



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : **Mr. BOUTERFAYA Hicham**

DOMAINE : Sciences de la Nature et de la Vie.

FILIERE : Sciences Agronomiques.

OPTION : Amélioration des plantes et Biotechnologie.

Thème

Mise en évidence du rôle de quelques isolats d'actinobactéries antagonistes dans la solubilisation des phosphates inorganiques et la promotion de la croissance des plantules de tomate en culture hors sol

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mlle. MARFOUA Mériem	Maître assistant A	Présidente
Mr. AIT SALAH Boubekeur	Maître assistant A	Examinateur
Mr. GOUDJAL Yacine	Maître de conférences B	Encadreur

Promotion : Juin 2015

BOUTERFAYA Hicham

Thème :

« Mise en évidence du rôle de quelques isolats d'actinobactéries endophytes dans la solubilisation des phosphates inorganiques et la promotion de la croissance des plantules de tomates en culture hors sol »

Résumé

Un total de neuf isolats d'actinobactéries endophytes ont été testé pour leur faculté à produire des composés antifongiques actifs contre plusieurs agents phytopathogènes notamment *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. L'extrait méthanolique du filtrat de culture de la souche *Streptomyces* sp. LA7 a montré la meilleure activité antifongique vis-à-vis *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. Les résultats de l'analyse par bioautographie ont montré que cette souche produit un seul composé antifongique actif contre cet agent phytopathogène. La production de l'acide indole-3-acétique sur bouillon *Yeast extract-Tryptone* (YT) additionné de L-Tryptophane était étudié pour tous les isolats. Sept actinobactéries sont capables de produire l'AIA. Le maximum de production était observé avec la souche *Streptomyces* sp. LA3 où la quantité d'AIA a atteint 164,49 µg/ml de filtrat de culture.

La majorité des isolats sont capables de croître sur milieu Pykoveskaya contenant du $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ et le AlPO_4 comme seules sources de phosphate. Au contraire, les isolats ne poussent pas sur ce milieu contenant des phosphates ferriques.

L'utilisation des filtrats de la souche *Streptomyces* sp. LA7 dans la préparation des solutions de knop modifiées et l'application de ces dernières dans la ferti-irrigation des plantules de tomate (cv. Marmande) cultivées en hors sol (Perlite inerte) permet d'améliorer l'assimilation du phosphore solubilisé et la promotion de la croissance des plantules.

De prometteuses possibilités d'application de cette souche d'actinobactérie dans le biocontrôle et dans la biofertilisation sont envisagées.

Mots-clés : Actinobactéries endophytes, Activité antifongique, *Solanum lycopersicum* L (cv. Marmande), Acide indole-3-acétique, Solubilisation des phosphates inorganiques.

BOUTERFAYA Hicham

Title :

«Study the role of some isolates antagonist actinobacteria in the solubilization of inorganic phosphates and promoting the growth of tomato seedlings in hydroponics.»

Abstract

A total of nine actinobacteria endophytic isolates were tested for their ability to produce antifungal compounds active against several plant pathogens including *Fusarium oxysporum f. sp. radicans lycopersici*. The methanol extract of the culture filtrate of *Streptomyces* sp. LA7 showed the best antifungal activity against *Fusarium oxysporum f. sp. radicans lycopersici*. The results of the analysis bioautography showed that this strain produces a single active antifungal compound against the plant pathogen. Production of indole-3-acetic acid on yeast extract-broth Tryptone (YT) supplemented with L-Tryptophan was studied for All isolates. Seven actinobacteria are capable of producing the AIA. The maximum production was observed with *Streptomyces* sp. LA3 where the amount of AIA has reached 164.49 g / ml of culture filtrate.

The majority of isolates are able to grow on Pykoveskaya medium containing Ca₃(PO₄)₂ and AlPO₄ as the only sources of phosphate. Contrary unlike, isolats don't grow on this medium containing ferric phosphate.

The use of the filtrates the strain *Streptomyces* sp. LA7 in the preparation of modified knop solutions and application in ferti-irrigation of tomato seedlings (cv.Marmande) grown in soil (inert Perlite) allowed himself to improve the assimilation of dissolved phosphorus and the promotion seedlings of growth.

A promising applicability of this strain of the biocontrol actinobacterium and biofertilization are considered.

Keywords: Actinobacteria endophytes, Antifungal activity, *Solanum lycopersicum* L (cv Marmande.) Indole-3-acetic acid, inorganic phosphate solubilization.

بوطرفاية هشام

العنوان:

« دراسة دور بعض المعزولات من البكتيريا اندوفيت في تدوير الفوسفات الغير عضوي و تحفيز نمو نباتات الطماطم المغروسة خارج التربة»

الملخص

تم اختبار قدرة 09 سلالات اكتينوبكتيريا على صنع المركبات المضادة للفطريات ضد عدة مسببات الأمراض النباتية خاصة *Fusarium oxysporum f. sp. radicylycopersici*. المستخلص الميثانولي المرشح من السلالة *Fusarium oxysporum f. sp. radicylycopersici* أظهر احسن نشاط مضاد للأمراض ضد *Streptomyces sp. LA7 lycopersici*

نتائج التحليل بواسطة bioautographie أثبتت ان السلالة تنتج مركب مضاد للأمراض وحيد نشط ضد هذا العنصر الممرض. إنتاج l'acide indole-3-acétique في محلول Yeast extract-Tryptone (YT) مضاف له L-Tryptophane درس من اجل جميع السلالات. 07 سلالات لهم القدرة على تصنيع l'acide indole-3-acétique قيمة الانتاج لوحظت مع السلالة *Streptomyces sp. LA3* اين وصلت كمية AIA الى 164,49 µg/ml

اغلبية السلالات يمكنها النمو في وسط Pykoveskaya يحتوي على $Ca_3(PO_4)_2$ و $AlPO_4$ كمصدر وحيد للفوسفور و العكس في وسط Pykoveskaya يحتوي على $FePO_4$

استعمال مستخلص السلالة *Streptomyces sp. LA7* في تحضير محاليل كنوب المعدلة و تطبيق هذه الاخيرة في سقي نباتات الطماطم (سلالة مارموند) المغروسة خارج التربة (برليت) تسمح بتحسين امتصاص الفوسفور الدائب و تحفيز نمو النباتات

الكلمات الدالة: اكتينومييسات اندوفيت , نشاط مضاد للفطريات، الطماطم سلالة مرموند، اسيد اندول 3 اسيتيتك، ذوبان الفوسفات الغير عضوي

Dédicaces

Tout d'abord nous remercions Allah, d'avoir pu achever cette mémoire, que nous espérons qu'en le consultant vous trouvez un sentiment de joie.

Je tiens à dédier mon travail à :

Mes très chères parents pour leurs Soutiens inconditionnels grâce auquel, nous avons eu la chance de réaliser nos études, chacun de leur manière.

Mes chères frères et mes sœurs et toute la famille de près ou de loin.

Mes collègues: Abdelhamid, Abdelkader, Rachid, Youcef, Islam, Fouad, Hadj Aïssa et Bouallem

Tous les amis surtout : Adel.

Remerciements

Nous remercions le tout puissant DIEU, pour la force qu'il nous a donné, et qu'il donne aux personnes qui nous ont aidés et soutenus.

Nous adressons nos sincères remerciements à M^{elle} Marfoua M., Maître assistant A au département des sciences agronomiques de l'Université de Laghouat, pour avoir accepté présider le Jury et à M. Ait-Salah B., Maître assistant A au département des sciences agronomiques de l'Université de Laghouat, pour avoir accepté examiner notre travail.

Nous tenons à remercier notre encadrant M. Goudjal Y, Maître de conférence B au département des sciences agronomiques de l'université de Laghouat, pour l'orientation, la confiance et la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nous tenons à saisir cette occasion et adresser nos sincères remerciements aux corps professionnels de département d'agronomie pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

BOUTERFAYA Hicham

Sommaire

Résumé

Dédicaces

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION 1

Partie I : Revue bibliographique

I. Généralités sur la tomate 3

I.1. Historique et origine de la tomate..... 3

I.2. Caractéristiques et description de la tomate 3

I.3. Classification de la tomate..... 3

I.4. Caractéristiques physiologiques de la tomate..... 4

I.4.1. Le cycle biologique de la tomate 4

I.5. Exigences édapho-climatiques de la culture..... 4

II. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* 5

II.1. Morphologie 5

II.1.1. Caractères culturaux 5

II.1.2. Micromorphologie 6

II.2. Taxonomie..... 6

II.3. Biologie de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*..... 6

II.4. Les maladies causées par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* 7

II.4.1. La pourriture racinaire et du collet 7

II.4.1.1. Les symptômes externes 7

II.4.1.2. Les symptômes internes 8

II.5. Facteurs favorisant le développement de la maladie..... 9

II.6. Moyen de lutte..... 9

II.6.1. Lutte prophylactique..... 9

II.6.2. Lutte chimique 10

II.6.3. Lutte génétique 10

II.6.4. Lutte biologique..... 11

a. Interaction plante- microorganisme 11

b. Notion de la lutte biologique	11
c. Les agents de lutte.....	12
III.2. Le cycle de développement des actinobactéries (Exemple: <i>Streptomyces</i> spp)	14
III.3. Actinobactéries endophytes	15
III.4. Rôle des actinobactéries dans le sol.....	16
III.4.1. La production d'antibiotique	16
III.4.2. Les antifongiques	16
III.4.3. La solubilisation des phosphates	16
III.4.4. La production de phytohormones.....	17
III.5. Le rôle des actinobactéries dans la croissance des plantes	17
III.6. Hormone de croissance et effet PGPB.....	17
III.6.1. Les auxines.....	17
III.6.2. La biosynthèse de l'auxine	18

Partie II : Matériel et méthodes

II.1. Variété de tomate	20
II.2. Agent phytopathogène.....	20
II.3. Les souches d'actinobactéries endophytes utilisées.....	20
II.4. Activité antifongique.....	21
II.4.1. La méthode des stries croisées.....	21
II.4.2. La méthode des puits	21
II.4.3. La méthode des disques.....	22
II.5. Chromatographie analytique sur couche mince et révélation microbiologique des composés antifongiques: bioautographie	23
II.6. Purification des composés antifongiques par HPLC.....	24
II.7. Production, révélation et dosage de l'acide indole-3-acétique (AIA).....	24
II.8. Solubilisation des phosphates inorganiques	25
II.9. Application: Effet PGPB en culture hors sol	25

Partie III : Résultats et discussions

III.1. Caractéristiques morphologiques des isolats d'actinobactéries	28
III.2. Résultats de l'activité d'antibiose et de production de composés antibiotiques.....	29
III.2.1. Résultats de l'activité d'antibiose par la méthode des stries croisées	29
III.2.2. Activité antifongique des extraits de culture de <i>Streptomyces</i> sp. LA7.....	31
III.3. Résultats de la Chromatographie analytique et révélation microbiologique des composés antifongiques (bioautographie)	32
III.4. Résultats de la purification des composés antifongiques par HPLC	33

III.5. Résultats de la production, de la révélation et du dosage de l'acide indole-3-acétique (AIA).....	34
III.6. Résultats de la solubilisation des phosphates inorganiques	37
III.7. Application: Effet PGPB en culture hors sol	39
Conclusion	42

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 1. Les différentes phases de développement de la tomate.....	04
Figure 2. Flétrissement et jaunissement des feuilles.....	08
Figure 3. Dessèchement et mort des feuilles.....	08
Figure 4. Brunissement des vaisseaux	09
Figure 5. Cycle de développement de <i>Streptomyces griseus</i>	15
Figure 6. Structure chimique de l'acide indole-3-acétique (AIA)	18
Figure 7. Etapes de biosynthèse de l'acide indole-3-acétique	19
Figure 8. Transport d'auxine dans le système racinaire.....	19
Figure 9. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersi</i> cultivé sur milieu PDA	20
Figure 10. Test de l'activité d'antibiose par la méthode des puits.....	22
Figure 11. Confrontation directe entre le champignon pathogène et l'actinobactérie sur milieu ISP2.....	23
Figure 12. Incubation des actinobactéries à 30°C sous agitation dans le bouillon YT.....	24
Figure 13. Schéma représentatif de l'application en hors sol.	26
Figure 14. Dispositif utilisé pour la culture en hors sol	27
Figure 15. Résultats de l'activité d'antibiose des actinobactéries vis-à-vis de quelques agents phytopathogènes déterminée selon la méthode des stries croisées.....	31
Figure 16. Révélation microbiologique des composés antifongiques présents dans l'extrait méthanolique (a) et l'extrait acétonique (b) du filtrat de culture de la souche <i>Streptomyces</i> sp. LA7	33
Figure 17. Profil d'élution par HPLC de l'extrait méthanolique du filtrat de culture de la souche <i>Streptomyces</i> sp. LA7	34
Figure 18. Dosage et révélation de l'acide indole-3-acétique.....	36
Figure 19. Analyse chromatographique sur couche mince des extraits à l'acétate d'éthyle du filtrat de culture des souches LA3 et LA1 et en présence de l'AIA pur.....	36

Figure 20. Culture agitée de la souche <i>Streptomyces</i> sp. LA7 sur milieu Pykoveskaya avec $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ et promotion la solubilisation de cette source de phosphore par disparition de l'opacité du bouillon	38
Figure 21. Résultats de solubilisation des phosphates par cultures agitée sur milieu Pykoveskaya contenant du FePO_4 comme seule source de phosphate.....	39
Figure 22. Effet de la composition de la solution de ferti-irrigation (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 (d) des plantules de tomates cultivées sur support de perlite inerte. Les mesures ont été effectuées après 30 jours de culture. La barre d'erreur représentent les erreurs standards calculées à partir de 6 répétitions. Les barres labellées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test LSD à $P \leq 0,05$	40
Figure 23. Courbe d'étalonnage standard d'acide indole-3-acétique.....	56

Liste des tableaux

Tableau 1. Les agents phytopathogènes utilisés dans le test d'activité antifongique	21
Tableau 2. Caractéristiques morphologiques et chimiotaxonomiques des isolats d'actinobactéries endophytes	28
Tableau 3. Activités d'antibiose de <i>Streptomyces</i> sp. LA7 vis-à-vis de quelques agents phytopathogènes	30
Tableau 4. Activités antifongiques des extraits méthanolique et acétonique contre la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	32
Tableau 6. Production de l' l'acide indole-3-acétique (AIA) par les différents isolats d'actinobactéries endophytes	35
Tableau 7. Résultats de la solubilisation des phosphates inorganiques par les souches d'actinobactéries endophytes	37

Abréviations

AIA:	Acide indole-3-acétique
CCM:	Chromatographie sur couche mince
cv:	Cultivar
DAP:	Acide 2,6-diaminopimélique
PGPR:	<i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i>
PGPB:	Plant-Growth-Promoting bacteria
R _f :	Rapport frontal
S:	<i>Spiralis</i>
RF:	<i>Rectus-Flexibilis</i>
YT:	Yeast extract-Tryptone
PVK :	Pykoveskaya agar
ITCM:	Instétue technique de la culture marichére
MA:	Mycélium aérien
LSD:	Low significative difference
ISP2:	Internatinal Streptomyces project 2

Introduction

INTRODUCTION

La culture de tomate est sujette à de nombreuses attaques parasitaires par une gamme assez large de ravageurs (mouche blanche, pucerons, thrips, nématodes...) et maladies cryptogamiques (mildiou, oïdium, pourriture grise et fonte des semis ...etc.) causant des pertes remarquables en rendement (Id-el Mouden et *al.*, 2010). La prévention de ces maladies devient donc d'une importance notable pour cette culture (Shankara et *al.*, 2005)

La présence de bactéries capables de favoriser la solubilisation du phosphate et de le rendre ainsi plus disponible pour les plantes a été démontrée dans la rhizosphère des plantes cultivées. Certains microorganismes capables de solubiliser le phosphate produisent également des substances de croissance comme l'acide indole-3-acétique. Des expériences ont montré que l'inoculation de bactéries qui solubilisent le phosphate peut augmenter les rendements en l'absence de fertilisation phosphatée (Kundu et Gaur, 1984).

Les *PGPB* (Plant Growth Promotion Bacteria) qu'elles soient des épiphytes et/ou des endophytes influencent leur hôte végétal par différents mécanismes. Ceci peut impliquer une stimulation directe de la croissance par le biais d'une bio fertilisation et via la sécrétion d'autres composés augmentant la croissance de leur hôte végétal, comme par exemple des sidérophores, la production de phytohormones, la solubilisation des phosphates, la fixation de l'azote atmosphérique, ce qui permet en retour une augmentation de la croissance de la plante (Sturz et Christie, 2003).

Les actinobactéries sont des procaryotes très recherchées en biotechnologie grâce à leur rôle important dans la production des composés bioactifs. Ce groupe de bactérie a fourni un nombre considérable d'enzymes, de composés antitumoraux, d'agents immunosuppresseurs, d'insecticides, d'antiparasites, d'herbicides, d'antioxydants, et surtout d'antibiotiques (Solanki et *al.*, 2008). Certaines espèces d'actinobactéries dégradent des composés organiques de synthèse qui sont en principe non biodégradables (Moody et *al.*, 2001). Les actinobactéries habitent dans le sol et sont importants décomposeurs de la matière organique, ce qui rend le sol fertile (Al-zarban *et al.*, 2002; Boughachiche et *al.*, 2005; Kitouni et *al.*, 2005).

Cette fonction de biodégradation des actinobactéries est due à la variété d'enzymes qu'elles peuvent synthétiser. En effet, les enzymes sont après les antibiotiques les plus importants produits des actinobactéries (Lopes et *al.*, 1999). L'action de ces

enzymes conduit à la dégradation des nutriments et sources d'énergie plus ou moins complexes. Elles sont utilisées dans la dégradation des biomasses végétales et animales (William *et al.*, 1993).

Ces microorganismes montrent non seulement un large spectre de diversité dans le type mais également dans le nombre d'antibiotiques produits (Raaijmakers *et al.* 2002; Gowan *et al.* 2005). Par exemple, certaines souches d'actinobactéries ont la capacité d'excréter des métabolites qui jouent un rôle important dans l'inactivation des facteurs de germination du pathogène ou la dégradation de leurs facteurs de pathogénicité comme les toxines (Welbaum *et al.*, 2004). Ainsi, la capacité de certaines d'entre eux à parasiter et à dégrader les spores des pathogènes. La production d'enzymes détruisant la paroi cellulaire a été démontrée (Whipps 2001). Une étude récente a démontré que l'espèce de la plante hôte a une influence significative sur la dynamique, la composition et l'activité des actinobactéries (Bergsma-Vlami *et al.*, 2005).

Les actinobactéries sont connus aussi pour leur pouvoir PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). Ils solubilisent quelques minéraux insolubles présents dans la rhizosphère tel que le phosphore et ils sont capables de produire certaines phytohormones (tel que l'acide indole-3-acétique (AIA) et des sidérophores. Certaines espèces d'actinobactéries sont capables de fixer l'azote atmosphérique (Sturz et Christie, 2003; Khamna *et al.*, 2010; Solans *et al.*, 2011).

C'est dans ce contexte que l'objectif de notre travail vise à tester des souches d'actinobactéries endophytes contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* et d'effectuer une caractérisation portant sur leur faculté à solubiliser différentes sources de phosphates inorganiques et de production de phytohormones capables de jouer un rôle dans la promotion de la croissance des plantes cultivées notamment les plantules de tomate.

Partie I :
Revue bibliographique

I. Généralités sur la tomate

I.1. Historique et origine de la tomate

La tomate est originaire de l'Amérique du sud. Son ancêtre sauvage, *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* était présent au Pérou, au Chili, dans la vallée des Andes et en Equateur (Doré et Varoqaux, 2006). Elle fut domestiquée au Mexique, puis introduite en Europe en 1544. De là, sa culture s'est propagée en Asie du Sud et de l'Est, en Afrique et en Moyen Orient. Sa première description fut faite en 1544 par le botaniste Italien Matthioli. Son nom latin *Lycopersicum esculentum* lui fut donné par le botaniste anglais Phillip Miller en 1731. Actuellement, et pour des raisons phylogénétiques, la tomate est appelée *Solanum lycopersicum* L (Shankara et al., 2005).

En Algérie, ce sont les cultivateurs de sud de l'Espagne (Tomateros), qui l'ont introduite étant donné des conditions qui lui sont propices. Sa consommation a commencé dans la région d'Oran en 1905 puis, elle s'étendit vers le centre, notamment au littoral algérois (Latigui et al., 1984).

I.2. Caractéristiques et description de la tomate

La tomate est une plante herbacée appartenant à la famille des Solanacées. Elle est généralement cultivée comme plante annuelle, elle peut atteindre une hauteur de plus de deux mètres (Chaux et Foury, 1994).

I.3. Classification de la tomate

La tomate dont l'appartenance à la famille des solanacées a été classée par Linné en 1753, comme *Solanum lycopersicon*.

Gausсен et al, en 1982, rappellent que la tomate appartient à la classification suivante:

Règne :	Planta
Sous règne :	Trachenobionta
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous classe :	Asteridae
Ordre :	Solnales
Famille :	Solanaceae
Genre :	<i>Lycopersicum</i>
Espèce :	<i>Solanum lycopersicum</i> L

I.4. Caractéristiques physiologiques de la tomate

De nombreux travaux ont été faits sur la tomate, ce qui nous permet de connaître assez bien son cycle biologique, ses exigences ainsi que les conditions de milieu, lui permettant un développement optimum et une bonne productivité (Raemaekers et *al.*, 2001).

I.4.1. Le cycle biologique de la tomate

D'après Gallais et Bannerot (1992), le cycle végétatif complet de la graine à la graine de tomate varie selon les variétés, l'époque et les conditions de culture. Il s'étend généralement de 3,5 à 4 mois du semis, jusqu'à la dernière récolte (7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit) (Gallais et Bannerot, 1992). Le cycle est représenté dans la figure 1.

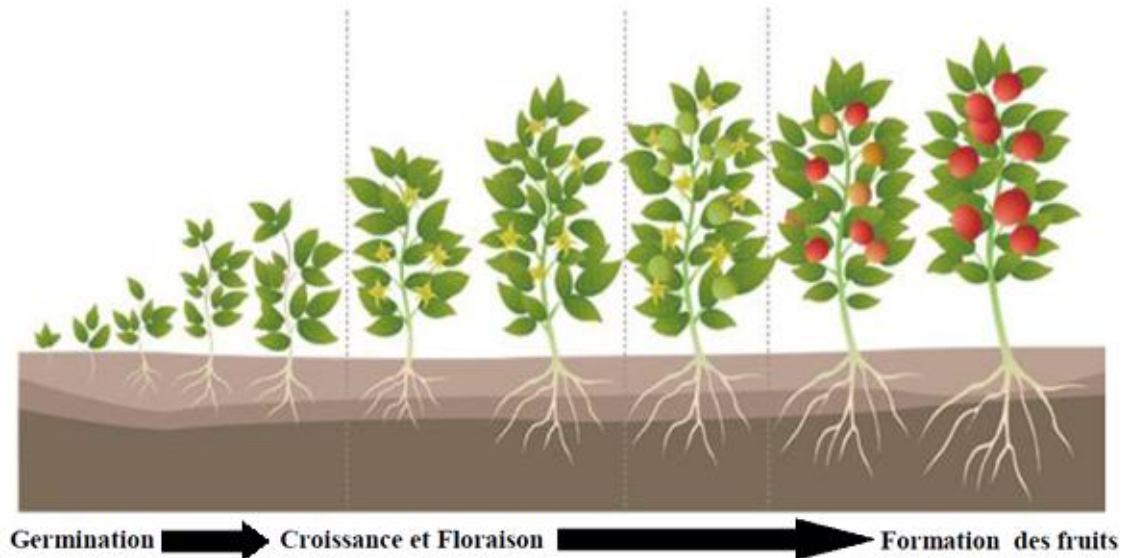


Figure 1. Les différentes phases de développement de la tomate (Polese et *al.*, 2007).

I.5. Exigences édapho-climatiques de la culture

La tomate est une plante des saisons chaudes, elle est exigeante en chaleur pour assurer son cycle végétatif complet. Les températures optimales pour la plupart des variétés sont entre 20 et 25 °C le jour et 15 °C à 17 °C la nuit (Shankara et *al.*, 2005).

La température du sol est le premier facteur dont dépend le pourcentage de levée et la vitesse de germination. Cette dernière augmente avec la température jusqu'à une valeur optimale de 25 °C (Rey et Costes, 1965).

La tomate n'a pas d'exigences particulières en matière de sol. Elle s'adapte bien dans les sols profonds, meubles, bien aérés et bien drainés. Une texture sablonneuse ou sablo-

limoneuse est préférable (Chibane et *al.*, 1999). Selon Verolet (2001), l'espèce de tomate est adapté à de nombreuses type de sol tant que sur le plan de la texture que du pH du sol.

La tomate paraît être l'une des cultures les plus exigeantes en eau. Les besoins de la tomate en plein champ se situent entre 4000 et 5000 m³/ha. Celles d'un cycle de 90 à 120 jours sont de 400 à 600 m³/ha. L'évolution des besoins en eau est en fonction de l'environnement, de la plante, mais aussi des stades de développement de celle-ci (Bussières e *al.*, 2002).

II. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*

Fusarium oxysporum est l'espèce de genre *Fusarium* la plus répandue dans la nature. Elle est présente dans les sols du monde entier où elle se comporte soit en parasite, soit en saprophyte. Il à de nombreuses formes spécialisées qui s'attaquent à une foule devégétaux (pois, tomate, allium, pastèque, melon, lin,...etc.). *Fusarium oxysporum* f.sp.*lini*, parasite du lin, 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 de semis (Champion et *al.*, 1997).

II.1. Morphologie

II.1.1. Caractères cultureux

Les *Fusarium* se développent bien sur milieu PDA. La température optimale de croissance varie entre 22 et 37°C. Les colonies duveteuses ou cotonneuses ont des couleurs variables (blanc, crème, jaune, rose, rouge, violet ou lilas) selon les espèces (Chebasse et *al.*, 2002).

Ce champignon a la particularité de se développer en saprophyte dans le sol. Il fait partie des champignons filamenteux appartenant à la famille des Tuberculariacées (groupe des Hyphomycètes) avec un mycélium aérien sur le milieu de culture potato-dextrose-agar (PDA) où il prend différentes couleurs (Snyder et Hansen, 1940).

Le *Fusarium oxysporum* produit trois types de spores asexuées (Burgess et *al.*, 1981):

- Des chlamydospores qui sont des formes de résistance pluricellulaires et munies d'une paroi épaisse qui permettra au champignon de survivre.
- De nombreuses microconidies unicellulaires et des macroconidies abondantes, constituées de deux à trois cellules, et qui possèdent la caractéristique principale de cette espèce lors des observations microscopiques.

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

II.1.2. Micromorphologie

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

II.2. Taxonomie

Règne : Champignons

Embranchement: Ascomycota

Classe: Sordariomycetes

Sous-classe: Hypocreomycetidae

Ordre : Hypocreales

Famille: Nectriaceae

Genre: *Fusarium*

Espèce: *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (Jarvis et Shoemaker, 1978).

II.3. 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 chancre (stade de croissance plus avancé) (ITCMI, 2012).

La dissémination du champignon se fait au niveau du sol par les eaux de ruissellement, le vent, ou les éclaboussures, ou les importations dans l'exploitation de terreau ou de plants contaminés. Le champignon semble plus agressifs sur des cultures ayant connu un stress (excès d'eau ou température trop froide) (ITCMI, 2012).

II.4. Les maladies causées par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*

II.4.1. La pourriture racinaire et du collet

La pourriture des racines et du collet est une maladie causée par *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicislycopersici* (Forl) (Jarvis et Shoemaker, 1978). Cette maladie a été découverte pour la première fois au Japon en 1969 (Menzies et Jarvis, 1994) et elle 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 où elle est plus ou moins dommageable (Blancard et *al.*, 1997).

Cette maladie terricole affecte les plantules et entraîne leur mort (Henni et *al.*, 1998). Elle peut s'exprimer surtout à maturité lorsque les plantes sont chargées de fruits (Blancard et *al.*, 1997).

II.4.1.1. Les symptômes externes

Les feuilles asséchées gardent leur chlorophylle et apparaissent avec un aspect gris verdâtre (Laterrot et *al.*, 1978). Il s'ensuit un jaunissement puis une nécrose d'une partie ou de la totalité du limbe avec des éclaircissements au niveau des nervures (Fig. 2, 3 et 4).

L'atteinte des feuilles se fait progressivement de bas en haut ce qui fait que les feuilles se trouvant à la base de la plante sont déjà mortes (Messiaen et *al.*, 1981).

Il arrive fréquemment qu'un seul rameau soit atteint et ceci avant l'apparition des symptômes de la maladie sur le reste de la plante. Au niveau de la tige de la plante atteinte, apparaît une dépression longitudinale qui part du collet puis remonte unilatéralement. Les tissus au niveau de la dépression sont de couleur brune (Bouhot et *al.*, 1972).

D'autres symptômes peuvent parfois apparaître à savoir: l'inclinaison et la courbure progressive vers le sol des pétioles et des limbes (épinastie), le ralentissement de la croissance et la formation de bourrelets adventives sur la tige (Laterrot et *al.*, 1978).



Figure 2. Flétrissement et jaunissement des feuilles (Agris et *al.*, 2005)



Figure 3. Dessèchement et mort des feuilles (Agris et *al.*, 2005)

II.4.1.2. Les symptômes internes

Il convient à noter que le système vasculaire présente aussi quelques symptômes, bien que nous n'ayons pas à faire à une maladie uniquement vasculaire. D'une manière générale, le cylindre central des grosses racines révèle des brunissements assez marqués. Il en est de même pour les tissus vasculaires du pivot et ceux situés de part et d'autre de ces derniers. Le brunissement peut s'étendre jusqu'à la tige sur plusieurs dizaines de centimètres au-dessus du collet (figure 4).

Des racines adventives se développent parfois sur la tige pour faire face à l'attaque du champignon (Blancardet *al.*, 1997).



Figure 4. Brunissement des vaisseaux (Agrios et *al.*, 2005)

II.5.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 stagnant est aussi un facteur qui favorise le développement de la fonte de 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).

II.6.Moyen de lutte

II.6.1. Lutte prophylactique

Tous les moyens de contrôle de la fonte de semis sont des mesures préventives plutôt que curatives. Éviter les conditions froides et humides pendant la germination des graines et la croissance des plantules réduiront l'incidence de la fonte des semis (ITCMI, 2012).

Le sol froid, compacté, mal drainé est une des conditions propices pour la fonte des semis. Pour cela il faut éviter de planter dans ce type de sol, les graines qui 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 de semis plus faible dans les bacs à semis ou en fournissant une ventilation adéquate. Un éclaircissage

des semis trop denses 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 (ITCMI, 2012).

Les organismes responsables de la fonte des semis sont soit déjà présents dans le sol soit introduits 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).

II.6.2. Lutte chimique

Plusieurs stratégies chimiques permettent de lutter contre l'invasion d'une plante par un champignon, de façon directe ou indirecte. En effet, certains fongicides agissent sur le système énergétique des cellules fongiques en inhibant les processus respiratoire. D'autres agissent sur la synthèse des constituants du champignon. 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 et *al.*, 2004).

II.6.3. Lutte génétique

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

A fin de présentés tous ces moyens de lutte, il faut signaler qu'aux stades juvéniles de la culture des tomates (plantules fragile) surtout dans le cas des sols contaminés par le *Fusarium*, la lutte génétique ne est pas efficace.

II.6.4. Lutte biologique

a. Interaction plante- microorganisme

Depuis plus d'un siècle, la compréhension des interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère a suscité l'intérêt de nombreux chercheurs. Hiltner (1904) fut le premier à définir la rhizosphère comme étant la zone de sol entourant la racine qui est directement ou indirectement influencée par cette dernière et qui présente une forte activité microbienne (Lemanceau et *al.*, 2006).

La microflore rhizosphérique est naturellement constituée d'un assemblage complexe de microorganismes procaryotes et eucaryotes. Parmi ces microorganismes, certains sont présents dans la rhizosphère sans que leur influence sur le développement des végétaux ne soit connue (microorganismes commensaux), certains sont favorables aux plantes (mutualistes) alors que d'autres ont des effets délétères sur les plantes (parasites et phytopathogènes) (Kent et Triplett, 2002; Cardon et Gage, 2006).

L'utilisation de microorganismes pour améliorer la croissance et la santé des plantes repose principalement sur l'inoculation. Les microorganismes, tels que les champignons mycorrhizogènes (Elhassan et *al.*, 2010; Gianinazzi et *al.*, 2010) et les bactéries fixatrices d'azote, représentent un potentiel important pour l'amélioration de la croissance des plantes et la lutte biologique contre les maladies d'origine microbienne (Bhattacharjee et *al.*, 2008; Elhassan et *al.*, 2010).

b. Notion de la lutte biologique

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

Les 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 Gallino, 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 des métabolites secondaires par un autre microorganisme (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. Les antibiotiques agissant par l'inhibition de la croissance mycélienne ou interférente avec la germination et/ou la sporulation des agents phytopathogènes, d'autres provoquent la distorsion des hyphes fongiques (Lepoivre et al., 2003).

La compétition nutritive est un moyen important de 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 PGPR protègent les racines et occupent les sites d'infection aux agents phytopathogènes (Benitez et al., 2004; Compant et al., 2005).

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 *Rhizoctania solani* par sécrétion de glucanases et de protéases (Paulitz et Bélanger, 2001).

c. Les agents de lutte

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).

III. Les actinobactéries

Les actinobactéries sont des bactéries à Gram positif avec un coefficient de Chargoff (G+C) élevé, saprophytes, largement distribuées dans le sol, l'eau et les plantes. Elle montrent une diversité chimique et morphologique marquée, mais forment une ligne distincte de l'évolution des organismes (Goodfellow et O'Donnell, 1989). Bien que les actinobactéries soient des microorganismes procaryotes, leur morphologie ressemble fortement à celle des microorganismes eucaryotes comme les champignons filamenteux (Osada et al., 1998). Les lignes distinctes présentent des similitudes avec les eubactéries et les champignons. Il existe des formes de transition, mycéliennes typiques et unicellulaires,

présentant une aptitude peu marquée à former un mycélium ramifié. Le diamètre des filaments des formes mycéliennes est toutefois environ dix fois plus faible (0,5 à 1,2 μm) que celui des mycéliums de champignons.

Les actinobactéries sont répandues dans l'environnement et la plupart des espèces chimioorganotrophes, aérobies, mésophiles et croissent de façon optimale dans la gamme de pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité (Williams et Wellington, 1982; Goodfellow et Williams, 1983).

Ces microorganismes sont capables de coloniser la rhizosphère grâce à leurs caractères antagonistes et compétitifs vis-à-vis des autres microorganismes du sol. Certains sont connus pour leur production de sidérophores qui permettent de chélater le fer et le privent des autres microorganismes (Cao et al., 2005; Getha et al., 2005). La production de sidérophores par *Streptomyces griseorubiginosus* est efficace dans la lutte contre la fusariose du bananier causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Getha et al., 2005).

D'autres actinobactéries sont parasites de champignons en produisant des enzymes qui leur permettent de dégrader la paroi des cellules fongiques. Le parasitisme des mycéliums de champignons par les actinobactéries a été décrit dans plusieurs travaux (Tréjo-Estrada et al., 1998; El-Tarabily et al., 2000; El-Tarabily et Sivasithampar, 2006; Errakhi et al., 2007; Khan et al., 2008).

Les actinobactéries peuvent agir également par compétition nutritionnelle et spatiale contre les microorganismes phytopathogènes. Leur faculté d'adaptation à différents milieux rhizosphériques leur permet d'être un bon compétiteur (El-Tarabily et Sivasithampar, 2006). De plus, ils sont connus par leur capacité de produire des antibiotiques qui leur permettent d'inhiber les agents phytopathogènes (El-Tarabily et Sivasithampar, 2006). Tréjo-Estrada et al., (1998) ont montré une corrélation entre la production d'antibiotiques dans le sol et l'efficacité des actinobactéries dans la lutte contre les agents phytopathogènes. Par exemple, *Streptomyces violaceusniger* YCED9 produit trois composés antifongiques dont la nigrecine, la geltanamycine et la guanidylfingine impliquées dans la lutte contre les agents phytopathogènes. De même, plusieurs antibiotiques produits par les actinobactéries sont actuellement utilisés dans la lutte biologique.

Les actinobactéries ont longtemps été considérés comme des champignons primitifs, du fait de leur mycélium, souvent à la fois aérien et pénétrant dans le substrat nutritif, du fait également de la fructification par sporanges libérant des spores chez un grand nombre d'entre eux (Horinouchi et *al.*, 2002).

III.1.Mode d'action des Actinobactéries

Les mécanismes responsables de la suppression de la maladie par les actinobactéries sont: la compétition saprophytique des nutriments sur ou au contact de la surface racinaire (Alabouvette, 1986; Lemanceau, 1989; Alabouvette et Couteaudier, 1992), compétition parasitique de sites d'infection sur les racines (Schneider et *al.*, 1984) et induction de la résistance systémique chez l'hôte (Ogawa et Komada, 1985; Matta, 1989; Liu et *al.*, 1995). Mandeel et Becker, (1991) ont démontré que ces 03 mécanismes peuvent être actifs dans un même isolat à la fois.

III.2.Le cycle de développement des actinobactéries (Exemple: *Streptomyces spp*)

Le cycle de développement des *Streptomyces* débute par la germination d'une spore donnant naissance à un mycélium primaire, formé d'hyphes non séptées et plurinucléés, ramifié et ancré dans le milieu solide. Sur ce mycélium primaire, se développera ensuite un mycélium aérien. Les extrémités des hyphes aériens se cloisonnent et se différencient pour former des chaînes de spores uninucléées. Il a été estimé qu'environ 60 % des *Streptomyces* produisent, pendant la phase de limitations nutritionnelles, une famille de protéines du type γ - butyrolactone (Saffroy et *al.*, 2006). Ces protéines constituent des intermédiaires entre les modifications du milieu de culture et la synthèse des antibiotiques (Demain et Dijkhuizen, 2006).

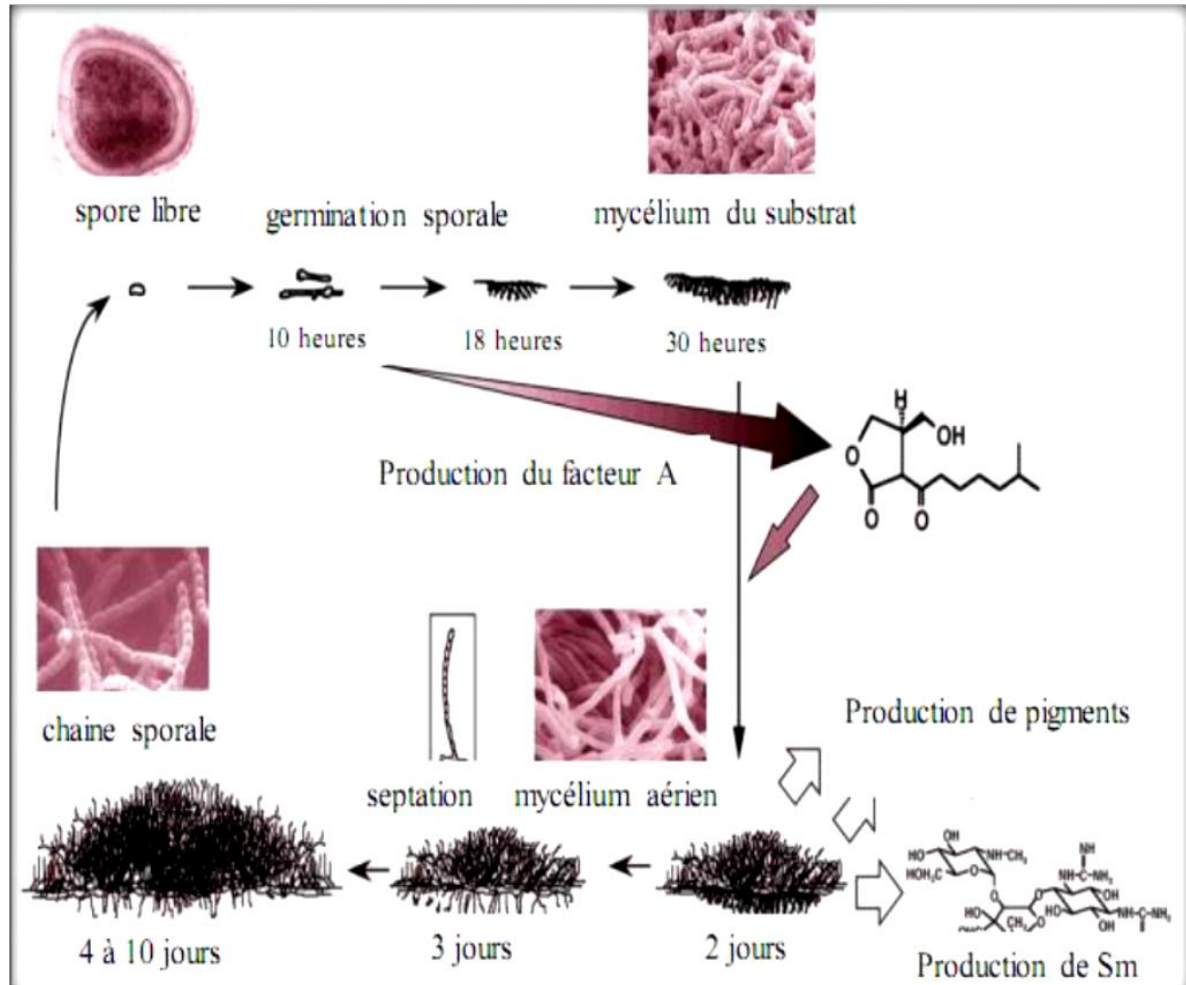


Figure 5. Cycle de développement de *Streptomyces griseus* (Horinouchi et al., 2002).

III.3. Actinobactéries endophytes

Le terme « endophyte » sous-entend un microorganisme capable d'entrer à l'intérieur d'une plante et d'y survivre au moins une partie de sa vie sans provoquer de symptômes apparents à son hôte végétal. Cette définition correspond à la définition de Hallmann, (2001) pour les bactéries endophytes et inclut également les microorganismes de nature fongique. Certains effets dans la promotion de la croissance des plantes de ces endophytes peuvent même former des symbioses remarquables avec les plantes comme c'est le cas avec les genres *Rhizobium* (Sessitsch et al., 2002), et *Burkholderia* dans les nodules des *Fabacées* (Moulin et al., 2001; Chen et al., 2003; 2005; 2006). Les actinobactéries libèrent les cytokinines (Kraigher et al., 1991), des gibbérellines (Gogala et al., 1971) et/ou de l'éthylène (De Vries et al., 1987) mais la production de ces phytohormones est beaucoup moins fréquente parmi les actinomycétales que celle de l'auxine. De nombreux auteurs ont

montré que les actinomycétales étaient capables de synthétiser l'AIA lorsqu'ils sont cultivés sur un milieu contenant du tryptophane (Gay et *al.*, 1989).

III.4.Rôle des actinobactéries dans le sol

Dans le sol, la densité des actinobactéries, essentiellement représentées par les genres *Nocardia* et *Streptomyces*, est en général 3 à 15 fois plus faible que celle des bactéries unicellulaire et varie entre 10^5 et 10^8 unités /g de sol. Leur densité augmente dans les sols alcalins et décroît dans les sols submergés (Goodfellow et Williams, 1983). Leur rôle dans le sol est important en raison de leur aptitude à dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries (Crawford et *al.*, 1993), et à produire des substances probiotiques et antibiotiques (Kieser et *al.*, 2000).

III.4.1.La production d'antibiotique

Les actinobactéries sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que producteurs d'antibiotiques (Berdy et *al.*, 2005). Parmi les espèces actinomycétales, les *Streptomyces* sont les plus importants producteurs d'antibiotiques et autres métabolites secondaires. 75% des antibiotiques sont produits par les espèces du genre *Streptomyces* (Ravel et *al.*, 2000).

Les antibiotiques des actinobactéries sont utilisés aussi dans le traitement de certaines maladies des plantes. La blasticidine, par exemple, est active sur *Piricularia oryzae*, un pathogène du riz (Tomita et *al.*, 1990).

III.4.2.Les antifongiques

Les antagonistes microbiens sont largement utilisés en lutte biologique contre les champignons phytopathogènes. L'activité antagoniste de *Streptomyces* vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires des enzymes hydrolytiques (Prapagdee et *al.*, 2008). Les pramicidines sont des antifongiques synthétisés par une souche d'*Actinomadura bibisca* (Tomita et *al.*, 1990). Elles sont très actives contre des infections systémiques fongiques malgré leur activité modérée *in vitro* (Jean-jacques sanglier et Martha Trujillo, 1997).

III.4.3. La solubilisation des phosphates

Généralement, le contenu de phosphore dans le sol est de 0,05%, cependant seule une très faible proportion des phosphates est disponible aux plantes, la majeure partie est

complexée par l'aluminium, le calcium et le magnésium (Kumar et al., 1999). Il n'est pas requis en grandes quantités mais peut être un important facteur limitant de la croissance.

Dans les champs, ce substrat est susceptible d'être solubilisé par l'action des microorganismes (Arcand et Schneider, 2006). La littérature décrit ces microorganismes solubilisant les phosphate (PSM) comme appartenant à des genres d' *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aereobacter*, *Erwinia* et les actinobactéries (Mba et al., 1997; Rudresh et al., 2005).

III.4.4. La production de phytohormones

Les phytohormones sont des molécules régulatrices de la croissance végétale (Zahir et al., 1996) qui régissent la croissance et le développement en agissant sur la division, l'élongation et la différenciation cellulaires, la régulation de l'activité enzymatique et l'induction de la germination des graines (Arshad et Frenkenberger, 1992).

III.5. Le rôle des actinobactéries dans la croissance des plantes

Certaines actinobactéries stimulent la croissance des plantes de différentes manières. Elles sont capables de coloniser la rhizosphère, en utilisant les exsudats racinaires comme substrats nutritifs, et ils ont, en retour, un effet bénéfique sur la plante. Cet effet bénéfique peut être direct, lorsque la bactérie stimule la croissance racinaire via la production de phytohormones, la solubilisation du phosphate inorganique, la fixation symbiotique ou non symbiotique de l'azote (Sujatha et al., 2005); Soit indirect, lorsqu'elles inhibent la croissance des organismes phytoparasitaires (antagonisme via la production d'antibiotiques, d'antibactériens et/ou d'antifongiques, des chitinases, des protéases, des glucanases et des sidérophores...etc). Par ailleurs, la symbiose associative (aptitude endophytique) entre la bactérie PGPB et sa plante hôte améliore grandement l'efficacité du transfert de nutriments ou autres substances bénéfiques de la bactérie à la plante (Gamalero et Glick, 2011).

III.6. Hormone de croissance et effet PGPB

III.6.1. Les auxines

Les auxines se trouvent dans la plupart des tissus de la plante y compris dans les feuilles en sénescence. Le transport des auxines se fait dans le phloème, des parties aériennes vers les parties racinaires, mais également de cellule à cellule (transport orienté), les auxines activent l'élongation des coléoptiles et des tiges et favorisent le phototropisme et le

géotropisme. Elles jouent un rôle important dans l'initiation et la formation des racines adventives et dans la différenciation du xylème. Par contre, elles inhibent l'élongation racinaire. La croissance des bourgeons axillaires est également inhibée par le maintien de la dominance apicale, qui est sous le contrôle des auxines (Cohen *et al.*, 2003).

Elles retardent la sénescence des feuilles et la chute des fruits. La production des auxines est inhibée par la déficience en zinc et en phosphore. Elle est favorisée par les gibbérellines et les cytokinines, qui en stimulent le transport. L'effet des auxines peut varier selon leurs concentrations, le type de cellules et le stade de développement de la plante (Ameziane *et al.*, 1986) et (Nassar *et al.*, 2005) (Voir Fig.8).

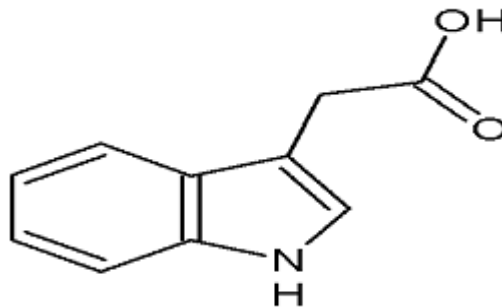


Figure 6. Structure chimique de l'acide indole-3-acétique (AIA) (Antonio *et al.*, 1996).

III.6.2. La biosynthèse de l'auxine

Des études ont montré que cette molécule est synthétisée par la plante principalement à partir du tryptophane. Il a été envisagé une voie secondaire de biosynthèse à partir d'indole. Le tryptophane est tout d'abord transformé en indole-3-acétaldoxime sous l'action d'enzymes à cytochromes. L'acide indole-3-acétique est alors obtenu via des réactions d'oxydation de l'indole-3-acétaldoxime (Cohen *et al.*, 2003).

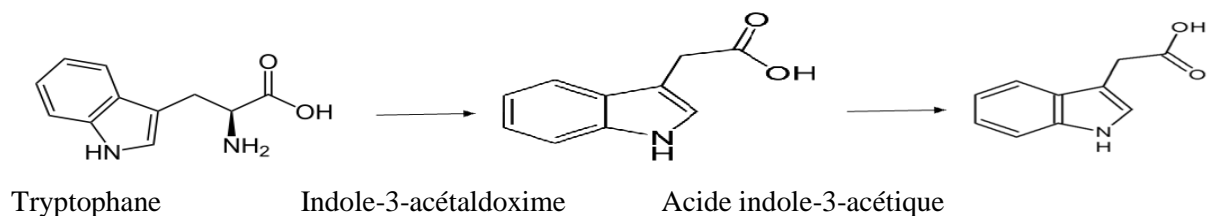


Figure 7. Etapes de biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (Antonio *et al.*, 1996).

La forme majeure de l'auxine dans les plantes est identifiée par l'AIA. Les méristèmes, les tissus vasculaires et les organes reproducteurs sont capables de produire l'AIA (Cheng

et *al.*,2006). Cette hormone peut agir sur toutes les parties de la plante et doit donc être transportée des feuilles jusqu'aux racines.

Deux mécanismes de transport de l'auxine ont été mis en évidence : le transport par voie apolaire et le transport par voie polaire (Benjamins et *al.*, 2005) (figure 8).

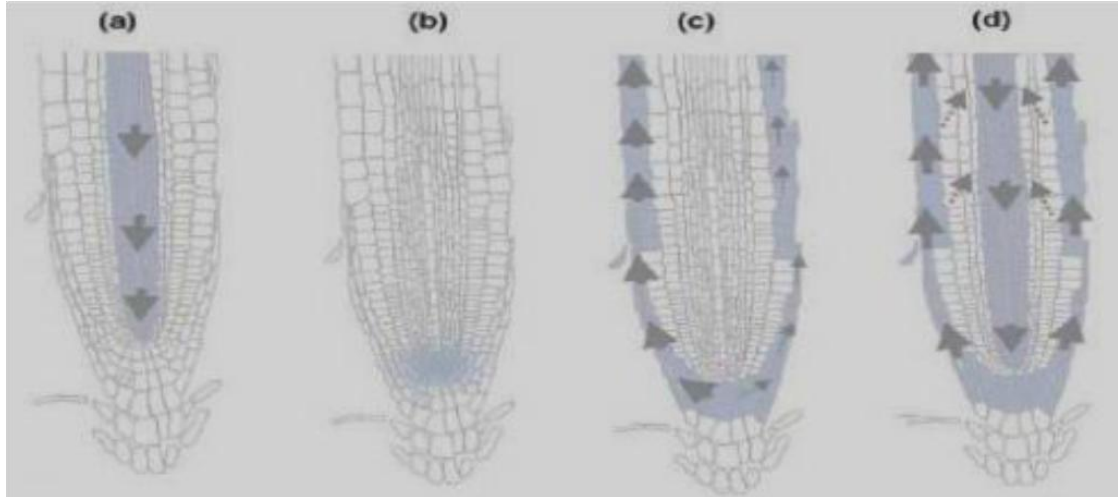


Figure 8. Transport d'auxine dans le système racinaire (Cheng et *al.*, 2006).

- a) Le transport polaire amène l'auxine en bas de la racine;
- b) L'auxine se concentre en bas de la racine et diffuse dans les cellules adjacentes;
- c) Le transport apolaire ramène l'auxine dans la partie supérieure de la plante;
- d) Schéma général du transport de l'auxine (Kramer *et al.*, 2006).

Partie II :
Matériel et méthodes

II.1. Variété de tomate

Les semences de tomate (*Solanumlycopersicum*) utilisées dans cette étude sont la variété Marmande. Le choix de cette variété était basé sur sa très large utilisation en culture maraichère Algérienne (Snoussi et al., 2010).

II.2. Agent phytopathogène

La souche utilisée dans notre travail est le champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* obtenu confidentiellement du laboratoire de biologie des systèmes microbiens d'Alger (Figure 9).

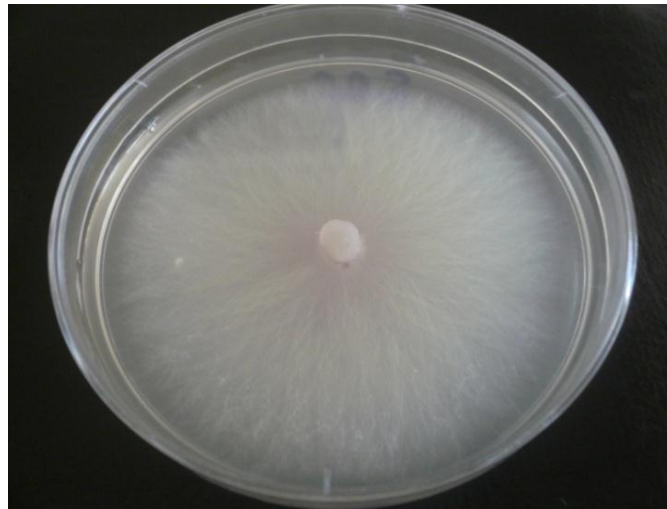


Figure 9. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersi* cultivé sur milieu PDA.

II .3. Les souches d'actinobactéries endophytes utilisées

Un total de 09 souches d'actinobactéries endophytes ont été utilisés dans 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). Elles ont fait l'objet de plusieurs travaux de mémoires d'Ingénieurs d'Etat et de Master en agronomie. Ces travaux ont été 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 des cette plante.

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

II.4. Activité antifongique

II.4.1. La méthode des stries croisées

La méthode des stries croisées, décrite par Boubetra et al (2013), a été utilisée. Le principe de la méthode consiste à inoculer l'actinobactérie selon une strie latérale à la surface du milieu ISP2 (Shirling et Gottlieb, 1966) en boîte de Pétri (90 mm de diamètre). La culture était ensuite incubée à 30 °C. Après 5 jours d'incubation, les souches test sont inoculées selon une strie perpendiculaire à celle de l'actinobactérie. La boîte est ensuite incubée à nouveau et la zone d'inhibition est évaluée en (mm) après 3 jours d'incubation à 25 °C. Une culture témoin de l'agent pathogène, dans les mêmes conditions, est effectuée en absence de l'actinobactérie.

Les souches utilisées dans cette méthode sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 1. Les agents phytopathogènes et/ou toxigène utilisées comme souche cible dans le test d'activité antifongique.

Souche n°	Nom de la souche	Code	Origine
01	<i>Fusarium solani</i>	F	Laboratoire de biologie des systèmes microbien ALGER
02	<i>Fusarium equiseti</i>	Fe	
03	<i>Fusarium proliferatum</i>	Fp	
04	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lini</i>	Fol	
05	<i>Fusarium</i> f. sp. <i>albedinis</i>	Foa	
06	<i>Fusarium</i> f. sp. <i>graminearum</i>	Fg	
07	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	Forl	
08	<i>Fusarium moniliform</i>	Fm	
09	<i>Fusarium sporotrichoides</i>	Fs	
10	<i>Fusarium culmorum</i>	Fc	
11	<i>Aspergillus carbonarius</i>	Ac	
12	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ao	

II.4.2. La méthode des puits

La méthode des puits décrite par Janakat et al., 2005, est la technique choisie pour déterminer l'activité antifongique de l'extrait à tester. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire d'extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antifongique de l'extrait de l'actinobactéries vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*, ainsi que la détermination de la

résistance ou la sensibilité des champignons vis-à-vis de ces extraits. Cette méthode consiste à faire quatre puits de 6 mm de diamètre à la surface du milieu ISP2 (fig.10). La culture serait ensuite incubée à 30°C pendant 5 jours. Après l'incubation, un explant de 6 mm de diamètre d'une culture active de l'agent pathogène est appliqué au centre de la boîte. Les boîtes sont ensuite incubées à nouveau à 25°C et les zones d'inhibition (en mm) sont mesurées après 3 jours.

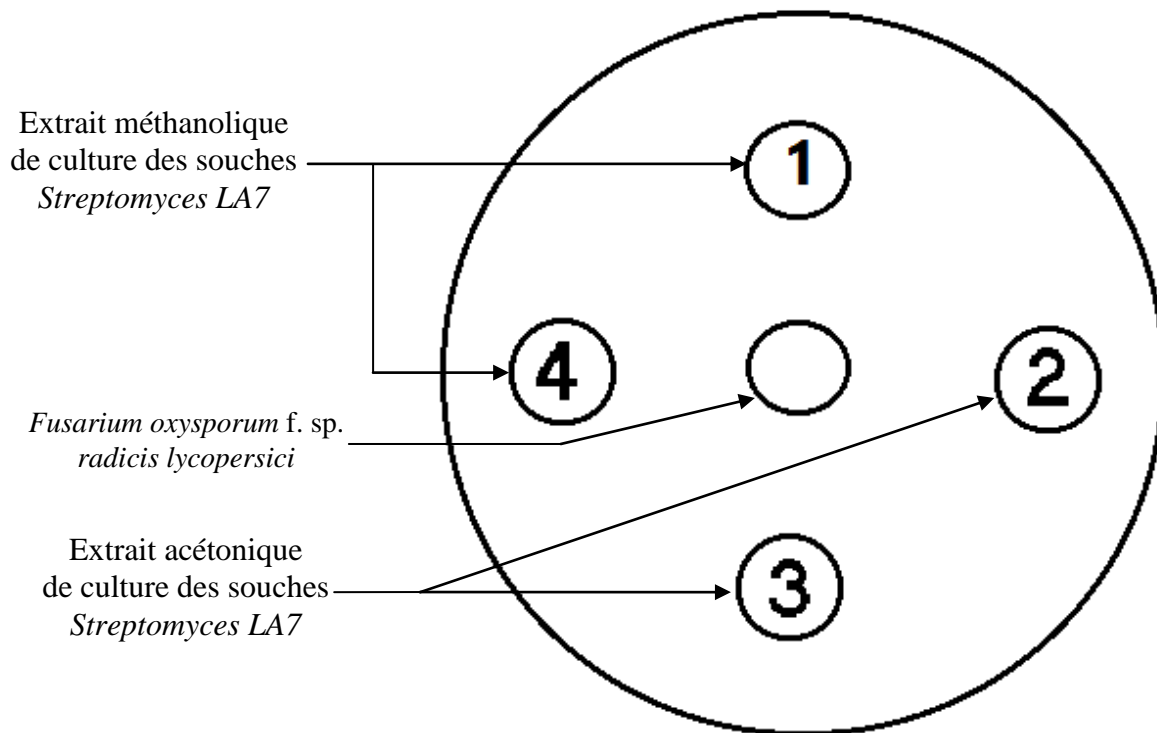


Figure 10. Test de l'activité d'antibiose selon la méthode des puits.

II.4.3. La méthode des disques

Les confrontations *in vitro* entre les isolats d'actinobactérie vis-à-vis des champignons phytopathogènes: *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* ont été effectuées selon la méthode des disques décrite par Suzuki et *al.*, (2000). Dans une boîte de Pétri (90 mm de diamètre) contenant le milieu ISP2, quatre disques de 6 mm de diamètre d'une culture bioactive de l'actinobactérie ont été inoculés à 1 cm de la périphérie de la boîte de Pétri puis incubés à 30 °C (Fig.11). Après 5 jours d'incubation, un disque de même diamètre d'une culture du pathogène a été appliqué au centre de la boîte. Les boîtes ont été ensuite incubées à nouveau à 25 °C et les zones d'inhibition (en mm) ont été mesurées après 3 jours.

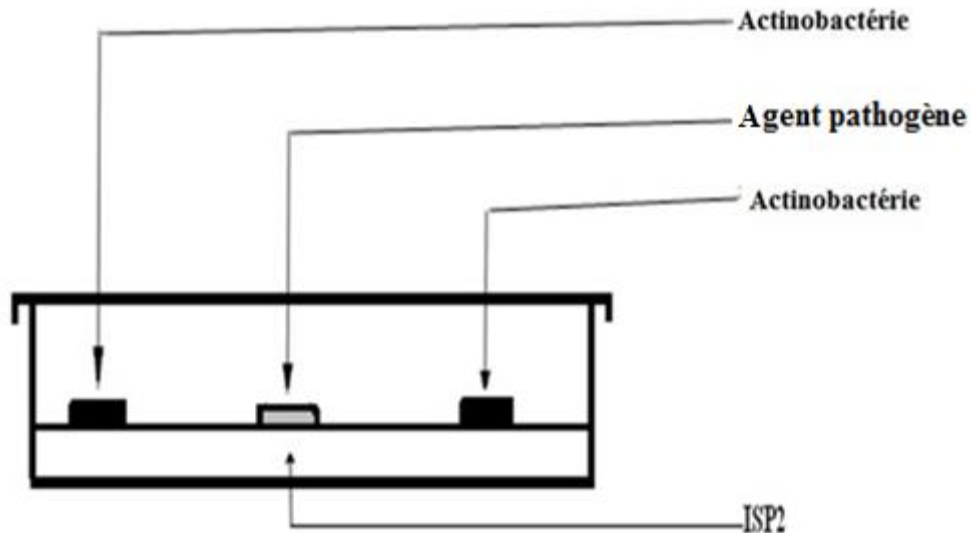


Figure 11. Confrontation directe entre le champignon pathogène et l'actinobactérie sur milieu ISP2.

II.5. Chromatographie analytique sur couche mince et 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 tâches 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:

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

II.6.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 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.7.Production, révélation et dosage de l'acide indole-3-acétique (AIA)

Tous les isolats ont été étudiés pour leur faculté à 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 et 200 rpm) (Fig.12), 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.



Figure 12. Incubation des actinobactéries à 30°C sous agitation dans bouillon YT.

En vue de confirmer la production de l'acide indole-3-acétique (AIA) par les isolats d'actinobactéries, une chromatographie sur couche mince a été effectuée. Des fractions d'AIA produit par les actinobactéries ont été récupérées dans l'acétate d'éthyle et déposées sur la ligne de base d'une plaque chromatographique (*Silica Gel GF254, thickness 0.25 mm, Merck, Germany*) puis développées en présence d'un témoin (AIA pure) dans un système de solvant composé d'acétate d'éthyle / chloroforme / acide formique (55/35/10, v/v/v). Les Rf de ces taches sont calculés par la formule suivante :

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

Les tâches de même Rf avec l'AIA pure qui apparaissent sous lumière UV (254 nm) après pulvérisation par le réactif d'Ehmann ont été considérées comme AIA.

II.8. Solubilisation des phosphates inorganiques

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 ce, 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 la méthode colorimétrique donnée par Bashan et al. (2013).

II.9. Application: Effet PGPB en culture hors sol

L'isolat de *Streptomyces* ayant montrés des caractéristiques prometteuses pour le biocontrôle et la promotion de la croissance a été retenus pour une application *in planta*. Cette expérimentation a porté sur la préparation d'une solution de Knop et des variantes de cette solution à base de:

- Phosphate solubilisé par la souche *Streptomyces* sp. LA7;
- Phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$;
- Solution de knop sans phosphore;

Les différentes solutions de ferti-irrigation ont été utilisées pour la nutrition hydrominérale des plantules de tomate *cv.* Marmonde cultivée dans des pots en plastique (12×7 cm) contenant un support inerte de perlite blanche et à raison d'une plantule par pot et six répétitions par traitement. Les pots ont été ensuite déposés dans une chambre de culture à température ambiante (± 22 °C) et une photopériode naturelle (≈ 14 h lumière par jour). Après 30 jours de culture, les plantules ont été délicatement récupérées et soumises à une évaluation de longueur totale, longueur des racines, le poids frais et le poids sec.

Le schéma de l'application en hors sol est représenté dans la figure 13.

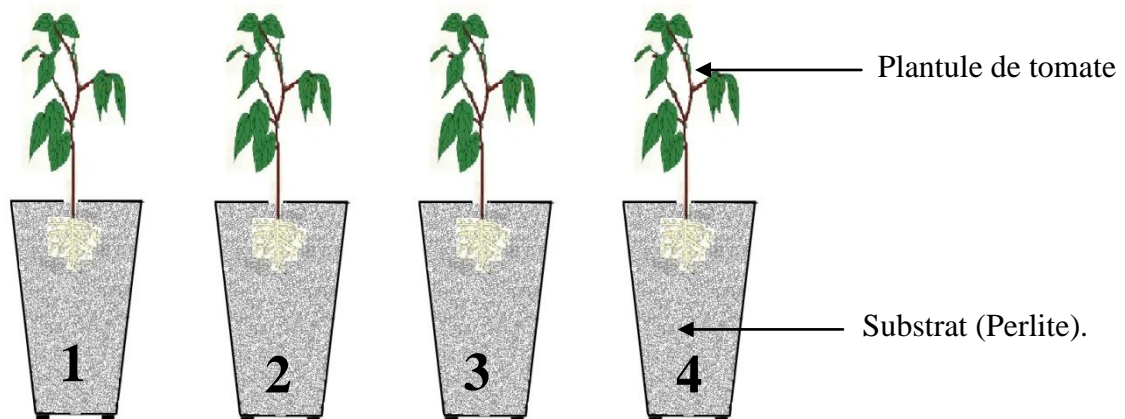


Figure 13. Schéma représentatif de l'application en hors sol.

Le dispositif expérimental de l'application en hors sol est représenté dans la figure 14

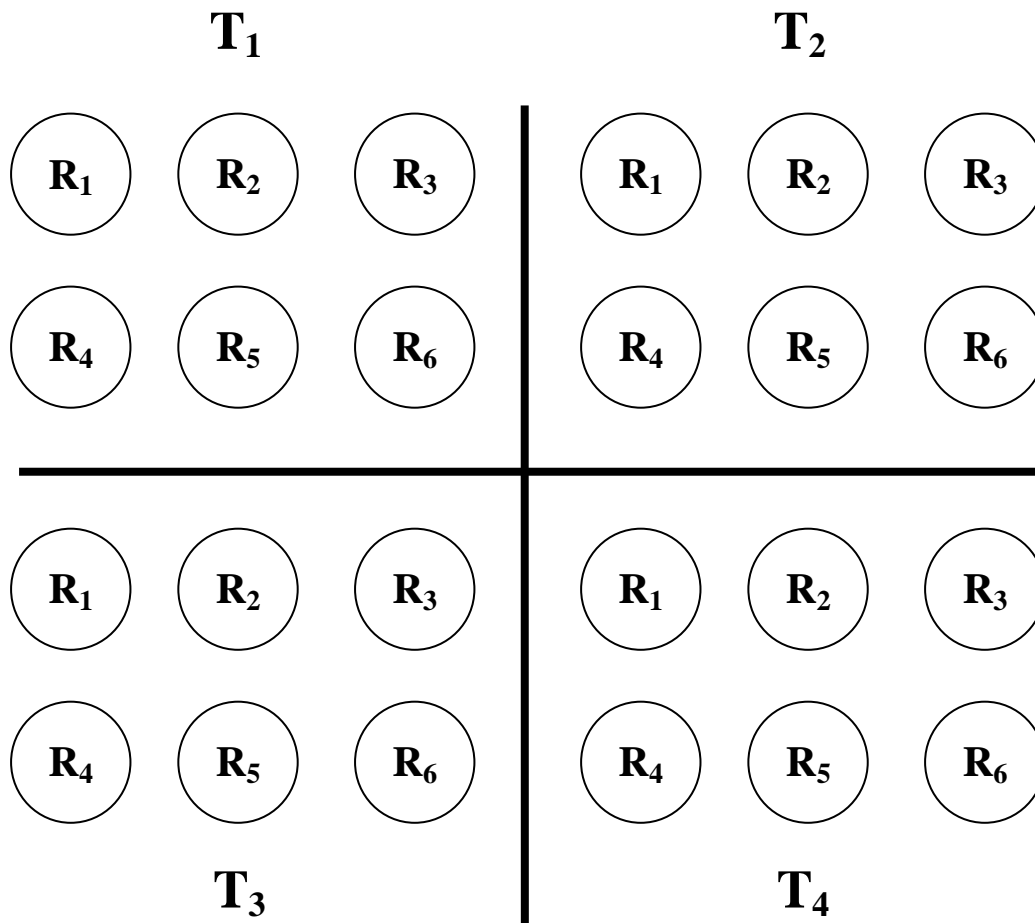


Figure 14. Dispositif utilisé pour la culture en hors sol.

T: traitement

R: répétition

Partie III :
Résultats et discussions

III. Résultats et discussions

Neuf isolats d'actinobactéries endophytes ont été retenus pour notre travail. Le choix de ces isolats a été effectué selon leurs performances dans le biocontrôle de différents agents phytopathogènes et dans la promotion de la croissance des plantules de tomate au stade pépinière comme il a été rapporté par les travaux de Azouaou et Kiboub (2012); Nia et Chouyeb (2012).

Dans un premier temps, les neuf isolats d'actinobactéries ont fait l'objet d'une caractérisation macro et micromorphologique avant de passer à une caractérisation portant sur l'étude des activités antifongiques et de production des composés antibiotiques, la production des phytohormones et la solubilisation des phosphates inorganiques. Les isolats ayant montré des résultats intéressants et des caractéristiques prometteuses ont été retenus pour l'étude de leur effet PGPB sur plantules de tomate cultivées en hors sol. Les résultats obtenus sont les suivants:

III.1. Caractéristiques morphologiques des isolats d'actinobactéries

Les résultats de la caractérisation morphologique des isolats d'actinobactéries sont regroupés dans le tableau 2.

Tableau 2. Caractéristiques morphologiques et chimiotaxonomiques des isolats d'actinobactéries endophytes.

Isolat	Couleur du MA	Couleur du mycélium de substrat	Type de chaîne de spores	Isomérisation du DAP	Série	Genre
LA1	Olive moyen	Beige pale	<i>RF</i>	<i>LL</i>	Jaune	<i>Streptomyces</i>
LA2	Gris moyen	Brin claire	<i>S</i>	<i>LL</i>	Gris	<i>Streptomyces</i>
LA3	Gris claire	Beige claire	<i>S</i>	<i>LL</i>	Gris	<i>Streptomyces</i>
LA4	Gris	Beige claire	<i>RF</i>	<i>LL</i>	Gris	<i>Streptomyces</i>
LA5	Gris	Beige claire	<i>S</i>	<i>LL</i>	Gris	<i>Streptomyces</i>
LA6	Gris claire	Brin jaunâtre	<i>RF</i>	<i>LL</i>	Jaune	<i>Streptomyces</i>
LA7	Gris foncé	Beige	<i>S</i>	<i>LL</i>	Gris	<i>Streptomyces</i>
LA8	Rose grisâtre	Brin	<i>S</i>	<i>LL</i>	Rouge	<i>Streptomyces</i>
LA9	Gris	Brin foncé	<i>S</i>	<i>LL</i>	Gris	<i>Streptomyces</i>

L'analyse des résultats de tableau 2 montre que les isolats d'actinobactéries présentent des caractéristiques macro et micromorphologiques différentes. Parmi les neuf isolats étudiés, nous remarquons que six isolats présentent des chaînes de spore de type *S* (*Spiralis*). Les trois isolats restants sont caractérisés par des chaînes de spore de type *RF* (*Rectis-Flexibilis*). Selon la couleur de mycélium aérien (MA), six isolats ont été affectés à la série des gris. Cependant, les autres isolats font partie de la série des jaunes (2 isolats) et de la série des rouges (1 isolat).

Les résultats de l'étude chimiotaxonomique, ayant porté sur la détermination de l'isomérisation de l'acide diaminophimélique (ADP), montrent que tous les isolats présentent un *LL*-DAP. De ce fait, les neuf isolats sont attribués au genre *Streptomyces* conformément à la clé d'identification de Goodfellow et Simpson (1987).

Nos résultats sont en accord avec la majorité des travaux portant sur l'identification des actinobactéries endophytes où le genre *Streptomyces* est dominant dans plusieurs espèces végétales (Beckeret *al.*, 1964; Sabaou *et al.*, 1998).

III.2. Résultats de l'activité d'antibiose et de production de composés antibiotiques

Les résultats obtenus par Azouaou et Kiboub (2012) et Nia et Chouyeb (2012) ont montré l'efficacité de la souche *Streptomyces* sp. LA7 dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicislycopersici* en condition de culture *in vitro* et *in vivo*. C'est pour cette raison que l'actinobactérie LA7a a été retenue pour illustrer quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle, notamment l'action d'antibiose et la production des composés antibiotiques.

III.2.1. Résultats de l'activité d'antibiose par la méthode des stries croisées

La souche *Streptomyces* sp. LA7 a été confrontée vis-à-vis de plusieurs agents phytopathogènes tout en utilisant la méthode des stries croisées. Les résultats ainsi obtenus sont regroupés dans le tableau 3.

Tableau 3. Activités d'antibiiose de *Streptomyces* sp.LA7 vis-à-vis de quelques agents phytopathogènes.

Champignon cible	Zone d'inhibition (mm)
<i>Fusarium solani</i>	09
<i>Fusarium equiseti</i>	17
<i>Fusarium proliferatum</i>	3
<i>Fusariumoxysporum</i> f. sp. <i>lini</i>	12
<i>Fusarium</i> f. sp. <i>albedinis</i>	6
<i>Fusarium</i> f. sp. <i>graminearum</i>	4
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicislycopersici</i>	3
<i>Fusarium moniliform</i>	5
<i>Fusarium sporotrichoides</i>	3
<i>Fusarium culmorum</i>	30
<i>Aspergillus carbonarius</i>	12
<i>Aspergillus ochraceus</i>	5

Selon les résultats du tableau 3, nous remarquons que la présence de la souche LA7 dans le milieu de culture engendre une zone d'inhibition vis-à-vis de tous les champignons cible testés. Nous remarquons également que l'inhibition varie en fonction des champignons (Fig.15).

De nombreuses études ont montré l'activité antagoniste de plusieurs espèces du genre *Streptomyces* vis-à-vis des agents phytopathogènes notamment ceux du genre *Fusarium* (Sabaou et al., 1992; Benhamou et Chet, 1997; Baniasadi et al., 2009). De plus, plusieurs *Streptomyces* spp. antagonistes des *Fusarium* ont été rapporté pour leur efficacité dans le biocontrôle de certaines maladies fongiques (Benhamou et Chet, 1997). Nous pouvons citer par exemple: l'action de *Streptomyces griseoviridis* contre certaines *Fusarium* phytopathogènes.

Les travaux de El-Tarabily et al., (2009) montrent que la production des composés antifongiques est considérée parmi les principaux mécanismes de biocontrôle des champignons phytopathogènes du sol.

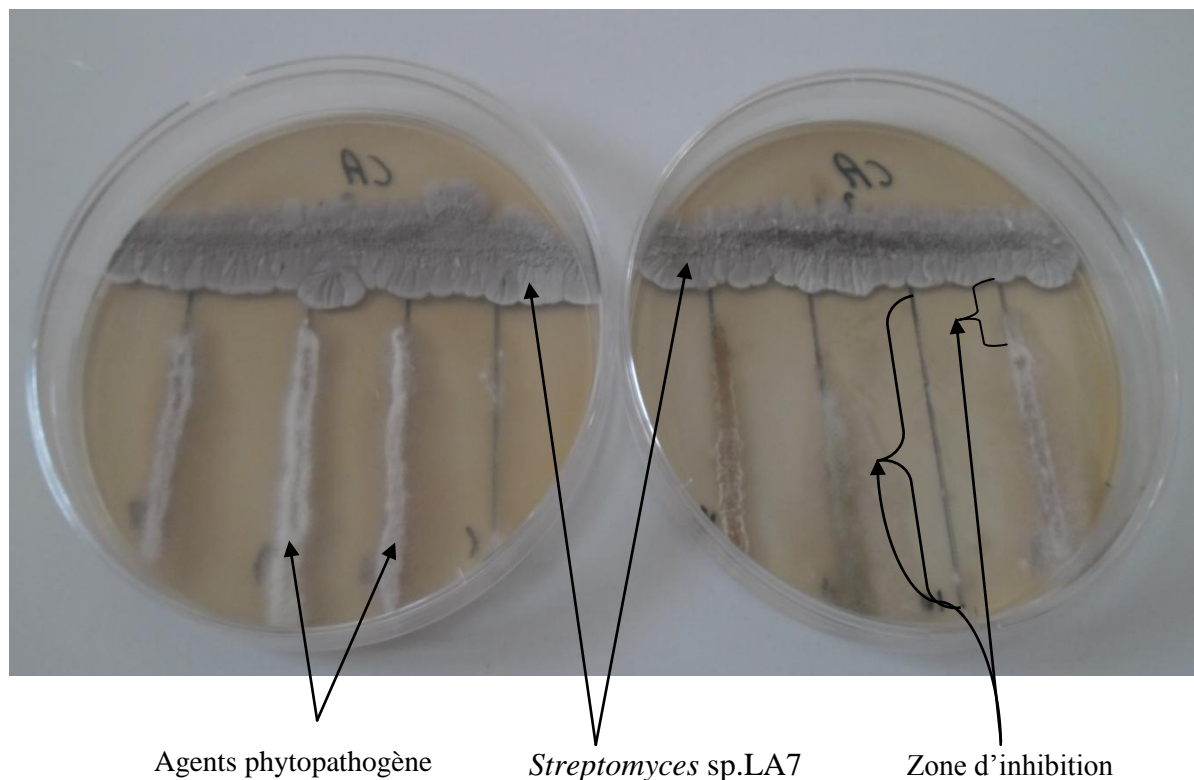


Figure 15. Résultat de l'activité d'antibiogramme des actinobactéries vis-à-vis de quelques agents phytopathogènes déterminées selon la méthode des stries croisés.

A la lumière de ces données, nous nous sommes intéressés à l'étude de la faculté de l'isolat *Streptomyces* sp. LA7 à produire des composés antifongiques.

III.2.2. Activité antifongique des extraits de culture de *Streptomyces* sp. LA7

Le surnageant de culture de la souche *Streptomyces* sp. LA7 a fait l'objet d'une extraction des composés antifongiques tout en utilisant le méthanol et l'acétone comme solvants d'extraction. L'extrait méthanolique et acétonique ont été testés pour leur activité antifongique vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicislycopersici* selon les méthodes des puits et des disques imbibés. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 4.

Tableau 4. Activités antifongiques des extraits méthanolique et acétonique contre la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*

Champignon cible	méthode des puits *		méthode des disques *	
	Extrait méthanolique	Extrait acétonique	Extrait méthanolique	Extrait acétonique
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i>	22	17	18	14

*: Diamètre de la zone d'inhibition exprimé en mm

L'analyse des résultats mentionnés dans le tableau 4 montre que tous les extraits obtenus ont une activité contre la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicislycopersici*. Le maximum de l'activité antifongique a été observé avec l'extrait méthanolique appliqué selon la méthode des puits. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Hibar et *al.*,(2009) qui mettent au point la sécrétion des composés antifongiques par des *Streptomyces* spp. et leurs activités antifongiques contre des champignons phytopathogènes du genre *Fusarium*.

Dans le souci de déterminer le nombre de composés antifongiques présent dans l'extrait de culture de la souche *Streptomyces* sp. LA7, une bioautographie a été effectuée.

III.3. Résultats de la Chromatographie analytique et révélation microbiologique des composés antifongiques (bioautographie)

Les résultats de la chromatographie analytique sur couche mince de silice et la révélation microbiologique des composés antifongiques contre *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicislycopersici* sont donnés par les photos de la figure 16.

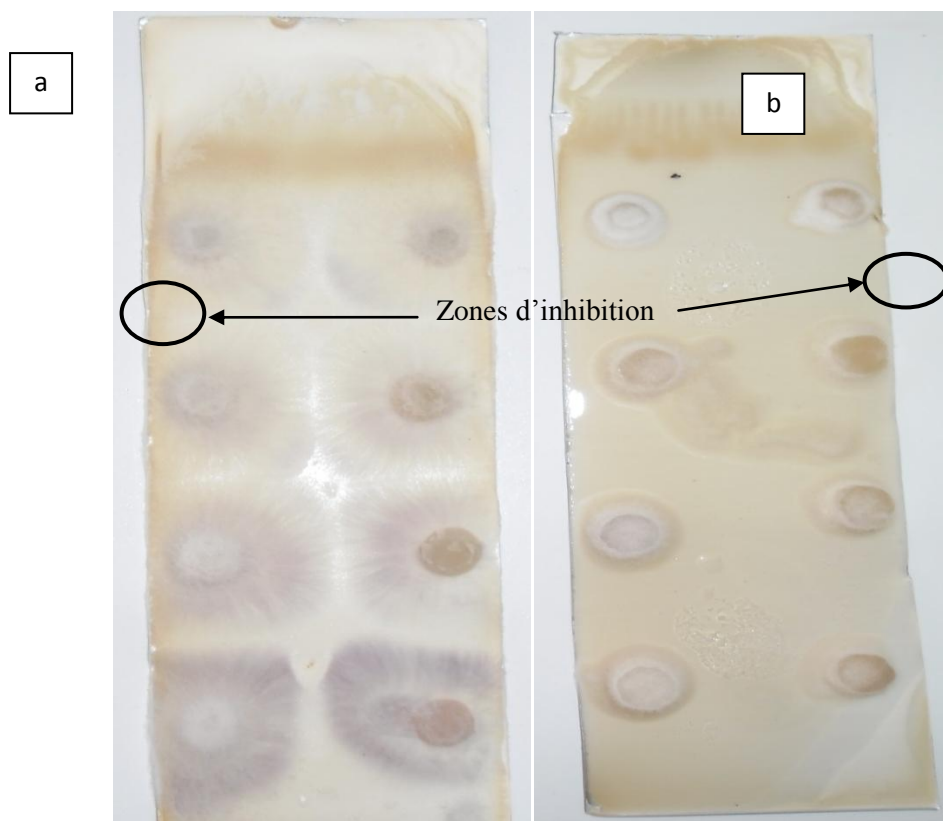


Figure 16. Révélation microbiologique des composés antifongiques présents dans l'extrait méthanolique (a) et l'extrait acétonique (b) du filtrat de culture de la souche *Streptomyces* sp. LA7.

D'après les résultats de la figure 16, nous remarquons pour chaque extrait l'apparition d'une seule zone d'inhibition. Ces composés antifongiques, séparés par chromatographie sur couche mince, sont caractérisés par des tâches de $R_f = 0.75$ pour les deux extraits. Ceci montre clairement que la souche *Streptomyces* sp. LA7a synthétisé un seul composé antifongique dont l'activité contre *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicislycopersici* est clairement démontrée par bioautographie.

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

III.4. Résultats 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. LA7 est représenté dans la figure 17.

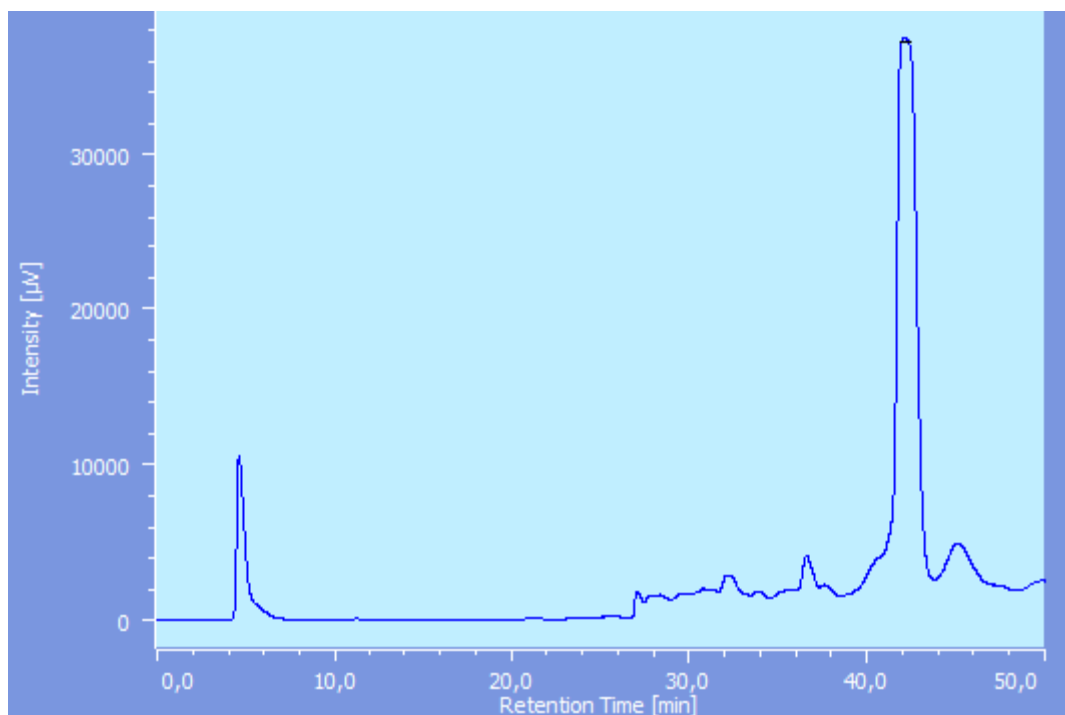


Figure 17. Profil d'élution par HPLC de l'extrait méthanolique du filtrat de culture de la souche *Streptomyces* sp. LA7.

Le chromatogramme de la figure 17 montre l'apparition d'un pic unique et symétrique dominant dont le temps de rétention est de 42 minutes. En vue de confirmer l'activité antifongique de cette fraction, il serait nécessaire de procéder à plusieurs injections en vue de récupérer une quantité suffisante de cette fraction. Cette étape n'a pas été effectuée par défaut de matériel.

III.5. Résultats de la production, de la révélation et du dosage de l'acide indole-3-acétique (AIA)

La faculté des isolats d'actinobactéries endophytes à produire des phytohormones (AIA) a été étudiée par culture en milieu liquide de composition chimique bien déterminée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 6.

Tableau 6. Production de l'acide indole-3-acétique (AIA) par les différents isolats d'actinobactéries endophytes

Isolat	Production de l'acide indole-3-acétique (µg/ml)
LA1	00.00
LA2	17.26
LA3	164.49
LA4	25.88
LA5	65.29
LA6	45.80
LA7	17.77
LA8	37,92
LA9	00.00

A l'exception des souches LA1 et LA9, toutes les autres actinobactéries sont capables de produire l'AIA à des concentrations allant de 17,26 à 164,49 µg/ml (Tableau 6).

Plusieurs travaux ont montré la faculté de *Streptomyces* sp. endophytes à produire des auxines notamment l'AIA (Khamna et al., 2010). D'autres travaux ont montré également la contribution de ces isolats dans la promotion de la croissance des plantes cultivées tel que le cas de tomate, par exemple, cultivée sous serre ou en culture hydroponique (Zeevaart et al., 2003; Nia et Chouyeb, 2013).

L'apparition de la couleur rouge après révélation chimique des indoles dans le filtrat de culture des différentes souches confirme la présence des composés à fonction indole (fig.18). En vue de confirmer la présence de l'AIA, une analyse chromatographique sur couche mince en présence de l'AIA pure est donc nécessaire (fig.19).

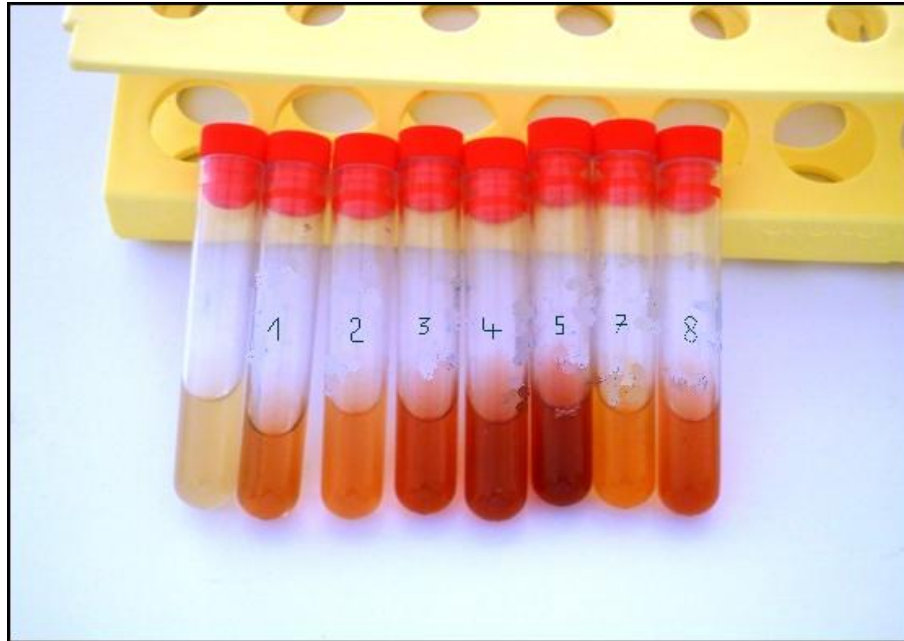


Figure 18. Dosage et révélation de l'acide indole-3-acétique

Les résultats de la chromatographie sur couche mince sont représentés par la photographie de la figure 19.

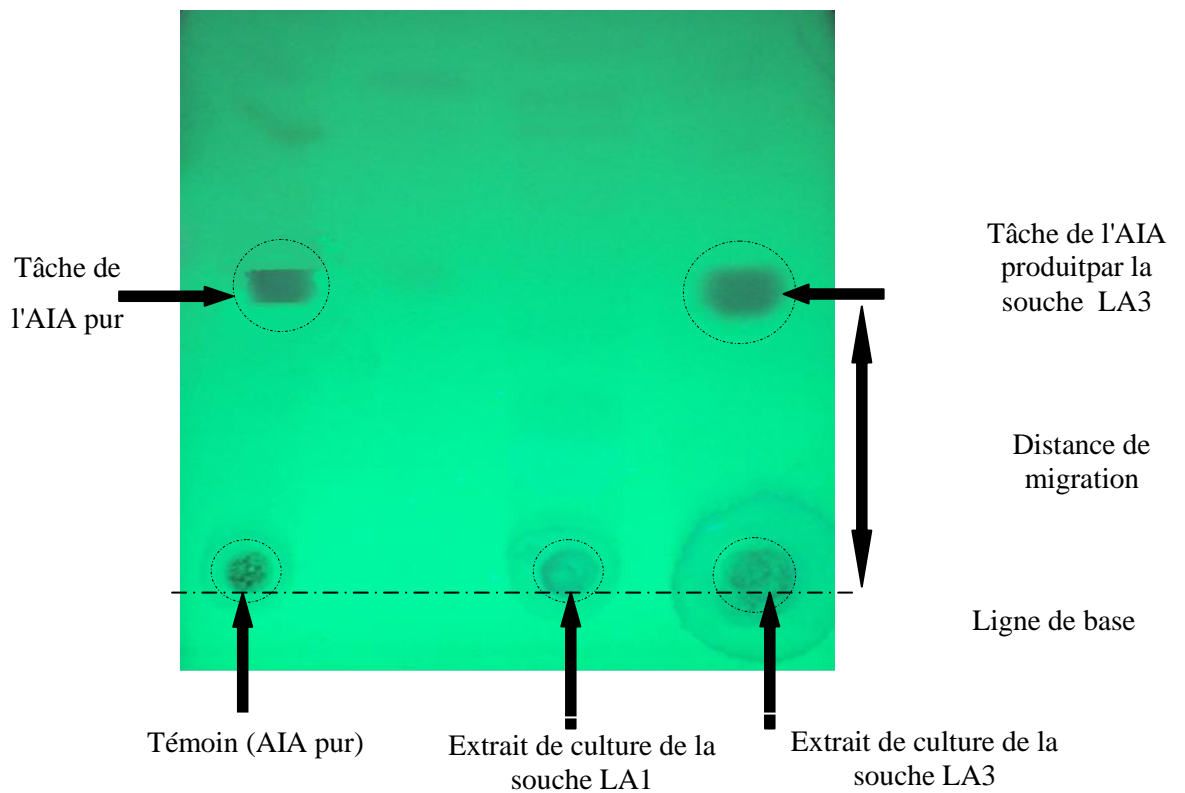


Figure 19. Analyse chromatographique sur couche mince des extraits à l'acétate d'éthyle du filtrat de culture des souches LA1 et LA3 et en présence de l'AIA pur.

Nous remarquons que la souche LA1 ne montre aucune tâche visible à 220 nm; en revanche, la souche LA3 montre l'apparition d'une tâche où le Rf est égale à celui de l'AIA pur (RF=0.85). Nous pouvons constater donc que le composé à fonction indole présent dans le filtrat de culture de cette souche est représenté par l'AIA.

III.6. Résultats de la solubilisation des phosphates inorganiques

Les résultats des tests de solubilisation des phosphates inorganiques sur les milieux de culture PVK avec différentes sources de phosphates inorganiques $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, AlPO_4 et FePO_4 sont représentés dans le tableau 7.

Tableau 7. Résultats de la solubilisation des phosphates inorganiques par les souches d'actinobactéries endophytes.

Souche	Milieu PVK avec $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$		Milieu PVK avec AlPO_4		Milieu PVK avec FePO_4	
	Solide	Liquide	Solide	Liquide	Solide	Liquide
LA1	-	-	-	+	-	±
LA2	++	+++	±	++	-	-
LA3	++	+++	±	++	-	-
LA4	+	+++	±	+	-	-
LA5	++	+	-	++	-	-
LA6	-	-	± à +	+	-	-
LA7	++	+	±	+	-	+
LA8	++	+++	+	+++	-	+
LA9	+	++	+	+++	-	-

« - » Pas de croissance

« ± » Très faible croissance

« + » Croissance modérée

« ++ » Bonne croissance

« +++ » Très bonne croissance avec disparition total de l'opacité de milieu

L'analyse des résultats du tableau 7 montre que la majorité des souches sont capables de croître sur milieu PVK contenant les phosphates tricalciques et les phosphates d'aluminium comme seules sources de phosphore. Les cultures ainsi obtenues, notamment de *Streptomyces* spp. LA2, LA3, LA4, LA7, LA8, LA9, ont montré des halos transparents bien définis autour des colonies sur gélose PVK. Les cultures agitées ont montrées à leur tour une disparition de l'opacité des bouillons (fig20).

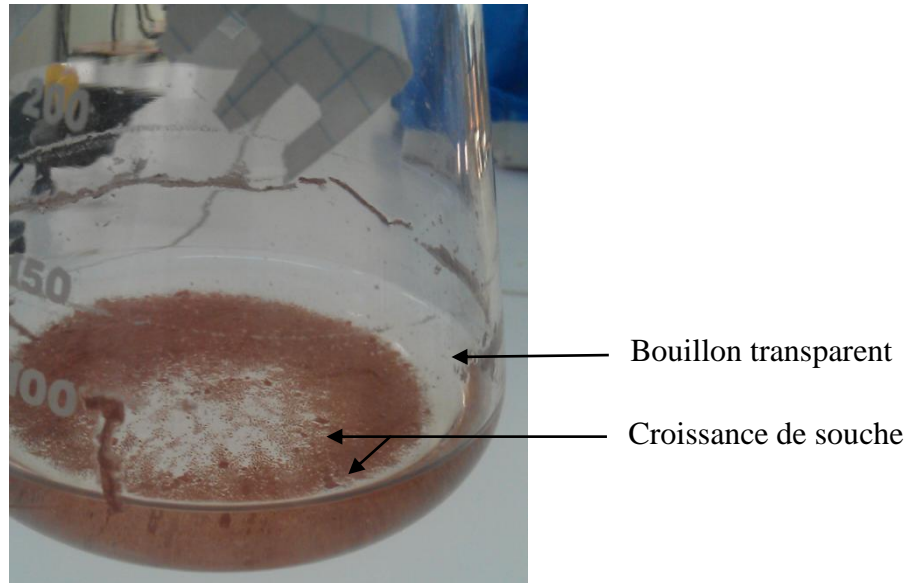


Figure 20. Culture agitée de la souche *Streptomyces* sp. LA7 sur milieu Pykoveskaya avec $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ et promotion la solubilisation de cette source de phosphore par disparition de l'opacité du bouillon.

Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Hamdali et *al.*, (2008) ayant montrés le rôle de *Streptomyces* spp. isolés de sols marocains dans la solubilisation de différentes sources de phosphates insolubles et de roche de phosphate. Ces mêmes auteurs ont mis en évidence, à l'égard de nombreux autres travaux, l'implication des isolats de *Streptomyces* dans l'amélioration de la nutrition phosphatée de certaines plantes cultivées et dans la promotion de leur croissance.

Contrairement aux résultats obtenus avec les phosphates tricalciques et les phosphates d'aluminium, nous avons remarqué que la majorité des isolats ne peuvent croître sur milieu PVK contenant le fer comme seule source de phosphate. Ces résultats sont en accord avec ceux donnés par Kim et *al.*, (2012) qui rapportent les difficultés de solubilisation des phosphates ferriques. Ceci peut être expliqué, selon les mêmes auteurs, par un éventuel effet de toxicité par le fer (Fig.21).

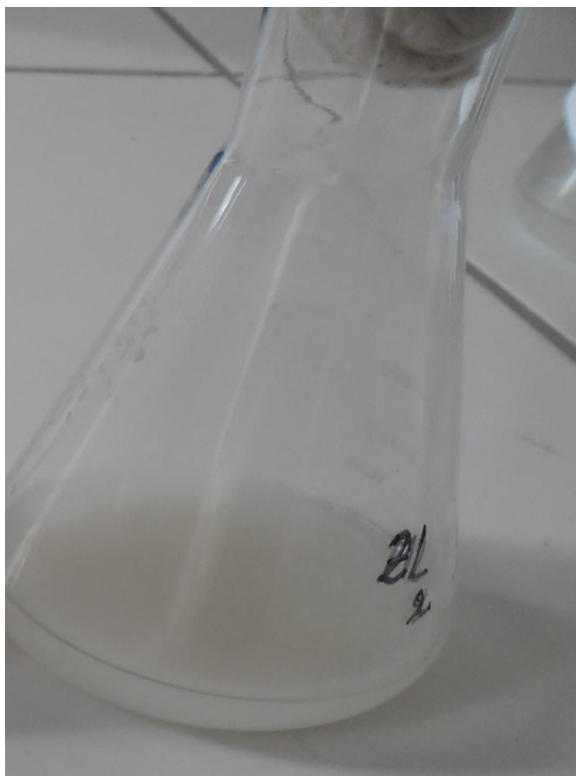


Figure 21. Résultats de solubilisation des phosphates par cultures agitées sur milieu Pykoveskaya contenant le FePO_4 comme seule source de phosphore.

III.7.Application: Effet PGPB en culture hors sol

Les phosphates solubilisés par voie microbiologique par la souche *Streptomyces* sp. LA7 à partir de phosphates tricalciques ont été utilisés pour la préparation des solutions de Knop modifiées. L'effet des différentes variantes de solution de Knop sur la croissance des plantules de tomate cultivées sur un support de perlite inerte a permis d'avoir les résultats représentés par les histogrammes de la figure 22.

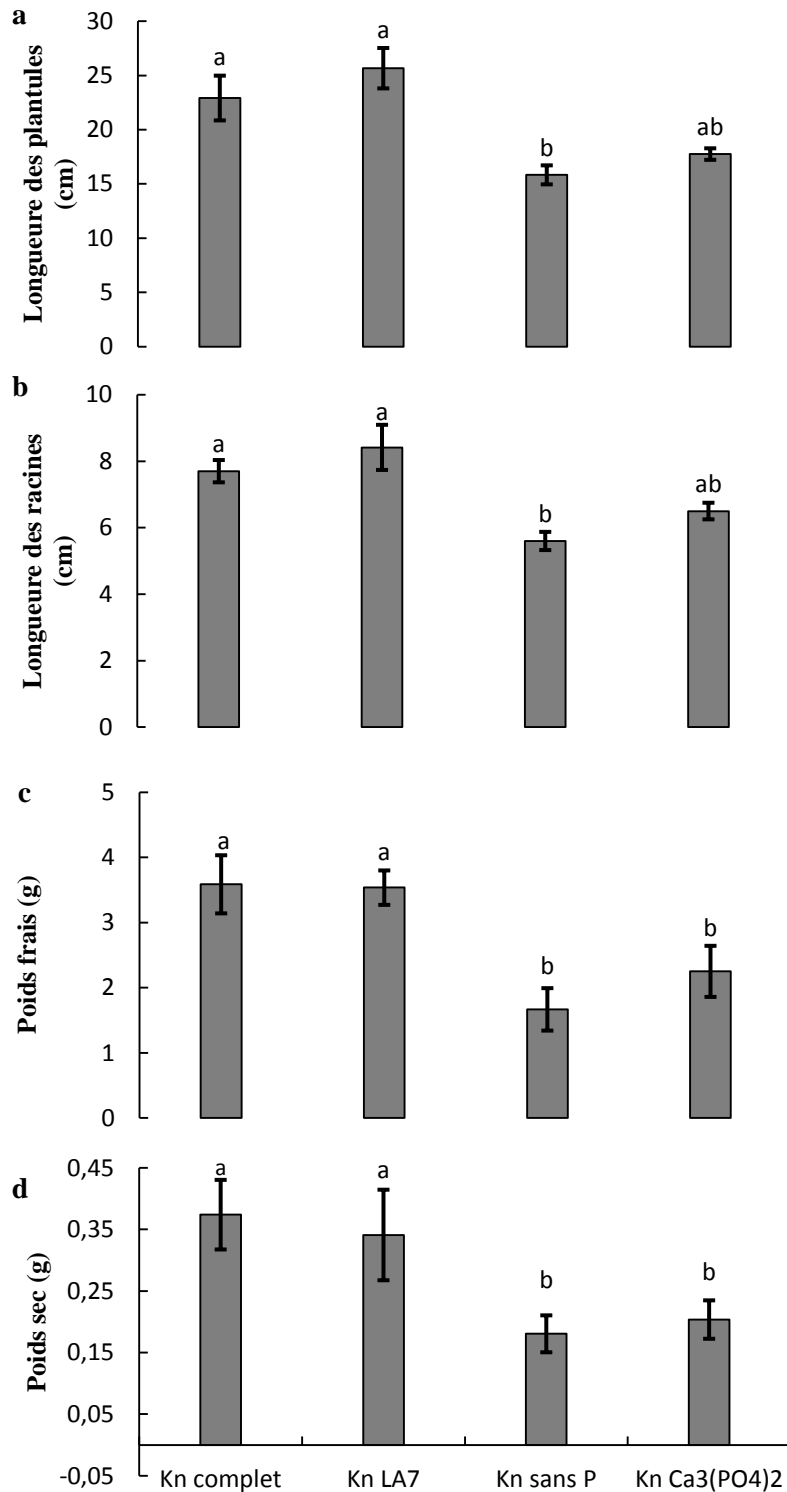


Figure 22. Effet de la composition de la solution de ferti-irrigation (solution de Knop et solutions de Knop modifiées) sur la longueur des plantules (a), la longueur des racines (b), le poids frais (c) et le poids sec (d) des plantules de tomates cultivées sur un support de perlite inerte. Les mesures ont été effectuées après 30 jours de culture. Les barres d'erreur représentent les erreurs standards calculées à partir de 6 répétitions. Les barres labellées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test LSD à $P \leq 0,05$.

Kn: solution de knop

D'après l'histogramme de la figure 22, nous remarquons que les différentes solutions de Knop ont permis d'avoir des résultats différents d'un point de vue longueur des plantules, longueurs des racines, poids frais et poids sec. Dans toutes les cas, la solution de Knop complet et la solution de Knop préparée par les phosphates libérées microbiologiquement ont permis d'atteindre les meilleures croissances des plantules de tomate. De plus, une différence non significative a été obtenue. Ceci confirme que le phosphore solubilisé par *Streptomyces* sp. LA7 a été parfaitement utilisé par les plantules. Ceci a permis d'atteindre des résultats similaires à ceux obtenus par les formes conventionnelles de phosphore utilisable par les plantes.

La solution de Knop modifiée (sans phosphate) et celle préparée par le phosphate tricalcique (forme inassimilable par la plante) ont abouti à une faible croissance des plantules de tomate comparativement aux résultats des traitements précédents. Il est important de préciser également que pour la majorité des résultats obtenus, des différences significatives ont été obtenues entre les résultats de ces traitements (Fig.22). Cette faible croissance peut être expliquée par une carence phosphatée due à l'absence de phosphore (Knop sans phosphate) ou l'insolubilité des phosphates tricalciques ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) et son inaccessibilité par les plantules de tomate.

Globalement, les résultats obtenus par cette expérience prennent la même allure avec les résultats obtenus par Hamdali et al (2008) où l'application de la solubilisation biologique des phosphates par des *Streptomyces* spp. a été effectuée sur plantules de blé. En outre ces résultats rejoignent ceux de plusieurs autres travaux mettant en évidence l'importance de *Streptomyces* endophytes dans la solubilisation des phosphates inorganiques, la promotion de la croissance des plantes cultivées et leur rôle dans la biofertilisation (Hamdali et al., 2008; Moody et al., 2001).

Conclusion

Conclusion

Neuf isolats d'actinobactéries endophytes ont été utilisés pour une caractérisation et une implication dans la promotion de la croissance des plantules de tomate. La détermination préliminaire de ces isolats selon leur morphologie et par chimiotaxonomique montre que tous les isolats appartiennent au genre *Streptomyces*.

La souche *Streptomyces* sp. LA7 présente une activité antifongique contre les douze champignons phytopathogènes. Cette activité variait de 3 mm à 30 mm selon la méthode des stries croisés. L'extraction des composés antifongiques de la souche *Streptomyces* sp. LA7 a été effectuée en utilisant le méthanol et l'acétone comme solvants d'extraction. Le maximum de l'activité antifongique observé contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* a été obtenu par l'extrait méthanolique appliqué selon la méthode des puits. 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 d'un pic dominant qui est supposé être le composé antifongique produit par la souche *Streptomyces* sp. LA7.

Parmi les neuf souches d'actinobactéries endophytes, sept souches sont capables de produire l'acide indole-3-acétique à des concentrations différentes (17,26 à 164,49 µg/ml) avec un maximum de production atteint par la souche *Streptomyces* sp. LA3. Par ailleurs, la majorité des isolats est capable de croître sur milieu PVK contenant des phosphates tricalciques et des phosphates d'aluminium comme seules sources de phosphore. Cependant, la majorité des souches sont incapables de pousser en présence des phosphates ferriques.

Les essais effectués *in vivo* pour la variété Marmande montrent que le phosphore solubilisé par la souche *Streptomyces* sp. LA7 a été parfaitement utilisé par les plantules de tomate comparativement à la solution de Knop modifiée (Knop sans phosphate et Knop avec phosphate tricalcique).

Au terme de cette étude, et selon les résultats obtenus, nous pouvons conclure que la souche *Streptomyces* sp. LA7 a un rôle très important dans la promotion de la croissance des plantules de tomate et l'amélioration de la nutrition phosphatée. De prometteuses possibilités d'application sont à envisager pour cette souche notamment dans le domaine de la biofertilisation où des études complémentaires seront indispensables.

En perspective, nous projetons de continuer l'étude de la souche *Streptomyces* sp. LA7 et de confirmer l'identification de l'espèce par des techniques plus précises, notamment la taxonomie moléculaire. Il serait nécessaire d'évaluer l'effet de cette souche en plein champ et la utiliser comme biofertilisants ou comme de protecteur vis-à-vis des maladies fongiques de la culture de tomate.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- AGRIOS, G.N. (2005).** Plant Pathology. Fifth Edition, Elsevier Academic Press, 525 B Street, Suite 1900, San Diego, California 92101-4495. pp. 524-525, 539.
- ALABOUVETTE C. and COUTEAUDIER Y., (1992).** Biological control of Fusarium wilts with non pathogenic Fusaria. In: Tjamos, E. S. (Ed.). Biological Control of Plant diseases. New York. Plenum Press.pp.415-426.
- ALABOUVETTE C., (1986).** Fusarium wilt suppressive soil from the Chateauennard region, a review of a 10 year study. Agronomic., 6:273-284.
- AL-ZARBAN, S.S., AL-MUSALLAM, A.A., ABBAS,I, STACKEBRANDT, E et KROPPESTEDT, R.M. (2002).** *Saccharomonospora halophila* sp. a novel halophilic actinomycete isolated from marsh soil in Kuwait. Int.J.Sys. Ev. Microbiol. vol. 52, p. 555-558.
- AMEZIANE T.E. (1986),** Growth studies in *Lolium multiflorum* in a mediterranean environment, PhD thesis, University of Reading, England.
- ANTONIO, G et JUAN, C. (1996).***Les hormones végétales.* Pour la science. N° 228. p. 42 – 50.
- ARCAND, M. M. etSCHNEIDER, K.D. (2006).**Plant and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. Ann. Acad. Bras. Cienc. 78: 791- 807.
- ARSHAD, M. et W. T. FRENKENBERGER, Jr. (1992).** Microbial production of plant growth regulators, p. 307-347. In F. Blaine Metting, Jr (ed), Soil Microbiol Ecology. Application in agricultural and environmental management. Washington.
- BANIASADI, F., SHAHIDI Bonjar, A., BAGHIZADEH, A., KARIMI, N. et JORJANDI M. (2009).** *Biological control of Sclerotinia sclerotiorum, causal agent of sunflower head and stem rot disease, by use of soil borne actinomycetes isolates.* Am. J. Agric. Biol. Sci. 4: 146-151.
- BANO, N.,MUSARRATJ., (2003).**CurMicrobiol,46,324–328.

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.*, 49:465–479.

BECKER, B., LECHEVALIER, M-P., GORDON, R-E., LECHEVALIER, H.A. 1964. *Rapid differentiation between Nocardia and Streptomyces by paper chromatography of whole-cell hydrolysates.* Applied Microbiol. 12: 421-423.

BENHAMOU, N., CHET, I. (1997). *Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between Trichoderma harzianum and Pythium ultimum.* Appl. Environ. Microbiol. vol. 63, p. 2095–2099.

BENITEZ, T. RINCON, A-M. LIMON, M-C. CODON, A-C. (2004). *Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains.* International Microbiology.7: 249-260 p.

BENIZRI, E. BAUDOIN, E. et GUCKERT, A. (2001). *Root colonization by inoculated plant growth rhizobacteria.* Biocontrol Science and Technology. 11: 557-574 p.

BENJAMINS, R., MALENICA, N et LUSCHNIG, C. (2005). *Bio Essays.* vol. 27, p. 12-46.

BERDY, j. (2005). Bioactive microbial metabolites, a personal view. *J. Antibiot.* 58: 1-26.

BERGSMA-VLAMI, M., PRINS, M. E. et RAAIJMAKERS, J.M. (2005). *Influence of plant species on population dynamics, genotypic diversity and antibiotic production in the rhizosphere by indigenous Pseudomonas spp.* FEMS Microbiol. Ecol. Vol. 52, p. 59-69.

BETINA V. (1973). Bioautography in paper and thin layer chromatography and its scope in the antibiotic field. *J. Chromatogr.*, 78: 41-51.

BHATTACHARJEE, R-B. SINGH, A. et MUKHOPADHYAY, S-N. (2008). *Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges.* Applied Microbiology and Biotechnology.80: 199-209 p.

BLANCARD, D. (1997). Les maladies de la tomate. Edition INRA, Paris, 212 p.

BOUBETRA, D., SABAOU, N., ZITOUNI, A., BIJANI, C., LEBRIHI, A., MATHIEU, F.(2013). *Taxonomy and characterization of new antibiotics produced by Saccharothrix SA198 isolated from a Saharan soil.* Microbiol Res 2013;168:223–30.

BOUGHACHICHE F., REGIOUA S., OULMI L., ZERIZER, H., KITOUNI, M., BOUDEMAGH, A et BOULAHROUF, A. (2005). *Isolement d'actinomycetales*

productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha de Ain M'Lila. Sciences et technologie. n°23. p. 5-10.

BOUHOT, D., ROUXEL, F. et LOUVET, J. (1972). Observation de la fusariose vasculaire de la tomate en France. *Ann. Phytopathol.* 4:187-191.

BOUIZGARNE, 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 ramosa.* 550-556 p.

BURGESS, L.W. (1981). General ecology of the Fusaria. In *Fusarium: diseases biology and taxonomy.* (ed. P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook), p. 225-235. Pennsylvania State University Press: University Park and London.

BUSSIERES, P. (2002). *Water import in the young tomato fruit limited by pedicel resistance and calyx transpiration.* *Functional plant biology.* 29: 631-645p.

CARDON, Z-J. et GAGE, D-J. (2006). *Resource exchange in the rhizosphere: molecular tools and the microbial perspective.* *Annual Review of Ecology. Evolution and Systematics,* 37: 459-488 p.

CHAMPION, R. (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Ed : INRA. Paris.181-182 p.

CHAUX, C.L., FOURY, C-L. (1994). *Cultures légumières et maraichères. Tome III : légumineuses potagères, légumes fruit.* Paris : Tec & Doc Lavoisier. 563p.

CHEBASSE, D., CIMON, B., BRUN, S. et al. (2002). *Cahier de formation biologie médicale : Les moisissures d'intérêt médical.* Paris.78 p.

CHEN, W.M., JAMES E.K., CHOU, J.H., SHEU, S.Y., YANG, S.Z. et SPRENT, J.I. (2005). *βrhizobia from Mimosa pigra, a newly discovered invasive plant in Taiwan.* *New Phytologist.* vol. 168, p. 661-675.

CHEN, W.M., JAMES, E.K., COENYE, T., CHOU, J.H., BARRIOS, E., de FARIA, S.M., ELLIOTT, G.N., SHEU, S.-Y., SPRENT, J.I. et VANDAMME, P. (2006). *Burkholderia mimosarum sp. nov. isolated from root nodules of Mimosa spp. from Taiwan and South America.* *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* Vol. 56, p. 1847-1851.

- CHEN, W.M., MOULIN, L., BONTEMPS, C., VANDAMME, P., BENA, G. et BOIVIN-MASSON C. (2003).***Legume symbiotic nitrogen fixation by β -Proteobacteria is widespread in nature.* Journal of Bacteriology.vol. 185, p. 7266-7272.
- CHENG, Y; Dai, X; Y. ZHAO (2006).***Auxin biosynthesis by the YUCCA flavin monooxygenases controls the formation of floral organs and vascular tissues in Arabidopsis,* Genes Dev. Vol. 20, p. 1790–1799.
- CHIBANE, A. (1999).** *Tomate sous serre.* Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. MADRPM/ DERD N° 57.
- COA, L., QIU, Z., YOU, J., TAN, H., ZHOU, S. (2005).** *Isolation and characterization of endophytic streptomycetes antagonists of fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots.* FEMS Microbiology Letters, 247: 147-152.
- COHEN, J.D., SLOVIN, J.P et HENDRICKSON, A.M. (2003).***TRENDS in Plant Science.* vol. 8, 197 p.
- COMPANT, S., DUFFY, B., NOWAK, J., CLEMENT, C. et BARKA, E-A. (2005) a.** *Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects.* Applied and Environmental Microbiology.71: 4951-4959 p.
- COOK, R-J. et BAKER K-F. (1983).** *The nature and practice of biological control of plant pathogens.* Americ. Phytopathol. Society. 530 p.
- CRAWFORD, D. L. J. M. LYNCH, J. M. WHIPPS, M. A. OUSLEY. (1993).** Isolation of actinomycetes antagonists of a fungal root pathogen. App. Environ. Microbiol. 59: 3899-3905.
- DE VRIES. H.E., MUDGE. K.W., LARDNER.J.P. (1987).** *Ethylene production by severalectomycorrhizalfungi and effects on host root morphology. In: Mycorrhizaein the next decade. Proceedings of the 7thNACOM /D.M.Sylvia, L.L.Hung, J.H.GrahamEds. Gainesville :University of Florida. p.172.*
- DEMAIN A.L., DYKHUIZEN L. (2006).** Ecology and industrial microbiology. Editorial Overview. Current Opinion in Microbiology .9: 237-239.
- DORE, C., VAROQAUX, F. (2006).***Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées.* Ed INRA. Paris. 698p.
- DUNNE, C. DELANY, I. FENTON A. et O’GARA, F. (1996).** *Mécanisms involoved in biocontrol by microbial inoculants.* Agronomie, 16 : 721-729 p.

ELHASSAN, G-A. ABDELGANI, M-E. OSMAN, A-G. MOHAMED, S-S. et ABDELGADIR, B-S. (2010).*Potential production and application of biofertilizers in Sudan Pakistan.* Journal of Nutrition, 9: 926-934 p.

EL-TARABILY, K-A. SOLIMAN, M-H. NASSAR, A-H. AI-HASSANI, H-A., SIVASITHAMPARAM, K. MCKENNA, F. HARDY, G-E. (2000). *Biological control of Sclerotinia minor using a chitinolytic bacterium and actinomycetes.* Plant Pathology. 49: 573–583 p.

EL-TARABILY, K-A., NASSER, A-H., HARDY, J., SIVAITHAMPARAM, K. (2009). *Plant growth promotion and biological control of Pythium aphanidermatum, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes.* Journal of Applied Microbiology, 106: 13-26.

EI-TARABILY, K-A., SIVASITHAMPARAM, K. (2006). *Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters.* Soil Biol. Biochem. 38: 1505-1520 p.

ERRAKHI, R. BOUTEAU, F. LEBRIHI, A. BARAKATE, M. (2007).*Evidences of biological control capacities of Streptomyces spp. against Sclerotium rolfsii responsible for damping-off disease. In sugar beet (Beta vulgaris L.).* World J. Microbiol. Biotechnol. 23 : 1503-1509 p.

FLARDH, K et BRUTTNER, M. J. (2009). *Streptomyces morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium.* Nature Reviews. Vol. 7, p. 36-49.

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., 45: 209-217.

GALLAIS, A et BANNEROT, H. (1992). *Amélioration des espèces végétales cultivées objectif et critères sélection.* Paris : INRA. 765 p.

GAUSSEN, H. LEFOY, J et OZENDA, P. (1982). *Précis de botanique.* 2éme éd. Paris: Masson. 172 p.

GAY G., ROUILLON R., BERNILLON J., FAVRE-BONVIN J. (1989). *IAA biosynthesis by the ectomycorrhizal fungus Hebelomahiemale as affected by different precursors.* Canadian Journal of Botany , vol. 67, p. 2235-2239.

- GETHA, K. VIKINESWARY, S. WONG, W-H. SEKI, T. WARD, A. GOODFELLOW, M. (2005).** *Evaluation of Streptomyces sp. strain g10 for suppression of Fusarium wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets.* J. Ind. Microbiol. Biotechnol, 32 : 24-32 p.
- GIANINAZZI, S. GOLLOTTE, A. BINET, M-N. van TUINEN, D. REDECKER, D. et WIPF, D. (2010).** *Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services.* Mycorrhiza.
- GOGALA. N. (1971).** *Growth substances in mycorrhiza of the fungus Boletus pinicola Vitt. and the pine tree Pinus sylvestris L.* Razprave ,vol. 14. p. 123-202.
- GOODFELLOW, M. et A. G. O'DONNELL. (1989).** Search and discovery of industrially-significant actinomycetes. Proceeding of the 44th Symposium on Society for General Microbiology, (SCGM'89). Cambridge University Press, Cambridge. 343-383.
- GOODFELLOW, M. et S. T. WILLIAMS. (1983).** Ecology of the actinomycetes. Annu. Rev. Microbiol. 37: 189-216.
- GOODFELLOW, M. SIMPSON, KE . (1987).** *Ecology of Streptomyces.* Front Appl Microbiol .vol 2. p. 97–125.
- GOWAN, S.J., BARNARD, A.M.L., BOSGELMEZ, G., SEBAIHIA, M.(2005).** *Antibiotic biosynthesis in Erwinia carotovora is regulated by physiological and genetic factors modulating the quorum sensing-dependent control pathway.* Mol. Microbiol. vol. 55, p. 526-545.
- HAMDALI, H., Hafidi, M., Virolle, MJ., Ouhdouch, Y. (2008).** *Growth promotion and protection against damping-off of wheat by two rock phosphate solubilizing actinomycetes in a P-deficient soil under greenhouse conditions.* App Soil Ecol. vol.40, p.510-517.
- HELLER, R. (1981).** *Physiologie végétale.* Tome I : nutrition. 2^{ème} Edition. Paris : Masson.195p.
- HELLUY, S. et HOLMES J-C. (2005).** *Parasitic manipulation: further considerations.* Behavioural Processes, 68: 205–210 p.
- HENNI, J.E. (1998).** Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran.171 p.
- HORINOUCHE S. (2002).** Antimicrobial hormone, A-factor, as a master switch for morphological differentiation and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*.Frontiers in Biosciences. 7: 2045-2057.

ID- EL MOUDEN, O. (2010). Quantification des résidus de pesticide sur la tomate et le poivron et l'étude de la dégradation de difenoconazole sous l'effet de photo-oxydants atmosphériques à l'interface solide /gaz. Université de Reims Champagne-Ardenne (agadir).160p.

ITCMI. (2012). *Principaux désordres physiologiques, maladies et ravageurs présents en Algérie: les tomates.* 64p.

JANAKAT. S, AL-FAKHIRI. S ET SALLAL. A., (2005). Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfazioclaveryi* against *Pseudomonas aeruginosa*. *Phytother. Res.* Vol. 26, N°6, P 447-450.

JARVIS, W.R., SHOEMAKER, R.A. (1978). Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root-rot of tomato. *Phytopathology*, 68:1679-1680.

JEAN-JACQUES, S. et T. MARTHA. (1997). Substances bioactives produites par les actinomycètes et stratégie de sélection de souches. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* 12: 269-276.

KENT, A-D. et TRIPLETT, E-W. (2002). *Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems.* Annual Review of Microbiology, 56: 211-236 p.

KHAMNA S, YOKOTA A et LUMYONG, S. (2010). *Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production.* World J Microbiol Biotechnol. vol. 25, p.649–655.

KHAN, M-R., SAHA, M-L., Zuha S-B. (2008). *Bacteria and actinomycetes growing on floppy and compact discs under ambient conditions.* Bangladesh Journal of antibiotics. 37: 7-14p.

KIESER, T., M. J. BIBB, M. j. DUTNER, K. F. CHATER et D. A. HOPWOOD. (2000). General introduction to actinomycete biology in practical Streptomyces genetics. The John Innes Foundation, Crowes, Norwich, England. 1-21.

KIM OS, CHO YJ, LEE K, YOON SH, KIM M, Na H., (2012) Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Syst Evol Microbiol* 62:716–721.

KRAIGHER. H., GRAYLING. A., WANG T.L., HANKE D.E. (1991). *Cytokinin production by ectomycorrhizal fungi in liquid culture.* Phytochemistry, vol. 30, p. 2249-2254

- KUMAR, V., S. S. PUNIA, K. LAKSHMINARAYANA et N. NARULA. (1999).** Effect of phosphate solubilising analogue resistant mutants of *Azotobacter chroococcum* on sorghum. *Ind. J. Agric. Sci.* 69: 198-200.
- KUNDU, B. S. and A. C. GAUR. (1984).** Rice response to inoculation with N₂-fixing and P solubilizing microorganisms. *Plant Soil* 79:227-234.
- LATERROT, H.; ROUXEL, F.; DAVET, P.; MINEAU, R.; NOURRISSEAU, J.G. ET JONAN, B. (1978).** La fusariose vasculaire de la tomate en France. *P.H.M.Rev.Horticol* 137: 35-40.
- LATIGUI, A. (1984).** *Effet des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée.* In Chougar, S.2011. Bioécologie de la tomate *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera : Gelechiidae) sur trois variétés de tomate sous serre (Zahra, Dawson et Tavira) dans la wilaya de Tizi-Ouzou. Mémoire de magister : université Mouloud MAMERI Tizi-Ouzou. 122p. OU BIEN THESE MAGISTRE :INA EL HARRACHE
- 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.
- LEMANCEAU P., (1989).** Role of competition for carbon and iron in mechanisms of soil suppressiveness to *Fusarium* wilts. In : Tjamos E. C. and Beckman C. H. (eds) *Vascular Wilt Diseases of Plants* (pp385-396), Springer-Verlag, Berlin.
- LEMANCEAU, P. Offre, P., MOUGEL, C. GAMALERO, E. DESSAUX, Y. MOENNE-LOCCOZ, Y. et Berta, G. (2006).** *Microbial ecology of the rhizosphere.* Dans "*Microbiological methods for assessing soil quality*". Ed : Bloem, J. Hopkins, D.W. et Benedetti, A. CABI publishing, Massachusetts, Cambridge, MA, Etats-Unis. p. 228-230 p.
- LEPOIVRE, P. (2003).** *Phytopathologie: bases moléculaires de biologie des pathosystèmes et fondement des stratégies de lutte.* De Boeck & Presses Agronomiques de Gembloux, Brussels, Belgium. 275-309 p.
- 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.*, 50:927–937.

LIU L., KLOEPPER J. W. and TUZUN S., (1995). Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth promoting rhizobacteria: Duration of protection and effect of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. *Phytopathology*, 85: 1064-1068.

LOPES A., COELHO R.R., MEIRELLES M. N. I., BRANQUINHA M. H. and VERMALHO A. B. (1999). Extracellular serine-proteinases isolated from *Streptomyces alboniger*. Partial characterization and effect of aprotinin on cellular structure. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 94, 763-770.

LUGTENBERG, B., CHIN-A-WOENG T., BLOEMBERG, G. (2002). *Microbe-plant interactions: principles and mechanisms*. Antonie van Leeuwenhoek. 81:373–383.

MATTA A., (1989). Induced resistance to *Fusarium* wilt diseases. In: Tjamos E. C. and Beckman C. H. (eds) *Vascular Wilt Diseases of Plants* (pp175-195), Springer-Verlag, Berlin.

MBA, C. C. (1997). Rock phosphate solubilizing *Streptosporangium* isolates from casts of tropical earthworms. *Soil. Biol. Biochem.* 29: 381-385.

MENZIES, J.G., and JARVIS, W.R. (1994). The infestation of tomato seed by *Fusarium oxysporum f. sp. radicle-lycopersici*. *Plant Pathol.* 43:378-386.

MESSIAEN, C.M. (1981). Les variétés résistantes. Méthodes de lutte contre les maladies et ennemies des plantes. Edition INRA. Paris. 374 p.

MOODY & EFSTATHIOU, (2001). Efsthathiou G, Moody SJ. 2001. *MNRAS* 325:1603-1615

MOULIN, L., MUNIVE, A., DREYFUS, B. ET BOIVIN-MASSON, C. (2001). *Nodulation of legumes by members of the beta-subclass of Proteobacteria*. *Nature*. vol. 411, p. 948-950.

NASSAR, R., BERNATH, P.F., BOONE, C.D., MANNEY, G.L., MCLEOD, S.D., RINSLAND, C.P., SKELTON, R. and WALKER, K.A. (2005). ACE-FTS measurements across the edge of the winter 2004 Arctic vortex. *Geophysical Research Letters* 32: doi: 10.1029/2005GL022671. issn: 0094-8276.

NELSON, P.E., TOUSSOUN, T.A., MARASAS, W.F.O. (1983). *Fusarium species. An illustrated Manual for Identification*. Pennsylvania State University Press, University Park, PA.

- OGAWA K. and KOMADA H., (1985).** Biological control of Fusarium wilt of sweet potato with cross protection by prior inoculation with non pathogenic *Fusarium oxysporum*. JARQ., 19:20-25.
- OSADA, H. (1998).** Bioprobes for investigating mammalian cell cycle control. J. Antibiot. 51: 973-981.
- PAULITZ, T-C.et BELANGER, R-R. (2001).** *Biological control in greenhouse systems.* Phytopathol. 39, p. 103-133.
- PAULITZ, T-C.et BELANGER, R-R. (2001).** *Biological control in greenhouse systems.* Phytopathol. 39, p. 103-133.
- POLESE, J-M. (2007).** *La culture de la tomate.* Ed Artémis. 95p.
- PREVOST. 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. 51 : 533-546.
- RAAIJMAKERS, J.M., VLAMI, M. et de SOUZA, J.T. (2002).** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. Antonie van Leeuwenhoek. vol. 81. p. 537-547.
- RAEMAEEKERS, 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. Biotechnol. 127(3), p. 503-507.
- RAVEL, J., E. M. H. WILLINGTON et R. T. HILL. (2000).** Interspecific transfer of Streptomyces giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. Appl. Environ. Microbiol. 66: 529-534.
- REY, Y., COSTES, C. (1965).** *La physiologie de la tomate : étude bibliographique.* INRA. 111p
- ROCHER, F. (2004).***Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : évaluation de la systémie phléomienne de nouvelles molécules à effet fongicide et d'activateurs de réaction de défense.* Thèse de doctorat : université de poitiers (France).163p.
- ROQUEBERT, M-F. (1998).** *Taxonomie des moisissures ; Méthodes de culture et techniques d'observation ; Identification.* In *Moisissures des aliments peu hydratés.* Ed : Tec & Doc. P. 39-95.

RUDRESH, D. I., Shanmugam, V. et Prasad, (2005). Tricalcium phosphate solubilising abilities of *Trichoderma* sp. in relation to P uptake and growth and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Can. J. Microbiol.* 51: 217-222.

SABAOU, N., BOUDJELLA, H., BENNADJI, A., MOSTEFAOUI, A., ZITOUNI, A., LAMARI, L., BENNADJI, H., LEFEBVRE, G., and GERMAIN, P.(1998). Les sols du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Sécheresse*, p. 147–153.

SABAOU, N., HACENE, H., BENNADJI, A., BENNADJI, H. et BOUNAGA, N. (1992). *Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne.* *Can. J. Microbiol.* **38**: 1066–1073.

SAFFROY S. (2006). Etude du métabolisme carboné chez *Streptomyces pristinaespiralis*. Thèse de Doctorat en Procédés biotechnologiques et alimentaires. Institut nationale polytechnique de Lorraine. France. 150 p.

SESSITSCH, A., REITER, B., PFEIFER, U. et WILHELM, E. (2002). *Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomyces-specific PCR of 16S rRNA genes.* *FEMS Microbiology Ecology.* vol. 39, p. 23-32.

SHANKARA, N., De JEUD, J-V-L., De JEFFAU, M., HILMI, M. et VANDAM, B. (2005). *La culture de tomate production, transformation et commercialisation.* Pays-Bas : Ed. Wageningen. 105p.

SHIRLING, EB., GOTTLIEB, D. *Methods for characterization of Streptomyces species.* *Int J Syst Bacteriol* 1966;16:313–40.

SNOUSSI, S-A. (2010). *Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient (Projet GTFS/REM/070/ITA) : Rapport de mission : Etude de base sur la Tomate en Algérie.* Ed. Rome : FAO.

SNYDER, W.C., and H.N. Hansen. (1940). The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany* 27: 64-67.

SOLANKI, R., M. Khanna and R. Lal, (2008). Bioactive compounds from marine actinomycetes. *Indian J. Microbiol.*, 48: 410-431.

SOLANS, M., VOBIS, G., CASSAN, F., LUNA, V., WALL, L-G. (2011). *Production of phytohormones by root-associated saprophytic actinomycetes isolated from the*

actinorhizal plant Ochtophila trinervis. World J Microbiol Biotechnol 27:2195-2202
symbionts of actinorhizal plants. Microbiological Reviews. 57(2) : 293-319

SPADARO, D. et GULLINO, M-L. (2004). *Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens*. Crop Prot. 23, p. 1-13.

STURZ, A.V. et CHRISTIE, B.R. (2003). *Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria*. Soil and tillage research .vol. 72, p. 107-123.

SUJATHA P., BAPI-RAJU K. V. V. S. N., RAMANA T. (2005). Studies on a new marine streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Microbiological Resources. 160: 119-126.

SUZUKI S, YAMAMOTO K, OKUDA T, NISHIO M, NAKANISHI N, KOMATSUBARA S (2000). Selective isolation and distribution of *Actinomadura rugatobispora* strains in soil. Actinomycetologica 14: 27-33

TOMITA, K., NISHITO, K. SITO, H. YAMAMOTO, Y. HASHINO, H. OKHUMA, M. KONISHI, T. MIYAKI et T. OKI. (1990). Pramycin A, B and C: new antifungal antibiotics. I. Taxonomy, production and physico-chemical properties. J. Antibiot. 43: 755-762.

TREJO-ESTRADA, S-R., PASZCZYNSKI, A., CRAWFORD D-L. (1998). *Antibiotics and enzymes produced by the biocontrol agent Streptomyces violaceusniger YCED-9*. J. Industr. Microbiol. Biotech. 21 : 81-90.

VEROLET, J-F. (2001). *Tomate : Fiche technique en agriculture biologique*. Ed. ADAB. 9 p.

WELBAUM, G., STURZ, A.V., DONG, Z. et NOWAK J. (2004). *Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems*. Critical Review in Plant Science. vol. 23, p. 175-193.

Williams S. T., Locci R., Beswick A., Kurtboke D. I., Kuznetsov V. D., Le Monnier F. J., Long P. F., Maycroft K. A., palma R. A., Petrolini B., Quaroni S., Todd J.I. and West.M. (1993). Detection and identification of novel actinomycetes. Microbiol. 144, 653-656.

WILLIAMS, S. T. et E. WELLINGTON. (1982). Actinomycetes. In *Methodes of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. Agronomy monograph N°. 9 (Second Edition). Ed., A. L. Page, pp. 969-987, ASA-SSSA. Madison.

YAMAMOTO, I., KOMADA, H., KUNYASU, K., SAITO, M., and EZUKA, A. (1974). A new race of *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* inducing root rot of tomato. Proc. Kansai. *Plant Prot. Soc.* 16:17-29.

ZAHIR, A. Z., M. ARCHAD et A. HUSSAIN. (1996)(a). Response of wheat (*Triticum aestivum*) to *Azotobacter* inoculation under fertilized conditions. Sarhad. J. Agri. 12: 133-140

Annexes

Annexe I : Courbe d'étalonnage standard de l'acide indole-3- acétique (AIA)

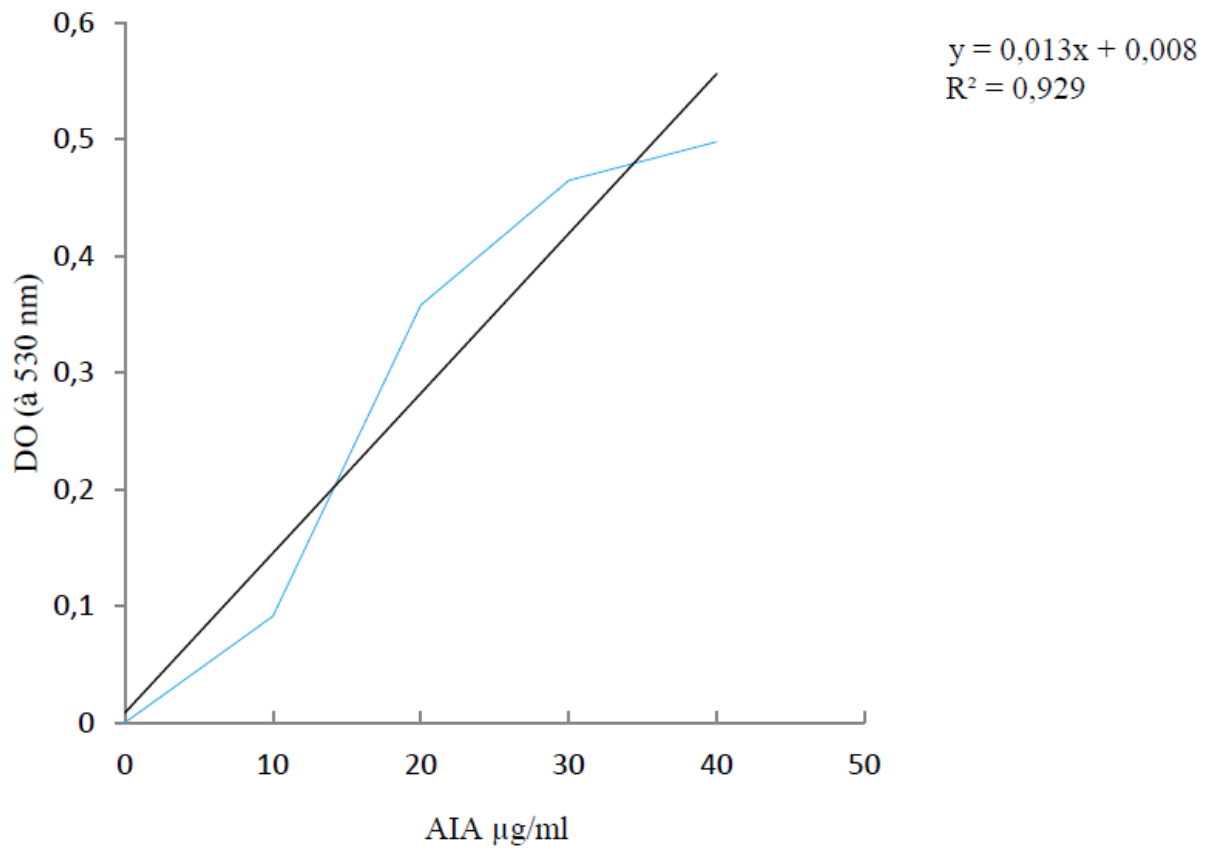


Figure 23. Courbe d'etalonnage standard d'acide indole-3-acétique

Annexe II : Les plantes hotes des souches d'actinobactéries utilisées

Souche	Plante hote
LA1	<i>Astragalus armatus</i>
LA2	<i>Terfezia leonis</i>
LA3	<i>Aristida pungens</i>
LA4	<i>Solanum nigrum</i>
LA5	<i>Phoenix dactylefera</i>
LA6	<i>Medicago laciniata</i>
LA7	<i>Cleome arabica</i>
LA8	<i>Medicago laciniata</i>
LA9	<i>Terfezia leonis</i>