composition de la tomate*. Thèse de Doctorat : Université de Tizi-ouzou. 158p.
- Kinet, B. 1985. Contrôle du développement de l'inflorescence de la tomate par les facteurs de l'environnement et les régulateurs de croissance. *Hort*, n° 200, P. 30–36.
- Kolev, N. 1976. *Les cultures maraichères en Algérie*. Tome I. légumes fruits. éd : Ministre de l'agriculture et des Reformes Agricoles. 52p.
- Kouassi, M. 2001. La lutte biologique: une alternative viable à l'utilisation des pesticides. *Vertigo*, vol. 2, P. 2.
- Kunoh, H. 2002. Endophytic actinobacteria: attractive biocontrol agents. *Journal Gen. Plant Pathology*, vol. 68, P. 249-252.
- Laumonier, R. 1979. *Cultures légumiers et maraichères*. 3^{ème} édition. Paris : Bailliere. 279p.

- Lechevalier, M.P. and Lechevalier H. 1970. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *International Journal. Syst. Bacteriol*, vol. 20, P. 435-443.
- Lee, J-P., Lee, S-W., Kim, C-S., Son, J-H., Song, J-H., Lee, K-Y., Kim H-J., Jung, S-J. et Moon B-J. 2006. Evaluation of formulations of *Bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, vol. 37, n. 3, P. 329-337.
- Lepoivre, P. 2003a. *Phytopathologie : bases moléculaires de biologie des pathosystèmes et fondement des stratégies de lutte*. Bruxelles : De Boeck et Presses Agronomiques de Gembloux. P. 275-309.
- Lepoivre, P. 2003b. *Phytopathologie*. 1^{ère} édition. Bruxelles : Boeck et Larcier. P. 10-291.
- Lepoivre, P., Semal, J. 2003. La prise de décision en matière de protection phytopathologique : vers le concept de lutte intégrée. In Lepoivre, P. *Phytopathologie*. Ed. Bruxelles: De Boeck et Larcier. P. 343-361.
- Leroux P. 2003. Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. *Comptes Rendus de Biologie*, vol. 326, P.9-21.
- Leroux, p., Gardon, L. 2003. La lutte chimique en phytopathologie. In Lepoivre, P. *Phytopathologie*. Ed. Bruxelles: De Boeck et Larcier. P. 319-342.
- Loqman, S. 2008. *La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne: isolement, caractérisation de souches de bactéries actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine*. Thèse de doctorat : Université de Reims Champagne-Ardenne (France). 216p.
- Lourenco Junior, V., Maffia, L-A., Romeiro R-d-S., Mizubuti, E-S-G. 2006. Biocontrol of tomato late blight with the combination of epiphytic antagonists and rhizobacteria. *Biological Control*, vol. 38, n. 3, P. 331-340.
- Mahadevan, B. and Crawford D.L. 1997. Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC108. *Enz. Microbil. Technol*, vol.20, P. 489-493.

- Mao, W., Lewis A., Lumsden R.D. and Hebbar K.P. 1998. Biocontrol of selected soilborne diseases of tomato and pepper plants. *Crop Prot*, vol. 17, P. 535-542.
- Marrone, P-G. 2002. An effective biofungicide with novel modes of action. *Pesticide-Outlook*, vol. 13, P. 193-194.
- Minuto, A., Spadaro, D., Garibaldi, A. et Gullino M.L. 2006. Control of soilborne pathogens of tomato using a commercial formulation of *Streptomyces griseoviridis* and solarization. *Crop Protection*, vol. 25, n.5, P. 468-475.
- Mohammadi, O, et Lahdenpera, M-L., 1992. Mycostop biofungicide in practice. In 10th *International Symposium on modern fungicides and antifungal compounds*. Germany Thuringia, P. 1-7.
- Mohammadi, O. 1992. *Mycostop biofungicide-present status*. In *biological control of plant diseases. Progress and challenges for the future*. Eds. New York. E. Tjamos, G. C. Papavizas and R. J. Cook. Plenum Press, P. 207-210.
- Mukherjee, P.K., Nautiyal C.S. and Mukhopadhyay A.N. 2008. Molecular mechanisms of plant and microbe coexistence. *Soil Biol*, vol. 15, n. 2, P. 243-262.
- Naika, S., De Jeud, J. V. L., De Jeffau, M., Hilmi, M et Vandam, B. 2005. *La culture de tomate, production, transformation et commercialisation*. Pays-Bas : Wageningen. 105p.
- Nanjwad, B., Chandrashehara, S., Goudanavar, P-S., Shamarez, A-M., Manvi, F. 2010. Production of antibiotics from soil isolated actinomycetes and evaluation of their antimicrobial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 9, P. 373-377.
- Nelson, P. E., Toussoun T. A. and Marasas W. F. O., 1983. *Fusarium species: An illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University Press, University Park. 193p.
- Polese, J.M. 2007. *La culture de tomate*. Ed : Artémis. 95 p.
- Raemaekers, R. 2001. *Agriculture en Afrique tropicale*. Direction générale de la coopération internationale.
- Rey, Y. et Costes, C. 1965. *La physiologie de la tomate : étude bibliographique*. INRA. 111p.

- Rocher, F. 2004. *Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : évaluation de la systémie phléomienne de nouvelles molécules à effet fongicide et d'activateurs de réaction de défense*. Thèse de doctorat : université de Poitiers (France). 163p.
- Roquebert, M.F. 1998. *Taxonomie des moisissures: Méthodes de culture et techniques d'observation: Identification in « Moisissures des aliments peu hydratés »*. Ed. Tec, Doc. P. 39-95.
- Sabaou, N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A., Lamari L. *et al.* 1998. Les sols du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Sécheresse*, vol. 9, P.147-153.
- Sabaou, N., Bounaga N. and Bounaga D. 1983. Actions antibiotique, mycolytique et parasitaire de deux actinomycètes envers *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et autres formae speciales. *Canadian Journal Microbiol*, vol. 29, P. 194-199.
- Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N., et Samiyappan, R. 2007. PGPR induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. *Crop Protection*, vol. 26, n. 4, P. 556-565.
- Schottel, J.L., Shimizu, K., Kinkel, L.L. 2001. Relationships of in vitro pathogen inhibition and soil colonization to potato scab biocontrol by antagonistic *Streptomyces* spp. *Biological Control*. P. 102-112.
- Shankara, N., Joep, L.J., Marja, G., Martin, H et Barbara, D., 2005. *La culture de la tomate: production, transformation et commercialisation*. éd. Pays-Bas : Wageningen.105 p.
- Shirling, E-B., Gottlieb, D. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal Syst Bacteriol*. P. 313-340.
- Singh, A-K., Chhatpar, H-S. 2010. Optimization of protease production by *Streptomyces* sp. A6 using statistical approach for reclamation of shellfish waste. *World Journal Microbiol Biotechnol*, vol. 26, P. 1631–1639.
- Singh P.P., Shin Y.C., Park C.S. and Chung Y.R. 1999. Biological control of *Fusarium* wilts of cucumber by chitinolytic bacteria. *Phytopathology*, vol. 89, n.1, P. 92-99.

- Smaoui, S. 2010. *Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés*. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement : Université de Toulouse. France. 251p.
- Snoussi, S-A. 2010. *Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient (projet gtfs/rem/070/ita): rapport de mission: étude de base sur la tomate en Algérie*. Ed. Rome: FAO. P. xx.
- Suty, L. 2010a. *La lutte biologique*. 1^{ère} édition. Paris : Isabelle sick. 323p.
- Suty, L. 2010b. *La lutte biologique : Vers le Nouveau équilibre écologique*. Ed. Paris: Quae. P. 164.
- Suzuki, S., Yamamoto, K., Okuda, T., Nishio, M., Nakanishi, N., Komatsubara, S. 2000. Selective isolation and distribution of *Actinomadura rugatobispora* strains in soil. *Actinomycetologica*, vol. 14, P. 27-33.
- Tahvonon R.T. and Avikainen H. (1987). The biological control of seedborne *Alternaria brassicicola* of cruciferous plants with a powdery preparation of *Streptomyces* sp. *Journal Agronomic Sciences. Finland*, vol. 59, P. 199-208.
- Taibi, H., Guenfoud, F. 2013. *Etude l'activité antifongique de quelques agents de lutte biologique*. Mémoire d'ingénieur en agronomie : université de Laghouat. 57p.
- Thakore, Y. 2006. The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology*, vol. 2, n. 3, P. 294-208.
- Toumatia, O. 2010. *Actinomycètes sahariens producteurs d'antifongiques : Isolement, taxonomie, caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre les maladies des plantes*. Thèse de Magister en Microbiologie appliquée : Ecole normale supérieur de Kouba-Alger. 115p.
- Trejo-Estrada, S-R., Paszczynski, A., Crawford, D-L. 1998. Antibiotics and enzymes produced by the biocontrol agent *Streptomyces violaceusniger* YCED-9. *Journal Industrial. Microbiology Biotechnology*, vol. 21, P. 81-90.
- Tu, J.C. 1988. Antibiosis of *Streptomyces griseus* against *Colletotrichum lindemuthianum*. *Journal Phytopathology*, vol. 121, P. 97-102.

- Wacksman, S.A., Woodruff, H.B. 1940. *The soil as a source of microorganisms disease antagonistics to producing bacteria*. Williams et Wilkins Eds. P. 2333-2648.
- Whiffen, A., Bohonqs J.N. and Emerson R.L. 1946. The production of an antifungal antibiotic by *Streptomyces griseus*. *Journal Bacteriology*, vol. 52, P. 610-611.
- Whipps, J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal Exploitations Botaniques*, vol. 52, P. 487-511.
- Wojciech, S., Mirosława S., Hanna H. 2013. *Fusarium oxysporum f.sp radidis lycopersici the cause of Fusarium crown and root rot in tomato cultivation*. *World Journal Microbiol Biotechnology*, vol. 53, n. 2, P. 172-174.
- Xiao, K., Samac, D.A., Kinkle, L.L. 2002. Biological control of Phytophthora root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. *Biological Control*, vol. 23, P. 285-295.
- Yamamoto, I., Komada, H., Kuniyasu, K., Saito, M., and Ezuka, A. 1974. A new race of *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* inducing root rot of tmato. *Proc. Kansai. Plant Prost. Soc*, vol. 16, P. 17-29.
- Yekkour, A., Sabaou, N., Zitouni, A., Errakhi, R., Mathieu, F et Lebrihi, A. 2012. Characterization and antagonistic properties of *Streptomyces* strains isolated from Saharan soils, and evaluation of their ability to control seedling blight of barley caused by *Fusarium culmorum*. *Applied microbiology*, vol.55, P. 427-435.
- Yuan, W-M., Crawford, D. 1995. Characterization of *Streptomyces lydicus* WYE108 as potential biocontrôle agent against fungal root and seed rots. *Applied Environnement. Microbiology*, vol. 61, P. 3119-3128.
- Zaid, R. 2010. *Inventaire des ennemis naturels de tuta absoluta (Meyrick, 1917) (Lepidoptera, Gelechiidae) et effet de son parasitoïde Diglyphys isaea (hymenoptera, Eulophidae) sur deux variétés de tomate dans les régions de Staouali et Chéraga*. Mémoire d'Ingéniorat. Département d'agronomie : Université de Blida. 96p.

Annexe 1. Composition des milieux de cultures utilisés.

- Milieu ISP2

Agar	20 g
Extrait de malt	4 g
Extrait de levures	4 g
Glucose	4 g
Eau distillée q.s.p	1000 ml
pH = 7,2	

- Milieu PDA

Agar	20 g
Glucose	20 g
Pomme de terre	200 g
Eau distillée q.s.p	1000 ml
pH = 7	

Les deux milieux de culture sont autoclavés pendant 20 minutes à 120 C°.

Annexe 2. Les isolats fongiques phytopathogènes

Nom Scientifique	Maladie	Origine
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>radicis lycopersici</i>	Pourriture racinaire de Tomate	Racine de tomate
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i>	Fusariose vasculaire de Tomate	Tige de tomate
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>albedinis</i>	Bayoud de palmier dattier	palmier dattier
<i>Fusarium moniliforme</i>	Fusariose de blé	Feuilles de blé
<i>Fusarium gramineum</i>		
<i>Fusarium culmorum</i>		
<i>Fusarium Solani</i>	Pourriture racinaire de Tomate	Racine de tomate
<i>Rhizoctonia Solani</i>	Fonte de semis de la tomate et Sclérotés de pomme de terre	Tubercule de pomme de terre