



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

Faculté de Science

Département des Sciences Agronomiques

MEMOIRE DE MASTER

PRESENTE PAR : HOUMACHE Zahia

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : Agronomie

OPTION : Protection des Végétaux et Environnement

Thème

Solubilisation des phosphates inorganiques et activité antifongique de quelques actinobactéries endophytes des plantes spontanées sahariennes

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
KADOURI Mohamed Amine	Maitre-Assistant Classe A	Président
AMARA Yacine	Maitre-assistant Classe B	Examineur1
GOUDJAL-ZAMOUM Miyada	Maitre-Assistant Classe A	Rapporteur

promotion: Juin-2015



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE ou INSTITUT : DES SCIENCE
DEPARTEMENT : DES SCIENCE AGRONOMIQUE

RESUME DE MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Science da la Nature et de la vie

Filière : Agronomie

Option : Protection des Végétaux et Environnement

Thème : Solubilisation des phosphates inorganiques par des isolats d'actinobactéries antagonistes, et essai de promotion de la croissance des plantules de tomate

en culture hors sol.

Présenté par : HOUMACHE Zahia

Encadré par : GOUDJAL ZAMOUM M.

Résumé : La détermination préliminaire des isolats purifiés selon leur morphologie et chimiotaxonomie, nous ont permis de classer sept isolats, parmi le genre *Streptomyces*, et un isolat a été considéré comme non-*Streptomyces*.

La souche *Streptomyces* sp. LA10 a une activité antifongique sur la croissance mycélienne de douze agents phytopathogènes sur milieu ISP2. De plus, l'extrait méthanolique de la souche LA10 avait une action importante sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* comparativement à l'extrait acethonique. La souche LA10 synthétise des composés antifongiques. Ceci a été confirmé par une chromatographie analytique (bioautographie) et une chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

Les huit souches d'actinobactéries testés montrent une capacité de produire des phytohormones : L'acide indol-3-acétique (AIA) et de solubiliser le phosphore inorganique sur le milieu PVK avec différentes formes de phosphate.

Un essai de culture hors sol permet de déterminer un effet important du phosphate solubilisé par la souche LA10 sur la croissance des plantules de tomate.

Mots clés : *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, actinobactéries, Endophytes, Activité antifongique, (AIA) L'acide indol-3-acétique.

Dédicaces

Je dédie le fruit de ce travail en premier à :

Vous qui m'avez bien éduquée ; instruite et m'avez tracé un chemin plein de lumière sans obstacles ; c'est pour vous montrer ma gratitude et ma reconnaissance, pour ce que vous avez fait pour moi et pour ce que vous avez fait de moi ; aux prunelles de mes yeux :

Mon père Rabah et ma mère Messouda ;

À mes sœurs et mes frères, leurs époux et leurs enfants :

Dayan, Ayman, Rajdaa, Lina, Bouchra et Dakaa

À mes très chers amis : Kholoud, Kaltoumi, Naïma, Halima,

Khadija, Hassina, Merwa

zahia

Remerciements

C'est avec humilité et gratitude que je reconnais ce que je

Dois :

Je commencerai par remercier et rendre grâce à Dieu tout

Puissant pour m'avoir donné le courage et la volonté de

Mener à bon terme ce travail.

Mes sincères remerciements à ma Promotrice

Mme GOUDJAL-ZAMOUM Miyada, et Mr GOUDJAL

YACINE pour son encadrement de qualité, son aide

Inestimable et ses précieux conseils.

Tous mes remerciements à tous mes enseignants du

Département d'agronomie d'Université Amar THÉLDDJI de

Laghouat pour leurs collaborations et leur accueil

Chaleureux.

A Mr bouterfaya hicham

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la

réalisation de ce travail, trouvent ici mes sincères

Reconnaissances

Sommaire

Dédicace.....	I
Remerciements.....	II
Sommaire.....	III
Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	VIII
Liste des abréviations.....	IX
Introduction.....	01
PARTIE I. REVUES BIBLIOGRAPHIQUES.....	03
I. 1. LA PLANTE MODEL : LA TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i> L).....	03
I. 1. HISTORIQUE ET ORIGINE DE LA TOMATE.....	03
I. 1. 2. CLASSIFICATION DE LA TOMATE.....	03
I. 1. 2. 1. Classification botanique.....	03
I. 1. 2. 2. Classification génétique.....	04
I. 1. 2. 3. Classification variétale selon le mode de croissance.....	04
a. variété à croissance indéterminé.....	04
b. variété à croissance déterminée.....	04
I. 1. 3. CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES DE LA TOMATE.....	05
I. 1. 4. CARACTERISTIQUES PHYSIOLOGIQUES DE LA TOMATE.....	07
I. 1. 4. IMPORTANCE ECONOMIQUE DE LA TOMATE.....	07
I. 1. 5. Les contraintes de la production de la tomate en Algérie.....	08
I. 1. 6. Les contraintes de la culture de tomate en Algérie.....	08
I. 2. LA POURRITURE RACINAIRE DE LA TOMATE.....	11
I. 2. 1. Historique.....	11
I. 2. 2. Symptomatologie de la maladie.....	11
I. 2. 3. L'agent causal: <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>.....	12
I. 2. 4. Morphologie.....	13
I. 2. 5. Taxonomie.....	13
I. 2. 6. Biologie.....	13
I. 2. 8. Facteurs favorisant le développement de la maladie.....	14

I. 3. LES MOYENS DE LUTTE.....	14
I.3. 1. La Lutte prophylactique	15
I. 3. 2. La lutte chimique.....	15
I. 3. 3. La lutte génétique.....	15
I. 3. 4. la lutte biologique.....	15
I. 3. 4. 1. L'intérêt de la lutte biologique dans le contrôle des maladies cryptogamique	17
I. 4. LES ACTINOBACTERIES.....	18
I. 4. 1. Définition et caractéristiques.....	18
I. 4. 2. Classification des actinobactéries.....	18
I. 3. 3. Écologie.....	21
I. 4. 4. Importance des actinobactéries en agronomie.....	22
I. 4. 5. Le cycle de développement des actinobactéries.....	22
I. 4. 6. Le rôle des actinobactéries dans la croissance des plantes	23
PARTIE II. MATERIEL ET METHODES.....	25
II. 1. LA VARIETE DE TOMATE.....	25
II. 2. L'AGENT PHYTOPATHOGENE.....	25
II. 3. LES ISOLATS D'ACTINOBACTERIES	26
II. 4. METHODES D'ETUDES :.....	25
II. 4. 1. Activités antifongiques.....	25
II. 4. 1. 1. La méthode des stries croisées.....	26
II. 4. 1. 2. La méthode des puits.....	27
II. 4. 1. 3. La méthode des disques.....	28
II. 4. 2. Chromatographie analytique sur couche mince et révélation microbiologique des composés antifongiques: bioautographie	28
II. 4. 3. La purification des composés antifongiques par HPLC.....	29
II. 4. 4. Production, révélation et dosage de l'acide indole-3- acétique (AIA).....	30
II. 4. 5. Solubilisation des phosphates inorganiques et dosage du phosphore libre...	30
II. 4. 6. Application de culture en hors sol.....	31
III. Résultats et discussions.....	32
III. 1. Caractéristiques morphologiques des isolats d'actinobactéries.....	32
III. 2. l'activité d'antibiose et production de composés antifongiques.....	32
III. 2. 1. La méthode des Stries croisés	33

III. 2. 2. La méthode des puits et des disques.....	35
III. 3. La Chromatographie analytique sur couche mince et révélation microbiologique des composés antifongiques (bioautographie).....	36
III. 4. La purification des composés antifongiques par HPLC.....	37
III. 5. La production, révélation et dosage de l'acide indole-3-acétique (AIA).....	38
III. 6. La solubilisation des phosphates inorganiques.....	41
III. 7. L'application en culture hors sol	42
Conclusion	46
Références bibliographiques.....	48

Listes des figures

Figure 1. Carte de l'hypothétique extension de la tomate dans le monde.....	4
Figure 2. Appareil végétatif de la tomate : système racinaire (A), tige (B), feuille (C)...	7
Figure 3. Appareil reproducteur de la tomate : fleur (A), fruit (B), graine (C).....	8
Figure 4. Photo des symptômes de la fonte du semis.....	15
Figure 5. Photo des symptômes de la fonte du semis sur les racines de tomate causé par <i>Rhizoctonia solani</i>	15
Figure 6. <i>Astragalus armatus</i>	23
Figure 7. <i>Aristida pungens</i>	24
Figure 8. <i>Cleome africana</i>	24
Figure 9. <i>Cynara humilis</i>	25
Figure 10. <i>Medicago laciniata</i>	25
Figure 11. <i>Panicum turgidum</i>	26
Figure 12. <i>Solanum nigrum</i>	27

Figure 13. <i>Zizyphus lotus</i>	27
Figure 14. Résultat de la confirmation du caractère endophyte.....	33
Figure 15. Résultats des tests physiologiques.....	36
Figure 16. Résultats de l'activité antifongique des actinomycètes endophytes sur la croissance mycélienne des <i>R. solani</i> , <i>M. ramaniannus</i> , <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i>	37
Figure 17. Résultats de l'activité antifongique.....	38
Figure 18. chromatographie sur couche mince de l'AIA produit.	42
Figure 19. chromatographie sur couche mince de l'AG3 produit.	43
Figure 20. Résultats du biocontrol de la fonte du semis de la tomate (cv. Marmande et cv. Aïcha) par <i>Rhizoctonia solani</i>	44
Figure 21. Plantules de tomate (cv. Marmande) en pots.	46
Figure 22. Plantules de tomate (cv. Marmande et cv. Aïcha) frais	
Figure 23. Plantules de tomate (cv. Marmande et cv. Aïcha) après séchage	46
Figure 24. Résultats du Poids frais des plantules de tomate (cv. Marmande et cv. Aïcha) (A), Poids sec des plantules de tomate (B), et de la longueur des racines (C).	47

Liste des tableaux

Tableau 01 : les différents agents pathogènes utilisés dans la méthode des stries croisées.....	27
Tableau 02 : caractéristiques morphologiques et chimiotaxonomique des isolats d'actinobactéries.....	33
Tableau03 : Activité d'antibiose de <i>streptomyces</i> sp. LA10 vis-à-vis de quelques agents phytopathogènes.....	35
Tableau 04: Activités antifongiques des extraits méthanolique et acethonique contre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	37
Tableau 05 : Production de l'acide indole-3-acétique par les différents isolats d'actinobactéries endophytes.....	40
Tableau 06 : Valeur du RF obtenus par chromatographie sur couche mince (CCM).....	42
Tableau 07: solubilisation des phosphates inorganiques par les souches d'actinobactéries endophytes.....	42

Listes des figures

Figure 01: Les différentes phases de développement de la tomate.....	5
Figure 02: Les contraintes abiotiques de tomate.....	8
Figure 03: Symptômes de la fonte des semis de la tomate causée par <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	9
Figure 04: Exemples de formes de chaînes de spores des actinobactéries.....	18
Figure05: Micromorphologie des principaux genres d'actinobactéries.....	19
Figure06: Cycle de vie de <i>Streptomyces</i>	21
Figure 07: Structure chimique de l'acide indole-3-acétique (AIA).....	
Figure 08 : Méthode des stries croisées.....	27
Figure 09 : Méthode des disques.....	29
Figure10 : Activité antifongique de la souche LA10 contre quelques champignons phytopathogènes déterminée selon la méthode des stries croisées sur milieu ISP2.....	36
Figure11 : Révélation microbiologique des composés antifongiques présents dans l'extrait méthanolique (A) et dans l'extrait acethonique (B) du filtrat de culture de la souche <i>Streptomyces</i> sp. LA10.....	38
Figure 12 : Profil d'élution de l'extrait méthanolique du filtrat de <i>Streptomyce</i> sp. LA10 par chromatographie liquide à haute performances (HPLC).....	39
Figure13: Révélation de l'acide indole 3-acétique.....	41
Figure 14: Analyse chromatographique sur couche mince de l'extrait a l'acétate d'ethyle du filtrat de culture des souches LA10 et LA15 en presence de l'AIA pur.....	41
Figure15 : solubilisation de phosphates inorganiques par les huit souches d'actinobactéries endophytes.....	41
Figure 16 : effet de la composition de la solution de fertigation.....	42

Liste des abréviations

µm : micro mètre

AIA: Acide indole-3-acétique

C°: degré Celsius

CCM: Chromatographie sur couche mince

FAO: Food and Agriculture Organization

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

ha: hectare

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

ISP: International *Streptomyces* Project

ITCMI : Institut technique de cultures maraichères et industrielles

MA: mycélium aérien

Min : minute

mL: millilitre

mm : Millimètre

M : mycélium de substrat

nm: nanometre

PDA: potato-dextrose-agar

PGPB : Plant-Growth-Promoting bacteria

PVk : Pykoveskaya agar

Rf : rapport frontale

Rpm : Rotation par minute

YT: Yeast extract-Tryptone

Introducción

Revue
bibliographiques

I. 1. LA PLANTE MODELE : LA TOMATE (*Solanum lycopersicum* Mill.)

I. 1. 1. Historique et origine de la tomate

Selon Jenkin (1948) et Rick (1956) cités par Purseglove (1982), l'ancêtre de la tomate actuellement cultivée serait l'espèce *Lycopersicon esculentum*. Cette plante a pour origine le Pérou et les régions tropicales de l'Amérique. Elle fait partie de la flore native unique des îles Galápagos. La domestication de cette plante hors de sa zone d'origine fut réalisée durant les premières civilisations mexicaines. Elle a été par la suite introduite en Europe par les Espagnols vers la troisième décennie du 16^{ème} siècle (en 1523). Après la généralisation de cette culture en Europe, elle se propagea aux Etats-Unis d'Amérique au début du 18^{ème} siècle. Ce n'est qu'à la fin du 19^{ème} siècle que cette culture s'est répandue dans le reste du monde (Purseglove, 1982).

I. 1. 2. 1. Classification botanique (systématique)

La tomate dont l'appartenance à la famille des solanacées était classée par Linne (1753), comme *Solanum lycopersicum*, d'autres botanistes lui ont attribué différents noms : *Solanum lycopersicum*, *Solanum esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, C'est finalement *Lycopersicon esculentum*, attribué par Philip Miler (1754) qui a été retenu (Munrose et small, 1997).

Gausson et *al.* (1982) rappellent que la tomate appartient à la classification suivant :

Règne.....	<i>Plantae</i>
Sous règne.....	<i>Trachenobionta</i>
Division.....	<i>Magnoliophyta</i>
Classe.....	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe.....	<i>Asteridae</i>
Ordre.....	<i>Soloniales</i>
Famille.....	<i>Solanaceae</i>
Genre.....	<i>Solanum</i>
Espèce.....	<i>Solanum lycopersicum</i>

(Cronquist, 1981 ; Gausson et *al.*, 1982).

I. 1. 2. 2. Classification génétique

La tomate cultivée, est une espèce diploïde avec $2n=24$ chromosomes, chez laquelle il existe de très nombreux mutants monogéniques, dont certains sont très importants pour la sélection. Sa carte chromosomique compte actuellement 235 gènes localisés avec précision (Gallais et Bannerot, 1992).

La structure de la fleur de *Solanum lycopersicum* assure une cleistogamie (autogamie stricte), mais elle peut se comporter comme une plante allogame. Ces deux types de fécondation divisent la tomate en deux variétés qui sont :

a. Variétés fixées

Il existe plus de cinq cents variétés fixées (conserver les qualités parentales). Leurs fruits sont plus ou moins réguliers, sensibles aux maladies, mais donnent en général des fruits d'excellente qualité gustative (Polese, 2007).

b. Variétés hybrides

Les variétés hybrides sont plus nombreuses. Elles sont relativement récentes, puisqu'elles n'existent que depuis 1960 (Polese, 2007).

I. 2. 2. 3. Classification variétale selon le mode de croissance

Il existe de très nombreuses variétés de tomates cultivées. La sélection faite par l'homme a privilégié les plantes à gros fruits. On distingue cependant, plusieurs catégories de tomate qui sont classées selon leurs caractères botaniques, morphologiques et selon le mode de croissance de la plante (la formation des feuilles, inflorescences et bourgeons), qui déterminent l'aspect de la plante. Ainsi, la plupart des variétés ont un port dit indéterminé, à l'opposé des autres dites à port déterminé et des variétés buissonnantes (Naika et al, 2005).

a. Variétés à croissance indéterminée

Ces variétés sont plus nombreuses. Elles continuent de pousser et de produire des bouquets floraux, tant que les conditions sont favorables. Comme leur développement est exubérant, leur tige doit être attachée à un tuteur, sous peine de s'affaisser au sol. Il est également nécessaire de les tailler et de les ébourgeonner régulièrement. Elles ont une

production plus échelonnée et plus étalée. Elles sont plus productives en général que les tomates à ports déterminés (Polese, 2007).

La plupart des variétés à croissance indéterminées cultivées en Algérie sont: Marmande, Saint pierre, Tango, Lucy, Carmelo, Fandango, Ringo et Tresor (Snoussi, 2010).

b. Variétés à croissance déterminée

Dans ce groupe, et selon la variété, la tige émet 2 à 6 bouquets floraux, puis la croissance s'arrête naturellement. Elle est caractérisée par l'absence de la dominance apicale. La majorité de ces variétés sont destinés à l'industrie agro-alimentaire sous le nom de variété industrielle comme la variété Aicha (Laumonier, 1979).

I. 1. 3. CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES DE LA TOMATE

I. 1. 3. 1. L'appareil végétatif

a. Le système racinaire

Le système racinaire est puissant, très ramifié à tendance fasciculée. 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), de consistance herbacée en début de croissance, se lignifie en vieillissant. Cette croissance monomodale au début après 4 ou 5 feuilles devient sympodiale, c'est-à-dire que les bourgeons axillaires donnent naissance à des ramifications successives. Par contre, les bourgeons terminaux produisent des fleurs ou avortent. Les rameaux issus des bourgeons axillaires produisent des feuilles à chaque nœud et se terminent par une inflorescence (Chaux et Foury, 1994).

c. La feuille

Les feuilles sont composées de 5 à 7 folioles principales, longues de 10 à 25cm 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. Ces feuilles sont alternées sur la tige (Raemaekers, 2001).

I. 1. 3. 2. L'appareil reproducteur

a. La fleur

Les fleurs sont regroupées sur le même pédoncule en bouquet lâche formant des grappes plus ou moins bifurquées de 3 à 8 fleurs chez les variétés fixées et au-delà chez les hybrides (Polese, 2007).

Le calice comporte 5 sépales verts, il est persistant après la fécondation et subsiste au sommet du fruit. La corolle comporte 5 pétales d'un jaune vif soudé à la base, réfléchis en arrière en formant une étoile à 5 pointes (Dore et Varoquaux, 2006).

Rey et Costes (1965) rappellent que la formule florale de la fleur est la suivante : 5 sépales + 5 pétales + 5 étamines + 2 carpelles.

b. Le fruit

Le fruit de la tomate est une baie charnue. L'épiderme est lisse brillant et donne sur des fruits mûrs des colorations très diverses. Selon la variété. Il présente en principe deux loges. En section méridienne, le fruit peut revêtir des formes très variées, ellipsoïdales, plus ou moins aplaties, globuleuses, ovales, plus ou moins allongées, voir cylindriques ou piriformes (Chaux et Foury, 1994).

c. La graine

Chaque fruit contient un nombre important de graines qui varie de 80 à 500 graines par fruit. Elles sont recouvertes d'un mucilage qui présente à maturité un albumen et embryon à courbe, à germination épigée. La graine est petite et velue (250 à 350 graines par gramme de semence) (Chaux et Foury, 1994).

Après le stade cotylédonaire, la plante produit 7 à 14 feuilles composées avant de fleurir (Dore et Varoquaux, 2006).

I. 1. 4. CARACTERISTIQUES PHYSIOLOGIQUES DE LA TOMATE

Le cycle de développement de la tomate comprend cinq phases, premièrement, la germination, c'est le passage de la graine de la vie ralentie à la vie active qui se traduit par la sortie des racines séminales et le coléoptile qui émerge en surface puis devient fonctionnel (Laumonnier, 1979).

Deuxièmement la croissance, dure de la levée jusqu'au stade 6 feuilles, où la plante assure la formation de racines fonctionnelles qui vont assurer l'alimentation à la plante. A partir du stade six feuilles, la plante est transférée de la pépinière pour être repiquée en plein champ pour continuer ainsi sa croissance. Puis la floraison, qui dure environ un mois.

La tomate entre en parallèle avec la mise à fleur, ces fleurs étaient au paravent des boutons floraux. Aussi la phase de fécondation, quand les étamines arrivent à maturité, le pollen est libéré et féconde l'ovule. La fécondation se traduit par l'apparition de petits fruits verts. En fin, la fructification et la maturité des fruits (Naika et al., 2005).

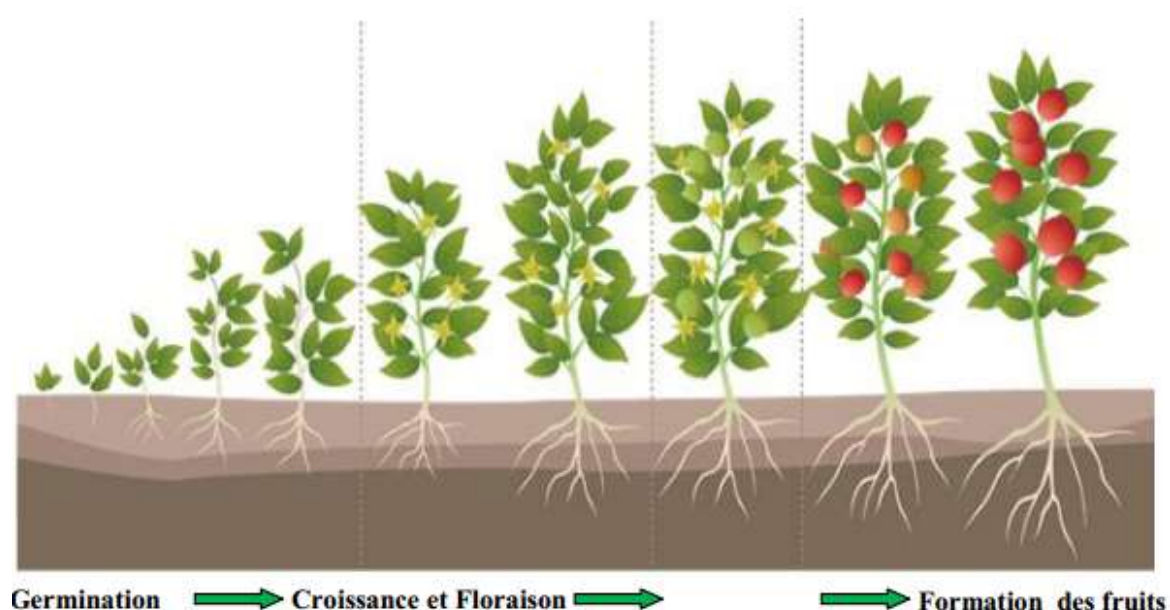


Figure 01 : Les différentes phases de développement de la tomate (Polese, 2007).

I. 1. 5. IMPORTANCE ECONOMIQUE DE LA TOMATE

La tomate est cultivée dans de nombreux pays du monde (170 selon la FAO) et sous divers climats. C'est la troisième espèce cultivée au monde, après la pomme de terre et la patate douce, et le deuxième légume le plus consommé (De Broglie et Guérout, 2005). Elle représente donc un enjeu économique, et est soumise à une importante concurrence.

En Algérie, la tomate occupe une place privilégiée dans le secteur maraîchère. Elle représente 51% de la production totale en produits maraîchers. Sa superficie est de l'ordre de 1737 ha, soit 40% de la superficie sous serre (4350ha) (Nechadi et *al.*, 2002).

Sa production est en plein expansion, à la faveur de nombreux programmes mis en place par le Ministère de l'agriculture et du développement rural. A cet effet, de nouvelles techniques de productions sont introduites ces dernières années permettant plus de rendement à l'hectare (FAO, 2009).

I. 1. 5. Les contraintes de la production de la tomate en Algérie

A/ contraintes techniques

Les contraintes de la production de tomate en Algérie sont liées à: l'insuffisance des travaux de préparation du sol, le non-respect des dates de repiquage, le manque de vulgarisation et d'équipement, ainsi que le manque d'eau pour l'irrigation (Nechadi et *al.*, 2002).

B- contraintes économiques

Les contraintes économiques sont principalement : le manque de subvention pour cette filière; la taxe qui pénalise le produit fini, ce qui fait du produit algérien le produit le plus cher au monde, et une charge des mains d'œuvre élevées, puisque la culture est entièrement manuelle.

1. 1. 6. Les contraintes de la culture de tomate en Algérie

I. 1. 6. 1. Les contraintes abiotiques

Les fruits de la tomate peuvent être sujet a diverses atteintes, liées à des carences physiologiques tel que le cas des nécroses apicales parfois appelée « maladie de cul noir »,

qui se manifeste par des plages de nécrose à base du fruit du côté opposé au calice vit envahie par des champignons saprophytes. Elles sont dues à une insuffisance de calcium dans le fruit qui peut être induite par un arrosage irrégulier (NAIKA *et al.*, 2005).

a. les fentes de croissance

Elles apparaissent sur la moitié supérieure du fruit, près du calice. Elles peuvent être annulaires ou concentriques et affectent surtout les variétés anciennes. Leurs causes sont multiples surtout en appliquant un arrosage excessif (NAIKA *et al.*, 2005)

c. La chlorose

Se manifeste par la décoloration des feuilles et les fruits sont petit, la cause de cette maladie c'est la carence en éléments nutritifs (NAIKA *et al.*, 2005).

d. Le collet vertit

La tomate rougit aussi mais le collet (partie de la queue) reste vert la cause de cette maladie est le manque de potassium et l'excès de soleil (NAIKA *et al.*, 2005)

e. Collet jaunit :

Dans ce cas la tomate rougit aussi, mais le collet (la partie avec la queue) reste jaunit. La cause de cette maladie est le manque d'azote, de potassium et la température élevée (NAIKA *et al.*, 2005).



(A)



(B)



(C)



(D)

Figure 02 : les contraintes abiotiques de tomate. A : nécrose apicales sur tomate ; B : symptômes de fentes de croissance sur tomate (Courchinoux, 2008).). D : jaunissement des feuilles chez la tomate.

I. 1. 6. 2. Les contraintes biotiques

De la levé et pratiquement jusqu'à la récolte, les cultures de tomate sont sujettes à de nombreuses maladies causées par divers agents pathogènes tels que les virus, les bactéries, les champignons, les nématodes et les insectes.

- **Des ravageurs** : pucerons, aleurodes, mineuses, noctuelle de la tomate, doryphore, nématodes (ITCMI, 2012).
- **Des maladies cryptogamiques** : fonte des semis, anthracnose, alternariose, cladosporiose, pied noir de la tomate, mildiou de la tomate, pourriture grise, fusariose de la tomate, septoriose (Courchinoux, 2008).
- **Des maladies bactériennes** : chancre bactérien, Gale bactérienne, Moucheture bactérienne (Benchaabane et *al.*, 2008).

- **Des maladies virales** : bronze de la tomate, mosaïque du tabac, maladie (Naika et *al.*, 2005).

I. 2. LA POURRITURE RACINAIRE DE LA TOMATE

I. 2. 1. Historique

La pourriture des racines et de 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 du bassin méditerranéen ou elle est plus ou moins dommageable (Blancard, 1997) elle peut provoquer des 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. 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 (ITCMI, 2010).



Source : Blancard, 2001.

Figure 03 : Symptôme de la fonte des semis de la tomate causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

a. Les symptômes externes

Contrairement aux maladies vasculaires, 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 réversibles durant la nuit, et leur incidence peut varier en fonction des conditions climatiques. Il peut évoluer très rapidement vers la nécrose et le dessèchement des folioles et des feuilles, et peut 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 plants. Sur les racines apparaissent de nombreuses lésions brun rougeâtres, humides, évoluant rapidement en pourriture. Plus le diamètre des racines est faible, plus celle-ci pourrissent et se décomposent rapidement (Blancard, 1988).

b. 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 situés et ceux situés de part et d'autre de ces derniers (Henni, 1998).

I. 2. 3. L'agent causal

Fusarium oxysporum est certainement l'espèce de *Fusarium* la plus répandue dans la nature. Le champignon est présent dans les sols du monde entier où il se comporte soit en parasite, soit en saprophyte. Elle a de nombreuses formes spécialisées qui s'attaquent à une foule de végétaux (pois, tomate, pastèque, melon, lin...etc.). Toutes ces formes ne sont pas pour autant transmises par les semences. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*, parasite du lini, ou *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, parasite du pois, sont des *Fusarium* vasculaires rarement transmis par les semences. Les *Fusarium oxysporum*, couramment transmis par les semences sont des *Fusarium* non vasculaires, essentiellement responsables de la fonte des semis (Champion, 1997).

I. 2. 5. Morphologie

a. Caractères cultureux

Le *Fusarium* se développe bien sur le milieu PDA. 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, violet ou lilas) selon les espèces (Chebasse et al, 2002).

b. La micromorphologie :

Les microphialides (10 à 14 x 3.5 à 5 µm) peuvent s'agréger en sporodochies. Les microconidies sont ellipsoïdales, isolées par des conidiophores courts et ramifiés. Les macroconidies sont abondantes, et ovoïdes. Les macrophialides sont épars ou groupés en sporodochies. Les macroconidies sont fusiformes, plus ou moins courbées, pointues aux deux extrémités, présentant 3 à 5 septum. Elles mesurent 27 à 65 x 5 µm. Les chlamydospores, terminales ou intercalaires, forment dans le mycélium et dans les conidies, sont sub-globuleuses et hyalines (5 à 15 µm de diamètres) (roquebert, 1998).

I. 2. 5. Taxonomie

Règne..... *Fungi*
Embranchement..... *Ascomycota*
Classe..... *Sordariomycetes*
Sous- classe..... *Hypocreomycetidae*
Ordre..... *Hypocreales*
Famille..... *Nectriaceae*
Genre..... *Fusarium*
Espèce..... *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (Jarvis et Shoemaker, 1979)

I. 2. 6. biologie de *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) (ITCMI, 2012).

La dissémination du champignon se fait au niveau du sol par les eaux de ruissellement, le vent, les éclaboussures, ou l'importation dans l'exploitation de terreau ou

de plants contaminés. Le champignon semble plus agressifs sur les cultures ayant connu un stress (excès d'eau ou température trop basse) (Champignon, 1997)

I. 2. 7. Facteurs favorisant le développement de la maladie

La fonte des semis est le plus souvent observée dans un sol froid et humide que ce soit en plein champ ou en terreau de départ. L'air humide et stagnant est aussi un facteur qui favorise le développement de la fonte des semis. Comme son nom l'indique, cette maladie s'attaque au semis, pouvant apparaître dès la mise en terre des grains aussi bien qu'au stade plantule. La tomate, par exemple, n'est plus susceptible au pourridié après le stade 2 ou 3 feuilles (ITCMI, 2012).

I. 3. LES MOYENS DE LUTTE

I.3.1. Lutte prophylactique

Tous les moyens de contrôle de la fonte des semis sont des mesures préventives plutôt que curatives. Il faut éviter les conditions froides et humides pendant la germination des grains et la croissance des plantules et cela réduit l'incidence de la fonte des semis (ITCMI, 2012).

Le sol froid, compacté, mal drainé est une des conditions propices pour la fonte. Pour cela il faut éviter de planter dans ce type de sol : les grains germent plus vite et les plantules croissent plus rapidement en sol chaud réduisant ainsi les chances d'attaque. Le maintien d'une circulation d'air se fait en adoptant un taux des émissions plus faible dans les bacs à semis ou en fournissant une ventilation adéquate. Un éclaircissage des semis trop dense est réalisé le plus vite possible. Il est nécessaire de s'assurer que le terreau est bien drainé en ajoutant du sable ou de la mousse de tourbe. Il est impératif d'éviter les arrosages excessifs, de vaporiser le feuillage plutôt que d'arroser le sol (Blancadre, 1988)

Les organismes responsables de la fonte des semis sont soit déjà présents dans le sol soit introduit par la semence. Le traitement des semences, terreaux et sol par la chaleur (vapeur, solarisation, thérapie) vise à éliminer ou inhiber les microorganismes présents dans ces milieux (ITCMI, 2012).

I. 3. 2. Lutte chimique

Plusieurs stratégies chimiques permettent de lutter contre l'invasion d'un plant par un champignon, de façon directe ou indirecte. En effet, certains fongicides agissent sur le système énergétique des cellules fongiques en inhibant les processus respiratoires. D'autres agissent sur la synthèse des constituants des champignons. Des substances ont encore pour but de désorganiser les cellules et leurs divisions au sein des tissus fongiques. Un classement de ces matières actives consiste à distinguer plusieurs catégories suivant leur pénétration dans la plante et leur fonction chimique (Rocher, 2004).

I. 3. 3. Lutte génétique

L'amélioration des plants en matière phytopathologique vise l'obtention de génotypes des végétaux qui présente, avec l'agent pathogène considéré, un rapport d'incompatibilité plus ou moins marqué, ou qui produisent adéquatement l'infection par l'agent concerné (Lepoivre, 2003).

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 résistances, 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, 2003).

I. 3. 4. Lutte biologique

La lutte biologique a pour principe d'utiliser des agents biologiques capables d'entrer en compétition (antagonisme) avec les agents pathogènes sans avoir une activité néfaste sur la plante. Ces agents naturels sont réunis sous le concept de bio pesticide (Rahman et al., 2007).

Au niveau de la rhizosphère et du contrôle des agents pathogènes telluriques, la lutte se fait principalement via 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 chez la plante (Dunne et al, 1996 ; Paulitz et Bélanger, 2001 ; Lugtenberg et al., 2002 ; Spadaro et Gullino, 2004 ; Bouizgarne et al., 2006 ; Prévost et al., 2006 ; Lehr et al., 2008).

L'antibiose, par définition, est l'inhibition de l'agent phytopathogène par la production de métabolites secondaires par un autre micro-organisme (Cook et Baker, 1983). Ce mode d'action est le plus étudié chez les agents de lutte biologique. Il consiste à sécréter des substances antibiotiques possédant un faible poids moléculaire et ayant une fonction antifongique et/ou antibactérienne, agissant par l'inhibition de la croissance mycélienne ou interférent avec la germination et ou la sporulation des agents phytopathogènes, d'autres provoquent la lyse des hyphes fongiques (Lepoivre, 2003).

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 spatiale contribuent dans la réduction des infections racinaires provoquées par les agents phytopathogènes. En effet, certaines bactéries protègent les racines et occupent les sites d'infection aux agents phytopathogènes (Benitez et al., 2004 ; Compant et al., 2005).

La compétition pour le fer est la mieux documentée. Quoique très abondant, cet élément se trouve souvent sous la forme de polymères d'hydroxydes ferriques très insolubles. Les bactéries possèdent un mécanisme très spécifique de captation des ions ferriques basé sur la production de sidérophores en conditions 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 (Lepoivre, 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 (Helluy et Holmes, 2005). L'agent antagoniste sécrète des enzymes dégradant les parois cellulaires des agents pathogènes comme les protéases, les chitinases et les glucanases. Les agents de biocontrôle qui utilisent ce mode sont nombreux : *Bacillus subtilis* réduit les populations de *Pythium ultimum* et *Rhizoctonia solani* par sécrétion de glucanases et de protéases (Paulitz et Bélanger, 2001). *Trichoderma harzianum* est le microorganisme antagoniste le mieux étudié du point de vue parasitisme. Les enzymes lytiques (chitinase, cellulase, glucanases,...etc.) produites par ce champignon sont capables de dégrader les parois cellulaires de nombreux pathogènes (Lepoivre, 2003).

Bacillus subtilis souche QST713 produit des lypopeptides qui ont un effet antifongique et un effet antibactérien. Ces lypopeptides 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).

I. 3. 4. 1. L'intérêt de la lutte biologique dans le contrôle des maladies phytopathogène

La lutte biologique exploite les mécanismes de régulation naturelle des populations. Cette régulation est le résultat d'une balance entre le potentiel biotique des organismes vivant et la résistance opposée à leur développement démesure de leur population .Il est cependant admis que ces facteurs naturels de régulation sont généralement insuffisants pour faire face aux situations d'épidémies. Ainsi l'intervention de l'homme s'avère nécessaire pour leur donner l'ampleur voulu (Lepoivre et Semal, 1988 ; Corbaz, 1990).

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 : Actinovate[®], Actnoiron[®], Sérénade[®], Sonata[®], Polyversum[®] (Fravel, 2005 ; Errakhi, 2008)

La réussite de la lutte biologique nécessite l'application d'un agent de bio contrôle 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.*, 1999)

Ce paramètre correspond à la compétence rhizosphérique (Whipps, 2001). Cette dernière réside dans l'adaptation de l'agent antagoniste aux conditions biotiques et abiotique du sol. L'agent 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. 4. LES ACTINOBACTERIES

I. 4. 1. Définition et caractéristiques

Dans les précédentes éditions du manuel de détermination bactériologique de Bergey (1989 et 1994), l'ordre des actinobactéries était défini comme regroupant des bactéries à Gram positif qui tendent à former un véritable mycélium ramifié. Dans une édition plus récente (Bergey, 2004) et du fait de l'adoption des caractéristiques génétiques en taxonomie, plusieurs formes bactériennes non mycéliennes ont été rattachées à cet Ordre sur la base de leurs parentés phylogénétiques avec les autres membres de ce groupe.

Les actinobactéries sont des bactéries saprophytes capables de dégrader les matières organiques dans le sol et d'utiliser des molécules plus complexes pour leur croissance (Lschevalier et Lechevalier, 1970). Ceci leur permet de s'adapter et de coloniser différents milieux rhizosphériques. Cette caractéristique est essentielle dans la lutte biologique. Les actinobactéries peuvent agir par différents mécanismes d'action comme l'antibiose, la compétition spatiale ou encore le parasitisme (Errakhi, 2008).

I. 4. 2. Classification des actinobactéries

La taxonomie des actinobactéries est la suivante (Larpen, 2000) :

ClasseActinobacteria

S/Classes.....Actinobacteridae

OrdresActinobacteriales

FamillesActinobacteraceae

4. 2. 1. Critères de détermination

La taxonomie des actinobactéries est basée actuellement sur les critères morphologiques, chimiques, physiologiques et génétiques.

a. Caractères macromorphologiques

L'identification macromorphologique des actinobactéries repose sur l'observation à l'œil nu de la production ou non du mycélium aérien (MA), de la présence ou non du mycélium du substrat (MS) et de la couleur du MA, du MS et des pigments diffusibles dans le milieu de culture (Larpent, 2000)

b. Caractères micromorphologiques

La détermination des caractères micromorphologiques des actinobactéries est réalisée par observation au microscope optique (et parfois électronique) de colonies poussant sur milieux gélosés. Il s'agit de noter la fragmentation ou non du mycélium de substrats, la présence ou non de spores, leur agencement (isolées, par deux, en chaînes), la forme des chaînes de spores sur le mycélium aérien et /ou le mycélium de substrat et l'ornementation de la surface des spores ainsi que la présence de structures particulières comme les sporanges.

c. Caractères chimiotaxonomie

C'est la détermination de la composition cellulaire en acides aminés pariétaux, en glucides cellulaires, en phospholipides, en ménaquinones et en acides gras membranaires et en acides mycoliques pariétaux.

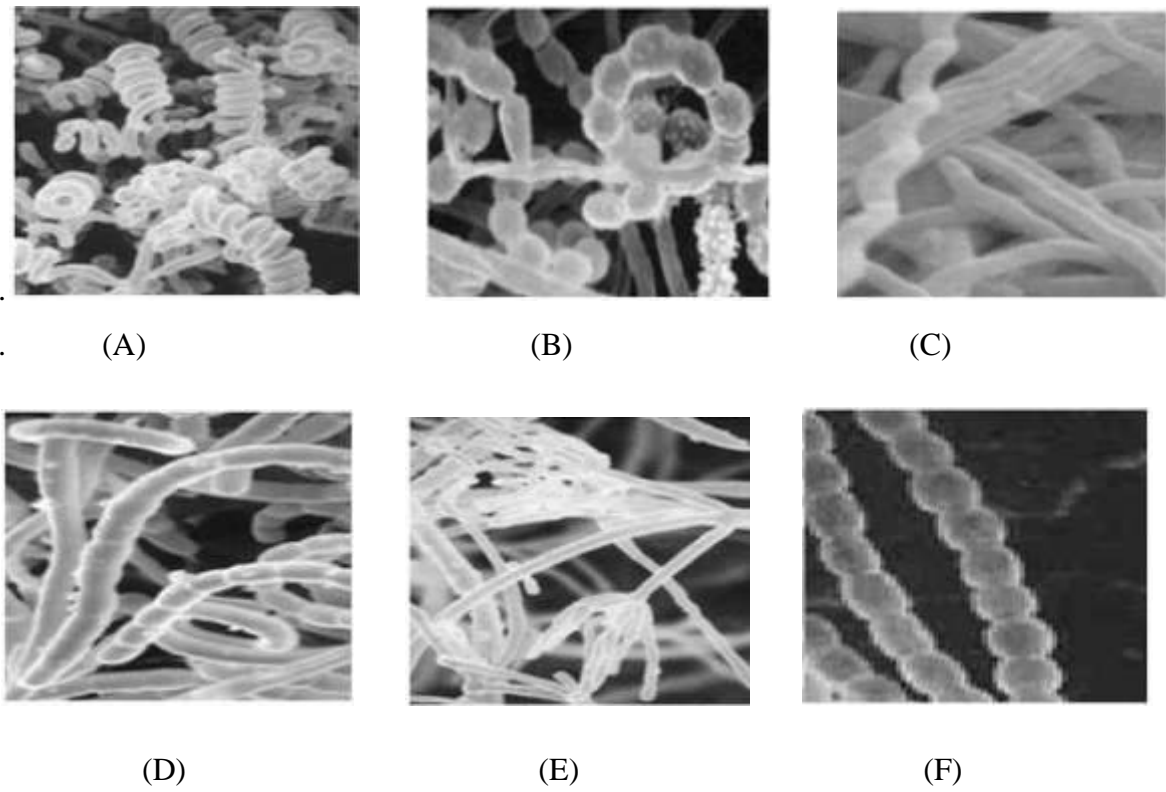
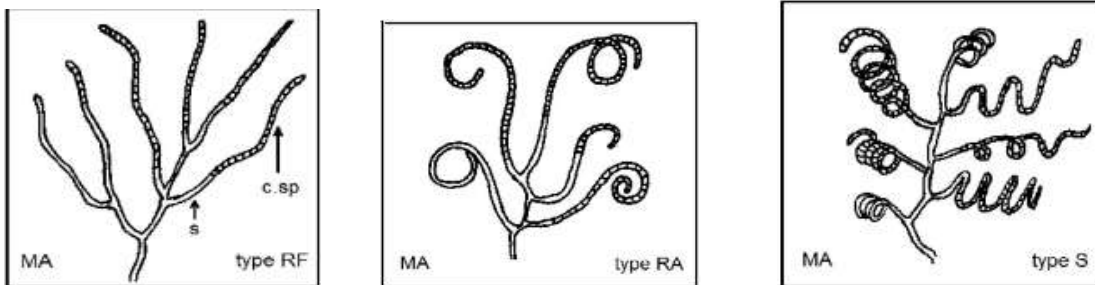
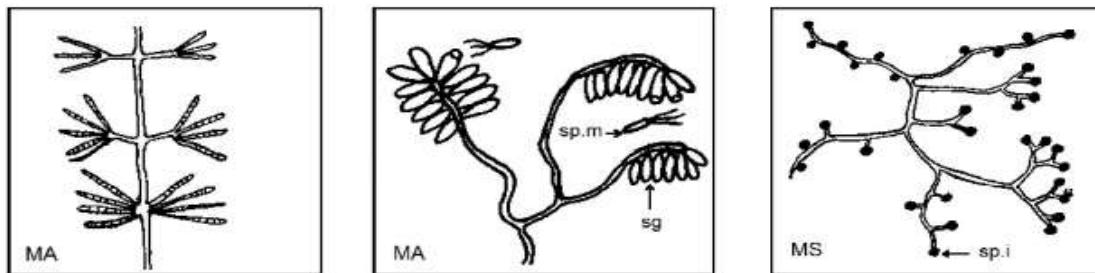


Figure 04 : Exemples de formes de chaînes de spores des actinobactéries ; A: Spire compactes: Spire ouvertes, C: Flexibles: Mono verticilles avec spires, E: Bi verticille sans spires F: Droites (Joachin, 2002).



Streptomyces



Streptoverticillum

Planomonospora

Micromonospora

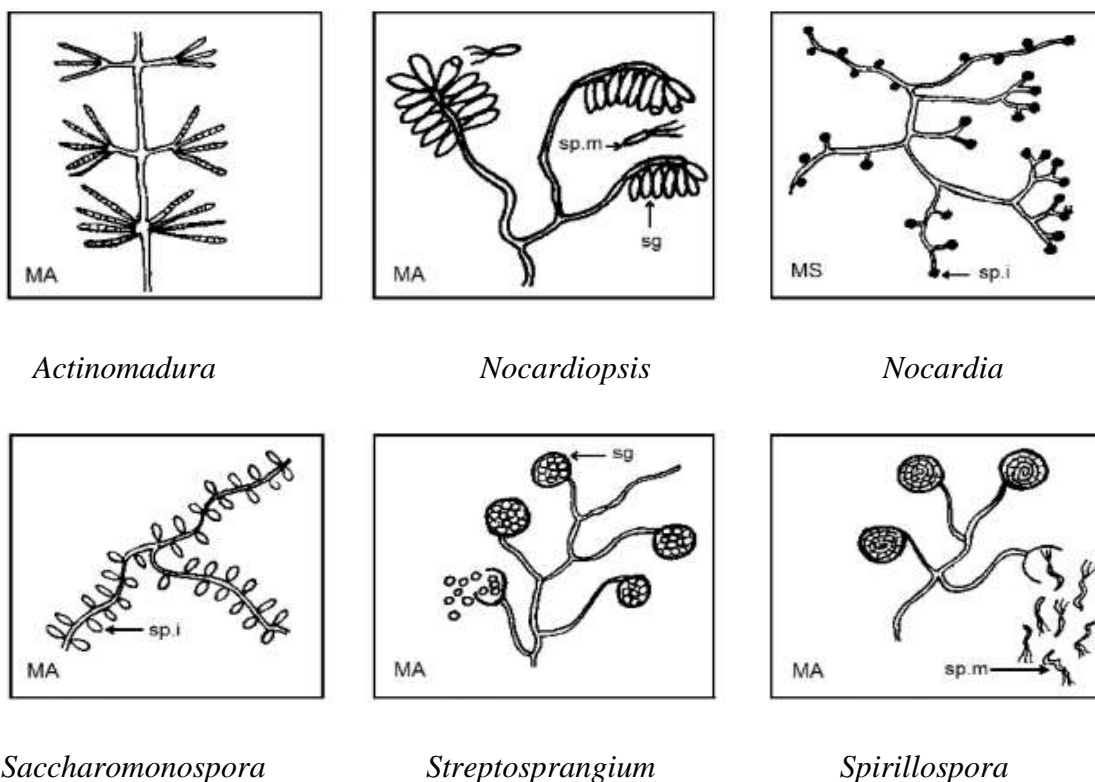


Figure 05 : Micromorphologie des principaux genres d'actinobactéries (In Sabaou et al, 1998). MA, mycélium aérien; MS, mycélium du substrat; RF, Rectus Flexibilis (chaînes de spores droites à flexueuses); RA, Retinaculum Apertum (chaînes en crochets ou en boucles); S, Spira (chaînes spiralées); s, sporophore; c.sp., chaînes de spores; sp.i., spores isolées; sp.m., spores mobiles; sg, sporanges.

I. 4. 3. Ecologie des actinobactéries

Les sols du Sahara Algérien, de par leur appartenance à des écosystèmes variés et particuliers, constituent un potentiel riche en actinobactéries. En effet, les sols des palmeraies ont montré une diversité plus importante que celles des sols de la Mitidja (Badis, 1992).

Les travaux de Boudjella en 1994 ont montré que les sols sahariens renferment un nombre appréciable d'actinobactéries rares, tels que *Spirillospora*, *Planomonospora*, *Streptosporangium*, *Actinomadura*, *Nocardioidea*, *Nocardiosis*, *Nonomuraea*, *Oerskovia*, *Planobispora*, *Saccharothrix*, etc. Presque tous les autres genres fréquents sont retrouvés aussi, comme *Streptomyces* (qui reste majoritaire), *Nocardia*, *Micromonospora*, etc. La capacité des actinobactéries sahariennes à produire de

nombreuses substances antibiotiques a été déjà soulignée (Hacène et *al.*, 1994; Sabaou et *al.*, 1998).

I. 4. 4. Importance des actinobactéries en agronomie

Les actinobactéries sont capables de dégrader les résidus des matières organiques comme la lignocellulose, la chitine... etc, et contribuent ainsi à la fertilisation des sols (Lechevalier et Gerbaer, 1970). Le genre *Frankia* est un actinobactérie assez particulier; il fixe l'azote atmosphérique et vit en symbiose avec plusieurs plantes arbustives non légumineuses (Becking, 1974).

Les souches de ce genre ont une aptitude considérable à produire de nombreuses substances probiotiques qui leur confère un rôle essentiel dans les interactions plantes-sols. Ainsi, ils sont préconisés dans le cadre de la lutte biologique contre les maladies des végétaux, tel que *Streptomyces griseoviridis* avec son biofongicide connu sous le nom de Mycostop® qui est utilisé pour combattre les maladies causées par le *Fusarium* sur le concombre, la tomate, le poivron et les plantes ornementales cultivées en serre.

Certains antibiotiques ont été conçus spécialement pour le marché agricole. La blasticidine est un antibiotique actif sur *Piricularia oryzae*, un phytopathogène du riz, et est utilisée à grande échelle au Japon (Misato, 1982). Les actinobactéries sont, en effet, connus par leur capacité de produire des antibiotiques qui leur permettent d'inhiber les agents phytopathogènes (Emmert et Handelsman, 1999 ; Barakate et *al.*, 2002; El-Tarabily et Sivasithampar, 2006).

I. 4. 5. Le cycle de développement des actinobactéries

Les actinomycètes ont un cycle de développement complexe, il débute par la germination d'une spore, qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes qui se ramifie. Le développement du mycélium du substrat vers la partie superficielle donne le mycélium "secondaire" ou aérien, les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores, qui sont des agents de dissémination (Kim et *al.*, 2004 ; Smaoui, 2010)

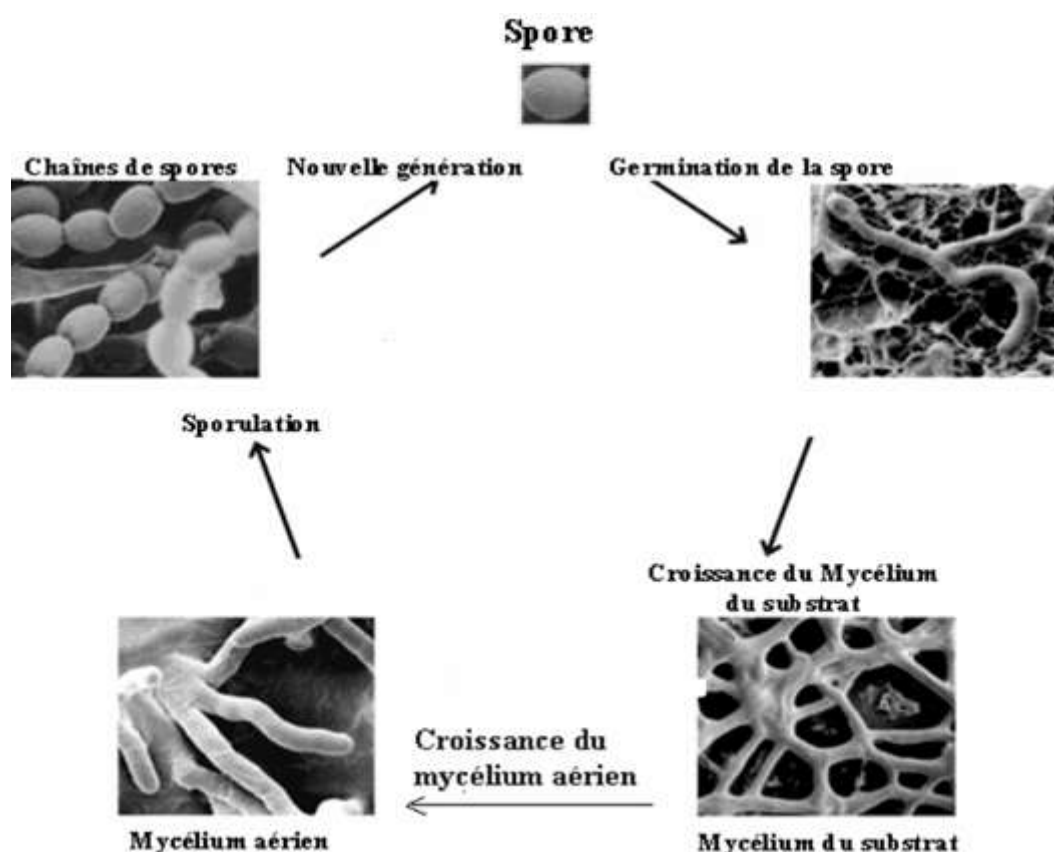


Figure 06 : Cycle de vie de *Streptomyces* sp

I. 4. 6. Le rôle des actinobactéries dans la croissance des plantes

Les activités microbiennes au niveau du sol accroissent la vitesse de synthèse et de minéralisation de la matière organique permettant ainsi une bonne nutrition pour les plantes. Les actinobactéries occupent une place de choix en raison de leurs nombreuses activités (Ames *et al.*, 1987, Hayakawa et Nonomura, 1989, Jarak *et al.*, 2006). En plus de leur rôle dans la décomposition de la matière organique (Hoster *et al.*, 2005). Les actinobactéries sont connues pour leur production de substances biologiquement actives telles les antibiotiques, les vitamines et les enzymes (de Boer *et al.*, 2005). Certaines espèces ont la capacité de solubiliser le phosphore (Crawford *et al.*, 1993). D'autres sont également impliquées dans le contrôle phytopathologique et dans la production des composés antifongiques (Riedlinger *et al.*, 2006).

I. 4. 6. 1. Production de l'acide indole acétique (AIA)

Les phytohormones sont des auxines, des gibbérellines ou de l'éthylène (Ahmad *et al.*, 2005). Parmi les auxines, l'acide indole acétique (AIA) occupe une place de choix. Il

est issu du métabolisme du L-tryptophane chez de nombreux microorganismes (Ghosh et Basu, 2006), (bactéries (Muller et *al.*, 1989), champignons (Stein et *al.*, 1990) et algues (Finnie et Van Staden, 1985). L'AIA est aussi produit par les jeunes feuilles et les graines de végétaux à partir de réactions de transamination et de décarboxylation du L-tryptophane (Sachdev et *al.*, 2009). En général, le L-tryptophane constitue le précurseur principal pour l'AIA (Chung et Tzeng, 2004). Les microorganismes telluriques utilisent les sources naturelles du tryptophane et améliorent la croissance des plantes (Narayana et *al.*, 2009). Les bactéries productrices des phytohormones sont considérées comme de véritables régulateurs de la croissance végétale dans des conditions de stress salin (Perrig et *al.*, 2007).

L'AIA influence plusieurs paramètres physiologiques chez la plante, à savoir L'élongation et la division cellulaire, la dormance apicale, la différenciation des tissus vasculaires, la production d'éthylène, l'initiation racinaire (Keyeo et *al.*, 2011) et la prolifération racinaire aboutissant ainsi à une meilleure disponibilité en eau et en nutriments (Ashrafuzzamann et *al.*, 2009). Selon Matsukawa et *al.*, (2007), chez de nombreuses espèces de *Streptomyces*, l'AIA stimule la formation du mycélium et améliore également la production des antibiotiques.

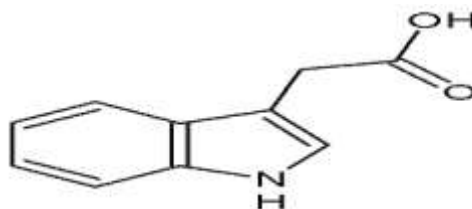


Figure 06 : Structure chimique de l'acide indole-3-acétique (AIA) (Antonio et *al.*, 1996).

I. 4 .6. 2. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est considéré comme l'un des éléments essentiels limitant la production agricole, sa teneur dans le sol est estimée à 400-1200 mg/Kg (Fernandez et Novo, 1988). Il est présent sous forme de composés métalliques liés au fer, à l'aluminium, ou au silicium dans les sols acides ou avec le carbonate de calcium dans les sols alcalins (Whitelaw, 2000). Afin de compenser cette pauvreté naturelle en phosphore, ce dernier est ajouté au sol sous formes de fertilisants phosphorés dont seulement 1% est utilisé par les plantes, le reste est rapidement converti en composés insolubles tels que les phosphates calcique et ferrique. Pour cette raison, les microorganismes solubilisant le phosphore ont un intérêt particulier (Yadav *et al.*, 2011), les bactéries et les levures sont les plus performants (Sahu *et al.*, 2007). Parmi les bactéries possédant cette activité, les *actinobacteries* occupent une place de choix (Jiang *et al.*, 2005).

Les mines marocaines, par exemple, sont riches en phosphore et constituent alors de bons sites pour l'isolement de ces bactéries (Hamdali *et al.*, 2008a). *Micromonospora auranticae* et *S. griseus* (Hamdali *et al.*, 2008b) et *S. lividans* (Hamdali *et al.*, 2010) isolés à partir des mines marocaines solubilisent efficacement le phosphore et améliorent sensiblement le poids frais des tiges et des racines (Hamdali *et al.* 2008b). Certaines actinobacteries possèdent une capacité importante de produire des phosphatases alcalines (Ghorbani-Nasrabadi *et al.*, 2013). *Micromonospora endolithica* par exemple, solubilise des quantités importantes de phosphore et produit des phosphatases alcalines et acides, à ceci s'ajoute sa capacité de coloniser *Phaseolus vulgaris* L. (El-Tarabily *et al.*, 2008).

La tomate, *Lycopersicon esculentum* Mill Est cultivée sur une superficie d'environ 3 millions d'hectares, soit environ un tiers des surfaces mondiales cultivées consacrées aux légumes. Elle est sujette à de nombreuses attaques parasitaires par une gamme assez large de ravageurs et maladies cryptogamiques causant ainsi des pertes remarquables de rendement (Nechadi et al., 2002).

La pourriture des racines et de collet causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* est une maladie très fréquente en Algérie. Elle peut causer des pertes important à l'échelle mondiale c'est pour cela la prévention de cette maladie est extrêmement importante pour la culture de la tomate (Shankara et al., 2005)

Les limites et les effets secondaires de la lutte chimique contre les agents pathogènes ont poussé différentes équipes à rechercher des stratégies plus efficaces et plus respectueuses de l'environnement. Ainsi, les méthodes de lutte biologique utilisant des agents antagonistes naturels sont considérées comme une voie alternative à l'utilisation des fongicides chimiques (Fravel, 1988). Plusieurs études ont ainsi montré l'efficacité de certains microorganismes sélectionnés pour contrôler des maladies causées par des champignons phytopathogènes. Parmi ces microorganismes, les actinobactéries qui se sont montrés particulièrement intéressants contre *Pythium ultimum* (Khan et al., 1997), *Verticillium dahliae* (Entry et al., 2000), *Phytophthora* sp. (Xiao et al., 2001) et *Fusarium oxysporum* (Getha et Vikineswary, 2002; Getha, 2005).

Les espèces de ce groupe sont connus pour leur grande capacité à produire des antibiotiques de différentes structures chimiques (Wohl et McArthur, 1998) à partir des sols, racines, sédiments,.....etc. (Goodfellow et Williams, 1983). Ces caractéristiques permettent aux actinobactéries d'être recherché (Barakate et al., 2002). Ces bactéries sont capables de coloniser diverses niches écologiques comme de bons agents antagonistes.

Parmi le groupe des actinobactéries, le genre *Streptomyces* est le plus répandu et le plus étudié dans le monde. Certaines des espèces de ce genre, bien connues pour leur pouvoir de production d'antibiotiques et d'enzymes lytiques, ont été intensivement étudiées en tant qu'agents de contrôle biologique contre les champignons phytopathogènes tel que *Fusarium oxysporum* (El Shanshoury, 1996).

Du fait de cet intérêt biotechnologique, il serait donc intéressant d'étudier. L'efficacité de certains actinomycètes présentant un potentiel antifongique vérifié *in vitro*.

L'objectif principal de notre étude est de tester l'effet de quelques isolats d'actinobactéries endophytes de plantes spontanées de la région de Laghouat contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* : agent causal de la pourriture racinaire et de collet de la tomate. Pour évaluer cet objectif nous nous sommes intéressés à étudier l'activité antifongique de ces souches par l'utilisation de trois méthodes : la méthode des stries croisées, la méthode des puits et la méthode des disques. L'étude du pouvoir de biosynthèse de phytohormones, la capacité de solubiliser les phosphates inorganiques sont également inclus dans nos objectifs.

*Matériel et
Méthodes*

II. Matériel et méthodes

II. 1. La variété de tomate

Les semences de tomate (*Solanum lycopersicum*) utilisées dans cette étude sont représentées par la variété Marmande. Le choix de la variété de tomate était basé sur sa très large utilisation en culture maraichère algérienne (Snoussi, 2010). Ainsi que sa sensibilité vis-à-vis de la pourriture racinaire et de collet ainsi que la fusariose vasculaire causée par différents, espèces du genre *Fusarium*.

II. 2. L'agent phytopathogène

La souche utilisée dans notre travail est représentée par un champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* obtenu confidentiellement du laboratoire de biologie des systèmes microbiens d'Alger.

II. 3. Les isolats d'actinobactéries

Un total de huit espèces d'actinobactéries endophytes ont fait l'objet de notre étude. Ces actinobactéries endophytes ont été isolées à partir des racines de plusieurs plantes spontanées en mars 2012 et cela au laboratoire de microbiologie du département d'agronomie de l'Université de Laghouat (Nia et Chouyeb, 2012). Ils ont fait l'objet de plusieurs travaux de mémoires d'Ingénieurs d'Etat et de Master en agronomie portant sur la caractérisation et l'implication de ces souches à la fois en lutte biologique contre certains agents phytopathogènes de la tomate ainsi que dans la promotion de la croissance de cette plante.

Au sujet de notre travail, nous nous intéressons de notre côté à persévérer les travaux de caractérisation de ces espèces d'actinobactéries notamment dans le sens de l'éventuel effet de solubilisation des phosphates inorganiques et de l'effet PGPB sur les plantules de tomate.

II. 4. Méthodes d'étude

II. 4. 1. Activité antifongique

Dans le but d'évaluer l'activité antifongique des isolats d'actinobactéries endophytes contre plusieurs agents phytopathogènes (tableau01), la méthode des stries

croisées décrite par Boubetra et al. (2004) a été utilisé. Le principe de la méthode consiste à inoculer l'actinobactéries selon une strie latérale a la surface du milieu ISP2 (Shirlin et Gottlieb, 1966) en boîte de pétri (90mm de diamètre). La culture serait ensuite incubée à 30°C pendant 5 jours.

Après cette période, les souches teste parallèlement indiquées dans le tableau sont inoculées selon des stries parallèles et perpendiculaires a celle de l'actinobactéries en parallèle.

La boîte sera réincubée à nouveau et la zone d'inhibition est évaluée en millimètre (mm) après une incubation de 3jours à 25±0.5°C.

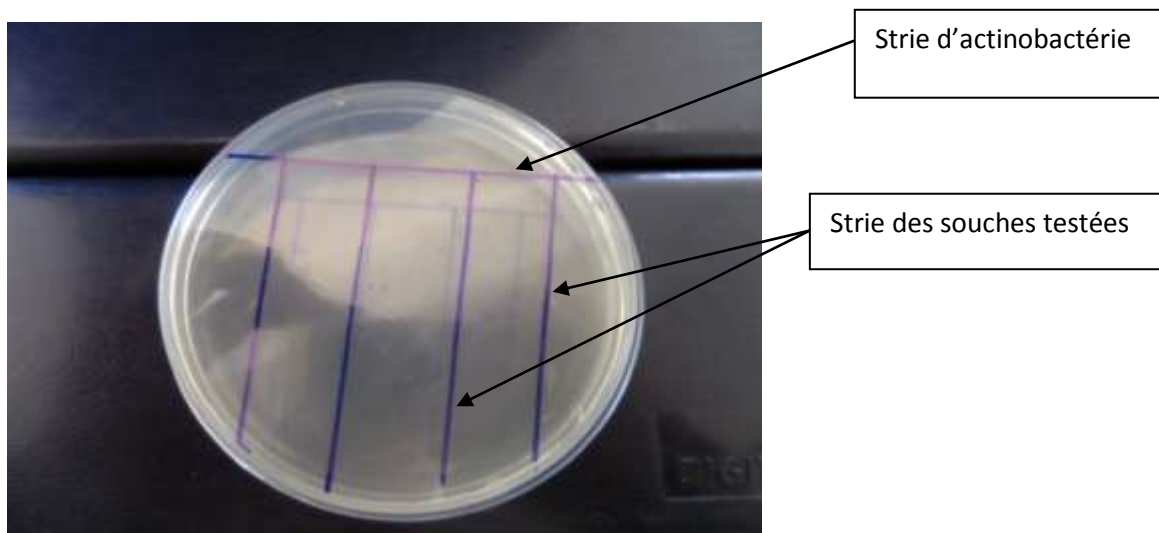


Figure 08 : Méthode des stries croisées

Tableau 01 : Les différents agents pathogènes utilisés dans la méthode des stries croisées

Numéro	Agent phytopathogene	code	Origine
1	<i>Fusarium. solani</i>	F.solani	Laboratoire de biologie des systemes microbiennes Alger
2	<i>Fusarium. equiseti</i>	Fe	
3	<i>Fusarium. proliferatum</i>	Fp	
4	<i>Fusarium. lini</i>	Fol	
5	<i>Fusarium oxysporum f. sp. albedinis</i>	Foa	
6	<i>Fusarium. graminearum</i>	Fg	
7	<i>Fusarium oxysporum f. sp. radidis lycopersici</i>	Forl	
8	<i>Fusarium. moniliform</i>	Fm	
9	<i>Fusarium. sporotrichoides</i>	Fs	
10	<i>Fusarium. culmorum</i>	Fc	
11	<i>Aspergillus carlonaruis</i>	Ac	
12	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ao	

II. 4. 1. 2. Méthode des disques

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

Après l'incubation, un explant 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 le taux l'inhibition de l'agent phytopathogene (en %) selon la formule citée en bas, une culture d'un témoin négatif de l'agent phytopathogène a été effectuée dans les mêmes conditions culturelles mais en absence de l'actinobactérie.

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

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

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

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

I(%) : taux d'inhibition

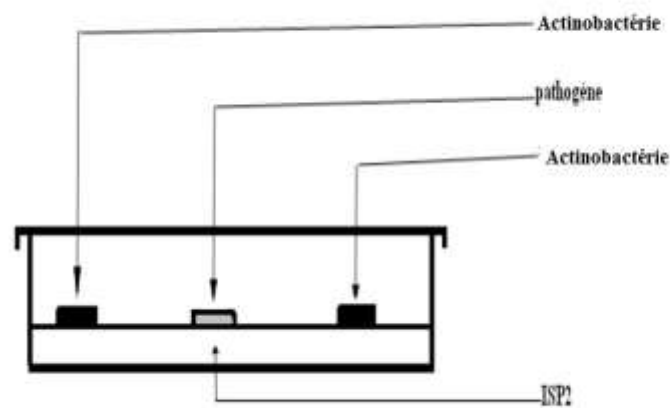


Figure 09 : Méthode des disques

II. 4. 1. 3. La méthode des puits

La méthode des puits décrit est la technique choisie pour déterminer l'activité antifongique de deux extraits organique d'*actinobacterie* obtenus. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire d'extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Cette méthode nous a permis de mettre en évidence l'effet antifongique de l'extrait de la souche LA10 vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ce champignon vis-à-vis de ces extraits (Janakat et al., 2005)

Cette méthode consiste à faire quatre puits de 6 mm de diamètre remplis d'une quantité de l'extrait à la surface de milieu ISP2. La culture serait ensuite incubée à 30°C pendant 5 jours.

Après l'incubation, un explant de 6 mm de 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 à l'aide d'un pied à coulisse.

II. 4. 2. Chromatographie analytique sur couche mince (révélation microbiologique des composés antifongiques bioautographie)

Une chromatographie sur couche mince (CCM) de gel de silice GF254, épaisseur 0,25 mm, Merck, Allemagne) est effectuée par dépôt de spots de l'extrait organique, en utilisant le système de solvant B.A.E. (3/1/1, v/v/v). Après saturation des cuves et migration, les plaques sont séchées puis observées à l'œil nu et sous lumière UV à 254 nm (absorption) pour localiser et délimiter les taches visibles. Lors de la bioautographie, il sera possible de localiser les taches actives en comparaison avec les observations sous UV.

La méthode de Betina (1973) est utilisée pour localiser sur les plaques CCM les taches actives présentes dans les extraits organiques et de déterminer leur nombre et leur rapport frontal. Les plaques CCM sont mises une nuit à 37°C pour évaporer complètement le solvant puis placées sur un support en verre dans une boîte en polyéthylène (22 x 24 cm). A la base de la boîte, une feuille de papier filtre imbibée de 30 ml d'eau stérile permet de maintenir une atmosphère humide et de retarder ainsi la dessiccation de la gélose au cours de l'incubation. Le dispositif est ensuite exposé durant 30 min sous UV à 254 nm.

A l'aide d'une pipette stérile, 50 ml de milieu ISP2 en surfusion est réparti sur la plaque sous forme de film fin uniforme. Après solidification de la gélose, des explants de 6 mm de diamètre d'une culture active de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* sont déposés sur le milieu. Les boîtes contenant les cultures sont mises à 4°C pendant 2 h puis incubées à 28°C. Les zones d'inhibition sont notées après 48 à 72 h et les Rf sont calculés pour les taches actives selon la formule :

$$\text{Rf} = \frac{\text{Distance de migration de la tache active (cm)}}{\text{Distance de migration du solvant (cm)}}$$

II. 4. 3. Purification des composés antifongiques par HPLC

La purification finale des composés antibiotiques de la phase organique est réalisée par HPLC sur colonne C18 en phase inverse. Cette colonne est très souvent préconisée,

dans la littérature, pour séparer les composés antibiotiques qui sont généralement de polarité moyenne et adaptés à cette colonne. Les conditions expérimentales sont les suivantes: appareils JASCO (contrôleur 600, pompe 600, détecteur Dual λ Absorption 2487, enregistreur Linear); colonne C18 (250 x 7,8 mm UP ODS); phase mobile (gradient méthanol-H₂O à croissance linéaire de 50 à 100% en 39 min); débit de 0,8 ml/min, détection en UV à 220 nm.

II. 4. 4. Production, révélation et dosage de l'acide indole-3-acétique (AIA)

Tous les isolats ont été étudiés pour leur faculté de produire cette hormone de croissance végétale selon la méthode de Bano et Musarrat (2003). Des disques gélosés de culture d'actinobactéries (6 mm de diamètre) ont été transférés aseptiquement dans des erlenmeyers de 250 ml contenant 25ml de bouillon YT. Les cultures ont été incubées pendant 3 jours en shaker (30°C, 200 rpm) puis centrifugées à 4000 rpm pendant 30 mn. Le surnageant a été récupéré pour subir une révélation de l'AIA par l'addition du réactif de Salkowski. Une coloration rose indique la présence d'un indole dans le surnageant. Le dosage de cette hormone a été effectué par photométrie à 530 nm.

$$R_f = \frac{\text{Hauteur de la tache}}{\text{Hauteur du front du solvant}}$$

II. 4. 5. Solubilisation des phosphates inorganiques et dosage du phosphore libre

Les méthodes de Franco-Correa *et al.* (2010) et de Liu *et al.* (2014) sont utilisées pour déterminer, dans un premier temps, le pouvoir de solubilisation de différentes sources de phosphates inorganiques par les souches d'actinobactéries étudiées. Des boîtes de Pétri contenant le milieu de Pikovskaya (Lieu *et al.* 2014) sont inoculées par des explants de 6 mm de diamètre de cultures actives des souches étudiées, puis incubées à 30°C pendant 5 jours. La solubilisation des phosphates inorganiques se traduit par l'apparition d'auréoles transparentes autour des colonies. Ainsi, la croissance de l'actinomycète et le diamètre de l'auréole de solubilisation sont notés.

Les souches ayant montrées des résultats positifs ont fait l'objet d'un deuxième screening pour évaluer leur potentiel de solubilisation des phosphates inorganiques. Pour cela , des cultures agitées sur bouillon de Pikovskaya ont été préparées et inoculées par 1

mL ($\approx 10^6$ UFC/mL) de la suspension microbienne étudiée. Après incubation de 5 jours (30°C à 200 rpm), les cultures sont centrifugées et le phosphate libre est dosé dans le surnageant par une méthode colorimétrique utilisée par Bashan et *al.* (2013).

II. 4. 6. Application de culture en hors sol

L'isolat de *Streptomyces* ayant montré des caractéristiques prometteuse pour le biocontrôle et la promotion de la croissance, a été retenu pour une application in planta, cette expérimentation apporter sur la préparation d'une solution de knop et des variant à base :

- Phosphate solubilisé par la souche *Streptomyces* sp. LA10.
- Solution de knop sans phosphore

Les différentes solutions de fertigation ont été utilisées par la nutrition hydrominérale des plantules de tomate *cv.* Marmande cultivé dans des pots en plastique, contenu un support inerte de perlite blanc, et a raison d'une plantule par pot. Les pots ensuit ont été déposé dans une chambre de culture à température ambiante ($\pm 22^\circ\text{C}$) et une photopériode Natural (environ 24h de lumière)

La fertigation a été effectué conditionnement à raison 20 ml par jour par pot après 50 Jours de culture, les plantules ont été délicatement récupérées et soumise à une évaluation de la longueur totale, la longueur des racines, le poids frais et le poids sec.

Résultats et discussion

III. Résultats et discussions

Notre travail apporté sur l'étude de huit isolats d'actinobactéries endophytes sélectionnés selon les travaux de Nia et chouyeb, (2012) ; Azouaou et kiboub, (2014). Comme des isolats prometteurs dans le biocontrôle de quelques agents phytopathogènes notamment *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

Les travaux effectués durant notre mémoire de fin d'étude ont porté sur une caractérisation morphologique en vue de déterminer les genres. Les isolats d'actinobactéries endophytes ont été ensuite caractérisés pour leur activité vis-à-vis de plusieurs agents phytopathogènes et leur faculté à produire des molécules antifongiques.

Nous nous sommes intéressés à la faculté des isolats à produire des phytohormones, et de solubiliser les différentes formes des phosphates inorganiques. L'application par culture de la tomate en hors sol a été envisagée à la fin de notre travail pour mettre en évidence l'éventuel effet des isolats les plus prometteurs dans la promotion de la croissance des plantules de tomate au stade pépinière. Les résultats obtenus sont représentés dans les parties suivantes :

III. 1. Caractéristiques morphologiques des isolats d'actinobactéries

Les résultats de la caractérisation morphologique des isolats d'actinobactéries sont regroupés dans le tableau 02.

Tableau 02 : Caractéristiques morphologiques et chimiotaxonomique des isolats d'actinobactéries

Isolat	Couleur du MA	Couleur du MS	Type de la chaîne de spores	Isomérisation du DAP	Série	Genre
LA10	Blanc rosâtre	Brin claire	RF	LL	Rouge	<i>Streptomyces</i>
LA11	Jaune pâle	Beige orange	RF	LL	Jaune	<i>Streptomyces</i>
LA12	Gris foncé	Beige claire	S	LL	Gris	<i>Streptomyces</i>
LA13	Gris	Beige claire	S	LL	Gris	<i>Streptomyces</i>
LA14	Gris claire	Non colore	S	LL	Gris	<i>Streptomyces</i>
LA15	Banc	Beige pale	Filament très fin et irrégulier	DL	/	Non-streptomyces
LA16	jaune	Olive claire	RF	LL	Jaune	<i>Streptomyces</i>
LA17	jaune	Beige claire	RF	LL	Jaune3	<i>Streptomyces</i>

Selon les résultats du tableau 02, nous remarquons que les isolats d'actinobactéries endophytes présentent des caractérisations morphologiques différentes. La majorité des isolats (quatre isolats) appartiennent à la série des gris, cependant deux isolats appartiennent à la série des jaunes et un isolat à la série des rouges. Pour la majorité des actinobactéries, nous avons remarqué la présence de chaîne de spores habituelles (chaînes de spores type *RF* (*Rectus-Flexibilis*) pour quatre isolats et chaînes de spores type *S* (*spiralis*) pour trois isolats. L'isolat LA16 s'est caractérisé par des chaînes de spores très fines et de longueur irrégulière. Selon Goudfellow et Simpson (1987), cette forme des chaînes de spores est inexistante parmi les espèces du genre *Streptomyces*.

L'analyse de l'isomérisation de l'acide-diaminopimélique (DAP) montre qu'à l'exception de la souche LA15, toutes les actinobactéries présentent un *LL-DAP*. Ceci confirme leur affiliation au genre *Streptomyces* conformément aux travaux de Sabaou et al., 1998. L'isolat LA15 dont le DAP est de type *DL*. Est considéré comme non-*Streptomyces*.

Il est important de signaler que nos résultats sont en accord avec la majorité des travaux portant sur l'identification des actinobactéries endophytes où la majorité des isolats appartiennent au genre *Streptomyces*.

III. 2. L'activité d'antibiose et de production des composés antifongiques

Parmi les isolats d'actinobactéries endophytes, la souche *Streptomyces* sp. LA 10 a été sélectionnée pour l'étude de son activité d'antibiose et de production des composés antifongiques. Le choix de cette souche a été effectué en se basant sur les résultats de Nia et Chouyeb (2012) ; Azouaou et Kiboub (2014) ayant rapporté l'efficacité de cette souche dans le biocontrôle de certains champignons phytopathogènes notamment *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

III. 2. 1. La méthode des stries croisées

La souche *Streptomyces* sp. LA10 a été confrontée vis-à-vis de plusieurs agents phytopathogènes. Les résultats obtenus selon la méthode des stries croisées sont regroupés dans le tableau 03

Tableau 03 : activités d'antibiose de *Streptomyces* sp. LA10 vis-à-vis de quelques agents phytopathogènes

Champignons cible	Zone d'inhibition (mm)
<i>Fusarium.solani</i>	14
<i>Fusarium.equiseti</i>	12
<i>Fusarium.proliferatum</i>	3
<i>Fusarium. lini</i>	4
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	4
<i>Fusarium. graminearum</i>	3
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	6
<i>Fusarium. moniliform</i>	3
<i>Fusarium. sporotrichoides</i>	2
<i>Fusarium. culmorum</i>	13
<i>Aspergillus carbonarus</i>	6
<i>Aspergillus ochraceus</i>	4

L'analyse des résultats du tableau 03 montre que cette souche est active contre la croissance mycélienne de tous les champignons phytopathogènes étudiés, Nous remarquons également que l'activité varie en fonction du champignon cible.

Une meilleur zone d'inhibition a été produite vis-à-vis de *F.solani*, *Fc*, *Fe*, et, alors qu'une inhibition moyenne a été montré contre les champignons : *Fusarium oxysporum* f. sp, *radicis lycopersici*. Pour le reste des champignons cibles ont montré une faible zone d'inhibition a été constaté.

Les travaux d'El- tarabily et al (2009) montrent que la production des composés antifongiques est considérée parmi les principales réactions de biocontrôle des champignons phytopathogènes de sol.

A la lumière de ces données nous nous sommes intéressés, durant notre travail à l'étude de la faculté de l'isolat LA10, à produire des composés antifongiques.

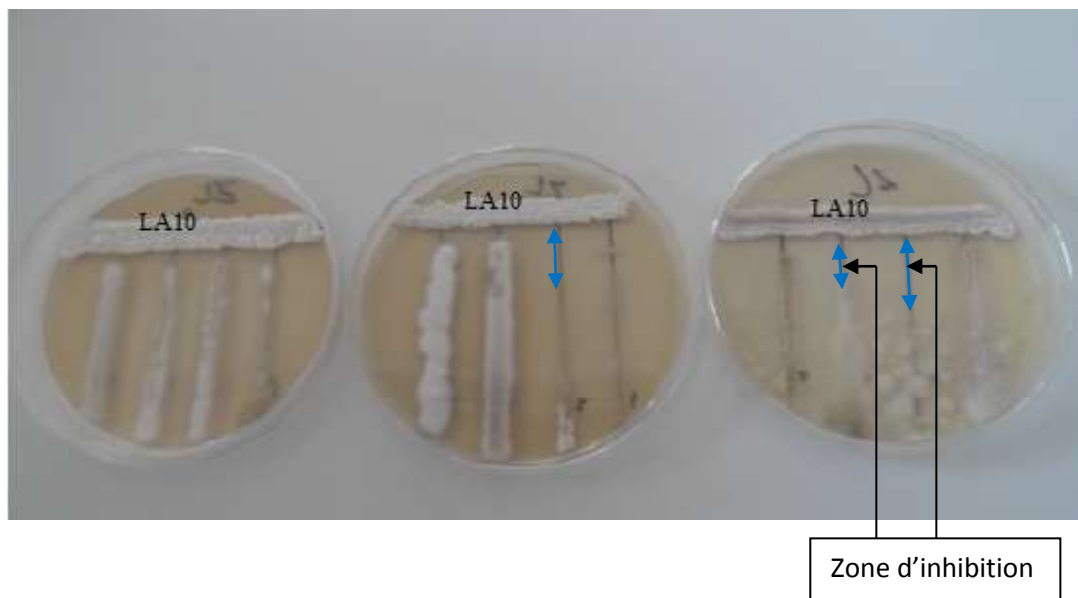


Figure 10 : activité antifongique de la souche LA10 contre quelques champignons phytopathogènes déterminée selon la méthode des stries croisées sur milieu ISP2

III. 2. 2. la méthode des puits et des disques

Le surnageant de culture de la souche *Streptomyces* sp. LA10 a fait l'objet d'une extraction des composés antifongiques tout en utilisant l'acétone et le méthanol comme solvants d'extraction.

Les extraits méthanoliques et acéthoniques ont été testés pour leurs activités antifongiques vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, en utilisant la méthode des puits et la méthode des disques imbibés. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 04.

Tableau 04 : Activités antifongiques des extraits méthanolique et acethonique contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*

Champignon cible	Zone d'inhibition (mm)			
	La méthode des puits		La méthode des disques imbibés	
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	Extrait méthanolique	Extrait acethonique	Extrait méthanolique	Extrait acethonique
	19	15	20	18

Les résultats du tableau 04 montrent clairement l'activité antifongique des extraits obtenus. Nous remarquons également que les extraits méthanoliques sont plus actifs que les extraits acethoniques. Ceci donne une idée sur la solubilité du composé produit par cette souche actif dans le méthanol.

De nombreux travaux de recherche ont confirmé le rôle des composés antifongiques synthétisés par *Streptomyces* spp. Et leur action contre la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (Hibar et al., 2009) . De plus, il est important de rappeler que la production des composés antifongiques par les *Streptomyces* antagonistes est considérée comme l'un des principaux mécanismes de biocontrôle des champignons phytopathogènes.

Dans le souci de déterminer le nombre de composés antifongiques présents dans les extraits de culture de *Streptomyces* sp. LA10, une bioautographie a été effectuée.

III. 3. Chromatographie analytique sur couche mince et révélation microbiologique des composés antifongiques (bioautographie)

Les résultats de la chromatographie analytique sur couche mince de gel de silice et la révélation microbiologique des composés antifongiques actifs contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* sont donnés par la figure de la photo 11.

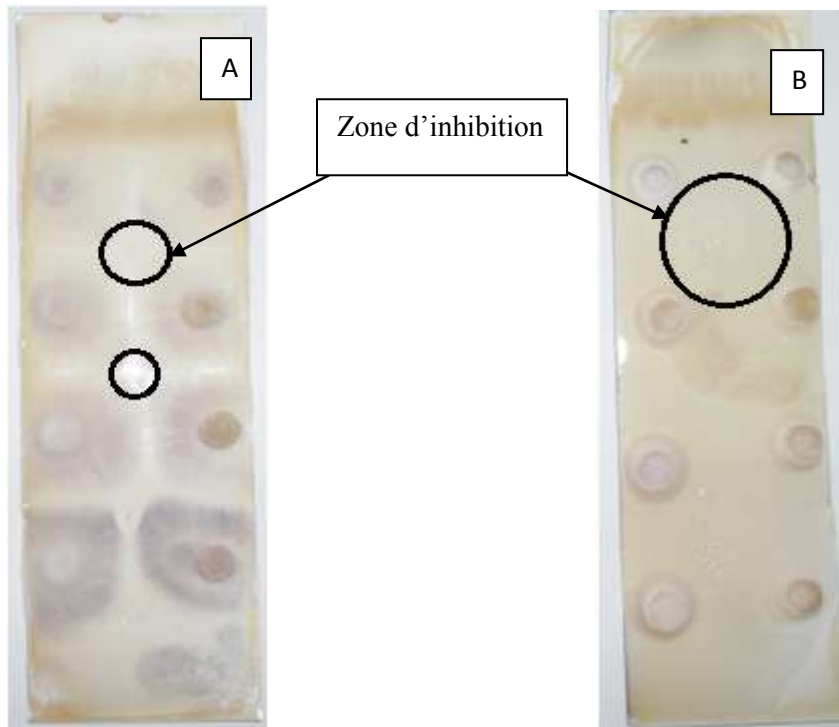


Figure 11 : Révélation microbiologique des composés antifongiques présents dans l'extrait méthanolique (A) et dans l'extrait acétonique (B) du filtrat de culture de la souche *Streptomyces* sp. LA10.

D'après les photos de la figure 11 nous remarquons pour chaque extrait l'apparition d'un seul zone d'inhibition.

Ces composés antifongiques séparés chromatographiquement sur couche mince sont caractérisés par des taches de $R_f = 0.5$ pour l'extrait méthanolique et $R_f = 0.5$ pour l'extrait acétonique. Ceci montre clairement que la souche *streptomyces* sp. LA10 a un seul composé antifongique dont l'activité contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* est démontré par bioautographie.

Le composé antifongique produit par cette souche a fait l'objet, ensuite, d'une purification par chromatographie liquide à haut performance (HPLC).

III. 4. Résultat de la purification des composés antifongiques par HPLC

Le profil d'élution de l'extrait méthanolique du filtrat de culture de la souche *Streptomyces* sp. AL10 est présenté dans la figure 12.

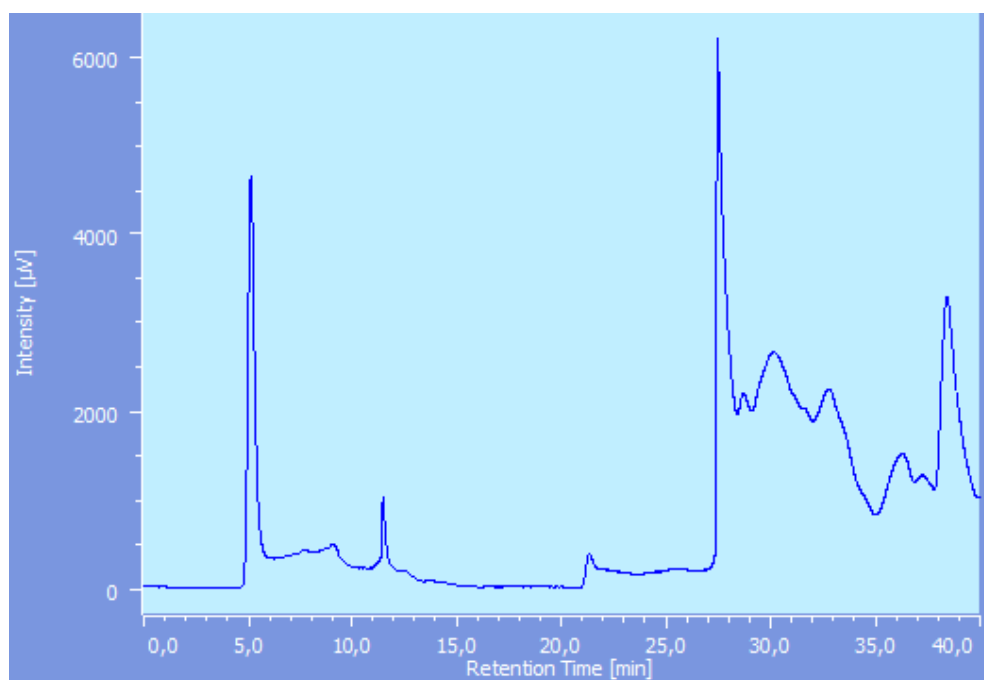


Figure 12 : Profil d'éluion de l'extrait méthanolique du filtrat de *Streptomyces* sp. LA10 par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La séparation de l'extrait méthanolique du filtrat de culture de *Streptomyces* sp. LA10 montre l'apparition de plusieurs pics, dont la majorité n'a été pas résolue. De plus, la séparation des différentes fractions pures devient impossible. Par conséquent, une modification de la méthode de résolution devient indispensable.

Les résultats de la séparation chromatographique ainsi obtenu ne pas permis de repérer des fractions purifiées et d'effectuer les tests d'antibioses. Par conséquent, ces antibiogrammes ne permettent pas de localiser les composés produits par *Streptomyces* sp. LA10.

III. 4. Production, révélation et dosage de l'acide indole-3-acétique (AIA)

La faculté des isolats d'actinobactéries endophytes à produire des phytohormones a été étudiée par culture agité sur milieu yeast extract additionné de L-tryptophane. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 05.

Tableau 05 : Production de l'acide indole-3-acétique par les différents isolats d'actinobactéries endophytes

Isolat	Acide indole-3-acétique Concentration (µg/ml)
LA10	117,70
LA11	37,92
LA12	84,05
LA13	44,41
LA14	35,94
LA15	81,06
LA16	00,00
LA17	25,08

À l'exception de la souche LA16, toutes les actinobactéries sont capables de produire l'AIA à des concentrations allant de 25.08 à 117,70 µg/ml (Tableau 05).

Plusieur travaux ont montrés la faculté des *Streptomyces* endophytes à produire des auxines notamment l'AIA (khaman et *al.*,2010). D'autre travaux ont montrer également la cpromotion de la croissance des plants cultivées, de tomate par exemple, en culture sous serre ou en culture hydroponique par des actinobacteries endophytes (Nia et chouyeb, 2013).

L'apparition de la couleur rouge après révélation chimique des indoles dans la filtrat de culture des différentes souches confirme la présence de composé à fonction indol (figure13).En vue de confirmer la présence de l'AIA, une analyse chromatographique sur CCM , en présence de l'AIA pur , devient dnc nécessaire.

Les résultats de chromatographie sur couche mince sont représenter par graphique la figure 14.

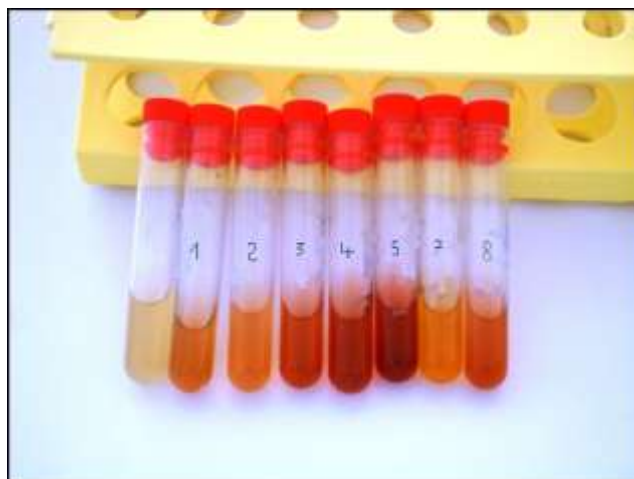


Figure 13: Révélation de l'acide indole 3-acétique

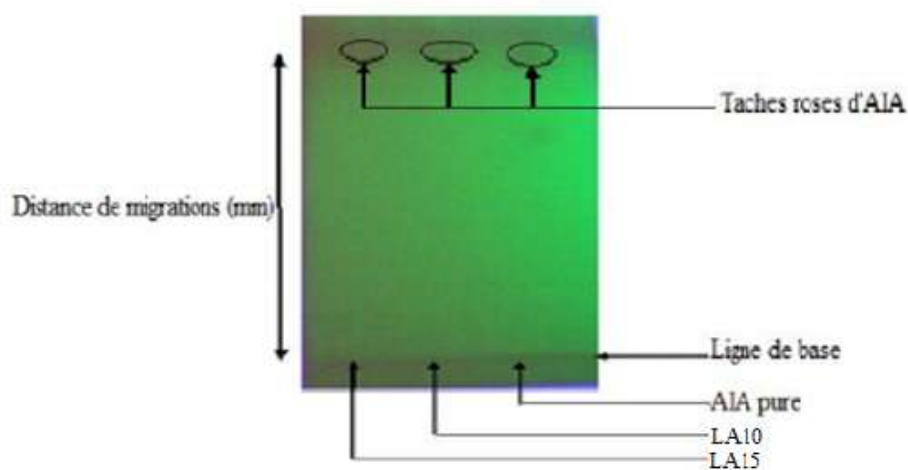


Figure 14: Analyse chromatographique sur couche mince de l'extrait à l'acétate d'éthyle du filtrat de culture des souches LA10 et LA15 en présence de l'AIA pur

Nous remarquons que les deux souches LA10 et LA15 montre deux tâches visibles à 220 nm dont le Rf correspond à celui de l'AIA pure, les Rf des deux tâches sont égales à celui de l'AIA pur ($R_f = 0.85$). Donc nous pouvons constater que les composés à fonction indole produits sont représentés par l'AIA.

Tableau 06 : Valeur du R_F obtenus par chromatographie sur couche mince (CCM)

	Hauteur de front de solvant (mm)	Hauteur de la tache	Rf
AIA pur	140	120	0.85
LA10	140	120	0.85
LA15	140	120	0.85

III. 5. Solubilisation des phosphates inorganiques

Les résultats des tests de solubilisation des phosphates inorganiques par culture sur les milieux PVK avec différentes sources de phosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, AlPO_4 et (FePO_4) sont représentés dans le tableau 07 :

Tableau 07 : Solubilisation des phosphates inorganiques par les souches d'actinobactéries endophytes

La souche	Milieu $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$		Milieu AlPO_4		Milieu FePO_4	
	Solide	Liquide	Solide	Liquide	Solide	Liquide
LA10	++	+++	++	+++	-	+
LA11	+	±	-	+	-	-
LA12	+	++	-	++	-	-
LA13	+++	+++	-	++	-	-
LA14	+++	+++	±	+	-	-
LA15	++	++	+	+	-	+
LA16	++	+++	-	-	-	-
LA17	++	++	-	+	-	-

(-) pas de croissance, (±) très faible croissance, (+) croissance modérée, (++) très bonne croissance, (+++) très bonne croissance avec disparition de l'opacité du milieu.

D'après les résultats du tableau 07, nous remarquons que tous les actinobactéries poussent sur milieu PVK additionné de phosphate tricalcique. La croissance de ces isolats est moindre en présence de phosphate d'aluminium.

Nous avons également remarqué une croissance plus prononcée dans le milieu liquide que le milieu solide, La croissance de ces isolats est accompagnée par halo claire transparent autour des colonies et par une disparition de l'opacité dans le cas des cultures agitées.

Ces observations peuvent être expliquées par la faculté des actinobactéries à solubiliser les phosphates inorganiques. Ces résultats sont identiques à ceux trouvés par Hamdali et al. (2008) ayant montré le rôle de *Streptomyce* spp. Isolés de sols marocains dans la solubilisation de différentes sources de phosphate insolubles et de roche de phosphate. Ces mêmes auteurs ont mis en évidence, à l'égard de nombreux autres travaux, l'implication de tel isolat de *Streptomyces* dans l'amélioration de la nutrition phosphatée de certaines plantes cultivées et la promotion de leur croissance.

Contrairement aux résultats obtenus avec le phosphate tricalcique, nous avons remarqué que la majorité des isolats d'actinobactéries ne croient pas sur milieu PVK contenu de phosphate ferrique comme seule source de phosphate.

Ces résultats sont en accord avec ceux donnés par Kim et al. (2014) qui rapportent la difficulté de solubilisation des phosphates ferriques. Ceci peut être expliqué selon les mêmes auteurs par un éventuel effet de toxicité par le fer.



Figure 15 : Solubilisation de phosphates inorganiques par les huit souches d'actinobactéries endophytes

III. 6. Application en culture en hors sol

Le phosphore solubilisé par voie microbiologique (par la souche *Streptomyce* sp. LA10) a été utilisé pour la préparation de la solution de Knop modifiée. L'effet de différentes variantes de cette solution de Knop sur la croissance des plantules cultivées sur un support de perlite inerte a permis d'obtenir les résultats mentionnés par l'histogramme de la figure 16.

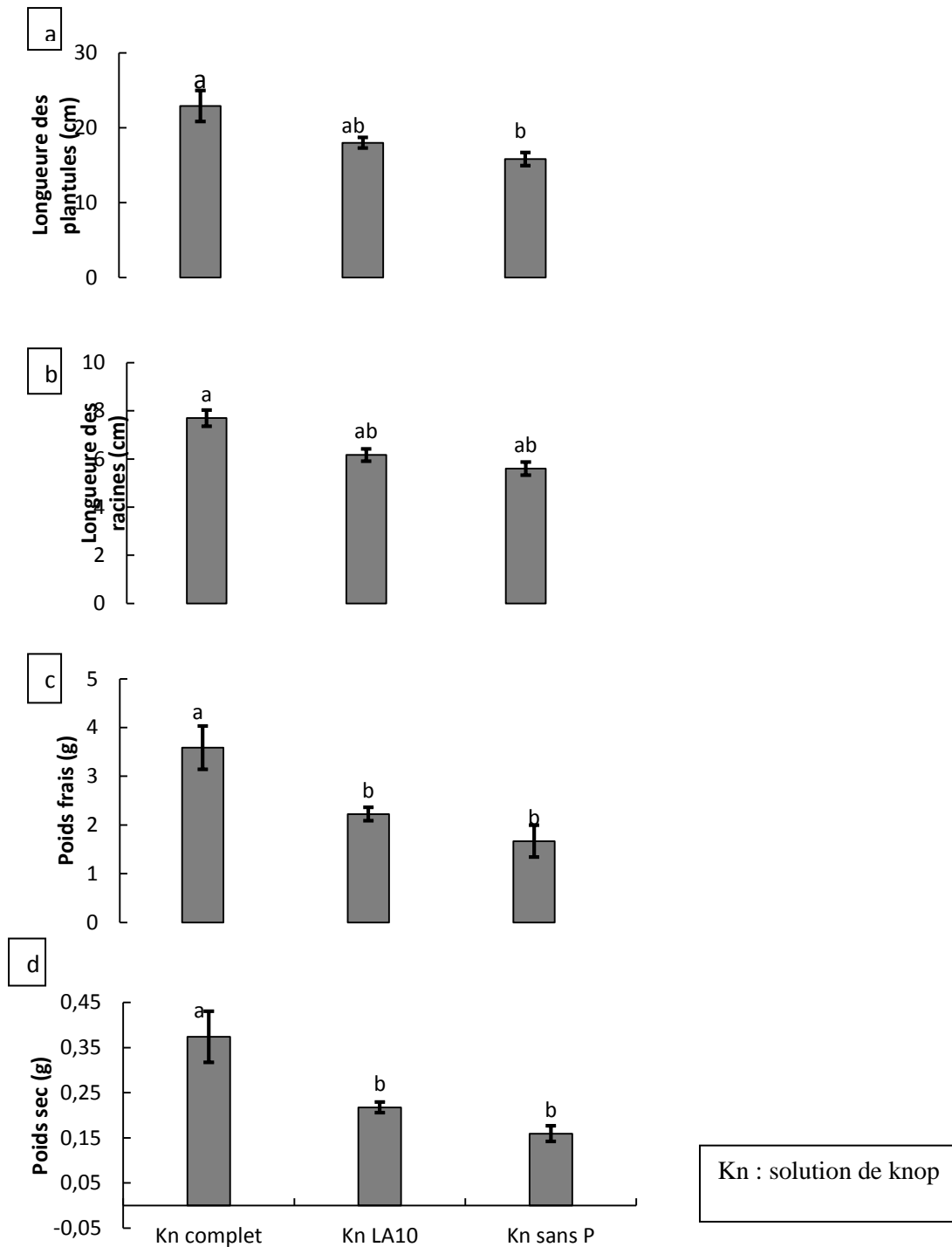


Figure 16 : effet de la composition de la solution de fertigation (solution de knop et solutions de knop modifiées), sur la longueur des plantules (a) la longueur des racines (b), le poids frais (c) et le poids sec des plantules de tomate cultivées sur support de perlite inerte. Les mesures ont été effectuées après 30 jours de culture .Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard calculée à partir de six répétitions avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différencier selon le test (il est a $P \leq 0.05$)

D'après les résultats de la figure 16 nous remarquons que les différentes variantes de la solution de knop ont permis d'avoir des résultats variables sur la longueur des plantules, la longueur des racines, poids frais, et le poids sec.

Les maximums des paramètres de croissance ont été obtenus avec la solution de fertigation knop complet, par ailleurs la solution de knop préparée par les phosphates solubilisés biologiquement (*Streptomyces* sp. LA 10) et la solution de knop sans phosphore permit d'avoir des résultats nettement plus importants.

Dans tous les cas, des différences non significatives ont été observées entre les résultats de ces deux traitements cependant, une légère augmentation des paramètres de croissance a été observée avec le phosphore solubilisé biologiquement.

Cette faible croissance peut être expliquée par l'absence de phosphore (cas de la solution de knop sans phosphate) et par une éventuelle insuffisance des phosphates libérés par *Streptomyces* sp. LA10, comparativement aux besoins des plantules.

Comme il a été rapporté par Hamdali et al. (2008), certains isolats de *Streptomyces*, capables de solubiliser les phosphates inorganiques, nécessitent une optimisation des conditions de culture en vue d'une libération maximale du phosphore libre et accessible par les plantes. Il serait donc intéressant de continuer cette expérimentation tout en essayant de chercher l'optimum pour une solubilisation maximale de phosphate inorganique est par conséquent, une promotion de la croissance de plants cultivés.

*Conclusion
et
Perspectives*

Conclusion

Les actinomycètes représentent un potentiel important de contrôle des maladies fongiques des végétaux. En effet, ces dernières décennies, plusieurs études se sont intéressées au rôle que pourraient jouer ces microorganismes dans la suppression des agents phytopathogènes, notamment *Fusarium oxysporum* qui provoque des maladies chez de nombreuses plantes (Sachdev et al. 2009).

Durant notre travail nous sommes intéressés à la caractérisation de 08 souches d'actinobactéries endophytes en vue d'une éventuelle application de biocontrôle et de la croissance des plantules de tomate.

La détermination préliminaire selon leurs macros, micromorphologie et par chimiotaxonomie montre que sept isolats sont classés parmi le genre *Streptomyces* et un seul a été considéré comme non-*Streptomyces*.

Selon la méthode des stries croisées, la souche *Streptomyces* sp. LA10 montre une activité antifongique contre la croissance mycélienne de douze champignons phytopathogènes étudiés, avec une variation de l'activité en fonction de champignon cible (2mm à 14mm). De plus les deux solvants d'extraction méthanol et acétone sont utilisés pour l'extraction des composés antifongiques de la souche *Streptomyces* sp. LA10, l'activité antifongique des extraits obtenus contre le FORL selon les méthodes des puits et disques montre clairement que l'extrait méthanolique est le plus actif.

La chromatographie analytique (bioautographie) confirme que cette souche produit un seul composé antifongique actif contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) montre l'apparition de plusieurs pics, dont la majorité n'ont été pas résolus.

Sept souches d'actinobactéries endophytes sont capables de produire l'acide indole-3-acétique (AIA) sur bouillon (YT). La chromatographie sur couche mince (CCM) nous a permis de confirmer la production d'AIA par les deux souches *Streptomyces* sp. LA10 a une production de (117.70µg/ml) Les huit souches d'actinobactéries sont capables de croître sur le milieu PVK (solide ou liquide).

additionné de phosphate tricalcique. Cette activité était beaucoup plus faible sur milieu PVK additionné de phosphate d'aluminium comme seule source de phosphate, cependant ces souches n'ont pas la capacité de se croître sur milieu PVK qui contient le phosphate ferrique.

Les essais effectués *in vivo* pour la variété Marmande, montrent que les phosphates solubilisés biologiquement (*Streptomyces* sp. LA10) et la solution de Knop sans phosphore permettent d'avoir une croissance des plantules moins importante que la solution de Knop complet.

En perspectives, nous envisageons de continuer à étudier la souche AL10, et confirmer l'identification des espèces par des techniques plus développées, de tester la combinaison de ces souches pour évaluer leur effet sur la croissance des plants. En outre, il serait intéressant également de tester l'aptitude de la souche *Streptomyces* sp. LA10 à produire des composés antifongiques et d'étudier son potentiel protecteur vis-à-vis d'autres agents phytopathogènes responsables de la fonte des semis de la tomate.

*Références
bibliographiques*

- Ahmad, F., I. Ahmad et M. S. Khan. 2005.** Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk. J. Biol.* n. 29, p.29-34.
- Ames, R. N., Mihara K. L et Bethlenfalvy G. V. 1987.** The establishment of microorganisms in vesicular-arbuscular mycorrhizal and control treatment. *Biol. Fertil. Soils*, n. 03, p. 217-223.
- Anonyme, 2009.** Production agricole, superficie. *Ministère de l'agriculture et du développement Rural*. Alger, 18p.
- Anonyme, 2010.** Caractéristique et importance de la tomate. *INRA*. P. 2-8.
- Ashrafuzzamann M., Farid A. H., Ismail M. R., Hoque M. A., Islam M. Z., Shahidullah S. M., Sariah M. 2009.** Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) of the enhancement of rice growth. *Afr. J. Biotech*, n. 08, p. 1247-1252.
- Badis A. 1992.** les actinomycètes du sol de la Mitidja: détermination des espèces, distribution écologique et aptitude à la dégradation des acides humiques. Thèse de Magister en Microbiologie, ENS de Kouba, Alger. 173p.
- Barakate M., Ouhdouch Y., Oufdou Kh. et Beaulieu C. 2002.** Characterization of rhizospheric soil streptomycetes from Moroccan habitats and their antimicrobial activities. *World J. Microb. Biot*, n.17, p.49-53.
- Bashan Y., Kamnev A.A. and De Bashan L.E. 2013.** Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. *Biol Fertil Soils*, n.49, p.465–479.
- Becking J.H. 1974.** - Family III. *Frankiaceae*. In: *Bergey Manual of Determinative Bacteriology*. 8 Eds. Buchanan R.E. and Gibbons N.E. (Eds.). Williams and Wilkins Co. *Baltimore*. p. 701-706.
- Benitez T., Rincón A.M., Limón M.C., Codón A.C. 2004.** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, n.7, p. 249-260.
- Benizri E., Baudoin E. et Guckert A. 2001.** Root colonization by inoculated plant growth rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology*, n.11, p. 557-574.

- Betina V. 1973.** -Bioautography in paper and thin layer chromatography and its scope in *Bacteriology*. Eds. Williams and Wilkins Co, Baltimore, Vol. 4. 2648p. the antibiotic field. *J.Chromat*, n.78, p.41-51.
- Garrity G.M., Bell J.A., and Lilburn T.G. 2004.** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Eds.. Williams and Wilkins Co, Baltimore, Vol. 4. 40p.
- Betina V. (1973).** Bioautography in paper and thin layer chromatography and its scope in the antibiotic field. *J. Chromatogr*, n.78, p. 41-51.
- Blancard D. 1988.** Maladies de la tomate : observé, identifié, lutté. *INRA*. Ed. Espagnole : P.151-187.
- Blancard D.1997.** *Les maladies de la tomate*. Edition. Paris : INRA. 212 p.
- Blancard D. 2001.** Les maladies de tomate, identifier, connaitre, maitriser. Éd. Paris : Quae. 690 p.
- Bouzigarne B., El-Maarouf-Bouteau H., Madiona K., Biligui B., Monestiez M., Pennarun A.M., Amiar Z., Rona J.P., Ouhdouch Y., El Hadrami I., Bouteau F. 2006.** *A putative role for fusaric acid in biocontrol of the parasitic angiosperm Orobanche ramose*, P.550-556.
- Champion R. 1997.** Identifier les champignons transmis par les semences. *INRA*. Edition. Paris : P.181-182.
- Chaux, C.L., Foury, C-L. 1994.** *Cultures légumières et maraichères*. Tome III : Chung K. R et Tzeng D. 2004. Légumineuses potagères, légumes fruit. Paris : Tec & Doc Lavoisier. 563p.
- Chebasse D., Cimon B., Brun S. et al. 2002.** *Cahier de formation biologie médicinale : Les moisissures d'intérêt médical*. Paris. 78 p.
- Biosynthesis of indole-3-acetic acid by the gallinducing fungus *Ustilago esculenta*. *J. Biol. Sci.* n.04 (6), p. 744-750.
- Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément C. et Barka E.A. 2005.** Use of plant growthpromoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, n.71, p. 4951-4959.
- Cook R.J. et Baker K.F. 1983.** *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. Americ : Phytopathol. Society. 530p.

- Corbaz R. 1990.** *Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes.* Presses polytechniques universitaires. Paris. 650p.
- Crawford D. L., Lynch J. M., Whipps J. M. et Ousley M. A. 1993.** Isolation and Characterization of *actinomycete* antagonists of a root fungal pathogen. *Appl. Environ. Microbiol*, n. 59, p.3899-3905.
- Cronquist F. 1981.** AN integrated system of classification of following plants. Columbia Université. 125p.
- De Boer W., Folman L. B., Summerbell R. C. et L. Boddy. 2005.** Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiol*, n.29, p. 795-811.
- DE-broglie., Gueroult. 2005.** *Tomate d'hier et d'aujourd'hui.* Paris. 134p.
- Dixon R., et Kahn D. 2004.** Genetic regulation of biological nitrogen fixation. *Nat Rev Microbiol*, vol. 2, p. 621-631.
- Dore, C., Varoqaux, F. 2006.** *Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées.* Ed. Paris : INRA. 698p.
- Dunne C., Delany I., Fenton A. et O'gara F. 1996.** Mécanismes involoved in biocontrol by microbial inoculants. *Agronomie*, n.16, p. 721-729.
- El-Shanshoury A.R., Abu El-Sououd S.M., Awadella O.A. and El-Bandy N.B. 1996.** Effect of *Streptomyces corchorusii*, *Strptomyces mutabilis*, Pendimethalin and Metricuzin on the control of bacterial and Fusarium wilt of tomato. *Can.J.Bot*, n.74, p.1016-1022.
- El-Tarabily K. A., Nassar A. H. et Sivasithamparam K. 2008.** Promotion of growth of bean (*Phaseolus vulgaris*L.) in a calcareous soil by a phosphatesolubilizing, rhizosphere-competent isolate of *Micromonospora endolithica*. *Appl. Soil. Ecol*, n.39, p. 161-171.
- 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 Biol. Bioch*, n.34, p.1-16.
- Emmert E.A.B., And Handelsman J. 1999.** - Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiol Lett*, n.171, p.1- 9.
- Entry J.A., Strsbaugh C.A., and Sojka R.E. 2000.** - Wood chip-polyacrylamide medium for biological bacteria decreases *Verticillium dahliae* infection on potato. *Biol. Sci. Techn*, n.10, p.677-686.

- 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. 262p
- Fernandez C. et Novo V. 1988.** Vida microbiana en el Suelo. Universidad de la Habana. 525p.ii
- Finnie J. F. et Van Staden J. 1985.** Effect of seed weed concentrate and applied hormones on in vitro cultured tomato roots. *J. Plant Physiol.* n.120, p. 215-222
- Franco-Correa M., Quintana A., Duque C., Suarez C., Rodriguez M. and Barea J. M. 2010.** Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Appl. Soil Ecol.* n.45, p. 209-217.
- Fravel D.R. 1988.** Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.* n.26, p.75-9
- Fravel D-R. 2005.** Commercialization and implementation of biocontrol. *phytopathol.* vol.43p.
- Gallais A., Bannerot H. 1992.** *Amélioration des espèces végétales cultivées objectif et critères sélection.* Paris : INRA. 765p.
- Gaussen H., Lefoy J., Ozenda P. 1982.** *Précis de botanique.* Deuxième éd. Paris: Masson. 172p
- Garrity G.M., Bell J.A., and Lilburn T.G. 2004.** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Eds.. Williams and Wilkins Co, Baltimore, Vol. 4. 40p.
- Getha K., and Vikineswary S. 2002.** Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f. sp, cubense race 4: indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* n.28, p.303–310.
- Ghorbani-Nasrbadi R., Greneir R., Alikhani H. A., Hamedi J. et Yakhchali B. 2013.** Distribution of actinomycetes in different soil ecosystems and effect of media composition on extracellular phosphatase activity. *J. Plant Sci. Plant Nutr.* n.13 (1), p.223-236.
- Ghosh S., et Basu P. S. 2006.** Production and metabolism of indole acetic acid in roots and root nodules of *Phaseolus mungo*. *Microbiol. Res.* n. 161, p.362-366.
- Goodfellow M. and Williams S.T. 1983.** Ecology of actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.* n.37, p.189-216.

- Hacène H., Sabaou N., Bounaga N. and Lefebvre G. 1994.** Screening for non-polyenic antifungal antibiotics produced by rare *Actinomycetales* *Microbios*, n.79, p.81-85
- Hamdali, H., A. Smirnov, C. Esnault, Y. Ouhdouch et M. J. Virolle. 2010.** Physiological studies and comparative analysis of rockphosphate solubilization abilities of *actinomycetes* originating from Moroccan phosphate mines and of *Streptomyces lividans*. *Appl. Soil. Ecol*, n. 44 p. 24-31.
- Hamdali H., Hafidi M., Virolle M. J et Ouhdouch Y. 2008.** Growth promotion and protection against damping-off of wheat by two rock phosphatesolubilizing actinomycetes in a P-deficient soil under greenhouse conditions. *Appl. Soil. Ecol*, n.40, p. 510-517.
- Hayakawa M et Nonomura H. 1989.** A new method for the intensive isolation of actinomycetes from soil. *Actinomyceto*, n. 03, p.95- 104.
- Helluy S. et Holmes J-C. 2005.** Parasitic manipulation: further considerations. *Behavioural Processes*, n.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.171p.
- Hibar K., daami-remadi M., Hamada W., El-Mahjoub M. 2006.** Bio-Fungicides as an alternative for tomato *fusarium* crown and root control. *Tunisien journal of plant protection*, vol.1, P. 19-29.
- Hoster F., Schmitz J. E. et Daniel R. 2005.** Enrichment of chitinolytic microorganisms: isolation and characterization of chitinases exhibiting antifungal activity against phytopathogenic fungi from a novel *Streptomyces* strain. *Appl. Microbiol. Biotech*, n. 66, p. 434-442.
- ITCMI. 2010.** Principaux désordres physiologiques, maladies et ravageurs présents en Algérie : les tomates. 64p.
- ITCMI. 2012.** Principaux désordres physiologiques, maladies et ravageurs présents en Algérie: les tomates. 64 p.
- Jarak M., R. Protic, S. Jankovic, etJ. Colo. 2006.** Response of wheat to *Azotobacter* actinomycetes inoculation and nitrogen fertilizers. *Romanian Agric. Res*, n. 23, p.37-41.
- Jarvis W-R., Shoemaker R-A. 1979.** Taxonomy status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. *Phytopath*,n. 68, p .1679- 1680.
- Jiang Y., Li W. J., Xu P., Tang S. K. et Xu L. H. 2005.** Study on diversity of

- actinomycetes salt and alkaline environments. *Wei Sheng Wu Xue Bae*, n. 46, p. 191-195.
- Joachin W. 2002.** The Actinomycetales, An order of the class of Actinobacteria Important. In: the pharmaceutical industry. *Electronic Manual*.
- Keyeo F., Noor O., Ai'shah, et Amir H. G. 2011.** The effects of nitrogen fixation activity and phytohormones production of diazotroph in promoting growth of rice seedlings. *Biotech.* n.10, p. 1-7.
- Khan N.I., Filonow A.B. and Singleton L.L. 1997.** - Augmentation of soil with sporangia of *Actinoplanes* spp. For biological control of *Pythium damping-off*. *Biocontrol Science and Technology*, n. 7, p.11–22.
- Kim S.B., Seong C.N., Jeon S.J., Bae K.S., et Goodfellow M. 2004.** Taxonomic study of neuro tolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil land description of *Streptomyces yeochonensis sp.nov.* *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* n.54, p.211-214.
- Larpent J.J. (2000).** Introduction à la nouvelle classification bactérienne, les principaux groupes bactériens. ed : *Tec et Doc*.280p.
- Laumonnier R. 1979.** *Cultures légumières et maraichère*. Tome III Ed. Paris: Bailliere. 279p.
- Lechevalier M.P. and Lechevalier H.A. 1970.** Composition of whole-cell hydrolysates as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. In: *The Actinomycetales* . Prauser H. (Eds.) *G. Fisher Verlag, Jena*, p.311-316.
- Lehr N-A., Schrey S-D., Hampp R., Tarkka M-T. 2008.** Root inoculation with a forest soil streptomycete leads to locally and systemically increased resistance against phytopathogens in Norway spruce. *New Phytol.* Doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02322.x.
- Lepoivre P. ET Semal J., 1988.** La lutte biologique en phytopathologie : Traité de pathologie végétal. *Presse Agronomique de Gembloux, Bruxelles (Belgique)*. p.465-487.
- Lepoivre, P. 2003.** Phytopathologie: bases moléculaires de biologiques des pathosystemes et fondement des stratégies de lutte. *De Boeck & Presses Agronomiques de Gembloux, Brussels, Belgium*. p. 275-309.
- Liu F., Liu H., Zhou H., Dong Z., Bai X., Bai P. and Qiao J. 2014.** Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from betel nut (*Areca catechu*)

and their effects on plant growth and phosphorus mobilization in tropical soils. *Biol Fertil Soils*, n.50, p.927–937.

Lugtenberg B., Chin-A-Woeng T., Bloemberg G. 2002. Microbe-plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, n.81, p.373–383.

Marrone P-G. 2002. An effective biofungicide with novel modes of action. *Pesticide-Outlook*, n. 13, p. 193-194.

Matsukawa E., Nakagawa Y., Limuraet Y., Hayakawa M. 2007. Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. *Actinomycetol.* 21: 32-39.

Misato T. (1982). Present status and future prospects of agricultural antibiotics. *J. Pesticides Sci.* n.7, p.301-305.

Muller M., Deigele C. et Ziegler H. 1989. Hormonal interactions in the rhizospheres of maize (*Zea mays*L.) and their effect on plant development. *Z Pflanzenernahar. Bodenkd.* n.152, p. 247-254.

Munroe B. et Small E. 1997. *Les légumes de canada.* Canada : Val Morin Québec. 436p.
Morrissey, J.P., Dow, J.M., Mark, G.L. et O’Gara, F. 2004. Are microbes at the root of a solution to world food production. *EMBO Reports.* vol. 5, p. 922-926.

Naika S., De Jeud. V.L., De Jeffau M., Hilmi M., Vandam B. 2005. *La culture de tomate, production, transformation et commercialisation.* Ed. Pays-Bas : Wageningen. 105p.

Narayana, K. J. P., P. Prabhakar, P. S. J. Krishna, Y. Venketeswarlu et M. Vijayalakshmi. 2009. Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces albidoflavus*. *J. Biol. Res.-Thessaloniki.* n.11, p. 49-55.

Paulitz T.C. et Bélanger R.R. 2001. *Biological control in greenhouse systems.* *Phytopathol.* n.39, p. 103-133.

Perrig D., Boiero M. L., Masciarelli O. A., Penna C., Ruiz O., Cassan F. D. et Luna M. V. 2007. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Appl. Microbiol. Biotech*, n. 75(5), p. 1143-1150.

Polese J-M. 2007. *La culture de la tomate.* Ed Artémis. 95p.

- Prévost K., Couture G., Shipley B., Brzezinski R., Beaulieu C. 2006.** Effect of chitosan and a biocontrol *streptomycete* on field and potato tuber bacterial communities. *Biocontrol*. n. 51, p. 533-546.
- Purseglove J. W. 1982.** Tropical crops: dicotyledons. *Logman Group. Ltd. Essex. CM20. 2JE. England.* P. 523-537.
- Raemaekers R. 2001.** Agriculture en Afrique tropicale. *Direction générale de la coopération internationale 2001.*
- Rahman, M-S., Ano, T. et Shoda, M. 2007.** *Biofilm fermentation of iturin A by a recombinant strain of Bacillus subtilis 168. J. Biotechnology*, n.127(3), p. 503-507.
- Rey Y., Costes C. 1965.** *La physiologie de la tomate : étude bibliographique.* INRA. 111p.
- Riedlinger J., Schrey S. D., Tarkka M. T., Hampp R., Kapur M. et H.P. Fiedler. 2006.** Auxofuran, a novel metabolite that stimulates the growth of fly agaric, is produced by the mycorrhiza helper bacterium *Streptomyces* Strain AcH 505. *Appl. Environ. Microbiol.* N.72(5), p. 3550-3557.
- 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., Bennadji H., Lefebvre G. et Germain P. 1998.** Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Sécheresse*, n.9, p.147-153.
- Sahu M. K., Sivakumar K., Thangaradjou T. et Kannan L. 2007.** Phosphate solubilizing actinomycetes in the estuarine environment: An inventory. *J. Environ. Biol.* n.28(4), p. 795-798.
- Smaoui S. 2010.** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir demicroorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat. Université deToulouse, (France). 251p.

- Shankara N., Joep Van Lidt J., Marja de Goffau., Martin H. et Barbara V. 2005** La culture de la tomate production, transformation et commercialisation. Ed. Prota, 105 p.
- 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.
- 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.
- Spadaro D. et Gullino M.L. 2004.** Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. *Crop Prot*, n.23, p. 1-13.
- Stein A., Fortin J. A. et Vallee G. 1990.** Enhanced rooting of *Picea marianacuttings* by ectomycorrhizal fungi. *Can. J. Bot*, n. 68, p. 492-498.
- Whipps J.N. 2001.** Microbial interaction and biocontrol in the rhizosphere. *Journal Exploitation botanique*, vol. 52, P. 487-511.
- Whitelaw M. A. 2000.** Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Adv. Agron* n. 69, p. 99-144.
- Wohl D.L., and McArthur J.V. 1998.** Actinomycete-flora associated with submerged fresh water macrophytes. *FEMS Microbiol. Ecol*, n.26, p. 135–140.
- Xiao K., Kinkel L.L. and Samac D.A. 2002.** Biological Control of *Phytophthora* Root Rots on Alfalfa and Soybean with *Streptomyces*. *Biol. Control*, n.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 of tomato. *Proc. Kansai. Plant prost. Soc*, vol. 16, P. 17-29.
- Yamamoto I., Komada H., Kuniyasu K., Saito M., and Ezuka A. 1974.** A new race of *fusarium oxysporum* f. sp, *Lycopersici* inducing root of tomato. *Proc. Kansai. Plant prost. Soc*, vol. 16, P. 17-29.
- Williams S.T., Sharpe M.E. and Holt J.G.1989.** *Bergey's Manual of Systematic.*

عنوان المذكرة: ذوبان الفوسفات غير العضوي من قبل معزولات أكتينوبكتيرية مضادة، ومحاولة تعزيز نمو شتلات الطماطم في الزراعة خارج التربة.

اللقب: حوماش الاسم: زهية
المؤطر: قسوجال – زعموم ميادة

ملخص: في هذه الدراسة قمنا باختبار تأثير ثمانية معزولات أكتينوبكتيرية ضد نمو فطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* لتحديد الأولي للمعزولات المنتقاة وفقا لمورفولوجيتها وتصنيفها الكيميائي مكننا من تصنيف سبع معزولات من جنس *Streptomyces* بينما اعتبرت واحدة من غير *Streptomyces*.

السلالة LA10 لديها نشاط هام مضاد لنمو 12 نوع من الفطريات الممرضة في الوسط ISP2. بالإضافة إلى ذلك المضاد الفطري للمستخلص الميثانولي للسلالة LA10 قام بتفاعل هام ضد الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. بالمقارنة مع المستخلص الأسيتوني. بالإضافة إلى ذلك قامت السلالة LA10 بتحليل مركبات مضادة للفطريات. هذا ما أكدها الكروماتوجرافي التحليلي والكروماتوجرافي السائل العالي الأداء (HPLC)

السلالات الأكتينوبكتيرية الثمانية المدروسة أظهرت القدرة على إنتاج هرمون النمو النباتي حمض الاندول-3-الخليك (IAA) وتذويب الفسفور غير العضوي في الوسط PVK مع أشكال مختلفة من الفوسفات.

اختبار الزراعة خارج التربة سمح بتحديد التأثير المهم للفوسفات الذوب من قبل السلالة LA10 على نوم شتلات الطماطم.
الكلمات المفتاحية: *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*، أكتينوبكتيريا وندوفيت، النمو الفطري، الاندول-3-الخليك (AIA)

Memory title: Solubilization of inorganic phosphates of actinobacteria antagonists isolates, and attempts to promote the growth of tomato seedlings in a soilless cultivation

Name: HOUMACHE

First name: Zahia

Directed by: GOUDJAL ZAMOUM M.

Abstract: This study, we tested the effect of eight actinobacteria endophytes against the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

The preliminary determination of the isolates purified according to their morphology and chemotaxonomy, have enabled us to classify seven isolates, from the genus *Streptomyces*, one isolate was considered *non-Streptomyces*.

The *Streptomyces* sp. LA10 has antifungal activity on mycelial growth of phytopathogenic agents on twelve ISP2 medium. In addition, the fungal methanol extract of the LA10 strain had significant action against the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* compared to acethonique extract, The LA10 strain synthesizes antifungal compounds. This was confirmed by analytical chromatography (bio-autography) and a high performance liquid chromatography (HPLC).

The eight tested strains actinobacteria show ability to produce growth phytohormones: Indole-3-acetic acid (IAA) and solubilizing the inorganic phosphorus on the PVK medium with different forms of phosphate.

A soilless cultivation test allowed to determine a significant impact phosphate solubilized by the LA10 strain on the growth of tomato seedlings.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, Actinobacteria, Endophytes, Indole-3-acetic acid (IAA), antifungal activity.

Titre du mémoire : Solubilisation des phosphates inorganiques par des isolats d'actinobactéries antagonistes, et essai de promotion de la croissance des plantules de tomate culture hors sol.

Nom : HOUMACHE

Prénom : Zahia

Encadreur : GOUDJAL ZAMOUM M.

Résumé : La détermination préliminaire des isolats purifiés selon leur morphologie et chimiotaxonomie, nous ont permis de classer sept isolats, parmi le genre *Streptomyces*, et un isolat a été considéré comme *non-Streptomyces*.

La souche *Streptomyces* sp. LA10 à une activité antifongique sur la croissance mycélienne de douze agents phytopathogènes sur milieu ISP2. De plus, l'extrait méthanolique de la souche LA10 avait une action importante sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* comparativement à l'extrait acethonique. La souche LA10 synthétise des composés antifongiques. Ceci a été confirmé par une chromatographie analytique (bioautographie) et une chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

Les huit souches d'actinobactéries testés montrent une capacité de produire des phytohormones : L'acide indol-3-acétique (AIA) et de solubiliser le phosphore inorganique sur le milieu PVK avec différentes formes de phosphate.

Un essai de culture hors sol permet de déterminer un effet important du phosphate solubilisé par la souche LA10 sur la croissance des plantules de tomate.

Mots clés : *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, actinobactéries, Endophytes, Activité antifongique, (AIA) L'acide indol-3-acétique.