



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : MGBMM

**Intitulé :**

---

**Effet PGPR de quelques Streptomyces.  
Impact sur les caractères morpho-biochimiques de la  
tomate *Lycopersicon esculentum***

---

Présenté et soutenu par :

KIAS Nassima

Le : 20/06/2017

OUADI Chahrazed

Jury d'évaluation :

Président du jury : *BENHIZIA Y.* (Professeur - UFM Constantine),

Rapporteur : *KITOUNI M.* (Professeur - UFM Constantine),

Examineur : *BOUDEMAGH A.* (Professeur - UFM Constantine).

*Année universitaire  
2016 - 2017*

## Table des matières

Remerciements.....	i
Dédicaces.....	ii
Dédicaces.....	iii
Résumés.....	iv
Liste des figures.....	v
Liste des tableaux.....	vi
Introduction générale.....	1

## Revue bibliographique

1- Le sol.....	2
1.1- Définition du sol.....	2
1.2- la microflore du sol.....	2
1.3- La rhizosphère.....	3
1.3.1- Les interactions entre les microorganismes de la rhizosphère.....	3
1.4- La mycorrhizosphère.....	4
1.5- Le rhizoplan.....	5
1.6- Les exsudats racinaires.....	5
1.7- Les rhizobactéries.....	6
1.7.1-L'activité microbiologique de la rhizosphère.....	6
2- Les Bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR).....	7
2.1- Définition.....	7
2.2- Colonisation des plantes par les PGPR.....	7
3- Interaction PGPR-Plante.....	8
3.1- La promotion directe.....	8
3.2- La promotion indirecte.....	9
3.3- La résistance systémique induite.....	9
3.4- Utilisation des PGPR.....	10
1- Introduction.....	11
2- Nomenclature et classification.....	12
3- Lycopersicon esculentum.....	12
3.1- Morphologie.....	12
3.2- Principales exigences écologiques et climatiques de la plante.....	13
4- Diversité culturelle de la tomate et conséquences phytosanitaires.....	14

5- Pathologie de tomate .....	14
5.1- Pathologie bactériennes .....	14
5.2- pathologie virale .....	15
5.3- Pathologie fongique.....	15
6- Production des tomates de qualité.....	15
6.1- La désinfection du sol à la vapeur.....	16
6.2- La biofumigation .....	16
6.3- Les biostimulants .....	16
1- Définition et caractéristiques.....	17
2- Ecologie.....	17
3- Taxonomie et classification.....	17
4- Le genre <i>Streptomyces</i> .....	18
4.1- Définition et caractéristiques .....	18
4.2- Ecologie.....	18
4.3- Cycle de vie .....	20
4.3.1- Développement des hyphes .....	20
4.3.2- Les spores.....	20
4.3.3- Instabilité génétique chez le genre <i>Streptomyces</i> .....	22
4.3.4- Métabolisme primaire et métabolisme secondaire .....	22
5- L'effet PGPR des <i>Streptomyces</i> .....	23

#### Matériel et méthodes

1- Les souches bactériennes .....	24
1.1- Les <i>Streptomyces</i> .....	24
1.2- Méthode de conservation.....	24
2- Les phytopathogènes .....	24
2.1- Les bactéries phytopathogènes .....	24
2.1.1- Isolement des bactéries à partir de la tomate infectée.....	24
2.1.2- Identification des souches phytopathogènes .....	25
2.2- Les champignons.....	25
3- Mise en évidence de l'activité antifongique et antibactérienne .....	25
4- Effet PGPR des <i>Streptomyces</i> sur les graines de tomate .....	26
4.1- Préparation des suspensions sporales.....	26
4.2- Stérilisation des graines de tomate .....	26
4.3- Traitement des graines avec les souches du genre <i>Streptomyces</i> .....	26

5- Effet des agents phytopathogènes sur les graines de tomate.....	26
5.1- Infestation par les agents phytopathogènes .....	26
5.2- Traitement avec des mélanges des <i>Streptomyces</i> et <i>Trichoderma sp</i> .....	27
5.3- Culture sur boîtes de pétri .....	28
6- Analyse morpho-biochimique des plantules .....	29
6.1- L'effet des différents traitements sur les longueurs des parties aériennes et racinaires des plantules .....	29
6.2- Dosage de la chlorophylle .....	29

#### Résultats et discussions

1- Identification des bactéries isolés.....	29
1.1- Examen macroscopique .....	29
1.2- Examen microscopique .....	29
1.2.1- Observation à l'état frais.....	29
1.2.2- coloration de Gram : .....	29
1.3- Etudes des caractères biochimiques.....	30
1.4- Test de catalase .....	32
1.5-Test d'oxydase .....	32
2-Test d'activité antimicrobienne .....	33
2.1- Activité antibactérienne .....	33
2.2- Activité antifongique.....	34
3- Effet PGPR des <i>Streptomyces</i> sur les graines de tomate .....	34
5- Biocontrôle des <i>Streptomyces</i> vis-à-vis des phytopathogènes .....	36
4- Effet combiné des <i>Streptomyces</i> et <i>Trichoderma sp</i> . Sur les graines de tomate .....	38
5- Taux de chlorophylles après les différents traitements .....	40
5.1- Taux de chlorophylles après traitement par les <i>Streptomyces</i> .....	40
5.2- Taux de chlorophylles après traitement par les phytopathogènes .....	42

#### Conclusions et perspectives

Conclusion et perspectives .....	43
Références bibliographiques.....	45

#### Annexes

Annexes

## *Remerciements*

Louange à Allah, l'Unique, paix et bénédiction d'Allah sur celui après qui il n'y a point de prophète, notre Prophète Muhammad Ibn Abdallah, sur sa famille et sur ses compagnons.

Nous tenons à remercier tout d'abord notre encadreur de recherches, Monsieur KITOUNI M. Professeur au département de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des Frères Mentouri Constantine, pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses remarques et ses conseils, sa disponibilité et sa bienveillance. Qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde gratitude.

Nous voudrions également remercier les membres du jury

Monsieur BOUDEMAGH A. Professeur au département de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des Frères Mentouri Constantine pour avoir examiné notre mémoire.

Monsieur BENCHIZIA Y. Professeur au département de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des Frères Mentouri Constantine qui a accepté de présider le jury de notre soutenance.

Ainsi que tout le personnel et les enseignants du département pour leur soutien inestimable. A tous nos enseignants qui nous ont initiés aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect et d'un profond amour !!!

Merci à vous tous.

## *Dédicaces*

Je dédie ce modeste travail

### **A Mes Chers Parents**

Je vous remercie pour tout votre soutien tout au long de mes études.

**A mes très chères sœurs** Samira, Ouided à qui,

je souhaite toute la réussite dans la vie.

**A mes chères amies** Roumeissa, Nabila.

**Mes collègues.**

**A mon binôme** Chahra à qui,

je souhaite toute la réussite et le bonheur dans la vie.

A tous ceux qui m'ont enseigné un jour.

A toute personne qui ma aidé de loin ou de près pendant ma vie scolaire.

# Nassima

## *DEDICACE*

A mes chers parents

A mes frères et sœurs

En reconnaissance de tous les sacrifices consentis par tous et  
Chacun pour me permettre d'atteindre cette étape de ma vie.

Avec toute ma tendresse.

A mes neveux et nièces.

Meilleurs vœux de succès dans votre vie.

A mes oncles, tantes, cousins et cousines.

Vous avez de près ou de loin contribué à ma formation.

Affectueuse reconnaissance

Sincère gratitude.

A mes amies Samiha, Nessrine, Amina, Salma et Soria

Et à leurs familles.

A Nassima

A mes camarades et enseignants de l'école des beaux-arts

A mes camarades d'étude et tous ceux de la faculté des sciences de

L'Université de Constantine.

Je dédie ce travail.

**.Chahrazed.**

## Résumé

Le genre le plus important des actinomycètes et qui est le plus abondant dans le sol est celui des *Streptomyces*, il est connu pour son effet améliorateur et promoteur de la croissance des plantes et son activité protectrice des plantes contre les bio-agresseurs.

De ce fait sept souches actinomycétales sont testées pour leur effet sur la croissance des graines de tomate *Lycopersicon esculentum* et de mettre en évidence l'activité antibactérienne et antifongique de ces bactéries qui a été remarquable chez les souches S7, S10, S2 et S11 vis-à-vis de ces bactéries phytopathogènes isolées de la tomate.

Les tailles des parties aériennes et racinaires ainsi que les taux de germination et de croissance sont remarquables surtout avec les souches S7, S10, S11. La mesure des poids frais des feuilles des plantules, en plus du dosage des chlorophylle a, b et la chlorophylle totale, a permis de montrer que, les *Streptomyces* peuvent aider les plantes par leur présence dans la rhizosphère, comme elles peuvent être des endophytes et colonisent divers parties de la plante.

**Mots clés :** PGPR, tomate *Lycopersicon esculentum*, actinomycètes, *Streptomyces*.

## Abstract

The size of the above ground plant parts, root part, and also the germination and growth rates are remarkable particularly with strains S7, S10 and S11. The measures of fresh weight of seedlings plus the dosage of chlorophyll a, b and total chlorophyll have determined that *Streptomyces* can help plants grow with their presence in Rhizosphere as they may be Endophytes and colonize various parts of the plants.

**Key words :** PGPR, *Lycopersicon esculentum*, actinomycetes, *Streptomyces*.

## المخلص

يعتبر *Streptomyces* النوع الأكثر أهمية من الاكتينومييسات و الذي يتواجد بوفرة في التربة و الذي يعرف بتأثيره المطور و المحفز لنمو النباتات وكذلك دوره الواقى للنباتات ضد الميكروبات الممرضة. و من اجل هذا الغرض تم اختبار سبعة سلالات من اكتينومييسيتال لمعرفة مدى تأثيرها على نمو بذرة الطماطم من نوع *Lycopersicon esculentum* و بغرض تسليط الضوء على النشاط المضاد للبكتيريا و المضاد للفطريات لهذا النوع من السلالة البكتيرية و الذي كان ملحوظا لدى السلالات S2، S7، S10، و S11 بالنسبة للبكتيريات الممرضة للطماطم. لقد تم ملاحظة انه كل من حجم الاجزاء العلوية و الجذرية و معدل النمو لدى النباتات كان معتبرا خاصة لدى السلالات S7، S10 و S11. و قد تمكنا من اثبات بعد قياس الوزن الاولي لأوراق النباتات الفتية بالإضافة الى نسبة الكلوروفيل (اليخضور) أ و ب و اليخضور الاجمالي ان *Streptomyces* تساهم في نمو النباتات و ذلك بتواجدها في منطقة rhizosphere مثلما بإمكانها ان تكون endophytes باجزاء مختلفة من النبتة.



## Listes des figures

<b>Figure 01</b> : L'activité microbiologique de la rhizosphère .....	06
<b>Figure 02</b> : Interaction entre PGPR et les plantes .....	10
<b>Figure 03</b> : Arbre phylogénique basée sur des séquences partielles d'ADNr 16S de 48 streptomycètes (<1242 nucléotides) .....	19
<b>Figure 04</b> : Cycle de vie de <i>Streptomyces Coelicolor</i> . .....	20
<b>Figure 05</b> : Réorganisation des processus biologiques cellulaires lors de la différenciation des hyphes aériens en spores .....	21
<b>Figure 06</b> : prélèvement d'échantillon à partir d'une tomate infectée.....	24
<b>Figure 07</b> : Technique des cylindres d'agar.....	25
<b>Figure 08</b> : Préparation des boîtes du Milieu de Farhaeus pour la culture des graines de tomate. ....	28
<b>Figure 09</b> : Culture des graines sur les demi-géloses en boîtes.....	28
<b>Figure 10</b> : Observation à l'état frais des 3 isolats B1, B2 et B3 (x40).....	29
<b>Figure 11</b> : Observation microscopique avec coloration de Gram des isolats B1, B2 et B3 (Gx100).....	30
<b>Figure 12</b> : Caractères biochimiques des isolats B1, B2 et B3.....	31
<b>Figure 13</b> : Test de la catalase.....	32
<b>Figure 14</b> : Test de l'oxydase.....	32
<b>Figure 15</b> : zone d'inhibition d'activité antibactérienne des <i>Streptomyces</i> .....	33
<b>Figure 16</b> : effet des <i>Streptomyces</i> sur la germination des graines de tomate (a) et (b) ; graines non traitées (c).....	34
<b>Figure 17</b> : Concentration de la chlorophylle a, b et totale chez les feuilles traitées par les souches des <i>Streptomyces</i> .....	40
<b>Figure 18</b> : Concentration de la chlorophylle a,b et totale chez les feuilles traitées par les bactéries phytopathogènes.....	41

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Bactéries Gram-positive irrégulièrement ramifiées et filamenteuses, communes dans les sols et facilement cultivées (Prescott et al., 2007).....	03
<b>Tableau 02</b> : Principales différences entre les métabolites primaires et secondaires (Delaunay et al., 2003).....	22
<b>Tableau 03</b> : Les mélanges des souches phytopathogènes effectuées pour l'infestation des graines de tomate.....	27
<b>Tableau 04</b> : Les mélanges de <i>Streptomyces</i> et <i>Trichoderma</i> sp.....	28
<b>Tableau 05</b> : Observation macroscopique des colonies sur le milieu gélosé.....	29
<b>Tableau 06</b> : Morphologie des isolats B1, B2 et B3 après coloration de Gram.....	30
<b>Tableau 07</b> : Résultats des tests biochimiques.....	30
<b>Tableau 08</b> : Résultat de l'effet inhibiteur des souches <i>Streptomyces</i> sur les bactéries pathogènes.....	33
<b>Tableau 09</b> : Effet des souches de <i>Streptomyces</i> sur la germination des graines de tomate et les caractères morphologiques des plantules.....	35
<b>Tableau10</b> : Résultats de l'effet protecteur des <i>Streptomyces</i> contre les différents phytopathogènes.....	37
<b>Tableau 11</b> : Résultats d'effet combiné des <i>Streptomyces</i> et <i>Trichoderma</i> sp.....	39

## Introduction générale

---

## Introduction générale

Les nombreuses plantes utilisées par l'homme pour son alimentation, et ses industries ont été domestiquées sur des bases scientifiques. Parmi ces dernières la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) appartenant à la famille des *Solanaceae*, est devenue un des légumes les plus importants dans le monde.

Une des principales clés de cette domestication est la valorisation des interactions biologiques bénéfiques, en prenant en considération les services écosystémiques qui leur sont essentiels. Parmi les interactions biologiques, celles existant entre plantes cultivées et communautés microbiennes de la rhizosphère, qui sont capables d'améliorer la croissance des plantes et leur tolérance aux stress abiotiques : on les appelle des PGPR pour « Plant Growth Promoting Rhizobacteria ».

Les *Streptomyces* représentent le genre le plus répons des actinomycètes dans le sol. Ces bactéries sont principalement retrouvées dans les couches superficielles des sols où leur développement et leur dispersion sont facilités par leur croissance mycélienne et leur capacité de sporulation. Elles se caractérisent par leur aptitude à dégrader les matières organiques du sol grâce à de nombreuses enzymes hydrolytiques extracellulaires, participant ainsi activement à la formation de l'humus. Ces souches sont caractérisées aussi par leurs effets PGPR vis-à-vis des plantes.

Notre étude consiste à mettre en évidence les effets de l'inoculation des graines de tomate *Lycopersicon esculentum* avec des souches de *Streptomyces*. De ce fait notre travail a été divisé en quatre parties : La première partie présente une revue bibliographique qui englobe des informations générales sur notre thème. La deuxième partie expose le matériel et méthodes utilisés pour réaliser ce travail. La troisième partie traite les résultats obtenus et leurs discussions et enfin une conclusion générale.

---

Revue bibliographique

## **1- Le sol**

### **1.1- Définition du sol**

Le sol est un environnement où cohabitent les racines des végétaux, les animaux et les microorganismes. C'est un assemblage complexe de substances minérales et organiques, de gaz et d'eau, à l'intérieur duquel se déroulent simultanément des phénomènes de dégradation et de synthèse. A cause de son hétérogénéité, il abrite des populations de microorganismes à des particularités biologiques et biochimiques très diverses. L'activité de ces populations est influencée par divers facteurs : la température, le pH, la profondeur du sol, l'humidité et la présence des substances organiques et inorganiques.

Les microorganismes présents dans le sol sont impliqués dans le recyclage de nombreux éléments chimiques (carbone, azote, phosphore, soufre, fer et autres). Ils s'agit surtout de ceux impliqués dans la formation et la dégradation de l'humus. Ainsi que ceux ayant un rôle important dans la solubilisation des composants organiques et inorganiques inaccessibles aux plantes (Ameur, 2014)

### **1.2- la microflore du sol**

Les sols peuvent contenir de très fortes populations microbiennes. Dans un sol de surface, la population bactérienne, mesurée au microscope, peut approcher les  $10^8$  à  $10^9$  cellules par gramme de poids sec de terre.

Si nous examinons un sol de façon plus détaillée, nous voyons que les bactéries et les mycètes recourent à des stratégies fonctionnelles différentes pour tirer avantage de cette matrice physique complexe. La plupart des bactéries du sol sont localisées à la surface de particules. L'eau et les nutriments doivent être dans leur voisinage immédiat. On trouve le plus souvent les bactéries sur les surfaces des petits pores du sol (2 à 6  $\mu\text{m}$  de diamètre). Elles risquent probablement moins d'être mangées par les protozoaires, que les bactéries qui se trouvent exposées à la surface externe d'un grain de sable, ou de matière organique. La communauté microbienne du sol contribue de façon importante au recyclage biogéochimique du carbone, de l'azote, du soufre, du fer et du manganèse. Parce que le sol est essentiellement un milieu oxydé, les formes inorganiques de ces éléments tendront à s'y trouver à l'état oxydé (Prescott *et al.*, 2007) tableau 1.

**Tableau 1 :** Bactéries Gram-positives irrégulièrement ramifiées et filamenteuses, communes dans les sols et facilement cultivées (Prescott *et al.*, 2007).

Groupes bactérien	Genres représentatif	Commentaires et caractéristiques
Corynébactéries	<i>Arthrobacter</i>	Cycle batonnet-coque
	<i>Cellulomonas</i>	Important dans la dégradation de la cellulose
	<i>Corynebactérium</i>	Morphologie en masse
Mycobactéries	<i>Mycobactérium</i>	Coloration acidorésistante
Nocardioformes	<i>Nocardia</i>	Ramification rudimentaires
Actinomycètes	<i>Streptomyces</i>	Bactéries filamenteuses aérobies Croissance à des températures supérieures

### 1.3- La rhizosphère

La rhizosphère telle qu'elle a été définie par Hiltner (1904) est le volume du sol qui entoure les racines et dans lequel la microfaune est influencée par ces dernières. C'est un microécosystème abritant les microorganismes principalement des algues microscopiques, des protozoaires, des champignons et des bactéries. Certains groupes sont phytopathogènes d'autres sont bénéfiques à la plante (Raaijmakers, 2009). Cette partie du sol est le siège des interactions mutuelles entre le sol, les microorganismes et les plantes.

#### 1.3.1- Les interactions entre les microorganismes de la rhizosphère

Au niveau de la rhizosphère qui est une zone riche en matière organique et où les populations microbiennes sont très abondantes. Les interactions entre les microorganismes sont nombreuses et très intenses. Ces interactions sont catalysées par les exsudats racinaires. Ces derniers favorisent certains groupes de microorganismes au dépend d'autres au sein de la communauté microbienne (Curl et Truelove, 1986). Les interactions sont les suivantes :

##### a- Commensalisme

Le commensalisme existe au niveau de la rhizosphère, notamment lors des changements dans les conditions environnementales (humidité, pH, le potentiel

osmotique, etc.). Ils sont provoqués par un micro-organisme rendant ainsi le climat favorable pour le développement d'un autre. Aussi, certains organismes dégradent ou neutralisent des substances toxiques, favorisant ainsi la croissance d'autres (Curl et Truelove, 1986).

#### b- Mutualisme

Le mutualisme ou symbiose est une association mutuellement avantageuse aux microorganismes partenaires. Exemple : *Proteus vulgaris* qui nécessite la biotine pour sa croissance. Il synthétise l'acide nicotinique requis par *Bacillus polymyxa* qui le transforme en biotine pour *Proteus vulgaris* (Dommergues et Mangenot, 1970).

#### c- Antagonisme

En écologie, le terme d'antagonisme désigne une inhibition, ou une action défavorable d'un organisme vis-à-vis d'un autre, à l'intérieur d'une population microbienne mixte (Curl et Truelove, 1986). L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un hyperparasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose.

#### d.- Compétition

La compétition c'est une interaction entre deux ou plusieurs microorganismes. Elle concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux, qui deviennent limitatifs pour la croissance. L'effet sélectif des exsudats racinaires, sur la microflore serait le résultat de la compétition. Il oppose des souches à croissance lente et des souches à croissance rapide. Ces dernières sont particulièrement favorisées dans la rhizosphère. La fréquence élevée des *Fusarium* dans la rhizosphère serait due au pouvoir compétitif de ce champignon (Dommergues et Mangenot, 1970).

#### e- Hyperparasitisme

L'hyperparasitisme est l'attaque directe d'un microorganisme par un autre dans un but nutritionnel. La rhizosphère qui héberge une large variété de populations microbiennes, constitue un milieu favorable pour l'apparition du parasitisme (Gagné, 1984).

### 1.4- La mycorrhizosphère

La mycorrhizosphère (ou parfois mycorrhizosphère) est la rhizosphère des racines mycorhizées (Marx, 1972, Rambelli, 1973). Cette zone privilégiée héberge une



population de microorganismes saprophytes fongiques ou bactériens. Elle est en général plus abondante que dans le sol témoin éloigné des mycorhizes (Dommergues, 1978).

### **1.5- Le rhizoplan**

Le rhizoplan est la surface des racines des plantes. Elle constitue aussi un milieu particulier pour les micro-organismes, avec ces matériaux gazeux, solubles ou particuliers qui passe de la plante au sol (Prescott *et al.*, 2007).

Le rhizoplan est formé de l'épiderme racinaire et le cortex externe. C'est le lieu où les particules du sol, les bactéries et les hyphes fongiques adhèrent (Singer, 2006 ; Sylvia, 2005). Alors que sa définition fonctionnelle est : « les micro-organismes restants et les particules du sol après que les racines ont été secouées vigoureusement dans l'eau ». Il y a plus de microbes dans le rhizoplan que dans la rhizosphère. Les microbes sont plus abondant où l'intégrité de la racine est compromise. Pour cette raison, les micro-organismes de rhizoplan ont tendance à se trouver sur des anciennes racines plutôt que de jeunes. Les bactéries et les champignons qui vivent dans les cellules de la racine ne sont pas considérés comme une partie de la rhizosphère, mais plutôt appelés endophytes (Sylvia, 2005).

### **1.6- Les exsudats racinaires**

Les exsudats représentent la partie la plus importante des substances libérées par les racines, surtout dans la région apicale. C'est également celle la plus rapidement métabolisée par les microorganismes. Ils sont généralement composés de sucres, d'acides aminés, de facteurs de croissance, de vitamines, d'enzymes et d'acides organiques. Ils représentent une source nutritionnelle pour la microflore rhizosphérique. Ils agissent soit en stimulant ou en inhibant certaines espèces (effet rhizosphérique) (Soufiane, 1998).

Les microorganismes stimulés peuvent agir :

Soit directement sur la plante en mettant à sa disposition des phytohormones (Lebuhn *et al.*, 1997), des vitamines ou des molécules organiques, absorbables par les racines.

Soit indirectement en améliorant sa nutrition minérale par solubilisation ou minéralisation de certains éléments (Soufiane, 1998).

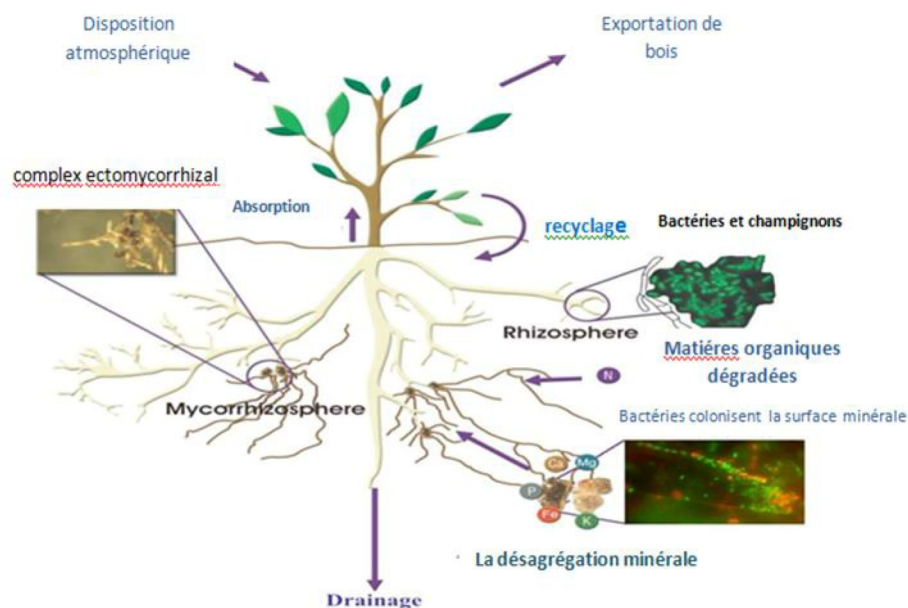
## 1.7- Les rhizobactéries

### 1.7.1-L'activité microbiologique de la rhizosphère

Du fait que la plupart de ces microorganismes sont hétérotrophes au carbone et à l'azote. L'activité des microorganismes dans le sol est intense dans la rhizosphère (figure 1). Elle dépend généralement, des substances libérées par les racines des plantes (Scurkson *et al.*, 2002). Ces substances, ou encore appelées exsudats racinaire (Hawes, 1998).

Lorsque les substrats deviennent disponibles, les micro-organismes de la rhizosphère et du rhizoplan, non seulement augmentent en nombres. Leur composition et leur fonction changent aussi. En répondant à ces matériaux libérés, les micro-organismes de la rhizosphère et du rhizoplan servent aussi de source labile de nutriments pour d'autres organismes. Ils créent ainsi une boucle microbienne, en plus de remplir des rôles essentiels dans la synthèse et la dégradation de la matière organique.

Les racines des plantes rejettent une large variété de matériaux dans le sol environnant. Il s'agit de divers alcools, de l'éthylène, des sucres, des acides aminés et organiques, des nucléotides, des polysaccharides et des enzymes. Ces matériaux créent des milieux particuliers pour les micro-organismes du sol. De multiples bactéries de la rhizosphère peuvent promouvoir la croissance des plantes. Ces bactéries sont appelées rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ou PGPR (Plant Growth-Promoting-Rhizobacteria).



**Figure 01** : L'activité microbiologique de la rhizosphère (Vittorio *et al.*, 2016)

## **2- Les Bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR )**

### **2.1- Définition**

Depuis 1904, diverses études ont décrit la taxonomie des bactéries dans la rhizosphère qui sont appelés rhizobactéries. Elles peuvent être neutres, pathogènes ou bénéfiques à leurs hôtes (Raaijmakers *et al.*, 2009). Parmi eux, les PGPR (rhizobactéries favorisant la croissance des plantes : Plant Growth Promoting rhizobacteria). Les PGPR ont été tout d'abord décrit par Kloepper et Schroth en 1978. Ils sont connus par leurs effets bénéfiques sur le développement et la santé de la plante. Ainsi que sur le rendement par des mécanismes directs ou indirects (Compant *et al.*, 2005a). Bien que les PGPR peuvent être présente dans la rhizosphère, une partie de leur population peut aussi entrer à l'intérieure de cellules. Elles colonisent diverses parties de la plante. Ce processus de colonisation du système vasculaires a démontré que les endophytes bactériens pourraient être trouvées dans différentes parties des plantes. Comme les racines, les tubercules, mais aussi à l'intérieure des tiges et/ou des feuilles (Hallman, 2005 ; Compant *et al.*, 2005b).

### **2.2- Colonisation des plantes par les PGPR**

Comme décrit précédemment plusieurs PGPR ne colonisent pas seulement la rhizosphère et le rhizoplan, mais pénètrent aussi et colonisent les tissus internes des plantes (Compant *et al.*, 2005a ; Hallmann et Berg, 2006). La pénétration peut avoir lieu à des fissures : comme ceux qui se produisent sur les sites d'émergence des racines, ou créées par les microorganismes nuisibles, Ainsi que par l'extrémité des racines (Reinhold-Hurek et Hurek, 1998). Lorsque les bactéries colonisent les racines, elles peuvent envahir les cellules par voie inter et/ou intracellulaire. Elles peuvent pénétrer dans les tissus centraux. De cette façon, elles pourraient atteindre les couches centrales avant la différenciation de l'endoderme. Bien que l'endoderme est également accessible via la sécrétion des enzymes dégradant la paroi cellulaire (Compant *et al.*, 2010a). La Production d'enzymes de dégradation de la paroi cellulaire a été détectée chez les PGPR et/ou les bactéries endophytes. Ces dernières pénètrent à l'intérieur de cellules via la sécrétion d'enzymes hydrolytiques (Hallmann *et al.*, 1997). Les endoglucanase, les cellulases et les pectinases sont des enzymes produites par de nombreuses bactéries endophytes telle qu'*Azoarcus* sp. BH72 (Hurek *et al.*, 1994). La dégradation enzymatique des parois cellulaires végétales, est observée seulement quand les bactéries colonisent l'épiderme racinaire. Cette dégradation n'a jamais lieu après la colonisation

des espaces intercellulaires du cortex de la racine. Donc les endophytes n'induisent la production de cellulases et de pectinases, que pour la pénétration dans la plante hôte. Certains des PGPR peuvent coloniser non seulement le cortex racinaire interne mais certains sont également en mesure de franchir la barrière de l'endoderme (Compant *et al.*, 2010a), figure 2.

Ce processus de colonisation du système vasculaire a été mis en évidence pour expliquer pourquoi les endophytes pourraient se trouver dans les parties aériennes de la plante. Il a en effet été démontré que des endophytes bactériens pourraient être trouvés dans différentes parties végétatives des plantes. Allant des racines, des tubercules, jusqu'à l'intérieur des tiges et/ou des feuilles (Hallmann, 2001; Gray et Smith, 2005; Compant *et al.*, 2005b).

Les PGPR ou « Plant Growth-Promoting-Rhizobacteria » sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère. Elles ont un effet positif sur la plante. En raison de ces effets on les considère comme rhizobactéries promotrice de la croissance végétale (Dey *et al.*, 2004 ; Herman *et al.*, 2008 ; Microrsky, 2008). Ces bactéries sont utilisées en agriculture pour la biofertilisation des sols (Glick, 1995). Elles fixent l'azote atmosphérique qui pourra être par la suite utilisé par les plantes et améliorent ainsi leur croissance lorsque l'azote du sol est limitant.

La fixation biologique de l'azote, joue un rôle majeur dans le cycle de l'azote. Les bactéries fixatrices d'azote possèdent un complexe enzymatique, appelé nitrogénase. Cette dernière assure la réduction de l'azote moléculaire en ammoniacque (Glick, 1995). Ces bactéries présentent une très grande diversité dans leur mode de vie et leur association avec les végétaux. Elles peuvent induire la croissance des plantes par la promotion directe ou indirecte (Verma *et al.*, 2010).

### **3- Interaction PGPR-Plante**

#### **3.1- La promotion directe**

Ce mécanisme comprend la stimulation bactérienne des phytohormones (auxine ou cytokinine). Cela permet à la plante de développer un système racinaire abondant, lui permettant notamment de coloniser une plus grande surface de sol. Il permet également d'améliorer l'état nutritionnel des plantes (Beauchamp, 1993 ; Kloepper, 1993 ; Ramos *et al.*, 2009) figure 2. Les bactéries PGPR peuvent avoir un impact positif sur les plantes de manière directe ou indirecte. L'effet phytobénéfiques direct des bactéries PGPR peut correspondre à (i) Une augmentation de la qualité de nutriments disponibles (fixation

libre de l'azote, solubilisation du phosphate, etc.) (Dobbelaere *et al.*, 2003), (ii) Une augmentation de la micro- structuration du sol rhizosphérique qui retient alors mieux l'eau,(iii) Une modification de l'équilibre hormonal de la plante (production de phytohormones, désamination du précurseur de l'éthylène, etc.) (Glick *et al.*, 1998 ; Dobbelaere *et al.*, 2003), et (iv) L'induction d'une réponse systémique chez la plante, de type ISR (Induced Systemic Resistance) ou plus rarement SAR (Systemic Acquired Resistance).

### 3.2- La promotion indirecte

Ce mécanisme repose sur la capacité des PGPR à réduire les effets nocifs pour la plante : la dégradation des xénobiotique dans les sols contaminés, par la production des métabolites qui sont toxique aux pathogènes du sol. L'hydrolyse des molécules libérées par des agents pathogènes, par exemple les *Pseudomonas*, qui sont capables de décomposer l'acide fusarique (un composé responsable de la pourriture des racines causée par les champignons) (Ramos *et al.*, 2009) (Figure 2). L'effet phytobénéfiques indirect des bactéries PGPR résulte d'interactions entre PGPR et des pathogènes et/ou parasites de la plante. Interactions à l'occasion desquelles les effets négatifs de ces derniers sont diminués (Ramette *et al.*, 2006 ; Rezzonico *et al.*, 2007). Ces interactions correspondent souvent à de la compétition ou de l'antagonisme (Bally et Elmerich, 2007).

### 3.3- La résistance systémique induite

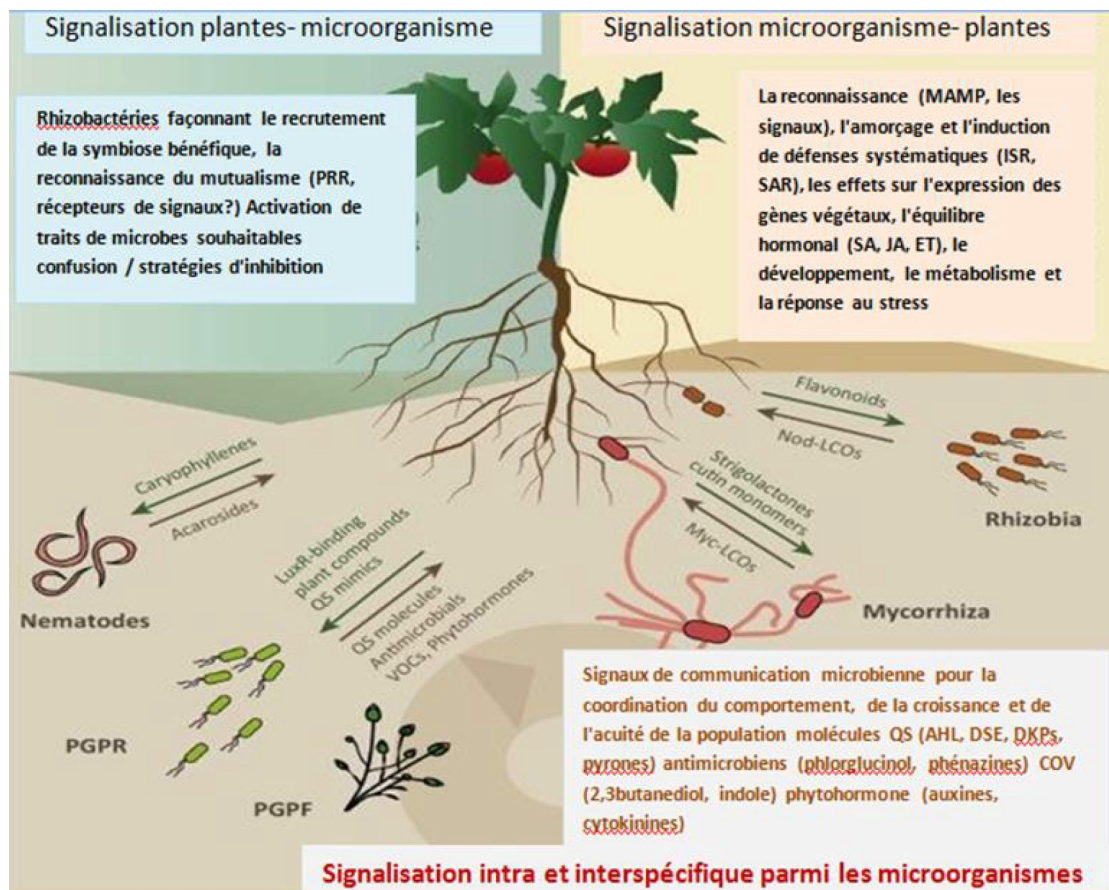
Certaines souches de PGPR peuvent protéger les plantes d'une façon indirecte, par la stimulation de mécanismes de défense inductibles dans la plante. Ce qui peut rendre l'hôte beaucoup plus résistant, à l'agression future par des agents pathogènes. Ce phénomène a été nommé «résistance systémique induite» (ISR, Induced Systemic Resistance) (Van Loon *et al.* 1998 ; Pieterse *et al.*, 2002).

L'induction des systèmes de résistance se manifeste, par des modifications au niveau de la composition des parois cellulaires ou la libération des éliciteurs. Ces derniers sont des substances mettant en branle les mécanismes de défense de la plante. Celle-ci produira alors des phytoalexines et des protéines PR, qui lui confèrent une résistance systémique (Agrios, 1988 ; Toussaint, 1996). Par exemple, *Trichoderma harzianum* T-203 induit des changements structuraux et chimiques des parois cellulaires des plantes. Ce qui augmente leur résistance aux infections par les phytopathogènes (Brimner et Boland, 2003).

### 3.4- Utilisation des PGPR

Dans les dernières décennies, l'utilisation des PGPR est devenue une alternative pour améliorer la production agricole (Vargas *et al.*, 2009). Ces bactéries peuvent coloniser les racines et exercer des effets bénéfiques, sur la croissance des plantes par différents mécanismes (Nelson, 2004). Ces rhizobactéries améliorent le développement des systèmes racinaires, l'augmentation de la capacité d'absorption de l'eau et les éléments nutritifs (Siddiqui, 2003). Elles renforcent les capacités défensives des plantes contre les maladies (Van Loon *et al.*, 1998). Elles affectent positivement la levée des semences et améliorent le rendement des cultures (Glick *et al.*, 1999).

La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas*. (Haas et Defago, 2005).



**Figure 02 :** Interaction entre PGPR et les plantes (Uroz *et al.*, 2015).

## 1- Introduction

Depuis les débuts de l'agriculture, les agriculteurs ont gardé, à chaque génération, les graines les plus saines et intactes des plus belles plantes, afin de les replanter l'année suivante. Le fait de garder les meilleures graines, amène progressivement à sauvegarder, les bons caractères de l'espèce originale. Il améliore le rendement et la qualité cultivée.

Il est déjà possible d'assurer un bon niveau de productivité, des rendements stables et une bonne qualité des fruits. Toutefois, un effort reste à faire pour améliorer la fermeté des fruits et leur conservation. Afin de répondre aux besoins des pays dans lesquels les transports sont longs et chaotiques. La compréhension des mécanismes physiologiques, de l'adaptation au climat permettrait encore des gains de productivité en saison difficile.

La tomate est le fruit le plus consommé dans le monde, après la pomme de terre. Elle est cultivée sous presque toutes les latitudes avec une superficie d'environ 3 millions d'hectares (André *et al.*, 1997).

Chez la tomate, la culture de cellules a été utilisée pour sélectionner la résistance au sel, à la toxicité aluminique, au stress hydrique, aux herbicides et aux pathogènes (André *et al.*, 1997).

La tomate est :

- une espèce annuelle : ses graines sont récoltées à la fin de son cycle végétatif,
- une espèce autogame : la fleur qui produit le fruit ou la graine possède des organes reproducteurs mâles et femelles. Celle-ci est donc capable de s'autopolliniser, mais le pourcentage d'hybridation, notamment par les insectes, est élevé (15%),
- Une espèce qui produit des graines humides.

Les caractéristiques qui différencient le plus, les variétés de tomate sont les suivantes :

1. le type de croissance : déterminé ou indéterminé,
2. la longueur du cycle,
3. la période de la culture : saison chaude et humide, saison froide, toute l'année,
4. les caractéristiques des feuilles (Dakar, 2012).

## 2- Nomenclature et classification

Les botanistes modifièrent à plusieurs reprises les noms de genres et d'espèces attribués à la tomate. Elle a été classée par Linné en 1753, comme *Solanum lycopersicon*. D'autres botanistes lui ont attribué différents noms : *Solanum lycopersicon*, *Solanum esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*. C'est finalement *Lycopersicon esculentum* attribué par Philippe Mille en 1754, qui a été retenu (Munroe et Small, 1997). Gaussen *et al.* (1982) proposèrent la classification de la tomate qui est largement suivie :

Règne	Plantae
Sous règne	Trachenobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Solanales
Genre	<i>Solanum ou lycopersicon</i>
Espèce	<i>lycopersicon esculentum</i> Mill.

## 3- *Lycopersicon esculentum*

La tomate (*Lycopersicon esculentum*) appartient à la famille des *Solanaceae*, à laquelle appartiennent également le piment, le jaxatu, le poivron, l'aubergine et la pomme de terre. (Dakar. 2012). La tomate, *Lycopersicon esculentum* Mill., est la seule espèce cultivée du genre *Lycopersicon*. C'est une plante diploïde ( $2n = 2x = 24$ ) (André *et al.*, 1997).

### 3.1- Morphologie

a) les feuilles sont imparipennées avec des folioles plus ou moins dentées. Il existe des variétés à feuilles très peu découpées et à bord non denté que l'on désigne comme variétés « à feuilles de pomme de terre ». Ce caractère, monogénique récessif, est contrôlé par l'allèle « c ».

b) les fleurs des variétés cultivées sont groupées en inflorescences simples ou ramifiées. Leur nombre est variable, allant de 5 à 12. La fleur est constituée de 5 à 8



sépales, 5 à 8 pétales, 5 à 8 étamines et d'un ovaire comprenant 2 à 10 carpelles. Les étamines sont soudées en un cône qui entoure le pistil, c'est-à-dire l'ovaire, le style et le stigmate. Chaque étamine libère le pollen qu'elle renferme par une fente longitudinale se trouvant à l'intérieur du cône staminal. En d'autres termes, il s'agit d'une déhiscence introrse des étamines. Le pollen est reçu par le stigmate qui se trouve à l'intérieur, à l'extrémité, du cône d'étamines. Les grains de pollen germent sur le stigmate, et leur tube pollinique pénètre le style jusqu'à l'ovaire. Il pénètre ensuite les ovules qui s'y trouvent en nombres très variables selon le type variétal. Les ovules ainsi fécondés forment les graines.

c) Les fruits de tomate, charnus et tendres, sont en fait des baies. Selon la variété, leur taille, leur couleur et leur consistance sont très différentes. Il en est de même pour leur forme, et leur poids. Ce dernier peut varier de quelques dizaines de grammes à plus d'un kilogramme. Leur couleur, verte plus ou moins foncée avant maturité, évolue durant cette dernière vers diverses teintes en fonction des cultivars : crème, jaune, orange, rose, rouge ou brune. Quelques rares variétés sont zébrées (Dominique *et al.*, 2009).

d) la graine de la tomate fait l'objet d'une culture annuelle. Bien que, dans certaines conditions, la plante soit pérenne. Sa graine est petite (300 graines par gramme) (André *et al.*, 1997). Des Graines nombreuses, en forme de rein ou de poire. Elles sont poilues, beiges, 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large. L'embryon est enroulé dans l'albumen. 1000 graines pèsent approximativement 2,5 à 3,5 g (Shankara *et al.*, 2005), sa germination est épigée (André *et al.*, 1997). Le cycle de la graine à la graine, est variable selon les variétés et les conditions de culture. Il est en moyenne de 3,5 à 4 mois (7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit) (Gallais et Bannerot, 1992).

### **3.2- Principales exigences écologiques et climatiques de la plante**

Le *Lycopersicum esculentum* Mill a des exigences particulières. Il est sensible au froid. Il craint beaucoup le gel et les vents chauds. Il est très exigeant en température (Polese, 2007).

## 4- Diversité culturelle de la tomate et conséquences phytosanitaires

Différents objectifs sont poursuivis par les professionnels : l'augmentation des rendements, l'élargissement des calendriers de production d'une part. la mécanisation des opérations et l'amélioration de la qualité des fruits, tant pour le marché de frais que pour les tomates destinées à la transformation industrielle d'autre part.

Cette large diversification, l'intensification des cultures et les échanges mondiaux ont contribué à modifier, parfois bouleverser, les situations phytosanitaires sur le terrain. Surtout lorsque les nouveaux bioagresseurs ont été introduits. À titre d'exemple citons les introductions en France de *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-licopersici* et *Oidium neolycopersici*, au cours des années 1980. Plus récemment de plusieurs virus : *Pepinomozaic virus* (PepMV), *Tomato chlorosis virus* (ToCV), *Tomato yellow leaf curl* (TYLCV) (Dominique *et al.*, 2009 ).

## 5- Pathologie de tomate

### 5.1- Pathologie bactériennes

Dans les régions tropicales humides, l'une des maladies les plus répandues est le flétrissement bactérien *Ralstonia solanacearum*. Le nom latin a changé depuis la dernière parution de l'ouvrage de Blancard. Quelques variétés résistantes sont disponibles et certaines d'entre elles sont relativement efficaces pour contrôler la maladie. Cependant, cette bactériose affecte une large gamme d'hôtes (plus de 200 espèces végétales). Au cours des dernières années, une souche qui infecte la pomme de terre infectant la tomate a été mise en évidence. Cette souche pour laquelle aucune résistance performante n'a été trouvée jusqu'à aujourd'hui. Moins omniprésente, la gale bactérienne causée par plusieurs espèces de *Xanthomonas* n'en est pas moins une maladie importante. La nomenclature des bactéries en cause a changé, et 4 nouvelles espèces ont été notamment recensées depuis 1990. Dans les régions tempérées, la moucheture (provoquée par *Pseudomonas tomato*) a été la principale maladie bactérienne. Une deuxième espèce de cette bactérie a surmonté la résistance utilisée dans certaines zones de production. Le chancre bactérien (dû à *Clavibacter michiganensis*) peut être dévastateur. Lorsqu'il est transmis mécaniquement au cours des opérations culturales.

## 5.2- pathologie virale

L'aleurode de la patate douce (*Bemisia tabaci*) transmet un nombre toujours croissant de virus, nommés « *Begomovirus* » ou « *Geminivirus* » dans les régions de production tropicales. Le plus connu d'entre eux est le *tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). Des dizaines de *Geminivirus* du nouveau monde causent également de terribles dégâts, dans de nombreuses cultures d'Amérique centrale ou d'Amérique du Sud. Dans ces zones de production, il est bien souvent indispensable de disposer d'une variété résistante au flétrissement bactérien et aux *Geminivirus* pour réussir à produire des tomates. Le *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) est un « ancien » virus qui provoque toujours des dégâts, considérables dans les régions tropicales et tempérées. Un « nouveau » problème viral, occasionné par le *Pepinomosaic virus* (Pep MV), se manifeste dans les serres de production. Il a des répercussions en termes de quarantaine. Il survit bien dans le sol et sur les outils. Il est transmis mécaniquement au cours des opérations culturales.

## 5.3- Pathologie fongique

Chez les champignons, de nouvelles espèces ou d'anciennes espèces des agents pathogènes sollicitent les sélectionneurs de tomate. C'est le cas de *Phytophthora infestans*, responsable du mildiou. L'alternariose (*Alternaria tomatophila*) est l'une des maladies foliaires, les plus communes pour les producteurs et les jardiniers amateurs. Une espèce de *Verticillium dahliae*, responsable de la verticilliose, pour laquelle on ne dispose pas de résistance. Elle occasionne des pertes de récolte dans de nombreuses zones de culture. Il en est même pour l'espèce 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, à l'origine de la fusariose. Elle continue de s'étendre, imposant le recours à des variétés résistantes qui n'existait pas en 1987. Avec l'élimination progressive du bromure de méthyle, *Sclerotium rolfsii* pourrait devenir une grave menace, pour les cultures dans de nombreuses régions de production. Il existe également des espèces de nématodes que les résistances disponibles ne parviennent pas à contrôler. Ces résistances étant des plus inefficaces lorsque la température du sol est élevée. (Dominique *et al.*, 2009).

## 6- Production des tomates de qualité

Pour produire des tomates de qualité, il est important de toujours garder en tête que la qualité n'est jamais le fruit du hasard. Mais que c'est plutôt le résultat d'un

programme de culture suivi avec rigueur (Gilles *et al.*, 2011 ). Il y a plusieurs techniques appliquées pour atténuer l'atteinte des bioagresseurs sur les cultures :

### **6.1- La désinfection du sol à la vapeur**

Brièvement, la désinfection du sol à la vapeur, consiste à faire monter la température du sol à 70°C pendant au moins 30 minutes. On estime qu'il faut près de 4 à 7 m<sup>3</sup> de gaz naturel par m<sup>2</sup> de serre pour désinfecter le sol.

### **6.2- La biofumigation**

Consiste à incorporer dans le sol des plantes riches en glucosinolates. Des molécules que l'on retrouve dans certaines crucifères comme la moutarde brune (*Brassicajuncea*) et la roquette (*Erucasativa*). La fermentation de ces plantes transforme les glucosinolates en isothiocyanates et en thiocyanates. Ce sont des substances volatiles et toxiques pour les organismes pathogènes du sol (Gilles *et al.*, 2011 ).

### **6.3- Les biostimulants**

C'est des substances ou des microorganismes qui ont pour fonction de stimuler les processus naturels pour accroître l'absorption et l'efficacité des nutriments. Ainsi que la tolérance aux stress abiotiques et la qualité des récoltes lorsqu'elles sont appliquées aux plantes ou à la rhizosphère (racines).

Depuis quelques années, un certain nombre de biofertilisants et/ou biofongicides, à base de rhizobactéries PGPR pour la culture en serre a été mis sur le marché canadien. Par exemple, les produits Rhapsody et Serenade d'Agraquest, consistant en une formulation de spores de *Bacillus subtilis*, sont homologués au Canada, pour une série de maladies fongiques. Actinovate de la compagnie Natural Industries composé de *Streptomyces lydicus* est homologué au Canada, pour le *Botrytis* et le blanc. Verdera propose Mycostop contenant du *Streptomyces griseoviridis* avec une homologation pour *Pythium*, *Fusarium* et *Phytophthora*. Premier Tech a développé un terreau inoculé avec une souche antifongique de *Bacillus subtilis*, provenant de l'Américaine Becker Underwood. Sans oublier les *Rhizobium sp.* qui sont des rhizobactérie PGPR. Elles sont utilisées depuis longtemps pour l'inoculation des graines de légumineuses, mais peu au niveau des serres (Gilles *et al.*, 2011 ).

## 1- Définition et caractéristiques

Les actinomycètes, l'un des groupes les plus divers de bactéries, sont bien connus pour leur polyvalence métabolique. Le potentiel bioactif de ces bactéries facilite leur survie même en détresse, et des conditions écologiques défavorables (Neeluet *al.*, 2013). Ils sont des microorganismes aérobies à coloration de Gram positive. Certains d'entre eux ont un type de croissance mycélien (les cellules produisent des filaments et des ramifications), rappelant celui des champignons filamenteux. Un des premiers organismes étudiés dans ce groupe est le genre *Actinomyces* qui a donné son nom au groupe (Perryet *al.*, 2004).

Les actinomycètes sont divisés en plusieurs genres en fonction d'un ensemble de caractères morphologiques (du mycélium, des conidies, des sporanges et d'autres structures), et biochimiques (la composition en acides aminés de la paroi cellulaire, en glucides, en lipides et en acides nucléiques (% G + C)). A partir de ces critères, la classification de Bergey (Locci, 1889) répartit les actinomycètes en plusieurs groupes. Parmi lesquels on distingue le groupe 29 des « Streptomyces et genres apparentés ». Il s'agit d'un groupe hétérogène. Néanmoins tous les membres possèdent de l'acide diaminopimélique et de la glycine dans le peptidoglycane. Des hyphes stables sont formés et peuvent produire des mycéliums aériens avec de longues chaînes de spores (c'est le cas de *Streptomyces* et de *Streptovercillium*) (Locci, 1989).

## 2- Ecologie

Les actinomycètes sont des habitants communs du sol. Leur production de géosmine et de MIB (2-méthyl isobornéol), contribue significativement à l'odeur caractéristique du sol (Zaitlin et Watson, 2006).

Les actinomycètes ont été également isolés de nombreux environnements aquatiques. Ils ont été isolés à partir des eaux de mer et sédiments marins (Jensen *et al.*, 1991 ; Ghanem *et al.*, 2000), d'eau douce (Kitouni *et al.*, 2005) et dans les marécage salés (Al-Zarbanet *al.* , 2002 ; Boughachiche *et al.*, 2005). Beaucoup sont capable de sporuler, ce qui leurs permet de survivre en conditions défavorables tels que la salinité (Zaitlin et Watson, 2006). Cette propriété joue un rôle principal dans leur distribution.

## 3- Taxonomie et classification

D'après le Bergey's Manuel of systematic bacteriology (2012) le phylum *Actinobacteria* renferme une seule classe *Actinobacteria*, cette classe est subdivisée en

15 ordres et 41 familles entre autre la famille des *Streptomycetaceae* formée du genre *Streptomyces* qui représente 80 à 95 % du total des actinomycètes.

Le genre *Streptomyces* a été proposé par Waksman et Henrici (1943). il est classé dans la famille *Streptomycetaceae* sur la base de la morphologie et par la suite du chimotype de la paroi cellulaire. Le développement de systèmes taxonomiques numériques utilisant des caractères phénotypiques a permis de résoudre les relations intergénériques au sein de cette famille. Il a entraîné le reclassement de six genres supplémentaires (*Actinopycnidium*, *Actinosporangium*, *Chainia*, *Elytrosporangium*, *Kitasatoa* et *Microellobosporia*) au genre *Streptomyces* (Williams *et al.*, 1983a ; Goodfellow *et al.*, 1986a-d).

Plusieurs clades évolutifs distincts basés sur des données de séquences d'ADNr 16S (Kim *et al.*, 1996, 1998) figure 3.

Des souches de type *Streptomyces* ont été regroupées selon des similitudes obtenues à partir des essais phénétiques (Annalies, 2001).

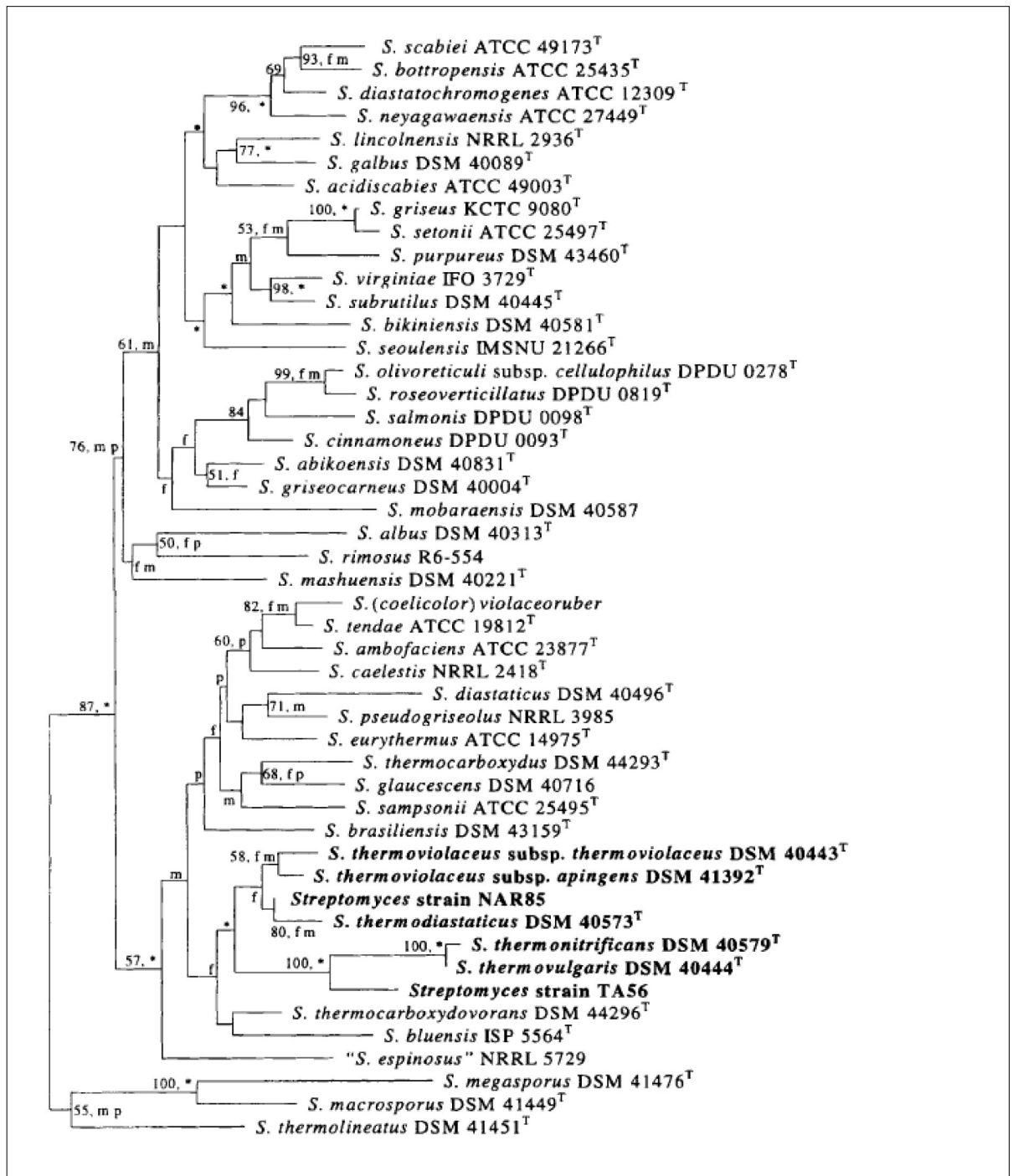
## **4- Le genre *Streptomyces***

### **4.1- Définition et caractéristiques**

Les *Streptomyces* représentent le genre majoritaire des actinomycètes (95,34 %). Il s'agit de bactéries filamenteuses, dont les hyphes de longueurs variables, avec un diamètre compris entre 0,5 et 2,0  $\mu\text{m}$ . Ces bactéries sont aérobies strictes et à coloration de Gram positive. Quelques espèces sont pathogènes pour les hommes et les animaux. Les autres sont phytopathogènes. Les différentes espèces de *Streptomyces* sont identifiées et classées par taxonomie numérique, sur la base de critères phénotypiques car, du fait de leur instabilité génétique, une taxonomie basée sur le génome et sa structure serait difficilement réalisable (Sophie, 2006).

### **4.2- Ecologie**

Comme les champignons, la plupart des *Streptomyces* vivent comme des saprophytes dans le sol. Bien qu'ils peuvent également habiter un large éventail d'autres niches terrestres et aquatiques. La richesse et la diversité du métabolisme secondaire des *Streptomyces* a fait de ces organismes, de précieux fournisseurs d'antibiotiques et d'autres molécules bioactives (Klas et Mark, 2009).



**Figure 03 :** Arbre phylogénique basée sur des séquences partielles d'ADNr 16S de 48 *Streptomyces* (<1242 nucléotides) (Saitou et Neil 1987).

### 4.3- Cycle de vie

#### 4.3.1- Développement des hyphes

Lorsqu'une spore typique de *Streptomyces* rencontre des conditions favorables et des nutriments germe. Un ou deux tubes germinaux émergent alors et se développent pour former des hyphes. Ces tubes germinatifs poussent par extension de pointe et ramification pour former un mycélium végétatif (figure 04).

Ce mode caractéristique de croissance polarisée est montré dans les micrographes. Ces derniers montrent les zones apicales de l'ensemble cellule-paroi actives. Elles sont colorées avec un conjugué fluorescent de vancomycine (rouge) et la localisation de la protéine déterminante de polarité DivIVA marquée avec la protéine fluorescente verte améliorée (EGFP ; Vert) dont deux hyphes émergent d'une spore. Les hyphes poussent et se ramifient en un mycélium végétatif qui pousse à travers et profondément dans le substrat (Klas et Mark, 2009).

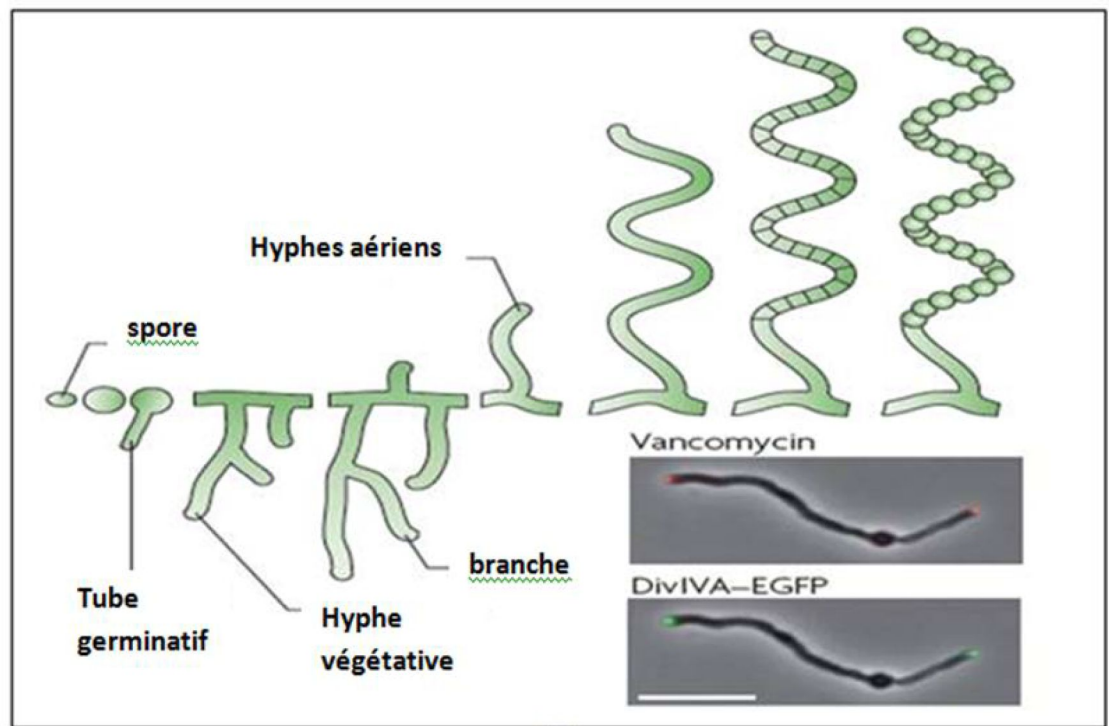


Figure 04 : Cycle de vie de *Streptomyces Coelicolor*. (Klas et Mark, 2009).

#### 4.3.2- Les spores

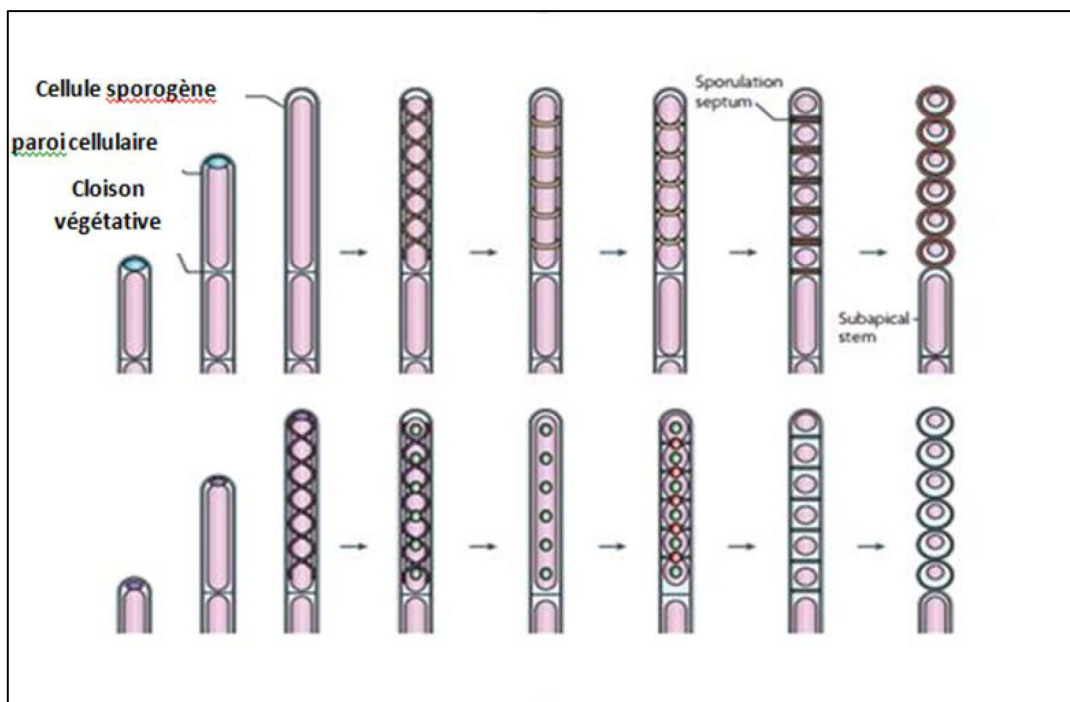
Dans la comparaison avec les endospores formées par les espèces de *Bacillus*. Les spores de *Streptomyces* sont beaucoup moins résistantes. Bien qu'elles puissent survivre pendant de longues périodes de temps dans un état desséché. Il semble donc



que les spores de *Streptomyces* en grande partie dormantes sont bien adaptées pour la dispersion de l'organisme dans l'environnement (Klas et Mark, 2009).

En réponse à l'appauvrissement en nutriments et à d'autres facteurs, la production de métabolites secondaires et la différenciation morphologique sont initiées. Les hyphes aériens sont divisés par un développement d'une forme contrôlée de division cellulaire en longue chaînes de compartiments de présportes. Ils se développent et synthétisent un pigment de spores gris et acquièrent les autres caractéristiques des spores mûres (figure 05).

En examinant des répliques de carbone de spores, au microscope électronique à transmission d'une part. D'autre part en examinant directement les spores, au microscope électronique à balayage. Les surfaces de spores de *Streptomyces* ont été classées en cinq groupes : lisses, verruqueuses, épineuses, poilus et rugueuses (Alma et John, 1971).



**Figure 05 :** Réorganisation des processus biologiques cellulaires lors de la différenciation des hyphes aériens en spores (Klas et Mark J., 2009).

### 4.3.3- Instabilité génétique chez le genre *Streptomyces*

L'ADN chromosomique des *Streptomyces* est linéaire. Il mesure environ 8000 kilobases. Cette linéarité permet de définir deux bras chromosomiques de taille équivalente, dont les extrémités portent des répétitions terminales inversées (Bentley *et al.*, 2002).

Des phénomènes de mutations spontanées ont été observés. Comme par exemple la production de mutants dépigmentés avec une fréquence de 1 % chez *S. ambofaciens*. Un autre type d'instabilité a été observé : l'hypervariabilité. Elle se traduit par l'absence de phénotype, prépondérant dans la descendance d'une grande majorité (87%) des mutants dépigmentés. Ces phénomènes sont liés à de grandes délétions aux extrémités de l'ADN génomique (Leblond *et al.*, 1989).

### 4.3.4- Métabolisme primaire et métabolisme secondaire

Au cours de leur croissance les *Streptomyces* peuvent passer d'un métabolisme dit primaire (trophophase) à un métabolisme dit secondaire (idiophase). Au cours de ces deux phases, des métabolites sont synthétisés. Leurs propriétés sont différentes en fonction de la phase au cours de laquelle ils sont synthétisés. Ils sont résumés dans le tableau 2 (Delaunay *et al.*, 2003).

**Tableau 02 :** Principales différences entre les métabolites primaires et secondaires (Delaunay *et al.*, 2003).

Métabolite primaire	Métabolite secondaire
Synthétisé pendant la trophophase	Synthétisé pendant l'idiophase
Présent tout au long du cycle cellulaire	Apparition à un moment du cycle cellulaire
Nécessaire à la croissance	Inutile pour la croissance
Rôle physiologique connu	Rôle physiologique mal connu
"turn-over" élevé	"turn-over" pratiquement nul
Produit dans des conditions de culture diverses	Produit dans des conditions de culture bien définies
Ubiquitaire	Spécifique
Enzymes à spécificité étroite	Enzymes à spécificité large
Voies de synthèse simple et courte	Synthèse longue et complexe
Synthèse d'un produit parfaitement défini	Synthèse d'un mélange de produits
Structure chimique généralement simple	Structure chimique souvent complexe
Concentration élevée	Concentration faible

Parmi les nombreux métabolites secondaires produits par les *Streptomyces* figurent les antibiotiques. Cette production a été observée au départ en milieu solide.

Elle se manifeste par la présence d'une zone d'inhibition de croissance des espèces sensibles autour des colonies de *Streptomyces*. Elle est due à la diffusion de l'antibiotique dans le milieu gélosé.

## 5- L'effet PGPR des *Streptomyces*

Les études sur les *Streptomyces* dans les programmes de lutte biologique, et la promotion de la croissance des plantes, sont présentées comme des alternatives technologiques, pour une production écologiquement durable (Carla da Silva *et al.*, 2008).

Ces micro-organismes sont abondants dans les sols. Ils agissent dans la dégradation des molécules complexes, ainsi que des substances récalcitrantes. En particulier la cellulose, la lignocellulose, le xylane et la lignine, qui jouent un rôle important dans les processus de décomposition de la matière organique du sol (Petrosyan *et al.*, 2004).

En plus d'agir comme décomposeurs de matière organique. Ces microorganismes ont un grand potentiel en tant qu'agents de lutte contre les agents pathogènes des plantes (Nassar *et al.*, 2003) et/ou pour la promotion de la croissance des plantes (Hoster *et al.*, 2005). Ceci est dû à leur capacité à produire des antibiotiques, des sidérophores, des enzymes qui ont une activité antimicrobienne. A côté de ces molécules, les *Streptomyces* produisent des substances qui favorisent la croissance des plantes, la solubilisation des phosphates et la compétition avec les agents phytopathogènes pour le substratum et les nutriments (Crawford *et al.*, 1993).

---

## Matériel et méthodes

## 1- Les souches bactériennes

### 1.1- Les Streptomyces

Douze souches d'actinomycètes telluriques du genre *Streptomyces* nous ont été généreusement offertes par la doctorante Gasmi Meriem, ces différentes souches ont subi un repiquage à stries serrées sur le milieu ISP2 qui est un milieu spécifique pour les actinomycètes, puis incubé à 30 °C pendant sept jours.

### 1.2- Méthode de conservation

Les spores des souches ainsi purifiées sont conservées à 4°C dans des tubes épindorf de 1,5ml contenant du bouillon nutritif et du glycérol pour une utilisation ultérieure.

## 2- Les phytopathogènes

### 2.1- Les bactéries phytopathogènes

#### 2.1.1- Isolement des bactéries à partir de la tomate infectée

Trois bactéries phytopathogènes désignées B1, B2 et B3 ont été isolées à partir des fruits de tomates contaminées.

Après stérilisation (désinfection) de la surface contaminée de la tomate avec de l'alcool. La peau mince extérieure de la tomate est écartée à l'aide d'une pince. Un fragment de la partie contaminée est ensuite prélevé puis déposé dans de l'eau physiologique. C'est la suspension mère à partir de laquelle des ensemencements sont effectués sur la gélose nutritive (figure 6). Les boîtes sont alors incubées à 37 °C.

Ensuite, plusieurs repiquages sont réalisés, jusqu'à obtention de trois isolats purs et différents.



**Figure 6 :** Prélèvement d'échantillon à partir d'une tomate infectée.

### 2.1.2- Identification des souches phytopathogènes

Après l'isolement des trois bactéries phytopathogènes B1, B2 et B3, des examens macroscopiques, microscopiques (observation à l'état frais et coloration de Gram), et quelques tests biochimiques ont été effectués. Dans le but d'identifier ces dernières.

### 2.2- Les champignons

Deux champignons *Aspergillus* sp. et *Trichoderma* sp., fournis généreusement par Madame Leghelimi, ont subies plusieurs repiquage par la techniques des touches jusqu'à avoir des colonies bien développées.

## 3- Mise en évidence de l'activité antifongique et antibactérienne

L'activité antifongique et antibactérienne des *Streptomyces* étudiées est évaluée par la méthode des cylindres d'agar (figure 7).

Cette méthode consiste à ensemercer en stries très serrées, les bactéries phytopathogènes à tester sur le milieu Muller Hinton d'un côté. Quant aux champignons, ils le sont sur le milieu OGA par touche. Ensuite des cylindres de gélose de 5mm de diamètres sont découpés stérilement à partir de chaque boîte des différentes souches d'actinomycètes. Ils sont déposés à la surface des milieux précédents préalablement ensemençés par les germes cibles. Les boîtes ensemençées sont maintenues à 4°C pendant 2h avant d'être incubées. Ce qui permet la diffusion des substances actives tout en empêchant momentanément la croissance des microorganismes cibles. Les zones d'inhibition sont mesurées après incubation (Bastide *et al.*, 1986). L'incubation dure 4 jours à 30°C pour les boîtes contenant les champignons et 24 heures à 37°C pour celles des bactéries tests.



**Figure 7 :** Technique des cylindres d'agar.

## **4- Effet PGPR des *Streptomyces* sur les graines de tomate**

### **4.1- Préparation des suspensions sporales**

Après incubation à 32 °C pendant sept jours, des tapis sporales sont formés sur la surface du milieu. Ces tapis sporales sont raclés à l'aide d'une anse de platine, pour récupérer les spores et les fragments mycéliens dans de l'eau distillée stérile. Après homogénéisation des suspensions, ces dernières sont filtrées à travers du coton, à l'aide des seringues afin d'obtenir une suspension sporale pure dépourvue de filaments. Les suspensions sont ensuite ajustées (calibrées) à la même DO à 600 nm.

### **4.2- Stérilisation des graines de tomate**

Pour avoir une germination maximale des graines, ces dernières ont été mis dans de l'eau de robinet pendant 24 heures pour scarifier. Ensuite elles ont subis une double stérilisation, d'abord avec de l'éthanol à 70° pendant 2 secondes, puis avec de l'hypochlorite de sodium (1%) pendant 20 min. Afin d'éliminer les traces d'hypochlorite de sodium plusieurs rinçages avec de l'eau distillée stérile sont réalisés.

### **4.3- Traitement des graines avec les souches du genre *Streptomyces***

Pour démontrer l'action directe et l'effet PGPR, des isolats du genre *Streptomyces* dans l'incitation et l'accélération de la croissance des plantes. un traitement des graines de tomate est réalisé. Ce dernier consiste à tremper les graines pendant une heure dans les différentes suspensions de chaque souche actinomycétale et leur mixe.

## **5- Effet des agents phytopathogènes sur les graines de tomate**

### **5.1- Infestation par les agents phytopathogènes**

Pour démontrer l'effet des souches phytopathogènes bactériennes et fongique en l'absence et en présence des *Streptomyces* sur la germination des graines. Ces derniers sont trempés pendant 1 heure dans les différentes suspensions présentées dans le tableau 3 :

**Tableau 3** : Les mélanges des souches phytopathogènes effectuées pour l'infestation des graines de tomate.

B1	B2	B3	<i>Aspergillus sp</i>
B1+S1	B2+S1	B3+S1	<i>Aspergillus sp</i> +S1
B1+S2	B2+S2	B3+S2	<i>Aspergillus sp</i> +S2
B1+S4	B2+S4	B3+S4	<i>Aspergillus sp</i> +S4
B1+S7	B2+S7	B3+S7	<i>Aspergillus sp</i> +S7
B1+S10	B2+S10	B3+S10	<i>Aspergillus sp</i> +S10
B1+S11	B2+S11	B3+S11	<i>Aspergillus sp</i> +S11
B1+S15	B2+S15	B3+S15	<i>Aspergillus sp</i> +S15
B1+MIX	B2+MIX	B3+MIX	<i>Aspergillus sp</i> +MIX

### 5.2- Traitement avec des mélanges des *Streptomyces* et *Trichoderma sp*

Dans le but de tester leurs effets synergiques sur la germination des graines, des graines de tomate sont trempées dans des mélanges des suspensions du champignon *Trichoderma sp.* en l'absence et en présence des *Streptomyces* testées (tableau 4).

Le genre *Trichoderma sp.* est un agent potentiel en agroalimentaire et une matière de choix pour l'exploitation industrielle, vue sa production d'enzymes et de substances bioactives et son développement rapide (Prieto *et al.*, 1997). Il est utilisé comme agent de lutte biologique en raison de son antagonisme vis-à-vis d'autres espèces fongiques (antibiocèse, mycoparasitisme, compétition, lyse, promotion de la plante hôte) (Roquebert, 1996 ; Cooney *et al.*, 1997 ; Prieto *et al.*, 1997 ; Grondona *et al.*, 1997 ; Verbist, 2000 ; Kubicek *et al.*, 2003).


### 5.2- Traitement avec des mélanges des *Streptomyces* et *Trichoderma sp*

Dans le but de tester l'effet synergique sur la germination des graines. Des graines de tomate sont trempées dans des mélanges des suspensions du champignon *Trichoderma sp.* en l'absence et en présence des *Streptomyces* testées (tableau 4). Le



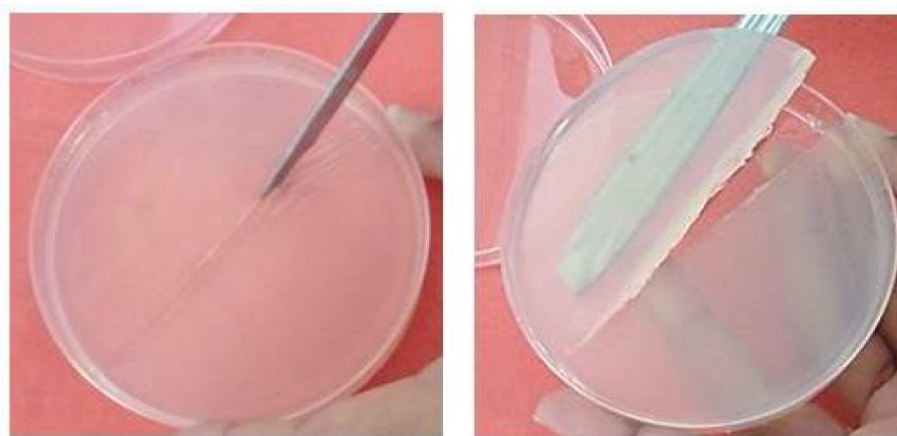
genre *Trichoderma sp.* est un agent potentiel en agroalimentaire et une matière de choix pour l'exploitation industrielle, vue sa production d'enzymes et de substances bioactives et son développement rapide (Prieto *et al.*, 1997). Il est utilisé comme agent de lutte biologique en raison de son antagonisme vis-à-vis d'autres espèces fongiques (antibiose, mycoparasitisme, compétition, lyse, promotion de la plante hôte) (Roquebert, 1996 ; Cooney *et al.*, 1997 ; Prieto *et al.*, 1997 ; Grondona *et al.*, 1997 ; Verbist, 2000 ; Kubicek *et al.*, 2003).

**Tableau 4** : Les mélanges de *Steptomycetes* et *Trichoderma sp.*

<i>Trichoderma sp.</i>	<i>Trichoderma sp.</i> + S1	<i>Trichoderma sp.</i> +S2	<i>Trichoderma sp.</i> +S4	<i>Trichoderma sp.</i> +S7
<i>Trichoderma sp.</i> +S10	<i>Trichoderma sp.</i> +S11	<i>Trichoderma sp.</i> +S11	<i>Trichoderma sp.</i> +MIX	

### 5.3- Culture sur boîtes de pétri

Le milieu Farhaeus semi solide (dont la composition est présentée dans l'annexe 1) est coulé dans des boîtes de pétri. Après solidification, la gélose est coupée à l'aide d'une spatule. La moitié est enlevée comme montré dans la figure suivante (figure 8).



**Figure 8** : Préparation des boîtes du Milieu de Farhaeus pour la culture des graines de tomate.

Sur la surface de section de la gélose, de petits trous verticaux sont réalisés à l'aide d'une pipette Pasteur. Les graines traitées sont ensuite plantées dans ces orifices (figure 9).



**Figure 9 :** Culture des graines sur les demi-géloses en boîtes

Les boîtes sont ensuite incubées pendant 6 jours dans l'obscurité. Elles sont ensuite transférées à des conditions naturelles lumière du jour et obscurité de nuit à 25°C pendant 15 jours.

## **6- Analyse morpho-biochimique des plantules**

### **6.1- L'effet des différents traitements sur les longueurs des parties aériennes et racinaires des plantules**

Après 15 jours les longueurs des parties aériennes et racinaires sont mesurées, ainsi que le développement des ramifications racinaires. Le poids frais des feuilles est déterminé pour mettre en évidence l'effet des différents traitements sur les caractères morphologiques des différentes plantes.

### **6.2- Dosage de la chlorophylle**

Les chlorophylles a et b sont déterminées selon la méthode de Arnon (1949). 0,5g des feuilles de chaque plantule sont découpées et homogénéisées dans 10ml d'acétone à 80% et conservés à -10°C pendant une nuit. L'extrait organique est centrifugé à 14000 rpm pendant 5 mn. L'absorbance du surnageant est mesurée à 663 et 645 nm pour déterminer la chlorophylle a et la chlorophylle b respectivement. Les résultats sont calculés selon les équations suivantes :

$$CHa \text{ (mg/l)} = 12,41 \text{ DO (663)} - 2,59 \text{ DO(645)}.$$

$$CHb \text{ (mg/l)} = 22,9 \text{ DO(645)} - 4,68 \text{ DO(663)}.$$

$$CHt = CH a + CH b.$$

CHa: concentration en chlorophylle a ; CHb: concentration en chlorophylle b ; CHt: concentration en chlorophylle totale.

---

## Résultats et discussions

## 1- Identification des bactéries isolés

### 1.1- Examen macroscopique

L'aspect macroscopique des colonies est observés directement sur la gélose après purification et incubation pendant 24 h, l'observation permet de déterminer 3 souches différentes et de connaître la forme, la couleur, le contour, l'aspect.... L'observation macroscopique est récapitulée dans le tableau 5 :

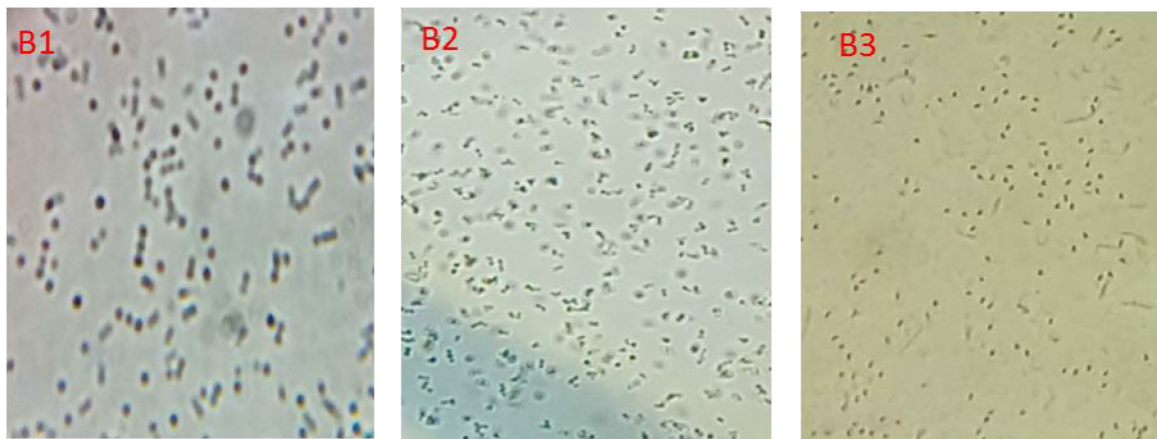
**Tableau 5** : observation macroscopique des colonies sur le milieu gélosé

Isolats	Couleur	Forme	Aspect et élévation	Taille (mm)	Contour
B1	Orange	ronde	Muqueuse brillante demi bombé	1 à 3mm	Régulier
B2	Blanc	ronde	Collante brillante plate	1 à 2	Régulier
B3	crème	ronde	Mate plate	<1	Régulier

### 1.2- Examen microscopique

#### 1.2.1- Observation à l'état frais

L'observation à l'état frais des isolats montre que les isolats B1, B2, sont des cocci mobiles par contre l'isolat B3 c'est un bacille (figure 10).



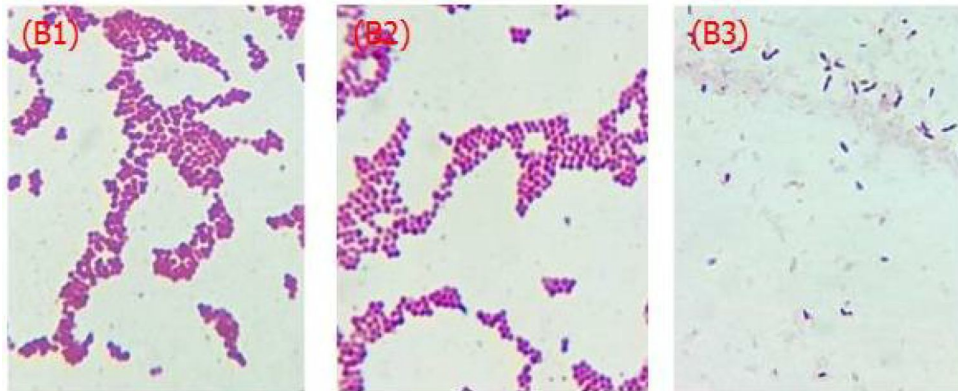
**Figure 10** : Observation à l'état frais des 3 isolats B1, B2 et B3 (x40)

#### 1.2.2- coloration de Gram :

La coloration différentielle de Gram a montré que les isolats B1, B2 sont des cocci à coloration de Gram positive, tandis que l'isolat B3 est un bacille Gram positif (tableau 6 et figure 11).

**Tableau 6 :** Morphologie des isolats B1, B2 et B3 après coloration de Gram

Isolats	Aspect	Gram
B1	Cocci	Gram positif
B2	Cocci	Gram positif
B3	Bacille	Gram positif



**Figure 11 :** Observation microscopique avec coloration de Gram des isolats B1, B2 et B3 (Gx100)

### 1.3- Etudes des caractères biochimiques

Après 24h d'incubation à 37 °C, les caractères biochimiques recherchés sont mentionnés dans le tableau 7 et la figure 12 ci-dessous :

**Tableau 7 :** résultats des tests biochimiques

Milieux de culture	Test recherché	B1	B2	B3
Mannitol mobilité	Fermentation du mannitol	+	+	+
	Mobilité	+	+	+
Citrate de Simmons	Utilisation du citrate	-	-	-
KliglerHajna (K.I.A)	Glucose/ lactose	-	-	-
	H <sub>2</sub> S	-	-	-
	Production de gaz	-	-	-
Eau peptonée exempte d'indole	Production d'indole	+	-	-
Clark et Lubs	Rouge de méthyle (RM)	-	-	-
	Voges-Proskawer (VP1, VP2)	+	-	-
LDC	Lysine décarboxylase	+	+	+
ODC	Ornithine décarboxylase	+	-	-
ADH	Arginine dihydrolase	+	+	+
OX	Oxydase	-	-	-

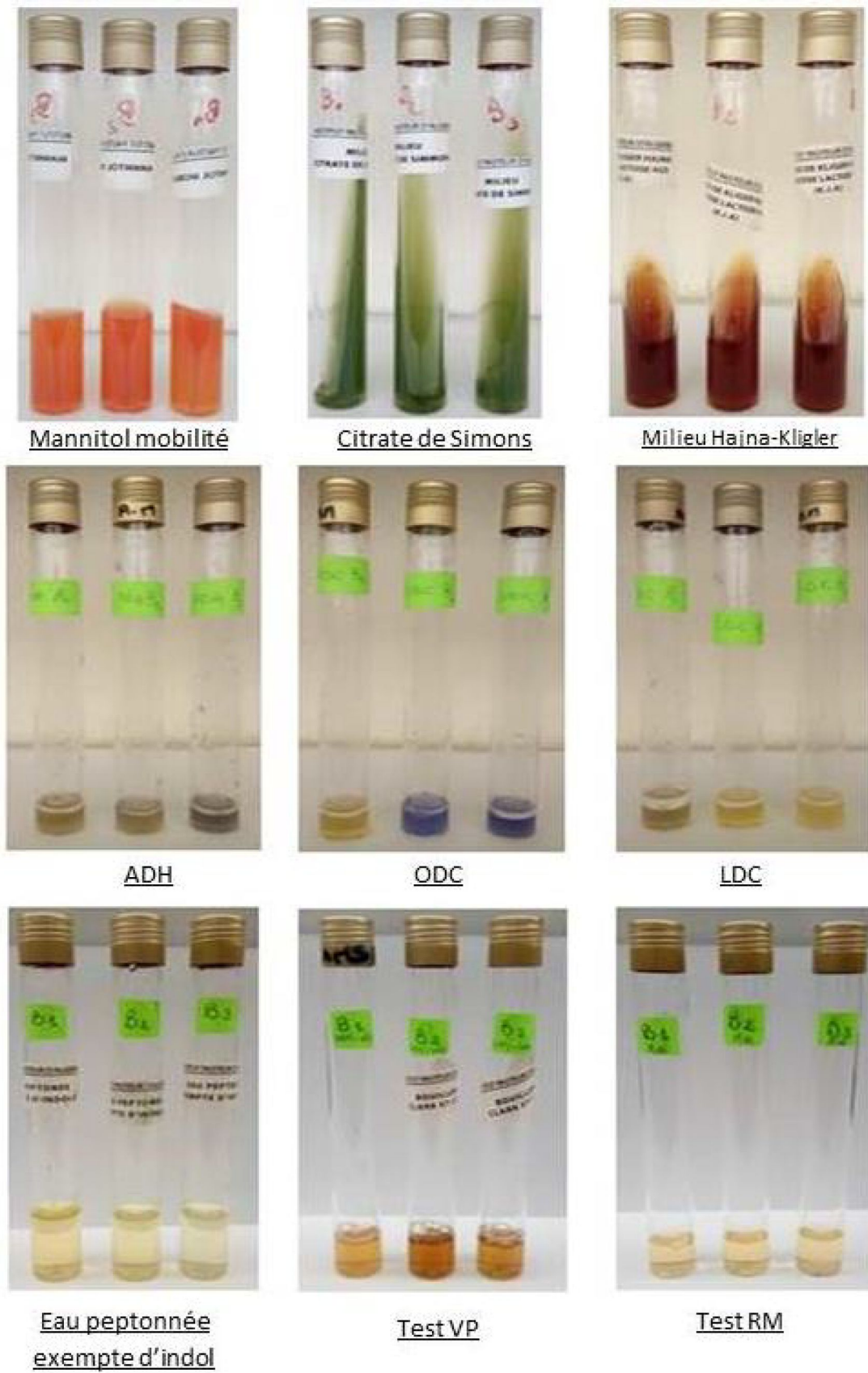


Figure 12 : Caractères biochimiques des isolats B1, B2 et B3

#### 1.4- Test de catalase

Le test a montré que les 3 isolats sont catalase positive parce qu'ils ont dégagés des bulles d'air en contact avec le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (figure 13).

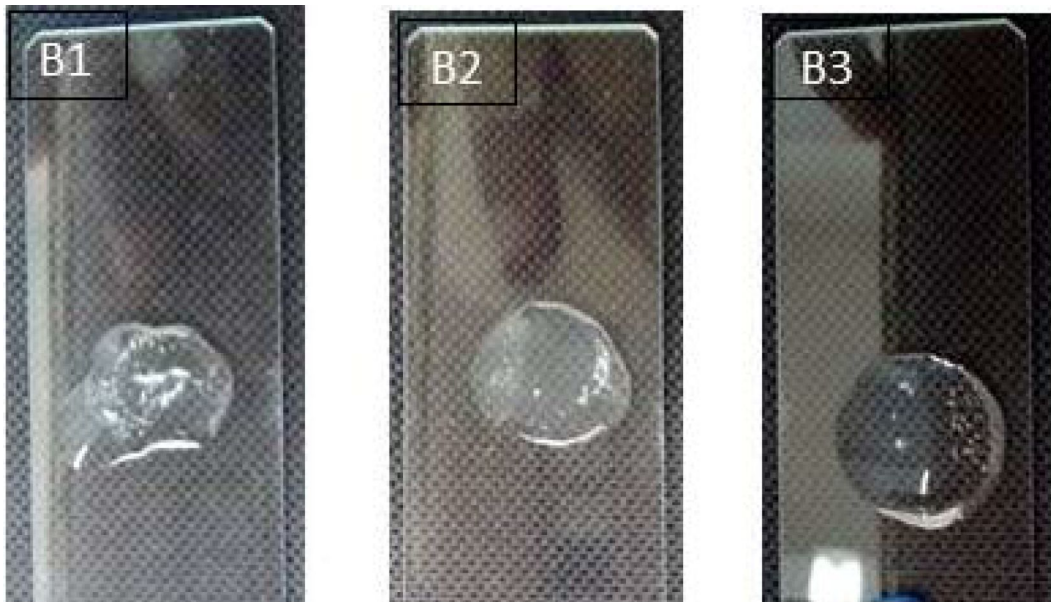


Figure 13 : Test de la catalase

#### 1.5-Test d'oxydase

Après le dépôt des disques d'oxydase, dans les suspensions en tube des 3 isolats, les disques sont restés incolore pour ce qui signifie que le résultat est négatif (figure 14).

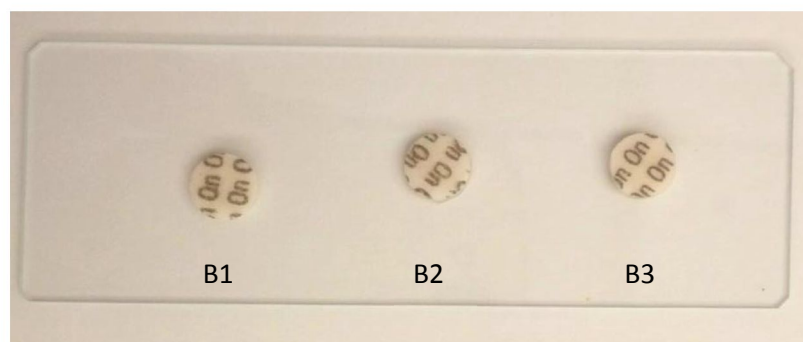


Figure 14 : Test de l'oxydase

Au terme de ces tests, et après les études macroscopiques, microscopiques et les tests biochimiques effectués. Plusieurs espèces peuvent partager les mêmes résultats. Ce qui rend la prononciation en faveur d'une espèce donnée, loin d'être atteinte, d'où la nécessité de faire d'autres tests pour l'identification des isolats.



## 2-Test d'activité antimicrobienne

### 2.1- Activité antibactérienne

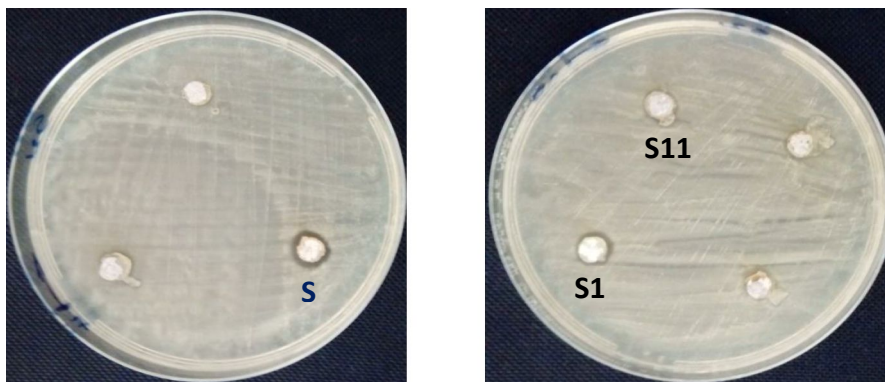
Après l'incubation des boîtes pendant 24 h à 37°C, l'activité antibactérienne est mise en évidence par la présence ou non de zones d'inhibitions, et la mesure des diamètres de ces derniers. Cela permet de révéler la capacité des souches de *Streptomyces* à inhiber la croissance des bactéries pathogène isolées. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 8.

**Tableau 8 :** Résultat de l'effet inhibiteur des souches *Streptomyces* sur les bactéries pathogènes

Les souches d'actinomycètes	B1		B2		B3	
	Zone d'inhibition	Ø en mm	Zone d'inhibition	Ø en mm	Zone d'inhibition	Ø en mm
S1	-	5	-	5	-	5
S2	-	5	+	6	+	7
S4	-	5	-	5	-	5
S7	-	5	+	10	+	7
S10	-	5	+	7	+	7
S11	-	5	-	5	+	6
S15	-	5	-	5	-	5

(-) absence de zone d'inhibition ; (+) présence de zone d'inhibition ; Ø : diamètre de zone d'inhibition en mm.

Parmi les nombreux métabolites secondaires produits par les *Streptomyces* figurent les antibiotiques. Cette production a été observée dans le milieu, par la manifestation d'une zone d'inhibition de croissance des espèces sensibles autour des colonies de *Streptomyces*. Cette inhibition est due à la diffusion de l'antibiotique dans le milieu gélosé (figure 15).



**Figure 15 :** zone d'inhibition d'activité antibactérienne des *Streptomyces*

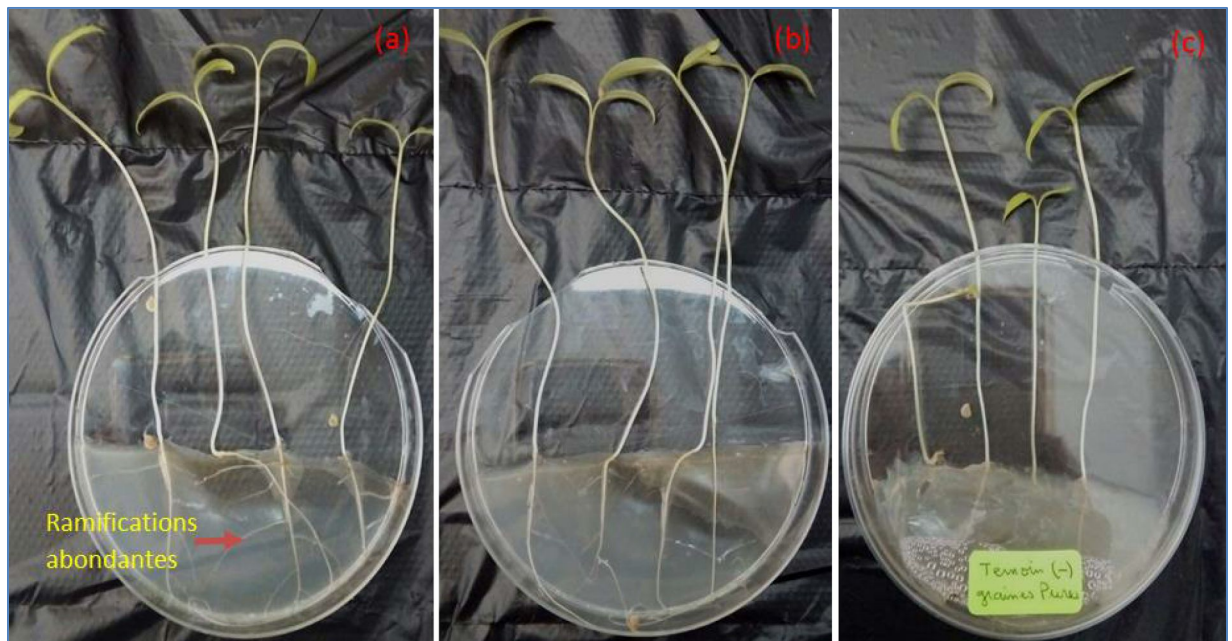
Selon les résultats nous avons remarqué que les souches d'actinomycètes testées ont une activité antibactériennes vis-à-vis les bactéries isolées. Les zones d'inhibitions les plus remarquables été chez les souches (S7, S10, S2, S11) respectivement.

## 2.2- Activité antifongique

Après trois jours d'incubation à 37°C, toutes les souches de *Streptomyces* n'ont développé aucune action inhibitrice vis-à-vis du champignon testé *Aspergillus* sp.

## 3- Effet PGPR des *Streptomyces* sur les graines de tomate

Après 21 jours la germination et la croissance des graines est remarquable. Les plants qui ont poussés sont en bonne santé, avec des feuilles primaires remarquables, de longues tiges et de longues racines bien développées. Les ramifications sont abondantes et bien visibles, comparées au témoin négatif des graines (non traitées) (figure 16).



**Figure 16** : effet des *Streptomyces* sur la germination des graines de tomate (a) et (b) ; graines non traitées (c)

Les résultats présentés dans le tableau 9, permettent d'évaluer le taux de germination des graines, exprimé par la taille des parties aériennes, la taille des racines et l'abondance des ramifications racinaires.

**Tableau 9** : Effet des souches de *Streptomyces* sur la germination des graines de tomate et les caractères morphologiques des plantules.

Traitements	Taille des racines en cm	Taille des tiges en cm	Ramifications des racines	Poids frais des feuilles en g
Témoin négatif	5,83	8	++	0,3
S1	7,25	8,83	+++	0,4
S2	6,66	8	+	0,4
S4	8,5	9,75	++	0,3
S7	8,62	9,25	+++	0,5
S10	8	10,66	++	0,4
S11	6,66	8,33	+++	0,4
S15	6,66	8,16	+	0,4
Mix des <i>Streptomyces</i>	8,86	9,75	+++	0,6
S1+S2	6	10,5	+	0,5
S1+S4	5,87	9,37	++	0,4
S1+S7	4,5	10	++	0,4
S1+S10	6	10	+++	0,4
S1+S11	5,62	10,87	+++	0,3
S1+S15	5,83	10	++	0,6
S2+S4	5,83	9,5	++	0,3
S2+S7	7,83	11,37	+++	0,5
S2+S10	10,87	7,25	+++	0,4
S2+S11	6,37	9,62	+++	0,6
S2+S15	6,37	9,12	+++	0,5
S4+S7	9,37	9,37	+++	0,4
S4+S10	8,12	7,87	+++	0,3
S4+S11	7,62	10		0,2
S4+S15	8,15	10,12	+++	0,4
S7+S10	7,62	10	+++	0,4
S7+S11	7	10	+++	0,4
S7+S15	7,83	7		0,6
S10+S11	7,37	10,7	++	0,5
S10+S15	7,1	8,87	+++	0,5
S11+S15	6,12	10	++	0,4

(Témoin négatif) : graines non traitées ; (-) : pas de ramifications ; (+) : ramifications peu développées ; (++) : ramifications moyennes ; (+++) : ramifications abondantes.

D'après les résultats présentés dans le tableau 9, nous remarquons que la majorité des racines, des plantules traités avec les souches de *Streptomyces* ont des tailles supérieures à celle du témoin négatif (graines sans traitement), 10,87 cm, 9,37 cm, 8,86 cm, 8,62 cm, pour les traitements, S2+S10, S4+S7, MIX de *Streptomyces* et S7 respectivement.

Quant à la taille des tiges, elle est supérieure chez les plantules des graines traitées avec les *Streptomyces* par rapport à celle du témoin. Avec des longueurs qui varient entre 11,37 cm, 10,87 cm, et 10,66 cm, dans le cas des traitements suivant

S2+S7, S1+S11, S10. On remarque aussi un bon développement des ramifications racinaires chez la plus part des plantules issues des graines traitées.

Ces résultats indiquent que les *Streptomyces* étudiées ont la capacité de stimuler la germination et la croissance des plantes. Cette stimulation peut prendre deux voix, soit direct par la promotion directe. Cette dernière comprend la stimulation bactérienne des phytohormones (auxine ou cytokinine). Cela permet à la plante de développer un système racinaire abondant lui permettant notamment de coloniser une plus grande surface de sol, et améliorer l'état nutritionnel des plantes (Beauchamp, 1993 ; Kloepper, 1993, Ramos *et al.*, 2009).

La promotion indirecte repose sur la capacité des *Streptomyces* à réduire les effets nocifs pour la plante, et par l'amélioration de la nutrition (production d'ammoniac, la solubilisation du phosphate et la fixation d'azote...).

L'effet des *Streptomyces* sur la croissance des plantules est évalué aussi avec le poids frais des feuilles représenté dans le tableau 9.

Nous constatons une augmentation remarquable des poids frais des feuilles, chez les plantules issues des graines traitées par rapport à celui du témoin surtout : le MIX des *Streptomyces*, S1+S15, S2+S11, S7+S15 avec un poids de 0,6 g.

Les résultats mentionnés dans le tableau 9 montrent que les feuilles des plantules traitées avec les souches de *Streptomyces*, et leurs mix pèsent plus que celles du témoin négatif (graines non traitées). Ce qui signifie que l'effet stimulateur des *Streptomyces* étudiées agit aussi sur la croissance et le développement des feuilles.

## **5- Biocontrôle des *Streptomyces* vis-à-vis des phytopathogènes**

Pour mettre en évidence l'activité de biocontrôle des *Streptomyces* testés, vis-à-vis des agents phytopathogènes, les graines de tomate infectées par des bactéries phytopathogènes isolées à partir de tomate : (B1, B2, B3), et le champignon phytopathogène : *Aspergillus* sp. ; sont inoculées avec un mélange de suspensions des souches actinomycétales testées. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 10.

Après 21 jours d'incubation, les graines de tomate infectées par les bactéries phytopathogènes seules ne manifestent aucun signe de germination. Par contre celles qui ont été traitées avec le mélange de cette dernières avec les *Streptomyces*, montrent une bonne croissance.

**Tableau 10 :** Résultats de l'effet protecteur des *Streptomyces* contre les différents phytopathogènes.

Traitements	Taille des racines en cm	Taille des tiges en cm	Ramifications racinaires	Poids frais des feuilles en cm
Témoin négatif	5,83	8	++	0,3
<i>Aspergillus</i> sp.	4,62	6,5	+	0,2
<i>Aspergillus</i> sp. + mix de <i>Streptomyces</i>	6,87	7,5	+	0,3
<i>Aspergillus</i> sp. +S1	6,66	10	+	0,2
<i>Aspergillus</i> sp. +S2	7,37	7,30	+	0,3
<i>Aspergillus</i> sp. +S4	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp. +S7	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp. +S10	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp. +S11	6,87	9,62	+	0,3
<i>Aspergillus</i> sp. +S15	6,33	8,33	+	0,4
B1	-	-	-	-
B2	-	-	-	-
B3	-	-	-	-
B1+S1	7,25	8,75	+++	0,4
B1+S2	6,5	9	-	0,4
B1+S4	5,87	8	+	0,4
B1+S7	5,33	9,33	++	0,4
B1+S10	9,5	10,12	++	0,5
B1+S11	6	7,5	+	0,4
B1+S15	6,75	9,25	++	0,3
B1 + mix de <i>Streptomyces</i>	6,5	10,5	++	0,5
B2+S1	6,62	7,12	+	0,6
B2+S2	7	10	++	0,4
B2+S4	7,12	10,12	++	0,2
B2+S7	7,62	10,5	+++	0,4
B2+S10	7,37	8,37	++	0,3
B2+S11	6,67	9,62	+++	0,3
B2+S15	8,75	11	+++	0,5
B2 + mix de <i>Streptomyces</i>	7,25	11,12	++	0,6
B3+S1	5,5	9,75	-	0,4
B3+S2	6,5	11	-	0,3
B3+S4	4,16	10,83	-	0,4
B3+S7	4,66	10	-	0,5
B3+S10	6,25	10,5	-	0,6
B3+S11	6,16	8,5	-	0,4
B3+S15	-	-	-	-
B3 + mix de <i>Streptomyces</i>	8,25	9	+++	0,5

(-) : pas de ramification ; (+) : ramification peu développée ; (++) : ramification moyenne.

L'effet le plus marquant des *Streptomyces* contre les graines infectées par les bactéries phytopathogènes (B1, B2, B3), avec une stimulation de croissance de la partie

racinaire est celui de (9,5 cm, 8,75 cm, 8,25 cm, 7,62 cm, 7,37 cm, 7,25 cm) respectivement. Ils correspondent aux traitements suivants (B1+S10, B2+S15, B3+MIX, B2+S7, B2+S10, B1+S1).

En ce qui concerne la partie aériennes 11,12 cm, 11cm, 10,83 cm, 10,12 cm, 10,5 cm qui correspondent respectivement aux traitements (B2 + MIX, B3 + S2, B3 + S4, B2+S4, B3+B10). Aussi une bonne stimulation des ramifications racinaires est remarquable au niveau des traitements suivants (B1+S1, B2+S7, B2+S15, B2+S15, B3+mix).

Par ailleurs nous avons remarqué une faible inhibition de pathogénicité d'*Aspergillus* sp. pour les souches (S4, S7, S10). Par contre avec les souches (S1, S2, S11, S15) nous avons remarqué un effet inhibiteur qui s'exprime dans la croissance racinaire de 7,37 cm pour S15, et de 6,87cm pour *Aspergillus*+mix et S11. En ce qui concerne la partie aérienne on a 10 cm, 9,62 cm et 8,33 cm respectivement pour *Aspergillus* sp.+S1, *Aspergillus* sp.+S11 et *Aspergillus* sp.+S15.

Pour le poids frais des feuilles, il est inférieur ou égal à celui du témoin négatif, chez les plantules dont l'origine est les graines infestées par *Aspergillus* sp. sauf chez *Aspergillus* sp.+S15 qui est de 0,4 g. Par contre dans le cas des plantules infestées par les bactéries pathogènes. Nous remarquons que l'effet inhibiteur des *Streptomyces* vis-à-vis des bactéries isolées, est visible notamment chez (B3+S10, B2+MIX, B2+S1) avec un poids de 0,6 g.

Ces résultats indiquent que la stimulation de croissance résulte, de deux types de mécanismes, une stimulation directe ou une stimulation indirecte via le contrôle des microorganismes délétères, voire pathogènes des plantes. Il est clair qu'une plante dont le système racinaire souffre des attaques des bio-agresseurs montrera une stimulation de croissance. Dès lors que les agresseurs comme *Aspergillus* sp. et les bactéries (B1, B2, B3) seront contrôlés par des agents antagonistes qui sont les souches de *Streptomyces* testées.

#### **4- Effet combiné des *Streptomyces* et *Trichoderma* sp. sur les graines de tomate**

Les résultats de l'effet combiné des *Streptomyces* avec *Trichoderma* sp. sont présentés dans le tableau 11.

**Tableau 11** : Résultats d'effet combiné des *Streptomyces* et *Trichoderma* sp.

Traitements	Taille des racines en (cm)	Taille des tiges en (cm)	Ramification racinaire	Poids frais des feuilles
Témoin négatif	5,83	8	++	0,3
<i>Trichoderma</i> sp.	5,83	9,66	+	0,5
<i>Trichoderma</i> sp. +S1	7,5	9,5	++	0,6
<i>Trichoderma</i> sp. +S2	6,75	10	+++	0,5
<i>Trichoderma</i> sp. +S4	-	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp. +S7	6,33	9,83	++	0,7
<i>Trichoderma</i> sp. +S10	4	7	+	0,4
<i>Trichoderma</i> sp. +S11	6,12	10,5	+++	0,6
<i>Trichoderma</i> sp. +S15	6,33	10,66	+	0,5
<i>Trichoderma</i> sp. +mix des <i>Streptomyces</i>	6,83	11	++	0,6

(-) : pas de ramification ; (+) : ramification peu développée ; (++) : ramification moyenne.

Les microorganismes de lutte biologique comme *Trichoderma* sp. sont les stimulateurs de croissance comme les actinomycètes. Ils partagent donc de nombreux traits communs. Il serait intéressant d'essayer de les combinés pour préparer des biofertilisants de lutte contre les agents agresseurs des plantes.

Selon le tableau 11, l'effet stimulateur de l'ensemble de *Trichoderma* sp. et *Streptomyces* est remarquable chez (*Trichoderma* sp.+S1, *Trichoderma* sp.+S2, *Trichoderma* sp.+MIX), avec des tailles de 7,5 cm, 6,83 cm, 6,75 cm respectivement pour les tailles des racines. Tandis qu'avec les traitements *Trichoderma* sp.+MIX, *Trichoderma* sp.+S15 et *Trichoderma* sp.+S11, les tailles des tiges mesurées sont de 11 cm, 10,66 cm et 10,5 cm respectivement.

La mesure des poids frais des feuilles des plantules traitées avec *Trichoderma* sp. et les mix d'actinomycètes, montre un effet positif visible de l'inoculation par (*Trichoderma* sp.+S7, *Trichoderma* sp.+S1, *Trichoderma* sp.+S11 et *Trichoderma* sp.+MIX) avec un poids frais des feuilles de 0,7g, 0,6g, 0,6g et 0,6g respectivement.

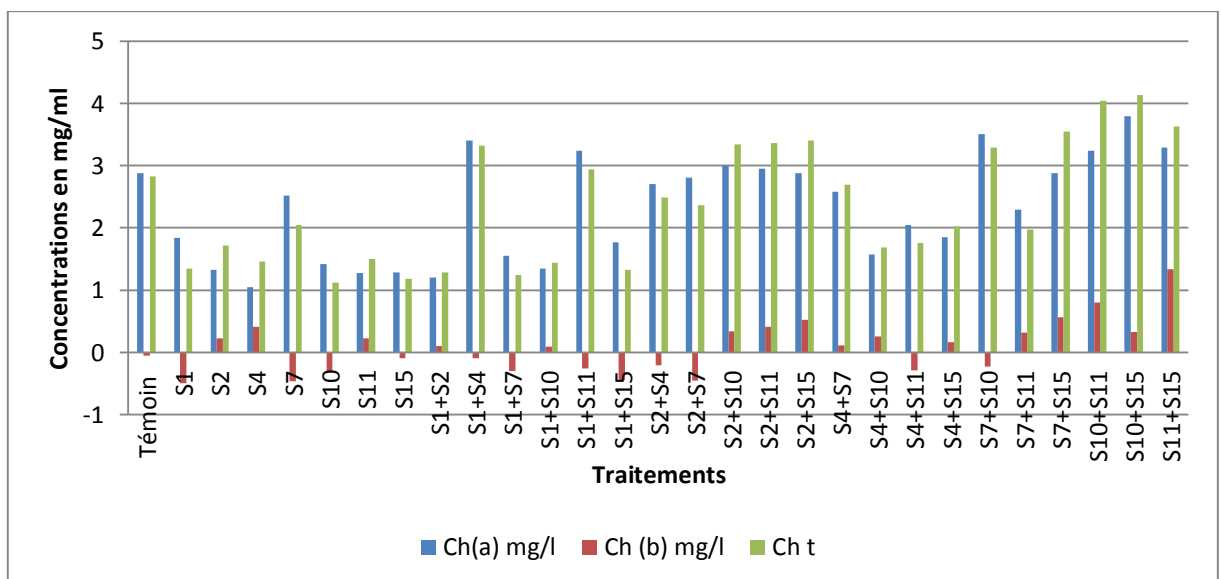
Ces résultats montrent que l'effet combiné des *Streptomyces* avec *Trichoderma* sp. peut donner des résultats encore plus efficace et remarquables, sur la croissances et le développement des feuilles et leur poids frais.

## 5- Taux de chlorophylles après les différents traitements

Après l'extraction de la chlorophylle des feuilles des plantes. La mesure de l'absorbance par spectrophotométrie UV est réalisée à deux longueurs d'ondes différentes à 663 nm et à 645 nm pour calculer la concentration de la chlorophylle a , b et la chlorophylle totale. Les différentes absorbances sont exprimées par les figures (17, 18, 19), et récapitulées dans les tableaux (annexe 2).

### 5.1- Taux de chlorophylles après traitement par les *Streptomyces*

D'après les résultats de la figure 17, nous remarquons que la concentration de la chlorophylle a est de 3,79 mg/l, 3,5 mg/l et 3,4 mg/l, pour les plantules traitées par le mix des souches actinomycétales S10+S15, S7+S10 et S1+S4 respectivement. Ces concentrations sont plus élevées que celles de la chlorophylle b pour les mêmes traitemenst. Ces derniers apparaissent avec des valeurs négatives dans certains cas.



**Figure 17 :** Concentration de la chlorophylle a, b et totale chez les feuilles traitées par les souches des *Streptomyces*.



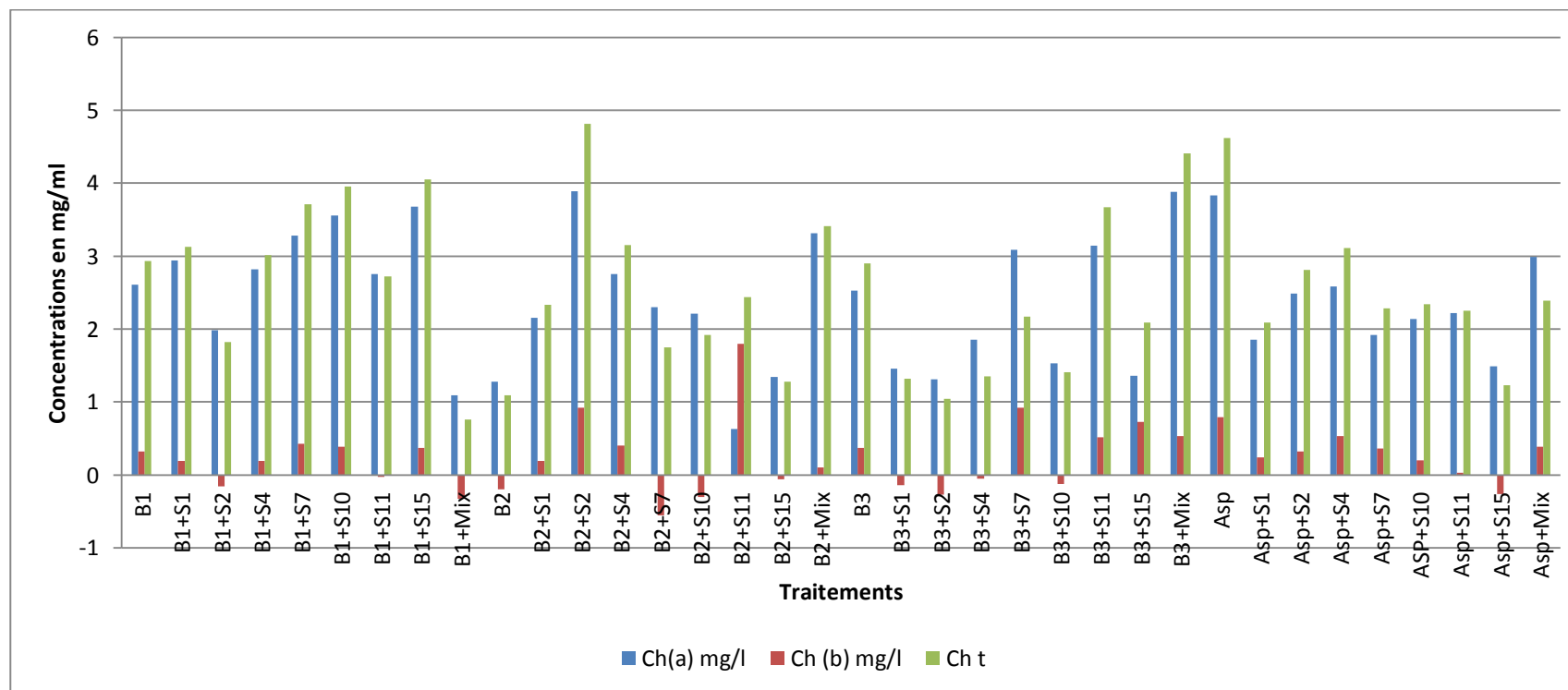


Figure 18 : Concentration de la chlorophylle a,b et totale chez les feuilles traitées par les bactéries phytopathogènes.

## 5.2- Taux de chlorophylles après traitement par les phytopathogènes

En ce qui concerne les plantules infestées avec les bactéries isolées le taux de la chlorophylle a est de 3,89 mg/l, 3,88 mg/l et 3,68 mg/l, dans le cas des traitements : B2+S2, B3+ mixte et B1+S15. Par contre la concentration de la chlorophylle b observée est de 1,8 mg/l, 1,34 mg/l pour le traitement B2+S11 et B2+S11+S15 (figure 18 et 19).

Les valeurs négatives peuvent être dues aux faibles concentrations de la chlorophylle b. Ce qui peut s'expliquer par les chevauchements des spectres d'absorption. Ainsi que l'émission de fluorescence par les différentes formes de chlorophylles et de leurs intermédiaires de dégradation. D'ailleurs, il ressort des différents travaux que la présence de la chlorophylle b dans une proportion de 10 à 20 % peut être considérée comme négligeable pour le calcul de la concentration en chlorophylle a (Marker *et al.*, 1980). Cependant, dans la plupart des échantillons, d'autres pigments sont présents. Les caroténoïdes et les biliprotéines, qui peuvent entacher d'erreurs les techniques à un stade plus ou moins précoce.

Par ailleurs, la concentration de la chlorophylle totale est remarquable chez les échantillons S10+S15, S10+S11, S11+S15 et S2+S11, avec des concentrations de 4,13 mg/ml, 4,01 mg/ml, 3,63 mg/ml et 3,36 mg/ml. Ces concentrations sont supérieures à celles du témoin 2,83 mg/ml. Pour les échantillons infestés par les bactéries phytopathogènes B2+S2, B3+MIX et B1+S15, avec des concentrations de 4,81 mg/ml, 4,41 mg/ml et 4,05 mg/ml, elles sont supérieures à celles du témoin.

La teneur en pigments foliaires constitue une des principales signatures de l'état physiologique de la plante. La mesure de l'évolution de l'équipement pigmentaire dans les feuilles permet de déterminer le stade phénologique, de différencier les populations d'un écosystème et de révéler les carences et les situations de stress éventuelles (Marker *et al.*, 1980).

---

Conclusion et perspectives

## Conclusion et perspectives

Le présent travail est dans le but de mettre en valeur la capacité de sept souches du genre *Streptomyces*, à promouvoir l'augmentation de la qualité des nutriments des plantes. Soit par la fixation d'azote ou la solubilisation du phosphate qui permet à la plante de développer un système racinaire.

La première partie suggère que les souches d'actinomycètes ont la capacité de produire des métabolites secondaire. Ce qui est traduit par l'activité antibactérienne vis à vis les bactéries phytopathogènes isolées de la tomate. Cette activité se manifeste par des zones d'inhibition, avec un diamètre allant de 6mm à 10 mm, chez les souches S7, S10, S2 et S11.

L'identification réalisée a permis de déceler la présence des bactérioses provoquées par des bactéries phytopathogènes sur les fruits de tomate infectés. L'examen visuel qui repose sur l'observation des infections qui apparaissent sous forme de taches brunes et noires sur la surface. Il est complété par des examens macroscopiques, microscopiques et biochimiques. Ils nous ont permis de déterminer quelques caractères des bactéries phytopathogènes, sans pour autant arrivé à les identifier.

D'autre part les souches d'actinomycètes n'ont montré aucune activité antifongique vis-a-vis du champignon testé *Aspergillus* sp.

La deuxième partie consacrée à l'étude de l'effet bénéfique de la culture des graines traitées avec les souches de *Streptomyces*. Elle nous a permis de montrer l'action stimulatrice de ses dernières de la croissance des plantes. Ce qui se traduit dans le développement des parties racinaires et aériennes. L'effet est aussi remarquable sur le poids frais des feuilles des plantules avec un taux de 0,6g remarqué chez le mix de toutes les souches, et les mix : S1+S15 ,S7+S11 ,S2+S11. En plus de leurs effet combiné avec le champignon *Trichoderma* sp. qui a donné des résultats stimulateurs remarquable.

La troisième partie a montré que l'effet stimulateur de croissance agit aussi au niveau cellulaire des feuilles des plantes, et sur le taux de chlorophylle a, b et la chlorophylle totale en générale,

Les microorganismes de lutte biologique comme *Trichoderma* sp. et les stimulateurs de croissance comme les actinomycètes partagent de nombreux traits communs. Il serait intéressant d'essayer de les combinées pour lutter contre les agents agresseurs des plantes.

Les résultats obtenus montrent l'importance des *Streptomyces* dans la croissance de la partie racinaire, la partie aérienne des plantules de tomate et le poids frais des feuilles. Ils montrent également leurs effets protecteurs contre les bio-agresseurs, et leur capacité inhibitrice de la croissance des souches phytopatogènes qui infectent cette variété de tomate.

---

## Références bibliographiques

## Références bibliographiques

- Agrios G.N., (1988). Plant Pathology. Academic press. San Diego. California. Brimne. 801.
- Brimmer T.A. and Boland G.J., (2003). A review of the non-target effects of fungi used to biologically control of plant diseases. *Arg. Ecosyst. environ.* 100, 3-16.
- Ameer H., (2014). Effet d'osmoprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de streptomycètes et de plantes d'intérêt agricole sur sol salé ou aride. Thèse de doctorat : Microbiologie. Université Ferhat Abbas Sétif. 120 p.
- André C., Michel J., Serge H., et Dominique N. (1997). L'amélioration des plantes tropicales. Repères.
- Annaliesa S., Elizabeth M. and Wellington H., (2001). The taxonomy of Streptomyces and related genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 798-799.
- Bally R. and Elmerich C., (2007). Biocontrol of plant diseases by associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria. In : Elmerich C., Newton W.E. (eds). *Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations' springer.* 171-190.
- Bastide A. M., Andriantsoa M., Laget G. et Duménil., (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. *Microbiol. J.* 2 : 453-466.
- Bazzi C., Fantini pucci M. G. et Martini M., (1979). Gravittachi di « macciettatura batteria » del pomodoro in Emilia. *Inf. Tore. Agrario.* 7: 4657-4658.
- Beauchamp C. J., (1993). Mode of action of plant growth-promoting rhizobacteria and their potential use as biological control agents, *phytoprotection* 71:19-27.
- Breton A., Theilleux J., Sanglier J.J., et Vobis G., (1989). Organismes producteurs : biologie, taxonomie et écologie. *Biotechnologie des antibiotiques* (édition Masson) p33-70.
- Bentley S.D., Chater K.F., Cerdeno-Tarraga A.M., Challis G.L., and al., (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor*A3 (2). *Nature.* 417 (6885) : 141-147.
- Chun, J., Youn H.D., Yim Y.4, et al., (1997). *Streptomyces seoulensis* sp. nov. *Int. J. System. Bacteriol.* 47, 492-498.

- Carla da Silva S., Ana cristina fermino S. and Marlon da Silva G., (2008). Characterization of streptomycetes with potential to promote plant growth and biocontrol. *Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)* vol.65 no.1 Piracicaba.
- Centre d'expertise en Analyse environnementale du Québec. Détermination de la chlorophylle a : méthode par fluorométrie, MA. 800 – Chlor. 1.0, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2012, 16 p. Centre pour le développement de L'horticulturcambérène. ColombiaUniversity : 1256p.
- Compant, S., Clement C. and Sessitsch A., (2010). Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants : their role colonization mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil biol biochem.* 42, 669-678.
- Cooney J.M., Lauren D.R. and Perry-meyer L.J., (1997). A novel tubular bioassay for measuring the production of antagonistic chemicals produced at the fungal/pathogen interface. *Letters in Applied Microbiology.* 24 (6) : 460-462.
- Cronquist A., (1981). An integrated system of classification of following plants.
- Curl E. A. and Truelove B., (1986). The rhizosphere, advanced series in agriculture sciences. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg.* 288.
- Crawford D. L.; Lynch J.M.; Whipps J.L. and Ousley M.A., (1993). Isolation and characterization of actinomycete antagonists of fungal root pathogens. *Applied and Environmental Microbiology.* v.59, p.3899-390.
- Dey R., Pal K.K., Bhatt D.M. and Chauhan S.M., (2004). Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria *microbial res.* 159: 371-394.
- Dommergues Y. et Mangenot F. (1970). *Écologie Microbienne du sol.* Masson, Paris.
- Dakar., (2012) .Techniques de production de semences de tomate au Sénégal.
- David E.M., Jolanta Z.C., Marian M. and Michael G., (1999). Classification of thermophilic streptomycetes including the description of *Streptomyces thermoalcalitolerans* sp. n ov. Bongcheol kim Nevzat Sahin .
- Gagne S., Antoun H. and Richard C., (1985). Inhibition of phytopathogenic fungi by bacteria from soils and legume rhizosphere. *Can. J. Microbiol.* 31(9), 856-860.
- Gallais A. et Bannerot H., (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Ed. *INRA.* Paris.



- Gaussen H., Lefoy J. et Ozenda P., (1982). Précis de Botanique. 2eme ed. *Masson*.
- Ghanem N.B., Sabry S.A., El-Sherif Z.M. and Abou El-Elal G.A., (2000). Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 46:105-111.
- Gilles T. et al., (Avril 2011). *Écho-Serre*. Volume 2, No 2.
- Goodfellow M., Lacey I. and Todd C., (1987). Numerical classification of thermophilic streptomycetes. *Gen Microbiol.* 133, 3: 135-149.
- Grondona I., Hermosa R., Tejada M., (1997). Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma Harzianum*, a biological control agent against soil borne fungal plant pathogens. *App environ microb.* 63 (8): 3189-3198.
- Haas D. and Defago G., (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat rev microbiol.* 3(4):307-319.
- Hain T., Ward-Rainey N., Kroppenstedt R. M., and al., (1997). Discrimination of *Streptomyces ulbiclo flavus* strains based on the size and number of 16S-23S ribosomal DNA intergenic spacers. *Int J Syst Bacteriol.* 47. 2: 202-206.
- Hatano K., Nishii T. and Mordarska H., (1997). *Streptomyces spitzbergensis* ; Wiczkorek and al., (1993). A later subjective synonym of *Streptomyces baldacii* ; Farina and Locci. (1966) ; Witt and Stackebrandt., (1991). *Int J Syst Bacteriol.* 47, 573-574.
- Hawes M.C., (1998). Function of root border cells in plant health : pioneers in the Rhizosphere. *Annual Review of phytopathology.* 36, 311-327.
- Hoster F., Schmitz J.E. and Daniel R., (2005). Enrichment of chitinolytic microorganisms : isolation and characterization of chitinase exhibiting antifungal activity against phytopathogenic fungi from a novel *Streptomyces* strain. *Applied Microbiology and Biotechnology.* v.66, p.434-442.
- International Journal of Systematic Bacteriology., (1999). Classification of thermophilic streptomycetes including the description of *Streptomyces thermoalcalitolerans* sp. nov.
- Jacques van H. L'amélioration des plantes cultivées [Jacques.van.Helden@ulb.ac.be](mailto:Jacques.van.Helden@ulb.ac.be)
- Kim B., Falconer C., Williams E. and Goodfellow M. (1998). *Streptomyces thermocarboxy dovorans* sp. nov. and *Streptomyces thermocarboxy dus* sp. nov. two moderately thermophilic carboxydrotrophic species from soil. *Int J Syst Bacteriol.* 48, 59-68.

- Kim D., Chun J., Sahin N., Hah Y.C. and Goodfellow M. (1996). Analysis of thermophilic clades within the genus *Streptomyces* by 16s ribosomal DNA sequence comparisons. *Int J Syst Bacteriol* 46, 581-587.
- Kim B., Falconer C., Williams E. and Goodfellow M. (1998). *Streptomyces thermo carboxy dovorans* sp. nov. and *Streptomyces thermocarboxyodus* sp. nov., two moderately thermophilic carboxy dotrophic species from soil. *Int J Syst Bacteriol* 48, 59-68. 64:937-939.
- Kloepper J.W., (1993). Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In: Metting FB Jr (ed) Soil microbial ecology-applications in agricultural and environmental management. Marcel Dekker, Inc., New York. 255–274.
- Kloepper J.W., Ryu C.M. and Zhang S.A. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* sp. *Phytopathology*. 94:1259-1266.
- Kubicek C. P., Bissett J., Druzhinina I., Kullinig-Gradinger C. and Szakacs G., (2003). Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp.; a case study on south-east asian isolates. *Fungal Genet. Biol.*, 38(3): 310-319.
- Labeda D. P., (1996). DNA relatedness among verticil-forming *Streptomyces* species (formerly *Streptoverticillii* species). *Int J Syst Bacteriol* 46, 699-703.
- Labeda D. P., (1993). DNA relatedness among strains of the *Streptomyces fiver mae* phenotypic cluster group. *Int J Syst Bacteriol* 43, 822-825.
- Labeda D. P., Lechevalier M. P. and Testa R. T., (1997). *Strepto- HTJWS strcrniineus* sp. nov., a new species of the verticillate streptomycetes. *Int J Syst Bacteriol* 47, 747-753.
- Leblond P., Demuyter P., Moutier L., and al., (1989). Hyper variability a new phenomenon of genetic instability related to DNA amplification in *Streptomyces ambofaciens*. *J. Bacteriol.* 171 (1) : 419-423.
- Lebuhn M., Heulin T. and Hartmann A., (1997). Production of auxine and other indolic and phenolic compounds by Paeni bacillus polymyx strains isolated from different proximity to plant roots. *FEMS Microbiol. Ecol.* 22, 325-334.
- Locci R., (1989). *Streptomyces* and related genera. In : *Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 4*. Ed. William set Wilkins. pp. 2451-2508. management. Marcel Dekker, Inc., New York. 255–274.
- Marker A. F. H., Nush E. A., Rai H. and Riemaan B., (1980). The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods : conclusions

and recommendations. (Univ. Copenhagen, Freshwater Biological Laboratory, 51 Helsingorsgade, DK - 3400 Hillerod). Arch. Hydrobiol. Beilh. (Ergehn. Limnol.), 14, 91-106, bibl. (63 ref).

- Manfio G. P., Zakrezewska-Czerwinska J., Atalan E. and Goodfellow M. (1995). Towards minimal standards for the description of *Streptomyces* species. *Biotechnology and Bioinformatics*. Metting FB Jr (ed) Soil microbial ecology-applications in agricultural and environmental. 7-8, 242-253.
- Munro D. B. et Small E., (1998). Les légumes du Canada .NRC Research Press.(Vegetables of Canada By Munro Derek B., Small E. null 10.1139/9780660195032 46852 Vegetables of Canada Derek B., Munro E., Small N.R.,(1997). Copyright NRC Research Press Canada).
- Nelson L. M., (2004). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) : Prospects for new inoculants. *Crop Management*, <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/review/2004/rhizobacteria> .Paris : 172p.potential use as biological control agents, *Phytoprotection* 71:19-27.
- Nassar A. H., EL-Tarabily K.A., and *al.*, (2003). Growth promotion of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a polyamine-producing isolates of *Streptomyces griseoluteus*. *Plant Growth Regulation*, v.40, p.97-106.
- O'Donnell A. G., Falconer C., Goodfellow M., and *al.*, (1993). Biosystematics and diversity amongst novel carboxydo trophic actinomycetes. *Antonie Leeuwenhoek* 64, 325-340.
- Ptrosyan P., Garcia-Varela M.; Luz-Madrigal A., and *al.*, (2003). *Streptomyces mexicanus* sp., a xylanolytic micro-organism isolated from soil. *Internacional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. v.53, p.269-273.
- Prescott L., Harley J., Klein D., (2007). *Microbiology* .2eme edition. .669-675.1137p.
- Prieto A., leal J.A., Poeda A., jiménez-Barbero J., and *al.*, (1997). Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* and *hypocrea* species. *Carbohydrate Research* 1997, 304 (3-4) : 281-291.
- Ramos-Solano B., Barriuso-Maicas J. and Gutierrez-Mañero J., (2009). Biotechnology of the Rhizosphere. In: Kirakosyan A., Kaufman PB (eds) .Recent

Advances in Plant Biotechnology. 137, Springer Science & Business Media. pp. 137-162.

- Roger P., Jean-Pierre R. et Véronique V.,( Lundi 28 février 2005). (Biologie et Multimédia). Le gravitropisme : réalisation d'expériences simples chez les végétaux, Planet-Vie , <http://planetvie.ens.fr/content/experiences-gravitropisme-vegetaux>.
- Raaijmakers J. M., (2009) .the rhizosphere : aplayground and battlefield for soil born pathogens and beneficial microorganisms .Plant and soil 321 ,341-361.
- Roquebert M. F., (1996). Interactions antagonistes des *Trichoderma* sp. Dans les systèmes telluriques : systématique biologie et écologie des organismes. Compte-rendu des 4 émes rencontres en toxicologie, paris, 13-15.
- Scurkson J.M.O.,Johnson K.,Olson R.J.,(2002). Estimating net primary productivity from grassland biomass dynamics measurements .*Global change Biology*. 108, 736-753.
- Shankara N., Joep van L., Marja G., Martin H. Barbara van D., (2005). La culture de la tomate production, transformation et commercialisation.
- Siddiqui Z. A.,(2003). PGPR : Prospective biocontrol agents of plabt pathogens .In Siddiqui Z.A., (2006), PGPR : Biocontrol and Biofertilization, springer, Netherlands, 313p.
- Singer M. J. and Donald N. M., (2006). Soils : an Introduction. Pearson Education Inc. New Jersey.
- Smitley D. R. and Carter S. M., (1982). Spread of *Pseudomonas syringae* pv. tomato and the role of epiphytic populations and environmental conditions in disease development. Plant disease. 66:713-717.
- Soufiane B., (1998). Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Mémoire de maitrise. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Université Laval, Québec.
- Sylvia D., Fuhrmann J., Hartel P. and Zuberer D., (2005). Principles and applications of soilmicrobiology.*Pearson Education Inc*. New Jersey.
- Sophie S., (2006). Etude du métabolisme carboné chez *Streptomyces pristinae spiralis*. Thèse de doctorat : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. Institut National Polytechnique de Lorraine L.

- Tamietti G. et Cugudda L., (1987). Note sur les épidémies causées en Italie par deux bactéries phytopathogènes dans les cultures de tomates sous abri. *Bulletin OEPP/EPPO*. 27: 295-297.
- Uroz S., (20/02/2015). Miss Marta Torres Béjar, Dr. Laura C. K., Dr. Cendrella, Dr. Christelle C. Dr. Panos I. Interaction Arbre –Microorganismes. Université de Lorraine.
- Van Loon L.C., Bakker P. and Pieterse C. M. J., (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483.
- Vargas L.K., Lisboa B. B.,Schlindwein G., (2009). Occurrence of plant growth-promoting traits in clover nodulating rhizobia strains isolated from different soil sinrio grande do sulstate.R. Bras.Ci. Solo, 33, pp 1227-1235.
- Verbist J.F., (2000). Marine fungal substances in : studies in natural products chemistry. Londres : Elsevier Sciences B.V., 24: 979-1092.
- Verma J.P., Yadav J. and Tiwari K.N., (2010). Application of Rhizobium sp. Bhurco 01 and plant growth promoting rhizobacteria on nodulation, plant biomass and yields of Chickpea (*Cicerarietinum L.*). *Int. J. Agric. Res.*, 5: 148-156.
- Vittorio V., Christoph K.,(2016.01.05). Signaling in the Rhizosphere. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants. trends in plant science>.
- Yunis H., Bashan Y., Okon Y. and Henis Y., (1980). Weather dependence, yield losses.

---

Annexes

## Annexes

### Annexes 1 : Composition des milieux de cultures

#### Milieu ISP2 :

• Extrait de levure	4 g
• Extrait de Malt	10 g
• D-Glucose	4 g
• Carbonate de Calcium	2 g
• Agar	20 g
• Eau distillée	1000 ml
• pH	7

#### Gélose nutritif :

• Extrait de viande	1 g
• Extrait de levure	2,5 g
• Peptone	5,0 g
• Chlorure de Sodium	5,0 g
• Agar	15 g
• Eau distillée	1000 ml
• pH	7,0

#### Milieu OGA :

• Extrait de levure	5 g
• Glucose	20 g
• Agar	12 g
• Eau distillée	1000 ml

#### Muller Hinton :

• Infusion de viande de bœuf	300 ml
• Peptone de caséine	17,5 g
• Amidon de maïs	1,5 g
• Agar	17 g
• Eau distillée	1000 ml
• pH	7,4

#### Milieu Farheus :

• CaCl <sub>2</sub>	0,10 g
• MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,12 g
• K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,10 g
• Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,15 g
• Citrate de fer.H <sub>2</sub> O	0,005 g
• Solution stock des microéléments	1 ml
• Agar	12 g
• Eau distillée	1000 ml
• pH	6,8

➤ **Solution de stock des micro-éléments :**

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0,08 g
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,22 g
- $\text{H}_3\text{BO}_3$  2,86 g
- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,14 g
- $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2,03 g

**Annexes 2 : Dosage de la chlorophylle**

Tableau 1 : Concentrations de la chlorophylle a, b et totale chez les feuilles traités par les souches des actinomycètes

Souches	DO à 663	DO à 654	Ch. (a) mg/l	Ch. (b) mg/l	Ch. t (mg/l)
S1	0,129	0,005	1,84	-0,49	1,35
S2	0,098	0,031	1,33	0,23	1,72
S4	0,079	0,034	1,05	0,41	1,46
S7	0,177	0,016	2,51	-0,46	2,05
S10	0,1	0,007	1,42	-0,31	1,12
S11	0,093	0,029	1,27	0,23	1,5
S15	0,092	0,015	1,29	-0,09	1,18
S1+S2	0,087	0,022	1,2	0,1	1,29
S1+S4	0,244	0,046	3,4	-0,09	3,31
S1+S7	0,109	0,009	1,55	-0,3	1,24
S1+S10	0,098	0,024	1,35	0,09	1,44
S1+S11	0,231	0,036	3,24	-0,26	2,94
S1+S15	0,124	0,006	1,77	-0,44	1,33
S2+S4	0,295	0,051	2,7	-0,21	2,49
S2+S7	0,199	0,021	2,81	-0,45	2,36
S2+S10	0,219	0,06	3	0,34	3,34
S2+S11	0,216	0,062	2,95	0,41	3,36
S2+S15	0,212	0,066	2,88	0,52	3,4
S4+S7	0,197	0,045	2,58	0,11	2,69
S4+S10	0,115	0,035	1,57	0,26	1,69
S4+S11	0,145	0,017	2,05	-0,29	1,76
S4+S15	0,135	0,035	1,85	0,169	2,02
S7+S10	0,25	0,041	3,5	-0,23	3,28
S7+S11	0,162	0,019	2,29	0,32	1,97
S7+S15	0,212	0,84	2,88	0,57	3,55
S10+S11	0,24	0,068	3,24	0,8	4,04
S10+S15	0,297	0,071	3,79	0,33	4,13
S11+S15	0,24	0,066	3,29	1,34	3,63
Témoin	0,207	0,04	2,88	- 0,05	2,83



Tableau 2 : Concentrations de la chlorophylle a, b et totale chez les feuilles traitées par les bactéries pathogènes isolées et les actinomycètes.

Souches	DO à 663	DO à 654	Ch. (a) mg/l	Ch. (b) mg/l	Ch. t (mg/l)
B1	0,191	0,053	2,61	0,32	2,93
B2	0,091	0,01	1,28	-0,2	1,09
B3	0,185	0,054	2,53	0,37	2,9
B1+Mix	0,076	0,001	1,092	-0,33	0,76
B2+Mix	0,239	0,053	3,31	0,1	3,41
B3+Mix	0,28	0,081	3,88	0,53	4,41
B1+S1	0,214	0,052	2,94	0,19	3,13
B1+S2	0,147	0,023	1,98	-0,16	1,82
B1+S4	0,205	0,05	2,82	0,19	3,01
B1+S7	0,24	0,068	3,28	0,43	3,71
B1+S10	0,26	0,07	3,56	0,39	3,95
B1+S11	0,189	0,039	2,75	-0,03	2,72
B1+S15	0,268	0,071	3,68	0,37	4,05
B2+S1	0,156	0,04	2,15	0,19	2,33
B2+S2	0,288	0,099	3,89	0,92	4,81
B2+S4	0,198	0,04	2,75	0,4	3,15
B2+S7	0,161	0,009	2,3	-0,55	1,75
B2+S10	0,157	0,019	2,21	-0,3	1,92
B2+S11	0,06	0,091	0,63	1,8	2,44
B2+S15	0,096	0,017	1,34	-0,06	1,28
B3+S1	0,104	0,015	1,46	-0,14	1,32
B3+S2	0,092	0,007	1,31	-0,27	1,04
B3+S4	0,133	0,025	1,85	-0,05	1,35
B3+S7	0,23	0,087	3,09	0,92	2,17
B3+S10	0,0109	0,017	1,53	-0,12	1,41
B3+S11	0,231	0,07	3,14	0,52	3,67
B3+S15	0,24	0,081	1,36	0,73	2,09
Asp	0,282	0,092	3,83	0,79	4,62
Asp+Mix	0,219	0,062	2,99	0,39	2,39
Asp+S1	0,135	0,038	1,85	0,24	2,09
Asp+S2	0,182	0,051	2,49	0,32	2,81
Asp+S4	0,19	0,062	2,58	0,53	3,11
Asp+S7	0,142	0,045	1,92	0,36	2,28
ASP+S10	0,156	0,041	2,14	0,2	2,34
Asp+S11	0,16	0,034	2,22	0,03	2,25
Asp+S15	0,105	0,01	1,49	-0,26	1,23

## Effet PGPR de quelques *Streptomyces*. Impact sur les caractères morpho-biochimiques de la tomate *Lycopersicon esculentum*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en **MGBMM**

### Résumé

Le genre le plus important des actinomycètes et qui est le plus abondant dans le sol est celui des *Streptomyces*, il est connu pour son effet améliorateur et promoteur de la croissance des plantes et son activité protectrice des plantes contre les bio-agresseurs.

De ce fait sept souches actinomycétales sont testées pour leur effet sur la croissance des graines de tomate *Lycopersicon esculentum* et de mettre en évidence l'activité antibactérienne et antifongique de ces bactéries qui a été remarquable chez les souches S7, S10, S2 et S11 vis-à-vis de ces bactéries phytopathogènes isolées de la tomate.

Les tailles des parties aériennes et racinaires ainsi que les taux de germination et de croissance sont remarquables surtout avec les souches S7, S10, S11. La mesure des poids frais des feuilles des plantules, en plus du dosage des chlorophylle a, b et la chlorophylle totale, a permis de montrer que, les *Streptomyces* peuvent aider les plantes par leur présence dans la rhizosphère, comme elles peuvent être des endophytes et colonisent divers parties de la plante.

### Abstract

The most important category of Actinomycetes which is also abundant in soils is that of *Streptomyces*, it is known by its improve effect as a growth promoter for plants as well as its protective function against Biological Invaders. Hence, seven strains of Actinomycetales are tested regarding their effect on the growth of tomato grains *Lycopersicon esculentum* and to demonstrate the antibacterial and antifungal activity of these bacteria that was most remarkable with strains S7, S10, S2 and S11 with regard to those phytopathogenic isolated bacteria from tomato.

The size of the above ground plant parts, root part, and also the germination and growth rates are remarkable particularly with strains S7, S10 and S11. The measures of fresh weight of seedlings plus the dosage of chlorophyll a, b and total chlorophyll have determined that *Streptomyces* can help plants grow with their presence in Rhizosphere as they may be Endophytes and colonize various parts of the plants.

### المخلص

يعتبر *Streptomyces* النوع الأكثر أهمية من الأكتينوميستات و الذي يتواجد بوفرة في التربة و الذي يعرف بتأثيره المطور و المحفز لنمو النباتات وكذلك دوره الواقى للنباتات ضد الميكروبات الممرضة.

و من اجل هذا الغرض تم اختبار سبعة سلالات من اكتينوميستات لمعرفة مدى تأثيرها على نمو بذرة الطماطم من نوع *esculentum Lycopersicon* و بغرض تسليط الضوء على النشاط المضاد للبكتيريا و المضاد للفطريات لهذا النوع من السلالة البكتيرية و الذي كان ملحوظا لدى السلالات S2، S7، S10 و S11 بالنسبة للبكتيريات الممرضة للطماطم.

لقد تم ملاحظة انه كل من حجم الاجزاء العلوية و الجذرية و معدل النمو لدى النباتات كان معتبرا خاصة لدى السلالات S7، S10 و S11. و قد تمكنا من اثبات بعد قياس الوزن الاولي لأوراق النباتات الفتية بالإضافة الى نسبة الكلوروفيل (اليخضور) أ و ب و اليخضور الاجمالي ان *Streptomyces* تساهم في نمو النباتات و ذلك بتواجدها في منطقة rhizosphere مثلما بإمكانها ان تكون endophytes باجزاء مختلفة من النبتة.

**Mots clés :** PGPR, tomate *Lycopersicon esculentum*, actinomycètes, *Streptomyces*,

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Génie microbiologique et applications

Jury d'évaluation :

<b>Président du jury :</b>	BENHIZIA Y.	(Professeur - UFM Constantine),
<b>Rapporteur :</b>	KITOUNI M.	(Professeur - UFM Constantine),
<b>Examineur :</b>	BOUDEMAGH A.	(Professeur - UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 20/06/2016