

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE D'OUM EL BOUAGHI**

Faculté : Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Science de la Nature et de la Vie



**Thèse**

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE

**Doctorat 3ème Cycle**

**Filière** : Biotechnologie

**Spécialité** : Biotechnologie Microbienne

**Thème** :

---

**Screening d'actinobactéries isolées des sols sahariens et des  
plantes médicinales pour leurs activités antimicrobiennes et  
promotrice de la croissance des plantes**

---

Présenté Par :

**M<sup>elle</sup> Boukelloul Inas**

Thèse soutenue le .. /01 /2024 devant le jury composé de :

N°	Nom et prénom	Grade	Etablissement	Qualité
01	Arhab Rabah	Prof.	Larbi Ben M'Hidi- OEB	Président
02	Aouar Lamia	Prof.	Larbi Ben M'Hidi- OEB	Rapporteur
03	Derouiche Kamel	MCA.	Larbi Ben M'Hidi- OEB	Examineur
04	Kheddouma Asma	MCA.	Abbes Laghrour- Khenchela	Examineur
05	Naili Oumaima	MCA.	Abbes Laghrour- Khenchela	Examineur

« Une personne qui n'a jamais commis d'erreurs n'a  
jamais tenté d'innover. »

**Albert Einstein**

# Dédicaces

## **Je dédie cette thèse à mon père,**

Je vous serai toujours reconnaissante pour tout ce que vous avez sacrifié pour moi. Trouve dans ces humbles mots la preuve de mon amour et de ma reconnaissance éternelle.

## **A mon adorable mère,**

Merci, maman, d'être la meilleure professeure du monde, j'apprécie tout ce que vous avez toujours fait pour moi, vous êtes ma source de tendresse, d'amour, et la personne vers qui je me tourne toujours pour trouver du réconfort. Sans votre aide et vos encouragements, ce travail n'aurait jamais été accompli.

## **A mes sœurs et mon frère,**

Ma chère et magnifique famille, qui m'a toujours soutenue, je vous aime tous sans condition. Les mots me manquent pour exprimer à quel point je respecte et apprécie vos encouragements et votre soutien. Je vous dédie cette thèse en remerciement de l'amour et de la générosité dont vous faites preuve au quotidien. Que Dieu vous bénisse et vous préserve de tout mal.

## **A tous ceux qui me sont chers**

## REMERCIEMENTS

Avant tout, Louange à Dieu "**ALLAH**" qui m'a donné le moral, la patience, la force, et la volonté pour mener à bien ce travail.

Je tiens à exprimer ma considération la plus respectueuse à Madame **AOUAR Lamia** qui a assuré la direction de mon travail de thèse, les encouragements et la confiance qu'elle m'a accordés et sa disponibilité, ainsi que pour tous les précieux conseils qu'elle m'a prodigués tout au long de ce travail.

J'adresse mes remerciements également aux membres de jury, et à leur tête Professeur Arhab Rabah qui a accepté de présider ce jury; Dr. **DEROUICHE Kamel**, Dr. Kheddouma Asma, et Dr. Naili Oumaima. Je suis reconnaissante d'avoir l'opportunité de bénéficier de vos précieux commentaires, et je tiens à vous assurer de ma grande estime et de mes remerciements.

Je saisis cette occasion pour partager ma profonde gratitude à l'égard du Professeur **ZELLAGUI Amar** pour m'avoir ouvert son laboratoire avec beaucoup d'hospitalité. Également, Professeur **NACIB Youssef** de m'avoir aussi accueilli au laboratoire de Génie Microbiologique et Applications (Université de Constantine). Un simple merci ne suffit pas à exprimer toute ma gratitude envers vous.

J'exprime ma vive gratitude au Professeur **CARVALHO Fatima**, responsable de l'équipe biodégradation microbienne et bioprospection, Centre Interdisciplinaire de Recherche Marine et Environnementale de l'Université de Porto et son mari le Professeur **OLIVEIRA Rui**, Département des Sciences de la vie, Université de Coimbra, Portugal, pour leur aide, leurs conseils et les moyens qu'ils ont mis à ma disposition pour assurer le bon déroulement de ce travail.

Enfin, Je remercie particulièrement, mes amies et sœurs: **Mariam, Widad, Kaouther, Fatima et Sonia** pour l'impact positif que vous avez eu sur ma vie. J'apprécie votre présence et votre soutien dont vous m'avez fait part.

# VALORISATION DES TRAVAUX DE THESE

## Publications Scientifiques

**BOUKELLOUL I.**, AOUAR L., CHEKARA BOUZIANI M., ZELLAGUI A., DERDOUR M., NECIB Y. (2023). Antagonism and plant growth promoting traits of actinomycetes isolated from the rhizosphere of halophyte *Atriplex halimus* L. *Notulae Scientia Biologicae*, 15(1), 11437–11437. DOI: <https://doi.org/10.55779/nsb15111437>.

AOUAR L., **BOUKELLOUL I.**, BENADJILA A. (2021) PGPR traits of rhizospheric *Nocardiopsis* strains isolated from Algerian soils. In: Ksibi M et al. (eds.) *Recent advances in environmental science from the euromediterranean and surrounding regions*, 2nd edn. Environmental Science and Engineering, Springer, Cham, pp 1293–1300. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-51210-1\\_205](https://doi.org/10.1007/978-3-030-51210-1_205).

AOUAR L., **BOUKELLOUL I.**, BENADJILA A. (2020). Identification of antagonistic *Streptomyces* strains isolated from Algerian Saharan soils and their plant growth promoting properties. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(12), 5672–5683. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211212>.

AOUAR L., **BOUKELLOUL I.**, BENADJILA A., MEDJOU DJ H., ZAABAT M. (2019). *Streptomyces griseus* Lac1: biocontrôle et propriétés promotrices de la croissance des plantes. *Revue des BioRessources*, 9(1), 27–37.

AOUAR L., **BOUKELLOUL I.**, BENADJILA A. (2019). Antimicrobial activity of PGPR actinobacteria. In X International Scientific Agriculture Symposium AGROSYM 2019. Bosnie-Herzégovine. Book of proceedings ISBN 978-99976-787-2-0 (pp 885-890). [http://agrosym.ues.rs.ba/article/showpdf/BOOK\\_OF\\_PROCEEDINGS\\_2019\\_FINAL.pdf](http://agrosym.ues.rs.ba/article/showpdf/BOOK_OF_PROCEEDINGS_2019_FINAL.pdf).

AOUAR L., **BOUKELLOUL I.**, OUFFROUKH A. BOULAHROUF A. (2018). Antifungal activity against pathogenic fungi and PGPR traits of rhizospheric actinobacteria. In IX International Scientific Agriculture Symposium AGROSYM 2018. Bosnie-Herzégovine. Book of proceedings ISBN 978-99976-718-8-2. (pp 827-836). [http://agrosym.ues.rs.ba/article/showpdf/BOOK\\_OF\\_PROCEEDINGS\\_2018\\_FINAL.pdf](http://agrosym.ues.rs.ba/article/showpdf/BOOK_OF_PROCEEDINGS_2018_FINAL.pdf).

## **Communications internationales**

**BOUKELLOUL I.**, AOUAR L., ZELLAGUI A., NECIB Y. Contribution to biological against phytopathogenic fungi by actinomycetes strains isolated from Saharan plants, Algeria . Third International Symposium Medicinal Plants and Materials (MPM-2020). 25-27 février 2020-Tébessa, Algérie.

**BOUKELLOUL I.**, AOUAR L., ZELLAGUI A., NECIB Y. Isolation and characterization of actinobacteria with antibacterial activity and antifungal activity from soil and Saharan plants. 1<sup>st</sup> international conference on biodiversity in service of biotechnologie IC BIO. 2020, 9-10 Mars 2020-Mila.

**BOUKELLOUL I.**, AOUAR L., CHEKARA BOUZIANI M., ZELLAGUI A. Morphological biodiversity and contribution to the biological control of *Alternaria alternata* by actinomycetes endophytes. International Seminar on Biodiversity, Valorization and Conservation of Urban and Forest Ecosystems: (In support of sustainable development). 28 et 29 Avril. 2021. University of M'sila.

**BOUKELLOUL I.**, AOUAR L., CHEKARA BOUZIANI M., HADJEB W., MOKRANI M., ZELLAGUI A. *In vitro* production of growth regulators: phosphatase activity by phosphate solubilizing bacteria (*Streptomyces*) and the effect of l- tryptophan use on the production of growth hormone (indole-3-Acetic Acid). International seminar on valorization of agronomic, ecological and food resources. 18-20 october 2022-Skikda.

## **Communications nationales**

**BOUKELLOUL I.**, AOUAR L., ZELLAGUI A., NECIB Y. Antibacterial activity of actinobacteria isolated from soil and Saharan plants. 3<sup>rd</sup> Scientific Day of Plant Biomolecules and Plant Breeding Laboratory. 23 Octobre 2019-Oum El Bouaghi.

**BOUKELLOUL I.**, AOUAR L., ZELLAGUI A., NECIB Y. Inhibition of the growth of bacterial species from different collection sites by actinomycetes strains isolated from the Saharan soil, Algeria. 1st national seminar: The contribution of biotechnologies on environmental protection. 15-16 Décembre 2019-M'sila.

**BOUKELLOUL I.**, AOUAR L., MIHRAB K., CHEKARA BOUZIANI M., ZELLAGUI A. Indole-3-acetic acid production by actinomycete isolated from certain rhizospheres of medicinal plants. 1st National Seminar on Biotechnology of Medicinal Plants and their involvement in the pharmaceutical and food industries. 13-14 december. 2021. University of Oum El Bouaghi.

## Table des matières

	<b>Pages</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b>	
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	
<b>INTRODUCTION</b>	<b>01</b>
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre 1: Agents phytopathogènes</b>	
1. Historique de la phytopathologie	05
2. Maladies des plantes	05
2.1. Maladies biotiques	06
2.1.1. Bactéries impliquées dans la pathologie végétale	06
2.1.2. Champignons impliqués dans la pathologie végétale	08
<b>Chapitre 2: Actinomycètes</b>	
1. Généralités sur les actinomycètes (actinobactéries)	12
2. Caractéristiques des actinomycètes (actinobactéries)	13
2.1. Morphologie des actinomycètes	13
2.2. Physiologie et écologie	18
3. Certaines applications des actinomycètes	19
<b>Chapitre 3: Lutte biologique et amélioration des plantes</b>	
1. Lutte biologique	21
1.1. Généralités sur la lutte biologique	21
1.2. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique	22
1.2.1. Compétition	22
1.2.2. Parasitisme.	22
1.2.3. Antibiose	23
1.2.4. Inhibition du <i>quorum sensing</i>	24

2. Généralités sur les bactéries favorisant la croissance des végétaux	24
3. Activités stimulant le développement des végétaux	25
3.1. Phytohormones	25
3.1.1. Biosynthèse de l'acide indole-3-acétique	26
4. Production de sidérophores	28
4.1. Généralités sur la production de sidérophores	28
4.2. Types de sidérophores	30
4.2.1. Sidérophores type hydroxamate	30
4.2.2. Sidérophores type catecholate	31
4.2.3. Sidérophores type carboxylate	32
4.3. Applications de sidérophores	32
5. Fixation biologique de l'azote	33
6. Solubilisation du phosphate	34
6.1. Généralités	34
6.2. Mécanismes de solubilisation du phosphate	35

## **MATERIEL ET METHODES**

1. Méthode de prélèvement de sol	37
2. Caractéristiques physicochimiques des échantillons de sol collectés	38
2.1. Mesure du pH	38
2.2. Mesure de la conductivité 1/5 <sup>ème</sup>	38
2.3. Détermination du taux de la matière organique et d'humidité	38
3. Isolement, purification et conservation des actinomycètes	39
4. Tests d'antagonisme <i>in vitro</i> contre les microorganismes phytopathogènes	39
5. Caractères morphologiques des isolats antagonistes sélectionnés	41
5.1. Etude macroscopique	41

5.2. Etude microscopique	41
6. Caractéristiques physiologiques et biochimiques	42
6.1. Pigments mélanoides	42
6.2. Croissance à différents pHs	42
6.3. Croissance à différentes températures	42
6.4. Tolérance au chlorure de sodium	43
6.5. Utilisation de différentes sources carbonées	43
6.6. Croissance en présence des inhibiteurs et des sources azotées	43
6.7. Sensibilité aux antibiotiques	44
7. Étude chimiotaxonomique	44
8. Activités favorisant la croissance des plantes des isolats sélectionnés	45
8.1. Production d'auxine	45
8.2. Solubilisation du phosphate	46
8.3. Test de mise en évidence et d'estimation de sidérophores	46
8.3.1. Méthode qualitative	46
8.3.2. Méthode quantitative	47
8.3.3. Production de sidérophores type hydroxamate	47
8.4. Production d'ammoniac	47
8.5. Production d'acide cyanhydrique (HCN)	47
9. Mise en évidence de quelques activités enzymatiques	48
9.1. Nitrate réductase	48
9.2. Hydrolyse de l'amidon	48
9.3. Hydrolyse de la caséine	48
9.4. Hydrolyse de la cellulose	49
9.5. Production de catalase	49
9.6. Production de chitinase	49

9.7. Production de gélatinase	49
9.8. Production d'estérase	49
9.9. Production de tyrosinase	50
9.10. Production de pectinase	50
9.11. Production de lécithinase, lipase et lipoprotéinase	50
9.12. Production de l'asparaginase	50
9.13. Coagulation et peptonisation du lait écrémé	50
10. Fixation d'azote	51
11. Test d'antagonisme des isolats sélectionnés <i>in planta</i> contre <i>S. scabies</i> sur des plants de radis	51
11.1. Stérilisation et germination des radis	51
11.2. Pré-cultures de <i>Streptomyces scabies</i> et des isolats d'actinomycètes sélectionnés	51
11.3. Assemblage des pochettes de croissance	51
12. Étude moléculaire des isolats d'actinomycètes sélectionnés	52
12.1. Extraction de l'ADN génomique	52
12.1.1. Contrôle qualitatif et quantitatif de l'ADN génomique extrait	52
12.1.2. Amplification par PCR du gène de l'ARN ribosomal 16S	53
12.2. Electrophorèse	54
12.3. Séquencage	54
12.4. Arbre phylogénétique	55
13. Analyse statistique	55
<b>RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
1. Caractéristiques physicochimiques des échantillons	56
2. Isolats d'actinomycètes rhizosphériques et non rhizosphériques	58

3. Antagonisme contre les bactéries et les champignons phytopathogènes	59
4. Identification morphologique, physiologique, biochimique et chimiotaxonomique des isolats sélectionnés	68
4.1. Étude chimiotaxonomique	73
4.2. Caractères physiologiques et biochimiques	74
5. Sensibilité aux antibiotiques	79
6. Évaluation <i>in vitro</i> des activités PGP	80
6.1. Production et quantification d'acide indole-3-acétique (AIA)	80
6.2. Solubilisation du phosphate	84
6.3. Production de sidérophores	86
6.4. Production d'ammoniac	88
6.5. Production d'HCN et fixation d'azote	90
6.6. Quelques activités enzymatiques	91
7. Test d'antagonisme <i>in planta</i> contre <i>S. scabies</i> sur les radis	94
8. Étude phylogénétique	97
8.1. Vérification de la pureté et quantification de l'ADN	97
8.2. Amplification, séquençage de l'ADNr 16S et construction de l'arbre phylogénétique	97
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	<b>103</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>105</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>130</b>
<b>RESUMES</b>	<b>146</b>

## Liste des abréviations

ACC:	1-aminocyclopropane-1-carboxylate
AHL:	Acyl Homosérine Lactones.
AIA:	Acide indole-3-acétique.
BLAST:	Basic Local Alignment Search Tool
CASFM:	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
DAP:	Acide 2,6-diaminopimélique
ESI-MS:	Spectrométrie de masse à ionisation par électronébulisation
HCN:	Hydrogen cyanide (cyanure d'hydrogène)
HPLC:	Chromatographie liquide à haute performance
IAAld:	Indole-3-acétaldéhyde
IAM	Indole-3-acétamide
IAN:	Indole-3-acétonitrile
IAOX:	Indole-3-acétaldoxime
IPA:	Acide indole-3-pyruvique
IPDC:	Indole-3-pyruvate décarboxylase
LB:	Luria-Bertani
LSD:	Least Significant Difference
NBRIP:	National Botanical Research Institute's Phosphate Growth Medium
NCBI:	National Center for Biotechnology Information
PGP:	Plant Growth Promoting
PGPB:	Plant Growth Promoting Bacteria
PGPR:	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
PSM:	Bactéries solubles le phosphate

PVK: Pikovskaya

QS: Quorum sensing

TAM: Tryptamine

## Liste des figures

	<b>Pages</b>
<b>Figure 1:</b> Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes présentant le mycélium aérien avec une chaîne de conidiospores et le mycélium de substrat.	14
<b>Figure 2:</b> Production de spores en longues chaînes <i>Streptomyces</i> : A) type Rectiflexibles ; B) type Retinaculum ; C) type Spira ; D) type Verticillat. <i>Nocardioopsis</i> ; E) hyphes aériennes ramifiées et fragmentées et morphologies des <i>Streptomyces</i> cultivés en milieu liquide ; F) mycélium libre ; G) enchevêtrements (dispersé) ; H) pelote.	15
<b>Figure 3:</b> Chaînes de spores : A) type endogènes; B) type exogènes.	17
<b>Figure 4:</b> Biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (AIA) par différentes voies : A) Tryptopan 2-monooxydase, B) Indole acétamide hydrolase, C) Tryptophane transférase, D) Indole-3-pyruvate décarboxylase, E) Indole-3-acétaldéhyde oxydase, F) Tryptophane chaîne latérale oxydase, G) Tryptophane décarboxylase, H) Amine oxydase, I) Nitrilase, J) Nitrile hydratase, K) Amidase.	28
<b>Figure 5:</b> Exemples d'hydroxamate (vert), de catéchols (bleu), de carboxylate (rouge) et de sidérophores de type mixte produits par le genre <i>Streptomyces</i> : 1) <i>S. tendae</i> (Enterobactin); 2) <i>S. fradie</i> (Fradiamine A) ; 3) <i>S. scabies</i> (Pyochelin); 4) <i>S. antibioticus</i> (Ferrithiocin); 5) <i>Streptomyces</i> sp. YM5-799 (Streptobactin et 6) Bénarthine), <i>S. coelicolor</i> (7) Coelichelin); 8) <i>S. coelicolor</i> et <i>S. pilosus</i> (Desferrioxamine B); 9) <i>Streptomyces</i> sp. MBT76 (Qinichelin) ; 10) <i>S. nitrosporeus</i> (Feroxymithine).	30
<b>Figure 6:</b> Pourcentage des souches (%) présentant une activité antifongique contre les champignons phytopathogènes.	60
<b>Figure 7:</b> A) Examen macroscopique des colonies d'actinomycètes ensemencées dans la surface d'ISP2 (A20, A1, A8, A6), après 10 jours d'incubation ; B) Examen microscopique des lamelles des souches au grossissement $\times 1000$ ; C) Examen microscopique des souches au grossissement $\times 400$ .	73
<b>Figure 8:</b> Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des isolats d'actinomycètes sélectionnés après confrontation à certains antibiotiques.	79

<b>Figure 9:</b> Chromatogrammes HPLC des extraits de filtrats de culture avec 5 mM de tryptophane en comparaison avec les standards : a) AIA (acide indole-3- acétique) à 0,3125 mg ml <sup>-1</sup> ; b) extrait partiellement purifié du filtrat de culture de <i>Streptomyces</i> A1; c) extrait partiellement purifié du filtrat de culture de <i>Streptomyces</i> A5.	82
<b>Figure 10:</b> Diamètres des zones de solubilisation du phosphate par les isolats d'actinomycètes sur les milieux solides NBRIP (National Botanical Research Institute) et PVK (Pikovskaya). Les résultats sont la moyenne des réplicats. Les valeurs des barres portant des lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement selon le test post hoc de Tukey (P> 0,05).	85
<b>Figure 11:</b> Diamètres des zones de production de sidérophores par les souches d'actinomycètes sur des plaques de gélose CAS. Les résultats sont les moyennes des réplicats. Les valeurs des barres portant des lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement selon le test post-hoc de Tukey (P > 0,05).	87
<b>Figure 12:</b> A) Production d'AIA ; B) production d'ammoniac ; C) solubilisation de phosphate ; D) production de sidérophores par des isolats d'actinomycètes.	90
<b>Figure 13:</b> Evaluation de quelques activités enzymatiques : A) la lipase et lipoprotéinase ; B) l'amylase ; C) la tyrosinase ; D) l'acide cyanhydrique.	94
<b>Figure 14:</b> Confrontation <i>in planta</i> contre <i>S. scabies</i> sur des plantules de radis : A) contrôle négatif ; B) contrôle positif ; C) plantules inoculées avec <i>S. scabies</i> et Act18.	95
<b>Figure 15:</b> Electrophorèse de l'ADNr 16S dans le gel d'agarose 1%.	98
<b>Figure 16:</b> Arbre phylogénétique construit à partir de séquences partielles d'ARNr 16S provenant des cinq souches d'actinomycètes isolées du sol, ainsi que des séquences de souches de référence sélectionnées. <i>B. subtilis</i> IAM 12118 (NR 112116) a été utilisé comme groupe externe. Les valeurs de bootstrap sont basées sur 1000 réplifications. La barre représente 0,02 substitutions par position nucléotidique.	100

## Liste des tableaux

	<b>Pages</b>
<b>Tableau 1:</b> Facteurs responsables de l'apparition de maladies chez les plantes.	06
<b>Tableau 2:</b> Bactéries phytopathogènes et leur gamme d'hôtes.	07
<b>Tableau 3:</b> Pigments des actinomycètes.	19
<b>Tableau 4:</b> Elimination des maladies des plantes grâce à l'utilisation des antibiotiques produits par les actinomycètes.	23
<b>Tableau 5:</b> Localisation géographique des échantillonnages.	37
<b>Tableau 6:</b> Origines et phytopathologies des champignons et des bactéries testés	40
<b>Tableau 7:</b> Divers antibiotiques employés dans le test de l'antibiogramme	44
<b>Tableau 8:</b> Paramètres d'amplification du gène d'ARNr 16S	54
<b>Tableau 9:</b> Propriétés physicochimiques du sol.	56
<b>Tableau 10:</b> Nombre d'isolats d'actinomycètes obtenus à partir de sols rhizosphériques et non rhizosphériques.	58
<b>Tableau 11:</b> Pourcentages d'inhibition fongique par les isolats d'actinomycètes non sélectionnés.	61
<b>Tableau 12:</b> Pourcentages d'inhibition fongique par les isolats d'actinomycètes sélectionnés	64
<b>Tableau 13:</b> Résultats des activités antibactériennes des isolats sélectionnés contre les bactéries phytopathogènes et cliniques.	66
<b>Tableau 14:</b> Caractères cultureux des isolats d'actinomycètes sur milieu de culture ISP2.	69
<b>Tableau 15:</b> Caractéristiques physiologiques et biochimiques des onze souches d'actinomycètes antagonistes.	76
<b>Tableau 16:</b> Quantification de l'acide indole-3-acétique (AIA) des souches d'actinomycètes antagonistes.	81
<b>Tableau 17:</b> Résultats de quelques tests PGP des souches sélectionnées.	89
<b>Tableau 18:</b> Production d'HCN (acide cyanhydrique) et la fixation d'azote	91

<b>Tableau 19:</b> Quelques activités enzymatiques des onze isolats d'actinomycètes sélectionnés.	91
<b>Tableau 20:</b> Biocontrôle des actinomycètes contre <i>S. scabies</i> sur des plantules de radis.	95
<b>Tableau 21:</b> Affiliation phylogénétique des cinq souches antagonistes sélectionnées.	98

L'intensification agricole a considérablement augmenté la capacité de production des agroécosystèmes, mais elle a également des conséquences environnementales imprévues, notamment la détérioration des sols et des ressources en eau, et l'altération des cycles biogéochimiques (**Pereyra and Creus, 2017**).

Les plantes dans leur environnement sont exposées à des organismes délétères tels que les bactéries, les champignons, les nématodes et les virus, qui sont responsables de maladies des plantes. Ils affectent les cultures mondiales et causent une véritable catastrophe à la production alimentaire agricole. chaque année, plus de 20% des principales maladies des cultures sont causées par ces agents pathogènes (**Anitha and Rabeeth, 2010**). Le champignon survit dans le sol, puis pénètre les racines d'où il se propage lentement jusqu'à la corne.

Au cours des cinquante dernières années, la principale stratégie de protection contre ces maladies a consisté en la fumigation du sol avec des produits phytosanitaires comme le bromure de méthyle. Ce type de traitement chimique à faible coût est plus performant que le traitement classique au moyen, notamment, de fongicides en particulier pour contrôler les organismes phytopathogènes, qui sont difficiles à atteindre. Les divers éléments de ces produits entraînent toutefois des impacts environnementaux indésirables, y compris, l'accumulation de résidus provoquant une contamination des sols. La diffusion et le développement du phénomène de résistance chez les agents pathogènes, ainsi que le déséquilibre écologique résultant du large spectre d'action de ces substances synthétiques, détruit les organismes nuisibles, ainsi que les autres espèces vivant dans l'écosystème (**Eddaya et al., 2015**).

La transformation des aliments, les pesticides et les microorganismes pathogènes constituent un défi clé pour la sécurité alimentaire. En raison des préoccupations actuelles du

public au sujet des effets secondaires des produits agrochimiques, En général, il est courant d'utiliser des pesticides et des engrais de synthèse pour protéger les plantes et améliorer la production dans les champs agricoles. Ces dernières décennies, ces produits ont contribué à améliorer le rendement et la protection des cultures (**Silva et al., 2019**).

Malgré les avantages des pesticides et des engrais sur les rendements des cultures et leur importance dans l'économie, l'utilisation intensive et généralisée des pesticides soulève de graves préoccupations environnementales et sanitaires. Dans ces circonstances, l'application de microorganismes en agriculture pour la production de cultures et la protection écologique est une technique émergente en agrotechnologie. Avec les développements récents des utilisations technologiques microbiennes, la dépendance à leurs produits dérivés augmente énormément (**Ali and Vidhale, 2013**).

On s'intéresse de plus en plus à l'amélioration de la compréhension des interactions entre les plantes et les populations microbiennes de la rhizosphère. Par conséquent, il y a un besoin urgent d'agents biologiques en tant qu'alternative pour contrôler les maladies des plantes. Ces agents sont plus durables, peu coûteux et sûrs pour l'environnement (**Glick, 2015**).

Il a été rapporté que les microorganismes étaient plus abondants dans le sol entourant les racines (la rhizosphère) que dans le sol éloigné des racines. Les principales influences des microorganismes rhizosphériques sur les plantes deviennent maintenant un outil important pour préserver la santé des plantes par le biais d'une approche écologique. Des études ont clairement démontré que bon nombre de ces bactéries peuvent avoir une action positive sur le développement des végétaux (**Liu et al., 2017**).

Parmi les microorganismes rhizosphériques, les rhizobactéries améliorant le développement des végétaux (PGPR), elles peuvent affecter la croissance des plantes par le biais de mécanismes directs et indirects. Les mécanismes directs comprennent la solubilisation des éléments nutritifs des plantes, comme le fer et le phosphore, la conversion de l'azote atmosphérique en forme assimilable et la sécrétion de diverses phytohormones comme l'auxine, les cytokines ou l'éthylène. Les mécanismes indirects impliquent, par exemple, la capacité du PGPR à réduire les effets délétères des phytopathogènes en produisant des antibiotiques, des enzymes lytiques et des siderophores, ou en renforçant la réponse de défense des plantes en déclenchant une résistance systémique induite (**Alibrandi et al., 2021**). Ainsi, on peut dire qu'il y a une pléthore de mécanismes qui peuvent être explorés pour développer diverses souches de PGPR comme outils écologiques

efficaces pour implémenter des méthodes culturales durables dans toutes les régions du monde (**Singh and Lal, 2016**).

Les actinomycètes constituent une source riche de produits naturels bioactifs, avec des activités biologiques. Ils sont largement utilisés dans les domaines pharmaceutiques et agrochimiques. Ces bactéries abondantes dans la rhizosphère, produisent environ 75% des antibiotiques à la fois commercialement et médicalement utiles et environ 60% des antibiotiques conçus pour un usage agricole (**Yilmaz et al., 2008**). Ils comprennent un grand groupe varié de bactéries Gram-positives, aérobies et mycéliennes, qui jouent un rôle écologique crucial dans le cycle du sol. En raison de leur rôle dans l'amélioration du développement des plantes hôtes, du déclenchement de la résistance des plantes aux maladies, de la production d'enzymes lytiques les actinomycètes rhizosphériques sont devenues une nouvelle ressource biologique favorable (**Song et al., 2020**).

Les espèces *Streptomyces* étant les producteurs d'enzymes les plus connus. La production de chitinase par les isolats de streptomycètes pourrait être un mécanisme de biocontrôle des champignons phytopathogènes, car la paroi cellulaire des champignons est constituée de polysaccharides, tels que la chitine et le glucane (**Arora et al. 2020**).

En outre, les résultats de la recherche de nouveaux microorganismes vivant dans le sol ont continuellement diminué. L'une des stratégies de recherche adoptées pour obtenir de potentiels agents de lutte biologique est l'exploration d'écosystèmes particuliers et extrêmes très peu exploités tels que les sols rhizosphériques des plantes sahariennes pour isoler des espèces rares d'actinomycètes productrices de nouvelles molécules. Les sols sahariens algériens sont exposés à un climat aride et représentent des écosystèmes particuliers. Des études antérieures ont montré l'abondance et la diversité des actinomycètes dans ces sols (**Zitouni et al., 2005**).

Pour toutes ces raisons, notre hypothèse de recherche consiste en l'isolement et le screening des actinomycètes non rhizosphériques et provenant de la rhizosphère de plantes médicinales et sahariennes, dotées d'activités antimicrobiennes et promotrice de la croissance des plantes (auxine, siderophores, etc.). Ceci a pour but de sélectionner les candidats les plus prometteurs en vue de leur emploi en tant qu'agent dans la lutte biologique.

Pour cela nous nous sommes fixés comme objectifs à atteindre :

- L'isolement des d'actinomycètes de divers sols rhisosphériques et non rhizosphériques ;
- Le criblage des souches antagonistes contre des bactéries et des champignons phytopathogènes et mise en évidence de quelques caractéristiques PGP ;
- L'identification physiologique, morphologique, biochimique et phylogénétique des isolats sélectionnés ;
- La réalisation du test d'antagonisme *in planta* des isolats sectionnés contre *S. scabies* sur les plantules de radis.

Le présent travail est présenté sous forme de trois parties bien distinctes :

- La première partie est réservée à une revue bibliographique en relation avec le thème abordé. Elle comporte trois chapitres, à savoir : les agents phytopathogènes, les actinomycètes, et la lutte biologique et amélioration des plantes.
- Le matériel biologique et la méthodologie utilisée sont exposés en détail dans la partie matériel et méthodes.
- La troisième partie aborde les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

## 1 Historique de la phytopathologie

Les maladies des végétaux font partie des premières traces écrites de l'humanité. Depuis bien longtemps, l'homme tente à connaître les sources de pathologie des plantes cultivées pour pouvoir mieux les éviter ou les affronter. En effet, ces maladies sont à la base de pertes de rendement qui conduisent à des pertes au niveau économique, et même à des famines (**Campbell, 1987**). En 1844, le cas le plus connu est celui de l'apparition de *Phytophthora infestans* en Europe, un agent causant du mildiou de la pomme de terre, suivi de la famine de 1845 à 1852 en Irlande, qui a causé la mort d'un million de personnes et provoqué l'émigration d'Irlandais vers d'autres continents (**Semal, 1995**).

La mycologie et la phytopathologie ont considérablement évolué depuis 1700, avec de faibles évolutions vers une théorie du germe, bien que ces progrès n'aient pas été largement connus ou appréciés (**Egerton, 2012**). En 1665, Hooke a exposé la première observation au microscope d'un champignon phytopathogène. En 1807 seulement, Prévost a clairement démontré que la carie des céréales était causée par champignons, ce qui a jeté les bases de la phytopathologie contemporaine. Cependant, l'Académie des sciences de Paris a rejeté ses conclusions, et il fallut encore 60 ans pour que le concept de maladies végétales causées par des champignons soit largement accepté (**Prévost, 1807**).

## 2 Maladies des plantes

La pathologie végétale se définit comme un ensemble d'études sur les maladies des plantes pendant leur développement, mais également sur les changements des produits végétaux après leur collecte. Le terme "maladie" désigne une détérioration de la structure ou du fonctionnement des cellules végétales causée par un facteur d'irritation (**Attab, 2014**). Les maladies des plantes sont susceptibles de diminuer la valeur de toutes les espèces sur le plan économique, esthétique et biologique. Elles se divisent en deux grands groupes : les maladies abiotiques causées par des agents physicochimiques non infectieux et les maladies biotiques engendrées par des agents infectieux (**Tableau 1**)

**Tableau 1:** Facteurs responsables de l'apparition de maladies chez les plantes (**Lepoivre et al., 2003**)

<b>Agents non infectieux</b>	
<b>Climat</b>	Froid, chaleur, sécheresse, précipitations excessives, grêle, orages, tempête
<b>Source nutritional</b>	Absence d'équilibre, acidité, teneur en sel, toxines naturelles
<b>Source de pollution</b>	Atmosphère (SO <sub>2</sub> , F, etc.), sols, eaux (nitrate, pesticides), les fumées industrielles
<b>Agents infectieux</b>	
<b>Molécules</b>	Virus, viroïdes
<b>Les organismes multicellulaires</b>	Bactéries, champignons, phytoplasmes, protozoaires, phanérogames

## 2.1 Maladies biotiques

### 2.1.1 Bactéries impliquées dans la pathologie végétale

Il existe plus de 7100 espèces d'agents pathogènes des plantes, qui comprennent des nématodes, des champignons, des insectes, des bactéries et des virus. Environ 150 de ces espèces bactériennes infectent les plantes en les rendant malades (**Aguilar-Marcelino et al., 2020**). Les maladies bactériennes des plantes sont plus fréquentes et plus graves dans les zones tropicales et subtropicales, où le type de climat chaud et humide est particulièrement adapté au développement bactérien. Les agents pathogènes bactériens provoquent les maladies des plantes principalement en se procurant des nutriments d'une ou plusieurs plantes hôtes pour leur propre croissance. Ils utilisent des mécanismes spécifiques pour sécréter des protéines et d'autres molécules à des endroits sur, dans et près de leurs hôtes, et en exploitant ces protéines et autres molécules pour moduler ou éviter les mécanismes de défense des plantes afin de permettre la pénétration parasitaire (**Kannan et al., 2015**). Les agents phytopathogènes les plus nuisibles appartiennent à des genres tels que *Pectobacterium*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Ralstonia*, *Erwinia*, *Clavibacter*, *Xylella*, *Burkholderia*, *Spiroplasma*, *Pantoea*, *Phytoplasma*, *Acidovorax* et *Xanthomonas* (**Tableau 2**) (**Sharma et al., 2023**).

**Tableau 2:** Bactéries phytopathogènes et leur gamme d'hôtes

<b>Agent pathogène bactérien</b>	<b>Hôte</b>	<b>Maladie</b>	<b>Référence</b>
<i>Erwinia</i> sp.	Poirier, Pommier	Feu bactérien	<b>(Laforest et al., 2019)</b>
<i>Pseudomonas</i> sp.	Champignons, Poireau	Tache brune, brûlure bactérienne	<b>(Rombouts et al., 2016)</b>
<i>Ralstonia</i> sp.	Tomate	Flétrissement bactérien	<b>(Fujiwara et al., 2012)</b>
<i>Xylella</i> sp.	Vignes	La maladie de Pierce	<b>(Aldrich et al., 2015)</b>
<i>Pectobacterium</i> sp.	Pomme de terre, laitue	Pourriture molle	<b>(de Haan et al., 2008; Lim et al., 2016)</b>
<i>Streptomyces</i> sp.	radis, pomme de terre	Gale commune	<b>(Goyer, 2005; Natsume et al., 2017)</b>

Les maladies bactériennes des plantes sont généralement caractérisées par des symptômes morphologiques des plantes tels que des taches sur les feuilles et les fruits, des chancres, des brûlures, des flétrissements vasculaires, des pourritures et des tumeurs **(Upadhyay and Devi, 2019)**. La pathogénicité microbienne a souvent été définie comme les mécanismes biochimiques par lesquels les microorganismes pathogènes provoquent des maladies dans un organisme hôte **(Kannan et al., 2015)**

Les maladies bactériennes ont généralement une importance économique moindre que les maladies fongiques et virales, mais leur impact économique peut être important **(Beattie, 2006; Rodrigues and Nosanchuk, 2020)**. De nombreuses maladies bactériennes entraînent des pertes directes de récoltes. Par exemple, la brûlure des gaines du riz, causée par *Xanthomonas oryzae*, réduit la croissance, la maturation et la qualité des grains, avec des pertes de rendement pouvant atteindre 30% en Asie du Sud-Est **(Syed-Ab-Rahman et al., 2020)**.

En plus, la brûlure bactérienne, causée par *Erwinia amylovora*, peut tuer des poiriers et des pommiers entiers si elle n'est pas contrôlée. De même, les pourritures molles peuvent causer des pertes considérables de légumes dans les champs, en transit et pendant le stockage **(Beattie, 2006; Chen et al., 2019)**. Certaines maladies bactériennes diminuent la qualité des cultures, mais pas nécessairement leur rendement exemple, la gale de la pomme de terre (*Streptomyces scabies*) et la tache brune bactérienne du haricot (*Pseudomonas syringae* pv.

*syringae*), qui causent des lésions visibles et diminuent ainsi la qualité marchande des produits (Aouar, 2012).

Les bactéries qui provoquent la mort des cellules végétales, ou nécrose, sont souvent appelées nécrogènes. Les nécroses induites par les bactéries peuvent rester localisées ou se propager dans la plante, devenant ainsi systémiques (Beattie, 2006). La présence d'un halo de chlorose, ou jaunissement, autour d'une tache est souvent causée par la diffusion d'une toxine ; ces phytotoxines sont produites principalement par des *Pseudomonas syringae* (Pretorius et al., 2022), tels que la coronatine ou la syringomycine (Sobiczewski and Iakimova, 2022). Les bactéries phytopathogènes induisent également d'autres types de maladies nécrotiques. *Erwinia amylovora* a été la première espèce bactérienne à être identifiée comme phytopathogène (Beattie, 2006; Kraepiel and Barny, 2016).

Les symptômes de feu bactérien de cette bactérie évoluent souvent de l'imbibition d'eau au flétrissement et au noircissement des tissus, avec des symptômes caractéristiques de fleurs noires ratatinées et de rameaux noircis avec des feuilles pendantes. Une autre maladie nécrotique, la gale commune de la pomme de terre causé par *S. scabies*. Le pathogène pénètre par des ouvertures ou des blessures naturelles dans les parties souterraines des plantes, se développe dans les espaces intercellulaires et produit des couches de cellules liégeuses qui donnent l'apparence de lésions semblables à celles de la gale (Beattie, 2006). En général, ce type de pathogène empêche le développement des jeunes pousses de monocotylédones et de dicotylédones. La classification des Streptomycètes phytopathogènes a révélé une large variété génétique dans ce genre. Une des caractéristiques courantes de ces bactéries est leur pouvoir de produire des phytotoxines, nommées thaxtomines (Bignell et al., 2014).

### 2.1.2 Champignons impliqués dans la pathologie végétale

Les agroécosystèmes ont montré des capacités de production croissantes, qui peuvent être majoritairement attribuées à la mécanisation et l'intensification de l'agriculture. Cependant, cette évolution a entraîné des effets indésirables sur l'environnement, notamment la détérioration du sol et des ressources en eau et l'influence sur les cycles biogéochimiques (Pereyra and Creus, 2017). À cet égard, diverses espèces fongiques provoquent des maladies en affectant toutes les parties de la plantes, notamment *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani*, qui sont considérées comme les principales causes des maladies de flétrissement des plantes (Sudiana et al., 2020).

Le *F. oxysporum*, est un pathogène ubiquitaire du sol qui provoque un flétrissement vasculaire chez plus de 100 espèces de plantes et occupe la 5ème position parmi les 10 principaux pathogènes fongiques des plantes (**Husaini et al., 2018**). Par rapport à d'autres *Fusarium* spp, les isolats de *F. oxysporum* présentent un degré élevé de spécificité d'hôte. Ce dernier pénètre initialement dans les racines de manière asymptomatique. Par la suite, il pénètre dans les tissus vasculaires et déclenche une nécrose et une chlorose des parties aériennes de la plante, les brûlures, les pourritures et les chancres. Ces symptômes apparaissent sur de nombreuses cultures horticoles, de plein champ, ornementales et forestières, à la fois dans les écosystèmes agricoles et naturels (**Ma et al., 2013**).

Les *Fusarium* produisent également un large éventail de métabolites secondaires toxiques (mycotoxines), tels que les trichothécènes et les fumonisines, qui peuvent contaminer les produits agricoles et les rendre impropres à l'alimentation humaine ou animale (**Woloshuk and Shim, 2013**). En revanche, *Fusarium graminearum* est la plus grande cause de la brûlure de l'épi des céréales. Il infecte les tissus des fleurs pendant l'anthèse et se propage dans les fleurs non infectées à travers l'axe central de l'inflorescence, endommageant finalement les grains et en les contaminants par des toxines (**Ma et al., 2013**). La spécificité de l'hôte varie selon les espèces de *Fusarium*. *Fusarium verticillioides* provoque la pourriture de l'épi principalement chez le maïs, mais il peut infecter de nombreuses autres plantes (**Yao et al., 2020**).

*F. solani* est la deuxième espèce la plus fréquemment associée à cette maladie à la Réunion, Madagascar et en Indonésie. En Indonésie, les isolats de *F. solani* ont été incapables d'infecter les boutures de tige de *Vanilla planifolia*, contrairement à tous les isolats de *F. oxysporum* testés. Par conséquent, *F. solani* est beaucoup moins nocif que *F. oxysporum* (**Koyyappurath et al., 2016**).

*Alternaria* spp. est un autre agent commun impliqué dans les maladies des plantes telles que la brûlure des feuilles, qui attaque une variété de cultures conduisant à une réduction de leur qualité marchande (**Wang et al., 2020**). Ce genre regroupe la plupart des espèces dont les spores sont petites et les conidies concaténées. Environ 60 espèces morphologiques peuvent être assignées à cette section, y compris *Alternaria alternata* qui est responsable de taches foliaires et d'autres maladies chez plus de 100 espèces de plantes hôtes, mais également de maladies post-récolte dans différentes cultures (**Woudenberg et al., 2015**). Ce dernier genre est un champignon filamenteux ubiquitaire, couramment isolé des végétaux, des sols, des aliments en état de putréfactions ainsi que de l'air ambiant (**Schiro et al., 2018**).

Par ailleurs, d'autres membres du genre, tels que *Alternaria citri*, *Alternaria solani*, *Alternaria longipes* et *Alternaria tenuissima* sont aussi responsables de générer des toxines chez leurs hôtes. Plusieurs de ces métabolites peuvent s'accumuler dans les aliments d'origine végétale sous certaines conditions environnementales et être nuisibles pour les humains et les animaux (**Barkai-Golan, 2008**). Ces champignons sont considérés comme des polluants biologiques car ils produisent dans l'organisme des allergènes et des antigènes susceptibles de déclencher une réponse immunitaire de type immunoglobuline (E ou IgE) (**Zabouri, 2021**).

D'autre part, *Botrytis cinerea* est l'un des agents phytopathogènes très répandus, il provoque une maladie de la pourriture grise qui affecte de nombreuses cultures (**De Angelis et al., 2022**). Un agent pathogène très efficace en raison de ses stratégies d'infection adaptables, de sa forte capacité de reproduction, de sa large gamme d'hôtes et de sa capacité à subsister pendant de longues périodes sous forme de conidies et/ou de petites masses de mycélium durci appelées sclérotés (**Williamson et al., 2007**). Ce pathogène affecte une variété de cultures agricoles importantes, principalement pendant et après la récolte des fruits et des légumes. Selon les estimations, *B. cinerea* réduit la production mondiale de 10 à 100 milliards de dollars par an. Il a été placé en deuxième position sur une liste d'infections fongiques d'importance scientifique et commerciale en raison de sa nature extrêmement destructrice (**Weiberg et al., 2013**).

Plus de 8% du marché mondial des fongicides sont utilisés pour lutter contre cette infection. En outre, l'utilisation de fongicides est préjudiciable à la santé et l'environnement. *B. cinerea* a développé une résistance à plusieurs fongicides courants, notamment les dicarboximides et les benzimidazoles. Il est essentiel d'explorer de nouveaux agents antifongiques, qui peuvent remplacer les stratégies de contrôle actuelles afin de lutter contre la multi-résistance des infections fongiques aux produits existants (**De Angelis et al., 2022**).

Les espèces d'*Aspergillus* peuvent être trouvées dans divers habitats et sont très pertinentes pour la recherche fondamentale, appliquée et médicale (**Vesth et al., 2018**). Certains champignons *Aspergillus* sont largement utilisés dans la fermentation des aliments et dans la fabrication industrielle des enzymes, d'acides organiques et de substances bioactives. Ils sont des producteurs très efficaces d'une variété d'enzymes extracellulaires et sont utilisés commercialement pour la synthèse d'enzymes qui décomposent les polysaccharides complexes, y compris les cellulases, les pectinases et les amylases (**Ma et al., 2021**). Ce genre est aussi à l'origine de maladies post-récolte sur les cultures, altérant les caractéristiques et la valeur nutritionnelle des produits (**Rios-Muñiz and Evangelista-Martínez, 2022**).

Les *Aspergillus* colonisent les plantes déjà endommagées par des blessures, des morsures d'insectes ou des agressions d'autres champignons, de même qu'ils se retrouvent à la surface des céréales dans des conditions de stockage défavorables. De nombreuses espèces de ce genre sont susceptibles de sécréter des mycotoxines (**Scheidegger and Payne, 2003**). Seules la patuline, ochratoxines et aflatoxines sont des mycotoxines sécrétées par ce genre fongique. Ces mycotoxines ont été découvertes pour la première fois chez *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus clavatus*, respectivement (**Smith and Moss, 1985**).

La consommation de produits alimentaires contaminés par *A. flavus* peut exposer l'homme et l'animal à l'aflatoxine. La plupart des aliments peuvent être colonisés par le champignon au cours de leur stockage, mais en raison de son pouvoir pathogène, *A. flavus* peut également infecter les cultures, notamment le maïs, les arachides, le coton et les fruits à coque, bien avant la récolte (**Scheidegger and Payne, 2003**).

## 1 Généralités sur les actinomycètes (actinobactéries)

Les microorganismes sont la principale population colonisatrice de la terre. Ils présentent une diversité physiologique et fonctionnelle intrinsèque et trouvent d'énormes applications en médecine, en agriculture, dans l'industrie et dans l'environnement. Parmi ces microorganismes, les actinomycètes sont les cellules procaryotes les plus intéressantes sur le plan économique et biotechnologique (**Masand and Menghani, 2015**). Ils sont filamenteux et appartiennent à la classe *Actinobacteria* et représentent une partie significative de la biodiversité des sols. ils peuvent produire une variété d'antibiotiques, et d'enzymes extracellulaires. Ces derniers sont utilisés comme agents pour améliorer le développement et la protection des plantes contre les maladies (**Doumbou et al., 2001**).

Environ 10 000 métabolites bioactifs sont générés par les actinomycètes, ce qui représentent 45% de l'ensemble des substances bioactives découvertes dans les bactéries. Bien que leur utilisation soit variée, certaines actinomycètes ont leurs propres effets négatifs sur les plantes, les animaux et les humains (**Anandan et al., 2016**). Ce sont des bactéries à Gram positif, sporulées, saprophytes, filamenteuses, largement dispersées dans l'eau, sol et colonisant les végétaux. Elles ont un rôle écologique majeur dans le cycle des éléments nutritifs du sol (**Anandan et al., 2016; Nonomura, 1989; Oskay et al., 2004**). L'odeur terreuse du sol, lors de la descente de la pluie, est due aux actinomycètes. Cette odeur est due à un composé organique appelé la géosmine (**Oluwatosin et al., 2021**).

La majorité des actinomycètes ont une morphologie extrêmement variée, allant des formes peu développées comme les mycobactéries à des structures très développées tels que "*Streptomyces*" (**Smaoui, 2010**).

Le génome des *Streptomyces* se caractérise par un G+C% élevée généralement compris entre 60 et 80% (**Wright and Bibb, 1992**). Les actinomycètes ont souvent été confondus avec des moisissures parce qu'ils sont adaptés à la vie sur des surfaces solides et comme la plupart des champignons, peuvent produire des spores et du mycélium (**Reponen et al., 1998**). Par conséquent, leurs parois cellulaires contiennent des composants cellulaires, tels que les peptidoglycanes, les acides gras, les lipides polaire, les cytochromes et les quinones isoprénoïdes, qui permettent de confirmer la classification des actinomycètes dans la catégorie des bactéries (**Stackebrandt et al., 1997**).

Les hydrolysats du peptidoglycane de la paroi cellulaire de *Streptacidiphilus* contiennent de l'acide LL-diaminopimélique (LL-DAP), une caractéristique également

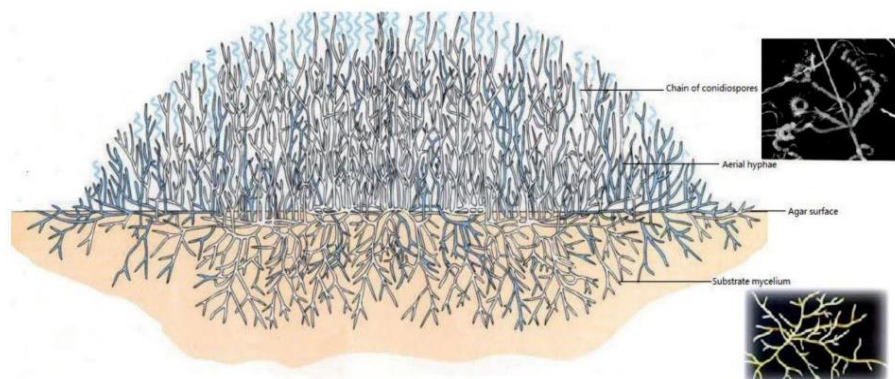
observée chez *Streptomyces*. Le peptidoglycane de la paroi cellulaire de *Kitasatospora*, par contre, contient soit du LL-DAP, soit du méso-DAP dans différentes parties des structures mycéliennes (**Huang et al., 2004; Malik et al., 2020**).

En général, les actinomycètes sont une grande source de nouveaux antibiotiques, mais la majorité de ces composés microbiens, tels que le cycloheximide (**Lyons and Pridham, 1966**), les avermectines (**Burg et al., 1979**), l'hygromycine (**Habib et al., 2003**), et beaucoup d'autres ayant des implications biologiques connues, ont été dérivés de la famille des *Streptomycetaceae*, en particulier de *Streptomyces*. De même, le genre *Kitasatospora* a également été le producteur de plusieurs métabolites secondaires importants, tels que la setamycine, la phosalacine et les antibiotiques endophénasides qui sont principalement actifs contre les organismes eucaryotes. Les représentants des *Streptomycetaceae* sont également considérés comme des organismes clés dans le recyclage du carbone en raison de leur potentiel de dégradation des biopolymères (**Malik et al., 2020**).

## 2 Caractéristiques des actinomycètes (actinobactéries)

### 2.1 Morphologie des actinomycètes

L'étude morphologique des actinomycètes est très diversifiée. Ils varient d'une structure simple coccoïde ou bacillaire jusqu'aux formes mycéliennes complexes (**Gao and Gupta, 2012**). Les informations sur la morphologie mycélienne sont généralement obtenues par observation visuelle (**Tamura et al., 1997**). Les actinomycètes ont deux types de croissance mycélienne : le mycélium de substrat et le mycélium aérien qui donne naissance à des spores extrêmement variées par une simple fragmentation d'un filament (**Kalakoutskii and Agre, 1976; Solanki and Kothari, 2011**). La principale fonction du mycelium de substrat est l'absorption de substances nutritives pour le développement des actinomycètes (**Figure 1**) (**Li et al., 2016**).



**Figure 1:** Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes présentant le mycélium aérien avec une chaîne de conidiospores et le mycélium de substrat (Li *et al.*, 2016).

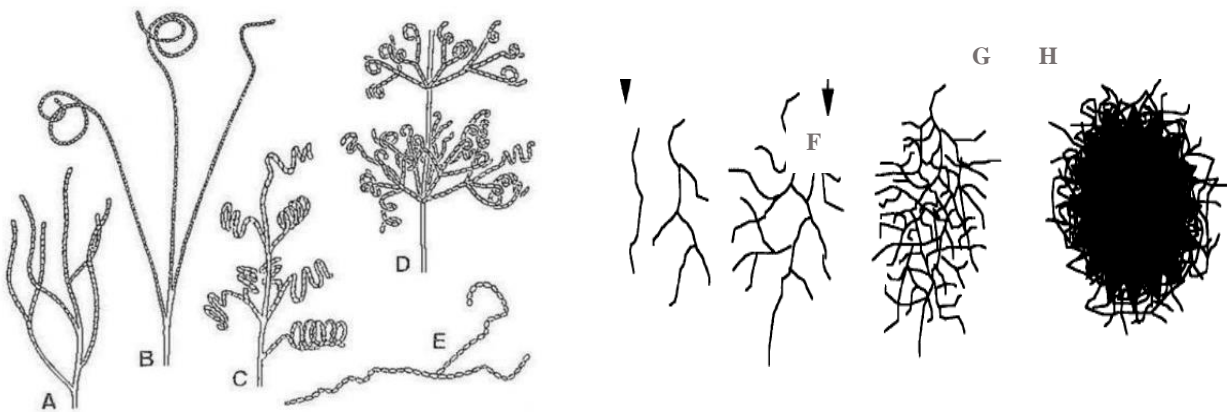
Un isolat d'actinomycètes développe un mycélium primaire submergé lorsqu'il est inoculé dans un bouillon. Ce stade primaire est microaérophile et se décompose normalement en 5 à 7 jours. Les filaments ont un diamètre de 0,2 à 0,6  $\mu\text{m}$ . Un mycélium secondaire se développe ensuite, d'abord sous la forme d'une pellicule superficielle qui change de couleur (généralement une nuance de gris ou de beige) avec l'âge. Ce mycélium secondaire est stable, sporulatif, aérobie et produit des odeurs. Les filaments et les spores ont un diamètre de 0,6 à 1,5  $\mu\text{m}$ . Sur milieu gélosé, les deux mycéliums sont difficiles à distinguer, car ils apparaissent comme une seule masse. Dans le cas de *Micromonospora*, le mycélium secondaire reste plat et produit des spores pyriformes isolées ou en grappes à partir de tiges latérales minces et courtes (sporophores). Dans le cas de *Streptomyces*, les sporophores sont verticaux et s'enroulent en chaîne pour ressembler aux conidiospores d'un ascomycète (Silvey *et al.*, 1975; Kitouni, 2007).

En milieu liquide et en l'absence d'agitation, les hyphes constituées après la formation des spores émergent à la surface pour se développer en contact avec le milieu aérien (Keulen *et al.*, 2003). Par contre, en culture liquide sous agitation, aucune création de mycélium secondaire ou de spores apparaissent. Les *Streptomyces* produisent ainsi des filaments indépendants, qui se divisent et s'intègrent pour former des pelotes. Cette morphologie peut limiter le transfert des nutriments du milieu de culture et/ou d'oxygène aux cellules existant à l'intérieur de la pelote (Papagianni, 2004).

Selon **Amanullah et al. (2000)**, les *Streptomyces* possèdent trois types de morphologie différents (**Figure 2**) :

- les hyphes, ramifiés ou non, en forme de mycélium dispersé.
- un mycélium se double au niveau de leurs bords formant ainsi une masse emmêlée appelée : enchevêtrements.
- des pelotes denses (0,1  $\mu\text{m}$  à quelques mm)

Selon les genres, les spores peuvent être présentes séparément (*Micromonospora*), deux à deux de façon longitudinale (*Microbispora*), en chaînes courtes (*Actinomadura*), en longues chaînes (*Streptomyces*). Les chaînes de spores peuvent être ramifiées, droites, spirales ou flexueuses de spores à surface lisse (**Figure 2**) (**Aouar, 2012 ; Malik et al., 2020**)



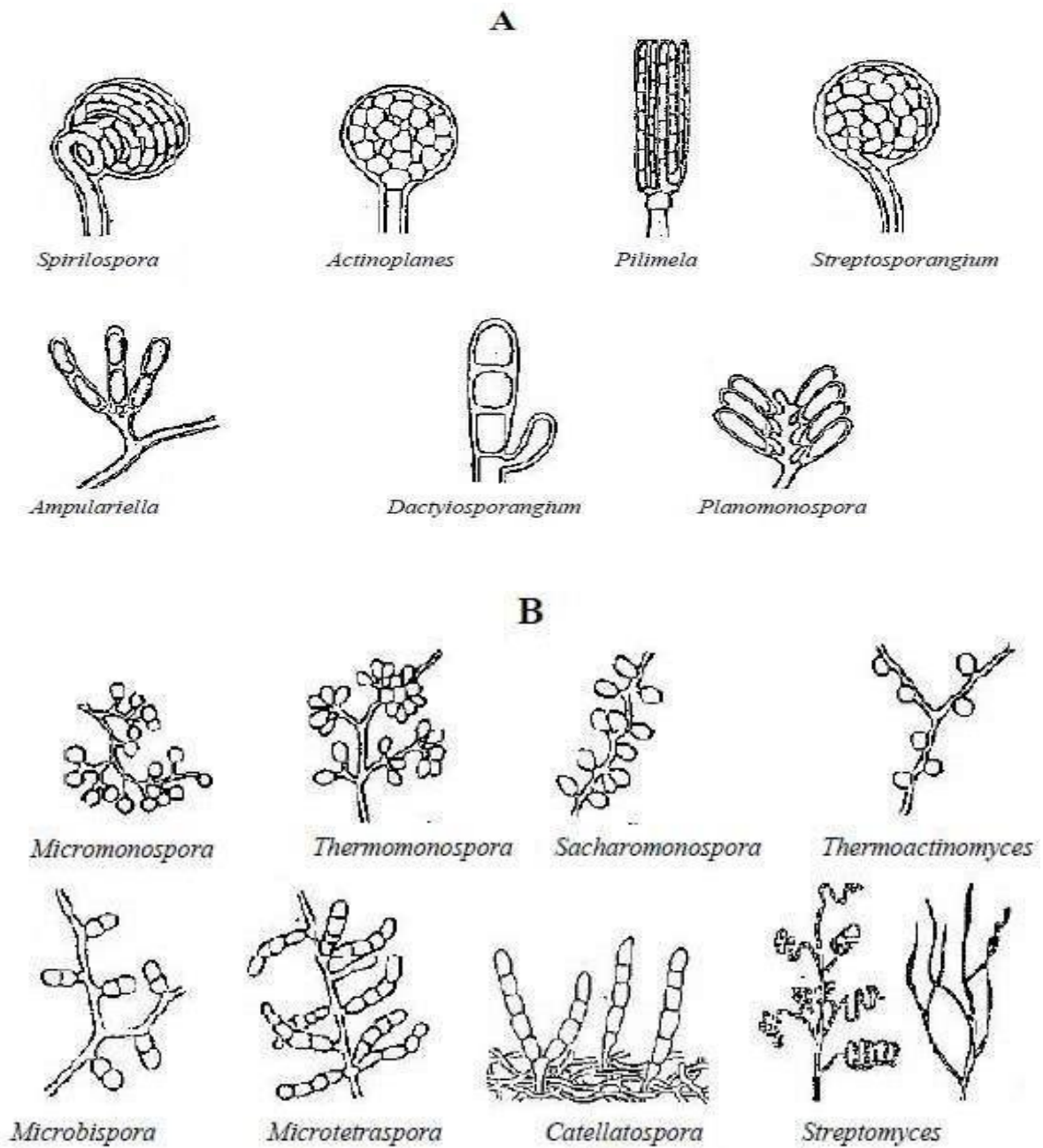
**Figure 2:** Production de spores en longues chaînes de *Streptomyces* : A) type Rectiflexibles ; B) type Retinaculum ; C) type Spira ; D) type Verticillat ; E) hyphes aériennes ramifiées et fragmentées (*Nocardiosis*) (**Li et al., 2016**). F, G et H morphologies des *Streptomyces* cultivés en milieu liquide : F) Mycélium libre ; G) enchevêtrements (dispersé) ; H) pelote (**Cox et al., 1998**).

La germination des spores de *Streptomyces*, considérée comme la morphogenèse d'une structure en un organisme végétatif, est accompagnée de changements morphologiques séquentiels dans les spores. Chez *Streptomyces antibioticus*, trois étapes différentes ont été décrites: l'assombrissement de la phase, le gonflement dépend d'une source de carbone exogène et est marqué par une activité métabolique avec biosynthétique accrue et l'émergence du tube germinatif est le dernier événement, qui nécessite la disponibilité d'une source d'azote et de carbone.

Une hyphe aérienne brise la tension de surface, s'échappe de l'environnement aqueux du mycélium végétatif, et se développe dans l'air. Cette hyphe aérienne se divise, par une forme

de division cellulaire contrôlée par le développement, en longues chaînes de compartiments de préspores, qui développent ensuite des parois épaisses de spores, synthétisent un pigment de spore et acquièrent les autres caractéristiques des spores matures. Par rapport aux endospores formées par les espèces de *Bacillus*, les spores de *Streptomyces* sont beaucoup moins résistantes aux conditions défavorables, bien qu'elles puissent survivre pendant de longues périodes dans un état desséché. Il semble donc que les spores de *Streptomyces*, largement dormantes, soient bien adaptées à la dispersion de l'organisme dans l'environnement (**Flärdh and Buttner, 2009**).

Les actinomycètes produisant des spores uniques sur des hyphes aériens ont été classés dans les genres *Thermoactinomyces*, *Thermomonospora* et *Saccharomonospora*. Ces genres se distinguent par la formation de véritables endospores bactériennes par les espèces de *Thermoactinomyces* et par la présence d'arabinose et de galactose dans les hydrolysats cellulaires des souches de *Saccharomonospora*. Ainsi, le genre *Thermomonospora* (type exogènes) comprend les actinomycètes qui forment des spores uniques thermosensibles (aleuriospores) sur les hyphes aériennes uniquement, ou sur les hyphes aériennes et de substrat, avec des parois contenant de l'acide méso-diaminopimélique mais pas de sucres caractéristiques (**Figure 3**) (**McCarthy and Cross, 1984**).



**Figure 3:** Chaînes de spores: A) type endogènes ; B) type exogènes (Aouar *et al.*, 2012)

## 2.2 Physiologie et écologie

Les actinomycètes sont abondants dans les sols terrestres, source de la majorité des isolats qui produisent un certain nombre de composés bioactifs (**Dhanasekaran et al., 2009**). Le rôle de la production d'antibiotiques par ces bactéries dans le contrôle des phytopathogènes est connu depuis longtemps (**Bouizgarne et al., 2009**). Certains sont capables d'améliorer la croissance des végétaux et sont ainsi très intéressants pour le secteur agricole (**Welbaum et al., 2004; Wahyudi et al., 2019**).

Les streptomycètes jouent un rôle clé dans l'écologie du sol en raison de leur capacité à récupérer les nutriments et, en particulier, à hydrolyser un large éventail de polysaccharides (cellulose, chitine, xylane et agar) et d'autres macromolécules naturelles (**Barka et al., 2016**). A propos des besoins en nutriments, les actinomycètes sont généralement des chimioautotrophes, qui utilisent l'anhydride carbonique comme source de carbone et des substances chimiques inorganiques comme source d'énergie. Mais nombreuses espèces sont également capables d'être chimoorganotrophes, qui exploitent les différents polymères comme sources d'énergie (**Mariat and Sebald, 1990**). Leur existence est influencée par plusieurs critères physiologiques (facteurs environnementaux) qui sont liés d'une part, aux caractéristiques physicochimiques (oxygène, pH) et d'autre part, à l'environnement (température) (**Stackebrandt and Schumann, 2006**).

Ils possèdent une forte capacité à s'adapter aux facteurs environnementaux, ce qui permet leur présence dans le pétrole brut, les glaciers polaires, les sols chauds et secs, les sols fortement pollués par des métaux lourds, les sols alcalins, et les lacs extrêmement alcalins. Cependant, il semble être absent dans les eaux minières (**Boughachiche and Boulahrouf, 2012**). En effet, les actinomycètes acidophiles, qui partagent des propriétés chimiotaxonomiques et morphologiques clés avec les streptomycètes neutrophiles, ont reçu peu d'attention, bien qu'on sache qu'ils sont des espèces très intéressantes (**Xu et al., 2006**).

Les actinomycètes participent à la décomposition de la biomasse fongique dans les litières et les sols acides (**Williams and Robinson, 1981**) et produisent des antibiotiques antifongiques (**Williams and Khan, 1974**) et des enzymes stables en milieu acide (**Williams and Flowers, 1978; Williams and Robinson, 1981**).

### 3 Certaines applications des actinomycètes

Les colorants synthétiques présentent certaines limites, comme l'usage de composants chimiques nocifs lors de leur fabrication, la sécurité des travailleurs et la formation de résidus toxiques (de Gerlache and Isnard, 2012), ce qui explique l'intérêt des pigments à base de microorganismes (Usman *et al.*, 2017). Les actinomycètes se distinguent par la formation de différents pigments sur les milieux synthétiques ou naturels et sont considérés comme une caractéristique importante pour décrire les organismes (Harir *et al.*, 2018). Ces pigments se présentent généralement sous différentes couleurs : vert, noir, rouge, bleu, rose, violet, brun et jaune dans le milieu ou être retenus dans les hyphes. Les pigments fabriqués de *Streptomyces* peuvent être liés à certaines structures cellulaires (des endopigments) ou sécrétés dans le milieu ambiant (des exopigments). Les différents antibiotiques fabriqués par les actinomycètes sont parfois considérés comme des pigments (Anandan *et al.*, 2016).

La formation des pigments est affectée notamment par la température, l'aération, les sources de carbone et d'azote et le pH du milieu (Amal *et al.*, 2011; Gmoser *et al.*, 2018). Leur formation est généralement associée aux mécanismes de défense et à la protection contre les ultraviolets (Solano, 2014). Ces bactéries ont la capacité de produire et de sécréter des pigments sombres, mélanoïde ou mélanine, qui est un critère essentiel pour la réalisation d'études taxonomiques (Manivasagan *et al.*, 2013; Abou-Dobara *et al.*, 2019). Le Tableau 3 présente les différents pigments de différentes actinomycètes.

**Tableau 3:** Pigments des actinomycètes (Anandan *et al.*, 2016)

Pigment	Actinomycètes	Classer
<b>Granaticin</b>	<i>Streptomyces litmocidin</i> DSM 40164	Naphthoquinone
<b>IV Metacycloprodigiosin III Undecylprodigiosin</b>	<i>Streptomyces longispororuber</i> DSM 40599	Prodigiosin
<b>Actinomycin</b>	<i>Streptomyces</i> sp.	Phenoxazinone
<b>Rhodomycin</b>	<i>Synodontis violaceus</i> DSM 40704	Anthracycline glycoside

Les hydrocarbures pétroliers sont largement utilisés dans la vie quotidienne comme produits chimiques et carburants. Ils sont devenus l'un des contaminants les plus répandus à la surface du sol et sont finalement considérés comme un grand problème environnemental (Ahmed and Fakhrudin, 2018). Plusieurs rapports indiquent que le genre *Streptomyces*

peut jouer un rôle crucial dans la décomposition des hydrocarbures (**Baoune et al., 2018**).

Une autre application intéressante des actinomycètes est l'usage de leurs composés comme herbicides servant à détruire les herbes indésirables. Les *Streptomyces saganonensis* produisent des herbimycines et herbicidines qui éliminent les herbes nuisibles pour les dicotylédones et les monocotylédones. L'anisomycine de *Streptomyces* sp. est un type d'inhibiteur naturel de croissance pour les graminées indésirables et les mauvaises herbes à larges feuilles. L'anisomycine est type d'inhibiteur de la synthèse de chlorophylle. De plus l'homoalanosine, l'hydantocidine et la phtoxazoline de *Streptomyces* sp. permettent de lutter contre diverses mauvaises herbes (**Anandan et al., 2016**).

## 1 Lutte biologique

### 1.1 Généralités sur la lutte biologique

La perte de rendement des cultures due aux champignons phytopathogènes est l'un des principaux problèmes de l'agriculture dans le monde entier (**Davari and Ezazi, 2017**). Pendant des années, les pesticides ont été considérés comme un outil de contrôle le plus performant, mais leur impact sur l'environnement constitue une limite à leur application ultérieure (**Eddaya et al., 2015**). Ces dernières années, le développement d'agents de biocontrôle à partir des populations microbiennes rhizosphériques a suscité un intérêt considérable. Par conséquent, les agents biologiques peuvent être présentés comme une solution alternative pour lutter contre la pathologie végétale. Les actinomycètes et certains autres genres bactériens tels que *Pseudomonas* et *Bacillus* ont été largement étudiés pour leur potentiel de biocontrôle (**Vurukonda et al., 2021**).

Les actinomycètes, en particulier le genre *Streptomyces*, semblent être de meilleurs candidats pour trouver de nouvelles approches de contrôle des maladies des plantes. Le secteur agro-industriel montre un intérêt notable pour les actinomycètes en tant que source de composés agroactifs de rhizobactéries stimulant la croissance des végétaux et d'outils de biocontrôle (**Sharma et al., 2014; Yandigeri, 2021**). Environ 60% des nouveaux insecticides et herbicides signalés depuis les cinq dernières années sont produits par les *Streptomyces* (**Sharma et al., 2014**). La kasugamycine est un métabolite bactéricide et fongicide découvert chez *Streptomyces kasugaensis*, qui agit comme un inhibiteur de la biosynthèse des protéines chez les microorganismes mais pas chez les mammifères (**Harir et al., 2018**).

Les polyoxines C et D ont été isolées comme métabolites de *Streptomyces cacaoi* var. *asoensis* (**Isono et al., 1967**) comme une nouvelle classe de fongicides naturels. Les polyoxines interfèrent dans la synthèse de la paroi cellulaire fongique en inhibant spécifiquement la chitine synthase (**Hasim and Coleman, 2019**). La polyoxine D est commercialisée par plusieurs sociétés pour lutter contre la brûlure de la gaine du riz causée par *Rhizoctonia solani* (**Kim and Hwang, 2007**). L'inhibition du *R. solani* dans des conditions *in vitro* a été évaluée avec le surnageant de culture de *Streptomyces* sp., ce qui a montré que les actinomycètes testés avaient la capacité de réduire la gravité de la fonte des semis sur les plants de tomates (**Anandan et al., 2016**).

De nombreuses études ont été menées durant les dernières décennies pour déterminer le rôle des actinomycètes dans la lutte contre les phytopathogènes. Le premier produit

biologique commercialisé a été obtenu à partir de *Streptomyces griseoviridis* pour lutter contre des agents phytopathogènes tels que *Fusarium*, *Botrytis*, et *Alternaria* (**Doumbou et al., 2001**). Actuellement, les recherches se sont orientées vers l'isolement d'espèces autres que les *Streptomyces*. Cela devient de plus en plus important, car les résultats de la recherche de nouveaux microorganismes vivant dans le sol ont continuellement diminué (**Matsumoto and Takahashi, 2017**).

L'une des stratégies de recherche adoptées pour obtenir de potentiels agents de lutte biologique est l'exploration d'écosystèmes particuliers et extrêmes, très peu exploités tels que les sols rhizosphériques des plantes sahariennes afin d'isoler de rares souches d'actinomycètes productrices de nouvelles molécules. Les sols sahariens algériens sont exposés à un climat aride et représentent des écosystèmes particuliers. Des études antérieures ont montré l'abondance et la diversité des actinomycètes dans ces sols (**Zitouni et al., 2005**).

## **1.2 Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique**

La stratégie de la lutte consiste notamment sur l'exploitation des relations dynamiques entre la plante et son milieu. Plusieurs approches de la lutte biologique ont ainsi été élaborées: le parasitisme, l'antibiose, l'activation de mécanismes de protection chez les plantes et la compétition.

### **1.2.1 Competition**

Entre deux ou plusieurs microorganismes, la disponibilité de nourriture, d'espace ou d'autres conditions environnementales devient un facteur limitant pour le développement (**Ghoul and Mitri, 2016**)

### **1.2.2 Parasitisme**

La rhizosphère, qui contient une grande variété de populations de bactéries, crée un environnement propice au développement du parasitisme. La communauté agricole utilise plus d'une centaine d'espèces vivantes différentes (appelées auxiliaires), dont la plupart d'entre sont des insectes parasitoïdes pour prévenir ou d'atténuer les détériorations ou les pertes provoquées par des organismes nuisibles. Le parasitisme est une interaction interspécifique dans laquelle une espèce (parasite) passe tout ou une partie de sa vie à l'intérieur des cellules et des tissus d'un autre organisme vivant (l'hôte), dont il tire l'essentiel de sa nourriture (**Wajnberg and Ris, 2007**).

### 1.2.3 Antibiose

L'antibiose est un concept en microbiologie qui décrit une relation symbiotique entre deux organismes, dans laquelle l'un produit des substances chimiques appelées antibiotiques. Ces antibiotiques ont pour rôle d'inhiber la croissance ou de tuer des micro-organismes indésirables, tandis que l'autre organisme bénéficie de cette production d'antibiotiques pour sa protection (**Bentley and Bennett, 2003**).

Les actinomycètes sont particulièrement reconnus pour leur capacité à produire une variété d'antibiotiques qui possèdent un large spectre d'activité contre de nombreuses maladies (**Waksman et al., 2010**). Des exemples d'antibiotiques produits par les actinomycètes utilisés en lutte biologique sont portés dans le **Tableau 4**.

**Tableau 4:** Elimination des maladies des plantes grâce à l'utilisation des antibiotiques produits par les actinomycètes.

Maladies	Actinomycètes	Antibiotique produit
Gale de la pomme de terre	<i>Streptomyces melanosporofaciens</i> EF-76 and FP-54	Geldanamycin
Maladie des semis de graminées	<i>Streptomyces violaceusniger</i> YCED9	Nigericine et guanidylfungine A
Pourriture des racines du pois	<i>Streptomyces hygroscopicus</i> var. <i>geldanus</i>	Geldanamycine
Maladies des racines de l'asperge	<i>Streptomyces griseus</i>	Faeriefungine
Maladie de la pyriculariose	<i>S. kasugaensis</i>	Kasugamycine
Large éventail de maladies des plantes	<i>Streptomyces griseochromogenes</i>	Blasticidine S
Brûlure de la gaine du riz	<i>Streptomyces hygroscopicus</i> var. <i>limoneus</i> No. T-7545	Validamycine
Rouille brune du blé	<i>S. hygroscopicus</i>	Gopalamycine
Brûlure phytophthoréenne du poivron	<i>S. violaceusniger</i> <i>Streptomyces humidus</i>	Tubercidine Acide phenylacetice
Fonte des semis du chou	<i>Streptomyces padanus</i>	Fungichromine
Brûlure de la gaine du riz	<i>S. cacaoi</i> var. <i>asoensis</i>	Polyoxine B et D
Maladie des racines du riz	<i>Micromonospora</i> sp. SF-1917	Dapiramicine
Tache de blé	<i>Streptomyces malaysiensis</i>	Malayamycine
Explosion de riz	<i>Micromonospora</i> sp. M39	cervinomycine A1 et A2, 2,3-dihydroxybenzoic acid, acide phenylacetice

#### 1.2.4 Inhibition du quorum sensing

Les espèces *Pectobacterium carotovorum* sont des bactéries pathogènes responsables de la macération des tissus sur diverses plantes hôtes. La pathogénicité repose essentiellement sur la formation d'enzymes qui détruisent la paroi cellulaire végétale, dont la synthèse est régulée de manière dépendante de la densité cellulaire bactérienne, un processus appelé quorum sensing (QS). Ce processus implique des molécules-sigaux clés de faible poids moléculaire appartenant à la classe des acyl homosérine lactones (AHL) (Cirou *et al.*, 2009).

Le signal de quorum-sensing est considéré comme une propriété pour développer les outils de lutte biologique contre les champignons et les bactéries phytopathogènes. Ces nouvelles méthodes de lutte ne visent pas à éliminer le pathogène, mais plutôt à ralentir sa propagation en interférant dans la signalisation du quorum sensing (Halabi, 2012). En fait, une très large gamme de substances est actuellement décrite pour exercer une influence directe sur la signalisation du quorum-sensing. Les plus connues sont les dérivées d'algues "*Delisea pulchra*" ou les furanones halogénées synthétiques (Nag *et al.*, 2022). Ces molécules visent typiquement à inhiber les protéines bactériennes impliquées dans la détection du signal (Latour *et al.*, 2008). De plus, les bactéries du sol et de la rhizosphère sont nombreuses à avoir la capacité de détruire les substances de signalisation du quorum. Ces bactéries relèvent des genres bactériens *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Chryseobacterium*, *Bacillus* (Mahmoudi *et al.*, 2011) et *Streptomyces* (Hassan *et al.*, 2016). Ces genres ont la capacité de détruire les AHL naturels fabriqués par les microorganismes phytopathogènes et synthétiques (Mahmoudi *et al.*, 2011)

## 2 Généralités sur les bactéries favorisant la croissance des végétaux

Les bactéries ne sont généralement pas réparties uniformément dans le sol. En effet, la concentration de bactéries autour des racines des plantes (c'est-à-dire dans la rhizosphère) est généralement beaucoup plus importante que dans le reste du sol. Cela est dû à la présence de nutriments, notamment des acides organiques, des acides aminés, des sucres, et d'autres petites molécules provenant des exsudats des racines des plantes (Glick, 2012; Nadeem *et al.*, 2014; Tian *et al.*, 2020).

En outre, le nombre et le type de bactéries présentes dans différents sols sont influencés par les conditions du sol, notamment la température, l'humidité, la présence de sel et d'autres produits chimiques, ainsi que par le nombre et le type de plantes présentes dans ces sols

(Etesami *et al.*, 2017). Quelque soit le nombre de cellules bactériennes contenues dans un prélèvement de sol, elles peuvent affecter les plantes selon l'une des trois manières suivantes : l'interaction entre les microorganismes du sol et les végétaux peut être bénéfique, nuisible ou neutre (Glick, 2014).

La contribution positive des PGPB s'exprime à travers une variété de mécanismes, y compris l'amélioration de la nutrition minérale. Une tolérance accrue des plantes aux stress abiotiques et biotiques est susceptible de compromettre leur croissance et la lutte contre les pathologies transmissibles par le sol (Afzal *et al.*, 2019). Les mécanismes qui influencent la croissance des plantes comprennent la solubilisation des nutriments, la conversion de l'azote atmosphérique, la production de phytohormones et des acides organiques ainsi que la protection offerte par certains microorganismes via des enzymes telles que 1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase, la chitinase et la glucanase (Ahmad and Kibret, 2014; Nadeem *et al.*, 2014). De plus, ils modulent la teneur en éthylène des plantes et le contrôle des bactéries phytopathogènes (Gamalero and Glick, 2015).

Les agents de biocontrôle et les bactéries favorisant la croissance des plantes doivent réussir à coloniser les racines des plantes afin d'exercer leurs effets bénéfiques. Les rhizobactéries forment des microcolonies ou des biofilms aux sites d'exsudation des racines. Ces microcolonies sont des sites où les bactéries communiquent entre elles et agissent de manière coordonnée. Cette communication cellule-cellule est connue sous le nom de quorum sensing, et elle est médiée par de petites particules de signalisation diffusibles (autoinducteurs) qui sont produites par les bactéries pendant leur croissance et ensuite sécrétées dans l'environnement pour s'accumuler proportionnellement à la densité des cellules. Lorsque la concentration extracellulaire d'autoinducteurs atteint un niveau seuil, les bactéries détectent et répondent à ce signal en modifiant l'expression de leurs gènes (Fischer *et al.*, 2013).

### 3 Activités stimulant le développement des végétaux

#### 3.1 Phytohormones

Les plantes coordonnent et contrôlent leur développement par des signaux chimiques qui régulent la croissance des cellules dans toute la plante. Ces signaux, appelés "phytohormones", ont un effet profond sur le développement à des concentrations extrêmement faibles. Les bactéries associées aux plantes sont impliquées dans des activités microbiennes symbiotiques et associatives. Elles constituent une source de nutrition

économique et sûre pour augmenter la production agricole et améliorer la fertilité des sols. Les microorganismes obtiennent les nutriments à partir des exsudats racinaires des plantes en colonisant leurs racines (**Aouar, 2012**).

Les mécanismes suggérés pour la valorisation de la croissance chez les végétaux comprennent la synthèse bactérienne des phytohormones tels que l'acide indole-3-acétique (AIA), cytokinines, gibbérellines, l'abondance de l'azote minérale dans le sol et la limitation de la production d'éthylène par l'activité 1-aminocyclopropane-1-carboxylate déaminase (ACC désaminase), etc. (**Ahmed and Hasnain, 2010**).

L'auxine est la phytohormone la plus abondamment sécrétée quantitativement par la plupart des bactéries associées aux plantes (**Steyaert et al., 2007**). Le premier facteur attribué à la stimulation de la croissance des végétaux était la production d'auxine plutôt que la fixation d'azote. Comme la concentration des signaux hormonaux est essentielle à la régulation de divers processus physiologiques chez les plantes, la modification des taux de phytohormones par les microbes peut entraîner des changements caractéristiques de la croissance végétale. Les phytohormones produites par les bactéries peuvent augmenter la surface des racines, ce qui accroît la hauteur des plantes, leur rendement en grains et la capacité à absorber l'eau et d'autres nutriments du sol (**Ahmed and Hasnain, 2010**).

### 3.1.1 Biosynthèse de l'acide indole-3-acétique

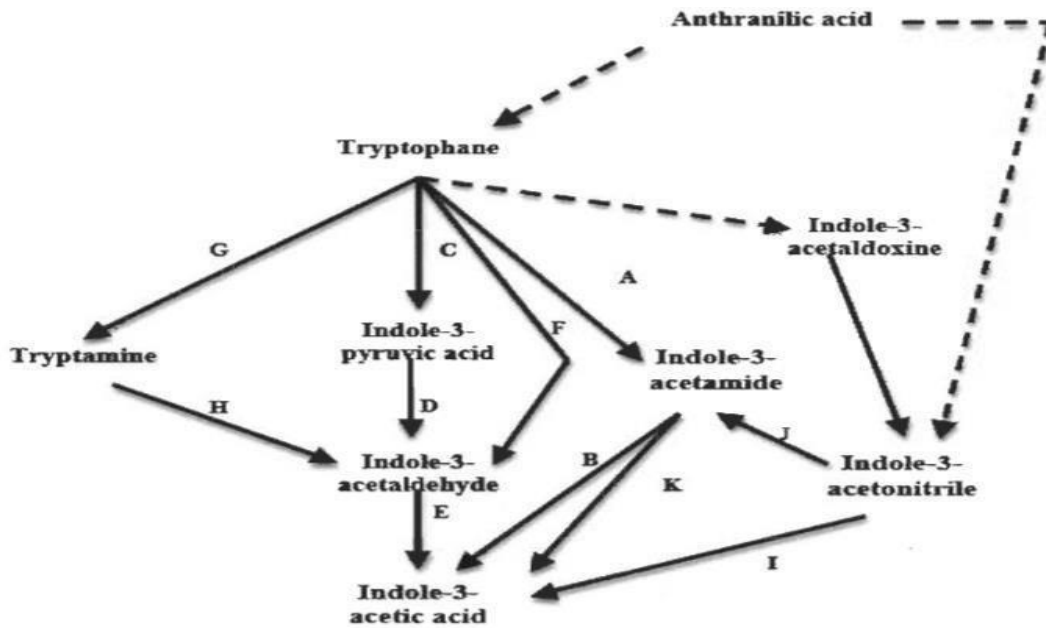
Les auxines synthétisées par la plante et les microorganismes ne diffèrent que par la voie de biosynthèse (**Jha and Saraf, 2015**). Chez les plantes, quatre voies Trp-dépendantes ont été proposées, à savoir les voies de IAOX (indole-3-acétaldoxime), TAM (la tryptamine), IPA (l'acide indole-3-pyruvique), et de IAM (indole-3-acétamide (**Bunsangiam et al., 2019**)). Contrairement, à l'utilisation de l'indole-3-glycérol phosphate comme précurseurs selon la voie indépendantes du tryptophane (**Nonhebel, 2015**).

L'acide indole-3-acétique (AIA) est la première hormone végétale essentielle dans la nature appartenant à la classe d'auxines. Elle a la capacité de contrôler la croissance végétale (**Çakmakçı et al., 2020**) en stimulant notamment l'élongation et la division cellulaire, initiation des racines, la sécrétion d'éthylène, le développement des fruits. Aussi, elle participe à la production de racines plus allongées avec une augmentation du nombre de poils racinaires, ce qui améliore l'absorption des nutriments et de l'eau (**Calvo et al., 2014**). Plus de 80% des microorganismes rhizosphériques ont la capacité de synthétiser des auxines comme métabolites secondaires. Ainsi, la possibilité que ces bactéries affectent les niveaux endogènes

de ce régulateur et ses effets sur la croissance des plantes sont remarquables (**Jha and Saraf, 2015**).

Il est largement accepté que les microorganismes associés aux plantes possèdent plusieurs voies pour la biosynthèse de l'AIA, cinq voies principales dépendantes du tryptophane (Trp) et une voie indépendante du Trp. La voie IAM (indole-3-acétamide) a été trouvée à la fois chez les bactéries phytopathogènes et symbiotiques, elle nécessite deux étapes enzymatiques. La première étape est la conversion du précurseur Trp en un intermédiaire IAM par la Trp-2-monooxygénase (codée par *iaaM*), suivie de la seconde étape dans laquelle l'IAM est dégradé en AIA par l'enzyme IAM hydrolase (codée par le gène *iaaH*) (**Lin and Xu, 2013**).

Les PGPR utilisent généralement la voie IPA, dont la première étape est la conversion du tryptophane en IPA par l'activité amino-transférase, l'IPA est ensuite carboxylé en IAALd (indole-3-acétaldéhyde) par l'activité IPDC (indole-3-pyruvate décarboxylase). La dernière étape implique l'oxydation de l'IAALd en AIA. La voie TAM où la première étape est la décarboxylation du tryptophane en TAM. Le TAM est ensuite converti en IAALd par l'amine oxydase et l'IAALd est converti en AIA dans la dernière étape. La voie de la tryptophane oxydase où le tryptophane est directement converti en IAALd avant l'oxydation de IAALd en AIA. La voie IAN (indole-3-acétonitrile) dont les intermédiaires peuvent être directement convertis en AIA par la nitrilase ou convertis en IAM avant la conversion de IAM en AIA par la nitrile hydratase (**Bunsangiam et al., 2019**).



**Figure 4:** Biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (AIA) par différentes voies : A) Tryptopane 2-monooxydase ; B) Indole acétamide hydrolase ; C) Tryptophane transférase ; D) Indole-3-pyruvate décarboxylase ; E) Indole-3-acétaldéhyde oxydase ; F) Tryptophane chaîne latérale oxydase ; G) Tryptophane décarboxylase ; H) Amine oxydase ; I) Nitrilase ; J) Nitrile hydratase ; K) Amidase (**Giroux, 2015**).

La création d'AIA a été révélée dans plusieurs genres bactériens tels qu'*Azoctobacter* sp. *Pseudomonas* sp., et *Bacillus* (**Harikrishnan et al., 2014; Afzal et al., 2019**). En outre, elle a été observée chez diverses espèces de streptomycètes comme *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces lividans* et *Streptomyces albidoflavus* (**Lin and Xu, 2013**). Plusieurs facteurs environnementaux influencent la biosynthèse de l'acide indole-3-acétique par les bactéries rhizosphériques, tels que la limitation du carbone, le stress osmotique, la température, l'acidité, et la concentration de précurseur. Des conditions de pH élevé et de grandes quantités de tryptophane augmentent la production d'AIA (**Mohite, 2013**).

## 4 Production de sidérophores

### 4.1 Généralités sur la production de sidérophores

Le fer est le quatrième constituant le plus disponible en abondance dans l'écorce terrestre, acquiert progressivement une place prometteuse dans l'agrosience et la science médicale. C'est un constituant vital nécessaire à chaque organisme vivant pour de nombreux processus cellulaires comme cofacteur pour de très nombreuses enzymes et dans la chaîne de transport des électrons. Les microorganismes qui se développent dans des conditions aérobies ont également besoin de fer pour diverses fonctionnalités. Cela inclut la réduction du taux

d'oxygène pour la synthèse de la molécule adénosine triphosphate (ATP), la formation de l'hème et d'autres fonctions essentielles. L'atmosphère aérobie de la planète a provoqué l'oxydation du fer de surface en polymère oxyhydroxyde insoluble et a réduit le taux de fer libre. Les microorganismes ont alors adopté un moyen d'acquérir le fer en produisant des molécules chélatrices du fer, comme les sidérophores. Ces derniers sont des molécules à faible poids moléculaire qui ont un effet positif sur le fer. Ils sont des composés chélateurs du fer de faible poids moléculaire (< 10 KD) synthétisés en grande quantité par de nombreuses bactéries *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Azospirillum*, *Rhizobium* et *Streptomyces* (Ghosh *et al.*, 2020).

Le sidérophore se lie d'abord avec le fer ( $\text{Fe}^{+3}$ ) de façon étroite, puis ce complexe sidérophore-fer se déplace dans la cellule à travers la paroi cellulaire à l'aide de capteurs spécifiques du sidérophore (Saha *et al.*, 2016). Ces molécules réceptrices sont codées par cinq gènes dans un opéron qui devient inactif lorsque du fer a été suffisamment absorbé dans la cellule (Lewin, 1984).

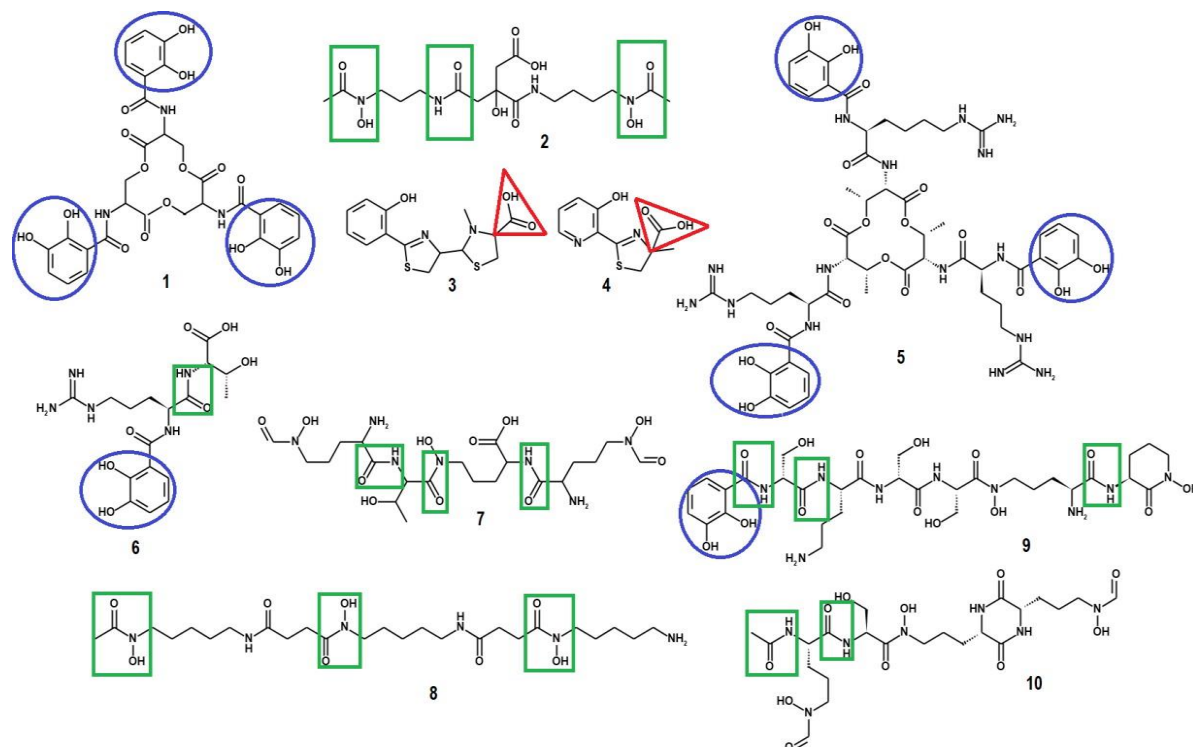
Dans le cas des bactéries Gram-positives, les protéines de fixation des sidérophores, les perméases et les ATPases sont impliquées dans le transport du complexe de fer-sidérophore ( $\text{Fe}^{+3}$ ) dans la membrane cellulaire (Ahmed and Holmström, 2014). Le  $\text{Fe}^{3+}$  est ensuite converti en fer ferreux soluble ( $\text{Fe}^{2+}$ ) à l'intérieur de la cellule (Ahmed and Holmström, 2014; Ghosh *et al.*, 2020). Actuellement, près de 500 sidérophores sont signalés par des microorganismes spécifiques. Une grande variation est observée dans la structure des sidérophores d'une espèce à l'autre (Ali and Vidhale, 2013).

L'utilisation de xénosidérophores comme système d'absorption a également été rapporté chez les bactéries. Par ce système, également connu sous le nom de piratage de sidérophores, les microorganismes utilisent le sidérophore produit par d'autres espèces microbiennes dans un environnement compétitif (Terra *et al.*, 2021).

Le piratage de sidérophore impliquant les *Streptomyces* sp. a été rapporté par Galet *et al.* (2015) montrant que la souche BBc6R8 de *Pseudomonas fluorescens* utilise les ferrioxamines et la ferricoélichéline produites par *Streptomyces ambofaciens* ATCC 23877 comme xénosidérophores. Plusieurs mécanismes de sidérophores pour le transport, le stockage et l'absorption du fer ont été rapportés, et diffèrent selon l'organisme concerné. Les bactéries Gram-positives et Gram- négatives utilisent différents mécanismes de transport du fer médiés par les sidérophores (Terra *et al.*, 2021).

## 4.2 Types de sidérophores

En fonction des ligands d'oxygène pour la fixation du  $\text{Fe}^{3+}$ , les sidérophores sont divisés en trois principales catégories: les catécholates, les hydroxamates et les carboxylates (**Figure 5**).



**Figure 5:** Exemples d'hydroxamate (vert); de catéchols (bleu); de carboxylate (rouge) et de sidérophores de type mixte produits par le genre *Streptomyces*: 1) *S. tendae* (Entérobactine) ; 2) *S. fradie* (Fradiamine A) ; 3) *S. scabies* (Pyochéline) ; 4) *S. antibioticus* (Ferrithiocine) ; 5) *Streptomyces* sp. YM5-799 (Streptobactine) ; 6) *S. coelicolor* (Bénarthine); 7) (*Coélichéline*) ; 8) *S. coelicolor* et *S. pilosus* (Desferrioxamine B) ; 9) *Streptomyces* sp. MBT76 (Qinichéline) et 10) *S. nitrosporeus* (Foroxymithine).

### 4.2.1 Sidérophores type hydroxamate

Ce groupe de sidérophores est le plus courant dans la nature. Les champignons et les bactéries peuvent produire des sidérophores de type hydroxamate (**Ghosh et al., 2020**). Le sidérophore hydroxamate contient principalement C (=O) N-(OH) R [R= un acide aminé ou un de ses dérivés]. Deux groupes d'oxygène fournis par chaque groupe hydroxamate constitue un ligand didenté avec le fer. Les sidérophores hydroxamates présentent généralement une forte absorption entre 425 et 500 nm lorsqu'ils sont liés au fer (**Ali and Vidhale, 2013**).

La liaison rigide entre le sidérophore et le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) protège le complexe contre l'hydrolyse et la destruction enzymatique dans l'environnement (Saha *et al.*, 2016). La fradiamine A (Figure 5) et B sont des sidérophores naturels produits par le *Streptomyces fradiae* MM456M, isolé des fonds marins (Takehana *et al.*, 2017).

Les sidérophores de type hydroxamate peuvent être détectés par plusieurs méthodes. L'essai spectrophotométrique de Neilands a été initialement utilisé pour la détection du type hydroxamate des sidérophores (Neilands, 1981), ESI-MS (Spectrométrie de masse à ionisation par électronébulisation) (McCormack *et al.*, 2003), et l'essai modifié du chrome azuroil S (O-CAS) permet également de déterminer le type hydroxamate (Pérez-Miranda *et al.*, 2007)

#### 4.2.2 Sidérophores type catécholates

Le catécholates est un autre groupe important de sidérophores, qui est principalement produit par les microorganismes. La structure du squelette peut être constituée d'un peptide, lactone macrocyclique ou d'une polyamine. Des sidérophores avec un, deux ou trois groupes chélateurs catécholates ou phénolates attachés à un squelette peptidique sont rapportés. *Erwinia carotovora* produit des catécholates tandis que *Pseudomonas* produit un sidérophore mixte catécholates-hydroxamate (Ali and Vidhale, 2013).

D'autres types de catécholates sidérophores créés par les bactéries Gram-négatives sont représentés par l'azotocheline et la myxocheline A. Leur précurseur biosynthétique est la lysine et sont respectivement produits par *Azotobacter vinelandii* et la *Angiococcus disciformis* (myxobactérie). Contrairement aux bactéries à Gram négatif, les streptomycètes, produisent des ferrioxamines comme agents chélateurs du fer, qui font partie du groupe des sidérophores trihydroxamates (Fiedler *et al.*, 2001).

L'entérobactine (Figure 5), un sidérophore tricatécholates, a été isolée pour la première fois à partir des *Enterobacteriaceae*, dont *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*, et représente l'un des systèmes sidérophores les plus étudiés. Cette molécule est également produite par *Streptomyces tendae* et *Streptomyces* sp. Tü 6125 (Fiedler *et al.*, 2001). Les sidérophores type catécholates peuvent être détectés en suivant plusieurs tests. Parmi lesquels, la spectrophotométrie, dans laquelle le type de catécholates du sidérophore se lie au  $\text{FeCl}_3$  et forme un complexe de couleur orange qui présente une absorbance maximale à 495 nm (Neilands, 1981). Ils sont analysés et dosés par spectrométrie de masse à ionisation par électronébulisation (ESI-MS) et chromatographie liquide à haute performance (HPLC) avec

un détecteur à barrette de diodes (**Fiedler et al., 2001**). Le test O-CAS peut également être utilisé pour la détection du sidérophore type catécholate (**Pérez-Miranda et al., 2007**).

#### 4.2.3 Sidérophores type carboxylate

Ce type de sidérophores est produit par des bactéries comme *Rhizobium*, *Staphylococcus* et des champignons comme *Mucorales*. Un très petit nombre de sidérophores carboxylates ayant une partie chélatrice du fer composée uniquement de groupes donneurs  $\alpha$ -hydroxy et de carboxylates. Des bactéries comme les staphylocoques, *Rhizobium meliloti*, les mucorales produisent la staphyloferrine A et B, la rhizobactine et la rhizoferrine, respectivement (**Pahari et al., 2017**).

En plus de leur rôle de chélation et d'absorption du fer, ces molécules semblent être impliquées dans l'infection et les interactions avec d'autres ions biologiques (**Terra et al., 2021**). La production de pyochéline par *S. scabies* 87-22 a également été rapportée (**Seipke et al., 2011**). Le type de carboxylate de sidérophores peut être détecté par le test chimique de Vogels (**Karmakar et al., 2018**).

#### 4.3 Applications de sidérophores

Les sidérophores sont des molécules biologiques produites par diverses bactéries ayant une large application dans plusieurs domaines tels que l'agriculture pour l'amélioration de la qualité des sols et le biocontrôle, des applications environnementales et des applications médicales. La compétition pour le fer est également un mécanisme possible pour contribuer à la suppression des métaux toxiques des sols pollués (**Sayed et al., 2013**).

**Khan et al. (2009)** ont indiqué que les sidérophores type hydroxamates sont présents dans divers sols. En outre, l'accumulation excessive de métaux lourds est également toxique pour la plupart des plantes et contamine le sol, ce qui entraîne une réduction dans la fertilité du sol, l'activité microbienne et le rendement. Dans ce contexte, les sidérophores de type hydroxamate présents dans le sol jouent un rôle essentiel pour immobiliser les métaux (**Rajkumar et al., 2010**).

De nombreuses bactéries empêchent la croissance de bactéries pathogènes en produisant des sidérophores, des antibiotiques et du cyanure (**Elshahat et al., 2016**). **Kloepper et al. (1980)** ont été les premiers à démontrer l'importance de la sécrétion de sidérophores comme mécanisme de lutte biologique contre *E. carotovora* par plusieurs souches de *P. fluorescens* A1, BK1, TL3B1 et B10. Ils ont montré qu'elles favorisent la croissance des plantes. Les

sidérophores sont eux mêmes des facteurs d'inhibition de la croissance de divers champignons phytopathogènes tels que *Phytophthora parasitica* (Park *et al.* 1988), *Phythium ultimum* (Hamdan *et al.*, 1991), *F. oxysporum* (Lemanceau and Alabouvette, 1993; Raaijmakers *et al.*, 1995) et *Sclerotinia sclerotiorum* (McLoughlin *et al.*, 1992).

## 5 Fixation biologique de l'azote

L'azote est un bioélément indispensable à de nombreuses fonctions végétales et constitue fréquemment un facteur limitatif de la croissance des plantes. La fixation de l'azote par des bactéries libres, associés aux plantes ou vivant en symbiose, sont les plus importantes sources d'azote dans les écosystèmes naturels (Bü rgmann *et al.*, 2004). Les végétaux ont la possibilité de recevoir l'azote sous deux formes minérales, soit l'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), soit le nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (Chalk and Smith, 2021).

La conversion biologique de l'azote atmosphérique en ammonium est catalysée par une enzyme labile à l'oxygène : la nitrogénase, qui est sporadiquement distribuée dans les domaines des bactéries et des archées (Gtari *et al.*, 2012). Les bactéries diazotrophes sont capables de fournir aux végétaux l'azote nécessaire à leur croissance sous forme de substances minérales. De nombreuses espèces de ces bactéries, notamment *Paenibacillus polymyxa*, *Paenibacillus azotofixans*, *Bacillus ciruclans*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*, ont été identifiées comme fixatrices d'azote (Ding *et al.*, 2005). *Corynebacterium* sp. AN1 isolé de la phyllosphère de la forêt végétale contribue à la croissance des plantes de maïs en tant que produit de substitution à l'engrais azoté (Giri and Pati, 2004).

Les actinomycètes sont omniprésents dans les écosystèmes aquatiques et terrestres et ont développé des modes de vie variés. Le genre *Frankia*, qui se caractérise par sa capacité à entrer dans des relations symbiotiques avec divers hôtes végétaux appelés plantes actinorhiziennes, s'est avéré être la seule actinomycète fixatrice d'azote (Perrine-Walker *et al.*, 2011; Gtari *et al.*, 2012).

Depuis des années, plusieurs investigations ont soutenus le concept de la fixation de l'azote par *Frankia* et leurs influences bénéfiques sur la croissance des végétaux hôtes, qui a été observé pour la première fois en 1888 (Chen *et al.*, 2020). À l'état libre ou *in planta*, les *Frankia* sp. fixent l'azote dans des conditions aérobies ainsi qu'ils sont capables de se développer dans des milieux sans azote. *Frankia* enferme la nitrogénase à l'intérieur des structures vésiculaires, lesquelles sont entourées d'une enveloppe contenant une forte teneur en lipides pour protéger l'enzyme de l'inactivation provoquée par l'oxygène (Huss-Danell,

1997).

## 6 Solubilisation du phosphate

### 6.1 Généralités

Après l'azote (N), le phosphore (P) est un nutriment vital pour la croissance et la productivité des plantes. La concentration de P dans les plantes varie entre 0,05% et 0,5% du poids sec total de la plante. Malgré que la concentration de P dans le sol est 2000 fois supérieure à celle de la plante, sa fixation sous forme de phosphate d'aluminium/fer ou de phosphates de calcium/magnésium le rend indisponible pour l'absorption par les plantes (**Malhotra et al., 2018**).

Le phosphore occupe une place importante dans de nombreux processus cellulaires, notamment le maintien des structures membranaires, la synthèse des biomolécules et la formation de molécules à haute énergie. Il contribue également à la division cellulaire, à l'activation/inactivation des enzymes et à la métabolisation des glucide (**Razaq et al., 2017**).

A l'intérieur de la plante, le phosphore stimule le développement des tiges et les racines, la germination des graines, la formation des fleurs et le rendement des cultures. De plus, la disponibilité du P augmente la possibilité de fixation de l'azote chez les cultures de légumineuses. La carence en P réduit le rendement des cultures de 30 à 40% des terres arables dans le monde. Cette situation exige l'utilisation d'une quantité considérable d'engrais phosphatés pour compenser cette carence (**Malhotra et al., 2018**).

En plus de fournir des nutriments indispensables et d'agir comme conditionneurs de sol, les engrais et fumiers présentent un risque potentiel de pollution pour l'agriculture et peuvent contenir des quantités importantes de contaminants. Elles entraînent souvent la dégradation des ressources naturelles et la libération des contaminants dans l'air, le sol, et dans l'eau, ce qui a un effet directement sur la santé humaine (**Rashmi et al., 2020**).

Il existe des communautés considérables de bactéries solubilisant le phosphate dans la rhizosphère des végétaux. Elles contiennent des microorganismes anaérobies et aérobies, avec la prédominance des bactéries aérobies (**Behera et al., 2014**). Les microorganismes solubilisant le phosphate ont attiré l'attention des agriculteurs comme une source pour améliorer le rendement et le développement des plantes (**Zaidi et al., 2009**). Ainsi, l'inoculation des semences/cultures/sol avec des bactéries capable de solubiliser le phosphate est une stratégie prometteuse pour améliorer la production alimentaire mondiale sans causer

de risque environnemental. Malgré leur grande importance dans la fertilisation des sols, les microorganismes solubilisateurs de phosphore (PSM) n'ont pas encore remplacé les engrais chimiques conventionnels dans l'agriculture commerciale (Alori *et al.*, 2017).

Plusieurs études ont analysé la capacité des genres bactériens comme *Erwinia*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Aereobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, et *Pseudomonas* à solubiliser les composés phosphatés inorganiques insolubles tels que le phosphate naturel, l'hydroxyapatite, le phosphate dicalcique, et le phosphate tricalcique (Rodríguez and Fraga, 1999).

En outre, environ 20% des actinomycètes peuvent solubiliser le P, notamment les genres *Streptomyces*, *Actinomyces* et *Micromonospora*. En comparaison avec le sol non rhizosphérique, la rhizosphère contient une concentration considérablement plus élevée des bactéries solubilisant le phosphate (Franco-Correa *et al.*, 2010; Alori *et al.*, 2017).

## 6.2 Mécanismes de solubilisation du phosphate

Chez les plantes et les microorganismes, les principaux mécanismes de solubilisation du P sont l'excrétion de H<sup>+</sup>, la sécrétion des acides organiques ainsi que la biosynthèse des phosphatases acides. Des acides organiques, y compris l'oxalate, malate, citrate, le gluconate, acétate, céto-gluconate, succinate, lactate, etc., sont susceptibles de créer des structures complexes avec le fer ou l'aluminium dans les phosphates ferriques et d'aluminium. Cela a pour conséquence de libérer le phosphate et le rendre disponible pour les plantes dans le sol (Sindhu *et al.*, 2014).

Des acides organiques permettent également d'augmenter la présence du P en empêchant la formation de complexes avec les cations sur la surface des minéraux du sol ou les sites d'absorption du P (Behera *et al.*, 2014). Les acides inorganiques tels que l'acide nitrique, carbonique et sulfurique sont des mécanismes de solubilisation du phosphate produits par certaines bactéries (Buddhi and Min-Ho, 2012).

La solubilisation sans production d'acide a été supposée être due à la libération de protons accompagnant la respiration par l'activité ATPase ou l'assimilation d'ammonium (Kumar and Shastri, 2017). La solubilisation est plus importante quand les sels d'ammonium plutôt que les sels de nitrate sont présents dans l'environnement comme source d'azote. De plus, la production de substances chélatrices le H<sub>2</sub>S, le CO<sub>2</sub>, les acides minéraux, les sidérophores, l'acide indole-3-acétique, les gibbérellines et les cytokinines a été corrélée à la solubilisation du phosphate (Chaiharn and Lumyong, 2011; Krishnaraj and Dahale, 2014;

**Kumar and Shastri, 2017**). La chélation implique la formation de deux ou plusieurs liaisons de coordination entre une molécule anionique et un cation, résultant en un complexe de structure cyclique (**Krishnaraj and Dahale, 2014**).

Aussi, le phosphate peut se libérer par la décomposition enzymatique. Les trois principaux types d'enzymes sont : (1) les phosphonatases qui dégradent la liaison C-P dans les organophosphonates (**Behera et al., 2014**); (2) les phosphatases (phosphohydrolase), qui déphosphorylent les liaisons phosphoanhydride ou phospho-ester dans la matière organique (**Rodríguez et al., 2006**); (3) phytases, qui libèrent particulièrement le phosphate des acides phytiques (**Alori et al., 2017**).

## 1 Méthode de prélèvement de sol

Le travail se concentre sur la vérification de la présence des actinomycètes rhizosphériques et non rhizosphériques dotés d'activité antimicrobienne et d'effet PGPB. Pour ce faire, onze échantillons sont collectés à différents endroits dans les deux wilayas de MSila et de Biskra (**Tableau 5**).

Les prélèvements ont été effectués durant le mois novembre 2017 (**Loqman, 2009**) dans deux régions M'sila pour le sol non rhizosphérique et Biskra pour le sol rhizosphérique (**Tableau 5**). Le processus consiste à enlever les dix premiers centimètres de la partie supérieure du sol. Puis, à l'aide d'une spatule stérile, 100-150 g de sol ont été collectés dans la couche sous-jacente (jusqu'à une profondeur de 15 cm) et transportés au laboratoire dans des sacs en plastique stériles pour être analysés (**Chaiarn and Lumyong, 2011**). Ces échantillons ont été séchés à température ambiante pendant 48 heures et broyés après avoir retiré les particules solides de sol et les gros débris (pierres, racines, rochers, etc.). Concernant les isolats d'actinomycètes rhizosphériques en provenance des sept sites de la région de Biskra (**Tableau 5**) ont été collectés de la rhizosphère de l'halophyte *Atriplex halimus* L. 'Guettaf'. Cette région présente un indice d'aridité annuel de De Martonne  $I = 0,34$  qui correspond à un climat très sec ( $I < 5$ ) (**Lebourgeois and Piedallu, 2005**).

**Tableau 5:** Localisation géographique des échantillonnages.

Type de sol (région)	Sites	Altitude (mètres)	Latitude (N)	Longitude (E)	Couleur et étage bioclimatique
<b>Rizosphérique (Biskra)</b>	Site 1 : Tolga	152,6	34° 71' 47"	5° 37' 20"	Sol maroon fin, aride à Saharien
	Site 2 : Sidi Khaled	227,7	34°40'63"	4° 98' 01"	Sol dur, des morceaux marron, aride à Saharien
	Site 3 : Oumache	46,4	34° 66' 65"	5° 70' 40"	Sol beige, aride à Saharien
	Site 4 : Zeribet El Oued	46,9	34° 69' 23"	6° 46' 13"	Sol marron, aride à Saharien
	Site 5 : Chaiba	303,8	34° 78' 20"	5° 04' 97"	Sol marron-rouge, aride à Saharien
	Site 6 : Chegga	33,4	34° 45' 19"	5° 89' 18"	Sol beige, aride à Saharien
	Site 7 : El Feidh	17,4	34° 46' 15"	6° 57' 06"	Sol beige, aride à Saharien

**Tableau 5:** Localisation géographique des échantillonnages (Suite)

<b>Non rhizosphérique (M'Sila)</b>	Site 8 : Université Mohamed Boudiaf	-	35° 74' 26"	4° 54' 47"	Sol fin brun, semi-aride
	Site 9 : 300 m de l'Université Mohamed Boudiaf	-	35° 74' 46"	4° 55' 11"	Sol dur, des morceaux marron-rouge, semi-aride
	Site 10 : Boukhmissa	-	35° 49' 31"	4° 32' 36"	Sol marron-rouge, semi-aride
	Site 11 : Boukhmissa à côté de la RN45	-	35°49' 19",	4° 32' 51"	Sol vert, semi-aride

## 2 Caractéristiques physicochimiques des échantillons de sol collectés

Plusieurs paramètres physicochimiques sont nécessaires pour caractériser les échantillons de sol étudiés. Ces analyses consiste en:

### 2.1 Mesure du pH

Chaque suspension sol/eau à 1/2,5 (P/V) est agitée pendant 30 minutes avant d'être mise au repos pour la décanter. La valeur du pH est obtenue par un pH mètre selon la technique de **Khenaka et al. (2019)**.

### 2.2 Mesure de la conductivité 1/5<sup>ème</sup>

La valeur de la conductivité est déterminée par un conductimètre, après l'agitation de 20 g de chaque échantillon de sol avec 100 ml d'eau distillée suivie d'une filtration (**Khenaka et al., 2019**).

### 2.3 Détermination du taux de la matière organique et d'humidité

Dix grammes de sol sont séchés pendant deux jours à 105 °C jusqu'à atteindre un poids stable. La formule indiquée ci-dessous doit être appliquée pour la détermination du pourcentage d'humidité

$$H = \frac{PH - PS}{PH} \times 100$$

H : Humidité en pourcent (%)

PS : Poids sec du sol

PH : Poids humide du sol

La matière organique est un élément essentiel des fonctions chimiques, physiques et biologiques de la terre. Le sol séché de chaque échantillon est incinéré pendant 16 heures à 450 °C. La teneur en matière organique est obtenue en calculant la moyenne du poids sec et du poids des cendres (**Lee and Hwang, 2002**).

### **3 Isolement, purification et conservation des actinomycètes**

Trois types de milieux sélectifs ont été utilisés pour l'isolement des actinomycètes. Les milieux ont été mélangés avec 75 µg ml<sup>-1</sup> d'amphotéricine B pour empêcher la croissance des cellules fongiques et 10 µg ml<sup>-1</sup> de polymixine pour empêcher la pousse des microorganismes à Gram-négatif. Pour chaque échantillon, 1 g de sol a été inséré dans un tube comprenant 9 ml de solution physiologique stérile. Les tubes ont ensuite été vortexés durant 4 min. Une série de dilutions a été réalisée à partir de la suspension mère (10<sup>-1</sup> et 10<sup>-6</sup>). Ensuite, des volumes de 100 µl ont été déposés sur la surface des milieux de cultures, qui sont incubés pendant 21 jours à 28 °C.

Les milieux de cultures utilisés dans cette étude:

- GBA: gélose au glycérol (**Djebaili et al., 2020**);
- ISP2: Projet international *Streptomyces* N° 2 (**Djebaili et al., 2020**);
- ISP5 (gélose Glycérol-Asparagine) (**Shirling and Gottlieb, 1966**);

Les colonies d'actinomycètes ont été reconnues en fonction de leurs aspects macroscopiques et microscopiques. Des observations régulières ont été effectuées, pendant la période d'incubation, pour repérer les colonies typiques d'actinomycètes. Les actinomycètes ont été reconnus aussi par leur aspect poudreux et filamenteux typique. Ces remarques ont été assistées par l'utilisation d'un microscope optique à 10x (**Williams and Cross, 1971**). Ensuite, les souches ont été maintenues dans le milieu ISP2 (**Annexe 1**) à 4 °C, et stockées à - 20 °C dans le glycérol à 20% pour une utilisation de longue durée (**Aouar et al., 2012**).

### **4 Tests d'antagonisme *in vitro* contre les microorganismes phytopathogènes**

Les champignons phytopathogènes : *Alternaria alternata* et *Fusarium oxysporum* ont été obtenus du laboratoire de mycologie du Centre National de Recherche en Biotechnologie de Constantine (Algérie). Les champignons phytopathogènes (*Fusarium solani* et *Aspergillus flavus*) et les bactéries (*Streptomyces scabies* et *Pectobacterium carotovorum*) provenaient du

laboratoire des biomolécules végétales et amélioration des plantes de l'université d'Oum El Bouaghi. De plus, *Botrytis cinerea*, utilisé dans cette étude, a été obtenu du laboratoire de mycologie de l'université de Bejaia (**Tableau 6**).

**Tableau 6:** Origines et phytopathologies des champignons et des bactéries testés

Souches	Pathologie	Plantes hôtes
<b>Champignons phytopathogènes:</b> <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> <i>A. flavus</i> <i>A. alternata</i> <i>B. cinerea</i>	Fusariose Flétrissement, jaunissement Tache brune, pourriture noire Pourriture grise	<i>Solanum lycopersicum</i> L. (Tomate)
<b>Bactéries phytopathogènes :</b> <i>P. carotovorum</i> <i>S. scabies</i>	Brûlure bactérienne Gale commune	<i>Pyrus communis</i> (Poire) <i>Solanum tuberosum</i> L. (Pomme de terre), <i>Raphanus sativus</i> L. (radis).

Sur le milieu PDA (dextrosée à la pomme de terre) (**Annexe 1**), des souches d'actinomycètes ont été testées contre des agents phytopathogènes: *A. alternata*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *A. flavus*, et *B. cinerea* conformément à la méthode présentée par **Aouar et al. (2020)**. Ainsi que les disques d'actinomycètes ont été prélevés et cultivés sur des plaques la gélose de PDA pendant 4 jours à 30 °C. Ensuite, des disques d'agar des champignons ont été coupés (âgés de 5 jours), placés directement sur la plaque de PDA à 3 cm de distance du disque d'actinomycètes, et ensuite incubés à 25 °C pendant 5 jours à l'obscurité. Une autre culture de champignon sans disque d'actinomycète a été réalisée comme contrôle. Après la période d'incubation, Le taux d'inhibition fongique (I) a été mesuré selon la formule suivante:

$$I (\%) = \frac{C-T}{C} \cdot 100$$

C : le diamètre des colonies des témoins ; T : diamètre des colonies d'essais (**Passari et al., 2015**).

Les isolats sélectionnés seront ceux qui démontrent la capacité d'inhiber au moins 3 champignons-test.

L'efficacité des actinomycètes contre *P. carotovorum* et *S. scabies* a été évaluée par la technique de diffusion sur disque (Aouar *et al.*, 2020). Les souches antagonistes ont d'abord été cultivées sur ISP2 à 30 °C pendant 7 jours. Les disques de chaque antagoniste ont été déposés sur des plaques de gélose Muller-Hinton (Annexe 1) préalablement inoculées avec les bactéries phytopathogènes. Les boîtes de Petri préparées ont été stockées à 4 °C pendant 4 h, avant d'être incubées à 30 °C pendant 24 h. L'activité antibactérienne était évaluée en calculant la zone d'inhibition autour des disques d'actinomycètes en millimètres (mm).

En plus de l'activité antibactérienne réalisée sur des bactéries phytopathogènes, les actinomycètes sélectionnés ont été également testés sur des bactéries impliquées dans la pathologie humaine : *Bacillus cereus* ATCC10876, *Micrococcus luteus* ATCC4698, *Pseudomonas earuginosa* ATCC27853, et la levure *Candida albicans*. Pour ce faire, la méthode des stries croisées sur milieu gélosé Muller-Hinton a été utilisée. Cette méthode consiste à inoculer les souches sous la forme d'une ligne unique au bord de la gélose. Après une période d'incubation à 30 °C (environ 7 à 10 jours), les milieux sontensemencés avec les microorganismes-test par strie verticale par rapport à la ligne de croissance des actinomycètes (un angle de 90°), puis incubés à 37 °C durant 36 h pour les eucaryotes (levures) et 48 h pour les procaryotes (bactéries). Les valeurs sont déterminées en mesurant la distance d'inhibition entre les bords de la souche cible et de la souche test (Boubetra *et al.*, 2013).

## 5 Caractères morphologiques des isolats antagonistes sélectionnés

### 5.1 Etude macroscopique

L'étude phénotypique de la colonie et des caractères cultureux ont été déterminés sur les milieux ISP2, ISP4, ISP5, et GBA (Annexe 1). Trois boîtes de milieu ont étéensemencées pour chaque isolat conformément à la méthode recommandée par Shirling and Gottlieb (1966). Après une durée d'incubation à 30 °C. Les propriétés macroscopiques examinées et notées sont : la vitesse de croissance, la couleur du mycélium aérien, de la masse sporale et le revers de la colonie. Les observations comprenaient aussi la taille, la forme et la texture des colonies, en plus des pigments diffusibles dans les milieux.

### 5.2 Etude microscopique

La bordure filamenteuse des colonies a été examinée par observation microscopique au grossissement 100x (Suzuki *et al.*, 2001). Aussi, les colonies présentant les caractéristiques

macroscopiques des actinomycètes ont été soumises à une coloration différentielle (de Gram). Pour confirmer le Gram positif. Il s'agit d'une simple observation sous microscope photonique (grossissement 1000x) (**Duraipandiyar et al., 2010**).

Afin de déterminer la morphologie des chaînes de spores, la technique de culture sur lamelle a été réalisée selon les recommandations de **Williams and Cross (1971)**. Elle implique de mettre soigneusement une lamelle propre dans le milieu ISP4 (**Annexe 1**) en formant un angle de 45° avec la surface de ce dernier. La lamelleensemencée est prudemment enlevée de la gélose après avoir été incubé à 30 °C pendant 10 jours. Elle transporte avec elle les mycéliums de substrat et aérien non dénaturés. Elle est ensuite observée au microscope optique (grossissement 1000x) après avoir été placée sur une lame contenant une goutte de fuchsine.

## **6 Caractéristiques physiologiques et biochimiques**

### **6.1 Pigments mélanoides**

Les pigments mélanoides sont des pigments sombres diffusibles (de couleur brune noire). Ils sont notamment élaborés par les souches d'actinomycètes dans le milieu ISP7 (**Annexe 1**). Après 21 jours d'incubation, les résultats sont comparés au milieu témoin non inoculé mais cultivé dans des conditions similaires (**Shirling and Gottlieb, 1966**).

### **6.2 Croissance à différents pHs**

Les isolats d'actinomycètes sélectionnés sont inoculés par strie sur le milieu ISP2 tamponné à différents pH (3, 5, 7, 9, 11, et 13) avec des solutions de 100 mM de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ou de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Après avoir mis les boîtes dans l'incubateur à 30 °C durant 5 à 7 jours, le développement est évalué de manière visuelle. Trois types d'évaluation sont possibles :

- Réaction positive/bonne croissance (++) ; croissance modérée (+ ou ++) ; croissance très faible (+/-) ;

- Réaction négative/absence de croissance (-) ;

### **6.3 Croissance à différentes températures**

Le milieu ISP2 a été utilisé pour identifier la température optimale de croissance. Les boîtes inoculées sont incubées à différentes températures (15, 25, 30, 40 et 50 °C) durant deux semaines.

#### 6.4 Tolérance au chlorure de sodium

Le test est exécuté dans le milieu ISP2 avec 0,7% (P/V) de glycérol, distribué à raison de 10 ml dans chaque boîte de Pétri, ainsi que différentes concentrations de chlorure de sodium (2,5 ; 5 ; 7 ; 10 et 20% P/V). Après 7 jours d'incubation à 30 °C, la plus forte concentration de chlorure de sodium permettant encore la croissance correspond à la tolérance maximale.

#### 6.5 Utilisation de différentes sources carbonées

Ce test a été réalisée sur milieu basal ISP9 (**Annexe 1**) selon les méthodes de (**Shirling and Gottlieb, 1966**), supplémenté avec 1% (w/v) de sucres, tandis que les acides organiques et les sucres alcool sont additionnés à des concentrations de 0,1% (P/V). Ces solutions aqueuses sont stérilisées par filtration sur membrane de 0,22 µm. Les lectures sont effectuées après incubation à 30 °C durant 7 jours. L'exploitation de divers substrats est évaluée par la comparaison de la croissance observée sur un milieu de témoin positif (milieu ISP9 contenant du glucose) et un témoin négatif (un milieu sans aucune source de carbone ajoutée).

- **Sucres** : (D-glucose, D-fructose, L-arabinose, D-lactose, sucrose, D-maltose, D-mannose, D-xylose, cellobiose, levulose, ribose, melibiose, galactose)

- **Sucres alcool** : Mannitol, ribitol

- **Acides organiques** : acétate de sodium, acide citrique (citrate)

Concernant l'acide citrique, des colonies ont été cultivées sur le citrate de Simmons et incubés immédiatement à 30 °C jusqu'au 7ème jour. Le changement de couleur (bleu) indique la capacité de certaines souches bactériennes à utiliser le citrate (**Marchal et al., 1982**).

#### 6.6 Croissance en présence des inhibiteurs et des sources azotées

Les sources d'azote ont été testées sur un milieu de Bennett (**Annexe 1**) supplémenté avec 0,1% (p/v) de lysine, glycine, asparagine, aspartate, et arginine (**Williams et al., 1983**). La croissance en présence d'inhibiteurs a été évaluée sur MBA (agar de Bennett modifié) (**Annexe 1**), supplémenté avec : phénol 0,1% (p/v), azide de sodium et tellurite de potassium à 0,01% (p/v) (**Singleton, 1999**).

## 6.7 Sensibilité aux antibiotiques

L'isolat d'actinomycète est inoculé sur la plaque de Mueller Hinton (**Annexe 1**). Les pastilles d'antibiotiques (**Tableau 7**) sont placées de manière espacée, puis les boîtes sont réfrigérées à 4 °C pendant 4 heures. Après 48 heures d'incubation à 30 °C, la lecture est effectuée. En absence de zone d'inhibition autour du disque, la résistance est considérée comme positive (**Monciardini et al., 2003**).

**Tableau 7:** Divers antibiotiques employés dans le test de l'antibiogramme

Antibiotique	Charge (µg)
Amoxicilline ( <b>AMX</b> )	20
Tétracycline ( <b>TE</b> )	30
Ampicilline ( <b>AM</b> )	10
Rifampicine ( <b>RIF</b> )	30
Lincomycine ( <b>L</b> )	15

## 7 Étude chimiotaxonomique

Selon le protocole de **Staneck and Roberts (1974)**, la technique de chromatographie sur couche mince (CCM) a été appliquée afin de déterminer les isomères de l'acide diaminopimélique (DAP) (méso-DAP ou L-DAP). Ce dernier est l'un des principaux éléments de la paroi cellulaire, où la forme L de l'acide diaminopimélique (typique de l'espèce *Streptomyces*) migre plus rapidement que la forme méso.

Les actinomycètes ont été cultivés dans des Erlenmeyer de 250 ml avec 25 ml de bouillon de culture ISP2. Après 7 à 14 jours d'incubation sous agitation (120 rpm) à 30 °C, l'inoculum a été transporté dans les cryotubes. Les cellules ont été tuées par l'addition d'une solution de 500 µl de HCl (6N) et incubés dans un Thermoblock à 100 °C pendant 4 heures. Après une centrifugation à 4000 g pendant 5 minutes, le surnageant récupéré a été séché dans un Thermoblock à 100 °C. Ensuite, il a été dissous dans 500 µl de l'eau distillée stérile. Cette étape a été répétée deux fois. Des volumes de 3 µl de chaque échantillon obtenu et 1 µl du contrôle (1,9 mg d'étalon DAP dans 10 ml d'eau) ont été appliqués sur une plaque de chromatographie à base de silice. Ces plaques ont ensuite été placées directement dans une chambre de séparation contenant 50 ml du système de solvants : Méthanol-eau-6 N HCl-pyridine (33,3 : 11 : 1,6 : 4,1 v/v). Après migration, les plaques ont été laissées à sécher et pulvérisées avec de la ninhydrine (0,2% d'acétone w/v), et séchées encore à 100 °C pendant 5-

10 minutes. Les taches d'acide diaminopimélique étaient de couleur vert olive virant au jaune et le L-DAP migre plus loin que le méso-DAP.

L'analyse des principaux sucres prédominants dans la paroi cellulaire des actinomycètes a été effectuée par une chromatographie sur plaques de silice. A partir des cultures pures de chaque isolat, une boucle d'ensemencement a été ajoutée à chaque cryotube contenant 0,1 ml de HCl (0,25 N) et stérilisée à 121 °C durant 15 min. Après refroidissement à l'air ambiant, 1 µl des sucres standard (arabinose et galactose) et 3 µl de l'hydrolysate ont été déposés sur la plaque, qui a été introduite dans une chambre contenant le système de solvants : toluène- n-butanol-H<sub>2</sub>O-pyridine (1 : 10 : 6 : 6 v/v) afin de migrer jusqu'à ce que l'éluant soit à quelques millimètres du bord supérieur de la plaque de silice. Les glucides sont détectés en pulvérisant le réactif d'aniline-phtalate (**Annexe 1**) suivi d'un chauffage à 105 °C pendant 4 minutes. Les aldopentoses et les aldo-hexoses donnent respectivement une couleur rouge et brune (**Hasegawa et al., 1983**)

## 8 Activités favorisant la croissance des plantes des isolats sélectionnés

Les activités PGP (plant growth promoting bacteria) les plus couramment rencontrées chez les bactéries ont été évaluées pour tous les isolats sélectionnés. Ceci inclut la capacité à augmenter l'accessibilité des nutriments en solubilisant le phosphate ; ainsi que la production des sidérophores, acide indole-3-acétique, acide cyanhydrique, et de l'ammoniac.

### 8.1 Production d'auxine

La production de substances indoliques est effectuée selon le protocole de **Han et al. (2018)**. Pour chaque isolat, 10 microlitre de la suspension de spores (10<sup>8</sup> UFC ml<sup>-1</sup>) a été transféré dans des flacons contenant 25 ml de bouillon extrait de levure-tryptone (YM) (**Annexe 1**), supplémenté de quatre concentrations de L-Tryptophane (L-Trp) (1,25 à 7,5 mM). Les milieux ont été incubés à 28 °C sous agitation de 125 rpm pendant 5 jours, puis centrifugés à 11 000 g pendant 15 minutes. Dans une microplaque, 100 µl du surnageant ont été mélangés avec 200 µl de réactif de Salkowsky (**Annexe 1**) et incubés à 28 °C dans l'obscurité durant 30 min. Le développement d'une couleur rose-rouge révèle la production d'AIA. L'absorbance a été évaluée à 530 nm en utilisant un lecteur de plaques (PerkinElmer, Allemand). La quantité de substances indoliques est déterminée selon une courbe standard d'AIA synthétique. Pour chaque isolat, trois répétitions sont effectuées.

L'acétate d'éthyle a été utilisé pour l'extraction de l'AIA. Les échantillons positifs au test de Salkowsky ont d'abord été séchés puis solubilisés avec l'acétonitrile afin d'être évalués par

la chromatographie liquide à haute pression "HPLC" (Agilent 1260 Series, Agilent Technologies, USA) à travers une colonne C18 en phase inverse. L'eluant était acétonitrile/acide acétique/eau : 35/1/65, par un débit de 1 ml min  $\mu\text{g m}^{-1}$ . Une détection a été effectuée à 280 nm. Les quantités d'AIA détectées ont été mesurées à l'aide d'une courbe standard d'AIA commercialisée (Aouar *et al.*, 2016; Aouar *et al.*, 2021).

## 8.2 Solubilisation du phosphate

La solubilisation a été réalisée en utilisant trois milieux NPRIP, PVK et LB (Annexe 1). La capacité de solubilisation du phosphate a été évaluée comme positive lorsque le diamètre du halo clair autour des colonies après 20 jours de culture était  $\geq 5$  mm (Franco-Correa *et al.*, 2010; Wahyudi *et al.*, 2019).

En plus des milieux de culture solide, la solubilisation du phosphate a également été testée en milieux liquides NBRIP, PVK, et LB (Annexe 1). Les flacons ont été gardés pendant 10 jours à 30 °C sous agitation. Après centrifugation, le phosphate dans le surnageant a été évalué selon la technique de l'acide ascorbique (Passari *et al.*, 2015). La quantité de solubilisation a été déduite à partir d'une courbe d'étalonnage tracée en utilisant  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , estimées en mg dans 100 ml.

## 8.3 Test de mise en évidence et d'estimation de sidérophores

La verrerie a été lavée avec de l'eau distillée stérile, ensuite rincée avec 3 mole/l d'acide chlorhydrique (HCl) pour éliminer le fer. Pour évaluer la production de sidérophores, des techniques qualitatives et quantitatives ont été appliquées. La préparation du réactif CAS a été réalisée conformément à la méthodologie décrite par Arora et Verma (2017). En bref, une quantité de 20 ml de perchlorure de fer 1 mM ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) préparé dans 10 mM de HCl a été introduite dans 121 mg de CAS, qui avait déjà été dissous dans 100 ml d'eau pure. Par la suite, un volume de 20 ml de bromure d'hexadécyltriméthylammonium (HDTMA) stérile a été incorporé dans cette solution (729 mg de HDTMA dans 400 ml d'eau distillée).

### 8.3.1 Méthode qualitative

Les plaques de gélose CAS ont été obtenues en ajoutant 100 ml de réactif de CAS à 900 ml de milieu LB (Annexe 1) préalablement stérilisé. Les boîtes inoculées avec les disques d'isolats d'actinomycètes ont été incubées durant 7 à 10 jours à 28 °C et examinées pour l'apparition d'une zone jaune ou orange foncé atournant les disques d'actinomycètes (Arora and Verma, 2017).

### 8.3.2 Méthode quantitative

Une méthode de microplaque a été utilisée pour effectuer l'estimation quantitative des sidérophores produits par les isolats sélectionnés. Elle consiste en l'inoculation des souches dans le bouillon LB. Après 7 jours d'incubation à 30 °C, les surnageants obtenus ont été collectés après centrifugation des cultures à 10 000 g pendant 10 min. Un volume de 100 µl de surnageant a été mélangé avec 100 µl de révélateur CAS. Après incubation, l'absorbance a été évaluée à 630 nm en utilisant un lecteur de plaques. Une production accrue de sidérophores est indiquée par des valeurs plus faibles. Le pourcentage d'unités de sidérophores (psu) a été mesuré par la formule ci-dessous (**Chukwuneme et al., 2020**):

$$\frac{1}{4} (psu) = \frac{Ar - As}{Ar} \cdot 100$$

Ar = absorbance de témoin (milieu non ensemencé) et As = absorbance de l'échantillon (milieu ensemencé + réactif CAS).

### 8.3.3 Production de sidérophores type hydroxamate

Les isolats ayant présenté une réaction positive pour la production de sidérophores dans le test CAS ont été retenus. Un millilitre du surnageant a été combiné à 200 µl de FeCl<sub>3</sub> (100 mM FeCl<sub>3</sub> dans HCl 0,1M). La présence de sidérophores trihydroxamates est indiquée par une couleur orange, alors que les sidérophores dihydroxamates sont caractérisés par une couleur rose (**Lee et al., 2012**).

### 8.4 Production d'ammoniac

La production d'ammoniac a été réalisée sur milieu eau peptonée (**Annexe 1**). Un volume de 10 ml a été inoculé par 100 µl de chaque suspension de spores. Après une durée d'incubation à 30 °C durant 7 jours, 0,5 ml de réactif de Nessler a été ajouté à chaque tube. Une coloration jaune foncé a été notée comme positive (**Chukwuneme et al., 2020**). L'ammoniac produit a été évalué en mesurant l'absorbance à 530 nm, suivie d'une quantification à l'aide d'une courbe standard de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> exprimée en µg ml<sup>-1</sup> (**Passari et al., 2015**).

### 8.5 Production d'acide cyanhydrique (HCN)

Une suspension de 100 µl de spores de chaque isolat a été étalée sur milieu TSA (**Annexe 1**) supplémenté en glycine (4,4 g l<sup>-1</sup>). Un papier filtre de Whatman N°1 imbibé d'une

solution contenant de 2 % de carbonate de sodium et d'acide picrique (0,5%) a été placé au-dessus de l'agar et incubé pendant 7 jours à 30 °C. Un changement de couleur du papier vers le jaune / rouge-orange / brun indique un pouvoir cyanogène faible/modéré/élevé, respectivement (**Anwar et al., 2016**).

## 9 Mise en évidence de quelques activités enzymatiques

Les activités enzymatiques telles que la nitrate réductase, l'amylase, la caséinase, la cellulase, la catalase, la chitinase, la gélatinase, l'estérase, la tyrosinase, la pectinase, la lécithinase, la lipase, la lipoprotéinase, la pectinase, et l'asparaginase ont été évaluées selon les critères suivants:

### 9.1 Nitrate réductase

Selon la méthode de **Gordon and Smith (1955)**, des tubes de bouillon nutritif avec 0,1% de sel de nitrate inorganique de potassium sont inoculés et mis dans l'incubateur à 30 °C. Les réactifs de Griess (I) et (II) sont additionnés à raison de trois gouttes par 1 ml de culture après 14 jours d'incubation. La coloration rouge indique que les nitrates ont été transformés en nitrites. S'il n'y a pas de couleur, quelques microgrammes de poudre métallique de zinc sont ensuite additionnés :

- La coloration rouge est due à l'incapacité de la souche à convertir les nitrates présents dans le milieu (réaction négative).

- Absence de couleur : le nitrite est élaboré lors de la décomposition des nitrates.

### 9.2 Hydrolyse de l'amidon

Des cultures pures des isolats ont étéensemencées sur la gélose GBA (**Annexe 1**). Après 14 jours d'incubation, le milieu a été immergé dans une solution de lugol. La présence d'un halo clair entourant la colonie indique une production d'amylase (**Gong et al., 2018**).

### 9.3 Hydrolyse de la caséine

Un milieu stérile pour la décomposition de la caséine a été préparé en dissolvant 10 g de lait écrémé déshydraté avec 100 ml de l'eau pure. Un volume de 100 ml de l'eau pure contenant 3,6 % d'agar a été aussi stérilisé séparément. Ces deux solutions ont été mélangées et déposées dans des boîtes après avoir été refroidies à 45 °C. Après 10 jours d'incubation à 30 °C, la présence de zones claires entourant la colonie révèle l'hydrolyse de la caséine (**Gong et**

*al.*, 2018).

#### 9.4 Hydrolyse de la cellulose

Ce test est effectué en cultivant les isolat sur gélose nutritif (GN) (**Annexe 1**) additionnée de 1% de cellulose soluble conformément à la méthode de **Gong et al. (2018)**. Les boîtes sont incubées pour une durée de 7 jours à 30 °C . Pour visualiser la zone d'hydrolyse, l'agar est recouvert de réactif rouge Congo (1% p/v) (**Annexe 1**) pendant 30 minutes. Les colonies présentant des zones claires en forme d'un halo sont considérées comme productrices de cellulase.

#### 9.5 Production de catalase

Une colonie d'actinomycète isolée sur ISP2 a été placée dans une lame propre, avec d'une goutte de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Une réaction positive de catalase se traduit par la formation de bulles après le dégagement gazeux de dioxygène (**Chaiharn et al., 2019**).

#### 9.6 Production de chitinase

Des colonies d'actinomycètes ont étéensemencées sur milieu Colloidal Chitin Agar (CCA) (**Annexe 1**). celles présentant des zones claires en forme d'un halo après 7 jours d'incubation à 30 °C ont été considérées comme productrices de chitinase (**Chaiharn et al., 2019**).

#### 9.7 Production de gélatinase

Des isolats ont été inoculés dans un bouillon nutritif (**Annexe 1**) à base de gélatine (0,4%). Les tubes ont subi une période d'incubation de 21 jours à 30 °C suivie d'une autre incubation au réfrigérateur durant une heure. Si la gélatine reste liquide, cela signifie la présence d'une enzyme extracellulaire qui l'a hydrolysé, par contre l'état solide, signifie qu'elle n'a pas été attaquée (**Minotto et al., 2014**).

#### 9.8 Production d'estérase

Le test de l'estérase a été réalisé sur milieu Sierra (**Annexe 1**) additionné de tween 80. Les colonies présentant des zones claires en forme d'un halo opaque après 14 jours d'incubation à 30 °C ont été considérées comme productrices d'estérase (**Minotto et al., 2014**).

### 9.9 Production de tyrosinase

La décomposition est effectuée selon la méthode de **Gordon and Smith (1955)**, 1 g de tyrosine est dissous à 20 ml d'eau distillée (stérile). La suspension est ensuite complétée à 200 ml avec de l'agar-eau stérile. Les boîtes inoculés sont incubées durant 14 jours à 30 °C. La dégradation de la tyrosine est observée par un halo clair autour des colonies qui peuvent progressivement devenir brun.

### 9.10 Production de pectinase

Les isolats ont été inoculés sur MP7 (**Annexe 1**) ; après 14 jours d'incubation à 30 °C, les boîtes ont été immergées dans une solution d'acétate de cuivre (10%) durant 20 min. L'existence d'une activité pectinolytique est mise en évidence par l'apparition d'un halo distinct (**Djebaili et al., 2020**).

### 9.11 Production de lécithinase, lipase et lipoprotéinase

Selon la procédure décrite par **Djebaili et al. (2020)**, les colonies des isolats sélectionnés ont été ensemencées sur gélose ordinaire (GN) additionnée de jaune d'œuf. Après incubation des plaques à 30 °C durant 7 jours, l'existence d'enzymes a été estimée comme suit ; (1) Lipase : formation d'un halo blanc perlé, opalin, irisé, et huileux ; (2) Lipoprotéinase : formation d'un halo transparent autour de la strie d'ensemencement ; (3) Lécithinase : formation d'un halo opaque de billes blanches-jaunâtres, avec une extrémité claire sous la strie d'ensemencement ou sur les bords.

### 9.12 Production de l'asparaginase

La capacité de production de L-asparaginase des isolats d'actinomycètes a été testée par la méthode de **Saxena et al. (2015)**. Des plaques de milieu M9 modifié (**Annexe 1**) ont été employées, incorporant le rouge de phénol (0,005%) comme indicateur de pH. Une colonie est inoculée au centre de la surface de chaque plaque, incubée à 30 °C pendant 7 jours. L'activité de la L-asparaginase a été mesurée par la formation d'une zone rose entourant la colonie après 7 jours d'incubation. Les diamètres obtenus sont classés en 4 groupes : excellent (41-50), bon (31-40), moyen (21-30), faible (0-20 mm).

### 9.13 Coagulation et peptonisation du lait écrémé

Des tubes à essai contenant d'une solution de lait déshydraté à 10% (P/V) sont inoculés et incubés à 30 °C. Des constatations régulièrement effectuées durant 10 jours permettent de

détecter la peptonisation et la coagulation du lait (décomposition totale) (**Williams and Cross, 1971**).

## 10 Fixation d'azote

La fixation de l'azote a été réalisée en utilisant le milieu solide Azote Free Medium (AFM) (**Annexe 1**). Les isolats ont été également inoculés dans le milieu liquide AFM (**Annexe 1**) durant 7 jours à 30 °C. Les souches fixatrices d'azote ont une densité optique (DO<sub>600</sub>) supérieure à 0,050. Les souches qui ont une densité optique (DO<sub>600</sub>) inférieure à 0,010 sont considérées comme négatives pour la fixation de l'azote, et ayant une DO<sub>600</sub> comprise entre 0,010 et 0,050 ont été généralement classées comme fixatrices d'azote plus ou moins efficaces (**Giroux, 2015**).

## 11 Test d'antagonisme des isolats sélectionnés *in planta* contre *S. scabies* sur des plants de radis

### 11.1 Stérilisation et germination des radis

Les graines de radis (*Raphanus sativus* L.) ont d'abord été stérilisées dans l'éthanol à 70% sous agitation durant 4 minutes. Après avoir été lavés à l'eau, les radis sont traités avec deux solutions (SDS à 0,02% et l'eau de Javel à 10%), un autre lavage à l'eau est appliqué après chaque traitement. Des grains stériles sont répartis sur des boîtes de Pétri dans un milieu Agar-eau (1,5%). Pendant 72 heures, les boîtes sont incubées à l'obscurité à 30 °C pour la germination.

### 11.2 Pré-cultures de *Streptomyces scabies* et des isolats sélectionnés d'actinomycètes

Pour l'inoculation, 10 µl d'une suspension de spores (10<sup>8</sup> UFC ml<sup>-1</sup>), ont été ajoutés à 50 ml du milieu TSB (**Annexe 1**). Le milieu est incubé à 30 °C sous agitation (120 rpm) durant 72 heures. Après centrifugation à 4000 g durant 15 minutes, les culots obtenus ont été resuspendus dans un volume de TSB frais.

### 11.3 Assemblage des pochettes de croissance

La méthode utilisée est celle préconisée par **Aouar et al. (2021)**. Dans chaque pochette de croissance préalablement stérilisée (125 X 75 mm, Mega International) et contenant 2 ml de l'eau physiologique, six plantules ont été placées dans chaque pochette pour évaluer l'effet des isolats antagonistes sur la croissance des radis (*R. sativus*). Le contrôle négatif ne comportait que des semis et une solution de l'eau physiologique ; le contrôle positif a été

préparé en mélangeant 1 ml de l'inoculum pathogène (*S. scabies*) et 1 ml de l'eau physiologique. Le test de confrontation consiste à mélanger 1 ml de chaque inoculum (antagoniste et pathogène). Toutes les pochettes sont incubées dans une chambre de croissance (Phytotron) pendant 6 jours à 21 °C. Ensuite, les sachets ont été vidés de leur bouillon, et scannés, avant d'être analysés avec le logiciel WhinRhizo (V. 2002c) pour la mesure de la surface racinaire du plant.

## 12 Étude moléculaire des isolats d'actinomycètes sélectionnés

### 12.1 Extraction de l'ADN génomique

L'ADN total a été extrait selon la méthode indiquée par **Leblond *et al.* (1996) (Annexe 1)** :

- Un volume de 1ml de Tris-Hcl 10 mM a été ajouté à une culture âgée de 7 jours sur bouillon ISP2. Après centrifugation à 11000 g à 4 °C durant 10 min, le surnageant a été pipeté et un volume de 500 µl de Tris-Hcl 10 mM a été ajouté au culot et le mélange a été vortexé.
- Un volume de 20 µl du lysozyme (50 mg ml<sup>-1</sup>) a été ajouté à l'eppendorf, vortexé et incubé au bain à sec chauffant durant 40 min à 37 °C.
- Les volumes de 60 µl d'EDTA (0,5 M) et 10 µl de protéinase K (20 mg ml<sup>-1</sup>) ont été additionnés. Après l'incubation à 37 °C pendant 10 min, 60 µl à 10% de SDS a été ajouté, le mélange est ensuite incubé pour la deuxième fois à 50 °C durant 40 min.
- Les tubes ont été placés dans un bain de glace durant 10 min, après l'addition de 350 µl à 3 M d'acétate de potassium.
- Le surnageant obtenu après une centrifugation à 12000 g durant 10 min, a été additionné d'1 ml d'isopropanol.
- Après avoir constaté que l'ADN s'était précipité, une autre centrifugation à 10000 g pendant 1 minute a été réalisée afin de le récupérer.
- Les tubes ont été laissés ouverts à température ambiante durant 30 min, dans lesquels est ajouté 100 µl de tampon d'élution pour détecter la pureté et la quantité d'ADN. Les échantillons récupérés, ont été congelés à -20 °C jusqu'à utilisation.

#### 12.1.1 Contrôle qualitatif et quantitatif de l'ADN génomique extrait

La pureté de l'ADN est évaluée en examinant le rapport entre les absorbances à 260 nm

et 280 nm (A260/A280). Un rapport proche de 1,8 indique une pureté satisfaisante. Un rapport plus élevé suggère une contamination par les ARN, tandis que la présence de protéines ou de phénol diminue cette valeur. Le dosage de l'ADN est déterminé en mesurant son absorbance à 260 et 280 nm à l'aide du spectrophotomètre NanoDrop 8000 de ThermoScientific. La concentration d'ADN (C) est calculée en utilisant la formule  $C (\mu\text{g ml}^{-1}) = (A_{260}) \times 50$ . Il est recommandé que la concentration d'ADN dans l'échantillon doit être au moins  $20 \mu\text{g ml}^{-1}$ , et que le rapport d'absorbance entre les longueurs d'onde 260 nm et 280 nm soit compris entre 1,6 et 1,8.

### 12.1.2 Amplification par PCR du gène de l'ARN ribosomal 16S

L'amplification par PCR (Polymérase Chain Reaction) du gène de l'ARNr 16S a été exécutée en utilisant deux amorces universelles à savoir : la directe 27F (5' - AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG - 3') et la reverse 1492R (5'- CCG TCA ATT CCT TTG AGT TT- 3') (Monciardini *et al.*, 2002, Aouar *et al.*, 2012).

Le processus d'amplification est exécuté à l'aide d'un volume de 50  $\mu\text{l}$  et d'un thermocycleur. Chaque microtube est composé de 4  $\mu\text{l}$  d'ADN ( $200 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ ) et de 25  $\mu\text{l}$  d'un mélange réactionnel. Les détails de la composition du milieu réactionnel et des cycles utilisés sont décrits ci-dessous.

Le mélange réactionnel de PCR (Amplitaq Mastermix) contient les composants suivants :

- Taq polymérase (1,25 U) (Solis Biodyne, Estonie)
- $\text{MgCl}_2$  (3 mM) (Solis Biodyne, Estonie)
- Désoxynucléotide Triphosphate (dNTP) à 0,25 mM
- Tampon (1X)
- Amorces 27F
- Amorces 1492R
- $\text{H}_2\text{O}$  Ultra pure

La procédure d'amplification a été effectuée dans un thermocycleur (Bio-Rad, USA) selon les paramètres figurant dans le **Tableau 8**

**Tableau 8:** Paramètres d'amplification du gène d'ARNr 16S

<b>Dénaturation primaire</b>		2 minutes	94 °C
<b>30 cycles</b>	Dénaturation	1 minute	94 °C
	Amplification	1 minute	55 °C
	Elongation	1 minute	72 °C
<b>Elongation finale</b>		7 minutes	72 °C

## 12.2 Electrophorèse

L'électrophorèse des produits PCR est réalisée sur un gel d'agarose-TAE à 1 %. Une solution de chargement comprenant du bromophénol (0,25 % P/V), du xylène cyanol (0,25 % P/V), de l'EDTA (25 mM) et du glycérol (50 % V/V) est introduite dans les produits de PCR. La migration est effectuée dans un tampon TAE (Tris-HC 1,6 mM ; acétate de sodium 1,6 mM ; EDTA 0,04 mM ; pH : 8) à une tension de 120 volts. Pour surveiller l'électrophorèse, un marqueur moléculaire (échelle d'ADN Genruler™ 1KB) de 250 à 10 000 paires de bases est déposé dans un puits. Après migration, le gel est immergé dans une solution de bromure d'éthidium à 0,5% pendant 10 minutes, puis lavé à l'eau pendant 15 minutes. Les bandes d'ADNr 16S sont observées et capturées en plaçant le gel sous les rayons UV. Le bromure d'éthidium, qui s'insère entre les plaques de base de l'ADN, permet de voir les fragments d'ADN sous lumière ultraviolette à 300 nm.

Les données de la comparaison entre marqueur de taille et des fragments d'ADN amplifiés doivent indiquer que la taille de ces fragments se situe aux alentours de 1500 paires de bases.

## 12.3 Séquencage

Le séquencage a été effectué par le laboratoire Gene Life Sciences (Sidi Bel Abbès, Algérie) selon le protocole Applied Biosystems sur le séquenceur automatique (3500XL Genetic Analyzer/ HITACHI).

Pour chaque échantillon, une séquence composite a été obtenue en alignant deux séquences antérieures et deux séquences postérieures à l'aide de Bionumerics v3.5 (Applied Maths). L'évaluation visuelle des traces de séquences individuelles a été réalisée pour déterminer leur qualité, et toute séquence jugée de faible qualité a été modifiée puis

supprimée de l'ensemble de données. La recherche de similarités entre une séquence d'ADNr 16S et la base de données d'ADN (Gen Bank) du NCBI (National Center for Biotechnology Information) s'effectue à l'aide de l'outil d'alignement BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Cette étape permet d'identifier les séquences similaires par homologie et de classer l'isolat étudié dans un groupe taxonomique spécifique.

#### 12.4 Arbre phylogénétique

Le logiciel Mega-11 software a été utilisé pour effectuer une analyse génétique évolutive moléculaire en utilisant la méthode de voisinage (Neighbor-joining method). Cette analyse a abouti à la création d'une matrice de distance basée sur la comparaison des séquences d'ADN. Ensuite, cette matrice a été utilisée pour construire un arbre phylogénétique représentant les relations évolutives entre les séquences étudiées. Le *B. subtilis* a été utilisé comme out groupe (**Tamura *et al.*, 2013; Aouar *et al.*, 2020**).

#### 13 Analyse statistique

Toutes les expériences ont été réalisées en trois répétitions. Pour chaque résultat obtenu, la moyenne respective  $\pm$  l'écart type (SD) a été calculée. Le logiciel SPSS (Version 23) a été utilisé pour effectuer l'analyse des données. Une analyse de variance (ANOVA) suivie du test de Tukey (Tukey's HSD), LSD (Least Significant Difference) et Student a été effectué. Les graphiques ont été créés à l'aide du logiciel Graph Pad Prism version 6.0.

## 1 Caractéristiques physicochimiques des échantillons

Les valeurs de pH enregistrées sont résumées dans le **Tableau 9**. Les échantillons non rhizosphériques de M'sila ont présenté des valeurs de pH comprises entre 7,5 et 7,84, tandis que celles des échantillons rhizosphériques de Biskra sont comprises entre 7,92 et 8,28. Les sols prélevés dans la région de Biskra ont exhibé la conductivité la plus élevée (3,19 à 7,36 mS cm<sup>-1</sup>) par rapport à ceux prélevés à M'sila (1,57 à 2,40 mS cm<sup>-1</sup>). Les onze échantillons de sol diffèrent les uns des autres par leur capacité de rétention d'eau (pourcentages d'humidité). Tous les échantillons de M'sila révèlent de faibles pourcentages d'humidité (4,2 à 7,8%) par rapport à ceux des sols de Biskra (11,80 à 16,6%). Selon l'échelle de **Lee and Hwang (2002)**, les pourcentages de la matière organique des onze échantillons de sols sont faibles à très faibles.

**Tableau 9:** Propriétés physicochimiques du sol

Type de sol (région)	Sites	pH	Teneur en humidité (%)	Matière organique totale (%)	EC (mS cm <sup>-1</sup> )
<b>Rizosphérique (Biskra)</b>	Site 1 : Tolga	7,92 <sup>g</sup>	14,4 <sup>d</sup>	7,00 <sup>c</sup>	7,36 <sup>a</sup>
	Site 2 : Sidi Khaled	8,23 <sup>a</sup>	16,6 <sup>b</sup>	2,87 <sup>h</sup>	3,84 <sup>e</sup>
	Site 3 : Oumache	8,08 <sup>c</sup>	13,6 <sup>e</sup>	4,86 <sup>e</sup>	3,48 <sup>f</sup>
	Site 4 : Zeribet El Oued	8,14 <sup>b</sup>	15,6 <sup>c</sup>	7,10 <sup>b</sup>	3,91 <sup>d</sup>
	Site 5 : Chaiba	8,03 <sup>d</sup>	12,60 <sup>f</sup>	3,20 <sup>f</sup>	4,65 <sup>c</sup>
	Site 6 : Chegga	8,28 <sup>a</sup>	11,80 <sup>g</sup>	5,54 <sup>d</sup>	3,19 <sup>g</sup>
	Site 7 : El Feidh	8,25 <sup>a</sup>	19,23 <sup>a</sup>	2,24 <sup>j</sup>	5,54 <sup>b</sup>
<b>Non rhizosphérique (M'Sila)</b>	Site 8 : Université Mohamed Boudiaf	7,80 <sup>f</sup>	7,80 <sup>h</sup>	2,38 <sup>i</sup>	1,57 <sup>k</sup>
	Site 9: 300 m de l'université Mohamed Boudiaf	7,84 <sup>e</sup>	7,80 <sup>h</sup>	2,38 <sup>i</sup>	2,40 <sup>h</sup>
	Site 10 : Boukhmissa	7,50 <sup>h</sup>	6,00 <sup>i</sup>	7,23 <sup>a</sup>	2,15 <sup>i</sup>
	Site 11 : Boukhmissa à côté de la RN45	7,50 <sup>h</sup>	4,20 <sup>j</sup>	3,13 <sup>g</sup>	1,74 <sup>j</sup>

EC: conductivité électrique. Les valeurs avec des exposants différents (a, b, c) dans la même colonne présentent de différences significatives, d'après les analyses effectuées avec le test post hoc de Tukey (P< 0,05).

Les caractéristiques du sol (humidité du sol, taux de fertilité du sol, acidité, salinité, etc.) sont les principales influences sur la distribution, la composition des plantes et des communautés biologiques du sol. Parmi les propriétés du sol, la salinité est l'une des variables écologiques les plus importantes qui influencent la production, le développement et la viabilité des plantes. L'augmentation significative de la salinité du sol entraînera non seulement des effets néfastes sur les plantes, mais influencera également la composition et l'abondance des communautés biologiques du sol (**Shao et al., 2020**). La résistance élevée au sel et l'acidité sont deux caractéristiques souhaitables pour la sélection de microorganismes en vue du contrôle biologique. Dans cette étude, des échantillons du sol rhizosphérique et non rhizosphérique provenant de deux régions différentes caractérisées par un environnement semi-aride (de M'sila) et aride (de Biskra), ont été sélectionnés pour l'isolement des actinomycètes PGPB. Des prélèvements du sol rhizosphérique ont été collectés auprès de la plante halophyte *Atriplex halimus* L., qui est bien adaptée aux sols arides. Actuellement, les microorganismes présents dans la rhizosphère jouent un rôle majeur en tant que facteur essentiel pour préserver la santé des plantes grâce à des approches respectueuses de l'environnement. Des recherches ont établi que les actinomycètes sont les principaux microorganismes dans la rhizosphère et qu'ils sont particulièrement adaptés pour combattre les agents pathogènes des végétaux (**Putrie et al., 2020**). C'est pourquoi les actinomycètes rhizosphériques ont été choisis pour être étudiés en vue de leur potentiel antagoniste.

Les valeurs de pH des sols prélevés de Biskra sont globalement similaires à celles obtenues par **Khenaka et al. (2019)**, qui ont examiné des échantillons de sol rhizosphérique provenant de la même région, et ont constaté que le pH variait de 7,9 à 8,0. En utilisant comme référence l'échelle d'interprétation du pH de **Gagnard et al. (1988)** et les valeurs de conductivité électrique (CE) de **Richards (1954)**, les échantillons de sol de Biskra sont classés comme alcalins (à l'exception de celui de Tolga) et extrêmement salins par rapport à ceux de la région de M'sila, qui sont également alcalins mais présentent une faible salinité. Le problème de la salinisation n'est pas essentiellement attribué au manque de pluie qui favorise le transport du sel, mais plutôt aux taux élevés d'évaporation qui caractérisent le climat des régions arides et semi-aride. Dans l'ensemble, nos résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Aissaoui and Barkat (2020)** et **Nadia et al. (2018)**. Selon l'échelle de **Lee and Hwang (2002)**, le pourcentage de carbone organique des onze échantillons de sols est classé entre très faible, faible et modéré. Il a été démontré que le nombre d'actinomycètes est en corrélation positive avec le taux de matière organique et que de grandes populations d'actinomycètes

coïncident avec des niveaux relativement élevés de matière organique, indépendamment de la teneur en salinité du sol (Lee and Hwang, 2002).

## 2 Isolats d'actinomycètes rhizosphériques et non rhizosphériques

A partir des échantillons collectés, 116 (100%) isolats ont été obtenus, 43 isolats (37,07%) à partir des sols rhizosphériques de Biskra et 73 isolats (62,93%) à partir des échantillons non rhizosphériques de M'Sila (Tableau 10). Le milieu GBA a donné le plus grand nombre d'isolats (58 isolats) comparé aux autres milieux ISP5 (48 isolats) et ISP2 (10 isolats).

**Tableau 10:** Nombre d'isolats d'actinomycètes obtenus à partir des sols rhizosphériques et non rhizosphériques

Type de sol	Site	Milieux de culture			Total
		GBA	ISP2	ISP5	
Rhizosphérique	Site 1 : Tolga, Biskra	6 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	9 (7,76%)
	Site 2 : Sidi Khaled, Biskra	3	0	1	4 (3,46%)
	Site 3 : Oumache, Biskra	1	0	1	2(1,72%)
	Site 4 : Zeribet El Oued, Biskra	2	0	0	2 (1,72%)
	Site 5 : Chaiba	3 <sup>ab</sup>	1 <sup>b</sup>	5 <sup>a</sup>	9 (7,76%)
	Site 6 : Chegga	4 <sup>ab</sup>	2 <sup>b</sup>	6 <sup>a</sup>	12 (10,34%)
	Site 7 : Site 7 : El Feidh	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	5 (4,31%)
Non rhizosphérique	Site 8 : Université Mohamed Boudiaf, M'Sila	5 <sup>b</sup>	1 <sup>c</sup>	8 <sup>a</sup>	14 (12,07%)
	Site 9 : 300 m de l'université Mohamed Boudiaf, M'Sila	28 <sup>a</sup>	2 <sup>c</sup>	18 <sup>b</sup>	48 (41,38%)
	Site 10 : Boukhmissa, M'Sila	0	0	1	1 (0,86%)
	Site 11 : Boukhmissa à côté de la RN45, M'Sila	5 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	4 <sup>a</sup>	10 (8,62%)
	Total	58	10	48	116 (100%)

Les valeurs avec des exposants différents (a, b, c) dans la même ligne présentent de différences significatives, d'après les analyses effectuées avec le test post hoc de Tukey (P< 0,05).

Il a été démontré que les microorganismes rhizosphériques sont plus abondants et plus efficaces dans le contrôle des agents pathogènes des plantes en raison de l'abondance de la matière organique libérée par le système racinaire des végétaux (Kaur *et al.*, 2013; Gupta *et al.*, 2020). Dans notre étude, nous avons pu isoler un plus grand nombre d'isolats d'actinomycètes des sols de la région de M'sila que de ceux de la région de Biskra, malgré le

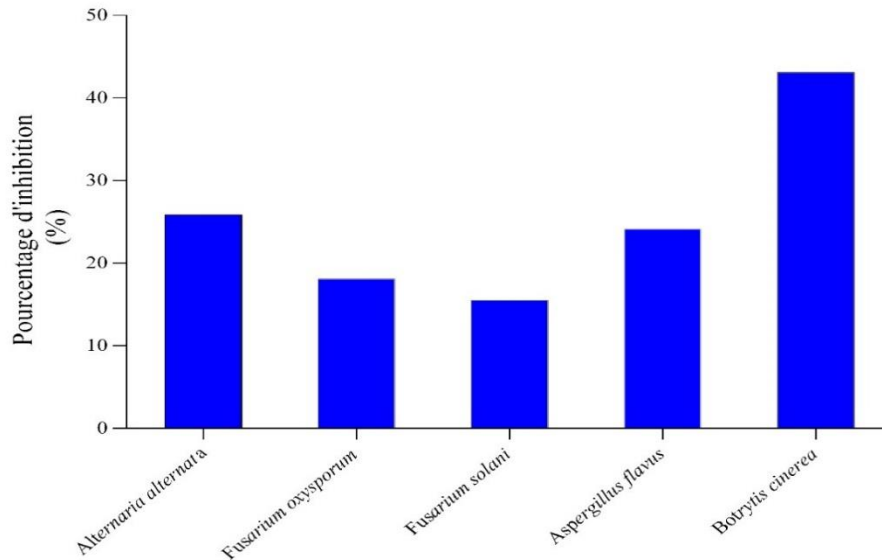
fait que les échantillons de sol de la première région étaient non rhizosphériques et pauvres en matière organique par rapport à ceux de Biskra. Cela est probablement dû au climat, qui est moins aride à M'sila. Le nombre d'isolats rhizosphériques obtenus dans l'étude actuelle est comparable à celui rapporté par **Gasmi (2017)** à partir des sols rhizosphériques situés à Laghouat (40 isolats). Cependant, il est inférieur à celui obtenu par **Loqman et al. (2009)** (142 isolats) au Maroc. De plus, les caractéristiques physicochimiques des sols examinés peuvent avoir un impact sur l'abondance, la croissance et la composition de la communauté des actinomycètes (**Smati and Kitouni, 2019**). Des résultats concordantes ont été obtenus par **Aouar et al. (2020)**, qui ont trouvé plus d'actinomycètes dans le sol de Biskra, qui est moins aride que celui d'El Oued. Le milieu de culture GBA a permis d'obtenir le plus grand nombre d'isolats. Ce milieu a fourni 50% des isolats par rapport aux milieux ISP2 et ISP5. Les ingrédients de chaque milieu de culture peuvent avoir un effet significatif sur l'isolement des actinomycètes, en favorisant la formation de spores. C'est le cas des milieux GBA et ISP5 par rapport à l'ISP2, qui sont riches en glycérol et possèdent une action significative sur la sporulation des actinomycètes (**Kontro et al., 2005**).

Le nombre élevé d'actinomycètes isolés à partir des échantillons de sol peut s'expliquer par la période d'échantillonnage réalisée en automne, plus précisément au mois de novembre. De plus, différents paramètres physicochimiques tels que la matière organique, le taux d'humidité et le pH exercent une influence considérable sur la diversité et l'abondance des actinomycètes présents dans le sol. En effet, au printemps, les actinomycètes constituent environ 20% de la flore microbienne du sol, tandis que cette proportion augmente de manière significative à plus de 30% pendant la saison automnale. Cette croissance est liée à l'abondance de résidus de plantes présents à cette période de l'année, fournissant ainsi une source de nutriments favorable à la prolifération des actinomycètes (**Loqman, 2009**).

### **3 Antagonisme contre les bactéries et les champignons phytopathogènes**

Pour évaluer le potentiel des isolats en tant que biostimulants et/ou agents de lutte biologique, il est essentiel de déterminer leur activité contre plusieurs microorganismes phytopathogènes. Dans notre étude, parmi les cent-seize isolats d'actinomycètes, une évaluation antifongique a été réalisée pour sélectionner les isolats les plus prometteurs dans la protection des plantes cultivées et de minimiser les pertes de récoltes qui en découlent. Les champignons testés sont : *A. alternata*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *A. flavus* et *B. cinerea*. Les données de l'activité antifongiques sont illustrées

dans la **Figure 6**.



**Figure 6:** Pourcentage des souches (%) présentant une activité antifongique contre les champignons phytopathogènes.

Parmi les 116 isolats testés, il a été observé que la majorité d'entre eux (43,10%) sont capables d'inhiber la croissance de *B. cinerea*. Ensuite, 25,86% des souches ont démontré leur capacité à supprimer *A. alternata*, tandis que 24,14% ont montré une inhibition d'*A. flavus*. De plus, 18,10% et 15,52% des souches étaient capables d'inhiber *F. oxysporum* et *F. solani*, respectivement. Les résultats de l'antagonisme sont présentés dans les **Tableaux 11** et **12**. Les cent cinq isolats non sélectionnés sont exposés dans le **Tableau 11**.

**Tableau 11:** Pourcentages d'inhibition fongique par les isolats d'actinomycètes non sélectionnés.

Isolats	Pourcentage d'inhibition (%)				
	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
A2	13,69±5,52	4,24±7,75	56,17±2,31	39,88±2,23	9,72±10,93
A3	19,64±2,91	10,30±2,27	53,09±10,07	40,48±4,45	45,83±0,00
A4	17,26±4,45	45,45±1,48	31,48±2,62	7,74±2,23	58,33±3,40
A7	7,74±3,67	6,06±3,09	42,59±1,51	48,81±2,23	65,28±7,85
A9	35,71±8,68	14,55±2,97	44,44±0,00	10,12±0,84	51,39±5,20
A10	8,3±3,03	53,94±2,27	29,01±0,87	14,88±2,23	43,06±1,96
A11	1,78±0,00	16,9±12,09	70,99±3,15	18,45±3,04	19,44±5,19
A12	42,26±3,37	32,12±3,74	12,96±4,00	27,38±1,68	0,00±0,00
A13	48,21±2,92	38,79±4,54	6,79±1,75	34,52±3,04	50,00±0,00
A14	14,88 ±3,04	47,27±3,93	42,59±2,62	11,31±2,23	79,17±0,00
A15	50,60±4,20	20,00±6,47	42,59±3,02	20,83±6,07	61,11±7,86
A16	58,93±0,00	15,15±2,27	14,81±3,02	7,26±3,66	44,44±3,93
A17	28,57±2,91	3,64±1,48	59,88±2,31	37,50±0,00	9,72±7,08
A18	35,71±2,53	25,45±1,48	8,64±3,49	11,90±3,37	66,67±6,81
A19	69,64±0,00	31,52±3,43	6,79±0,87	54,17±1,68	5,89±4,16
A21	44,04±5,90	39,39±2,27	7,41±2,62	7,14±5,05	16,66±0,00
A22	20,24±4,45	76,36±2,97	6,17±1,75	20±4,45	34,7±10,39
A23	4,17±0,84	34,55±2,96	43,83±3,49	2,38±1,68	66,67±5,89
A24	28,57±0,00	38,79±2,27	37,04±2,62	57,14±6,36	65,28±5,20
A25	31,55±1,68	42,42±3,74	10,49±5,31	34,52±3,04	23,61±5,17
A26	10,71±0,00	14,55±3,93	37,65±0,87	60,71±0,00	58,33±0,00
A27	77,98±3,66	20,00±5,35	9,88±2,31	44,64±1,46	51,39±1,96
A28	35,12±0,84	10,91±2,57	27,7±13,44	53,57±4,37	72,22±7,08
A29	40,48±3,04	17,58±7,02	8,64±3,15	59,52±0,84	52,78±1,97
A30	45,83±2,22	38,18±1,48	3,09±1,75	22,62±2,23	58,33±4,41
A31	10,71 ±2,53	14,55±3,93	45,06±3,14	62,50±0,00	50,00±6,81
A32	16,07±2,93	38,18±2,97	29,63±2,62	48,21±1,46	65,28±5,19
A33	26,79 ±2,92	11,52±5,21	46,91±2,31	19,05±2,22	63,89±8,56
A34	28,57±0,00	60,00±3,92	3,09±0,87	44,04±3,37	51,39±5,20
A35	3,57±1,46	35,76±0,86	37,04±4,00	50,60±1,68	50,00±6,81
A36	33,93±3,86	3,64±2,57	12,96±3,02	21,43±5,26	72,22±5,21
A37	3,57±2,92	33,91±4,53	25,93±1,51	72,02±3,04	54,17±5,90
A38	41,07±5,26	73,94±3,74	4,32±3,81	7,14±3,86	13,89±1,96
A39	69,64±6,36	35,15±3,09	4,32±1,75	35,71±0,00	41,66±0,00
A40	1,19±0,84	60,61±1,71	27,16±2,30	33,93±3,86	59,72±5,18
A41	22,62±6,07	44,85±4,54	18,52±3,02	55,36±3,84	61,11±7,09
A42	33,33±5,90	9,09±3,93	50,62±4,86	41,67±3,03	6,94± 5,2

A43	69,64±0,00	33,94±3,92	5,24 ±3,70	20,83±1,69	37,50±0,00
A44	86,3±13,67	31,52±2,27	1,51±1,85	3,57±2,53	59,72±1,97
A45	83,92±0,00	18,79±0,86	3,49±4,94	2,52±10,71	25,00±3,55
A46	26,19±2,22	34,55±4,45	50,00±3,02	36,60±5,12	16,67±0,00
A47	6,55±5,89	55,76±6,69	36,42± 3,81	38,69±3,65	52,78±3,93
A48	36,31±5,12	9,09±1,48	72,22±4,54	36,31±3,04	62,5±0,00
A49	2,38±0,85	24,24±3,74	84,57±2,31	28,57±1,46	55,56±1,96
A50	12,50±0,00	79,39±0,85	20,99±3,15	17,26±4,45	54,16±589
A51	1,79±1,46	6,66±5,22	33,95±3,81	54,17±4,45	5,55±7,86
A52	44,65±4,37	13,94±1,71	35,19±2,62	52,38±2,23	44,45±1,96
A53	20,83±0,84	18,18±0,00	53,09±2,32	32,74±2,23	12,5±0,00
A54	15,48±4,21	58,79±4,28	33,33±4,00	20,24±0,84	75,00±0,00
A55	53,57±4,38	5,45±1,48	35,19±1,52	39,29±2,52	43,05±13,75
A56	14,88±4,69	69,09±2,57	6,79±1,75	42,26±4,21	22,22±7,09
A57	16,07±3,85	37,58±5,21	34,57±2,30	26,79±1,46	65,28±1,96
A58	36,31±4,45	18,78±4,54	35,19±4,53	39,29±7,57	63,89±8,56
A59	77,97±3,37	7,27±1,48	17,90±4,62	28,57±2,52	58,33±5,89
A60	0,00±0,00	3,64±2,96	41,98±3,49	60,71±2,53	31,94±3,92
A61	19,4±5,52	45,45±0,00	37,65±8,32	40,47±3,66	11,11±7,85
A62	35,12±3,36	41,81±1,48	11,73±1,74	42,26±3,36	1,39±1,97
A63	28,57±2,53	73,94±0,86	12,34±3,14	37,5±5,25	56,95±12,88
A64	5,36±0,00	20,60±3,74	38,88±1,50	47,03±11,78	66,67±0,00
A65	72,62±4,45	14,55±0,00	20,98±3,14	44,04±5,89	34,72±9,82
A66	8,93±4,37	44,24±0,86	27,16±0,87	36,90±4,68	73,61±10,93
A67	22,62±6,07	8,48±2,27	40,74±0,00	30,36±0,00	29,17±0,00
A68	33,92±6,36	10,90±1,48	19,75±2,30	77,38±3,03	59,58±3,83
A69	5,95±5,12	62,42±1,71	38,88±3,02	24,40±1,68	25,00±10,21
A70	46,43±0,00	10,30±2,27	28,40±0,87	28,57±0,00	50,00±6,80
A71	73,81±1,67	4,85±4,78	21,60±4,36	44,04±3,65	47,22±1,96
A72	42,85±1,45	32,73±1,48	5,55±1,51	72,61±3,36	58,34±0,00
A73	20,83±4,21	43,64±2,97	8,02±2,30	21,42±4,37	62,50± 3,41
A74	81,55±1,68	04,24±3,43	24,07±3,02	32,14±1,45	51,38±8,56
A75	41,07±2,52	12,12±1,71	11,11±4,00	45,23±0,84	27,78±1,97
A76	09,52±3,37	40,60±3,10	28,39±2,31	59,52±3,66	47,22±8,56
A77	10,71±0,00	33,33±2,26	33,33±2,61	45,23±4,45	66,67±0,00
A78	64,29±0,00	1,81±0,00	39,50±3,14	37,5±4,37	52,77±3,92
A79	32,74±4,69	34,54±0,00	4,32±3,80	15,47±3,03	58,33±0,00
A80	08,93±2,53	38,18±2,96	18,51±5,24	07,14±2,53	51,38±7,08
A81	84,52±4,45	7,88±2,26	20,98±3,15	51,20±1,67	20,83±5,90
A82	38,10±7,19	44,84±1,70	21,60±4,62	57,14±5,25	0,00±0,00
A83	4,17±2,22	61,81±2,97	6,17±1,75	39,88±0,84	27,78±8,56
A84	14,88±1,68	33,34±2,27	30,25±3,49	31,54±1,68	68,06±3,93

A85	12,5±2,53	56,36±0,00	17,75±3,81	34,52±4,20	0,00±0,00
A86	42,26±3,66	45,45±2,57	0,00±0,00	5,36±0,00	27,77±12,88
A87	3,57±0,00	34,54±2,58	50,61±3,15	41,07±2,53	8,33±9,00
A88	52,97±0,84	13,94±4,29	13,58± 04,86	40,47±3,04	51,39±1,96
A89	3,36±5,25	53,33±1,72	23,46±2,31	49,40±2,23	58,33±5,89
A90	27,38±1,68	23,64±2,95	21,60±9,73	55,36±0,00	6,94±3,92
Act1	1,79±0,73	0,61±0,85	3,70±2,61	0,00±0,00	12,5±5,89
Act2	38,69±1,12	26,06±1,71	58,64±2,30	1,19±0,84	9,02±3,54
Act3	45,54±1,26	25,15±2,81	43,82±0,87	1,79±0,00	23,61±3,92
Act4	28,57±0,00	53,03±2,38	11,11±4,00	5,36±3,86	30,55±3,92
Act5	48,81±0,42	15,45±3,23	37,65±2,30	40,18±4,43	0,00±0,00
Act6	72,61±0,84	43,63±10,98	3,70±4,00	10,71±0,00	nd
Act7	16,66±1,68	9,09±0,00	40,74±4,00	0,00±0,00	16,66±0,00
Act8	9,52±0,84	4,24±4,77	32,71±3,14	45,83±3,37	41,67±9,00
Act9	36,31±4,67	21,81±2,96	4,32±3,14	2,38±1,68	13,88±1,96
Act10	60,12±3,67	5,45±2,57	25,92±0,00	65,18±2,63	nd
Act12	26,19±2,23	1,21±1,71	42,90±1,15	76,79±2,92	16,67±0,00
Act13	82,74±3,04	14,54±5,79	0,00±0,00	0,00±000	6,94±3,54
Act14	3,57±2,53	45,45±0,00	12,96±2,61	46,43±0,00	15,27±5,19
Act15	40,18±4,43	58,18±4,45	0,00±0,00	0,00±0,00	16,66±0,00
Act19	44,35±4,27	42,12±4,71	44,44±0,00	0,00±0,00	1,38±1,96
Act20	36,31±1,52	45,45±1,96	0,00±0,00	17,26±4,45	26,38±1,39
Act21	50,89±1,46	6,36±10,28	0,00±0,00	1,79±2,53	11,80±5,97
Act22	10,71±0,00	27,27±0,00	7,40±0,00	69,05±2,23	4,16±0,00
Act25	33,93±2,92	10±5,60	21,60±0,87	8,33±1,68	12,5±3,40
Act26	27,38±1,68	58,78±6,85	0,00±0,00	13,69±2,23	34,72±3,92

nd: Non déterminé

Sur la base des résultats de la confrontation contre les champignons , 11 souches ont été sélectionnées comme étant potentiellement prometteuses pour avoir inhibé au moins trois champignons sur les cinq testés (**Tableau 12**). Les isolats A1, A5, A20, Act11, Act16, Act17, Act18, Act23 et Act24 provenaient des sols rhizosphériques de Biskra, tandis que A6 et A8 ont été obtenus à partir des sols non rhizosphériques de M'sila. Les isolats A6, A5, A20, et Act11 ont montré un effet antagoniste très significatif contre *F. oxysporum* et *F. solani* avec des taux d'inhibition de 87,67%, 77,61% 77,59% et 76,03% pour le premier champignon et 75,85%, 80,68%, 63,98, et 75,47 pour le deuxième, respectivement.

**Tableau 12:** Pourcentages d'inhibition fongique par les isolats d'actinomycètes sélectionnés.

Isolats	Pourcentage d'inhibition (%)				
	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
<b>A1</b>	80,58±2,71 <sup>ab</sup>	12,06±5,99 <sup>de</sup>	77,18 ± 1,87 <sup>a</sup>	73,44 ± 3,10 <sup>a</sup>	8,45±6,81 <sup>c</sup>
<b>A5</b>	81,47±0,52 <sup>ab</sup>	77,61±1,65 <sup>ab</sup>	80,68 ± 1,51 <sup>a</sup>	4,84 ± 2,28 <sup>de</sup>	7,34±5,33 <sup>c</sup>
<b>A6</b>	87,33±4,11 <sup>a</sup>	87,67±1,03 <sup>a</sup>	75,85 ± 4,74 <sup>a</sup>	66 ± 3,27 <sup>ab</sup>	7,07±4,22 <sup>c</sup>
<b>A8</b>	81,75±1,95 <sup>ab</sup>	60,15±0,93 <sup>c</sup>	41,58 ± 0,72 <sup>c</sup>	64,06 ±0,51 <sup>b</sup>	9,97±5,03 <sup>c</sup>
<b>A20</b>	79,46±1,05 <sup>ab</sup>	77,59±1,85 <sup>ab</sup>	63,98 ± 0,91 <sup>b</sup>	74,24 ± 2,38 <sup>a</sup>	73,39±4,16 <sup>a</sup>
<b>Act11</b>	72,60±4,28 <sup>b</sup>	76,03±3,13 <sup>b</sup>	75,47±2,73 <sup>a</sup>	10,95±1,35 <sup>d</sup>	15,74±8,28 <sup>c</sup>
<b>Act16</b>	80,65±4,00 <sup>ab</sup>	6,39±4,85 <sup>e</sup>	4,75±2,94 <sup>e</sup>	71,90±2,23 <sup>ab</sup>	67,80±6,71 <sup>a</sup>
<b>Act17</b>	81,33±1,86 <sup>ab</sup>	5,12±2,30 <sup>e</sup>	58,06±1,12 <sup>b</sup>	1,20±4,67 <sup>e</sup>	52,00±8,49 <sup>ab</sup>
<b>Act18</b>	69,50±2,96 <sup>c</sup>	50,95±1,37 <sup>c</sup>	2,95±2,22 <sup>e</sup>	60,36±4,19 <sup>bc</sup>	41,21±3,63 <sup>b</sup>
<b>Act23</b>	82,51±2,75 <sup>ab</sup>	7,71±1,39 <sup>e</sup>	65,23±3,87 <sup>b</sup>	10,91±2,75 <sup>d</sup>	54,40±8,16 <sup>ab</sup>
<b>Act24</b>	72,03±4,02 <sup>b</sup>	19,22±4,12 <sup>d</sup>	14,92±3,54 <sup>d</sup>	62,80±0,59 <sup>b</sup>	3,94±3,26 <sup>c</sup>

Moyennes ± écart-type. Les valeurs avec des exposants différents (a, b, c) dans la même colonne diffèrent significativement, selon le test post hoc de Tukey (P > 0.05).

Le pourcentage des isolats actifs contre *F. oxysporum* s'est révélé supérieur à celui obtenu par **Kitouni et al. (2005)** lors de leur étude sur des échantillons de sol non-rhizosphérique provenant d'une région semi-aride dans le Nord-Est de l'Algérie. *A. alternata* a montré une grande sensibilité vis-à-vis ces onze isolats. Parmi les isolats sélectionnés, seulement 4 isolats (A20, Act16, Act17, Act23), se sont avérés efficaces contre *B. cinerea*. Donc, ce dernier se révèle être le plus résistant parmi les champignons testés. Il est à noter que l'A20 était capable de réduire la croissance de tous les champignons testés.

Dans une étude menée par **Aghighi et al. (2004)**, 110 isolats d'actinomycètes telluriques ont été examinés pour leur activité contre des champignons phytopathogènes, parmi lesquels 14 isolats se sont révélés actifs contre *Alternaria solani*, *A. alternate*, *F. solani*, *Phytophthora megasperma* et *Verticillium dahlia*. Des résultats similaires ont été rapportés par divers auteurs, dont **Evangelista-Martínez et al. (2020)**, qui ont évalué l'efficacité des actinomycètes dans l'inhibition de la croissance d'*Alternaria* sp., *Rhizoctonia* sp., *Botrytis* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp. et *Colletotrichum* sp., avec des taux d'inhibition variant de 30 à 63%.

Durant nos expérimentations d'antagonisme réalisées *in vitro*, les résultats ont clairement révélé une activité antagoniste, mais les mécanismes par lesquels ces isolats d'actinomycètes pourraient antagoniser la croissance des champignons phytopathogènes n'ont pas été élucidés. Cependant, certains auteurs ont déjà indiqué que l'action inhibitrice sur *Fusarium* est due à la

production d'antibiotiques par l'antagoniste (Ziedan *et al.*, 2010; Slama *et al.*, 2019) où à la compétition pour les nutriments (Rakotoarimanga *et al.*, 2014). Nos résultats sont encourageants car, comme l'ont indiqué Lee and Hwang (2002), dans la majorité des cas, les antagonistes ayant une activité antifongique *in vitro* sont également actifs *in planta*.

Pour cribler les isolats d'actinomycètes antagonistes, les chercheurs ont utilisé la technique des cylindres d'Agar sur milieu solide. En effet, des recherches antérieures ont confirmé que le milieu solide offre les conditions optimales pour la croissance des actinomycètes et la production d'antibiotiques (Anibou *et al.*, 2008 ; Baskaran *et al.*, 2011). Effectivement, des variations quantitatives et qualitatives ont été rapportées dans les antibiotiques produits par différents genres et espèces d'actinomycètes (Baskaran *et al.*, 2011). Ces différences ont été largement influencées par les conditions du milieu et les habitats dans lesquels les isolats ont été trouvés. Les paramètres environnementaux tels que les variations climatiques, l'apport en nutriments, les propriétés du sol peuvent avoir une influence significative sur la capacité des actinomycètes à synthétiser des antibiotiques (Baskaran *et al.*, 2011).

De plus, la compétition entre les différentes souches bactériennes dans leur environnement naturel peut aussi influencer la régulation de la production d'antibiotiques. Les actinomycètes ont développé cette capacité de synthèse d'antibiotiques en réponse à la pression sélective exercée par leur environnement pour survivre et se défendre contre d'autres organismes concurrents (Nguyen *et al.*, 2020). Ces découvertes soulignent l'importance de bien comprendre les mécanismes d'interaction complexes entre les actinomycètes et leur environnement, ainsi que la nécessité de recherches approfondies pour exploiter pleinement le potentiel des actinomycètes en tant que source précieuse d'antibiotiques et d'autres produits bioactifs.

Les tests *in vitro* réalisés contre les bactéries phytopathogènes ont révélé seulement deux isolats antagonistes (les résultats figurent dans le **Tableau 13**). De manière intéressante, l'isolat Act18 a inhibé les deux bactéries testées. Néanmoins, *S. scabies* s'est avéré plus résistant que *P. carotovorum*, en montrant une zone de 21 mm (**Annexe 2**). Cependant, Act24 n'a antagonisé que *P. carotovorum* (20 mm).

**Tableau 13:** Résultats des activités antibactériennes des isolats sélectionnés contre les bactéries phytopathogènes et cliniques

Bactérie pathogènes	Diamètre d'inhibition (mm)										
	A1	A5	A6	A8	A20	Act11	Act16	Act17	Act18	Act23	Act24
<b>Bactéries phytopathogènes</b>											
<i>S. scabies</i>	n.i	n.i	n.i	n.i	n.i	n.i	n.i	n.i	19,00 ± 0,41	n.i	n.i
<i>P. carotovorum</i>	n.i	n.i	n.i	n.i	n.i	n.i	n.i	n.i	21,66 ± 0,47	n.i	20,00± 0,82
<b>Bactéries cliniques à Gram positif</b>											
<i>B. cereus</i> (ATCC10876)	21,83±0,62 <sup>a</sup>	12,33±2,05 <sup>b</sup>	n.i	n.i	5,00±1,63 <sup>c</sup>	n.i	22,33±2,05 <sup>a</sup>	21,67±0,47 <sup>a</sup>	n.i	6,00±1,63 <sup>c</sup>	n.i
<i>M. luteus</i> (ATCC4698)	50,33±1,25 <sup>b</sup>	38,173±0,26 <sup>d</sup>	n.i	30,33±1,24 <sup>e</sup>	5,00±0,82 <sup>f</sup>	42,33±1,25 <sup>c</sup>	n.i	n.i	55±0,00 <sup>a</sup>	5,33±1,24 <sup>f</sup>	n.i
<b>Bactéries cliniques à Gram négatif</b>											
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC27853)	n.i	n.i	n.i	50,00±0,00 <sup>b</sup>	51,67±0,47 <sup>a</sup>	n.i	n.i	n.i	n.i	21,33±0,47 <sup>c</sup>	n.i
<b>Levures</b>											
<i>C. albicans</i> (ATCC 10239)	58,15±1,30 <sup>a</sup>	n.i	n.i	n.i	n.i	53,55±0,47 <sup>b</sup>	54,67±1,25 <sup>b</sup>	n.i	n.i	n.i	n.i

n.i.: pas d'inhibition. Les valeurs avec des exposants différents (a, b, c) dans la même ligne diffèrent significativement, d'après les analyses effectuées avec le test Student et le test de Kruskal-Wallis (P> 0,05).

Sur les 11 isolats, neuf ont démontré une activité antimicrobienne à large spectre sur Muller-Hinton (**Tableau 13**). Cette activité est probablement due à une concentration élevée de molécules bioactives libérées, ce qui entraîne une diffusion plus rapide et conduit ainsi à une zone d'inhibition significative (**Koch, 1999**). Selon l'étude de **Boudemagh et al. (2005)**, les variations des zones d'inhibition s'expliquent par le fait qu'une souche d'actinomycètes peut produire plusieurs molécules antimicrobiennes avec différents modes d'action. D'après les résultats de cette étude, il apparaît que l'action antibactérienne des isolats est généralement plus marquée sur les bactéries Gram-positives que sur les bactéries Gram-négatives. Ces conclusions corroborent avec les observations des études antérieures où les isolats d'actinomycètes ont démontré une activité élevée contre les bactéries Gram-positives (**Song et al., 2014**), mais une activité relativement faible contre les microorganismes Gram-négatifs tels que *P. aeruginosa* (**Saadoun et al., 1999; Djebbah et al., 2021**).

La variation de sensibilité entre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives pourrait être attribuée aux différences morphologiques entre ces deux types de microorganismes. En effet, les bactéries Gram-négatives possèdent une enveloppe externe en polysaccharides contenant des composants structuraux lipo-polysaccharidiques, ce qui rend leur paroi cellulaire imperméable aux solutés lipophiles. En revanche, les bactéries Gram-positives sont plus fragiles car elles n'ont qu'une enveloppe externe de peptidoglycane qui ne constitue pas une barrière de perméabilité performante (**Ismail et al., 2015; Alexander et al., 2018**).

Notre étude a révélé aussi que trois souches étaient très actives non seulement contre les bactéries Gram-positives, mais également contre *C. albicans*. Cette détection simultanée d'activité contre les bactéries et les levures suggère, probablement, que ces souches produisent des composés antimicrobiens à large spectre avec différentes activités (**Basilio et al., 2003**) ou qu'il existe potentiellement une substance antimicrobienne capable de traverser à la fois les parois cellulaires bactériennes et fongiques (**Sacramento et al., 2004**).

Environ 18,18 % des isolats n'ont pas montré une activité envers les bactéries pathogènes d'importance clinique et la levure (*C. albicans*), mais ils pourraient produire d'autres composés utiles qui n'ont pas été testés dans cette étude. Généralement, chaque souche d'actinomycètes possède entre 10 et 20 gènes codant pour des métabolites secondaires (**Tanaka et al., 2013**).

#### **4 Identification morphologique, physiologique, biochimique et chimiotaxonomique des isolats sélectionnés**

Les caractéristiques morphologiques, physiologiques ou chimiotaxonomiques servent de fondement aux descriptions des espèces et des genres. Cette classification a été examinée au cours des 20 dernières années et s'est avérée conforme au regroupement phylogénétique basé sur l'ARNr 16S.

Les résultats des caractéristiques morphologiques sur milieu ISP2 sont portés dans le **Tableau 14**. Le milieu ISP2 a permis la bonne croissance de la majorité des isolats testés. Tandis que, les caractéristiques morphologiques sur milieux les autres milieux à savoir : GBA, ISP4, et ISP5 sont répertoriées dans l'**Annexe 2**.

**Tableau 14:** Caractères cultureux des isolats d'actinomycètes sur milieu de culture ISP2

<b>Souches/ ISP2</b>	<b>A1</b>	<b>A5</b>	<b>A6</b>	<b>A8</b>	<b>A20</b>	<b>Act11</b>	<b>Act16</b>	<b>Act17</b>	<b>Act18</b>	<b>Act23</b>	<b>Act24</b>
<b>Taille Relief Allure</b>	Moyenne Bombée Régulière	Pincti forme Semi bombée Non Régulière	Grande Bombé Non Régulière	Grande Plate Non Régulière	Moyenne Plate Régulière	Moyenne Semi bombée Non Régulière	Grande Plate Régulière	Grande Plate Régulière	Moyenne Plate Régulière	Grande Plate Régulière	Pincti forme Bombée Non Régulière
<b>Mycélium aérien</b>	Jaune clair	Jaune clair	Blanc cassé	Jaune clair	Orange	Jaunâtre	Beige	Centre : beige Bordure : gris foncé	Jaune pale	Beige	Jaune pale
<b>Mycélium de substrat</b>	Jaune/ Marron	Marron	Jaune pale	Jaune marron	Ivoire/ Beige	Jaunâtre	Marron	Centre : beige Bordure : beige	Marron	Beige	Centre : beige Bordure : Marron
<b>Pigments diffusibles</b>	-	-	-	-	Orange/ Jaune	-	-	-	-	-	-
<b>Masse de spores</b>	Gris	Blanche/ Olive	-	Blanchâtre/ Beige pale	Brun vendâtre	Beige	Violette	Gris	Beige	Rose	-
<b>Chaîne de spores</b>	RF	RA/ Retinaculum	Spiral/ RA	RA/ Retinaculum	RF	RA	RA	RF	Spiral/RA	RF	RA
<b>Filaments</b>	Courts, enchevêtrés, minces	Longs, minces	Longs, minces, dispersés	Courts, épais	Très courts, minces	Longs, minces, dispersés	Longs, minces	Courts, enchevêtrés, minces	Longs, mince	Longs, mince	Courts, enchevêtrés, épais
<b>Croissance</b>	Bonne	Bonne	Modérée	Bonne	Modérée	Bonne	faible	Très faible	Modérée	Faible	Modérée
<b>Vitesse de croissance</b>	3 jours	5 jours	7 jours	7 jours	7 jours	4 jours	8 jours	14 jours	7 jours	7 jours	7 jours

RF/ Rectiflexibles (chaînes de spores droites à flexueuses) ; PA: Retinaculum Apertum (chaînes de spores en crochets ou en boucles fermées)

L'étude des caractères culturels des isolats d'actinomycètes sur les milieux de culture solides recommandés par l'International *Streptomyces* Project a révélé une très grande variabilité entre les souches étudiées. Certaines actinomycètes ont formé des colonies de grandes tailles, tandis que d'autres ont produit des colonies de petites tailles avec des formes variables, telles que des colonies en forme de bâtonnets, semi-bâtonnets ou aplaties. Ces colonies ont généralement présenté un aspect encastré dans la gélose, avec une apparence microscopique filamenteuse, se colorant en Gram positif.

Parmi les milieux de culture testés, les milieux ISP2, ISP5 et GBA se sont avérés être les meilleurs supports de croissance pour la majorité des actinomycètes étudiés. Ils ont favorisé une croissance vigoureuse et une bonne prolifération des colonies. En ce qui concerne la sporulation, les milieux ISP5, GBA ont également été ceux qui ont produit la meilleure sporulation pour la majorité des souches étudiées. Cela signifie que ces actinomycètes ont produit un grand nombre de spores, ce qui est crucial pour leur reproduction et leur survie.

L'utilisation de différents milieux de culture permet de déterminer la capacité de croissance des actinomycètes en utilisant diverses sources de carbone. Une croissance abondante des colonies d'actinomycètes suggère que l'isolat a efficacement utilisé une source de carbone spécifique, comme confirmé par **Sharma et al. (2014)**. En revanche, une croissance légère ou médiocre indique que le substrat présent dans la gélose (source de carbone) n'est pas adéquat pour la souche testée, comme rapporté précédemment par **Muiru et al. (2008)**. D'autres études ont également obtenu des résultats similaires, notamment celles de **Benhadj et al. (2019)**. Ils ont observé une bonne croissance et une bonne sporulation des actinomycètes, en particulier du genre *Streptomyces*, dans le milieu ISP2. En comparaison avec le milieu ISP2, les milieux GBA et ISP5 offrent des caractéristiques spécifiques qui favorisent une bonne sporulation. Le rôle crucial dans ce processus est attribué au glycérol, un composant essentiel présent dans les milieux GBA et ISP5. Il agit comme une source de carbone alternative pour les actinomycètes, ce qui encourage la production de spores. La présence de glycérol dans le milieu GBA crée ainsi des conditions propices à la formation de masse de spores par les actinomycètes (**Kontro et al., 2005**). Ces observations révèlent l'importance fondamentale de sélectionner soigneusement les sources de carbone dans les milieux de culture afin de favoriser la croissance optimale des actinomycètes étudiés.

Les onze isolats peuvent être classés en cinq séries en fonction de la couleur de leur masse de spores sur milieu ISP2 : les isolats A1, A5, A8 et Act11 sont regroupés dans la série jaune, tandis que les isolats A20, A6 et Act24 appartiennent respectivement aux séries orange,

blanche et grise. Les autres souches présentent une couleur beige (**Figure 7**).

Les colonies d'actinomycètes se distinguent par leur aspect filamenteux typique. À l'exception d'Act24, les colonies des autres souches étaient sèches et présentaient un mycélium aérien sporulé (sur milieu ISP2), avec une variété de pigmentation variant du beige, gris, olive, pourpre, blanc ou rose. Le revers des colonies montrait une pigmentation brune, beige et jaune. Les colonies d'Act18 et d'Act23 présentaient une surface rugueuse, se démarquant des autres colonies lisses. La présence de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) dans le milieu ISP2, est un élément essentiel pour la sporulation des actinomycètes. Ce composé favorise à la fois la croissance et la production d'antibiotiques par ces microorganismes. Cette influence positive est probablement due à deux facteurs : son pouvoir tampon qui maintient un pH optimal dans le milieu de culture, et sa capacité à séparer les agrégats de mycélium, facilitant ainsi les échanges de nutriments et de métabolites. Ces propriétés de  $\text{CaCO}_3$  contribuent à créer un environnement propice pour la formation de spores et la synthèse d'antibiotiques par les actinomycètes, ce qui en fait un ingrédient clé dans les milieux de culture pour la recherche et l'étude de ces microorganismes (**Lamari, 2006**).

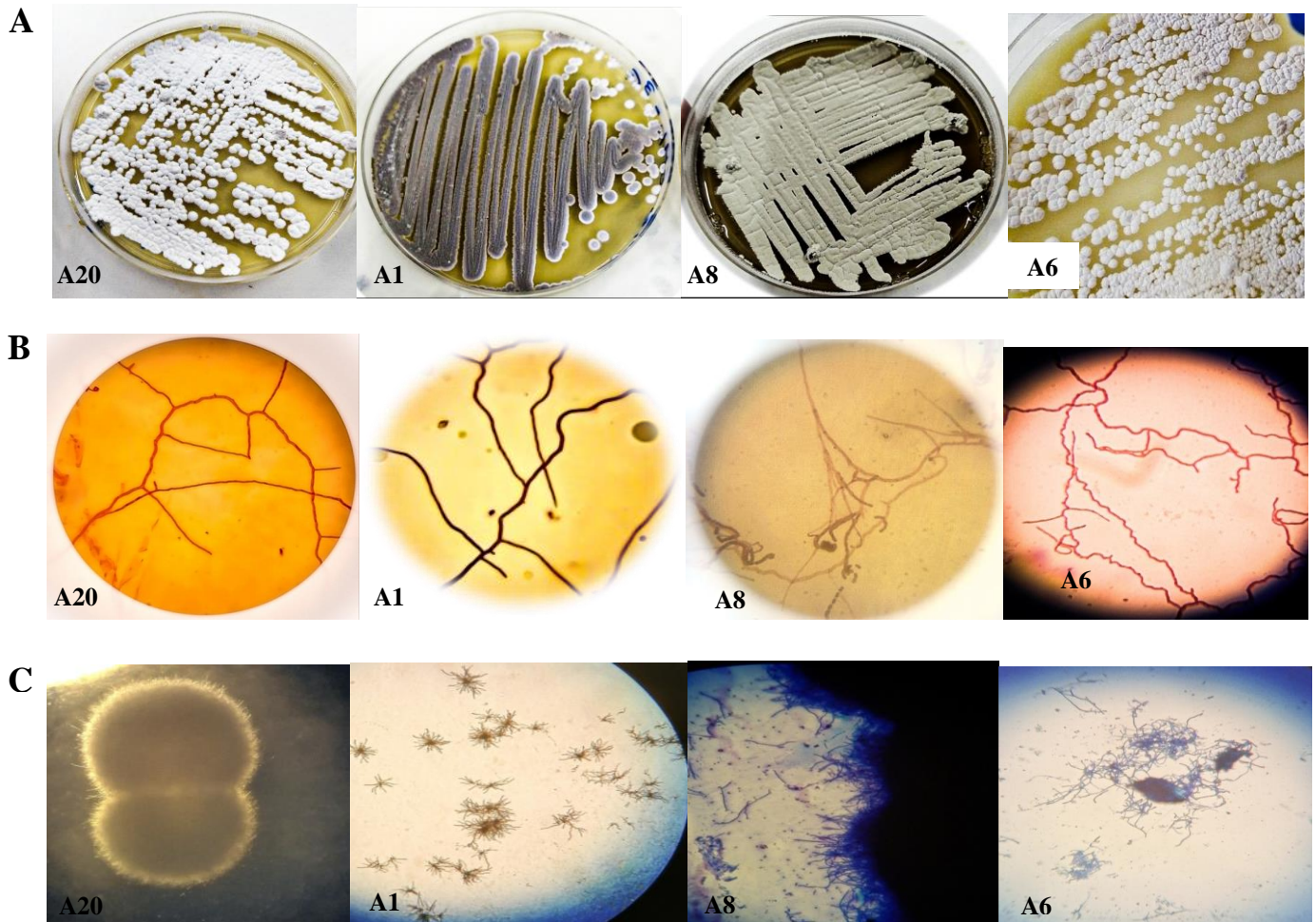
Un aspect intéressant de cette étude concerne la production des pigments par les différentes souches d'actinomycètes. La production des pigments variait en fonction du milieu de culture utilisé et des aptitudes propres à chaque souche. Certains milieux ont stimulé une production plus importante de pigments colorés. Parmi les onze isolats, seuls A20, act16, act18 ont montré la production de pigments diffusibles. Ces résultats sont essentiels pour approfondir notre compréhension de l'écologie et de la biologie de ces actinomycètes et ouvrent de nouvelles opportunités de recherche dans le domaine de la microbiologie et de la biotechnologie. L'étude approfondie des caractères cultureux contribuera à mieux caractériser ces microorganismes et pourrait avoir des applications potentielles dans divers domaines, tels que la production de substances bioactives, la bioremédiation ou encore la recherche de nouveaux antibiotiques (**Basavaraj et al., 2010**).

Les colorants synthétiques présentent certaines limites, comme l'usage de composants chimiques nocifs lors de leur fabrication, la sécurité des travailleurs et la formation de résidus toxiques (**de Gerlache and Isnard, 2012**), ce qui explique l'intérêt des pigments à base de microbes (**Usman et al., 2017**). Les actinomycètes élaborent divers antibiotiques sur les milieux synthétiques ou naturels qui sont parfois considérés comme des pigments (**Anandan et al., 2016**). La formation de ces pigments est impactée par divers éléments tels que la température, l'aération, les sources d'azote et de carbone, ainsi que le pH du milieu.

Cependant, la composition chimique exacte de ces pigments reste largement méconnue (**Amal et al., 2011; Gmoser et al., 2018**). Cette formation est généralement associée à des mécanismes de défense et à la protection contre les ultraviolets, ainsi qu'aux mécanismes respiratoires nécessaires pour protéger le système nitrogénase impliqué dans la fixation de l'azote (**Solano, 2014**).

Les isolats Act16, Act17, Act18, Act23 et Act24 démontrent une production de pigments mélanoïdes diffusibles lorsqu'ils sont cultivés sur le milieu ISP7. Ces derniers ont la capacité de produire des pigments sombres, mélanoïde ou mélanine, qui est un critère essentiel pour la réalisation d'études taxonomiques (**Manivasagan et al., 2013; Abou-Dobara et al., 2019**). Il est essentiel de comprendre que certaines souches d'actinomycètes ne produisent pas les pigments mélanoïdes. Ce processus, qui est impliqué dans la production de la mélanine chez ces bactéries, peut être altéré ou inhibé dans certaines conditions. Ces altérations peuvent être causées par des facteurs génétiques, environnementaux ou pathologiques propres aux actinomycètes.

Des hyphes minces, ramifiés et non septés du mycélium aérien des souches sont visibles au microscope dans le. L'observation microscopique des cultures sur lamelles a révélé de longues chaînes de trois types : rectiflexible (RF), spirale (S) et retinaculum apertum (RA) qui sont portées par l'extrémité des hyphes. Les spores sont rondes et non mobiles. Le mycélium du substrat est long, dense et ininterrompu (**Figure 7**).



**Figure 7:** A) Examen macroscopique des colonies d'actinomycètes ensemencées dans la surface d'ISP2 (A20, A1, A8, A6), après 10 jours d'incubation ; B) Examen microscopique des lamelles des souches au grossissement  $\times 1000$  ; C) Examen microscopique des souches au grossissement  $\times 400$  .

#### 4.1 Étude chimiotaxonomique

Tous les isolats se développent rapidement, ce qui suggère l'absence d'acides mycoliques dans leurs parois cellulaires. L'hydrolysât de la paroi cellulaire de tous les isolats a révélé un isomère de L-DAP comme composant principal du peptidoglycane. De plus, aucun sucre caractéristique (galactose ou arabinose) n'a été remarqué dans l'hydrolysât de cellule entière. Selon les recommandations de **Goodfellow *et al.* (2012)**, la présence de l'isomère L-DAP et l'absence de sucres caractéristiques suggèrent la présence du chimiotypage pariétal I, qui est fréquemment observé chez les bactéries du genre *Streptomyces* et des genres apparentés. De plus, tous les isolats ont émis une odeur caractéristique de terre humide, typique des actinomycètes, en particulier du genre *Streptomyces*, ce qui renforce l'hypothèse

selon laquelle ces isolats pourraient appartenir à ce genre bactérien. Les caractéristiques que nous avons observées sont en parfaite cohérence avec les résultats obtenus dans d'autres études portant sur des actinomycètes. Il est également pertinent de mentionner que les *Streptomyces* ont été largement identifiés comme les bactéries les plus abondantes dans le sol (Cordovez *et al.*, 2015). Dans d'autres recherches similaires, un pourcentage significatif de *Streptomyces* a été isolé par rapport à d'autres genres bactériens (Ding *et al.*, 2013). Cette constatation renforce encore notre compréhension de l'importance potentielle des *Streptomyces* dans cet environnement spécifique.

#### 4.2 Caractères physiologiques et biochimiques

Les résultats des caractères physiologiques et biochimiques sont portés dans le **Tableau 15**. Toutes les souches ont une croissance rapide et des capacités variables pour assimiler les sucres, les acides organiques, les sucres alcool comme sources de carbone et les acides aminés (lysine, glycine, asparagine, aspartate, et arginine) comme sources d'azote. Les isolats A20, Act16 et Act17 ont démontré une résistance à deux types d'inhibiteurs (0,01 % de tellurite de potassium et 0,1 % de phénol). En revanche, les isolats A5, A8 et Act11 se sont révélés sensibles à 0,01 % de tellurite de potassium et 0,1 % de phénol, respectivement.

En plus de leur capacité à se développer dans des conditions environnementales variables, tous les isolats ont poussé dans une gamme de pH allant de 5 à 11, avec une croissance optimale à un pH de 7. En revanche, aucune croissance n'a été observée à un pH de 13. Kontro *et al.* (2005) ont indiqué que les *Streptomyces* spp. se développent et sporulent dans une plage de pH allant de 4 à 11,5.

La plupart des isolats ont bien poussé sur un milieu contenant 2,5 % et 5 % de NaCl, tandis que les isolats A6, Act16, Act17 et Act23 ont également montré une tolérance à une concentration de 7 % de NaCl, ce qui est un résultat remarquable, notamment dans l'optique où la tolérance à des niveaux élevés de NaCl peut être considérée comme un avantage pour un candidat envisagé en tant qu'agent de biocontrôle. Manikkam *et al.* (2015) ont isolé des souches de *Streptomyces* du désert du Thar, Rajasthan, qui n'ont pas réussi à se développer au-delà de 6% de NaCl. De plus, la gamme optimale de concentration de NaCl pour la croissance des *Streptomyces* isolés du désert du Sahara algérien était de 0 à 4% (Boumehira *et al.*, 2022).

Le genre *Atriplex*, qui appartient à la famille des *Chenopodiaceae*, englobe une variété significative de halophytes. Il comprend de nombreuses espèces adaptées aux environnements

arides et salins à travers le monde. Il a été observé que le sol rhizosphérique des halophytes constitue une source potentielle de bactéries favorisant la croissance des plantes (**Chaudhary et al., 2022**). *Atriplex halimus* L. a été le sujet de nombreuses études récentes à l'échelle mondiale, explorant ses populations microbiennes endophytes, rhizosphériques et non rhizosphériques (**Tahtamouni et al., 2016 ; Bona et al., 2021**). À partir de la rhizosphère aride algérienne d'*Atriplex halimus*, **Dif et al. (2022)** ont isolé des bactéries Gram-négatives capables de promouvoir la croissance des tomates en solubilisant le phosphate, en produisant des phytohormones et des sidérophores

En termes de température, il a été constaté que l'intervalle de croissance était de 15 à 50 °C, avec une température optimale de 30 °C. **Islam et al. (2009)** ont rapporté que les *Streptomyces* se développent bien uniquement à 30 °C, et **Meyer (1989)** a mentionné que la majorité des espèces de *Streptomyces* sont mésophiles, à l'exception d'un nombre limité de souches capables de se développer à +4 °C ou au-dessus de 45 °C. De plus, **Edwards (1993)** a souligné que la majorité des *Streptomyces* producteurs d'antibiotiques d'importance commerciale sont des mésophiles. Exceptionnellement, les souches A6, A1 et Act17 ont poussé à 40 °C. Il est probable que ces souches soient adaptées aux températures élevées caractéristiques du climat aride de la région de Biskra.

**Tableau 15:** Caractéristiques physiologiques et biochimiques des onze souches d'actinomycètes antagonistes

Caractéristiques/ Souches	A1	A5	A6	A8	A20	Act11	Act16	Act17	Act18	Act23	Act24
<b>Source de carbone</b>											
L-Arabinose	+	-	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-
D-Cellobiose	-	-	+	+	+	++	-	-	-	-	-
D-Fructose	+	+	-	-	+	+	+	+	+/-	++	-
D-Lactose	+	+	+	+	-	++	++	++	++	++	++
D-glucose	+	+	+	+	+	++	++	++	+/-	+/-	+
D-galactose	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++
D-Ribose	+	+	-	+	-	+/-	+/-	-	-	-	-
Levulose	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Ribitol	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
D-Maltose	+	+	+	+	+	++	++	+	++	++	++
D-Mannose	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+/-	+/-	++
D-Mannitol	+	+	+	+	+	++	+	++	++	++	++
D-Melobiose	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	-	-	+	+	+	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+
D-Xylose	+	-	+	+	+	++	+	+/-	++	+	+
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

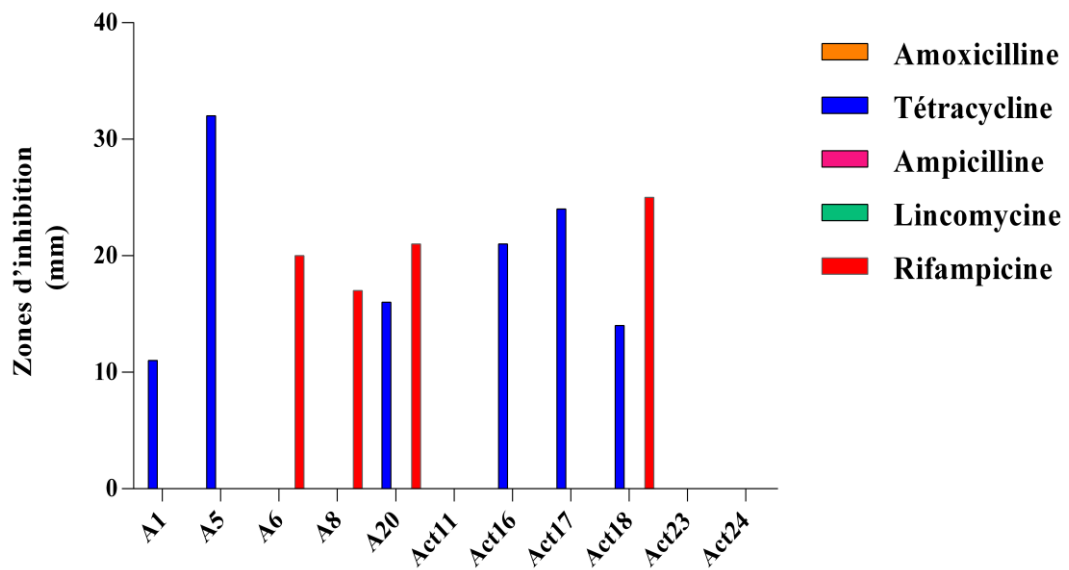
<b>Source d'azote</b>												
Lysine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycine	+	+	+	+	+	++	++	+	++	+	+	+
Asparagine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aspartate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginine	++	++	+	++	++	++	++	++	+	++	++	++
<b>Croissance en présence d'inhibiteurs</b>												
Phenol (0,1%, w/v)	+	-	-	-	+	-	+	++	+	+/-	++	++
Potassium tellurite (0,01%, w/v)	-	-	+	-	+	-	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-
Sodium azide (0,01%, w/v)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>NaCl (%)</b>												
2,5	++	+	++	+	++	+	+	++	++	++	++	++
5	++	++	++	++	++	+	+	++	+	++	+	+
7	-	+/-	++	+/-	+/-	+	++	++	+	++	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Caractéristiques environnementales</b>												
<b>Température (°C)</b>												
15	+	+	++	+	+	++	+	+	+/-	++	+/-	+/-
25	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
30	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
40	-	-	++	-	-	-	+	++	+	-	+	+

50	-	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-
<b>pH</b>											
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	+/-
7	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
9	++	+	++	+	++	+	+	++	+/-	++	+
11	++	+	++	+	++	+/-	+	+	+	+	+
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

++: croissance abondante, +: croissance moyenne, +/-: croissance faible, -: pas de croissance.

## 5 Sensibilité aux antibiotiques

La croissance des souches A1, A5, A20, Act16, Act17, Act18 a été inhibée par la tétracycline. De même, la rifampicine a supprimé la croissance des souches A6, A8, A20, Act18. En revanche, l'ampicilline, la lincomycine et l'amoxicilline n'ont pas d'effet inhibiteur sur leur croissance. Les résultats de l'antibiogramme des onze souches d'actinomycètes sont présentés dans l'**Annexe 2**.



**Figure 8:** Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des isolats d'actinomycètes sélectionnés après confrontation à certains antibiotiques.

L'antibiogramme est une méthode couramment utilisée pour déterminer la sensibilité des microorganismes, y compris les actinomycètes, aux antibiotiques (**Chand *et al.*, 2022**). Le test de sensibilité aux antibiotiques a été méticuleusement effectuée afin de caractériser les différents isolats d'actinomycètes. Ces tests ont permis d'évaluer la réaction de chaque isolat face à un panel spécifique d'antibiotiques. Bien que certains actinomycètes soient bénéfiques, il est crucial de connaître leur sensibilité aux antibiotiques, car cela peut être pertinent dans divers contextes:

L'utilisation des actinomycètes bénéfiques en agriculture, il est important de savoir quels antibiotiques pourraient les affecter. Cela permettrait d'éviter l'utilisation d'antibiotiques

qui pourraient nuire à ces organismes bénéfiques et préserver ainsi leur activité bénéfique dans le sol. De plus, la réalisation d'un antibiogramme sur les actinomycètes est également pertinente pour la recherche scientifique ce qui permet de comprendre la résistance aux antibiotiques et la sensibilité des différentes souches d'actinomycètes, contribuant ainsi à améliorer notre connaissance de ces microorganismes essentiels.

## 6 Évaluation *in vitro* des activités PGP

### 6.1 Production et quantification d'acide indole-3-acétique (AIA)

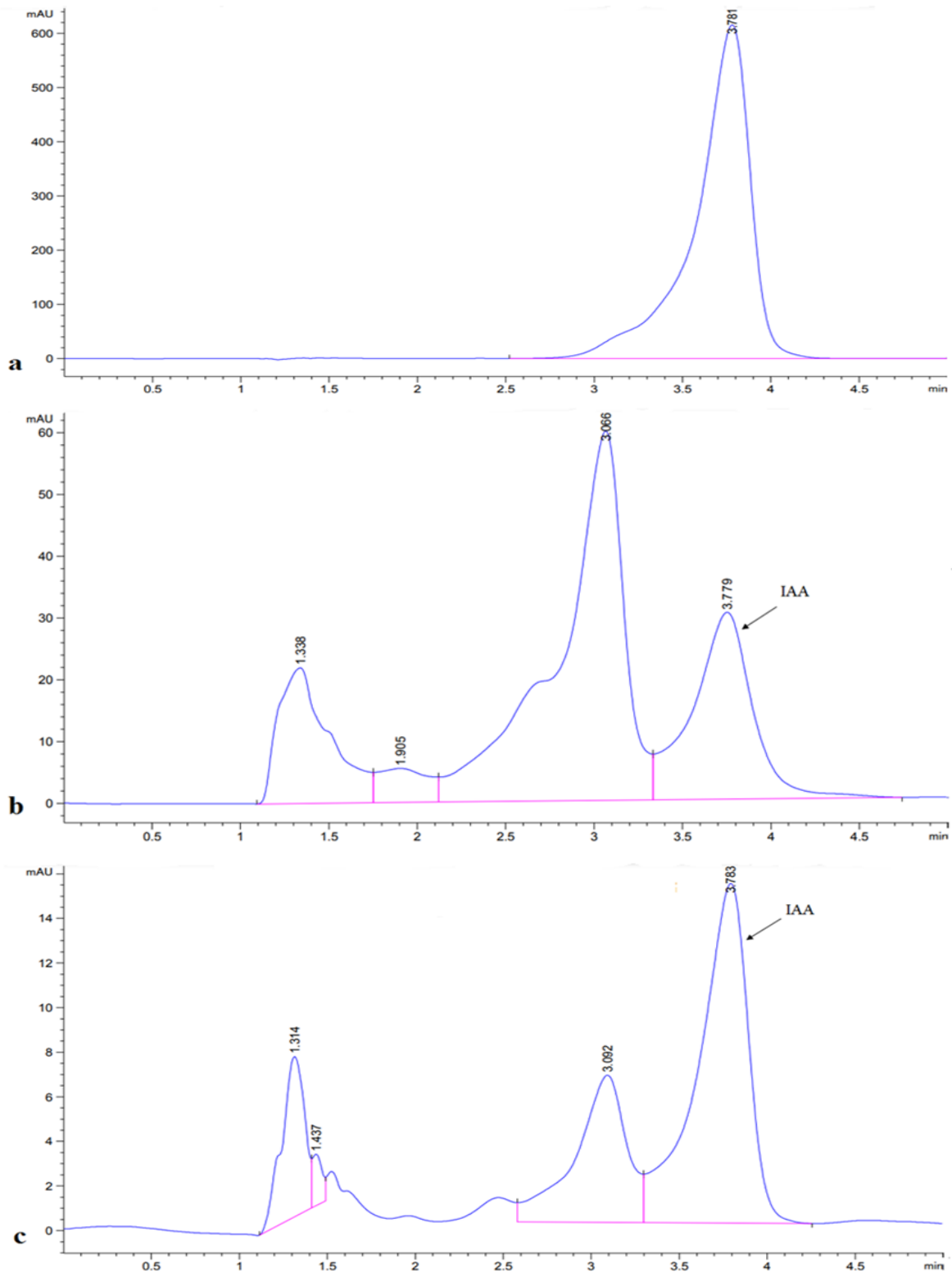
Dans cette étude, les activités de la PGP (promotion de la croissance des plantes) ont été évaluées *in vitro*, en se concentrant particulièrement sur la production et la quantification de l'auxine indole-3-acétique (AIA). Le test de Salkowsky a révélé que tous les isolats sont positifs pour la production d'AIA. La méthode colorimétrique a permis de déterminer les concentrations d'AIA dans les surnageants des cultures, tandis que la HPLC a permis non seulement de quantifier l'AIA, mais aussi de le différencier des autres dérivés indoliques présents dans l'extrait (**Figure 9**).

Les résultats montrent que les concentrations d'AIA variaient de 13,82 à 148,76  $\mu\text{g ml}^{-1}$  et excepté A20, les autres isolats nécessitaient du L-Trp comme précurseur (**Tableau 16**). Les isolats A5 et Act24 étaient les meilleurs producteurs lorsque le milieu était complété avec 5 mM de L-Trp. De plus, une analyse statistique a révélé que la production d'AIA était positivement corrélée ( $P < 0,05$ ) avec les concentrations de L-Trp de 1,25 et 5 mM pour l'isolat Act17. En revanche, les isolats Act11 et Act16 n'ont montré aucune corrélation avec la concentration de L-Trp ( $P = 0,179$ ,  $P = 0,986$ , respectivement). Pour les isolats A5 et A8, la production d'AIA était positivement corrélée ( $P < 0,05$ ) avec la concentration de L-Trp (2,5-5 mM). En revanche, les isolats A1, A6 et Act16 n'ont pas montré de corrélation significative avec les concentrations de 2,5 et 5 mM ( $P > 0,05$ ). Cependant, seul l'isolat A6 a présenté une amélioration significative de la synthèse d'AIA avec une concentration plus élevée de L-Trp, soit 7,5 mM.

**Tableau 16:** Quantification de l'acide indole-3-acétique (AIA) des isolats d'actinomycètes antagonistes

Isolats	Production de l'AIA ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )				
	0 mM	1,25 mM	2,5 mM	5 mM	7,5 mM
<b>Rhizosphériques</b>					
<b>A1</b>	-	-	$61 \pm 0,519^a$	$66,58 \pm 2,874^a$	$15,51 \pm 1,698^b$
<b>A5</b>	-	$16,06 \pm 0,02^b$	$16,15 \pm 0,453^b$	$148,76 \pm 0,875^a$	$20,67 \pm 1,274^b$
<b>A20</b>	$25,94 \pm 0,007^d$	$29,55 \pm 0,77^c$	$36,85 \pm 0,494^b$	$39,61 \pm 1,436^a$	$31,88 \pm 0,674^c$
<b>Act11</b>	-	$19,82 \pm 0,73^a$	-	$18,76 \pm 0,57^a$	-
<b>Act16</b>	-	$14,37 \pm 0,40^a$	$13,82 \pm 0,26^a$	$14,39 \pm 1,70^a$	-
<b>Act17</b>	-	$16,27 \pm 0,27^b$	-	$29,55 \pm 0,98^a$	-
<b>Act18</b>	-	-	-	$25,03 \pm 3,07$	-
<b>Act23</b>	-	-	-	$57,85 \pm 1,63$	-
<b>Act24</b>	-	-	-	$77,45 \pm 1,42$	-
<b>Non rhizosphériques</b>					
<b>A6</b>	-	-	$14,52 \pm 0,262^b$	$15,15 \pm 0,869^b$	$21,61 \pm 1,457^a$
<b>A8</b>	-	-	$14,27 \pm 0,445^c$	$46,30 \pm 1,352^a$	$19,27 \pm 0,452^b$

Valeurs d'AIA  $\pm$  SD (écart type). Les valeurs avec des exposants différents (a, b, c) dans la même ligne diffèrent significativement, selon les tests Student et post hoc de Tukey ( $P > 0,05$ ).



**Figure 9:** Chromatogrammes HPLC des extraits de filtrats de culture avec 5 mM de L-Trp en comparaison avec le standard : a) AIA (acide indole-3-acétique) à 0,3125 mg ml<sup>-1</sup>; b) extrait total de culture de *Streptomyces* A1; c) extrait partiellement purifié du filtrat de culture de *Streptomyces* A5.

L'AIA est une phytohormone faisant partie du groupe des auxines. Elle est communément reconnue comme étant la principale auxine endogène. Cette molécule de régulation joue un rôle important dans la division cellulaire ainsi que dans l'allongement des racines (**Vurukonda et al., 2021**). Parmi ses nombreux effets, la promotion de la germination des graines. Cette action permet aux nouvelles plantes de se développer à partir de graines dormantes, marquant ainsi le début d'un nouveau cycle de vie pour de nombreuses espèces végétales. En outre, elle stimule le développement des jeunes plantes (**Boukaya et al., 2018**).

Au cours de cette étude, les quantités d'AIA produites étaient supérieures à celles rapportées par **Ali et al. (2021)** et **Moscol et al. (2020)**, qui étaient comprises entre 17,65 et 86,94  $\mu\text{g ml}^{-1}$  et 3,9 et 9,9  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , respectivement. Cependant, elles sont inférieures à celles obtenues par **Chaiharn and Lumyong (2011)** et **Govindasamy et al. (2022)**, qui variaient de 2,55 à 291,97  $\mu\text{g ml}^{-1}$  et de 10 à 200,82  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , respectivement.

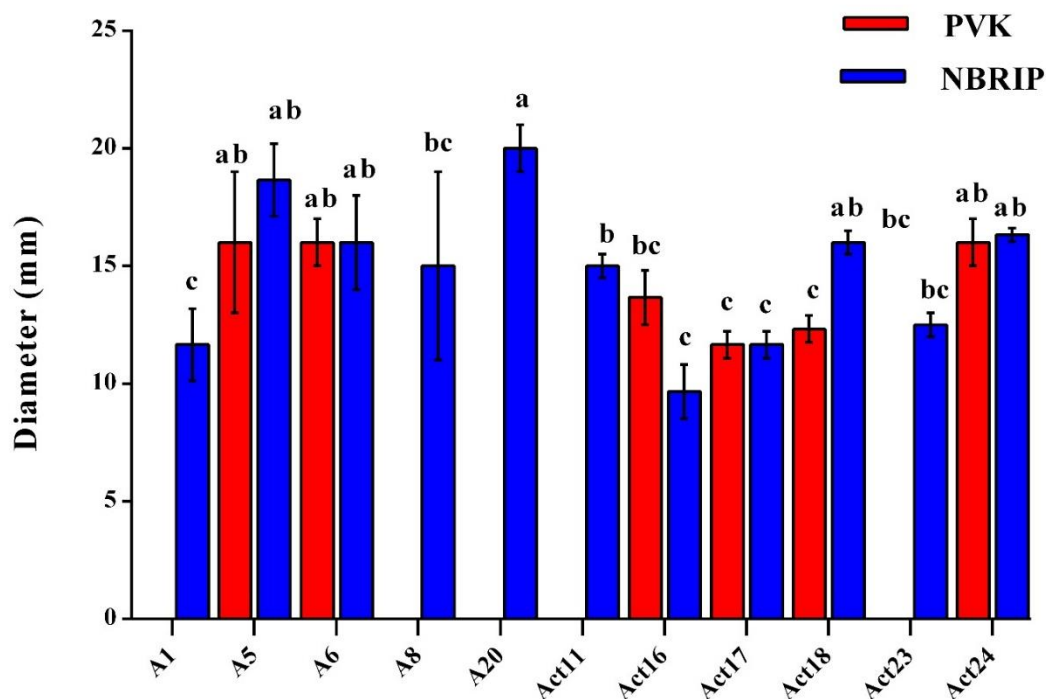
De plus, plusieurs études ont rapporté la capacité des *Streptomyces* rhizosphériques à synthétiser de l'AIA et d'autres dérivés indoliques en milieu liquide (**Khenaka et al., 2019**; **Oleńska et al., 2020**; **Ali et al., 2021**). Nos résultats montrent que les isolats rhizosphériques produisent plus d'AIA que les souches non-rhizosphériques, ce qui corrobore avec les résultats obtenus par **Gong et al. (2018)** et **Han et al. (2018)**, ainsi que les informations fournies par **Singh and Singh (2019)**, qui ont signalé une production plus importante d'AIA chez les rhizobactéries. La production d'AIA présente une augmentation en fonction de la concentration de L-Trp (de 2,5 mM à 5 mM), ce qui est en concordance avec les travaux de recherche d'**Ahmad et al. (2005)** et **Devi et al. (2021)**.

Le L-tryptophane joue un rôle crucial dans la formation d'acide indole-3-acétique, et son inclusion dans le milieu de culture généralement stimule et renforce la synthèse de l'AIA par les bactéries (**Glick, 1995**). Seule la souche A20 a été capable de produire de l'AIA *in vitro* en l'absence de L-Trp, la quantité produite est égale à 36,85  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . Cela est probablement dû à une voie alternative de synthèse de l'AIA qui ne dépend pas du L-Trp en tant que précurseur (**Ahmad et al., 2020**).

**Ahmad et al. (2005)** ont constaté que les isolats d'*Azotobacter* produisaient une faible quantité (2,68 à 10,8  $\text{mg ml}^{-1}$ ) d'AIA en l'absence du tryptophane, comparé à la présence de 2  $\text{mg ml}^{-1}$  de tryptophane (7,3 à 32,8  $\text{mg ml}^{-1}$ ). Ces résultats concordent avec nos propres découvertes, mettant en évidence que les souches A1, A5, A8, A20, Act23 et Act24 ont démontré une capacité significative à synthétiser une quantité importante d'AIA (entre 39,61 et 148,76  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) à une concentration de 5 mM de L-tryptophane.

## 6.2 Solubilisation du phosphate

Sur la gélose NBRIP, une capacité de solubilisation du phosphate a été observée pour tous les isolats. Dans ce milieu, L'isolat A20 a présenté le diamètre de solubilisation le plus grand (20 mm). Cependant, sur les plaques PVK, seuls six halos ont été enregistrés, correspondants aux isolats A5, A6, Act16, Act17, Act18 et Act24 (**Figure 10**), avec des diamètres ne dépassant pas 15 à 16 mm. Les résultats présentés dans le **Tableau 17** indiquent que les isolats A1, A8 et A20, bien qu'ils n'étaient pas capables de solubiliser le phosphate sur les plaques PVK, ont montré une capacité de solubilisation dans le bouillon PVK. En milieu liquide, la concentration la plus importante est produite par l'isolat A5. Sur le milieu LB, trois isolats (A8, A20, Act17) ont montré une solubilisation du phosphate (13,03 à 24,99  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ). Il est possible d'expliquer cette observation par deux raisons potentielles. Premièrement, du fait de sa richesse en nutriments, le milieu LB, pourrait inhiber la solubilisation du phosphate inorganique par les bactéries. (**Nautiyal, 1999**). Deuxièmement, les microorganismes n'ont pas eu besoin de solubiliser le phosphate, puisqu'il existe déjà dans la gélose sous des formes très simples.



**Figure 10:** Diamètres des zones de solubilisation du phosphate par les isolats d'actinomycètes sur les milieux solides NBRIP (National Botanical Research Institute) et PVK (Pikovskaya). Les résultats sont la moyenne des répliqués. Les valeurs des barres portant des lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement selon le test post hoc de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Après l'azote, le phosphore représente le deuxième principal élément nutritif pour les plantes. Dans le sol, ce nutriment se trouve sous forme de sel minéral ou intégré dans des composés organiques. Malgré leur présence abondante dans les sols agricoles, la majorité de ces composés de phosphore se trouve sous une forme insoluble (Miller *et al.*, 2010). Le manque de phosphore dans de nombreux sols a été identifié comme un facteur limitant majeur affectant les systèmes agricoles. Les dernières recherches indiquent que l'inoculation des cultures avec des microbes solubilisant le phosphate peut réduire de 50% les taux de pulvérisation d'engrais phosphatés sans réduire sensiblement les rendements des cultures (Oteino *et al.*, 2015).

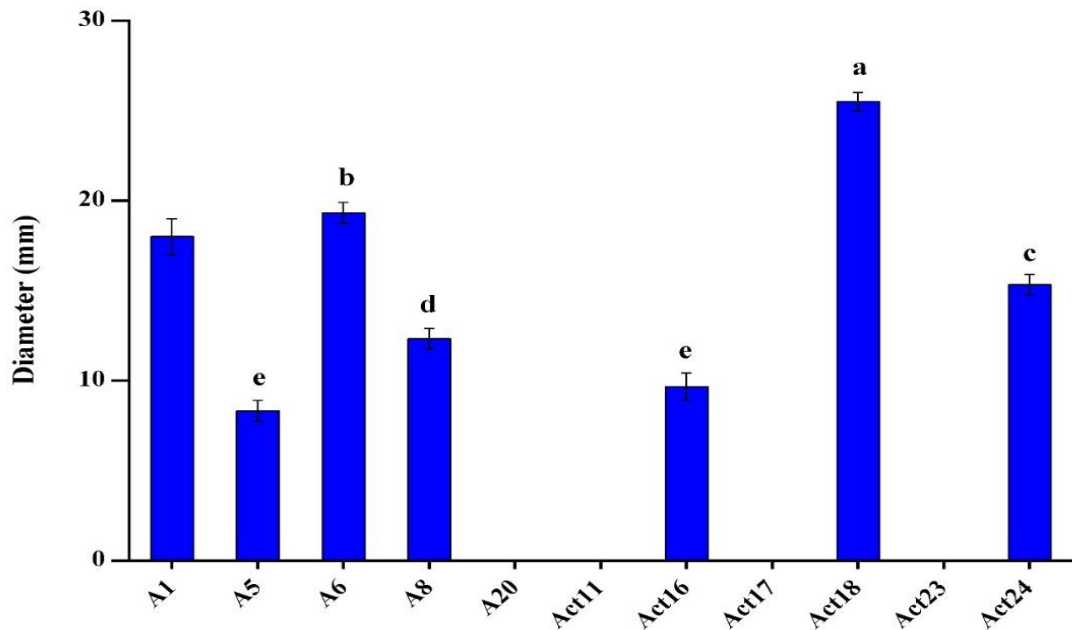
Dans les milieux liquides, le phosphate a été solubilisé par toutes les souches dans les milieux NBRIP, PVK, et LB avec des quantités allant de  $3,76$  à  $45,49 \cdot 10^{-2} \text{ mg ml}^{-1}$  (Tableau 17). Ces résultats sont cohérents avec les découvertes antérieures de Franco-Correa *et al.* (2010) qui ont montré que la capacité de solubilisation du phosphate était largement présente chez les actinomycètes. Ainsi, ces valeurs sont supérieures à celles obtenues par Djebaili *et al.* (2020) qui varient de  $0,989$  à  $2,484 \cdot 10^{-2} \text{ mg ml}^{-1}$ . Nafis *et al.* (2019) ont montré que les

*Streptomyces* obtenus à partir de sols désertiques étaient les plus efficaces dans la solubilisation du phosphate. Parmi toutes les souches, une production plus élevée de composés indoliques et des taux de solubilisation du phosphate ont été observés pour la souche A5. Cette découverte valide les résultats de **Chaiharn and Lumyong (2011)**, qui ont remarqué que les producteurs de dérivés indoliques les plus performants avaient une solubilisation du phosphate élevée.

Pour améliorer directement la croissance des plantes, il est également crucial que les plantes puissent utiliser  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  dans la création de phytohormones. Un autre mécanisme de solubilisation du phosphate minéral implique la sécrétion d'acides organiques de faible poids moléculaire qui se lient aux cations pour former des complexes avec les phosphates grâce à leurs groupes carboxyle et hydroxyle. Ainsi, ces souches présentent la capacité de mobiliser des phosphates inorganiques insolubles lorsque l'approvisionnement en phosphate est limité (**Fatmawati et al., 2019**).

### **6.3 Production de sidérophores**

Sur le milieu CAS agar, une couleur rouge ou jaune autour des colonies indique la production de sidérophores. Sept isolats rhizosphériques (A1, A5, A6, A8, Act16, Act18, Act24) ont montré une réaction positive pour la production de sidérophores (**Figure 11**). La quantification des sidérophores produits a été réalisée en utilisant des milieux de culture liquide. Les isolats ont présenté des différences significatives, Act18 étant le producteur de sidérophores le plus intéressant (**Tableau 17**).



**Figure 11:** Diamètres des zones de production de sidérophores par les souches d'actinomycètes sur des plaques de gélose CAS. Les résultats sont les moyennes des réplicats. Les valeurs des barres portant des lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement selon le test post-hoc de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Les actinomycètes peuvent stimuler la croissance des plantes en produisant des sidérophores pour améliorer l'absorption des nutriments. Les sidérophores sont généralement libérés par de nombreux microorganismes pour se lier au  $Fe^{3+}$  présent dans le sol environnant ; capturer ce fer, et le transporter à l'intérieur des cellules microbiennes afin de le rendre disponible pour le développement végétatif (**Khamna et al., 2009; Rana et al., 2019**).

Il a été prouvé que les espèces de *Streptomyces* sécrètent des sidérophores de type hydroxamate qui jouent un rôle crucial en limitant la propagation des agents pathogènes des plantes par compétition pour le fer dans les sols rhizosphériques (**Kaur et al., 2013; Khenaka et al., 2019**).

Dans notre étude, nous avons découvert que sept isolats sont positifs pour la production de sidérophores sur le milieu solide. Plus précisément, deux d'entre elles, Act11 et Act18, ont été identifiées comme productrices de sidérophores de type trihydroxamate. De manière similaire, **Khamna et al. (2009)** ont trouvé que *Streptomyces* CMU-SK 126, isolé du sol rhizosphérique de *Curcuma mangga*, présente une forte production de sidérophores.

#### 6.4 Production d'ammoniac

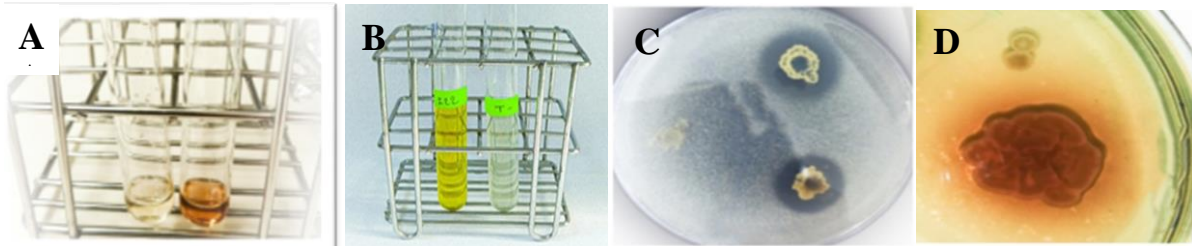
La production d'ammoniac fait partie des principaux mécanismes indirects impliqués dans la croissance des plantes et le contrôle des maladies des plantes (**Passari et al., 2015**). Toutes les souches testées ont démontré une capacité à synthétiser l'ammoniac à des concentrations variant de 45,13 à 70,56 mg ml<sup>-1</sup> (**Tableau 17**). De même, **Nimnoi et al. (2010)**, **Kaari et al. (2022)** ont rapporté que *Streptomyces* sp. UT4A42 et *Streptomyces hainanensis* S4303 sont capables de produire de l'ammoniac à des concentrations atteignant 61,8 mg ml<sup>-1</sup> et 60,0 mg ml<sup>-1</sup>, respectivement. De plus, **Anwar et al. (2016)** ont affirmé que toutes les souches de *Streptomyces* qu'ils ont examinées ont démontré la capacité de produire de l'ammoniac.

Selon **Thilagam and Hemalatha (2019)**, la production d'ammoniac dans le sol par les *Streptomyces* est un mécanisme essentiel pour améliorer la longueur des jeunes tiges et des racines des végétaux cibles. Cependant, il convient de noter que la libération des taux élevés d'ammoniac par les bactéries rhizosphériques peut être toxique pour les végétaux (**Weise et al., 2013**). Ainsi, la libération d'ammoniac par les bactéries rhizosphériques peut être perçue comme un aspect négatif, à moins qu'il ne soit converti en NO<sub>2</sub><sup>-</sup> puis en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> par les microorganismes nitrifiants présents dans le sol. Cependant, les microorganismes responsables de la production d'ammoniac sont rares dans la rhizosphère ou se trouvent en quantités très limitées, tandis que les microorganismes nitrifiants sont généralement abondants dans le sol.

**Tableau 17:** Résultats de quelques tests PGP des souches sélectionnées.

Isolats	Tests PGP				
	Solubilisation du phosphate en milieu liquide [indice de solubilisation ( $10^{-2}$ mg ml <sup>-1</sup> )]			Sidérophores (psu)	Production d'ammoniac ( $\mu$ g ml <sup>-1</sup> )
	NBRIP	PVK	LB		
<b>Rhizosphériques</b>					
A1	16,13 $\pm$ 0,014 <sup>d</sup>	27,41 $\pm$ 0,083 <sup>a</sup>	03,76 $\pm$ 0,042 <sup>f</sup>	66,03 $\pm$ 0,590 <sup>a</sup>	51,54 $\pm$ 0,156 <sup>d</sup>
A5	45,49 $\pm$ 0,277 <sup>a</sup>	13,29 $\pm$ 0,083 <sup>d</sup>	03,88 $\pm$ 0,244 <sup>f</sup>	61,05 $\pm$ 3,416 <sup>b</sup>	57,98 $\pm$ 0,340 <sup>c</sup>
A20	26,23 $\pm$ 0,113 <sup>c</sup>	15,93 $\pm$ 0,069 <sup>c</sup>	9,99 $\pm$ 0,204 <sup>d</sup>	45,93 $\pm$ 0,976 <sup>d</sup>	70,56 $\pm$ 0,184 <sup>a</sup>
Act11	-	-	-	21,91 $\pm$ 0,380 <sup>f</sup>	45,13 $\pm$ 0,135 <sup>e</sup>
Act16	14,16 $\pm$ 0,055 <sup>e</sup>	09,99 $\pm$ 0,177 <sup>e</sup>	06,78 $\pm$ 0,231 <sup>e</sup>	11,29 $\pm$ 0,988 <sup>g</sup>	38,35 $\pm$ 0,135 <sup>f</sup>
Act17	07,49 $\pm$ 0,215 <sup>g</sup>	04,96 $\pm$ 0,010 <sup>f</sup>	14,85 $\pm$ 0,125 <sup>a</sup>	-	30,31 $\pm$ 0,380 <sup>g</sup>
Act18	-	-	-	53,09 $\pm$ 0,380 <sup>c</sup>	51,02 $\pm$ 0,156 <sup>d</sup>
Act23	-	-	-	-	51,65 $\pm$ 0,029 <sup>d</sup>
Act24	25,85 $\pm$ 0,048 <sup>c</sup>	24,70 $\pm$ 0,060 <sup>b</sup>	11,74 $\pm$ 0,104 <sup>c</sup>	35,22 $\pm$ 0,190 <sup>e</sup>	60,94 $\pm$ 0,204 <sup>b</sup>
<b>Non rhizosphériques</b>					
A6	39,43 $\pm$ 0,028 <sup>b</sup>	10,14 $\pm$ 0,760 <sup>e</sup>	13,03 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	67,75 $\pm$ 1,561 <sup>a</sup>	45,94 $\pm$ 0,928 <sup>e</sup>
A8	8,05 $\pm$ 0,139 <sup>f</sup>	24,78 $\pm$ 0,073 <sup>b</sup>	2,05 $\pm$ 0,014 <sup>g</sup>	69,19 $\pm$ 0,947 <sup>a</sup>	45,13 $\pm$ 0,135 <sup>e</sup>

PSU: unité de pourcentage de sidérophores. Moyennes  $\pm$  Écart-type. Les valeurs avec des exposants différents (a, b, c) dans la même colonne diffèrent significativement, selon les tests Student et post hoc de Tukey (P > 0,05).



**Figure 12:** A) Production d'AIA ; B) production d'ammoniac ; C) solubilisation de phosphate ; D) production de sidérophores par des isolats d'actinomycètes.

### 6.5 Production d'HCN et fixation d'azote

Dix souches (90,91%) ont présenté une production d'HCN, à l'exception de la souche Act16. Les isolats A6, A8, A20 et Act24 se sont démarqués par les quantités substantielles de HCN produites, manifestées par une coloration rouge intense sur le papier filtre (**Tableau 18**, **Figure 13**).

Nos résultats sont cohérents avec les résultats mentionnés dans la littérature. **Chukwuneme et al. (2020)**, ont rapporté que parmi les isolats bactériens testés pour l'activité de l'HCN, seules les souche de *Streptomyces* spp ont présenté un résultat positif. Ces composés volatils, même à faibles concentrations sont connus pour être lié à l'activité antifongique. La production excessive d'HCN peut jouer un rôle critique contre les pathogènes fongiques pour limiter leur propagation (**Malleswari and Bagyanarayana, 2013**). L'HCN agit comme un inducteur de résistance chez les plantes en interférant avec la voie du cytochrome oxydase, ce qui entraîne des effets toxiques sur les bactéries phytopathogènes (**Vardharajula et al., 2017**).

Une croissance a été observée chez les isolats sélectionnés lorsqu'ils ont été testés pour la fixation de l'azote en milieu solide, à l'exception d'A1 et A20. D'après l'étude de **Wahyudi et al. (2019)**, parmi les 7 isolats, seuls 5 (71,43%) ont pu se développer dans un milieu sans azote. Cependant, lorsque les tests ont été effectués sur gélose, il a été possible d'observer une croissance variable, allant de faible à bonne croissance.

Toutefois, les niveaux de croissance observés en bouillon AFM n'étaient pas les mêmes que ceux observés sur boîte de Pétri, Alors que quatre souches (A1, A20 Act11, Act17) (36,36%) n'ont montré aucune croissance (**Tableau 18**). C'est pourquoi les tests en bouillon étaient plus fiables en termes de résultats, car l'absence d'agar éliminait la possibilité d'avoir des traces d'azote (**Giroux, 2015**)

La diazotrophie (la fixation biologique d'azote) est l'une des alternatives biologiques possibles aux engrais azotés et pourrait conduire à une agriculture plus productive et durable sans nuire à l'environnement et à la santé des sols (Yadav *et al.*, 2018). Pour prouver ce concept, des recherches supplémentaires sont nécessaires, telles que des tests de réduction de l'acétylène ou des méthodes PCR basées sur des gènes codant pour la nitrogénase.

**Tableau 18** : Production d'HCN (acide cyanhydrique) et la fixation d'azote

Test/Souches	A1	A5	A6	A8	A20	Act11	Act16	Act17	Act18	Act23	Act 24
HCN	+	+	++	++	++	+	-	+	+	+	++
Fixation d'azote (ML)	-	+	+/-	+/-	-	-	+/-	-	+	+	+/-
Fixation d'azote (MS)	-	+	+	+	-	+/-	+	+	++	+	+

(-) ; résultats négatif ; (+) ; résultat positif. MS: milieu solide ; ML: milieu liquide

## 6.6 Quelques activités enzymatiques

**Tableau 19** : Quelques activités enzymatiques des onze isolats d'actinomycètes sélectionnés

Test/Souches	A1	A5	A6	A8	A20	Act11	Act16	Act17	Act18	Act23	Act24
Caséinase	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
Cellulase	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
Gélatinase	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Lipase	++	++	++	+	-	+	+	++	++	++	++
Lipoprotéase	++	+	+	+	-	+	++	++	++	+	++
Lécithinase	-	-	-	-	-	-	++	-	+/-	+/-	-
Amylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tyrosinase	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
Chitinase	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Pectinase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Estérase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Asparaginase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate Réductase	+	+	+	++	+	+	+	+	+	-	+

Lait écrémé (30 °C)											
Peptonisation	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
Coagulation	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(-) ; résultats négatif ; (+) ; résultat positif.

Dans cette étude 16 activités enzymatiques ont été exploré. Les résultats sont portés dans le **Tableau 19**. Bien que ces résultats ne soient pas directement liés aux caractères PGP (Promoteurs de Croissance des Plantes), ils mettent en évidence certaines caractéristiques qui révèlent un fort potentiel biotechnologique et une valeur commerciale considérable. De plus, les enzymes hydrolytiques joue un rôle essentiel dans l'enrichissement des sols en dégradant les protéines complexes et les polysaccharides en formes plus simples, contribuant ainsi à l'amélioration de fertilité du sol (**Sebihi et al., 2016; Turan et al., 2017**).

Nos isolats ont montré des taux variables d'activités enzymatiques significatives de la catalase, amylase, tyrosinase, chitinase, pectinase, lipase, lipoprotéinase et de la cellulase (**Figure 13**). Les différentes espèces de *Streptomyces* sont largement reconnues pour leur production d'enzymes qui contribuent à la protection des cultures contre les microorganismes nuisibles, en dégradant leurs parois cellulaires (**Chellapandi and Jani, 2008**). Plusieurs études ont prouvé que la chitinase produite par certaines plantes contribue à l'élimination des champignons phytopathogènes en inhibant leur croissance grâce à la dégradation de leur paroi fongique (**Herrera-Estrella and Chet, 1999; Kuddus, 2014**).

Les agents de biocontrôle microbiens ouvrent la possibilité d'utiliser la chitinase en tant qu'agent biopesticide très prometteur en alternative à l'utilisation de produits chimiques pour contrôler les maladies des plantes présentant un risque élevé pour la production agricole mondiale (**Kuddus, 2014**). Les chitinases agissent en lysant la paroi des hyphes mycéliens, ce qui entraîne une inhibition de la germination des spores ainsi que l'allongement des tubes germinatifs chez divers champignons tels que *Alternaria*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. (**Kirubakaran and Sakthivel, 2007; Gomaa, 2012**). Les activités chitinolytiques jouent un double rôle dans la réponse aux champignons pathogènes. Les chitinases libèrent des polymère saccharidiques fongiques (oligoholosides) qui agissent comme des signaux de défense une fois que les champignons ont pénétré dans la plante, renforçant ainsi indirectement les défenses de la plante (**Nürnberg, 1999**).

Par la suite, les chitinases agissent pour restreindre la dissémination des champignons à l'intérieur de la plante (**Gomaa, 2012**). Nos résultats révèlent que seul l'isolat A6 a montré une

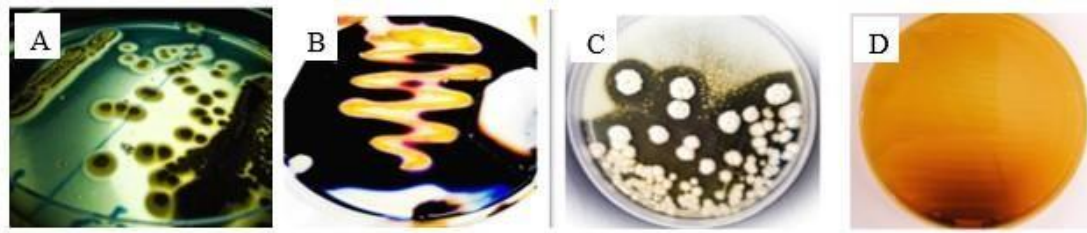
production de la chitinase. Il est possible que la production de chitinase est l'un des mécanismes d'inhibition fongique utilisés par cet isolat. Pour les autres isolats, l'inhibition de la croissance des champignons peut impliquer d'autres mécanismes, tels que la production de composés antifongiques (**Kaur et al., 2013**).

Différentes activités enzymatiques ont été révélées pour ces isolats, tous les isolats ont produit de l'amylase, mais seuls six ont montré une activité cellulolytique. Les amylases sont des enzymes thermostables qui jouent un rôle crucial dans la décomposition de la matière organique présente dans les sols et les résidus végétaux (**Turan et al., 2017**). Les protéases d'origine microbienne jouent un rôle crucial dans le recyclage de la matière organique dans les sols. Elles occupent une place essentielle dans les interactions entre les communautés bactériennes du sol en étant responsables de la dégradation des glycoprotéines (**Stach et al., 2018**).

De plus, les pectinases sont d'une importance capitale dans la décomposition des résidus végétaux, favorisant ainsi le recyclage des composés organiques. Leur action pectinolytique améliore la pénétration des racines par les microorganismes, jouant ainsi un rôle incontournable dans les interactions entre les microorganismes et les plantes présentes dans le sol (**Vardharajula et al., 2017**).

Dans cette étude, il a été observé que l'isolat A6 présentait une production de lipase nettement plus élevée que les souches A8, Act11 et Act16. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Ghorbani and Harighi (2018)**, indiquant que la souche *Streptomyces erumpens* produit fortement cette enzyme. Les lipases sont largement répandues chez les bactéries et revêtent une importance majeure dans le domaine biotechnologique (**Pascoal et al., 2018**). La dégradation des triglycérides peut avoir une contribution importante au processus de compostage des déchets organiques (dans des boues d'épuration) pour l'amendement des sols agricoles (**Turan et al., 2017**).

Les onze isolats étaient positifs pour la catalase. Une enzyme essentielle pour la protection des cellules contre les dégâts engendrés par les bactéries réactives de l'oxygène (ROS) en catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Selon la littérature, les bactéries présentant une activité catalase sont réputées être hautement résistantes aux contraintes environnementales, mécaniques et chimiques (**Chaiharn et al., 2019**).



**Figure 13:** Evaluation de quelques activités enzymatiques : A) la lipase et lipoprotéinase ; B) l'amylase ; C) la tyrosinase ; D) l'acide cyanhydrique.

## 7 Test d'antagonisme *in planta* contre *S. scabies* sur les radis

Dans le cadre de cette étude, les radis ont été choisis comme plante modèle pour réaliser les tests *in planta* pour deux raisons majeures. Premièrement, les radis sont sensibles à l'infection par *S. scabies*, ce qui en fait un bon système pour évaluer les effets pathogènes sur les racines. Deuxièmement, les radis ont une croissance rapide dans les chambres de croissances (phytotron), ce qui permet d'observer rapidement les réponses des plantes à l'infection et de mener des expériences à court terme.

En utilisant les radis comme plante modèle, cette étude vise à évaluer l'efficacité des isolats d'actinomycètes antagonistes pour prévenir la gale commune et protéger les racines des radis contre les effets néfastes de *S. scabies*. Ces résultats pourraient avoir des implications importantes pour le développement de méthodes de biocontrôle afin de réduire les dommages causés par cette maladie chez différentes cultures maraîchères (Aouar, 2012).

La surface des racines a été estimée par un logiciel WinRhizo, et les valeurs ont ensuite été analysées par une ANOVA suivie du test LSD. Les surfaces des racines pour les contrôles négatif et positif sont 8,13 cm<sup>2</sup> et 3,69 cm<sup>2</sup>, respectivement (Tableau 20). Parmi les onze isolats, seuls A1, A5, A6, A8, A20, Act18 et Act24 ont inhibé de manière significative le pathogène *in planta*. Cette activité antagoniste a été démontrée grâce à l'accroissement de la surface racinaire des plantules par rapport au contrôle positif, dans lequel les plantules ont été inoculées uniquement par *S. scabies* (Figure 14).

De plus, ces souches ont également permis la disparition des symptômes de gale commune, caractérisés par la nécrose des racines. Il est à signaler que les isolats Act16 et Act17 ont également été capables d'inhiber *S. scabies in planta* ( $P < 0,05$ ), mais avec un effet réduit, les valeurs étant de 6,21 cm<sup>2</sup> et 5,82 cm<sup>2</sup>, respectivement. Cependant, Act11 et Act23 n'ont présenté aucune activité *in planta*.

**Tableau 20:** Biocontrôle des actinomycètes contre *S. scabies* sur des plantules de radis.

Essais	Surface racinaire (cm <sup>2</sup> )
Contrôle négatif	8,13 ± 1,15 <sup>a</sup>
Contrôle positif ( <i>S. scabies</i> )	3,69 ± 0,44 <sup>c</sup>
<b>Co-inoculation de <i>S. scabies</i> avec:</b>	
A1	7,12 ± 0,01 <sup>a</sup>
A5	8,13 ± 0,02 <sup>a</sup>
A6	8,09 ± 0,09 <sup>a</sup>
A8	7,99 ± 0,07 <sup>a</sup>
A20	8,15 ± 0,05 <sup>a</sup>
Act11	3,91 ± 0,55 <sup>c</sup>
Act16	6,21 ± 1,26 <sup>b</sup>
Act17	5,82 ± 1,44 <sup>b</sup>
Act18	8,05 ± 0,66 <sup>a</sup>
Act23	3,76 ± 0,13 <sup>c</sup>
Act24	7,88 ± 1,03 <sup>a</sup>

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD de onze mesures parallèles. Les valeurs avec des exposants différents (a, b, c) dans la même colonne diffèrent significativement (test LSD, p < 0,05).



**Figure 14:** Confrontation *in planta* contre *S. scabies* sur des plantules de radis : A) contrôle négatif ; B) contrôle positif ; C) plantules inoculées avec *S. scabies* et Act18.

Parmi les genres d'actinomycètes, *Streptomyces* est reconnu comme un saprophyte très important. Les espèces associées à ce genre sont réputés pour leur aptitude à générer une diversité de métabolites secondaires différents. Néanmoins, certaines espèces sont phytopathogènes et provoquent des maladies chez les plantes ; *S. scabies* est le type de souche de ce groupe. Il est responsable de la gale commune, une maladie qui impacte diverses cultures maraîchères telles que les radis, en plus de la culture de la pomme de terre. Cette maladie peut entraîner des dommages importants aux racines des plantes, compromettant ainsi leur croissance et leur rendement (**Beaudoin et al., 2021**).

Dans ce test *in planta*, nous avons évalué la capacité des onze isolats à s'opposer *in planta* à *S. scabies* et à prévenir la nécrose des racines. Les résultats ont montré qu'en comparant la croissance des racines des contrôles négatifs et positifs, une baisse statistiquement significative ( $p < 0,05$ ) a été constatée, indiquant une nécrose des racines induite par *S. scabies*. De telles découvertes ont été rapportées par des études récentes réalisées sur des semis de radis par **Legault et al. (2011)**, **Aouar et al. (2020)**, et **Aouar et al. (2021)**. Aussi, plusieurs études anciennes ont été consacrées au contrôle biologique, en particulier à la lutte contre *S. scabies*. **Hayashida et al. (1988)** ont utilisé un isolat de *S. albidoflavus* CH33 en tant que fertilisant naturel pour combattre la gale provoquée par *S. scabies*. Cette approche de contrôle biologique agit par antibiose. Dans une autre étude réalisée par **Liu et al. (1995)**, ils ont mis en évidence la capacité de deux bactéries, *Streptomyces diastatochromogenes* et *Streptomyces albogriseolus*, à entraver la prolifération de *S. scabies*.

Néanmoins, la co-inoculation des isolats antagonistes A20, A5, A6, Act18, A8, Act24, A1, Act16 et Act17 avec le pathogène a contribué à la régénération des racines et la limitation des symptômes de la gale commune (plus ou moins significativement). De manière intéressante, les résultats ont révélé qu'Act18, qui avait montré une activité antagoniste *in vitro* contre *S. scabies*, a eu un impact significatif et positif sur la surface des racines *in planta*.

Les résultats étaient inattendus pour A1, A5, A6, A8, A20, Act16, Act17 et Act24 car ils n'avaient pas montré d'activité antagoniste *in vitro*. Cette observation pourrait s'expliquer par une diffusion inefficace de la molécule d'antibiotique dans le milieu. Il est également possible qu'ils aient agi différemment, en particulier parce qu'A1, A5, A6, A8, Act16 et Act24 étaient capables de produire des sidérophores et de solubiliser le phosphate, ou que cela impliquait d'autres mécanismes.

Des expériences en laboratoire menées par **Suárez-Moreno *et al.* (2019)** ont révélé que les souches de *Streptomyces* présentent plusieurs caractéristiques importantes pour le biocontrôle, qui sont également liées à la stimulation de la croissance et le développement des plantes. Par ailleurs, selon **Parasuraman *et al.* (2022)**, l'antagonisme *in planta* peut également impliquer l'induction de la défense des plantes, grâce à des processus directs et indirects. Ces mécanismes comprennent la solubilisation de nutriments végétaux tels que la fixation de l'azote, le phosphore, et la production de diverses hormones végétales telles que les auxines, les cytokinines et l'éthylène, ou la réduction des effets nocifs des agents pathogènes des plantes par la production d'antibiotiques et de sidérophores.

## 8 Étude phylogénétique

Notre étude porte sur onze isolats, précédemment sélectionnés en raison de leur activité antifongique prometteuse. Parmi ceux-ci, cinq ont été méticuleusement choisis (à savoir : A1, A5, A6, A8, A20) en vue d'une analyse moléculaire approfondie par séquençage de l'ADNr 16S. Cette sélection résulte de leurs performances exceptionnelles dans de nombreuses expériences, où elles ont démontré leur efficacité remarquable dans plusieurs tests : la confrontation contre les champignons pathogènes, la promotion de la croissance des plantes (PGP), ainsi que leur capacité à combattre la gale commune et protéger les racines des radis *in planta*.

### 8.1 Vérification de la pureté et quantification de l'ADN

Après avoir extrait les ADN génomiques des cinq isolats, leur concentration et leur pureté ont été vérifiées par un spectrophotomètre NanoDrop. Les rapports  $abs_{260}/abs_{280}$  varient entre 1,72 et 1,81, ce qui signifie leurs puretés.

### 8.2 Amplification, séquençage de l'ADNr 16S et construction d l'arbre phylogénétique

Dans cette étude phylogénétique, nous avons utilisé le gène ribosomal 16S comme marqueur moléculaire. Ce gène est largement répertorié dans les banques de données et nous a permis d'attribuer nos séquences à des groupes d'organismes déjà identifiés. Les séquences d'ADN, constituées de 1465 paires de bases, ont été amplifiées en utilisant une paire d'amorces universelles appelées F27 et R1492.

Les brins d'ADN porteurs des ARN ribosomaux 16S des cinq isolats ont été multipliés en utilisant la technique de PCR. Les produits d'amplification ont ensuite été migrés par électrophorèse sur gel d'agarose-TAE. Une fois que la migration a été complétée, le gel a été

placé sur une table transilluminateur UV et photographié. Les brins d'ADN ont été déplacés sur une distance équivalente à 1500 paires de bases dans la région du gel d'agarose à 1% (Figure 15).

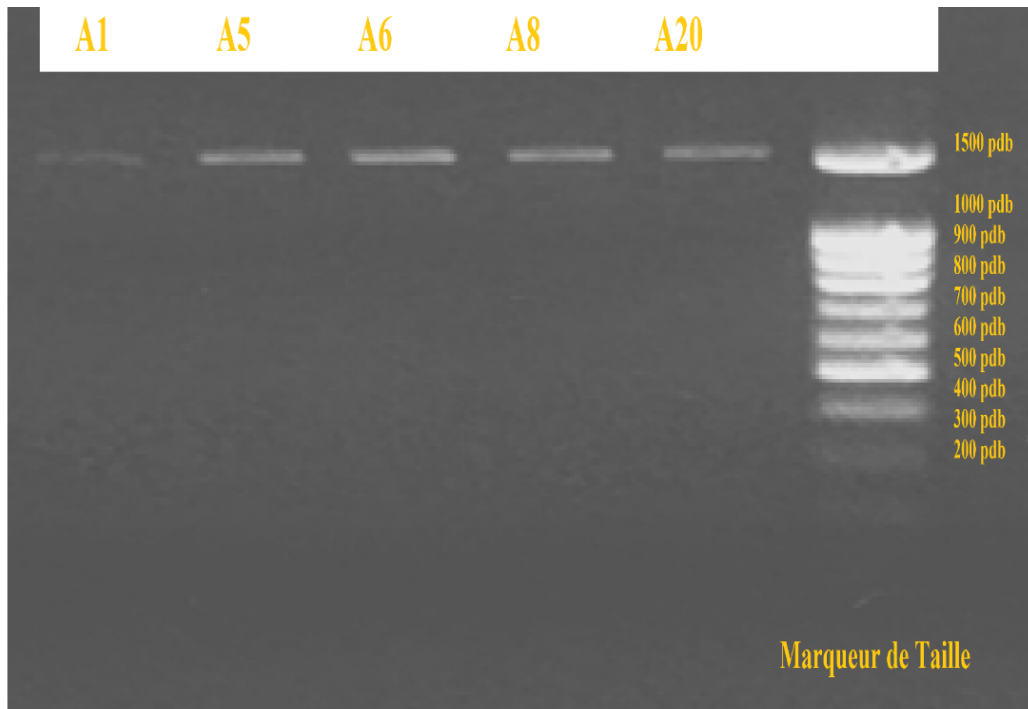


Figure 15: Électrophorèse de l'ADNr 16S dans le gel d'agarose 1%

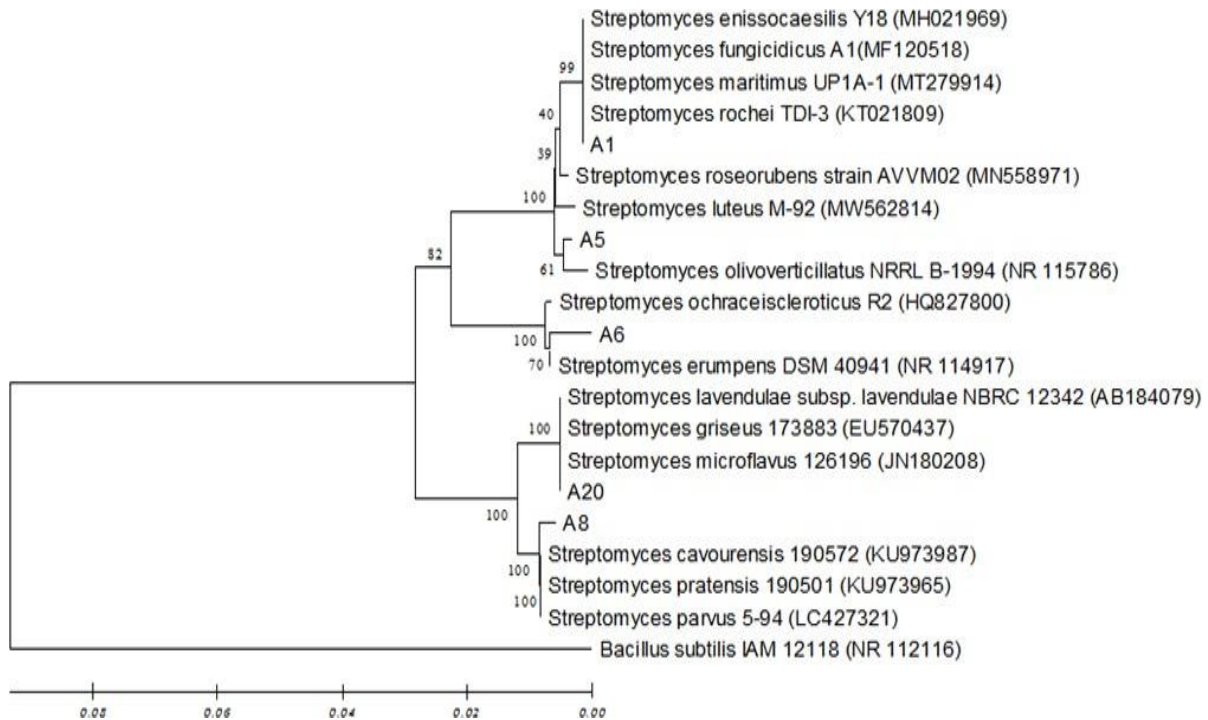
Tableau 21: Affiliation phylogénétique des cinq souches antagonistes sélectionnées

Isolats	Groupe	Identité (%)	Espèces proches	Numéro d'accession
A1	<i>Streptomyces</i>	98	<i>Streptomyces enissocaesilis</i> Y18	MH021969
		98	<i>Streptomyces maritimus</i> UP1A-1	MT279914
		98	<i>Streptomyces fungicidicus</i> A1	MF120518
		99	<i>Streptomyces rochei</i> TDI-3	KT021809
A5	<i>Streptomyces</i>	98	<i>Streptomyces olivoverticillatus</i> NRRL B-1994	NR115786
A6	<i>Streptomyces</i>	99	<i>S. erumpens</i> DSM 40941	NR114917
A8	<i>Streptomyces</i>	98	<i>Streptomyces cavourensis</i> 190572	KU973987
			<i>Streptomyces parvus</i> 5-94	
		98	<i>Streptomyces pratensis</i> 190501	LC427321
		98		KU973965

<b>A20</b>	<i>Streptomyces</i>	99	<i>Streptomyces lavendulae</i> subsp. <i>lavendulae</i> NBRC 12342	AB184079
		99	<i>Streptomyces microflavus</i> 126196	JN180208
		99	<i>S. griseus</i> 173883	EU570437

Après avoir séquencé le gène de l'ARNr 16S des cinq isolats et réalisé une analyse de BLAST, il a été établi que tous les isolats appartiennent au genre *Streptomyces*. Les séquences (voir **Annexe 4**) ont été déposées dans GenBank (NCBI, Bethesda, MD, USA) avec les numéros d'accessions suivants :

*Streptomyces* sp. A1 (ON626505), *Streptomyces* sp. A5 (ON626504), *Streptomyces* sp. A6 (ON626506), *Streptomyces* sp. A8 (ON626507) et *Streptomyces* sp. A20 (ON626508). Sur la base des données du BLAST, un arbre phylogénétique a été créé avec *B. subtilis* comme groupe extérieur. Le dendrogramme présenté dans la **Figure 16** indique que *Streptomyces* sp. A1, *Streptomyces* sp. A5 et *Streptomyces* sp. A6 sont regroupés dans le même clade, soutenu par 82% des répliquats bootstrap. Le premier groupe révèle une corrélation phylogénétique étroite entre l'isolat A1 et ses voisins *S. enissocaesilis* Y18, *S. maritimus* UP1A-1, *S. fungicidicus* A1 et *S. rochei* TDI-3, avec une valeur bootstrap de 99%, où ils occupent tous la même ligne phylétique. Le deuxième groupe regroupe *Streptomyces* sp. A5 avec son espèce apparentée *S. olivovorticillatus* NRRL B-1994 avec une valeur bootstrap de 61%. *Streptomyces* sp. A6 apparaît dans un groupe distinctif avec une espèce représentative "*S. erumpens* DSM 409 41" avec une forte valeur de bootstrap (70%) de répliquats. Les souches *Streptomyces* sp. A8 et *Streptomyces* sp. A20 sont regroupées dans un autre clade soutenu par 100% des répliquats bootstrap. Le premier groupe, soutenu par une valeur bootstrap de 100%, révèle une corrélation phylogénétique étroite entre A8 et ses voisins *S. cavourensis* 190572, *S. parvus* 5-94 et *S. pratensis* 190501. Le deuxième groupe regroupe, dans la même ligne phylétique, *Streptomyces* sp. A20 avec ses espèces apparentées *S. lavendulae* subsp. *lavendulae* NBRC 12342, *S. microflavus* 126196 et *S. griseus* 173883 avec une valeur bootstrap de 100.



**Figure 16:** Arbre phylogénétique construit à partir de séquences partielles d'ARNr 16S (Neighbor-joining method) provenant des cinq souches d'actinomycètes isolées du sol, ainsi que des séquences de souches de référence sélectionnées. *B. subtilis* IAM 12118 (NR 112116) a été utilisé comme groupe externe. Les valeurs de bootstrap sont basées sur 1000 réplifications. La barre représente 0,02 substitutions par position nucléotidique.

**Barka et al. (2016), Khanna et al. (2011)** ont signalé que les caractéristiques principales utilisées pour déterminer le genre des actinomycètes sont la morphologie microscopique et macroscopique associée à la chimiotaxonomie. Il semble donc utile de combiner ces analyses morphologiques et biochimiques dans tous les cas. Suite à une incubation de 7 jours à 30 °C, les cinq souches ont démontré une croissance vigoureuse et un mycélium abondant. L'observation microscopique a révélé un mycélium végétatif non fragmenté, un mycélium aérien bien développé et abondant, portant de longues chaînes de spores de types : RA (retinaculiaperti), RF (rectiflexible) ou S (spiral). A cela s'ajoute le type pariétal I déterminé par l'analyse chimiotaxonomique. Selon les informations fournies par **Fatuma et al. (2016)** et **Khanna et al. (2011)**, cette morphologie est caractéristique du genre *Streptomyces*. En considérant l'ensemble de ces résultats, les isolats ont été catégorisés comme étant des membres du genre *Streptomyces*, et ils ont été désignés par *Streptomyces* sp. A1, *Streptomyces* sp. A5, *Streptomyces* sp. A6, *Streptomyces* sp. A8 et *Streptomyces* sp. A20.

Une comparaison des caractéristiques présentées par la souche A1 avec les données documentées par **Anwar et al. (2016)**, **Aouar et al. (2020)** et **Kumaran et al. (2020)** a indiqué que cette souche appartient à l'espèce *S. enissocaesilis* plutôt qu'aux autres espèces de la même branche. La souche A1 et *S. enissocaesilis* montrent une forte ressemblance morphologique, avec une couleur de masse de spores gris platine, des chaînes de spores de type rectiflexibles, et elles ne produisent pas de pigments mélaniques. Comme *S. enissocaesilis*, l'isolat A1 utilise le mannitol, le glucose, l'arabinose, le mannose, le fructose, le lactose, le galactose, le maltose, la lysine, la glycine, le citrate et le phénol. Ainsi, nous avons pu attribuer la souche A1 à l'espèce *S. enisecaesilis* grâce à cette relation phylogénétique et à la forte similarité des caractéristiques.

L'isolat A8 a montré un niveau de similarité élevé avec *S. cavourensis* AM 2-4 rapportée par **Shrivastava et al. (2015)**. Les deux souches sont capables de métaboliser l'arabinose, le saccharose, le mannitol, le lactose et le glucose. Toutes deux étaient négatives pour l'assimilation du fructose. Par conséquent, cette proximité phylogénétique et similarité des traits ont permis d'attribuer la souche A8 à *S. cavourensis*.

L'examen microscopique de la souche A20 a révélé que son mycélium aérien était morphologiquement constitué de sporophores droits. La souche A20 a fortement réduit le nitrate. L'utilisation de divers glucides par la souche A20 suggère un modèle diversifié d'assimilation de sources de carbone. Tous les sucres ont été utilisés, à l'exception du lactose et du ribose. En comparaison avec les résultats d'**El-Bendary et al. (2010)**, cela suggère que cette souche appartient à *S. microflavus* plutôt qu'aux autres espèces du même groupe.

La souche A5 a présenté un niveau élevé de similarité avec *S. olivovercillatus* 15273T, rapportée par **Hatano et al. (2003)**. Les deux souches étaient positives pour l'assimilation du glucose, de l'arabinose et du fructose, et toutes deux étaient négatives pour l'assimilation de l'arabinose, du xylose et du saccharose. De plus, l'observation macroscopique a révélé que la couleur de la masse aérienne était vert jaunâtre blanc/dark et la couleur du revers était brune. Aucun pigment diffusible n'a été détecté. Par conséquent, les résultats phylogénétiques combinés aux caractéristiques biochimiques et physiologiques nous ont permis d'attribuer la souche A5 à *S. olivovercillatus*.

Dans le cas de la souche A6, les caractéristiques morphologiques et physiologiques suggèrent que cet isolat appartient à *S. erumpens*. Les caractéristiques des chaînes de spores (spirales), l'incapacité à produire un pigment mélanoïde et la peptonisation dans le lait écrémé correspondent toutes aux caractéristiques de *S. erumpens* (**Choi et al., 2002**). De plus, les

capacités d'utilisation des sources uniques de carbone des deux souches étaient cohérentes, à l'exception du saccharose.

La souche A1 et A8 ont été assignées aux espèces *S. enissocaesilis* et *S. cavourensis*, respectivement. Elles ont déjà été citées dans les études antérieures comme étant des souches dotées de certaines caractéristiques PGP. Ainsi, **Anwar et al. (2016)** ont noté que *S. enissocaesilis* TA-3 produisait 69,26  $\mu\text{g ml}^{-1}$  d'AIA. Cette quantité est approximativement comparable à celle obtenue avec la souche A1 (66,58  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ). L'AIA peut stimuler le développement des plantes à faibles concentrations, tandis que de grandes quantités restreignent ou réduisent la zone d'élongation des racines (**Moscol et al., 2020**).

En outre, **Aallam et al. (2021)**, **Aouar et al. (2020)**, **Shrivastava et al. (2015)** ont rapporté la solubilisation du phosphate par *S. cavourensis* AM2-4, *S. enissocaesilis* SO<sub>2</sub> et *S. enissocaesilis* BYC, respectivement. Également, **Anwar et al (2016)** ont également signalé que *S. enissocaesilis* TA-3 est un producteur d'HCN puissant.

Des rapports antérieurs ont également mentionné la production de sidérophores par d'autres souches de *Streptomyces* telles que *S. enissocaesilis* TA-3 (**Anwar et al., 2016**), *S. enissocaesilis* IC10 (**Abbasi et al., 2019**) et *S. cavourensis* AM2-4 (**Shrivastava et al., 2015**). Ces découvertes soutiennent l'idée que les actinomycètes, en produisant des sidérophores, jouent un rôle essentiel dans la promotion du développement des végétaux en améliorant l'acquisition des nutriments essentiels, tels que le fer.

Les actinomycètes présents dans le sol rhizosphérique et non rhizosphérique démontrent des propriétés fascinantes en matière de biocontrôle des phytopathogènes et de production d'enzymes, ce qui est d'une grande importance pour la durabilité de l'agriculture (**Kumawat et al., 2022**). Ainsi, il est essentiel de rechercher les souches d'actinomycètes les plus performantes ayant ces caractéristiques.

L'objectif de ce travail est d'obtenir des souches d'actinomycètes rhizosphériques et non rhizosphériques capables de contrôler les phytopathogènes et de promouvoir la croissance des plantes. Ainsi, onze échantillons de sol ont été collectés, quatre échantillons non rhizosphériques de la région semi aride de M'Sila, et sept échantillons rhizosphériques (*Atiplex halimus* L.) de la région aride de Biskra.

Au total 116 Isolats d'actinomycètes ont été obtenus à partir des sols explorés, 43 rhizosphériques et 73 non rhizosphériques. Parmi ces isolats, onze ont été choisis car ils ont inhibé au moins 3 champignons phytopathogènes. Ces isolats ont été désignés par A1, A5, A6, A8, A20, Act11, Act16, Act17, Act18, Act23, et Act24.

Quelques activités PGP ont été explorées (solubilisation du phosphate, production d'auxine, de siderophores, d'acide cyanhydrique, et d'ammoniac), les isolats sélectionnés ont montré des capacités plus ou moins prometteuses.

Le test d'antagonisme *in vitro* des 11 isolats vis-à-vis les bactéries phytopathogènes a révélé la capacité des isolats Act18, Act24 d'inhiber *Streptomyces scabies*. Cependant dans la test *in planta*, sept isolats (A1, A5, A6, A8, A20, Act18, Act24) ont contrecarré de manière significative le pathogène *S. scabies*.

Cinq souches ont été soigneusement choisies en raison de leur performances exceptionnelles dans de nombreuses expériences, où elles ont démontré leur efficacité remarquable dans plusieurs tests (A1, A5, A6, A8, A20). Elles ont fait l'objet d'une identification moléculaire par séquençage du gène ARNr 16S. Cette méthode combinée avec les études morphologique, physiologique et biochimique a conduit à leur affiliation aux espèces du *Streptomyces*. Elles ont été identifiées comme suit : *Streptomyces enissocaesilis* A1, *Streptomyces olivovorticillatus* A5, *Streptomyces erumpens* A6, *Streptomyces cavourensis* A8 et *Streptomyces microflavus* A20.

Les résultats de cette étude nous permettent de conclure que les onze isolats d'actinomycètes sélectionnés possèdent un énorme potentiel considérable en raison de leurs capacités à produire des hormones végétales notamment l'acide-3-indole acétique (AIA), à

solubiliser le phosphore inorganique, à produire des sidérophores, de l'ammoniac, de l'acide hydrocyanique et à contrôler la croissance des bactéries et champignons phytopathogènes.

Ce qui est particulièrement intéressant, c'est la découverte de l'isolat rhizosphérique A5, identifié comme *S. olivoverticillatus*, qui se distingue par son rôle prépondérant dans la promotion du développement des plantes (PGP) et lutte biologique et qui n'a jamais été signalé dans des études antérieures en tant qu'agent de biocontrôle. De plus, les deux souches *Streptomyces* sp. Act18 et *Streptomyces* sp. Act24 ont démontré une croissance efficace même dans des conditions physiologiques défavorables telles que des températures élevées, des variations de pH et des concentrations de sel élevées (NaCl). Ces deux souches ont également montré un large spectre d'activité antagoniste *in vitro* contre les agents pathogènes des plantes. Outre leur potentiel pour contrer efficacement *S. scabies in planta*, en prévenant la gale commune et en améliorant le développement des racines des jeunes plants de radis, les mécanismes précis impliqués dans ces capacités restent à approfondir.

L'étude présentée met en évidence l'importance des actinobactéries rhizosphériques, ainsi que des actinobactéries non rhizosphériques. Cette distinction est cruciale car les actinomycètes rhizosphériques interagissent étroitement avec les racines des plantes et peuvent exercer des effets bénéfiques directs sur la croissance et la santé des cultures (**Olanrewaju and Babalola, 2019**). Il est bien connu que les *Streptomyces* sont capables de produire des métabolites agrochimiquement intéressants (**Alam et al., 2022**).

Dans un contexte où la préservation de l'environnement et la durabilité de l'agriculture sont primordiales, l'utilisation de ces souches d'actinomycètes dans les sols arides et salins pourrait offrir une solution durable pour protéger les cultures sans avoir recours à des produits agrochimiques nocifs.

Cependant, avant de les mettre en pratique sur le terrain, des investigations approfondies sont nécessaires, telles que des évaluations dans des conditions réelles, pour évaluer l'efficacité de ces souches sélectionnées. Des études supplémentaires visant à identifier les composés antifongiques les plus puissants produits par ces d'actinomycètes et à comprendre leurs mécanismes d'inhibition contre les agents phytopathogènes devraient également être entreprises. Ces recherches contribueront à affiner notre compréhension de ces souches et à exploiter pleinement leur potentiel.

- Abbasi S, Safaie N, Sadeghi A, Shamsbakhsh M (2019)** *Streptomyces* strains induce resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in tomato through different molecular mechanisms. *Frontiers in Microbiology* 10:1505.
- Abou-Dobara M, El-Sayed A, El-Fallal A, Sauf M (2019)** Survey for Tyrosinase production by *Streptomyces* species. *Journal of Egyptian Academic Society for Environmental Development D, Environmental Studies* 20:79–90.
- Afzal I, Shinwari ZK, Sikandar S, Shahzad S (2019)** Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research* 221:36–49.
- Aghighi S, Shahidi Bonjar GH, Rawashdeh R, Batayneh S, Saadounet I (2004)** First report of antifungal spectra of activity of Iranian actinomycetes strains against *Alternaria solani*, *Alternaria alternate*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Asian Journal of Plant Sciences* 3:463–471.
- Aguilar ML, de Mendoza GP, Tawfeeq AL, López AM, Gómez RO, Villar LE, Reyes GD (2020)** Using molecular techniques applied to beneficial microorganisms as biotechnological tools for controlling agricultural plant pathogens and pest. In: Sharma V, Salwan R, Tawfeeq Al-ni LK (eds) *Molecular aspects of plant beneficial microbes in agriculture*. Elsevier, Amsterdam, pp 333–349.
- Ahemad M, Kibret M (2014)** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King saud University-science* 26:1–20.
- Ahmad E, Sharma SK, Sharma PK (2020)** Deciphering operation of tryptophan-independent pathway in high indole-3-acetic acid (IAA) producing *Micrococcus aloeverae* DCB-20. *FEMS Microbiology Letters* 367:fnaa190.
- Ahmad F, Ahmad I, KHAN MS (2005)** Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turkish Journal of Biology* 29:29–34.
- Ahmed A, Hasnain S (2010)** Auxin-producing *Bacillus* sp.: Auxin quantification and effect on the growth of *Solanum tuberosum*. *Pure and Applied Chemistry* 82:313–319.
- Ahmed E, Holmström SJM (2014)** Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbial biotechnology* 7:196–208.
- Ahmed F, Fakhruddin ANM (2018)** A review on environmental contamination of petroleum hydrocarbons and its biodegradation. *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources* 11:1–7.
- Aissaoui H, Barkat D (2020)** Physico-chemical characterizations and impact of organic matter on the dynamics of heavy metals (Cu, and Zn) in some soils of Biskra (Algeria). *Journal of King Saud University-Science* 32:307–311.
- Alam K, Mazumder A, Sikdar S, Zhao YM, Hao J, Song C, Li A (2022)**. *Streptomyces*: The biofactory of secondary metabolites. *Frontiers in Microbiology* 13: 968053.

- Aldrich TJ, Rolshausen PE, Roper MC, et al (2015)** Radicinin from *Cochliobolus* sp. inhibits *Xylella fastidiosa*, the causal agent of Pierce's Disease of grapevine. *Phytochemistry* 116:130–137.
- Alexander MK, Miu A, Oh A, et al (2018)** Disrupting gram-negative bacterial outer membrane biosynthesis through inhibition of the lipopolysaccharide transporter MsbA. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 62:e01142–18.
- Ali A, Kurnia N, Asrini Nurani Ulfah A, Damayanti P, Rante H, Jumadi O (2021)** Diversity of Endophytic Actinomycetes Producing Indole-3-Acetic Acid and In vitro Evaluation of Plant Growth-promoting Activity on *Brassica oleracea* L. *Tropical Agricultural Science* 44: 275–292.
- Ali SS, Vidhale NN (2013)** Bacterial siderophore and their application: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2:303–312.
- Alibrandi P, Lo Monaco N, Calevo J, Voyron S, Puglia AM, Cardinale M, Perotto S (2021)** Plant growth promoting potential of bacterial endophytes from three terrestrial mediterranean orchid species. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 155:1153–1164.
- Allam Y, Maliki B, Dhiba D, Lemriss S, Souiri A, Haddioui A, Tarkka M, Hamdali H (2021)** Multiple potential plant growth promotion activities of endemic *Streptomyces* spp. from Moroccan sugar beet fields with their inhibitory activities against *Fusarium* spp. *Microorganisms* 9:1429.
- Alori ET, Glick BR, Babalola OO (2017)** Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology* 8:971.
- Amal AM, Abeer KA, Samia HM, et al (2011)** Selection of Pigment (Melanin) production in *Streptomyces* and their application in Printing and Dyeing of Wool Fabrics. *Research Journal of Chemical Sciences* 1:22–28.
- Amanullah A, Jüsten P, Davies A, Paul GC, Nienow AW, Thomas CR (2000)** Agitation induced mycelial fragmentation of *Aspergillus oryzae* and *Penicillium chrysogenum*. *Biochemical Engineering Journal* 5:109–114.
- Anandan R, Dharumadurai D, Manogaran GP, Anandan R, Dharumadurai D, Manogaran GP (2016)**. An introduction to Actinobacteria. In *Actinobacteria-basics and biotechnological applications*. IntechOpen. Rijeka, Croatia.
- Anibou M, Chait A, Ziad A, Taourirt M, Ouhdouch Y, Benherref A (2008)** Actinomycetes from Moroccan habitats: isolation and screening for cytotoxic activities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24:2019–2025.
- Anitha A, Rabeeth M (2010)** Degradation of fungal cell walls of phytopathogenic fungi by lytic enzyme of *Streptomyces griseus*. *African Journal of Plant Science* 4:61–66.

- Anwar S, Ali B, Sajid I (2016)** Screening of rhizospheric actinomycetes for various *in-vitro* and *in-vivo* plant growth promoting (PGP) traits and for agroactive compounds. *Frontiers in Microbiology* 7:1334.
- Aouar L (2012)** Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse de doctorat université de Constantine. Algérie.
- Aouar L, Boukelloul I, Benadjila A (2020)** Identification of antagonistic *streptomyces* strains isolated from Algerian Saharan soils and their plant growth promoting properties. *Biodiversitas* 21:5672–5683.
- Aouar L, Boukelloul I, Benadjila A (2021)** PGPR traits of rhizospheric *Nocardiopsis* strains isolated from Algerian soils. In: Ksibi M et al. (eds) Recent advances in environmental science from the euromediterranean and surrounding regions, 2nd edn. Environmental Science and Engineering, Springer, Cham, pp 1293–1300.
- Aouar L, Lerat S, Boulahrouf A, Beaulieu C (2016)** Bacterial antagonism and plant growth promoting traits of actinobacterial strains previously Selected for their antifungal properties. *Transylvanian Review* 10:2408–2417.
- Aouar L, Lerat S, Ouffroukh A, Boulahrouf A, Beaulieu C (2012)** Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology* 34:165–176.
- Arora NK, Mishra J, Mishra V (2020)** Microbial enzymes: roles and applications in industries. Springer, Berlin Heidelberg.
- Arora NK, Verma M (2017)** Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria. *3 Biotech* 7:381.
- Attab S (2014)** Etude de quelques altérations physiologiques et biochimiques chez le blé causées par une maladie cryptogamique ( l ' oïdium ). Thèse de doctorat université de Annaba. Algérie.
- Baoune H, El Hadj-Khelil AO, Pucci G, Sineli P, Loucif L, Polti MA (2018)** Petroleum degradation by endophytic *Streptomyces* spp. isolated from plants grown in contaminated soil of southern Algeria. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147:602–609.
- Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-Vaillant N, Jacquard C, Klenk HP, van Wezel G P (2016)** Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 80:1–43.
- Barkai-Golan R (2008)** *Alternaria* mycotoxins. In: *Mycotoxins in fruits and vegetables*. Elsevier, pp 185–203.
- Basavaraj KN, Chandrashekhara S, Shamarez AM, Goudanavar PS, Manvi FV (2010) Isolation and morphological characterization of antibiotic producing actinomycetes. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 9:31–236.

- Basilio A, Gonzalez I, Vicente MF, Gorrochategui J, Cabello A, Gonzalez A, Genilloud O (2003)** Patterns of antimicrobial activities from soil Actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *Journal of Applied Microbiology* 95:814–823.
- Baskaran R, Vijayakumar R, Mohan PM (2011)** Enrichment method for the isolation of bioactive Actinomycetes from mangrove sediments of Andaman Islands, India. *Malaysian Journal of Microbiology* 7:26–32.
- Beattie GA (2007)** Plant-associated bacteria: Survey, molecular phylogeny, genomics and recent advances. In: Gnanamanickam SS (ed) *Plant-associated bacteria*. Springer, pp 1–56.
- Beaudoin N, Isayenka I, Ducharme A, Massie S, Gagnon A, Hogue R, Michaud D (2021)** Habituation to thaxtomin A increases resistance to common scab in ‘Russet Burbank’ potato. *PLoS One* 16:e0253414.
- Behera BC, Singdevsachan SK, Mishra RR, Dutta SK, Thatoi HN (2014)** Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove-a review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 3:97–110.
- Benhadj M, Gacemi-Kirane D, Menasria T, Guebla K, Ahmane Z (2019)** Screening of rare Actinomycetes isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities. *Journal of King Saud University-Science* 31:706–712.
- Bentley R, Bennett JW (2003)** What is an antibiotic? Revisited. *Adv Appl Microbiol* 52:303–331.
- Bignell DRD, Francis IM, Fyans JK, Loria R (2014)** Thaxtomin A production and virulence are controlled by several bld gene global regulators in *Streptomyces scabies*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 27:875–885.
- Bona E, Massa N, Toumatia O, Novello G, Cesaro P, Todeschini V, ... Gamalero E (2021)** Climatic zone and soil properties determine the biodiversity of the soil bacterial communities associated to native plants from desert areas of North-Central Algeria. *Microorganisms* 9(7):1359.
- Boubetra D, Sabaou N, Zitouni A, et al (2013)** Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Saharan soil. *Microbiological Research* 168:223–230.
- Boudemagh A, Kitouni M, Boughachiche F, Hamdiken H, Oulmi L, Reghioua S, Boiron P (2005)** Isolation and molecular identification of Actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra, EL-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *Journal de Mycologie Médicale* 15:39–44.
- Boughachiche F, Boulahrouf A (2012)** Étude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre *Streptomyces*, isolées de Sebkh. Thèse de doctorat université de Constantine. Algérie.

- Bouizgarne B, Lanoot B, Loqman S, Sproer C, Klenk HP, Swings J, Ouhdouch Y (2009)** *Streptomyces marokkonensis* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of *Argania spinosa* L. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 59:2857–2863.
- Boukaya N, Goudjal Y, Zamoum M, Chaabane Chaouch F, Sabaou N, Mathieu F, Zitouni A (2018)** Biocontrol and plant-growth-promoting capacities of actinobacterial strains from the Algerian Sahara and characterisation of *Streptosporangium becharensense* SG1 as a promising biocontrol agent. Biocontrol Science and Technology 28:858–873.
- Boukelloul I, Aouar L, Bouziani MC, Zellagui A, Derdour M, Necib Y (2023)** Antagonism and plant growth promoting traits of Actinomycetes isolated from the rhizosphere of halophyte *Atriplex halimus* L. Notulae Scientia Biologicae 15:11437.
- Boumehira AZ, Kirby B, Trindade M, Hacène H, Park EY, El Enshasy HA (2022)** *Streptomyces* sp. ADR1, Strain Producing  $\beta$ - and  $\gamma$ -Rubromycin Antibiotics, Isolated from Algerian Sahara Desert. Fermentation 8:473.
- Buddhi CW, Min-Ho Y (2012)** Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: A review. African Journal of Microbiology Research 6:6600–6605.
- Bunsangiam S, Sakpuntoon V, Srisuk N, Ohashi T, Fujiyama K, Limtong S (2019)** Biosynthetic pathway of indole-3-acetic acid in basidiomycetous yeast *Rhodospiridiobolus fluvialis*. Mycobiology 47:292–300.
- Burg RW, Miller BM, Baker EE, Birnbaum J, Currie SA, Hartman R, Ōmura S (1979)** Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 15:361–367.
- Bürgmann H, Widmer F, Von Sigler W, Zeyer J (2004)** New molecular screening tools for analysis of free-living diazotrophs in soil. Applied and Environmental Microbiology 70:240–247.
- Çakmakçı R, Mosber G, Milton AH, Alatürk F, Ali B (2020)** The effect of auxin and auxin-producing bacteria on the growth, essential oil yield, and composition in medicinal and aromatic plants. Current Microbiology 77:564–577.
- Calvo P, Nelson L, Kloepper JW (2014)** Agricultural uses of plant biostimulants. Plant and Soil 383:3–41.
- Campbell CL (1987)** The history of phytopathology: Current needs and future directions. Plant Disease 71:111.
- Chaiharn M, Lumyong S (2011)** Screening and optimization of indole-3-acetic acid production and phosphate solubilization from rhizobacteria aimed at improving plant growth. Current Microbiology 62:173–181.
- Chaiharn M, Sujada N, Pathom-Aree W, Lumyong S (2019)** Biological control of *Rigidoporus microporus* the cause of white root disease in rubber using PGPRs *in vivo*. Chiang Mai Journal of Science 46:850–866.

- Chalk P, Smith C (2021)** On inorganic N uptake by vascular plants: can  $^{15}\text{N}$  tracer techniques resolve the  $\text{NH}_4^+$  versus  $\text{NO}_3^-$  “preference” conundrum? *European Journal of Soil Science* 72:1762–1779.
- Chand N, Pande M, Tyagi S, Sirohi AS, Mahajan S, Kumar S, Sarika, Sharma A (2022)** Antibioqram of microorganisms isolated from fresh and frozen semen of crossbred frieswal bulls. *Cryoletters* 43:322–327.
- Chaudhary DR (2022)** Halophytes of semi-arid areas: resources for mitigation of climate change. In: Poshiwa X, Ravindra Chary G (Eds). *Climate Change Adaptations in Dryland Agriculture in Semi-Arid Areas*. Springer, Singapore, pp 93–109.
- Chen H, Renault S, Markham J (2020)** The effect of *Frankia* and multiple ectomycorrhizal fungil species on *Alnus* growing in low fertility soil. *Symbiosis* 80:207–215.
- Chen J, Liu T, Wei M, Zhu Z, Liu W, Zhang Z (2019)** Macrolactin a is the key antibacterial substance of *Bacillus amyloliquefaciens* D2WM against the pathogen *Dickeya chrysanthemi*. *European Journal of Plant Pathology* 155:393–404.
- Choi WC, Hwang SY, Park TK, Kim SK (2002)** Identification of *Streptomyces* sp. producing new polyene antibiotics and *in vivo* antimicrobial activity of tetrin C against phytopathogenic fungi. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 12:204–208.
- Chukwuneme CF, Babalola OO, Kutu FR, Ojuederie OB (2020)** Characterization of Actinomycetes isolates for plant growth promoting traits and their effects on drought tolerance in maize. *Journal of Plant Interactions* 15:93–105.
- Cirou A, Uroz S, Chapelle E, Latour X, Orange N, Faure D, Dessaux Y (2009)** Quorum sensing as a target for novel biocontrol strategies directed at *Pectobacterium*. *Recent Developments in Management of Plant Diseases* 1:121–131.
- Cordovez V, Carrion VJ, Etalo DW, Mumm R, Zhu H, van Wezel GP, Raaijmakers JM (2015)** Diversity and functions of volatile organic compounds produced by *Streptomyces* from a disease-suppressive soil. *Frontiers in Microbiology* 6:1081.
- Cox PW, Paul GC, Thomas CR (1998)** Image analysis of the morphology of filamentous micro-organisms. *Microbiology* 144:817–827.
- Davari M, Ezazi R (2017)** Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Zhumeria majdae*, *Heracleum persicum* and *Eucalyptus* sp. against some important phytopathogenic fungi. *Journal de Mycologie Medicale* 27:463–468.
- De Angelis G, Simonetti G, Chronopoulou L, Orekhova A, Badiali C, Petruccelli V, Palocci C (2022)** A novel approach to control *Botrytis cinerea* fungal infections: uptake and

biological activity of antifungals encapsulated in nanoparticle based vectors. Scientific Reports 12:7989.

**de Gerlache J, Isnard P (2012)** L'évolution des besoins des industriels en matière de toxicologie. l'actualité chimique.

**de Haan EG, Dekker-Nooren TCEM, van den Bovenkamp GW, et al (2008)** *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* can cause potato blackleg in temperate climates. European Journal of Plant Pathology 122:561–569.

**Devi S, Sharma M, kumari Manhas R (2021)** Investigating the plant growth promoting and biocontrol potentiality of endophytic *Streptomyces* sp. SP5 against early blight in tomato seedling. BMC Microbiology 22: 285.

**Dhanasekaran D, Selvamani S, Panneerselvam A, Thajuddin N (2009)** Isolation and characterization of Actinomycetes in Vellar estuary, Annagkoil, Tamil Nadu. African Journal of Biotechnology 8: 4159–4162.

**Dif G, Belaouni HA, Yekkour A, Goudjal Y, Djemouai N, Peňázová E, ... Zitouni A (2022)** Performance of halotolerant bacteria associated with Sahara-inhabiting halophytes *Atriplex halimus* L. and *Lygeum spartum* L. ameliorate tomato plant growth and tolerance to saline stress: from selective isolation to genomic analysis of potential determinants. World Journal of Microbiology and Biotechnology 38:16.

**Ding D, Chen G, Wang B, Wang Q, Liu D, Peng M, Shi P (2013)** Culturable actinomycetes from desert ecosystem in northeast of Qinghai-Tibet Plateau. Annals of Microbiology 63: 259–266.

**Ding Y, Wang J, Liu Y, Chen S (2005)** Isolation and identification of nitrogen-fixing bacilli from plant rhizospheres in Beijing region. Journal of Applied Microbiology 99:1271–1281.

**Djebaili R, Pellegrini M, Smati M, Del Gallo M, Kitouni M (2020)** Actinomycete strains isolated from saline soils: plant-growth-promoting traits and inoculation effects on *Solanum lycopersicum*. Sustainability 12:4617.

**Djebbah FZ, Belyagoubi L, Abdelouahid DE, Kherbouche F, Al-Dhabi NA, Arasu MV, Ravindran B (2021)** Isolation and characterization of novel *Streptomyces* strain from Algeria and its *in-vitro* antimicrobial properties against microbial pathogens. Journal of Infection and Public Health 14:1671–1678.

**Doumbou CL, Hamby Salove MK, Crawford DL, Beaulieu C (2001)** Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. Phytoprotection 82:85–102.

**Duraipandiyan V, Sasi AH, Islam VIH, Valanarasu M, Ignacimuthu S (2010)** Antimicrobial properties of Actinomycetes from the soil of Himalaya. Journal de Mycologie Médicale 20:15–20.

- Eddaya T, Boughdad A, Becker L, Chaimbault P, Zaïd A (2015)** Utilisation et risques des pesticides en protection sanitaire de la menthe verte dans le Centre-Sud du Maroc (Use and risks of pesticides in sanitary protection of spearmint in south-central Morocco). *Journal of Materials and Environmental Science* 6:656–665.
- Edwards C (1993)** Isolation properties and potential applications of thermophilic Actinomycetes. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 42:161–179.
- Egerton FN (2012)** History of ecological sciences, part 44: phytopathology during the 1800s. *Bulletin of the Ecological Society of America* 93:303–339.
- El-Bendary MA, Rifaat HM, Keera AA (2010)** Larvicidal activity of extracellular secondary metabolites of *Streptomyces microflavus* against *Culex pipiens*. *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences* 4:1021–1026.
- Elshahat MR, Ahmed AA, Enas AH, Fekria MS (2016)** Plant growth promoting rhizobacteria and their potential for biocontrol of phytopathogens. *African Journal of Microbiology Research* 10:486–504.
- Etesami H, Emami S, Alikhani HA (2017)** Potassium solubilizing bacteria (KSB):: Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 17:897–911.
- Evangelista-Martínez Z, Contreras-Leal EA, Corona-Pedraza LF, Gastélum-Martínez É (2020)** Biocontrol potential of *Streptomyces* sp. CACIS-1.5 CA against phytopathogenic fungi causing postharvest fruit diseases. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30:1–10.
- Fatmawati UMI, Meryandini A, Nawangsih AA, Wahyudi AT (2019)** Screening and characterization of Actinomycetes isolated from soybean rhizosphere for promoting plant growth. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 20: 2970–2977.
- Fatuma N, Atika M, Imène M, Fawzia CC, Caro V, Nouredine B, Nasserline S (2016)** Taxonomy and antagonistic activity of A12, a new *Streptomyces* strain isolated from Ugandan soil. *ElWahat pour les Recherches et les Etudes* 9:1–11.
- Fiedler H-P, Krastel P, Müller J, Gebhardt K, Zeeck A (2001)** Enterobactin: the characteristic catechololate siderophore of Enterobacteriaceae is produced by *Streptomyces* species. *FEMS Microbiology Letters* 196:147–151.
- Fischer S, Príncipe A, Alvarez F, Cordero P, Castro M, Godino A, Mori G (2013)** Fighting plant diseases through the application of *Bacillus* and *Pseudomonas* strains. In: *Symbiotic endophytes*. Springer, pp 165–193.
- Flärdh K, Buttner MJ (2009)** *Streptomyces morphogenetics*: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nature Reviews Microbiology* 7:36–49.
- Franco-Correa M, Quintana A, Duque C, Suarez C, Rodríguez MX, Barea JM (2010)** Evaluation of Actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and *mycorrhiza* helping activities. *Applied Soil Ecology* 45:209–217.

- Fujiwara K, Aoyama C, Takano M, Shinohara M (2012)** Suppression of *Ralstonia solanacearum* bacterial wilt disease by an organic hydroponic system. *Journal of General Plant Pathology* 78:217–220.
- Gagnard J, Huguet C, Ryser JP (1988)**. L'analyse du sol et du végétal dans la conduite de la fertilisation, le contrôle de la qualité des fruits. Secrétariat Générale OILB/SROP, ACTA, Paris.
- Galet J, Deveau A, Hôtel L, Frey-Klett P, Leblond P, Aigle B (2015)** *Pseudomonas fluorescens* pirates both ferrioxamine and ferricoelichelin siderophores from *Streptomyces ambofaciens*. *Applied and Environmental Microbiology* 81:3132–3141.
- Gamalero E, Glick BR (2015)** Bacterial modulation of plant ethylene levels. *Plant Physiology* 169:13–22.
- Gao B, Gupta RS (2012)** Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 76:66–112.
- Gasmi M (2017)** Isolement, identification et criblage d'actinomycètes à activité chitinolytique à partir du sol de la région de Laghouat. Thèse de doctorat université de Constantine. Algérie.
- Ghorbani S, Harighi B (2018)** Characterization of endophytic bacteria with plant growth promotion and biological control potential isolated from walnut trees. *Forest Pathology* 48:e12403.
- Ghosh SK, Bera T, Chakrabarty AM (2020)** Microbial siderophore—A boon to agricultural sciences. *Biological Control* 144:104214.
- Ghoul M, Mitri S (2016)** The ecology and evolution of microbial competition. *Trends in Microbiology* 24:833–845.
- Giri S, Pati BR (2004)** A comparative study on phyllosphere nitrogen fixation by newly isolated *Corynebacterium* sp. & *Flavobacterium* sp. and their potentialities as biofertilizer. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 51:47–56.
- Giroux L (2015)** Caractérisation de rhizobactéries du groupe des *Bacillus* bénéfiques à la croissance de la tomate. Thèse de doctorat université du Québec à Trois-Rivières. Canada.
- Glick BR (1995)** The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41:109–117.
- Glick BR (2012)** Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012:15.
- Glick BR (2014)** Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research* 169:30–39.

- Glick BR (2015)** Beneficial Plant-Bacterial Interactions. Springer, Heidelberg.
- Gmoser R, Ferreira JA, Lundin M, Taherzadeh MJ, Lennartsson PR (2018)** Pigment production by the edible filamentous fungus *Neurospora intermedia*. *Fermentation* 4:11
- Gomaa EZ (2012)** Chitinase production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*: their potential in antifungal biocontrol. *Journal of Microbiology* 50:103–111.
- Gong Y, Bai JL, Yang HT, Zhang WD, Xiong YW, Ding P, Qin S (2018)** Phylogenetic diversity and investigation of plant growth-promoting traits of Actinobacteria in coastal salt marsh plant rhizospheres from Jiangsu, China. *Systematic and Applied Microbiology* 41:516–527.
- Goodfellow M, Kampfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Suzuki KI, Ludwig W, Whitman WB (2012).** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer, New York.
- Gordon RE, Smith MM (1955)** Rapidly growing, acid fast bacteria: II. Species' description of *Mycobacterium fortuitum* Cruz. *Journal of Bacteriology* 69:502–507.
- Govindasamy V, George P, Ramesh S V, et al (2022)** Characterization of root-endophytic Actinobacteria from cactus (*Opuntia ficus-indica*) for plant growth promoting traits. *Archives of Microbiology* 204:150.
- Goyer C (2005)** Isolation and characterization of phages Stsc1 and Stsc3 infecting *Streptomyces scabiei* and their potential as biocontrol agents. *Canadian Journal of Plant Pathology* 27:210–216.
- Gtari M, Ghodhbane-Gtari F, Nouioui I, Beauchemin N, Tisa LS (2012)** Phylogenetic perspectives of nitrogen-fixing Actinobacteria. *Archives of Microbiology* 194:3–11.
- Gupta VVSR, Roper MM, Thompson J, Pratley JE, Kirkegaard J (2020)** Harnessing the benefits of soil biology in conservation agriculture. In: Pratley J and Kirkegaard J (eds) *Australian agriculture: from conservation to automation*. Agronomy Australia and Charles Sturt University. Wagga Wagga, Australia, pp 237–253.
- Habib ESE, Scarsdale JN, Reynolds KA (2003)** Biosynthetic origin of hygromycin A. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47:2065–2071.
- Hamdan H, Weller DM, Thomashow LS (1991)** Relative importance of fluorescent siderophores and other factors in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4-80R. *Applied and Environmental Microbiology* 57:3270–3277.
- Han D, Wang L, Luo Y (2018)** Isolation, identification, and the growth promoting effects of two antagonistic Actinomycete strains from the rhizosphere of *Mikania micrantha* Kunth. *Microbiological Research* 208:1–11.
- Harikrishnan H, Shanmugaiah V, Balasubramanian N (2014)** Optimization for production of Indole acetic acid (IAA) by plant growth promoting *Streptomyces* sp VSMGT1014 isolated from rice rhizosphere. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3:158–171.

- Harir M, Bendif H, Bellahcene M, Fortas Z, Pogni R (2018)** *Streptomyces* secondary metabolites. *Basic Biology and Applications of Actinobacteria* 6:99–122.
- Hasegawa T, Takizawa M, Tanida S (1983)** A rapid analysis for chemical grouping of aerobic Actinomycetes. *The Journal of General and Applied Microbiology* 29:319–322.
- Hasim S, Coleman JJ (2019)** Targeting the fungal cell wall: current therapies and implications for development of alternative antifungal agents. *Future Medicinal Chemistry* 11:869–883.
- Hassan R, Shaaban MI, Abdel Bar FM, El-Mahdy AM, Shokralla S (2016)** Quorum sensing inhibiting activity of *Streptomyces coelicoflavus* isolated from soil. *Frontiers in Microbiology* 7:659.
- Hatano K, Nishii T, Kasai H (2003)** Taxonomic re-evaluation of whorl-forming *Streptomyces* (formerly *Streptoverticillium*) species by using phenotypes, DNA–DNA hybridization and sequences of *gyrB*, and proposal of *Streptomyces luteireticuli* (ex Katoh and Arai 1957) corrig., sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53:1519–1529.
- Hayashida S, Choi M-Y, Nanri N, Miyaguchi M (1988)** Production of potato common scab-antagonistic biofertilizer from swine feces with *Streptomyces albidoflavus*. *Agricultural and Biological Chemistry* 52:2397–2402.
- Herrera-Estrella A, Chet I (1999)** Chitinases in biological control. *EXS-BASEL* 87:171–184.
- Huang Y, Cui Q, Wang L, Rodriguez C, Quintana E, Goodfellow M, Liu Z (2004)** *Streptacidiphilus jiangxiensis* sp. nov., a novel Actinomycete isolated from acidic rhizosphere soil in China. *Antonie Van Leeuwenhoek* 86:159.
- Husaini AM, Sakina A, Cambay SR (2018)** Host–pathogen interaction in *Fusarium oxysporum* infections: where do we stand?. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 31:889–898.
- Huss-Danell K (1997)** Actinorhizal symbioses and their N<sub>2</sub> fixation. *New Phytologist* 136:375–405.
- Islam MR, Jeong YT, Ryu YJ, Song CH, Lee YS (2009)** Isolation, identification and optimal culture conditions of *Streptomyces albidoflavus* C247 producing antifungal agents against *Rhizoctonia solani* AG2-2. *Mycobiology* 37:114–120.
- Ismail RA, Sulaiman GM, Abdulrahman SA, Marzoog TR (2015)** Antibacterial activity of magnetic iron oxide nanoparticles synthesized by laser ablation in liquid. *Materials Science and Engineering: C* 53:286–297.
- Isono K, Nagatsu J, Kobinata K, Sasaki K, Suzuki S (1967)** Studies on polyoxins, antifungal antibiotics: Part V. Isolation and characterization of polyoxins C, D, E, F, G, H and I. *Agricultural and Biological Chemistry* 31:190–199.
- Jha CK, Saraf M (2015)** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Journal of Agricultural Research and Development* 5:108–119.

- Kaari M, Joseph J, Manikkam R, Sreenivasan A, Venugopal G (2022)** Biological control of *Streptomyces* sp. UT4A49 to suppress tomato bacterial wilt disease and its metabolite profiling. *Journal of King Saud University-Science* 34:101688.
- Kalakoutsii LV, Agre NS (1976)** Comparative aspects of development and differentiation in Actinomycetes. *Bacteriological Reviews* 40:469–524.
- Kannan VR, Bastas KK, Antony R (2015)** Scientific and economic impact of plant pathogenic bacteria. In: Kannan VR, Bastas K K (eds) *Sustainable approaches to controlling plant pathogenic bacteria*. CRC Press, pp 369–383.
- Karmakar P, Sharma D, Das P, Saha AK (2018)** Phosphate solubilizing capacity and siderophore production by *Arthroderma cuniculi* dawson 1963 isolated from rhizospheric soil. *Research Journal of Life Science, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences* 4:330–336.
- Kaur T, Sharma D, Kaur A, Manhas RK (2013)** Antagonistic and plant growth promoting activities of endophytic and soil Actinomycetes. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 46:1756–1768.
- Halabi MK (2012)** Etude de la diversité de *Pectobacterium* spp et des effets induits par les lipopolysaccharides chez les plantes. Thèse de doctorat université de Casablanca, Maroc.
- Khamna S, Yokota A, Lumyong S (2009)** Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25:649–655.
- Khan MS, Zaidi A, Wani PA, Oves M (2009)** Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environmental Chemistry Letters* 7:1–19.
- Khanna M, Solanki R, Lal R (2011)** Selective isolation of rare Actinomycetes producing novel antimicrobial compounds. *International Journal of Advanced Biotechnology Research* 2:357–375.
- Khenaka K, Canfora L, Benedetti A, Leulmi N, Boulahrouf A (2019)** Effect of *Capsicum annuum* cultivated in sub-alkaline soil on bacterial community and activities of cultivable plant growth promoting bacteria under field conditions. *Archives of Agronomy and Soil Science* 65:1417–1430.
- Kim BS, Hwang BK (2007)** Microbial fungicides in the control of plant diseases. *Journal of Phytopathology* 155:641–653.
- Kirubakaran SI, Sakthivel N (2007)** Cloning and overexpression of antifungal barley chitinase gene in *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification* 52:159–166.
- Kitouni M, Boudemagh A, Oulmi L, Boughachiche F, Zerizer H, Boiron P (2005)** Isolation of Actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north–east of Algeria. *Journal de Mycologie Médicale* 15:45–51.
- Kitouni M (2007)** Isolement de bactéries Actinomycetales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrême; identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat, Université Mentouri Constantine.

- Kloepper JW, Leong J, Teintze M, Schroth MN (1980)** Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286:885–886.
- Koch AL (1999)** Diffusion through agar blocks of finite dimensions: a theoretical analysis of three systems of practical significance in microbiology. *Microbiology* 145:643–654.
- Kontro M, Lignell U, Hirvonen M, Nevalainen A (2005)** pH effects on 10 *Streptomyces* spp. growth and sporulation depend on nutrients. *Letters in Applied Microbiology* 41:32–38.
- Koyyappurath S, Atuahiva T, Le Guen R, Batina H, Le Squin S, Gautheron N, Grisoni M (2016)** *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* is the causal agent of root and stem rot of vanilla. *Plant Pathology* 65:612–625.
- Kraepiel Y, Barny M (2016)** Gram-negative phytopathogenic bacteria, all hemibiotrophs after all?. *Molecular Plant Pathology* 17:313–316.
- Krishnaraj PU, Dahale S (2014)** Mineral phosphate solubilization: concepts and prospects in sustainable agriculture. *Proceedings of the Indian National Science Academy* 80:389–405.
- Kuddus M (2014)** Potential applications of microbial chitinase: Recent development. *Biochem Cellular Archives* 14:1–7.
- Kumar R, Shastri B (2017)** Role of phosphate-solubilising microorganisms in sustainable agricultural development. In: Singh J, Seneviratne G (eds) *Agro-Environmental Sustainability*. Springer, Cham, pp 271–303.
- Kumaran S, Uttra V, Thirunavukkarasu R, Nainangu P, Krishnan VG, Renuga PS, Balaraman D (2020)** Bioactive metabolites produced from *Streptomyces enissocaeilis* SSASC10 against fish pathogens. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 29:101802.
- Kumawat KC, Razdan N, Saharan K (2022)** Rhizospheric microbiome: bio-based emerging strategies for sustainable agriculture development and future perspectives. *Microbiological Research* 254:126901.
- Laforest M, Bisailon K, Ciotola M, Cadieux M, Hébert PO, Toussaint V, Svircev AM (2019)** Rapid identification of *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas syringae* species and characterization of *E. amylovora* streptomycin resistance using quantitative PCR assays. *Canadian Journal of Microbiology* 65:496–509.
- Latour X, Faure D, Diallo S, Smadja B, Dessaux Y, Orange N (2008)** Lutte contre les maladies bactériennes de la pomme de terre dues aux *Pectobacterium* spp. (*Erwinia carotovora*). *Cahiers Agricultures* 17:355–360.
- Leblond P, Fischer G, Francou F, Guérineau M, Decaris B (1996)** The unstable region of *Streptomyces ambofaciens* includes 210 kb terminal inverted repeats flanking the extremities of the linear chromosomal DNA. *Molecular Microbiology* 19:261–271.
- Lebourgeois FF, Piedallu CC (2005)** Appréhender le niveau de sécheresse dans le cadre des études stationnelles et de la gestion forestière à partir d'indices bioclimatiques. *Revue Forestière Française* 57:331–356.

- Lee J, Postmaster A, Soon HP, Keast D, Carson KC (2012)** Siderophore production by Actinomycetes isolates from two soil sites in Western Australia. *Biometals* 25:285–296.
- Lee JY, Hwang BK (2002)** Diversity of antifungal Actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology* 48:407–417.
- Legault GS, Lerat S, Nicolas P, Beaulieu C (2011)** Tryptophan regulates thaxtomin A and indole-3-acetic acid production in *Streptomyces scabiei* and modifies its interactions with radish seedlings. *Phytopathology* 101:1045–1051.
- Lemanceau P, Alabouvette C (1993)** Suppression of *Fusarium* wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications. *Biocontrol Science and Technology* 3:219–234.
- Lepoivre P, Busogoro JP, Etame JJ, El Hadrami A, Carlier J, Harelimana G, Mourichon X, Panis B, Riveros AS, Salle G, Strosse H, Swennen R (2003)** Banana–*Mycosphaerella fijiensis* interactions. In: Jacome L, Lepoivre P, Marin D, Ortiz R, Romero R, Escalant JV (eds) *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: present status and outlook. Proceedings of the second international workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases, San José, pp 151–159.
- Lewin R (1984)** How Microorganisms Transport Iron: In the midst of plenty, microorganisms are often in danger of iron-starvation; the mechanism by which they transport iron has now been elucidated. *Science* 225:401–402.
- Li Q, Chen X, Jiang Y, Jiang C (2016)** Morphological identification of Actinobacteria. In: Dhanasekaran D, Jiang Y (eds) *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*. InTech, Rijeca, Croatia, pp. 59–81.
- Lim J-A, Hong J, Kim J, Heu S, Roh E (2016)** OmpF of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc3 is required for carocin D sensitivity. *FEMS Microbiology Letters* 363: fnw258.
- Lin L, Xu X (2013)** Indole-3-acetic acid production by endophytic *Streptomyces* sp. En-1 isolated from medicinal plants. *Current Microbiology* 67:209–217.
- Liu D, Anderson NA, Kinkel LL (1995)** Biological control of potato scab in the field with antagonistic *Streptomyces scabies*. *Phytopathology* 85:827–831.
- Liu H, Carvalhais LC, Crawford M, Singh E, Dennis PG, Pieterse CM, Schenk PM (2017)** Inner plant values: diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. *Frontiers in Microbiology* 8:2552.
- Loqman S (2009)** La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne: Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d’origine marocaine. Thèse de doctorat université de Reims. France.
- Loqman S, Barka EA, Clément C, Ouhdouch Y (2009)** Antagonistic Actinomycetes from Moroccan soil to control the grapevine gray mold. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25:81–91.

- Lyons AJ, Pridham TG (1966)** *Streptomyces griseus* (Krausky) Waksman and Henrici: A Taxonomic Study of Some Strains. Agricultural Research Service, US Department of Agriculture Tech. Bull, 1360.
- Ma LJ, Geiser DM, Proctor RH, Rooney AP, O'Donnell K, Trail F, Kazan K (2013)** *Fusarium pathogenomics*. Annual Review of Microbiology 67:399–416.
- Ma Y, Ling T, Su X, Rooney AP, O'Donnell K, Trail F, Kazan K (2021)** Integrated proteomics and metabolomics analysis of tea leaves fermented by *Aspergillus niger*, *Aspergillus tamaris* and *Aspergillus fumigatus*. Food Chemistry 334:127560.
- Mahmoudi E, Tabatabaei BES, Venturi V (2011)** Virulence attenuation of *Pectobacterium carotovorum* using N-acyl-homoserine lactone degrading bacteria isolated from potato rhizosphere. Plant Pathology Journal 27:242–248.
- Malhotra H, Vandana Sharma S, Pandey R (2018)** Phosphorus nutrition: plant growth in response to deficiency and excess. In: Hasanuzzaman M, Fujita M, Oku H, Nahar K, Hawrylak-Nowak B (eds) Plant nutrients and abiotic stress tolerance. Springer, Singapore, pp 171–190.
- Malik A, Kim YR, Kim SB (2020)** Genome mining of the genus *Streptacidiphilus* for biosynthetic and biodegradation potential. Genes 11:1166.
- Malleswari D, Bagyanarayana G (2013)** Plant growth-promoting activities and molecular characterization of rhizobacterial strains isolated from medicinal and aromatic plants. Journal of Pharmacy and Biological Sciences 6:30–37.
- Manikkam R, Venugopal G, Ramasamy B, Kumar V (2015)** Effect of critical medium components and culture conditions on antitubercular pigment production from novel *Streptomyces* sp D25 isolated from Thar desert, Rajasthan. Journal of Applied Pharmaceutical Science 5:15–19.
- Manivasagan P, Venkatesan J, Sivakumar K, Kim SK (2013)** Actinobacterial melanins: current status and perspective for the future. World Journal of Microbiology and Biotechnology 29:1737–1750.
- Marchal N, Bourdon JL, Richard CL (1982)** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin Press, Paris.
- Mariat F, Sebald M (1989)** Les Actinomycètes. In: Le Minor L, Véron M (eds) Bactériologie Médicale, Flammarion, Paris, pp 935–949.
- Masand M, Menghani E (2015)** Antimicrobial activity of isolates of Actinomycetes from soils of semi arid regions of Rajasthan. International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences 4:1549–1556.
- Matsumoto A, Takahashi Y (2017)** Endophytic Actinomycetes: promising source of novel bioactive compounds. The Journal of Antibiotics 70:514–519.
- McCarthy AJ, Cross T (1984)** A taxonomic study of *Thermomonospora* and other monosporic Actinomycetes. Microbiology 130:5–25.

- McCormack P, Worsfold PJ, Gledhill M (2003)** Separation and detection of siderophores produced by marine bacterioplankton using high-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 75:2647–2652.
- McLoughlin TJ, Quinn JP, Bettermann A, Bookland R (1992)** *Pseudomonas cepacia* suppression of sunflower wilt fungus and role of antifungal compounds in controlling the disease. *Applied and Environmental Microbiology* 58:1760–1763.
- Meyer J (1989)** Genus *Nocardiosis*. In: Williams ST, Sharpe ME, Holt JG (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 4. Williams and Wilkins, Baltimore, pp 2562–2569.
- Miller SH, Browne P, Prigent-Combaret C, Combes-Meynet E, Morrissey JP, O'Gara F (2010)** Biochemical and genomic comparison of inorganic phosphate solubilization in *Pseudomonas* species. *Environmental Microbiology Reports* 2:403–411.
- Minotto E, Milagre LP, Oliveira MT, Van Der Sand ST (2014)** Enzyme characterization of endophytic Actinobacteria isolated from tomato plants. *Journal of Advanced Scientific Research* 5:16–23.
- Mohite B (2013)** Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13:638–649.
- Monciardini P, Cavaletti L, Schumann P, et al (2003)** *Conexibacter woesei* gen. nov., sp. nov., a novel representative of a deep evolutionary line of descent within the class *Actinobacteria*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53:569–576.
- Monciardini P, Sosio M, Cavaletti L, Iocchini C, Donadio S (2002)** New PCR primers for the selective amplification of 16s rDNA from different groups of actinomycetes. *FEMS Microbiology Ecology* 42:419–429.
- Moscol JC, Castro JC, Tuesta CM, Quispe JL (2020)** *In vitro* assessment of plant growth-promoting potential of rhizosphere Actinomycetes from *Solanum tuberosum* sp. *andigena*. *Scientia Agropecuaria* 11:391–398.
- Muiru WM, Mutitu EW, Mukunya DM (2008)** Identification of selected Actinomycetes isolates and characterization of their antibiotic metabolites. *Journal of Biological Sciences* 8(6):1021–1026.
- Nadeem SM, Ahmad M, Zahir ZA, Javaid A, Ashraf M (2014)** The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances* 32:429–448.
- Nadia R, Nadia B, Karima O, Mykhailo S (2018)** Remote sensing and ground based assessment of distribution of land cover parameters in the catchment area of Wadi el K'sob M'sila (Algeria). *Journal of Geology, Geography and Geoecology* 27:485–494.
- Nafis A, Raklami A, Bechtaoui N, El Khalloufi F, El Alaoui A, Glick BR, Hassani L (2019)** Actinobacteria from extreme niches in Morocco and their plant growth-promoting potentials. *Diversity* 11:139.

- Nag M, Lahiri D, Dey A, Sarkar T, Joshi S, Ray RR (2022)** Evaluation of algal active compounds as potent antibiofilm agent. *Journal of Basic Microbiology* 62:1098–1109.
- Natsume M, Tashiro N, Doi A, Nishi Y, Kawaide H (2017)** Effects of concanamycins produced by *Streptomyces scabies* on lesion type of common scab of potato. *Journal of General Plant Pathology* 83:78–82.
- Nautiyal CS (1999)** An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters* 170:265–270.
- Neilands JB (1981)** Microbial iron compounds. *Annual Review of Biochemistry* 50:715–731.
- Nguyen BAT, Chen,QL, He JZ, Hu HW (2020) Microbial regulation of natural antibiotic resistance: Understanding the protist-bacteria interactions for evolution of soil resistome. *Science of the Total Environment* 705:135882.
- Nimnoi P, Pongsilp N, Lumyong S (2010)** Endophytic Actinomycetes isolated from *Aquilaria crassna* Pierre ex Lec and screening of plant growth promoters production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26:193–203.
- Nonhebel HM (2015)** Tryptophan-independent indole-3-acetic acid synthesis: critical evaluation of the evidence. *Plant Physiology* 169:1001–1005.
- Lamari NL (2006)** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de doctorat université de Tizi-Ouzou. Algérie.
- Nürnberg T (1999)** Signal perception in plant pathogen defense. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 55:167–182.
- Olanrewaju OS, Babalola OO (2019)** *Streptomyces*: implications and interactions in plant growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103:1179–1188.
- Oleńska E, Malek W, Wójcik M, Swiecicka I, Thijs S, Vangronsveld J (2020)** Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. *Science of the Total Environment* 743:140682.
- Oluwatosin A, Katharina W, Sophia W, Maritta K, Anja D, Mario K, Wilhelm B, Erika K, Katrin K (2021)** Phytohormones and volatile organic compounds, like geosmin, in the ectomycorrhiza of *Tricholoma vaccinum* and Norway spruce (*Picea abies*). *Mycorrhiza* 31: 173–188.
- Oskay AM, Üsame T, Cem A (2004)** Antibacterial activity of some Actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *African Journal of Biotechnology* 3:441–446.
- Oteino N, Lally RD, Kiwanuka S, Lloyd A, Ryan D, Germaine KJ, Dowling DN (2015)** Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology* 6:745.
- Pahari A, Pradhan A, Nayak SK, Mishra BB (2017)** Bacterial siderophore as a plant growth promoter. In: Patra JK, Vishnuprasad CN, Das G (eds) *Microbial biotechnology*, vol

1. Springer Nature Singapore Pte Ltd., Applications in agriculture and environment, pp 163–180.

**Papagianni M (2004)** Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnology Advances* 22:189–259.

**Parasuraman P, Pattnaik SS, Busi S, Marraiki N, Elgorban AM, Syed A (2022)** Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their biocontrol efficacy against phytopathogens of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 156:164–170.

**Park CS, Paulitz T, Baker R (1988)** Attributes associated with increased biocontrol activity of fluorescent pseudomonads. *The Plant Pathology Journal* 4:218–225.

**Pascoal A, Estevinho LM, Martins IM, Choupina AB (2018)** Novel sources and functions of microbial lipases and their role in the infection mechanisms. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 104:119–126.

**Passari AK, Mishra VK, Gupta VK, Yadav MK, Saikia R, Singh BP (2015)** *In vitro* and *in vivo* plant growth promoting activities and DNA fingerprinting of antagonistic endophytic Actinomycetes associates with medicinal plants. *PLoS One* 10:e0139468.

**Pereyra MA, Creus CM (2017)**. Modifying the rhizosphere of agricultural crops to improve yield and sustainability: *Azospirillum* as a model rhizotroph. In: Mehnaz S (ed) *Rhizotrophs: plant growth promotion to bioremediation*. *Microorganisms for Sustainability*, vol. 2. Singapore, Springer, pp 15–37.

**Pérez-Miranda S, Cabirol N, George-Téllez R, Zamudio-Rivera LS, Fernández FJ (2007)** O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *Journal of Microbiological Methods* 70:127–131.

**Perrine-Walker F, Gherbi H, Imanishi L, Hocher V, Ghodhbane-Gtari F, Lavenus J, Laplaze L (2011)** Symbiotic signaling in actinorhizal symbioses. *Current Protein and Peptide Science* 12:156–164.

**Pretorius CJ, Steenkamp PA, Tugizimana F, et al (2022)** Metabolomic characterisation of discriminatory metabolites involved in halo blight disease in oat cultivars caused by *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens*. *Metabolites* 12:248.

**Prevost B (1807)**. *Memoirs on the immediate cause of bunt or smut of wheat and of several other diseases of plants and on preventatives of bunt*. Translated by G. W. Keit. American Phytopathological Society, Menasha, Wisconsin, U.S.A, p 1939.

**Putrie RFW, Aryantha INP, Iriawati i, Antonius S (2020)** Diversity of endophytic and rhizosphere bacteria from pineapple (*Ananas comosus*) plant in semi-arid ecosystem. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 21:3084–3093.

**Raaijmakers JM, Leeman M, Van Oorschot MMP, et al (1995)** Dose-response relationships in biological control of *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 85:1075–1080.

- Rajkumar M, Ae N, Prasad MNV, Freitas H (2010)** Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends in Biotechnology* 28:142–149.
- Rakotoarimanga N, Zananirina J, Ramamonjisoa D, Ramanankierana H (2014)** Lutte biologique antifongique: Actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum* L., 1753) pourri. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie* 10: 243–255.
- Rana KL, Kour D, Yadav AN (2019)** Endophytic microbiomes: biodiversity, ecological significance and biotechnological applications. *Research Journal of Biotechnology* 14:142–162.
- Rashmi I, Roy T, Kartika KS, Pal R, Coumar V, Kala S, Shinoji KC (2020)** Organic and inorganic fertilizer contaminants in agriculture: impact on soil and water resources. In: Naeem M, Ansari A, Gill S (eds) *Contaminants in agriculture*. Springer, Cham, pp 3–41.
- Razaq M, Zhang P, Shen H (2017)** Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of *Acer mono*. *PloS One* 12:e0171321.
- Reponen TA, Gazonko S V, Grinshpun SA, Willeke K, Cole EC (1998)** Characteristics of airborne Actinomycete spores. *Applied and Environmental Microbiology* 64:3807–3812.
- Richards LA (1954)** Diagnosis and improvement of saline alkali soils. USDA 153 Handbook, Washington, USA.
- Rios-Muñiz DE, Evangelista-Martínez Z (2022)** Antifungal activity of *Streptomyces* sp. CACIS-2.15 CA, as a potential biocontrol agent, against some soil-borne fungi. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 32:130.
- Rodrigues ML, Nosanchuk JD (2020)** Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 14:e0007964.
- Rodríguez H, Fraga R, Gonzalez T, Bashan Y (2006)** Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil* 287:15–21.
- Rodríguez H, Fraga R (1999)** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17:319–339.
- Rombouts S, Volckaert A, Venneman S, Declercq B, Vandenhuevel D, Allonsius CN, Lavigne R (2016)** Characterization of novel bacteriophages for biocontrol of bacterial blight in leek caused by *Pseudomonas syringae* pv. *porri*. *Frontiers in Microbiology* 7:279.
- Saadoun I, Al-Momani F, Malkawi HI, Mohammad MJ (1999)** Isolation, identification and analysis of antibacterial activity of soil streptomycetes isolates from north Jordan. *Microbios* 100:41–46.

- Sacramento DR, Coelho RRR, Wigg MD, et al (2004)** Antimicrobial and antiviral activities of an Actinomycete (*Streptomyces* sp.) isolated from a Brazilian tropical forest soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 20:225–229.
- Saha M, Sarkar S, Sarkar B, Sharma BK, Bhattacharjee S, Tribedi P (2016)** Microbial siderophores and the potential applications: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 23:3984–3999.
- Saxena A, Upadhyay R, Kango N (2015)** Isolation and identification of Actinomycetes for production of novel extracellular glutaminase free L-asparaginase. *Indian Journal of Experimental Biology*. 53:786–793.
- Sayed R, Chincholkar S, Reddy M, Gangurde N, Patel P (2013)** Siderophore producing PGPR for crop nutrition and phytopathogen suppression. In: Maheshwari DK (ed) *Bacteria in agrobiology: Disease Management*. Springer, Berlin, pp 449–471.
- Scheidegger KA, Payne GA (2003)** Unlocking the secrets behind secondary metabolism: a review of *Aspergillus flavus* from pathogenicity to functional genomics. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews* 22:423–459.
- Schiro G, Verch G, Grimm V, Müller MEH (2018)** *Alternaria* and *Fusarium* fungi: Differences in distribution and spore deposition in a topographically heterogeneous wheat field. *Journal of Fungi* 4:63.
- Sebihi FZ, Benguedouar A, Benhizia Y, Sanchez J, Gallego E (2016)** Evaluation of multi-trait plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* isolated from Constantine Wheat rhizosphere soil (Algeria) and screening there antifungal activity against two species of *Fusarium*. *Advances in Environmental Biology* 10:102–116.
- Seipke RF, Song L, Bicz J, Laskaris P, Yaxley AM, Challis GL, Loria R (2011)** The plant pathogen *Streptomyces scabies* 87-22 has a functional pyochelin biosynthetic pathway that is regulated by TetR-and AfsR-family proteins. *Microbiology* 157:2681–2693.
- Semal J (1995)** L'épopée du mildiou de la pomme de terre (1845-1995). *Cahiers Agricultures* 4:287–298.
- Shao T, Zhao J, Liu A, Long X, Rengel Z (2020)** Effects of soil physicochemical properties on microbial communities in different ecological niches in coastal area. *Applied Soil Ecology* 150:103486.
- Sharma A, Gupta AK, Devi B (2023)** Current trends in management of bacterial pathogens infecting plants. *Antonie Van Leeuwenhoek* 116:303–326.
- Sharma M, Dangi P, Choudhary M (2014)** Actinomycetes: source, identification, and their applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3:801–832.
- Shirling EBT, Gottlieb D (1966)** Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology* 16:313–340.

- Shrivastava P, Yandigeri MS, Kumar R, Arora DK (2015)** Isolation and characterization of *Streptomyces* with plant growth promoting potential from Mangrove ecosystem. Polish Journal of Microbiology 64:339–349.
- Silva V, Mol HGJ, Zomer P, et al (2019)** Pesticide residues in European agricultural soils—A hidden reality unfolded. Science of the Total Environment 653:1532–1545.
- Silvey JKG, Roach AW, Jenkins DI (1975)** The taste and odor producing aquatic actinomycetes. Critical Reviews in Environmental Science and Technology 5:233–273.
- Sindhu SS, Phour M, Choudhary SR, Chaudhary D (2014)** Phosphorus cycling: prospects of using rhizosphere microorganisms for improving phosphorus nutrition of plants. In: Geomicrobiology and biogeochemistry. Springer, Berlin, pp 199–237.
- Singh T, Singh DK (2019)** Rhizospheric *Microbacterium* sp. P27 showing potential of lindane degradation and plant growth promoting traits. Current Microbiology 76:888–895.
- Singh Y, Lal N (2016)** Isolation and characterization of PGPR from wheat (*Triticum aestivum*) rhizosphere and their plant growth promoting traits *in vitro*. Indian Journal of Biology 3:139–144.
- Singleton P (1999)** Applied bacteriology I. food bacteria in Biology. Biotechnology and Medicine 4th edition John Wiley and sons Ltd, West Sussex, England, pp 267–273.
- Slama H Ben, Cherif-Silini H, Chenari Bouket A, et al (2019)** Screening for *Fusarium* antagonistic bacteria from contrasting niches designated the endophyte *Bacillus halotolerans* as plant warden against *Fusarium*. Frontiers in Microbiology 9:3236.
- Smaoui S (2010)** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat université de Toulouse. France.
- Smati M, Kitouni M (2019)** Diversity of Actinobacteria in the marshes of Ezzemoul and Djendli in northeastern Algeria. European Journal of Ecology 5:41–53.
- Smith JE, Moss MO (1985)** Mycotoxins: formation, analysis and significance. Chichester, Wiley.
- Sobiczewski P, Iakimova ET (2022)** Plant and human pathogenic bacteria exchanging their primary host environments. Journal of Horticultural Research 30:11–30.
- Solanki P, Kothari V (2011)** Halophilic Actinomycetes: salt-loving filaments. International Journal of Life Science and Technology 4:7–13.
- Solano F (2014)** Melanins: skin pigments and much more—types, structural models, biological functions, and formation routes. New Journal of Science 2014:1–28.
- Song L, Jiang N, Wei S, Lan Z, Pan L (2020)** Isolation, screening, and identification of Actinomycetes with antifungal and enzyme activity assays against *Colletotrichum dematium* of *Sarcandra glabra*. Mycobiology 48:37–43.
- Song Y, Li Q, Liu X, Chen Y, Zhang Y, Sun A, Ju J (2014)** Cyclic hexapeptides from the deep South China sea-derived *Streptomyces scopuliridis* SCSIO ZJ46 active against pathogenic gram-positive bacteria. Journal of Natural Products 77:1937–1941.

- Sreevidya M, Gopalakrishnan S, Kudapa H, Varshney RK (2016)** Exploring plant growth-promotion Actinomycetes from vermicompost and rhizosphere soil for yield enhancement in chickpea. *Brazilian Journal of Microbiology* 47:85–95.
- Stach N, Kaszycki P, Wladyka B, Dubin G (2018)** Extracellular proteases of *Staphylococcus* spp. In Savini V (ed) *Pettoman travelling staphylococci*. Academic Press, San Diego, California, USA, pp 135–145.
- Stackebrandt E, Rainey FA, Ward-Rainey NL (1997)** Proposal for a new hierarchical classification system, Actinobacteria classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 47:479–491.
- Stackebrandt E, Schumann P (2006)** Introduction to the taxonomy of Actinobacteria. In: Dworkin M, Falkow S, Schleifer RH, Stackebrandt RM (eds) *The prokaryotes*, 3rd edn, vol 3, Archaea and Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes. Springer, New York, pp 297–321.
- Staneck JL, Roberts GD (1974)** Simplified approach to identification of aerobic Actinomycetes by thin-layer chromatography. *Applied Microbiology* 28:226–231.
- Steyaert J, Vanderleyden J, Spaepen S, Versées W, Gocke D, Pohl M (2007)** Characterization of Phenylpyruvate. *Journal of Bacteriology* 189:7626–7633.
- Suárez-Moreno ZR, Vinchira-Villarraga DM, Vergara-Morales DI, Castellanos L, Ramos FA, Guarnaccia C, Moreno-Sarmiento N (2019)** Plant-growth promotion and biocontrol properties of three *Streptomyces* spp. isolates to control bacterial rice pathogens. *Frontiers in Microbiology* 10:290.
- Sudiana IM, Putri A, Napitupulu TP, Purnaningsih I, Kanti A (2020)** Growth inhibition of *Fusarium solani* and *F. oxysporum* by *Streptomyces sasae* TG01, and its ability to solubilize insoluble phosphate. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 21:429–435.
- Suzuki S, Okuda T, Komatsubara S (2001)** Selective isolation and study on the global distribution of the genus *Planobispora* in soils. *Canadian Journal of Microbiology* 47:979–986.
- Syed-Ab-Rahman SF, Carvalhais LC, Omar D (2020)** Development of plant-based emulsion formulations to control bacterial leaf blight and sheath brown rot of rice. *Heliyon* 6:e03151.
- Tahtamouni ME, Khresat SE, Lucero M, Sigala J, UNC A (2016)** Diversity of endophytes across the soil-plant continuum for *Atriplex* spp. in arid environments. *Journal of Arid Land* 8:241–253.
- Takehana Y, Umekita M, Hatano M, Kato C, Sawa R, Igarashi M (2017)** Frdiamine A, a new siderophore from the deep-sea Actinomycete *Streptomyces fradiae* MM456M-mF7. *The Journal of Antibiotics* 70:611–615.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S (2013)** MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725–2729.

- Tamura S, Park Y, Toriyama M, Okabe M (1997)** Change of mycelial morphology in tylosin production by batch culture of *Streptomyces fradiae* under various shear conditions. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 83:523–528
- Tanaka Y, Kasahara K, Hirose Y, Murakami K, Kugimiya R, Ochi K (2013)** Activation and products of the cryptic secondary metabolite biosynthetic gene clusters by rifampin resistance (*rpoB*) mutations in Actinomycetes. *Journal of Bacteriology* 195:2959–2970.
- Terra L, Ratcliffe N, Castro HC, Vicente AC, Dyson P (2021)** Biotechnological potential of *Streptomyces* siderophores as new antibiotics. *Current Medicinal Chemistry* 28:1407–1421.
- Thilagam R, Hemalatha N (2019)** Plant growth promotion and chilli anthracnose disease suppression ability of rhizosphere soil Actinobacteria. *Journal of Applied Microbiology* 126:1835–1849.
- Tian T, Reverdy A, She Q, Sun B, Chai Y (2020)** The role of rhizodeposits in shaping rhizomicrobiome. *Environmental Microbiology Reports* 12:160–172.
- Turan M, Nikerel E, Kaya K, Kitir N, Gunes A, Mokhtari NEP, Tüfenkçi Ş, Karaman MR, Çimrin KM (2017)** Enzyme dynamic in plant nutrition uptake and plant nutrition. In: *Enzyme inhibitors and activators*. IntechOpen Limited, London, p 225.
- Upadhyay V, Devi EP (2019)** Mechanism of microbial infection in vegetables diseases. In: *The vegetable pathosystem*. Apple Academic Press, pp 271–300.
- Usman HM, Abdulkadir N, Gani M, Maiturare HM (2017)** Bacterial pigments and its significance. *MOJ Bioequiv Availab* 4:00073.
- van Keulen G, Jonkers HM, Claessen D, Dijkhuizen L, Wösten HA (2003)** Differentiation and anaerobiosis in standing liquid cultures of *Streptomyces coelicolor*. *Journal of Bacteriology* 185:1455–1458.
- Vardharajula S, SkZ A, Shiva Krishna Prasad Vurukonda S, Shrivastava M (2017)** Plant growth promoting endophytes and their interaction with plants to alleviate abiotic stress. *Current Biotechnology* 6:252–263.
- Vesth TC, Nybo JL, Theobald S, Frisvad JC, Larsen TO, Nielsen KF, Andersen MR (2018)** Investigation of inter- and intraspecies variation through genome sequencing of *Aspergillus* section *Nigri*. *Nature Genetics* 50:1688–1695.
- Vurukonda SSKP, Giovanadri D, Stefani E (2021)** Growth promotion and biocontrol activity of endophytic *Streptomyces* spp. *Prime Archives in Molecular Sciences*, 2nd Edition, pp.1–55.
- Wahyudi AT, Priyanto JA, Afrista R, Kurniati D, Astuti RI, Akhdiya A (2019)** Plant growth promoting activity of Actinomycetes isolated from soybean rhizosphere. *OnLine Journal of Biological Sciences* 19:1–8.
- Wajnberg E, Ris N (2007)** Parasitisme et lutte biologique. In: Thomas F, Guégan JF, Renaud F (eds) *Ecologie et evolution des systèmes parasités*. De Boeck Université, Bruxelles, Belgique, pp 257–299.

- Waksman SA, Schatz A, Reynolds DM (2010)** Production of antibiotic substances by actinomycetes. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1213:112–124.
- Wang M, Xue J, Ma J, Feng X, Ying H, Xu H (2020)** *Streptomyces lydicus* M01 regulates soil microbial community and alleviates foliar disease caused by *Alternaria alternata* on cucumbers. *Frontiers in Microbiology* 11:942.
- Weiberg A, Wang M, Lin F-M, Zhao H, Zhang Z, Kaloshian I, Jin H (2013)** Fungal small RNAs suppress plant immunity by hijacking host RNA interference pathways. *Science* 342:118–123.
- Weise T, Kai M, Piechulla B (2013)** Bacterial ammonia causes significant plant growth inhibition. *PloS One* 8:e63538.
- Welbaum GE, Sturz A V, Dong Z, Nowak J (2004)** Managing soil microorganisms to improve productivity of agro-ecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences* 23:175–193.
- Williams ST, Cross T (1971)** Isolation, purification, cultivation and preservation of Actinomycetes. In: Norris JR, Ribbons DW (eds) *Methods in microbiology*. Academic Press, London, pp 295-334.
- Williams ST, Flowers TH (1978)** The influence of pH on starch hydrolysis by neutrophilic and acidophilic Streptomyces. *Microbios* 20:99–106.
- Williams ST, Goodfellow M, Alderson G, Wellington EMH, Sneath PHA, Sackin MJ (1983)** Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Microbiology* 129:1743–1813.
- Williams ST, Khan MR (1974)** Antibiotics--a soil microbiologist's viewpoint. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej* 28:395–408.
- Williams ST, Robinson CS (1981)** The role of Streptomyces in decomposition of chitin in acidic soils. *Microbiology* 127:55–63.
- Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, Van Kan JAL (2007)** *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology* 8:561–580.
- Woloshuk CP, Shim WB (2013)** Aflatoxins, fumonisins, and trichothecenes: a convergence of knowledge. *FEMS Microbiology Reviews* 37:94–109.
- Woudenberg JHC, Van Der Merwe NA, Jurjević Ž, et al (2015)** Diversity and movement of indoor *Alternaria alternata* across the mainland USA. *Fungal Genetics and Biology* 81:62–72.
- Wright F, Bibb MJ (1992)** Codon usage in the G+ C-rich *Streptomyces* genome. *Gene* 113:55–65.
- Xu C, Wang L, Cui Q, Huang Y, Liu Z, Zheng G, Goodfellow M (2006)** Neutrotolerant acidophilic *Streptomyces* species isolated from acidic soils in China: *Streptomyces guanduensis* sp. nov., *Streptomyces paucisporeus* sp. nov., *Streptomyces rubidus* sp. nov. and *Streptomyces yanglinensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56:1109–1115.

- Yadav AN, Verma P, Kumar S, Kumar V, Kumar M, Singh BP, Saxena AK, Dhaliwal HS (2018)** Actinobacteria from rhizosphere: molecular diversity, distributions and potential biotechnological applications. In: Singh BP, Gupta VK, Passari AK (eds) New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. Elsevier, New York, pp 13–41.
- Yandigeri MS (2021)** Role of Actinomycetes in insect pest and plant disease management. In: Biopesticides in horticultural crops. CRC Press, pp 152–172.
- Yao L, Li Y, Ma C, Tong L, Du F, Xu M (2020)** Combined genome-wide association study and transcriptome analysis reveal candidate genes for resistance to *Fusarium* ear rot in maize. *Journal of Integrative Plant Biology* 62:1535–1551.
- Yilmaz EI, Yavuz M, Kizil M (2008)** Molecular characterization of rhizospheric soil Streptomycetes isolated from indigenous Turkish plants and their antimicrobial activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24:1461–1470.
- Zabouri Y (2021)** Etude de l'Activité Antifongique des Bactéries Lactiques vis a vis des Champignons Phytopathogènes. Thèse de doctorat université de Mostaganem. Algérie.
- Zaidi A, Khan M, Ahemad M, Oves M (2009)** Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 56:263–284.
- Zhang L, Hurek T, Reinhold-Hurek B (2007)** A *nifH*-based oligonucleotide microarray for functional diagnostics of nitrogen-fixing microorganisms. *Microbial Ecology* 53:456–470.
- Ziedan E-SH, Farrag ES, El-Mohamedy RS, Abd Alla MA (2010)** *Streptomyces alni* as a biocontrol agent to root-rot of grapevine and increasing their efficiency by biofertilisers inocula. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 43:634–646.
- Zitouni A, Boudjella H, Lamari L, Badji, B, Mathieu F, Lebrihi A, Sabaou N (2005)** *Nocardiopsis* and *Saccharothrix* genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *Research in Microbiology* 156:984–993.

**Annexe 1 : Composition des solutions et des milieux de culture****ISP2**

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Glucose	4 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,3	

**Milieu ISP2 + CaCO<sub>3</sub>: (YMEA)**

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Glucose	4 g
CaCO <sub>3</sub>	1 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,3	

**ISP4**

Amidon soluble	10 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1 g
NaCl	1 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 g
CaCO <sub>3</sub>	2 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,0 – 7,4	

**ISP5**

Asparagine	1 g
Glycérol	10 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
Solution d'oligo-éléments <sup>1</sup>	1 ml
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,0 – 7,4	

**Milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar)**

Glucose	20 g
Pomme de terre	200 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH=6,5	

**Citrate de simmons**

Citrate de sodium	1 g
Bleu de bromothymol	0,08 g
Chlorure de sodium	5 g
Sulfate de magnésium	0,2 g
Hydrogénophosphate de potassium	1 g

**ISP7**

Glycérol	15 g
L-tyrosine	0,5 g
L-asparagine	1,0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,5 g
NaCl	0,5 g
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,01 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,2	

**ISP9**

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,64 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,38 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,65 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1 g
Solution d'oligo-éléments <sup>2</sup>	1 ml
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

**Milieu Mueller-Hinton**

Extrait de viande	2 g
Hydrolysate acide decaséine	17,5 g
Amidon	1,5 g
Agar	10 g
Eau distillée	1000 ml
pH=7,4	

**Colloidal Chitin Agar**

Chitine	20 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,7 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,3 g
MgSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,5 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01 g
ZnSO <sub>4</sub>	0,001 g
MnCl <sub>2</sub>	0,001 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

**GBA**

Glycérol	20 g
Amidon soluble	20 g
Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
CaCO <sub>3</sub>	3 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,0	

**Milieu Sierra**

Tryptone	3 g
Extrait de levure	5 g
Glucose	5 g
Tween	1 %
CaCl <sub>2</sub>	0,01 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7	

**BMA (Bennett modifié)**

Glycérol	10 g
Extrait de levure	1 g
NZ amine (caséine digest)	2 g
Extrait de viande	1 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,3	

**Milieu LB**

Tryptone	10 g
Extrait de levure	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,5	

**Milieu NBRIP**

Glucose	10 g
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	5 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,1 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,25 g
KCl	0,2 g
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,0	

**Milieu Pikovskaya**

Glucose	10 g
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	5 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,5 g
NaCl	0,2 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,1 g
KCl	0,2 g
Extrait de levure	0,5 g
MnSO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	0,002 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,002 g
Agar	20 g
pH : 7,0	

**Milieu TSB**

Tryptone	15 g
Peptone papainique de soja	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,3	

**Milieu YM**

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	500 mg
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	200 mg
NaCl	100 mg
Extrait de levure	400 mg
Mannitol	10 g
pH : 7,0	

**Gélose Tryptone Soja (TSA)**

Tryptone	15 g
peptone de soja	5 g
NaCl	5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,3	

**Milieu M9**

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,6 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3 g
MgSO <sub>4</sub>	2 g
KCl	0,1 g
Glucose	3g
Asparagine	10 g
Rouge de phénol	0,09 g
Agar	20 g
Eau distillée	10 00 ml
pH = 6,8	

**Azote Free medium (AFM)**

Sucrose	20 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,1 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,4 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2 g
NaCl	0,1 g
FeCl <sub>3</sub>	0,01 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,002 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,2	

**Bouillon Azote Free medium (AFM)**

Sucrose	20 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,1 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,4 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2 g
NaCl	0,1 g
FeCl <sub>3</sub>	0,01 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,002 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,2	

**Eau peptonée**

Peptone exempte d'indole	10 g
Chlorure de sodium	5 g
pH : 7,2	

**Bouillon nutritif**

Peptone	10 g
Extrait de levure	5 g
NaCl	5 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,2	

**Agar- eau**

Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,0	

**MP7**

Glucose	5 g
Pectine	5 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6 g
Extrait de levure	1 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,001 g
MgSO <sub>4</sub>	0,2 g
CaCl <sub>2</sub>	0,001 g
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	0,00001 g
MnSO <sub>4</sub>	0,00001 g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,00007 g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,00005 g
MoO <sub>3</sub>	0,00001 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH : 7,2-7,4	

**Bouillon ISP2**

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Glucose	4 g
CaCO <sub>3</sub>	1 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,3	

**Gélose nutritif**

Peptone	10 g
Extrait de levure	5 g
NaCl	5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,2	

**Solution d'oligo-éléments<sup>1</sup>**

FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,1 g
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,1 g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,1 g
Eau distillée	100 ml

**Solution d'oligo-éléments<sup>2</sup>**

FeSO <sub>4</sub> .7 H <sub>2</sub> O	0,11 g
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,79 g
ZnSO <sub>4</sub> .7 H <sub>2</sub> O	0,15 g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,64 g
Eau distillée	100 ml

### Préparation des solutions d'extraction d'ADN

#### **Tris-HCL (2M) :**

Tris base : 242 g

H<sub>2</sub>O Ultra pure : 1000 ml

Le pH est réglé à 8 par 2N NaOH

#### **EDTA à 0,5 M) :**

EDTA : 146,1g

H<sub>2</sub>O Ultra pure : 1000 ml

Après avoir ajusté le pH à 8 avec du NaOH (2N), la solution est stérilisée à 120 °C durant 15 minutes.

#### **Sodum dodecyl sulfate (SDS) à 10% :**

SDS : 10 g

H<sub>2</sub>O Ultra pure : 100 ml

Après avoir ajusté le pH à 7.2 avec du NaOH (2N), la solution est stérilisée à 120 °C durant 15 min.

#### **Lysozyme**

Lysozyme : 50 mg

H<sub>2</sub>O Ultra pure : 1 ml

#### **Protéinase K :**

Protéinase K : 20 mg

H<sub>2</sub>O Ultra pure : 1 ml

#### **Acétate de potassium à 5M :**

Acétate de potassium : 2,94g/6ml

Acide acétique : 1,15 ml

H<sub>2</sub>O Ultra pure : 2,85 ml

#### **Réactif de Salkowsky**

Eau distillée	250 ml
FeCl <sub>3</sub>	6,75 g/ 50 ml d'eau
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	150 ml

#### **Réactif d'aniline-phtalate**

Aniline	0,093 g
Acide phtalique	0,166 g
Butanol saturé d'eau	100 ml

#### **Réactif TCA 1:1:1:2 ratio de :**

H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3M
Sulfate d'ammonium	2,5%
Acide ascorbique	10%
Eau distillée	100 ml

#### **Eau iodée (Lugol)**

Iode	1 g
Iodure de potassium	2 g
Eau distillée	100 ml

## Annexe 2

Figure présentant l'activité antifongique et antibactérienne des isolats d'actinomycètes contre les bactéries et les champignons phytopathogènes : A) *A. alternata* ; B) *F. oxysporum* ; C) *F. solani* ; D) *P. carotovorum*

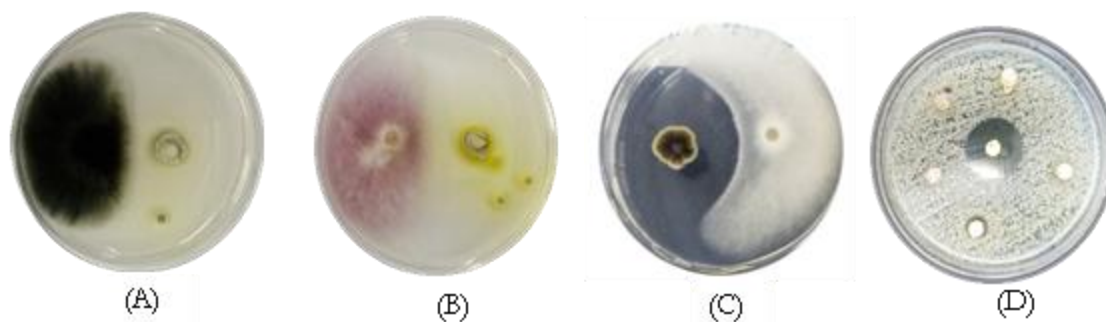


Tableau présentant les résultats de l'antibiogramme des isolats d'actinomycètes avec les diamètres de zone d'inhibition en millimètres (mm).

<b>ATB Souches</b>	<b>Amoxicilline (AMX)</b>	<b>Tétracycline (TE)</b>	<b>Ampicilline (AM)</b>	<b>Rifampicine (RIF)</b>	<b>Lincomycine (L)</b>
<b>A1</b>	0 (R)	11	0 (R)	0	0 (R)
<b>A5</b>	0 (R)	32	0 (R)	0	0 (R)
<b>A6</b>	0 (R)	0	0 (R)	20	0 (R)
<b>A8</b>	0 (R)	0	0 (R)	17	0 (R)
<b>A20</b>	0 (R)	16	0 (R)	21	0 (R)
<b>Act11</b>	0 (R)	0	0 (R)	0	0 (R)
<b>Act16</b>	0 (R)	21	0 (R)	0	0 (R)
<b>Act17</b>	0 (R)	24	0 (R)	0	0 (R)
<b>Act18</b>	0 (R)	14	0 (R)	25	0 (R)
<b>Act23</b>	0 (R)	0	0 (R)	0	0 (R)
<b>Act24</b>	0 (R)	0	0 (R)	0	0 (R)

R : Résistante

Tableau des caractères cultureux des isolats d'actinomyètes sur milieu de culture ISP5

Souches/ ISP5	A1	A5	A6	A8	A20	Act11	Act16	Act17	Act18	Act23	Act24
<b>Taille</b> <b>Relief</b> <b>Allure</b>	Grande Semi bambée Régulière	Grande Bambée Régulière	Petite Pinctiforme Régulière	Moyenne Bombée Non Régulière	Pinctiforme Semi bombée Régulière	Petite Plat Non Régulière	Grande Semi bombée Régulière	Moyenne Bombée Non Régulière	Pinctiforme Semi bombée Régulière	Grande Bombée Non Régulière	Pinctiforme Plat
<b>Mycélium aérien</b>	Jaune clair	Centre : Beige Bordure : Blanc/ Crème	Centre : beige Bordure : Blanc cassé/ Beige sable	Beige	Orange	Beige	Centre : beige Bordure : Beige	Beige	Beige sable	Rose	Jaune pale
<b>Mycélium de substrat</b>	Marron	Beige	Beige	Jaune pale	Ivoire	Jaune pale	Marron	Centre : beige Bordure : Blanche	Marron	Rose	Beige
<b>Pigments diffusibles</b>	-	-	-	-	+ Jaune foncé	-	+ Marron	-	+/- Marron	-	-
<b>Masse de spores</b>	Gris foncé	Blanche/ Vert olive claire	-	Crème/ Beige sable	Brun vendâtre	Beige taupe	Violette	Gris foncé	Blanchâtre	Rose	-
<b>Chaîne de spores</b>	RF	RA/ Retinaculum	Spiral	RA/ Retinaculum	RA	RA	RA/RF	RA	Spiral	RF	RA
<b>Filaments</b>	Longs enchevêtrés, minces	Longs, minces dispersés	Longs, minces, dispersés	Courts, épais	Courts, épais	Longs, épais, enchevêtrés	Longs, minces,	Longs, dispersés, minces	Longs, minces, enchevêtrés	Courts, minces	Courts, enchevêtrés, épais

<b>Croissance</b>	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Très bonne	Modérée	Faible	Modérée
<b>Vitesse de croissance</b>	2 jours	3 jours	4 jours	7 jours	4 jours	4 jours	6 jours	5 jours	10 jours	10 jours	7 jours

**Tableau** des caractères cultureux des isolats d'actinomycètes sur milieu de culture GBA

<b>Souches/ GBA</b>	<b>A1</b>	<b>A5</b>	<b>A6</b>	<b>A8</b>	<b>A20</b>	<b>Act11</b>	<b>Act16</b>	<b>Act17</b>	<b>Act18</b>	<b>Act23</b>	<b>Act24</b>
<b>Taille</b>	Grande	Grande	Grande	Grande	Moyenne	Grande	Grande	Grande	Moyenne	Grande	Pinctiforme
<b>Relief</b>	Bambée	Semi bambée	Bambé	Plate	Semi bombée	Semi bambée	Plate	Plate	Plate	Plate	Bambée
<b>Allure</b>	Régulière	Régulière	Régulière	Non Régulière	Régulière	Non Régulière	Non Régulière	Régulière	Non Régulière	Non Régulière	Non Régulière
<b>Mycélium aérien</b>	Jaune clair	Jaune clair	Blanc cassé	Jaune clair	Orange	Jaunâtre	Beige	Centre : beige Bordure : Blanchâtre	Jaune pale	Beige	Jaune pale
<b>Mycélium de substrat</b>	Jaune/ Marron	Marron	Jaune pale	Jaune marron	Ivoire/ Beige	Jaunâtre	Marron	Centre : beige Bordure : beige	Marron	Beige	Centre : beige Bordure : Marron
<b>Pigments diffusibles</b>	-	-	-	-	Orange/ Jaune	-	-	-	+/- Marron	-	-
<b>Masse de spores</b>	Gris palatin	Blanche/ Olive	-	Blanchâtre/ Beige pale	Brun vendâtre	Beige	Violette	Gris	Beige	Rose	-
<b>Chaîne de spores</b>	RF	RA/ Retinaculum	Spiral/ RA	RA/ Retinaculum	RF	RA	RA	RF/RA	Spiral/RA	RF	RF

<b>Filaments</b>	Courts, enchevêtrés, minces	Longs, minces	Longs, minces, dispersés	Courts, épais	Très courts, minces	Longs minces, dispersés	Longs, minces	Courts, enchevêtrés, minces	Longs, minces	Longs, minces	Courts, enchevêtrés, épais
<b>Croissance</b>	Très bonne	Bonne	Bonne	Très bonne	Bonne	Très bonne	Très bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Modérée
<b>Vitesse de croissance</b>	3 jours	3 jours	4 jours	3 jours	6 jours	4 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours	9 jours

**Tableau** des caractères cultureux des isolats d'actinomycètes sur milieu de culture ISP4

<b>Souches/ISP4</b>	<b>A1</b>	<b>A5</b>	<b>A6</b>	<b>A8</b>	<b>A20</b>	<b>Act11</b>	<b>Act16</b>	<b>Act17</b>	<b>Act18</b>	<b>Act23</b>	<b>Act24</b>
<b>Taille Relief</b>	Grande Bambée	Grande Semi bambée	-	Moyenne Plat	Pinctiforme Semi bombée	Petite Bambée	Grande Plat	Moyenne Semi bombée	-	-	Pinctiforme Plat
<b>Allure</b>		Non Régulière	-	Régulière	Régulière	Non Régulière	Régulière	Non Régulière	-	-	Non Régulière
<b>Mycélium aérien</b>	Jaune clair	Centre : Beige Bordure : Blanc/ Crème	-	Beige	Orange	Beige	Centre : beige Bordure : Beige	Beige	-	-	Jaune pale
<b>Mycélium de substrat</b>	Marron	Beige	-	Jaune pale	Ivoire	Jaune pale	Marron	Centre : beige Bordure : Blanche	-	-	Beige
<b>Pigments diffusibles</b>	-	-	-	-	Jaune clair	-	+/ Marron	-	-	-	-
<b>Masse de</b>	Gris foncé	Blanchâtre	-	Crème/	Brun	Beige	Violette	Gris	-	-	-

<b>spores</b>				Beige sable	vendâtre	taupe		foncé			
<b>Chaîne de spores</b>	RF	RA/ Retinaculum	-	RA/ Retinaculum	RA	RA	RA/RF	RA	-	-	RA
<b>Filaments</b>	Longs, minces	Longs, minces	-	Courts, minces	Courts, épais	Longs, épais,	Longs, minces, dispersés	Longs, minces	-	-	Courts, épais
<b>Croissance</b>	Bonne	Modérée	-	Modérée	Faible	Bonne	Bonne	Faible	-	-	Modérée
<b>Vitesse de croissance</b>	7 jours	9 jours	-	14 jours	14 jours	6 jours	9 jours	12 jours	-	-	9 jours

## Annexe 3

## Résultats de l'étude statistique

**Tableau:** Antagonisme *in vitro* des isolats d'actinomycètes sélectionnés contre les cinq champignons phytopathogènes

<i>Alternaria alternata</i>					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Traitements	858,322	10	85,832	6,309	,000
Erreur	299,304	22	13,605		
Total	1157,627	32			

<i>Fusarium oxysporum</i>					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Traitements	34129,022	10	3412,902	241,901	,000
Erreur	310,391	22	14,109		
Total	34439,413	32			

<i>Fusarium solani</i>					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Traitements	27124,070	10	2712,407	250,470	,000
Erreur	238,244	22	10,829		
Total	27362,314	32			

<i>Aspergillus flavus</i>					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Traitements	28007,711	10	2800,771	239,913	,000
Erreur	256,831	22	11,674		
Total	28264,542	32			

<i>Botrytis cinerea</i>					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Traitements	21876,344	10	2187,634	38,984	,000
Erreur	1234,556	22	56,116		
Total	23110,900	32			

**Tableau:** Propriétés physicochimiques du sol (Humidité)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Traitements	680,167	10	68,017	680166,818	,000
Erreur	,002	22	,000		
Total	680,169	32			

**Tableau:** Propriétés physicochimiques du sol (conductivité)

	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Traitements</b>	91,374	10	9,137	91374,273	,000
<b>Erreur</b>	,002	22	,000		
<b>Total</b>	91,376	32			

**Tableau:** Propriétés physicochimiques du sol (Matière organique)

	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Traitements</b>	125,311	10	12,531	125310,655	,000
<b>Erreur</b>	,002	22	,000		
<b>Total</b>	125,313	32			

**Tableau:** Propriétés physicochimiques du sol (pH)

	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Traitements</b>	2,239	10	,224	2238,764	,000
<b>Erreur</b>	,002	22	,000		
<b>Total</b>	2,241	32			

**Tableau:** Solubilisation phosphate dans le milieu liquide NBRIP

	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Traitements</b>	4151,064	7	593,009	19563,294	,000
<b>Erreur</b>	,485	16	,030		
<b>Total</b>	4151,549	23			

**Tableau:** Solubilisation phosphate dans le milieu liquide PVK

	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Traitements</b>	1446,926	7	206,704	1696,185	,000
<b>Erreur</b>	1,950	16	,122		
<b>Total</b>	1448,875	23			

**Tableau:** Solubilisation phosphate dans le milieu liquide LB

	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Traitements</b>	484,232	7	69,176	1167,413	,000
<b>Erreur</b>	,948	16	,059		
<b>Total</b>	485,180	23			

**Tableau:** Production de sidérophores par les isolats antagonistes

	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Traitements</b>	639,238	6	106,540	229,470	,000
<b>Erreur</b>	6,500	14	,464		
<b>Total</b>	645,738	20			

**Tableau:** Production d'ammoniac par les isolats antagonistes

	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Traitements</b>	3597,071	10	359,707	2262,700	,000
<b>Erreur</b>	3,497	22	,159		
<b>Total</b>	3600,568	32			

**Tableau :** Comparaison de la surface des racines de radis inoculées par *S. scabies* en présence d'agents antagonistes

	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Traitements</b>	161,881	12	13,490	27,113	,000
<b>Erreur</b>	19,405	39	,498		
<b>Total</b>	181,286	51			

#### Annexe 4 : Séquences de l'ADNr 16S des isolats sélectionnés

Séquences résultant de l'amplification d'ADN par des amorces universelles

##### *Streptomyces microflavus*

GAATACACTGCAAGTCGAACGATGAAGCCTTTCGGGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGT  
AACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAC  
ACTCTGTCCCGCATGGGACGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAG  
CTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCC  
AACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGG  
GCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTTCAGC  
AGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC  
GGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTG  
ACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTG  
GTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGG  
CGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTA  
GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGT  
GCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAA  
TTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTAC  
CAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCTCCCTTGTGGTCCGTATACAGGTGGT  
GCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGT  
TCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGTAGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGA  
GGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGG  
CCGTACAATGAGCTGCGATGCCGCCAAGGCGGAAC

##### *Streptomyces erumpens*

ACACATGCAAGTCGAACGATGAACCTCCTTCGGGAGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTA  
ACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATATGA  
CACACGACCCGCATGGTCTGTGTGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGC  
TTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCA  
CACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGG  
CGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTTCAGCA  
GGGAAGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG  
GTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTG  
CGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTTCGG  
TAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGC  
GAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAG  
ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGGCGACATTCCACGTCGTCGGTG  
CCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAAT  
TGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACC

AAGGCTTGACATACACCGGAAACCTCTGGAGACAGGGGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGTGGTG  
 CATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTGT  
 CTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCCGAA  
 GAAAGGTGGGGACAACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGGCACCCTGCTACAATGG  
 GCCGGGACAATGAGCTGCGATACCGCGAGGTGGAGCGAATTTCAAAAACCGGTCTCTTTTCGAAT  
 GGGGGTTGGGAAT

*Streptomyces cavourensis*

GCTAACACTCACCGGTCTGAACGATGAACCGCTTCGGTGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGA  
 GTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATA  
 ATACTCCTGCCTGCATGGGTGGGGGTTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCA  
 GCTTGTGGTGGGGTAATGCCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGC  
 CACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATG  
 GCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCAG  
 CAGGGAAGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG  
 CGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGT  
 CACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTGATACGGGCTAGCTAGAGTGT  
 GGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTG  
 GCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATT  
 AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCTGTCG  
 TGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGA  
 ATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTTCGACGCAACGCGAAGAACCTTA  
 CCAAGGCTTGACATATAACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTTCGGTATAACAGGTG  
 TGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTG  
 TTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGG  
 AGGAAGGTGGGGACAACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCCCGCGTCTACAATG  
 GCCGGTACAATG

*Streptomyces rochei*

TTCTTTTTGACCTGACATGTCTGAACGATGAACCACTTCGGTGGGGATTAGTGGCGAACGGGT  
 GAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGG  
 ATACTGATCCTCGCAGGCATCTGCGAGGTTTCGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGGCCT  
 ATCAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGAC  
 CGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCAC  
 AATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTT  
 TCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCA  
 GCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGG  
 CTTGTCACGTTCGGTTGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGCAGGCTAG  
 AGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACAC  
 CGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACA

GGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCACTAGGTGTGGGCAACATTCCACGTT  
 GTCCGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCA  
 AAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAA  
 CCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAAACCCTGGAGACAGGGTCCCCCTTGTGGTGGTGTACA  
 GGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC  
 CCTTGTCCCGTGTGTCAGCAGGCCCTTGTGGTGTGCTGGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAAC  
 TCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTAC  
 AATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATACCGCGAGGTGGAACGAATCTCAAAGCCGGTCTCAGTTC  
 GGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCTGAAGTCGG

*Streptomyces olivovorticillatus*

AAAAGCGAGGGCAAAATTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCACTTCGGTGGGGATTAG  
 TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGG  
 GTCTAATACCGGATACTGACCGTCACAGGCATCTGTGACGGTCGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATG  
 AGCCCGCGGCTATCAGCTTGTGGTGAGGTAACGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCT  
 GAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG  
 GAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT  
 TGTAACCTCTTTTACGAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAAC  
 TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGA  
 GCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCCGTTGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATA  
 CGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATAT  
 CAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGT  
 GGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCACTAGGTGTGGG  
 AACATTCCACGTTGTCCGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAA  
 GGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACG  
 CAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAAACCCTGGAGACAGGGTCCCCCTTG  
 TGGTCCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCG  
 CAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTGTCAGCAAGCCCCTTCGGGGGTGTTGGGGACTCACGGGA  
 GACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCTTGG  
 GCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATACCGCGAGGTGGAACGAATCTCAA  
 AAAGCCGGTCTCATTTCGGAATGGGGTCTGCACTCGACCCCTGAAATCCGGA

## Résumé

L'utilisation de la technologie microbienne à des objectifs agricoles s'est rapidement développée. Cela a été accéléré par l'utilisation de bactéries efficaces pour protéger les plantes et favoriser leur croissance. Dans cette étude, 116 isolats d'actinomycètes ont été obtenus à partir de sols rhizosphériques et non rhizosphériques de régions arides et semi arides en d'Algérie. Quarante-trois souches ont été isolées du sol rhizosphérique de l'halophyte *Atriplex halimus* L. 'Guettaf' de Biskra. Alors que soixante-treize isolats ont été obtenus de sols non rhizosphériques, collectés à M'Sila. Ces isolats ont été testés pour leur activité antifongique contre *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* et *Botrytis cinerea*. Les onze isolats ayant inhibé au moins trois champignons, ont été retenus et ont fait l'objet d'une évaluation *in vitro* contre deux bactéries phytopathogènes (*Pectobacterium carotovorum* et *Streptomyces scabies*). Ensuite, les onze isolats (A1, A5, A6, A8, A20, Act11, Act16, Act17, Act18, Act23, Act24) ont été testés pour leurs activités promotrices de la croissance des plantes, et aussi caractérisées selon des critères morphologiques, physiologiques, biochimiques et chimiotaxonomiques. Les résultats révèlent que tous les isolats ont produit de l'acide indole-3-acétique, A5 étant le plus grand producteur ( $148,7 \mu\text{g ml}^{-1}$ ), et ont été positifs pour la production d'ammoniac et d'acide hydrocyanique. De plus A5 a présenté la plus grande activité de solubilisation du phosphate ( $45,49 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) et A8 a démontré la production la plus significative de sidérophores. Les isolats sélectionnés sont ensuite testés pour leur capacité à inhiber *S. scabies in planta* (sur des semis de radis). Les résultats ont montré que sept parmi eux ont pu contrer *S. scabies in planta* de manière significative ( $P < 0,05$ ). Concernant l'ensemble des tests, les cinq isolats prometteux ont été sélectionnés pour une identification moléculaire par séquençage du gène de l'ARNr 16S. Les isolats ont été identifiés comme suit : *Streptomyces enissocaesilis* A1, *Streptomyces olivovorticillatus* A5, *Streptomyces erumpens* A6, *Streptomyces cavourensis* A8 et *Streptomyces microflavus* A20. Parmi toutes ces souches, *S. olivovorticillatus* A5 semble être la prometteuse. À notre connaissance, aucune étude de biocontrôle n'a été réalisée avec cette espèce. Par conséquent, ces résultats suggèrent que *S. olivovorticillatus* A5 pourrait être envisagé comme agent potentiel de biocontrôle et un stimulant de la croissance des plantes. À cet égard, des investigations supplémentaires sont nécessaires pour évaluer son efficacité dans des conditions de champ.

**Mots clés :** *Streptomyces*, *Atriplex halimus* L., lutte biologique, PGPB, rhizosphère.

## Abstract

The use of microbial technology for agricultural purposes has rapidly evolved. This has been accelerated by the use of effective bacteria to protect plants and promote their growth. In this study, 116 isolates of actinomycetes were obtained from rhizospheric and non-rhizospheric soils in arid and semi-arid regions of Algeria. Forty-three strains were isolated from the rhizospheric soil of the halophyte *Atriplex halimus* L. 'Guettaf' in Biskra, while seventy-three isolates were obtained from non-rhizospheric soils collected in M'Sila. These isolates were tested for their antifungal activity against *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus*, and *Botrytis cinerea*. The eleven isolates that inhibited at least three fungi were selected and subjected to *in vitro* evaluation against two phytopathogenic bacteria (*Pectobacterium carotovorum* and *Streptomyces scabies*). Subsequently, the eleven isolates (A1, A5, A6, A8, A20, Act11, Act16, Act17, Act18, Act23, Act24) were tested for their plant growth-promoting activities and characterized based on morphological, physiological, biochemical, and chemotaxonomic criteria. The results reveal that all isolates produced indole-3-acetic acid, with A5 being the highest producer (148.7  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), and they were positive for ammonia and hydrogen cyanide production. Additionally, A5 demonstrated the highest phosphate solubilization activity (45.49  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), and A8 showed the most significant siderophore production. The selected isolates were then tested for their ability to inhibit *S. scabies in planta* (on radish seedlings). The results showed that seven of them significantly countered *S. scabies in planta* ( $P < 0.05$ ). Among all the tests, the five promising isolates were selected for molecular identification through 16S rRNA gene sequencing. The isolates were identified as follows: *Streptomyces enissocaesilis* A1, *Streptomyces olivoverticillatus* A5, *Streptomyces erumpens* A6, *Streptomyces cavourensis* A8, and *Streptomyces microflavus* A20. Among these strains, *S. olivoverticillatus* A5 appears to be the most promising. To our knowledge, no biocontrol study has been conducted with this species. Therefore, these results suggest that *S. olivoverticillatus* A5 could be considered as a potential biocontrol agent and plant growth stimulant. Further investigations are needed to evaluate its effectiveness under field conditions.

**Keywords:** *Streptomyces*, *Atriplex halimus* L., biological control, PGPB, rhizosphere.

## الملخص

لقد تطور استخدام التكنولوجيا الميكروبية للأغراض الزراعية بسرعة. وقد تم تسريع ذلك من خلال استخدام البكتيريا الفعالة لحماية النباتات وتعزيز نموها. في هذه الدراسة، تم الحصول على 116 عزلة من الفطريات الشعاعية من التربة الريزوسفيرية وغير الريزوسفيرية في المناطق القاحلة وشبه القاحلة في الجزائر. تم عزل ثلاث وأربعين سلالة من التربة الريزوسفيرية للنبات الملحي 'Guettaf' *Atriplex halimus* L. في بسكرة، في حين تم الحصول على ثلاثة وسبعين عزلة من التربة غير الريزوسفيرية التي تم جمعها في المسيلة. تم اختبار نشاط هذه العزلات ضد الفطريات *Fusarium* *Botrytis cinerea* و *Aspergillus flavus*، *Fusarium solani*، *Alternaria alternata*، *oxysporum*. تم اختيار العزلات الإحدى عشرة التي قامت بتثبيط ثلاثة فطريات على الأقل وإخضاعها للتقييم المختبري ضد نوعين من البكتيريا المسببة للأمراض النباتية (*Streptomyces scabies* و *Pectobacterium carotovorum*). بعد ذلك، تم اختبار العزلات الإحدى عشرة (A1، A5، A6، A8، A20، Act11، Act16، Act17، Act18، Act23، Act24) لأنشطتها المعززة لنمو النبات وتم تصنيفها على أساس المعايير المورفولوجية والفسولوجية والكيميائية الحيوية والتصنيف الكيميائي. أظهرت النتائج أن جميع العزلات أنتجت حمض إندول-3-أسيتيك، وكان A5 هو أعلى منتج (148.7 ميكروجرام مل-1)، وكانت إيجابية لإنتاج الأمونيا وسيانيد الهيدروجين. بالإضافة إلى ذلك، أظهر A5 أعلى نشاط إذابة للفوسفات (45.49 ميكروجرام مل-1)، وأظهر A8 أهم إنتاج لحامل الحديد. تم بعد ذلك اختبار العزلات المختارة لقدرتها على تثبيط داء الجرب في النبات (على شتلات الفجل). ظهرت النتائج أن سبعة منهم كانوا قادرين على مكافحة مرض الجرب في النبات ( $P < 0.05$ ). من بين جميع الاختبارات، تم اختيار العزلات الخمس الواعدة للتعرف الجزيئي من خلال التسلسل الجيني لكـ S rRNA16. تم تشخيص العزلات على النحو التالي: A1 *Streptomyces enissocaesilis*، A5 *Streptomyces olivovorticillatus*، A6 *Streptomyces erumpens*، *Streptomyces cavourensis*، A8 و A20 *Streptomyces microflavus*. ومن بين هذه السلالات، يبدو أن A5 *S. olivovorticillatus* هي الأكثر واعدة. وعلى حد علمنا، لم يتم إجراء أي دراسة للمكافحة الحيوية على هذا النوع. لذلك، تشير هذه النتائج إلى أنه يمكن اعتبار A5 *S. olivovorticillatus* كعامل محتمل للمكافحة الحيوية ومنشط لنمو النبات. هناك حاجة إلى مزيد من التحقيقات لتقييم فعاليتها في ظل الظروف الميدانية.

**الكلمات المفتاحية:** *Streptomyces*، *Atriplex halimus* L.، مكافحة البيولوجية، PGPB، الجذور.

**Antagonism and plant growth promoting traits of actinomycetes  
isolated from the rhizosphere of halophyte *Atriplex halimus* L.**

Inas BOUKELLOUL<sup>1,2</sup>, Lamia AOUAR<sup>2\*</sup>, Mohammed  
CHEKARA BOUZIANI<sup>1,3</sup>, Amar ZELLAGUI<sup>1,2</sup>, Mouna  
DERDOUR<sup>4</sup>, Youcef NECIB<sup>5</sup>

<sup>1</sup>University of Oum El Bouaghi, Department of Natural Sciences and Life, PO Box 358, Oum El Bouaghi 04000,  
Algeria; [inasbouka@gmail.com](mailto:inasbouka@gmail.com); [zelliguiuniv@yahoo.com](mailto:zelliguiuniv@yahoo.com)

<sup>2</sup>University of Oum El Bouaghi, Laboratory of Biomolecules and Plant Breeding, Department of Natural Sciences and Life, PO Box 358, Oum  
El Bouaghi 04000, Algeria; [aouar.lamia@univ-ueb.dz](mailto:aouar.lamia@univ-ueb.dz) (\*corresponding author)

<sup>3</sup>University Mentouri Constantine 1, Laboratory of Genetic Biochemistry and Plant Biotechnology, Constantine, Algeria;  
[bouziანი25@yahoo.fr](mailto:bouziანი25@yahoo.fr)

<sup>4</sup>National Center for Biotechnology Research, UV 03 PO Box E73 Constantine 25000, Algeria; [moonlmd@hotmail.fr](mailto:moonlmd@hotmail.fr)

<sup>5</sup>University Mentouri Constantine 1, Laboratory of Microbiological Engineering and Applications, Constantine, Algeria;  
[youcefneceb@yahoo.fr](mailto:youcefneceb@yahoo.fr)

**Abstract**

Biocontrol is considered as an effective alternative to the application of agrochemicals, which are harmful to the environment, human, and animal health. In this study, twenty-six strains of actinomycetes were isolated from rhizospheric arid soil of the halophyte *Atriplex halimus* L. 'Guettaf' in Biskra province, Algeria. The six isolates that have inhibited at least three phytopathogenic fungi among the five tested (*Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* and *Botrytis cinerea*) were selected, and have been tested *in vitro* against phytopathogenic bacteria (*Pectobacterium carotovorum* and *Streptomyces scabies*). They were also evaluated for their ability to hydrolyze phosphate, elaborate siderophores, produce indole-3-acetic acid (IAA), and to antagonize *S. scabies in vivo* (on radish seedlings). Based on the physicochemical analyses, soil samples were categorized as alkaline and extremely-saline. The antagonism results revealed varying antifungal potential among the selected isolates (Act11, Act16, Act17, Act18, Act23 and Act24), about 50% were able to inhibit the growth of *F. solani* and *A. flavus*, followed by 33.33% of those having antagonized *F. oxysporum*, while *A. alternata* was found to be the most sensitive. Only Act18 has antagonized *S. scabies in vitro* with an inhibition diameter zone of  $19 \pm 0.41$  mm. However, *in vivo* trials showed that four isolates have counteracted *S. scabies*. Among them, Act18 and Act24 have significantly and positively affected the rootsurface ( $P = 0.0062$ ) and prevented common scab. IAA was detected in all selected isolates with Act24 being the highest producer ( $77.45 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Additionally, degradation ability revealed that four isolates were able to hydrolyze phosphate while three exhibited the capacity of elaborating siderophores. The six isolates were assigned to *Streptomyces* genus according to their morphological, physiological and chemotaxonomical traits. Based on this study, *Streptomyces* sp. Act18 and *Streptomyces* sp. Act24 that tolerate 7.5% NaCl concentration,

prevent common scab and exhibit some plant growth attributes, may be considered as promising biocontrol agents to be applied in arid and saline soils.

**Keywords:** actinomycetes; antagonism; *Atriplex halimus*; PGPR; rhizospheric soil

## Introduction

Field crops production is affected by plant diseases, fungi are the main cause of damage and quality degradation of harvested products. In this regard, a range of fungal species cause diseases that affect all parts of the plants, including *F. oxysporum* and *F. solani*, which are considered as the causal of plant wilting diseases (Sudiana *et al.*, 2020). On the other hand, *B. cinerea* is one of the most widespread phytopathogenic fungi, it causes a gray mold disease that affects many crops (De Angelis *et al.*, 2022). Diseases caused by *Alternaria* spp. are very common such as leaf blight, which attacks a variety of crops leading to a reduction in their marketability (Wang *et al.*, 2020). *Aspergillus* species are the cause of post-harvest diseases on the crop, altering the features and nutritional value of the products (Rios-Muñiz and Evangelista-Martínez, 2022).

In addition to fungal damage, bacteria are responsible for 24% of the 14% overall yield damage engendered by phytopathogens, including *S. scabies*, *P. carotovorum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia amylovora* and *Xanthomonas* spp. (Aouar *et al.*, 2020; Le *et al.*, 2022). Common radish scab disease is caused by several *Streptomyces* spp., mainly induced by *S. scabies*, it does not affect yield, but it badly impacts marketability (Kang *et al.*, 2022). Usually, the control of the phytopathogenic fungi is undertaken by agrochemicals products which have harmful consequences on the environment, human and animal health. Quite recently, considerable attention has been paid to the implementation of antagonistic microorganisms to suppress plant diseases engendered by phytopathogenic bacteria and fungi, with the purpose of avoiding the use of chemical control methods and overuse of fungicides (Suárez-Moreno *et al.*, 2019). Actinobacteria and other bacterial genera such as *Pseudomonas* and *Bacillus* have been greatly investigated for their biocontrol potential (Vurukonda *et al.*, 2021).

In the last few years, Actinobacteria has been gaining an important interest for their essential role in controlling plant pathogens against both bacteria and fungi (Lee *et al.*, 2021). *Streptomyces* is considered as the remarkable genius of Actinobacteria. They have the potential to be employed as a biopesticide and to promote plant growth (Nonthakaew *et al.*, 2022). They constitute a diversified group of Gram-positive, spore-forming bacteria with comparatively sizeable genomes and a high G/C percentage of more than 70%. *Streptomyces* represent about 80% of all antibiotic producers in comparison to other genera. They are also well recognized for their capacity to produce a variety of active substances with agricultural uses, including phytohormones (Aouar *et al.*, 2020). IAA is the main plant hormone assigned to the auxins class; it plays an essential role in plant growth by enhancing cell proliferation, root formation and elongation (Vurukonda *et al.*, 2021). As plant growth promoting bacteria (PGP), *Streptomyces* species display several PGP traits; they can directly improve plant growth by solubilization of minerals like phosphorus and siderophores secretion (Alibrandi *et al.*, 2021). *Atriplex* (Chenopodiaceae) is a halophyte genus with significant phenotypical diversity. It comprises numerous halophytes and is largely spread in arid and saline ecosystems around the world. It has been found that the rhizospheric soil of halophytes is a potential source of plant growth-promoting bacteria (Chaudhary *et al.*, 2022).

*Atriplex halimus* L. has been the subject of numerous recent studies around the world, by exploring its related endophytic, rhizospheric, and non-rhizospheric microbial populations (Tahtamouni *et al.*, 2016; Bona *et al.*, 2021). From the Algerian arid rhizosphere of *Atriplex halimus*, Dif *et al.* (2022) isolated Gram-negative

bacteria able to promote tomato growth through phosphate solubilization, phytohormones and siderophores production.

Arid and saline soils may be promising ecosystems to isolate new actinomycetes strains with antagonistic potential against soil-born phytopathogenic fungi and bacteria. Biocontrol agents from this ecosystem could be interesting as they are already adapted to the salinity and aridity conditions. The diversity of actinomycetes colonizing the arid-salty ecosystem of *Atriplex halimus* L. has not been extensively explored. To the author's knowledge, in Algeria few or no studies have been focused on the investigation of actinomycetes possibly PGPR and antagonistic, isolated from the rhizosphere of this halophyte, widely distributed in the Algerian arid regions and Sahara.

In this paper, we explore the isolation of actinomycetes from the rhizosphere of *Atriplex halimus* L. collected from the arid zone in Biskra province. Collected soils from the three rhizospheric sites of the halophyte were analyzed for some physico-chemical properties. Selected isolates were identified according to their morphological, physiological, and chemotaxonomical traits, and characterized for their ability to inhibit phytopathogenic agents (fungi and bacteria) *in vitro* and *S. scabies in vivo* (in growth pouches). Also, they were explored for their PGPR features: IAA production, siderophores release, and phosphate solubilization.

## Materials and Methods

### *Study site, soil samples collection and their physico-chemical traits*

Actinomycetes strains were isolated from the rhizospheric soil of three different sites of the halophyte *Atriplex halimus* L. 'Guettaf', collected from the region of Biskra, located in the South-Eastern of Algeria. This zone is distinguished by an annual index of aridity of De Martonne I = 0.34 that corresponds to a hyperarid climate (I < 5) (Lebourgeois and Piedallu 2005). The locations of the three explored sites are: site-1 /Chaiba (34°78'20"N, 5°04'97"E), site-2 /Chegga (34°45'19"N, 5°89'18"E) and site-3 /El Feidh, (34°46'15"N, 6°57'06"E). From each site, the root systems of *Atriplex halimus* L. (roots and soil surrounding the halophyte) were taken from the soil and gently scraped to separate rhizospheric soil, remove debris (roots and stones) and collect about 100-150 g. The soil samples were then filled into sterile container and transported to the laboratory for analysis (Aouar *et al.*, 2020).

pHs were measured directly, on 1: 2.5 soil to water mixtures. Conductivity was measured in the limp filtrate obtained by adding 1:5 distilled water to each soil sample (Khenaka *et al.*, 2019). In order to calculate the humidity rate, ten grams of the soil were oven-dried for two days at 105 °C to reach a steady weight. Each dried sample was burnt for 16 h at 450 °C, the difference between the dry weight and the ash weight yields the organic matter content (Lee and Hwang, 2002). For each test, the experiments were repeated thrice.

### *Isolation of actinomycetes*

One selective media GBA (Agar 20 g; starch 20 g; meat extract 5 g; peptone 10 g; glycerol 20 g; CaCo<sub>3</sub> 3 g) was used for actinomycetes isolation. The latter was mixed with 75 µg mL<sup>-1</sup> amphotericin B to prevent filamentous fungi growth and 10 µg mL<sup>-1</sup> of polymixin to inhibit Gram-negative bacteria. The sampled soil was dried in the laboratory at room temperature for 24 hours. For each sample, 1 g of soil was introduced into a tube containing 9 mL of sterile physiological water. Then, the tubes were vortexed for 4 to 5 minutes. These suspensions were considered as the stock solutions. Decimal dilutions were ranging from 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-6</sup>. Afterward, an aliquot of 0.1 mL of 10<sup>-3</sup> to 10<sup>-6</sup> dilutions was poured on the surface of GBA plates and incubated for 21 days at 28 °C. Experiments were performed in triplicate.

The actinomycetes colonies were identified according to their macroscopic and microscopic aspects. Regular observations were conducted, during the incubation period, to determine the appearance of the isolated colonies. The examined macroscopic characters included: growth rate, spore mass color, as well as their size, shape, texture, and border (regular, irregular, jagged). Actinomycetes were recognised by their typical filamentous and powdery appearance. These observations were assisted by using optical microscope at 10x

magnification (Williams and Cross, 1971). Colonies exhibiting the macroscopic characteristics of

actinomycetes were subjected to Gram staining. Then, strains were maintained on ISP2 slants at 4 °C, and stored at - 20 °C in 20% glycerol for long-term use (Aouar *et al.*, 2012).

#### *In vitro* antagonism trials against pathogens

The phytopathogenic fungi: *B. cinerea*, used in this study was obtained from the Laboratory of Mycology at the Faculty of Sciences, University of Bejaia. *A. alternata* and *F. oxysporum* were acquired from the Laboratory of Mycology at the National Center for Biotechnology Research in Constantine (Algeria). Additionally, more phytopathogenic fungi (*F. solani* and *A. flavus*) and bacteria (*S. scabies* and *P. carotovorum*) were procured from the Laboratory of Biomolecules and Plant Improvement, University of Oum El Bouaghi, Algeria (Table 1).

**Table 1.** Origins and plants diseases of pathogenic fungi and bacteria

Strains	Pathologies	Host plants
Phytopathogenic fungi: <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> <i>A. flavus</i> <i>A. alternata</i> <i>B. cinerea</i>	Fusariosis Wilting, yellowing Brown spot, black rot Grey rot	<i>Solanum lycopersicum</i> L.
Phytopathogenic bacteria: <i>P. carotovorum</i> <i>S. scabies</i>	Fire blight Common scab	<i>Pyrus communis</i> <i>Solanum tuberosum</i> L., <i>Raphanus sativus</i> L.

*In vitro* antagonism assays involved a confrontation of actinomycetes isolates and plant pathogens: *A. alternata*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *A. flavus* and *B. cinerea* on Potato Dextrose Agar (PDA). They were performed as reported by Aouar *et al.* (2020). Thus, actinomycete discs were taken and cultured on PDA plates for 4 days at 30 °C. Then, agar plugs were cut from fungi colonies (aged of 5 days), placed on the PDA plate at 3 cm distance from the actinomycetes disc and incubated at 25 °C for 5 days in the dark. Another fungus culture without actinomycete disc was realized to be served as control. After the incubation period, colonies diameters of essays and controls were scored. Each test was repeated in five replicates.

The antibacterial efficiency against *P. carotovorum* and *S. scabies* was assessed by the disc diffusion procedure (Aouar *et al.*, 2020). The antagonistic strains were first grown on ISP2 at 30 °C for 7 days. Discs from each antagonist were deposited on Muller-Hilton agar plates previously inoculated with the phytopathogenic bacteria. The prepared Petri dishes were stored at 4 °C for 4 h, before incubation at 30 °C for 24 h. Antibacterial activity was evaluated by measuring the diameter of the inhibition zone encircling the actinomycete discs in millimeters (mm). Each trial was performed in triplicates.

#### Morphological, physiological and chemotaxonomy characterization

Identification of actinomycetes was conducted using standard procedures of morphological, physiological, and chemotaxonomic characteristics, as described by Shirling and Gottlieb (1966) and Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Goodfellow *et al.*, 2012). Morphological characterization was based on macroscopic description of cultures streaked on ISP2 medium for 21 days at 28 ± 2 °C. It includes colony morphology, produced pigments, color of spore mass, and reverse of the colony. Microscopic morphology was examined by observation of mycelium growth using cover-slip method. Thus, spore chains morphology was determined by direct microscopic examination (100x) (a minimum of 10 microscope fields should be examined). Their morphology may be verticillate or simple: rectiflexibles (RF), retinaculum apertum (RA) (open loops) and spirals (S).

The selected isolates were evaluated on ISP2 medium as a basal medium for three physiological features, the capacity to grow at different temperatures (15 °C, 25 °C, 30 °C, 40 °C and 50 °C), as well as the tolerance to NaCl concentrations (2.5, 5, 7.5 and 10%) and pHs (5, 7, 9, 11 and 13) by incubation at 28 ± 2 °C for 5 days. The rating scale for all these tests was estimated according to a range from 0 to 3, in the following way: 0 = no growth; 1 = slight growth; 2 = moderate growth and 3 = good growth (Sreevidya *et al.*, 2016).

Diaminopimelic acid (DAP) isomers (*L*-DAP or *meso*-DAP) were revealed according to the Staneck and Roberts (1974) protocol through analysis of the total cell acid hydrolysate by thin layer chromatography. To carry out this test, 500  $\mu$ L of 6N HCl was added to cryotubes containing glass beads and a seed loop of each isolate taken from ISP2 actinomycetes cultures. The cryotubes were vortexed for 6 minutes and incubated in a Thermoblock at 100 °C for 4 hours. Then, they were centrifuged at 4,000 rpm for 5 minutes and the supernatant was dried in a Thermoblock at 100 °C. Once dry, it was dissolved in 500  $\mu$ L of sterile distilled water. This step was repeated twice. Then a volume of 3  $\mu$ L of each sample and 1  $\mu$ L of the control (1.9 mg of DAP standard in 10 mL of water) were applied to the TLC cellulose plate, which were placed in a TLC separation chamber containing 50 mL of the solvent system: Methanol-water-6 N HCl-pyridine (33.3: 11: 1.6: 4.1 v/v). After migration, the plates were allowed to dry and sprayed with ninhydrin (in 0.2% acetone w/v) and dried at 100 °C for 5-10 minutes before reading. The diaminopimelic acid stains were olive green in color turning to yellow and *L*-DAP migrates further than *meso*-DAP.

Analysis of the major predominant sugars in the cell wall of actinomycetes is of taxonomic importance was performed using thin layer chromatography. To conduct this analysis, 0.1 mL of 0.25 N HCl was added to each cryotube. Subsequently, from the pure cultures of each isolate on ISP2 medium, a seeding loop was added to each cryotube and autoclaved for 15 minutes at 121 °C. After cooling to room temperature, 1  $\mu$ L of the standard preparation of the sugars (arabinose and galactose) and 3  $\mu$ L of each cell wall extract were deposited on the cellulose TLC plate, which was introduced in a TLC chamber containing solvent system: n-butanol- H<sub>2</sub>O-pyridine-toluene (10: 6: 6: 1 v/v) and allowed to migration until the front was 1 cm from the end of the plate. Subsequently, it was dried and sprayed in the gas extractor chamber, with the aniline and phthalate reagent (aniline 0.093 g, phthalic acid 0.166 g and water-saturated butanol 100 mL). Finally, it was incubated at 105 °C for 4 minutes. Aldo-pentoses and aldo-hexoses give a bright red and brown color, respectively (Hasegawa *et al.*, 1983; Goodfellow *et al.*, 2012).

#### *Indole-3-acetic acid (IAA) detection and quantification*

IAA production was assessed according to the procedure reported by Khenaka *et al.* (2019) and Benadjila *et al.* (2022) with slight modifications. For each isolate, a volume of 10  $\mu$ L of spore suspension ( $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>) was inoculated on yeast malt extract medium (YM) supplemented with two concentrations of L-Tryptophan (L-Trp) (1.25 and 5 mM) and agitated on rotary shaker (125 rpm) for 4 days at 30 °C in darkness. The cultures were then centrifuged at 11,000 rpm for 15 min. A volume of 100  $\mu$ L of each supernatant was mixed with 100  $\mu$ L of Salkowski's reagent (1 mL of 0.5 M FeCl<sub>3</sub> in 50 mL of 35% HClO<sub>4</sub>) and kept for 30 min in the dark. The deviation of the color to the pink showed the production of IAA. Its quantification was performed at 530 nm according to an OD standard curve. Each test was performed in five replicates.

#### *Phosphate solubilization*

Phosphate solubilization assay was conducted using Pikovskaya medium (PVK) complemented with Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> as described by Khenaka *et al.* (2019). After 8 days of incubation, the development of a clear circle around the colonies indicates phosphate solubilization. Halo diameters are calculated by deducting the colony diameter from the whole diameter. The phosphate dissolution capacity was determined positive as the halo diameter  $\geq$  5 mm. The experiment was repeated five times.

#### *Siderophores secretion*

The selected isolates were tested for their siderophores production potential by the universal CAS assay. Prior to undertaking the experiment, the glassware was washed with 3 mol L<sup>-1</sup> hydrochloric acid to eliminate iron. This test was carried out using a modified procedure described by Arora and Verma (2017). CAS agar was obtained by adding 100 mL of CAS reagent to 900 mL of sterilized LB agar medium. The inoculated plates were incubated at 30 °C for 5-7 days. In addition, an un-inoculated plate was considered as control. The appearance of an orange halo around the colony was regarded as positive. Five repetitions were performed.

#### *In vivo antagonistic trails towards S. scabies on radish seedlings*

Experiment was carried out in growth pouches (125 X 75 mm, Mega International) with radish seedlings (*Raphanus sativus*) according Aouar *et al.* (2021). For inoculums preparation, 10  $\mu\text{L}$  of spore stock ( $10^8$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ ) of *S. scabies* and antagonists were grown in 50 mL of tryptic soy broth (TSB) under agitation for 48 h at 30 °C. After centrifugation, the obtained pellets were suspended in 5 volumes of fresh TSB. On the other hand, sterilized radish seeds were germinated on water plate agar in darkness at 25 °C for 48 h. In each pouch previously sterilised and filled with 2 mL saline, six seedlings were placed. Negative control consisted only of seedlings and saline solution; positive control was prepared by mixing 1 mL of the pathogen inoculum (*S. scabies*) and 1 mL of saline solution. Confrontation test consists of mixing 1 mL of each inoculum (antagonist and pathogen) at the same time, followed by the incubation in a growth chamber for 6 days at 21 °C and 68% humidity. After that, pouches have been emptied of their liquid and scanned, before being analysed with WhinRhizo software (V. 2002c) for measurement of the seedling's roots surface. Trials were carried out in five replicates.

#### Data analysis

Each experiment was carried out in replicates and data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation. The data of the physico-chemical analysis of the soil samples and the IAA production were analysed using Student's test. While a one-way analysis of variance (ANOVA) was performed on the antagonism measurements followed by Tukey's HSD post-hoc test for the antagonism against fungi and least significant difference (LSD) for the *in vivo* antagonism against *S. scabies* using SPSS software (Version 23). Results were considered statistically significant at the  $p < 0.05$ .

## Results

#### Physico-chemical characterization of the soil samples and actinomycetes isolation

The pHs values are summarized in Table 2. Rhizospheric samples presented pHs that range between 8.03 and 8.28. The collected soil from El Feidh region presented the highest values of conductivity ( $5.54 \text{ mscm}^{-1}$ ) compared with those of Chegga and Chaiba ( $3.19$  and  $4.65 \text{ ms cm}^{-1}$ , respectively).

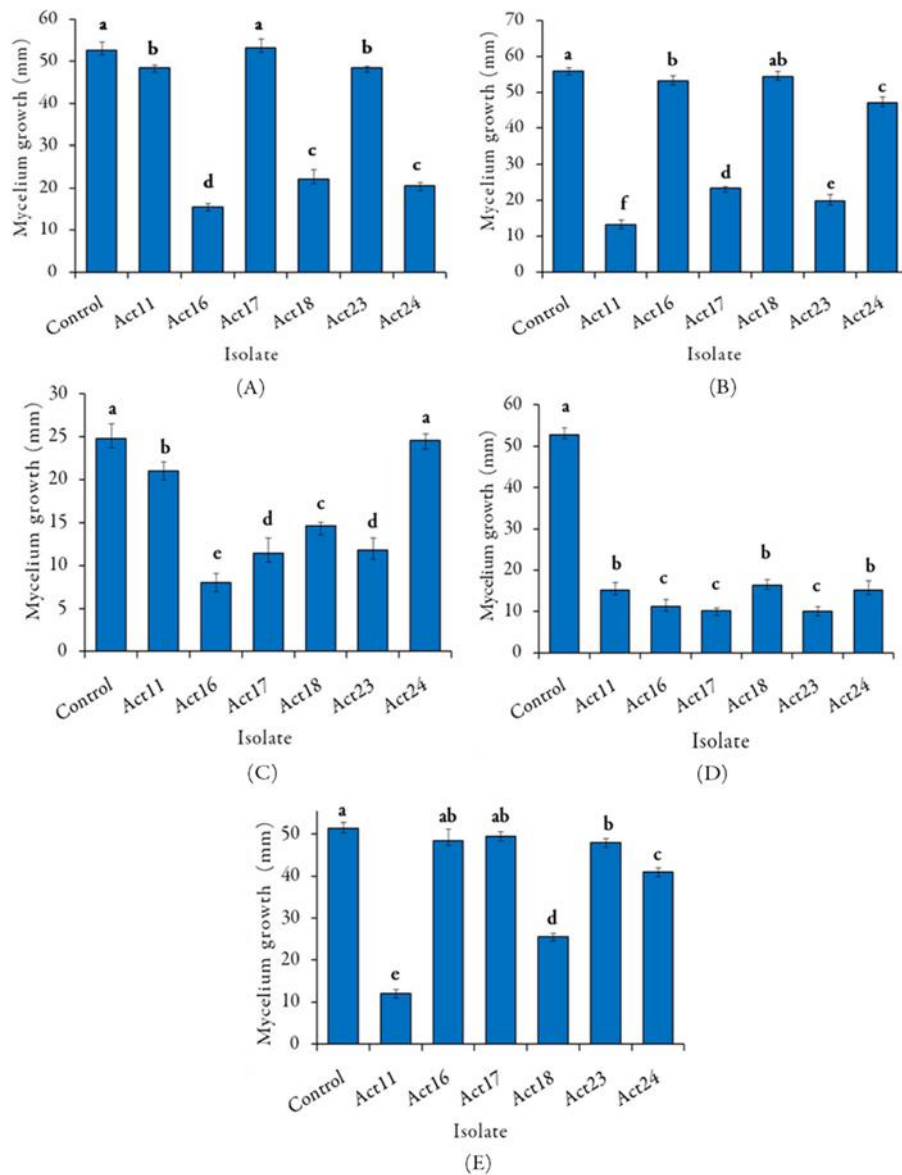
From the three samples, 26 actinomycetes were isolated. The isolation process was achieved following two to three consecutive inoculations until the pure actinomycete colonies were obtained. Overall, 12 isolates were isolated from Chegga's soil (46.15%), 9 isolates from Chaiba's soil (34.62%), while only 5 isolates were obtained from El Feidh's soil (19.23%).

**Table 2.** Physicochemical properties of the sampled soils and number of isolates

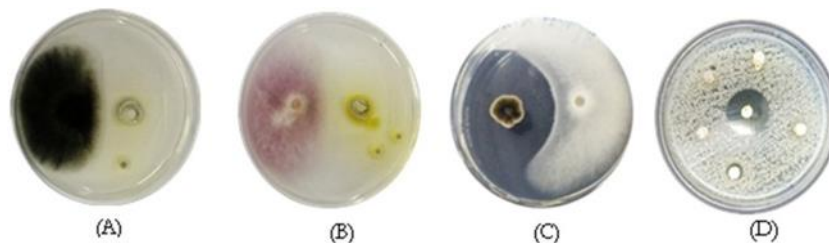
Sites	Soil characteristics				Isolates
	pH	Moisture content (%)	Total organic matter	EC $\text{ms cm}^{-1}$	
Site1/Chaiba	8.03 $\pm$ 0.03 b	12.60 $\pm$ 0.03 b	3.20 $\pm$ 0.01 b	4.65 $\pm$ 0.04 b	9 (34.62%)
Site2/Chegga	8.28 $\pm$ 0.02 a	11.80 $\pm$ 0.02 c	5.54 $\pm$ 0.02 a	3.19 $\pm$ 0.02 c	12 (46.15%)
Site3/El Feidh	8.25 $\pm$ 0.04 a	19.23 $\pm$ 0.07 a	2.24 $\pm$ 0.005 c	5.54 $\pm$ 0.03 a	5 (19.23%)

EC: Conductivity of aqueous extracts 1/5th. Different letters between sites denote significant differences (Student test,  $p < 0.05$ ).

The twenty-six isolates were evaluated for their potential to inhibit *in vitro* plant pathogenic fungi. *F. oxysporum*, *F. solani*, *A. alternata*, *A. flavus* and *B. cinerea*. Confrontation has allowed the screening of six promoting isolates (Act11, Act16, Act17, Act18, Act23, and Act24) this isolates showed a potential inhibitory effect against the growth of at least three fungi. Among the previously mentioned isolates, 50% were able to inhibit the growth of *F. solani*, and *A. flavus*, while 33.33% antagonized *F. oxysporum*. Accordingly, these six isolates were selected for further experiments (Figure 1; Figure 2). It is worth mentioning that the origins of these isolates are as follows: isolates Act11, Act24 and Act17 are from Chaiba's sample, isolates Act16 and Act23 are from Chegga's soil, while Act18 is isolated from El Feidh's sample.



**Figure 1.** *In vitro* bioassay activity of actinomycetes isolates in mm against fungi; (A): *A. flavus*; (B): *F. solani*; (C): *B. cinerea*; (D): *A. alternata*; (E): *F. oxysporum*. Data are reported as the mean  $\pm$  SD of five parallel measurements. Values with different superscripts (a, b, c, d, or e) in the same column differ significantly (ANOVA test,  $p < 0.05$ ).



**Figure 2.** Antifungal and antibacterial activity of actinomycete isolates against phytopathogenic fungi and bacteria; (A): *A. alternata*; (B): *F. oxysporum*; (C): *F. solani*; (D): *P. carotovorum*

The *in vitro* assays performed against phytopathogenic bacteria revealed only two antagonistic isolates. Results are shown in Table 3. Interestingly, Isolate Act18 has inhibited both tested bacteria. Nevertheless, *S.*

*scabies* was more resistant than *P. carotovorum*, which showed an area of 21 mm (Figure 2). However, Act24 has antagonized only *P. carotovorum* (20 mm).

**Table 3.** Inhibition zone diameters (mm) of the phytopathogenic bacteria by the actinomycetes

Pathogens	Diameter of inhibition zone (mm)					
	Act11	Act16	Act17	Act18	Act23	Act24
<i>S. scabies</i>	n.i	n.i	n.i	19.00 ± 0.41	n.i	n.i
<i>P. carotovorum</i>	n.i	n.i	n.i	21.66 ± 0.47	n.i	20.00 ± 0.82

n.i.: no inhibition.

*Genera determination according to morphology, physiology and chemotaxonomy*

All the isolates are fast growing, which suggest the lack of mycolic acids in their cell walls. The cell wall hydrolysate of all the isolates, revealed *L*-DAP isomer as the main component of the peptidoglycan. Furthermore, no characteristic sugar (galactose or arabinose) has been noticed in the whole-cell hydrolysate. Actinomycetes colonies are distinguished by their typical filamentous aspect. The morphological description of the six isolates is summarized in Table 4. Except for Act24, the colonies were dry and showed sporulated aerial mycelium, with varied pigmentation ranging from beige, purple, gray or pink. Similarly, the reverse of the colonies showed brown, beige, and yellow pigmentation. For Act18 and Act23 colonies, the aspects were rough in comparison with the smooth surface of the others. Among the six isolates, only Act11 has produced diffusible pigments. Moreover, all isolates were Gram-positive. Moreover, microscopic observation of the cover-slip cultures revealed long chains with three types: spiral (S), retinaculum apertum (RA) or rectiflexibile (RF). Physiological traits are shown in Table 5. The entire isolates grew between pH 5 and 11 with an optimum growth at pH 7. In contrast, no growth was noted at pH 13. Regarding the ability to develop at different temperatures, the five isolates were able to grow under a range of temperatures between 25 °C and 40 °C, none of the isolates show growth in high temperature (50 °C). Moreover, three isolates resisted well at 7.5% of NaCl concentration.

**Table 4.** Morphological and physiological characteristics of the selected isolates

Features/Isolates	Isolates					
	Act11	Act16	Act17	Act18	Act23	Act24
Morphological characteristics:						
Colony surface	Smooth	Smooth	Smooth	Rough	Rough	Smooth
Spore mass color	Beige	Purple	Gray	Beige	Pink	-
Colony reverse	Yellow	Beige	Brown	Beige	Beige	Brown
Diffusible pigments	Yellow	-	-	-	-	-
Chain morphology	RA	RA	RF	S/RA	RF	RA
Physiological characteristics						
NaCl						
2.5%	3	3	3	3	3	3
5%	3	3	3	3	3	3
7.5%	3	2	2	3	1	3
10%	0	0	0	0	0	0
Temperatures						
15 °C	1	2	2	1	3	1
25 °C	3	3	3	3	3	3
30 °C	3	3	3	3	3	3
40 °C	1	2	2	2	1	2

50 °C	0	0	0	0	0	0
pHs						
5	1	1	1	1	1	1
7	3	3	3	3	3	3
9	2	2	3	2	2	2
11	1	2	2	2	2	2
13	0	0	0	0	0	0

RA: Retinaculum apertum; 0 = no growth; 1 = slight growth; 2 = moderate growth and 3 = good growth.

#### *Indole-3-acetic acid production*

In this investigation, the overall measurements of IAA are summarized in Table 5. They ranged from 4.18 to 77.45  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and all isolates need L-Trp as precursor. Isolate Act24 was the best producer when the medium was supplemented with 5 mM of L-Trp. Furthermore, statistical analysis revealed that IAA production was positively correlated ( $P < 0.05$ ) with L-Trp concentrations for isolates Act17, Act18, Act23 and Act24. Conversely to isolates Act11 and Act16, which did not show any correlation with L-Trp concentration ( $P = 0.179$ ,  $P = 0.986$ , respectively).

**Table 5.** Results of PGPR traits

Isolate	IAA production ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )		Phosphate solubilization (mm)	Siderophores production
	1.25 mM	5 mM		
Act11	19.82 $\pm$ 0.73 a	18.76 $\pm$ 0.57 a	-	-
Act16	14.37 $\pm$ 0.40 a	14.39 $\pm$ 1.70 a	13.67 $\pm$ 0.94	+
Act17	16.27 $\pm$ 0.27 b	29.55 $\pm$ 0.98 a	11.67 $\pm$ 0.47	-
Act18	4.18 $\pm$ 0.59 b	25.03 $\pm$ 3.07 a	12.33 $\pm$ 0.47	+
Act23	7.79 $\pm$ 0.38 b	57.85 $\pm$ 1.63 a	-	-
Act24	10.39 $\pm$ 0.36 b	77.45 $\pm$ 1.42 a	16 $\pm$ 0.82	+

Data are reported as the mean  $\pm$  SD of five parallel measurements. For each isolate, values with different superscripts (a, b) differ significantly (Student test,  $p < 0.05$ )

#### *Solubilization of phosphate and siderophores production*

Among the six tested isolates, clear zones were scored for four isolates on PVK plates (Table 5). Diameters were ranging from 11.67  $\pm$  0.47 to 16  $\pm$  0.82 mm. The isolate Act24 was the most active. Relating to the CAS assay, three isolates (Act16, Act18 and Act24) have showed ability to produce siderophores (Table 5).

#### *In vivo bioassay against S. scabies on radish seedling*

Root surface were estimated by WinRhizo software, values were then analysed by ANOVA followed by LSD test, which provide results shown in Table 6. Root surface of negative and positive controls were 8.13 and 3.69  $\text{cm}^2$ , respectively. From the six isolates, only Act18 and Act24 has inhibited significantly ( $P = 0.0062$ ) the pathogen *in vivo*, this antagonistic activity was revealed by the increase of the root surface of the seedlings compared to the positive control in which seedlings were inoculated only by the *S. scabies* (Figure 3). Moreover, Act18 and Act24 allowed the disappearance of common scab symptom, which was characterised by root necrosis. Isolates Act16, Act17 were also able to inhibit *S. scabies in vivo* ( $P < 0.05$ ) but with a reduced effect, values were 6.21 and 5.82  $\text{cm}^2$ , respectively.

**Table 6.** Biocontrol of actinomycetes against *S. scabies* on radish seedlings

Essays	Root surface ( $\text{cm}^2$ )
Negative control	8.13 $\pm$ 1.15 a
Positive control ( <i>S. scabies</i> )	3.69 $\pm$ 0.44 c
Co-inoculation of <i>S. scabies</i> with:	
Act18	8.05 $\pm$ 0.66 a

Act16	6.21 ± 1.26 ab
Act17	5.82 ± 1.44 b
Act11	3.91 ± 0.55 c
Act23	3,76 ± 0.13 c
Act24	7.88 ± 1.03 a

Data are reported as the mean ± SD of five parallel measurements. Values with different superscripts (a, b, c) in the same column differ significantly (LSD test,  $p < 0.05$ ).



**Figure 3.** *In vivo* confrontation against *S. scabiei* on radish seedling; (A): negative control; (B): positive control; (C): seedlings inoculation with both *S. scabiei* and Act18

## Discussion

It has been discovered that microorganisms were more numerous in the soil immediately adjacent to the roots (the rhizosphere) than in the loose soil distant from the roots (Ding *et al.*, 2019). The major influences that the rhizospheric microorganisms have, nowadays, become an important tool to preserve plant health by an eco-friendly approach. It has been established that actinobacteria are the major microorganism in the rhizosphere and are the most ideal for controlling plant pathogens (Putrie *et al.*, 2020). For these reasons, rhizospheric actinomycetes have been chosen to be explored for antagonists screening.

As indicated by Sreevidya *et al.* (2016) salinity and pH ranges in the rhizosphere are crucial criteria for the competitiveness and persistence of microorganisms. Furthermore, resistance to high salinity and pH should be a criterion for the screening of microorganisms for biological control. In this regard, arid rhizospheric soil of the halophyte *Atriplex halimus* L. has been chosen for actinomycetes isolation. This plant is well adapted to arid soil; it was collected from Biskra region, which is characterized by a hyperarid climate. Regarding to physico-chemical results and referring to the pH and EC soil interpretation scale (Richards, 1954), soils samples are categorized as alkaline ( $\text{pH} \geq 7$ ) and very salty (EC varies from 2.4 to 6). These results are confirmed by the hyperarid bioclimatic stage of the Biskra region based on the De Martonne aridity index. Similarly, the pHs values are approximately close to those obtained by Khenaka *et al.* (2019), who studied samples from rhizospheric soil of the same region, and revealed that pH varied from 7.9 to 8. Furthermore, according to the scale of Lee and Hwang (2002), the percentages of organic matter of the three soils were very low (less than 4%). The Chegga soil gave the higher number of isolates, it is worth noting that this soil sample is characterized by a relatively low conductivity, compared to the others samples, furthermore, it has a low moisture rate. These findings are in accordance with those of Lee and Hwang (2002), which reported that the rate of organic matter is a very important factor; it directly affects the distribution of actinomycetes. Thus, this group of bacteria mostly colonizes soils rich in organic matter, but conversely, they prefer soils with low moisture content.

The twenty-six isolates displayed sensitivity towards at least three pathogens. *A. alternata* was recorded as the most sensitive towards all antagonistic isolates, followed by *B. cinerea*. Similarly, Wang *et al.* (2020) have demonstrated that *A. alternata* was also very sensitive towards *Streptomyces lydicus* M01. With regard to *F. oxysporum* and *B. cinerea*, Rios-Muñiz and Evangelista-Martínez (2022) have also reported the *in vitro* sensitivity

of these pathogens when facing rhizospheric *Streptomyces* sp. CACIS-2 15CA isolate. From our findings, it appears that the two isolates *Streptomyces* sp. Act18 and *Streptomyces* sp. Act24 are of interest, since they showed both antibacterial and antifungal activities, so they have a broad spectrum, especially Act18 that has inhibited Gram-negative and Gram-positive bacteria in addition to fungi. Similarly, the study conducted by Le *et al.* (2022) has revealed that *Streptomyces* sp. AN090126, isolated from agricultural soil in Korea, showed a broad-spectrum against various phytopathogenic bacteria and fungi. Our results are promising, because according to Lee and Hwang (2002), in most cases antagonists with *in vitro* antifungal activity are also active *in vivo*.

Following the recommendations of Goodfellow *et al.* (2012), the presence of the L-DAP isomer and the lack of characteristic sugars suggest the presence of the parietal I chemotype, which is typical of *Streptomyces* and related genera. All isolates presented the characteristic odor of wet soil, typical of actinomycetes, especially of the genus *Streptomyces*, as specified by other studies. Considering spore mass color, the isolates could be classified into four actinomycetes series: beige, gray, purple and pink. In general, microscopic morphology showed unfragmented vegetative mycelium, abundant aerial mycelium, and well-developed bearing long chains of spores either RA, RF or S type. According to the descriptions provided by Bergey's Manual of Systematic bacteriology (Goodfellow *et al.*, 2012), this being a morphological characteristic of the genus *Streptomyces*. Thereby, the combination of macroscopic and microscopic morphology, and the parietal chemotype type I allow us to assign these isolates to the genus *Streptomyces*. In actinomycetes group, chemotaxonomical, morphological, and physiological characters are of interest, they may allow the determination of the genus. Similar studies, relying on such features to identify *Streptomyces* genus, have been already reported by several researchers (Qadir and Atalan, 2019; Aouar *et al.*, 2020). In the present investigation, all isolates were assigned to *Streptomyces* genus, which is compatible with earlier studies that reported the prevalence of the streptomycetes among soil-borne actinomycetes. In addition, rhizospheric streptomycetes display an antagonistic potential and produce antifungal substances due to the high input of organic matter from plant root exudates (Lee and Hwang, 2002).

All the isolates were able to grow in a pH ranged from 5 to 11, in addition to being able to tolerate a temperature up to 40 °C and to have a tolerance to NaCl till 7.5%. These results were expected since these isolates come from an arid soil. Interestingly, Act18 and Act24 showed broad-spectrum activity and exhibit a good growth at 7.5% NaCl. These strains are originated from soils with the highest conductivity values. It has been demonstrated in several studies that actinomycetes comprise species that are resistant to high NaCl levels (Dif *et al.*, 2022). Considering this capacity, Sreevidya *et al.* (2016) have demonstrated the capacity of rhizospheric *Streptomyces* isolates to grow at 8% NaCl and exclusively the isolate SAI-13 to tolerate a concentration of 10% NaCl. Such characteristics can be considered as advantages for a potential biocontrol agent.

IAA belongs to the group of phytohormones, and it is commonly regarded as the main native auxin. It is a signaling molecule involved in cell division and root extension (Vurukonda *et al.*, 2021). Moreover, several studies have reported the capacity of rhizospheric *Streptomyces* to synthesize IAA and other indolic derivatives in liquid media (Khenaka *et al.*, 2019; Oleńska *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2021). In our investigation, all isolates demonstrate the ability to produce IAA in medium amended with L-Trp, which is certainly synthesized via L-Trp-dependent pathway. The measured IAA concentrations are greater than those obtained by Ashwini *et al.* (2018) and Djebaili *et al.* (2020) that ranged between 6.88-20.22 µg mL<sup>-1</sup> and 7.44-21.4 µg mL<sup>-1</sup>, respectively. All tested isolates were positive for IAA production; similar high percentage (100%) has also been obtained in other studies (Sreevidya *et al.*, 2016; Aouar *et al.*, 2020). However, Djebaili *et al.* (2020) have scored a lower rate of 64%. Hence, it seems that IAA production is an attribute widely encountered among rhizospheric actinomycetes.

Phosphorus is an extremely important element for plant growth. All over the world, soils are enriched with inorganic P in the form of chemical fertilizers to assist crops production. Nevertheless, its overuse deteriorates soil quality. Thus, the employment of phosphate-solubilizing microorganisms enhances the soil fertility by converting insoluble P to soluble P (Qin *et al.*, 2015). It has been reported that actinomycetes phosphate-solubilizing ability was less explored compared to the other PGPR traits (Sudiana *et al.*, 2020). Phosphate

solubilization assess revealed that among the six tested isolates, four (67%) were able to dissolve P and exhibit clear zones surrounding the colonies. The obtained results are compatible with those of Djebaili *et al.* (2020) which recorded 79% of positive strains.

Current research has focused on siderophores production by actinomycetes. The detection of siderophores production by three isolates was expected for such stains originating from arid soils. It has been shown that *Streptomyces* sp. from several crop rhizospheric soils have this capacity (Khenaka *et al.*, 2019; Aouar *et al.*, 2020; Warrad *et al.*, 2020). The ability of biocontrol agents to secrete siderophores in appropriate quantities may limit the Fe<sup>3+</sup> accessibility to the pathogen and may induce plant resistance (Rana *et al.*, 2019). Our result revealed the siderophores elaboration by three isolates. These findings are of interest, because they have established a positive correlation between plant development and siderophores secretion, and as a result this factor must be included in the selection process of PGP agents (Sreevidya *et al.*, 2016; Ebrahimi-Zarandi *et al.*, 2021; Dif *et al.*, 2022).

Among actinomycetes genera, *Streptomyces* is recognized as saprophytic and the most important. Species associated to this genus are recognized for their capacity to produce a large number of different secondary metabolites. Nevertheless, some species are phytopathogenic and engender plant disease; *S. scabies* is the type of strains of this group. It provokes common scab, which is a root necrosis of plants such as potato and radish due to the inhibition of cellulose synthesis (Beaudoin *et al.*, 2021). In this investigation, we tested the ability of the six isolates to oppose *in vivo* against *S. scabies* and to prevent root necrosis. Results showed that the comparison of the root growth of the negative and the positive controls, revealed a significant decrease ( $p < 0.05$ ) which indicated a root necrosis induced by *S. scabies*. Such findings were reported by previous studies that have carried out on radish seedlings by Legault *et al.* (2011) and Aouar *et al.* (2020) and Aouar *et al.* (2021). However, the co-inoculation of antagonistic isolates Act18, Act24, Act16, and Act17 with the pathogen contributes to the re-appearance of the roots and the disappearance of the symptoms of common scab (more or less significantly). Interestingly, the results revealed that Act18 that had antagonized *S. scabies in vitro*, affected significantly and positively the root surface. The findings were not expected for Act16, Act17 and Act24 since they did not show antagonistic activity *in vitro*, it is possible that they acted by other mechanisms rather than antibiosis, especially that Act16 and Act24 were capable to produce siderophores and solubilize phosphate or it could involve other mechanisms. Laboratory experiments conducted by Suárez-Moreno *et al.* (2019) revealed that *Streptomyces* strains carry several important features for biocontrol, which have also been related to plant-growth promotion. Moreover, according to Parasuraman *et al.* (2022) *in vivo* antagonism may also involve the induction of the plant defence, through direct and indirect mechanisms. These mechanisms include solubilization of plant nutrients, such as iron and phosphorus, nitrogen fixation and production of various plant hormones such as auxins, cytokines, and ethylene or reducing the harmful effects of plant pathogens by producing antibiotics and siderophores.

## Conclusions

The investigation that assesses the potential of six *Streptomyces* sp. strains isolated from the rhizosphere soil of *Atriplex halimus* L. 'Guettaf' for the *in vitro* antagonism against some phytopathogenic fungi and bacteria and the exhibition of some PGPR attributes, leads to the screening of two interesting strains: *Streptomyces* sp. Act18 and *Streptomyces* sp. Act24, showing efficient growth under physiological conditions of high temperature, pH and NaCl. Moreover, they revealed a broad spectrum of the *in vitro* antagonistic activity when facing to plant pathogens. In addition to their potential to counteract *S. scabies in vivo*, by preventing common scab and enhancing roots development of the radish seedlings. These abilities probably involved one or several mechanisms, especially since *Streptomyces* are known to produce substrates of agrochemical interest. Interestingly, these two strains displayed some PGPR traits: IAA, siderophores production and phosphate solubilization. Based on the attributes mentioned above, the use of such strains in arid and saline soils may represent a sustainable solution to protect crops and enhance agriculture rather than agrochemical products.

However, they need more advanced evaluation under field conditions to be proposed as biocontrol agents.

### Authors' Contributions

Conceptualization: LA; Funding acquisition: YN, AZ; Resources: MCB, MD; Software: LA, IB, AZ, MCB and MD; Supervision: LA; Validation: IB, LA, AZ; Writing: IB and LA; Review and editing LA, IB.

All authors read and approved the final manuscript.

### Ethical approval (for researches involving animals or humans)Not

applicable.

### Acknowledgements

This work was supported by Directorate-General for Scientific Research and Technological Development, Algeria (DGRSDT) through the IBTIKAR funding Project. Authors would like to thank Mr. Salem BEGHOU the responsible of the pedagogical laboratories of the University of Oum El Bouaghi. Thanks are due also to Dr Chawki BENSOUICI from National Center for Biotechnology Research (CRBT) for his assistance.

### Conflict of Interests

The authors declare that there are no conflicts of interest related to this article.

### References

- Ali A, Kurnia N, Asrini Nurani Ulfah A, Damayanti P, Rante H, Jumadi O (2021). Diversity of endophytic actinomycetes producing indole-3-acetic acid and *in vitro* evaluation of plant growth-promoting activity on *brassica oleracea* L. Tropical Agricultural Science 44(2):275-292. <http://dx.doi.org/10.47836/pjtas.44.2.02>
- Alibrandi P, Lo Monaco N, Calevo J, Voyron S, Puglia AM, Cardinale M, Perotto S (2021). Plant growth promoting potential of bacterial endophytes from three terrestrial mediterranean orchid species. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology 155(6):1153-1164. <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1829731>
- Aouar L, Boukelloul I, Benadjila A (2020). Identification of antagonistic *Streptomyces* strains isolated from Algerian Saharan soils and their plant growth promoting properties. Biodiversitas Journal of Biological Diversity 21(12):5672-5683. <http://dx.doi.org/10.13057/biodiv/d211212>
- Aouar L, Boukelloul I, Benadjila A (2021). PGPR traits of rhizospheric *Nocardiopsis* strains isolated from Algerian soils. In: Ksibo M, Ghorbal A, Chakraborty S, Chaminé SI, Barbieri M, Guerriero G, ... Seffen M (Eds). Proceedings of 2nd Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration. Springer, Cham, Switzerland pp 1293- 1300.
- Aouar L, Lerat S, Ouffroukh A, Boulahrouf A, Beaulieu C (2012). Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal Pathogens. Canadian Journal of Plant Pathology 34(2):165-176. <https://doi.org/10.1080/07060661.2012.681396>
- Arora NK, Verma M (2017). Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria. 3 Biotech 7:381. <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-017-1008-y>
- Ashwini M, Doddamani LC, Babar SR (2018). Characterization and evaluation of actinomycete isolates for traits associated with plant growth promotion. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 7(6):1177-1180.
- Beaudoin N, Isayenka I, Ducharme A, Massie S, Gagnon A, Hogue R, ... Michaud D (2021). Habituation to thaxtomin A increases resistance to common scab in 'Russet Burbank' potato. PLoS One 16(6):e0253414. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0253414>

- Benadjila A, Zamoum M, Aouar L, Zitouni A, Goudjal Y (2022). Optimization of cultural conditions using response surface methodology and modeling of indole-3-acetic acid production by *Saccharothrix texasensis* MB15. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 39:102271. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102271>
- Bona E, Massa N, Toumatia O, Novello G, Cesaro P, Todeschini V, ... Gamalero E (2021). Climatic zone and soil properties determine the biodiversity of the soil bacterial communities associated to native plants from desert areas of North-Central Algeria. *Microorganisms* 9(7):1359. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9071359>
- Chaudhary DR (2022). Halophytes of semi-arid areas: resources for mitigation of climate change. In: Poshiwa X, Ravindra Chary G (Eds). *Climate Change Adaptations in Dryland Agriculture in Semi-Arid Areas*. Springer, Singapore pp 93-109. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-7861-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-16-7861-5_7)
- De Angelis G, Simonetti G, Chronopoulou L, Orekhova A, Badiali C, Petrucci V, ... Palocci C (2022). A novel approach to control *Botrytis cinerea* fungal infections: uptake and biological activity of antifungals encapsulated in nanoparticle based vectors. *Scientific Reports* 12:7989. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-022-11533-w>
- Dif G, Belaoui HA, Yekkour A, Goudjal Y, Djemouai N, Peňázová E, ... Zitouni A (2022). Performance of halotolerant bacteria associated with Sahara-inhabiting halophytes *Atriplex halimus* L. and *Lygeum spartum* L. ameliorate tomato plant growth and tolerance to saline stress: from selective isolation to genomic analysis of potential determinants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 38:16. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-021-03203-2>
- Ding LJ, Cui HL, Nie SA, Long XE, Duan GL, Zhu YG (2019). Microbiomes inhabiting rice roots and rhizosphere. *FEMS Microbiology and Ecology* 95(5):fiz040. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz040>
- Djebaili R, Pellegrini M, Smati M, Del Gallo M, Kitouni M (2020). Actinomycete strains isolated from saline soils: Plant-growth-promoting traits and inoculation effects on *solanum lycopersicum*. *Sustainability* 12(11):4617. <http://dx.doi.org/10.3390/su12114617>
- Ebrahimi-Zarandi M, Bonjar GHS, Riseh RS, El-Shetehy M, Saadoun I, Barka EA (2021). Exploring Two *Streptomyces* Species to control *Rhizoctonia solani* in Tomato. *Agronomy* 11(7):1384. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy11071384>
- Goodfellow M, Kampfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Suzuki KI, Ludwig W, Whitman WB (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. New York, Springer.
- Hasegawa T, Takizawa M, Tanida S (1983). A rapid analysis for chemical grouping of aerobic actinomycetes. *The Journal of General and Applied Microbiology* 29(4):319-322. <https://doi.org/10.2323/jgam.29.319>
- Kang MK, Lee GS, Lee MS, Choi HJ, Park DH (2022). Biocontrol efficacy of antagonistic and endophytic *Streptomyces* sp. against common scab disease. *Journal of Plant Diseases and Protection* 129(5):1115-1124. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00602-x>
- Khenaka K, Canfora L, Benedetti A, Leulmi N, Boulahrouf A (2019). Effect of *Capsicum annum* cultivated in sub-alkaline soil on bacterial community and activities of cultivable plant growth promoting bacteria under field conditions. *Archives of Agronomy and Soil Science* 65(10):1417-1430. <http://dx.doi.org/10.1080/03650340.2019.1566711>
- Le KD, Yu NH, Park AR, Park DJ, Kim CJ, Kim JC (2022). *Streptomyces* sp. AN090126 as a Biocontrol Agent against Bacterial and Fungal Plant Diseases. *Microorganisms* 10(4):791. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10040791>
- Lebourgeois F, Piedallu C (2005). Appréhender le niveau de sécheresse dans le cadre des études stationnelles et de la gestion forestière à partir d'indices bioclimatiques [Understanding the level of drought in the context of station studies and forest management based on bioclimatic indices]. *Revue Forestière Française* 57(4):331-356.
- Lee JY, Hwang BK (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology* 48(5):407-417. <http://dx.doi.org/10.1139/w02-025>
- Lee SM, Kong HG, Song GC, Ryu CM (2021). Disruption of Firmicutes and Actinobacteria abundance in tomato rhizosphere causes the incidence of bacterial wilt disease. *The ISME Journal* 15:330-347. <http://dx.doi.org/10.1038/s41396-020-00785-x>
- Legault GS, Lerat S, Nicolas P, Beaulieu C (2011). Tryptophan regulates thaxtomin A and indole-3 acetic acid production in *Streptomyces scabiei* and modifies its interactions with radish seedlings. *Phytopathology* 101(9):1045-1051. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-11-0064>
- Nonthakaew N, Panbangred W, Songnuan W, Intra B (2022). Plant growth-promoting properties of *Streptomyces* spp. isolates and their impact on mung bean plantlets' rhizosphere microbiome. *Frontiers in Microbiology* 13:967415. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.967415>
- Oleńska E, Małek W, Wójcik M, Swiecicka I, Thijs S, Vangronsveld J (2020). Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. *Science of the Total Environment* 743:140682. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140682>
- Parasuraman P, Pattnaik SS, Busi S, Marraiki N, Elgorban AM, Syed A (2022). Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their biocontrol efficacy against phytopathogens of tomato (*Solanum*

- lycopersicum* L.). Plant Biosystems 156(1):164-170. <http://dx.doi.org/10.1080/11263504.2020.1845842>
- Putrie RFW, Aryantha INP, Iriawati I, Antonius S (2020). Diversity of endophytic and rhizosphere bacteria from pineapple (*Ananas comosus*) plant in semi-arid ecosystem. Biodiversitas Journal of Biological Diversity 21(7):3084- 3093. <http://dx.doi.org/10.13057/biodiv/d210728>
- Qadir SA, Atalan E (2019). Biodiversity of *Streptomyces* of from soil samples of Halapja, Iraq. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 24(2):72-87.
- Qin S, Miao Q, Feng WW, Wang Y, Zhu X, Xing K, Jiang JH (2015). Biodiversity and plant growth-promoting traits of culturable endophytic actinobacteria associated with *Jatropha curcas* L. growing in Panxi dry-hot valley soil. Applied Soil Ecology 93:47-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.04.004>
- Rana KL, Kour D, Yadav AN (2019). Endophytic microbiomes: biodiversity, ecological significance and biotechnological applications. Research Journal of Biotechnology 14(10):142-162.
- Richards LA (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Washington, USA.
- Rios-Muñiz DE, Evangelista-Martínez Z (2022). Antifungal activity of *Streptomyces* sp. CACIS-2.15CA, as a potential biocontrol agent, against some soil-borne fungi. Egyptian Journal of Biological Pest Control 32:130. <http://dx.doi.org/10.1186/s41938-022-00630-7>
- Shirling ET, Gottlieb D (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. International Journal of Systematic Bacteriology 16(3):313-340.
- Sreevidya M, Gopalakrishnan S, Kudapa H, Varshney RK (2016). Exploring plant growth-promotion actinomycetes from vermicompost and rhizosphere soil for yield enhancement in chickpea. Brazilian Journal Microbiology 47(1):85-95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.030>
- Staneck JL, Roberts GD. (1974). Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. Applied Microbiology 28(2):226-231.
- Suárez-Moreno ZR, Vinchira-Villarraga DM, Vergara-Morales DI, Castellanos L, Ramos FA, Guarnaccia C, Moreno-Sarmiento N (2019). Plant-growth promotion and biocontrol properties of three *Streptomyces* spp. isolates to control bacterial rice pathogens. Frontiers in Microbiology 10:290. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.00290>
- Sudiana IM, Putri A, Napitupulu TP, Purnaningsih I, Kanti A (2020). Growth inhibition of *Fusarium solani* and *F. oxysporum* by *Streptomyces* sp. TG01, and its ability to solubilize insoluble phosphate. Biodiversitas Journal of Biological Diversity 21(2):429-435. <http://dx.doi.org/10.13057/biodiv/d210201>
- Tahtamouni ME, Khresat SE, Lucero M, Sigala J, UNC A. (2016). Diversity of endophytes across the soil-plant continuum for *Atriplex* spp. in arid environments. Journal of Arid Land 8:241-253. <http://dx.doi.org/10.1007/s40333-015-0061-9>
- Vurukonda SS, Giovanadri D, Stefani E (2021). Growth promotion and biocontrol activity of endophytic *Streptomyces* spp. Prime Archives in Molecular Sciences, 2nd Edition 1:1-55. <http://hdl.handle.net/11380/1248582>
- Wang M, Xue J, Ma J, Feng X, Ying H, Xu H. 2020. *Streptomyces lydicus* M01 regulates soil microbial community and alleviates foliar disease caused by *Alternaria alternata* on cucumbers. Frontiers in Microbiology 11:942. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.00942>
- Warrad M, Hassan YM, Mohamed MSM, Hagagy N, Al-Maghrabi OA, Selim S, ... Abd Elgawad H (2020). A bioactive fraction from *Streptomyces* sp. enhances maize tolerance against drought stress. Journal of Microbiology and Biotechnology 30(8):1156-1168. <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.2003.03034>
- Williams ST, Cross T (1971). Actinomycetes. In: Booth C (Ed). Method in Microbiology. Academic Press, London pp 295-334.

The journal offers free, immediate, and unrestricted access to peer-reviewed research and scholarly work. Users are allowed to read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full texts of the articles, or use them for any other lawful purpose, without asking prior permission from the publisher or the author.

**License** - Articles published in *Notulae Scientia Biologicae* are Open-Access, distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) License.

© Articles by the authors; Licensee SMTCT, Cluj-Napoca, Romania. The journal allows the author(s) to hold the copyright/to retain publishing rights without restriction.



