

ETUDE COMPARATIVE DES ACTINOBACTERIES DE LA RHIZOSPHERE DE DEUX CULTIVARS DE PALMIER DATTIER SENSIBLE ET RESISTANT AU BAYOUD

LAMARI Lynda, BOUDJELLA Hadjira, BOURAS Noureddine et SABAOU Nasseridine*

Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM)

Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger, Algérie

*E-mail: sabaou@yahoo.fr

Résumé.- L'étude porte sur la distribution quantitative et qualitative des actinobactéries de la rhizosphère de deux cultivars de palmier dattier, l'un résistant et l'autre sensible à la fusariose, ainsi que sur le pouvoir antagoniste de ces microorganismes envers l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Les densités d'actinobactéries les plus élevées sont notées au niveau des sols rhizosphériques du cultivar sensible. En revanche, c'est à l'intérieur des racines du cultivar résistant que les espèces dominantes sont présentes, dont certaines souches testées contre *F. o. albedinis* se sont montrées très efficaces. Des différences dans la composition en genres et en espèces sont notées entre les cultivars. Les actinobactéries sont essentiellement représentées par les genres *Streptomyces* et *Nocardioïdes* avec une diminution nette du pourcentage des *Streptomyces*, surtout au niveau de l'endorhizosphère, en allant du cultivar résistant vers le cultivar sensible sain ou surtout malade. Les espèces les plus importantes numériquement sont apparentées à *Streptomyces chartreusis*, *Streptomyces gannmycicus* et *Nocardioïdes albus*.

Mots clés: Actinobactéries, palmier dattier, fusariose, rhizosphère, antagonisme.

COMPARATIVE STUDY OF RHIZOSPHERIC ACTINOBACTERIA OF TWO DATE PALM SENSITIVE AND RESISTANT CULTIVARS TO BAYOUD

Abstract.- This report deals with the qualitative and quantitative distribution of the actinobacteria in the rhizosphere of two date-palm cultivars, one sensitive and one resistant to fusariosis, and with the antagonistic capacity of these microorganisms against the fungal pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. The highest actinobacterial densities are noticed in the rhizospheric soils of the susceptible cultivar. However, we observed that the dominant species are present in the roots of resistant cultivar, and some strains tested were very effective against *F. o. albedinis*. Differences in the composition of genera and species are found between cultivars. Actinobacteria are mainly represented by the genera *Streptomyces* and *Nocardioïdes* with a net decrease in the percentage of *Streptomyces*, especially from endorhizosphere, going from resistant cultivar to healthy susceptible cultivar or mainly sick. Numerically, the most important species are related to *Streptomyces chartreusis*, *Streptomyces gannmycicus* and *Nocardioïdes albus*.

Key words: Actinobacteria, date-palm, fusariosis, rhizosphere, antagonism.

Introduction

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est susceptible d'être atteint par plusieurs maladies. La plus grave est la fusariose vasculaire, appelée bayoud, due au champignon *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Killian et Maire) Gordon, lequel est présent dans le sol et pénètre par les racines. La majorité des oasis de l'ouest algérien et celles de la région du M'zab sont touchées par cette maladie [1].

En Algérie, parmi les nombreux cultivars présents, un seul est reconnu depuis longtemps comme étant résistant: Takerbucht. Cependant des études récentes ont montré l'existence de quelques autres cultivars supposés résistants ou plus ou moins tolérants à la fusariose [2,3].

Les recherches au niveau de la rhizosphère sont nombreuses. Elles ont montré des différences entre cultivars sensibles et résistants au bayoud. Ces différences concernent l'activité biologique microbienne [4], la nature des exsudats racinaires [5,6,7] et la distribution quantitative et parfois qualitative des bactéries et des champignons [8,9,10,11]. Parmi les microorganismes du sol, les actinobactéries (bactéries à Gram positif, à pourcentage de guanine-cytosine supérieur à 55% et dont la majorité, sont mycéliennes), grâce à leurs propriétés antagonistes (production de nombreux antibiotiques dont des antifongiques), sont utilisées dans la lutte biologique des maladies de plantes.

Les études menées au niveau de la rhizosphère du palmier ont montré que les racines stimulent la croissance des actinobactéries [8,12,13]. Les espèces colonisant le système racinaire ne sont pas connues, de même que leur distribution au niveau de la rhizosphère des différents cultivars et le rôle qu'elles peuvent avoir dans la sensibilité ou la résistance des palmiers à la fusariose.

Parmi les sites d'infection possibles, il y a les racines jeunes avec leurs pointes exsudantes, voie idéale de pénétration des agents pathogènes en raison des tissus encore jeunes et vulnérables [14] et les pneumatodes signalés et décrits pour la première fois chez le palmier dattier par BELARBI-HALLI *et al.* (1983)[15]. Ainsi, BELARBI-HALLI et MANGENOT (1986) ont constaté que la structure assez lâche des pneumatodes permettait au *F. o. albedinis* de pénétrer aisément à l'intérieur de la plante, occasionnant ainsi la fusariose [16].

Le présent travail a trait à l'étude quantitative et qualitative des actinobactéries et leur distribution au niveau des sols rhizosphériques et non rhizosphériques, ou encore à l'intérieur même des racines de deux cultivars sensible et résistant au bayoud. L'étude a lieu au niveau d'une même parcelle sévèrement bayoudée et où les cultivars choisis, aussi bien sensible que résistant, se côtoient et sont nombreux. Le pouvoir antagoniste des isolats d'actinobactéries contre le champignon phytopathogène, est également recherché.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Site d'étude

Le site d'étude choisi est Bouda, oasis du sud-ouest algérien (28° 00' N, 0° 30' W) de la Wilaya d'Adrar, soumise à un climat typiquement saharien. Les travaux sont réalisés au niveau d'une parcelle en friche (160 m sur 20 m) comportant 133 palmiers (8 cultivars dont Aghamu prédominant) sensibles à la fusariose et 31 palmiers (cultivar Takerbucht) résistant. Trente pour cent des palmiers sensibles sont atteints par la maladie. La parcelle est bien entretenue, et chaque année (tous les mois d'octobre), le sol est amendé avec des ammonitrates à N-P-K et de la fumure organique. La distribution de ces fertilisants est effectuée de manière assez hétérogène par les agriculteurs.

1.2.- Echantillons de sol et des racines

Cinq lots (A, B, C, D et E) de la parcelle, distants entre eux d'environ 25 m sont délimités. Chaque lot est constitué de trois pieds de palmier disposés en triangle. Un pied appartient au cultivar résistant Takerbucht (TK), et les deux autres, au cultivar sensible Aghamu, dont l'un (AS) est apparemment sain (aucun symptômes), et le second (AM) présentant les symptômes typiques de la fusariose. Pour ces derniers, la maladie a été confirmée après isolement de *F. o. albedinis* à partir des rachis.

Les racines sont prélevées à une profondeur comprise entre 25 et 40 cm tout autour des palmiers. Deux types sont considérés: les racines jeunes (RJ) avec pointes racinaires exsudantes et les racines âgées (RA) portant à la base de leurs ramifications des manchons blanchâtres qui sont les pneumatodes. Au milieu de chaque triangle, un sol témoin (non rhizosphérique) est prélevé à la même profondeur que pour les racines. Les caractéristiques physico-chimiques des cinq échantillons de sol ont montré, à l'exception de la matière organique, une certaine homogénéité dans la texture (sableuse), le pH (légèrement alcalin: 8,2-8,7), la conductivité électrique à 20% (0,113 à 0,206 mS cm⁻¹, donc sols non salés) et le calcaire total (5,7-6,8%). La distribution de la matière organique est hétérogène: le sol le plus riche est celui du lot B (6,3%), et le moins riche celui du lot D (1,1%), les autres valeurs étant de 2,1% (lot E), 3,2% (lot A) et 4,3% (lot C).

1.3.- Isolement et dénombrement des actinobactéries

Les actinobactéries mycéliennes sont isolées à partir des sols (témoins et rhizosphériques), des pointes racinaires et des pneumatodes. L'isolement est effectué sur boîtes de Pétri par la méthode des suspensions-dilutions [17] et étalement sur milieu «chitine-agar» de LINGAPPA et LOCKWOOD (1962) [18] composé de: chitine: 2,5 g; MgSO₄.7H₂O: 0,5 g; FeSO₄.7H₂O: 0,01 g; ZnSO₄.7H₂O: 0,01 g; eau distillée en quantité suffisante pour 1 l). Le milieu est additionné d'un antifongique, le cycloheximide, à la concentration de 50 mg/l. Pour chaque dilution, cinq répétitions sont effectuées. Les boîtes de Pétri sont incubées à 30°C.

Le dénombrement des actinobactéries est effectué après 7 jours d'incubation. Les résultats sont exprimés en UFC (unités formant colonie) par gramme de sol sec ou de racines sèches, selon les cas.

1.3.1.- Isolement à partir des sols témoins et des sols rhizosphériques

Cinq grammes de sol tamisé sont ajoutés dans 50 ml d'eau distillée stérile et agités avec un vortex pendant 10 minutes. A partir de cette suspension-mère, des dilutions sont effectuées. Les racines sont secouées de manière à ne laisser que les grains de terre qui y adhèrent intimement. Pour chaque palmier, cinq fragments racinaires de 3 à 4 cm de longueur sont découpés et mis dans 50 ml d'eau distillée stérile afin de recueillir la microflore associée.

Les racines jeunes comportent leurs pointes racinaires exsudantes et chaque racine âgée porte deux pneumatodes bien différenciés au départ des racines secondaires sectionnées.

1.3.2.- Isolement à partir des pointes racinaires et des pneumatodes

Les pointes racinaires et les racines âgées à pneumatodes ayant servi à l'étude de la rhizosphère sont lavées plusieurs fois à l'eau distillée stérile, puis leur surface est désinfectée pendant 20 min dans une solution aqueuse d'hypochlorite de calcium à 3,5%. Les racines subissent par la suite cinq lavages successifs à l'eau distillée stérile. Des pointes racinaires (de 2 cm de longueur) et des pneumatodes, découpés de manière précise sans le reste des racines âgées, sont broyés séparément dans 50 ml d'eau distillée stérile. Le broyat est filtré, et à partir de la suspension obtenue, des dilutions sont réalisées.

1.4.- Détermination des actinobactéries

1.4.1.- Choix des isolats

Sur la base d'une observation macro et micromorphologique, les isolats sont choisis en nombres représentatifs, de manière à mieux refléter la dominance de certaines espèces par rapport à d'autres. Les isolats semblables morphologiquement sont considérés comme appartenant à une même espèce.

1.4.2.- Identification des genres et des espèces d'actinobactéries

L'identification des genres est basée sur les caractéristiques morphologiques et chimiques. Les caractéristiques culturales et micromorphologiques sont déterminées selon les méthodes et les milieux préconisés par SHIRLING et GOTTLIEB (1966) [19]. L'étude chimique est effectuée grâce à la détermination de l'isomère (LL ou DL) de l'acide diaminopimélique, ainsi que la mise en évidence de la glycine, présents dans les parois cellulaires [20], l'identification des sucres dans les cellules entières [21] et la présence ou non des acides mycoliques pariétaux [22]. Le rapprochement des actinobactéries à des espèces précises est effectué après une étude morphologique et une étude physiologique basée sur 23 tests. Pour cette dernière, les tests sont ceux habituellement utilisés dans la taxonomie des actinobactéries [19,23,24]. Plusieurs clés de détermination ont été consultées [25,26,27,28,29,30].

1.5.- Recherche du pouvoir antagoniste des isolats d'actinobactéries

Le pouvoir antagoniste des isolats d'actinobactéries est recherché contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, l'agent pathogène responsable de la fusariose.

1.5.1.- Isolement de l'agent pathogène

F. o. albedinis est isolé à partir du rachis d'un des cinq pieds du cultivar Aghamu malade. La partie interne du rachis est traversée par une longue bande brune caractéristique de la fusariose. Au niveau de cette bande, des fragments de 2 cm sont découpés et leur surface est désinfectée par passage à la flamme. Les fragments sont ensuite déposés sur milieu gélose nutritive additionnée de 50 mg/l de streptomycine et de 125 mg/l de tétrachloronitrobenzène.

Ce milieu est sélectif pour les espèces *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* [31]. Après 2 à 5 jours d'incubation à 28°C, le champignon émerge des fragments. Il est identifié à l'espèce *Fusarium oxysporum* selon BOOTH (1971) [32]. Des tests de

pathogénicité sur des plantules sensibles de palmier dattier ont confirmé son appartenance à la forme spéciale *albedinis*. La souche obtenue est désignée AGA.

1.5.2.- Test d'antagonisme

Les isolats d'actinobactéries sont testés envers l'agent pathogène afin de mettre en évidence un éventuel pouvoir antagoniste. Chaque isolat est ensemencé en quatre points espacés sur le milieu ISP2 coulé dans des boîtes de Pétri de 10 cm de diamètre puis incubé à 30°C pendant 7 jours. Après ce temps, un inoculum du champignon est déposé au centre de chacune des boîtes. Celles-ci sont de nouveau incubées jusqu'à l'apparition ou non d'une zone d'inhibition.

2.- Résultats

2.1.- Distribution quantitative des actinobactéries

Au total, 360 isolats d'actinobactéries mycéliennes sont obtenus. Leur distribution au niveau des sols rhizosphériques et témoins, ainsi que dans l'endorhizosphère et les pneumatodes, a été déterminée.

2.1.1.- Sols rhizosphériques et sols témoins

Une grande variabilité est notée dans la distribution quantitative des actinobactéries entre les sols des différents lots, tant au niveau de la rhizosphère que des sols témoins (tab. I). L'effet rhizosphérique est nettement positif puisque les densités des actinobactéries obtenues au niveau des sols racinaires des cultivars sont plus élevées que celles des témoins. D'une manière générale, la densité des actinobactéries est plus élevée au niveau des sols des racines jeunes de Aghamu malade (AM) par rapport à Aghamu sain (AS) et surtout à Takerbucht (TK) où l'on note les plus faibles valeurs. Ces microorganismes sont présents en plus grand nombre (en général) dans les sols des racines âgées de TK par rapport à ceux des racines jeunes de ce même cultivar.

Tableau I.- Densités des actinobactéries (CFU $\times 10^6$ par gramme de sol sec) dans les sols non rhizosphériques et rhizosphériques des cultivars Aghamu et Takerbucht [RJ: racines jeunes; RA: racines âgées. Chaque valeur est la moyenne de quatre répétitions. Ecart-types pour n = 4 (quatre répétitions par dilution)]

| Lot | Sol non rhizosphérique | Sols rhizosphériques | | | | | |
|-----|------------------------|----------------------|------------|-------------|-----------|---------------|------------|
| | | Takerbucht | | Aghamu sain | | Aghamu malade | |
| | | RJ | RA | RJ | RA | RJ | RA |
| A | 0,32±0,06 | 1,74±0,67 | 11,60±5,10 | 7,54±0,33 | 14,0±2,10 | 5,14±1,12 | 7,60±1,50 |
| B | 0,64±0,10 | 1,65±0,32 | 5,63±0,77 | 1,91±0,61 | 1,28±0,19 | 3,50±0,35 | 3,03±0,65 |
| C | 0,51±0,04 | 3,47±0,43 | 4,63±0,50 | 2,70±0,54 | 0,84±0,21 | 5,53±1,71 | 3,25±0,11 |
| D | 0,96±0,05 | 2,36±0,45 | 5,91±1,84 | 3,38±0,52 | 4,30±0,77 | 7,80±2,74 | 6,30±1,46 |
| E | 0,25±0,14 | 2,60±0,38 | 1,77±0,18 | 1,39±0,63 | 1,10±0,22 | 10,0±2,00 | 11,40±2,20 |

2.1.2.- Endorhizosphère et pneumatodes

Les actinobactéries arrivent à coloniser l'intérieur des pointes racinaires (endorhizosphère) et des pneumatodes (tab. II).

La densité des actinobactéries est très variable en allant d'un lot à un autre. Cette variabilité fait qu'on ne peut déceler aucune différence entre AS, AM et TK.

Cependant, dans tous les cas, la densité des actinobactéries est nettement plus importante dans les pneumatodes (P) que dans l'endorhizosphère (ER), et ce, aussi bien pour AS et AM que pour TK.

Tableau II.- Densité des actinobactéries (CFU $\times 10^4$ par gramme de racines sèches) au niveau de l'endorhizosphère et des pneumatodes des cultivars Aghamu et Takerbucht [ER: endorhizosphère; P: pneumatodes; chaque valeur représente la moyenne de quatre répétitions; Ecart-types pour n = 4 (quatre répétitions par dilution)]

| Lot | Takerbucht | | Aghamu sain | | Aghamu malade | |
|-----|------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| | ER | P | ER | P | ER | P |
| A | 4,17 \pm 0,77 | 32,50 \pm 4,90 | 0,67 \pm 0,17 | 29,50 \pm 4,90 | 62,00 \pm 4,20 | 17,50 \pm 3,40 |
| B | 0,70 \pm 0,14 | 8,00 \pm 2,00 | 15,00 \pm 6,50 | 1,50 \pm 0,70 | 0,60 \pm 0,28 | 55,00 \pm 7,40 |
| C | 14,80 \pm 6,70 | 47,00 \pm 12,30 | 0,50 \pm 0,40 | 18,30 \pm 5,10 | 0,33 \pm 0,20 | 12,40 \pm 3,80 |
| D | 0,11 \pm 0,04 | 30,60 \pm 8,00 | 0,10 \pm 0,04 | 45,00 \pm 5,90 | 3,40 \pm 2,30 | 4,17 \pm 0,80 |
| E | 0,17 \pm 0,07 | 11,00 \pm 1,70 | 0,51 \pm 0,18 | 12,20 \pm 0,50 | 0,33 \pm 0,20 | 83,30 \pm 37,80 |

2.2.- Identification des actinobactéries

2.2.1.- Détermination des genres

Au total, 360 isolats d'actinobactéries ont été étudiés.

- 282 isolats (78,4%) possèdent un mycélium aérien (MA) qui produit de longues chaînes de spores non mobiles (droites à flexueuses, en crochets ou en boucles ou encore spiralées) portées par des sporophores et un mycélium du substrat (MS) non fragmenté. Leurs cellules contiennent l'isomère LL de l'acide diaminopimélique (DAP), de la glycine et des sucres comme le ribose, le glucose et le galactose. Les acides mycoliques sont absents. Ces caractéristiques permettent de rattacher ces isolats au genre *Streptomyces*.
- 58 isolats (16,7%) produisent un MA et un MS dont les filaments, très courts, se fragmentent en éléments non mobiles. Leurs cellules contiennent l'isomère LL de DAP, de la glycine, du ribose, du glucose et du galactose. Les acides mycoliques sont absents. Ces caractéristiques permettent de les rattacher au genre *Nocardioides*.
- 08 isolats (2,3%) ne produisent pas de MA. Le MS produit des spores isolées et non mobiles, sessiles ou portées par de courts sporophores. Leurs cellules contiennent l'isomère DL (*meso*) de DAP, de la glycine, du xylose et de l'arabinose. Les acides mycoliques sont absents. Ces isolats appartiennent au genre *Micromonospora*.
- 06 isolats (1,7%) produisent un MA qui se fragmente de manière anarchique en spores non mobiles. Le MS se fragmente à des degrés divers. Leurs cellules contiennent l'isomère DL de DAP (mais pas de glycine), ainsi que du rhamnose, du mannose et du galactose. Les acides mycoliques sont présents. Ces isolats appartiennent au genre *Saccharothrix*.
- 06 isolats (1,7%) produisent un MA et un MS dont les filaments se fragmentent en éléments non mobiles. Leurs cellules contiennent l'isomère DL (*meso*) de DAP (mais pas de glycine), de l'arabinose et du galactose. Les acides mycoliques sont présents. Ces isolats appartiennent au genre *Nocardia*.

2.2.2.- Détermination des espèces

Sur la base des critères macromorphologiques (couleur du MA, du MS et des pigments diffusibles) et micromorphologiques (production ou non de spores, arrangement et nombre de spores, chaînes de spores droites à flexueuses, ou bien en crochets et en boucles, ou encore en spirales), et sur la base des critères physiologiques (plusieurs tests), les actinobactéries ont été rapprochées de 42 espèces dont 35 espèces de *Streptomyces*, une de *Nocardioïdes* (*Nd. albus*), une de *Saccharothrix* (*Sx. mutabilis*), une de *Nocardia* (*N. asteroides*) et une de *Micromonospora* (*M. carbonacea*). Les espèces les plus importantes numériquement sont *Streptomyces chartreusis* (73 isolats) qui représente 25,9% des *Streptomyces* et 20,3% du total, *S. gannmycicus* (65 isolats; 23,1% des *Streptomyces*) et *Nocardioïdes albus* (58 isolats; 16% du total des actinobactéries).

2.3.- Distribution des actinobactéries dans la rhizosphère

2.3.1.- Distribution des genres

Les résultats sont présentés dans le tableau III. Les actinobactéries sont essentiellement représentées, au niveau de la rhizosphère, par les genres *Streptomyces* et *Nocardioïdes*. Les différences entre les cultivars sont notées surtout au niveau de l'endorhizosphère où nous remarquons une diminution nette du pourcentage de *Streptomyces* en allant de TK vers AS et AM et ce, au profit du genre *Nocardioïdes* avec un pourcentage particulièrement élevé dans AM. Le pourcentage de *Streptomyces* diminue aussi nettement dans AM (par rapport à AS et TK) au niveau des pneumatodes.

Tableau III.- Pourcentages des genres d'actinobactéries issues des sols non rhizosphériques et rhizosphériques, ainsi que de l'endorhizosphère et des pneumatodes des cultivars Takerbucht et Aghamu (RJ: racines jeunes; RA: racines âgées; ER: endorhizosphère; P: pneumatodes)

| Genres | Sol témoin | Takerbucht | | | | Rhizosphère Aghamu sain | | | | Aghamu malade | | | |
|------------------------|------------|------------|-----|----|----|-------------------------|----|----|------|---------------|----|----|----|
| | | RJ | ER | RA | P | RJ | ER | RA | P | RJ | ER | RA | P |
| <i>Streptomyces</i> | 83 | 93 | 87 | 91 | 88 | 90 | 68 | 83 | 87,5 | 72 | 30 | 93 | 46 |
| <i>Nocardioïdes</i> | 0 | 0 | 8,5 | 0 | 12 | 10 | 32 | 10 | 12,5 | 14 | 70 | 0 | 54 |
| Autres actinobactéries | 17 | 7 | 4,5 | 7 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 14 | 0 | 7 | 0 |

2.3.2.- Distribution des espèces

La distribution des espèces est donnée dans les tableaux IV et V. Nous remarquons que la grande majorité de ces espèces, retrouvées aussi bien dans les sols témoins qu'au niveau des sols racinaires de RJ et RA, appartient au genre *Streptomyces*.

L'espèce *S. gannmycicus* qui représente 20% des isolats déterminés, prédomine dans les sols de RA (46%) du cultivar Takerbucht et ne constitue que 14% dans les sols de RJ lesquels sont par contre caractérisés par une plus forte présence de *S. cyanocolor* et *S. naraensis* (42%) avec au total 51 isolats. Les espèces comme *S. chartreusis* (5 isolats) et *Nocardioïdes albus* (9 isolats) sont moins fréquentes.

Au niveau des sols de RJ du cultivar Aghamu sain, c'est l'espèce *S. cyanocolor* que l'on retrouve surtout (40%). Par contre dans les sols de RA, les espèces *S. gannmycicus* et *S. coeruleus* (29% pour les deux) sont les plus fréquentes. Le cultivar Aghamu malade se distingue par la dominance de *S. gannmycicus* dans RJ (42%) et *S. coeruleorubidus*, *S. naraensis* et à un degré moindre *S. gannmycicus*, dans RA (53% pour les trois).

Relativement peu d'espèces arrivent à coloniser l'intérieur des racines. L'espèce *S. chartreusis* est majoritaire dans l'endorhizosphère de TK (65%); le pourcentage de cette espèce baisse légèrement dans AS (50%) et fortement dans AM (8%). Pour TK et AS, *S. chartreusis* se retrouve dans 4 lots sur 5. Des résultats inverses sont obtenus pour l'espèce *Nd. albus*, laquelle représente 9% dans TK, 29% dans AS et 72% dans AM. A l'intérieur des pneumatodes, *S. chartreusis* prédomine nettement dans AS (79%) où elle se retrouve dans 4 lots sur 5 et moindre dans AM et TK (35%). Par contre *Nd. albus* reste majoritaire dans AM (54%) contre 12% pour TK et AS où elle est présente au niveau de 4 lots.

L'espèce *S. gannmycicus*, majoritaire dans les sols rhizosphériques, constitue 9 à 12% des isolats de ER (AS, AM et TK). Par contre, dans P, elle représente jusqu'à 24% dans TK et est absente dans AS et AM.

Les espèces *S. coeruleorubidus*, *S. cyaneogriseus*, *S. cyanocolor* et *S. naraensis*, assez fréquentes dans les sols racinaires, sont rares ou absentes dans ER et P.

Tableau IV.- Pourcentage des différentes espèces d'actinobactéries (dominantes ou non) au niveau des sols rhizosphériques ou non des cultivars Takerbucht et Aghamu (RJ: racines jeunes; RA: racines âgées. Le nombre d'isolats est donné entre parenthèses)

| Espèces d'actinobactéries | Sols témoins (40) | Takerbucht | | Aghamu sain | | Aghamu malade | |
|----------------------------------|-------------------|------------|---------|-------------|---------|---------------|---------|
| | | RJ (14) | RA (35) | RJ (10) | RA (30) | RJ (36) | RA (42) |
| Genre <i>Streptomyces</i> | | | | | | | |
| <i>S. gannmycicus</i> | 20 | 14,3 | 46 | 0 | 16,7 | 42 | 12 |
| <i>S. cyanocolor</i> | 7,5 | 21,4 | 2,7 | 40 | 3,3 | 5,5 | 9,5 |
| <i>S. griseorubens</i> | 7,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. coeruleorubidus</i> | 5 | 7 | 11,4 | 10 | 13,3 | 11,1 | 24 |
| <i>S. chartreusis</i> | 2,5 | 0 | 3 | 0 | 3,3 | 2,8 | 2,4 |
| <i>S. naraensis</i> | 2,5 | 21,4 | 0 | 0 | 0 | 2,8 | 16,7 |
| <i>S. cyaneogriseus</i> | 5 | 7 | 11,4 | 20 | 3,3 | 2,8 | 2,4 |
| <i>S. toxitricini</i> | 7,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Autres genres | | | | | | | |
| <i>Nocardioides albus</i> | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 | 14 | 0 |
| <i>Saccharothrix mutabilis</i> | 12,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,8 | 0 |
| <i>Nocardia asteroides</i> | 0 | 7 | 2,7 | 0 | 0 | 2,8 | 0 |
| <i>Micromonospora carbonacea</i> | 5 | 0 | 5,8 | 0 | 0 | 5,5 | 4,8 |

Tableau V.- Pourcentage des différentes espèces d'actinobactéries (dominantes ou non) au niveau de l'endorhizosphère et des pneumatodes des cultivars Takerbucht et Aghamu (ER: endorhizosphère; P: pneumatodes. Le nombre d'isolats est donné entre parenthèses.)

| Espèces d'actinobactéries | Takerbucht | | Aghamu sain | | Aghamu malade | |
|----------------------------------|------------|-----------|-------------|-----------|---------------|-----------|
| | ER (23) | P (42) | ER (22) | P (24) | ER (26) | P (26) |
| Genre <i>Streptomyces</i> | | | | | | |
| <i>S. chartreusis</i> | 65,2 | 35,7 | 50 | 79 | 11,5 | 35 |
| <i>S. gannmycicus</i> | 9 | 2,4 | 9 | 0 | 11,5 | 0 |
| <i>S. cyaneogriseus</i> | 4,4 | 0 | 9 | 0 | 7,7 | 0 |
| <i>S. naraensis</i> | 4,4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. bottropensis</i> | 0 | 7,2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. parvullus</i> | 0 | 7,2 | 0 | 4,2 | 0 | 0 |
| <i>S. diastatochromogenes</i> | 0 | 4,8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. coeruleorubidus</i> | 4,4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11,5 |
| <i>S. neyagawaensis</i> | 0 | 4,8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. tendae</i> | 0 | 4,8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. exfoliatus</i> | 0 | 0 | 0 | 4,2 | 0 | 0 |
| Autres genres | | | | | | |
| <i>Nocardioides albus</i> | 9 | 12 | 32 | 12,5 | 69,2 | 54 |
| <i>Nocardia asteroides</i> | 4,4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

2.4.- Pouvoir antagoniste des actinobactéries contre *F.o. albedinis*

Les résultats sont présentés dans le tableau VI. Au niveau des sols témoins et rhizosphériques, nous remarquons que le pourcentage total des actinobactéries inhibant *F. o. albedinis* est très élevé. Il atteint 53,7% dans le cas de RA chez AS. Il n'y a pas de différence significative entre les cultivars. Cependant, la majorité des actinobactéries antagonistes, provenant des sols témoins et rhizosphériques, a une forte action contre l'agent pathogène. Des écarts nets sont notés entre les cultivars, mais de manière différente selon le type de racines. En effet, au niveau des pneumatodes (P), le pourcentage des actinobactéries actives, relativement bas chez AM (31%), augmente sensiblement chez AS (37,5%) et nettement chez TK (50%). Dans le cas de ER, c'est le phénomène inverse que l'on observe: 37,5% chez TK et AS et seulement 20% chez AM. Cependant, toutes ces différences ne sont dues qu'à la présence d'actinobactéries faiblement à moyennement actives et qui sont dominantes. Les actinobactéries (de l'intérieur des racines) ayant une forte action contre *F. o. albedinis* sont rencontrées au niveau des pneumatodes de TK où elles représentent 50%. Il est à noter que les isolats présentant un antagonisme élevé appartiennent presque tous à l'espèce *Streptomyces chartreusis*, les autres (action faible à moyenne) appartiennent aux espèces *S. gannmycicus* et *S. coeruleorubidus*. En revanche, les espèces appartenant aux autres genres n'ont montré aucune activité antifongique.

3. - Discussion

Dans la parcelle d'étude, les densités des actinobactéries dans les sols non rhizosphériques sont relativement faibles. Ces densités sont cinq à dix fois plus faibles par rapport à celles obtenues par certains auteurs [13,8,33,34]. Ceci peut être en relation avec la nature de la matière organique et l'amendement hétérogène des sols, qui ont provoqué

une variabilité quantitative entre les lots étudiés, mais aussi la prolifération de bactéries non mycéliennes au détriment des actinobactéries mycéliennes.

Tableau VI.- Pourcentages d'actinobactéries antagonistes du *F. o. albedinis* [(RJ et RA: sols racinaires, racines jeunes et âgées respectivement; ER: endorhizosphère); P: pneumatode. Le nombre d'isolats est donné entre parenthèses. (*: Zone d'inhibition comprise entre 1 et 8 mm et disparaissant après 15 jours d'incubation, **: Zone d'inhibition comprise entre 9 et 15 mm et persistant après 15 jours d'incubation)]

| Activité des actinobactéries | Sol non rhizosphérique | Rhizosphère | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|------------------------|-------------|------------|------------|-----------|-------------|------------|------------|-----------|---------------|------------|------------|-----------|
| | | Takerbucht | | | | Aghamu sain | | | | Aghamu malade | | | |
| | (54) | RJ (33) | ER (24) | RA (50) | P (46) | RJ (11) | ER (24) | RA (41) | P (32) | RJ (47) | ER (25) | RA (54) | P (29) |
| Faible à moyenne* | 37 | 18,2 | 37,5 | 44 | 24 | 9,1 | 37,5 | 48,8 | 21,9 | 46,8 | 8 | 37 | 27,6 |
| Forte** | 3,7 | 6 | 0 | 4 | 26 | 9,1 | 0 | 4,9 | 15,6 | 2,1 | 12 | 7,4 | 3,4 |
| Total | 40,7 | 24,2 | 37,5 | 48 | 50 | 18,2 | 37,5 | 53,7 | 37,5 | 48,9 | 20 | 44,4 | 31 |

Les cultivars Aghamu et Takerbucht exercent un effet rhizosphérique positif sur les actinobactéries. Cet effet a déjà été signalé chez le palmier dattier dans les oasis algériennes [8,12,13] et aussi dans les palmeraies marocaines [10].

Au niveau des racines jeunes (sol rhizosphérique) le cultivar malade (AM) stimule plus les actinobactéries que le résistant (TK). Les densités obtenues au niveau du cultivar sensible sain (AS) sont peu différentes de celles de TK. Cette faible activité de Takerbucht semble être due à son génome qui, par l'intermédiaire des exsudats racinaires, contrôlerait la composition de la microflore tellurique, comme ceci a été signalé pour d'autres plantes [35,36,37,38]. Pour le palmier dattier, nos résultats peuvent être expliqués par ceux obtenus par BENNACEUR (1981) qui a constaté que les exsudats d'un cultivar sensible sont riches en glucides, protides, lipides et sels minéraux facilement assimilable, alors que le cultivar résistant se distingue par la sécrétion de substances telles des acides organiques et des composés phénoliques qui pourraient inhiber les microorganismes [5].

Au niveau des sols adhérant aux racines âgées, il n'y a pas de différence entre les deux cultivars, probablement en raison d'absence d'exsudats.

L'étude de la population actinobactérienne à l'intérieur des racines a montré que les pneumatodes sont beaucoup plus facilement colonisés que les pointes racinaires. L'anatomie de ces pneumatodes, étudiée par BELARBI-HALLI *et al.* (1983) et BELARBI-HALLI et MANGENOT (1986), a révélé une structure très lâche par rapport à celle des jeunes racines [16,15]. Cette structure permet une entrée relativement aisée de la microflore rhizosphérique et de l'agent pathogène. Cependant, dans les deux cas (endorhizosphère ou pneumatodes) aucune différence n'apparaît entre les cultivars Takerbucht et Aghamu, en raison surtout de la grande variabilité de la densité des germes observée entre les lots, et ce, pour un même cultivar.

La détermination des 360 souches d'actinobactéries a permis de les rattacher à 5 genres et de les rapprocher de 41 espèces. Les genres trouvés sont parmi les plus répandus dans les sols de par le monde [39], à l'exception de *Nocardioides*, plus rarement isolé [40]. SABAOU (1988) a répertorié 6 genres dans les sols non rhizosphériques de la palmeraie d'Adrar, à partir de 74 isolats étudiés [33]. Dans notre cas, le nombre relativement peu élevé de genres, compte tenu du nombre important d'isolats, peut s'expliquer par le choix

des colonies dirigé surtout vers celles qui sont les plus représentatives. La dominance très nette des *Streptomyces* (78,4% du total) et la quantité appréciable des *Nocardioïdes* (16%) peuvent être dues au fait qu'une grande partie des isolats provient des sols rhizosphériques, zone de compétition intense. En effet, dans les milieux de culture, la croissance des *Streptomyces* et des *Nocardioïdes* est beaucoup plus rapide que celle des autres actinobactéries, ce qui suppose donc un pouvoir compétitif plus élevé.

Les *Streptomyces* sont connus pour être les actinobactéries majoritaires dans les sols des régions tempérées et tropicales [37,41] ou des régions chaudes et désertiques [42,43] à l'exception des sols boueux plus riches en *Micromonospora* [44]. Dans les palmeraies algériennes, SABAOU (1988) a fait la même constatation au niveau des sols témoins et dans le système racinaire du palmier dattier [33].

Les espèces les plus représentatives sont *Streptomyces gannmicicus* et à un degré moindre *S. coeruleorubidus* qui prédominent au niveau des sols rhizosphériques du palmier et *S. chartreusis* et *Nocardioïdes albus*, à l'intérieur des pointes racinaires et des pneumatodes. Les trois espèces de *Streptomyces* n'ont jamais été signalées de par le monde comme étant majoritaires. *S. chartreusis* et *S. coeruleorubidus* sont isolées en faible quantité et *S. gannmicicus* est totalement absente dans les sols de plusieurs palmeraies [33]. *Nocardioïdes albus* est rarement retrouvée dans le monde sauf dans des conditions écologiques assez spéciales telles que dans des sédiments gypseux ou du kaolin préparé pour l'industrie céramique [38,40] ou dans des poches de sable situées à un mètre de profondeur, dans la palmeraie de Béni-Abbès [33].

L'espèce *S. gannmicicus* prédomine dans les sols adhérant aux racines âgées du cultivar résistant et pénètre en grande quantité dans les pneumatodes. La plupart des souches ont, en outre, montré une action antifongique contre *F. o. albedinis*. Cette espèce est plus rare chez le cultivar sensible. Si, comme l'a considéré BELARBI (1986), les pneumatodes constituent une porte ouverte au bayoud, *S. gannmicicus* pourrait jouer un certain rôle dans l'élimination de l'agent pathogène à ce niveau précis de la racine [45].

La déficience des racines jeunes de Takerbucht en souches de *S. gannmicicus* est comblée par la présence d'un nombre important d'isolats de *S. chartreusis* dans l'endorhizosphère dont la majorité est active contre *F. o. albedinis*. Par contre, le cultivar sensible sain et surtout le malade, sont plus riches en *Nd. albus* dont toutes les souches se sont montrées inaptes à inhiber le champignon. Donc, si les pointes racinaires représentent une voie de pénétration du *F. o. albedinis*, *S. chartreusis* pourrait, à ce niveau, jouer un rôle non négligeable en limitant la progression de cet agent pathogène.

Les résultats que nous avons obtenus ont donc apporté certaines informations sur la composition en genres et en espèces des actinobactéries au niveau du système racinaire du palmier. Certaines différences ont été décelées entre cultivars résistant et sensible (sain ou malade), particulièrement dans la distribution de certaines espèces dominantes. Il importe de connaître le rôle que peuvent avoir ces espèces sur l'expression de la fusariose vasculaire. De plus, en considérant les pourcentages d'actinobactéries fortement antagonistes du *F. o. albedinis*, une approche de lutte biologique (ou encore de lutte intégrée) est envisageable afin de limiter la maladie.

Dédicace

Le défunt MOUSTIRI Ahmed a été le principal artisan de ce travail, en collaboration avec les co-auteurs ci-dessus. Cette publication est dédiée à sa mémoire, lui qui a été une personne exceptionnelle de bonté et qui a été ravi très tôt à son entourage, qu'il repose en paix.

Références bibliographiques

- [1].- Brac de la Perrière R.A., Benkhalifa A., 1991.- Progression de la fusariose du palmier dattier en Algérie. *Sécheresse*, 2: 119-128.
- [2].- Sedra H., 2006.- Le Bayoud en Afrique du Nord: Extension, particularités de la variabilité génétique des souches de l'agent causal et nouveaux clones marocains du palmier prometteurs pour combattre la maladie. Conférence régionale «Mutagenèse induite et biotechnologies d'appui pour la protection du palmier dattier contre le bayoud».
- [3].- Sedra H., 2011.- Development of new Moroccan selected date palm varieties resistant to bayoud and of good fruit quality. In: Jain S.M., Al-Khayri J.M., Johnson D.V., eds. *Date Palm Biotechnology*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York: 13-531.
- [4].- Ali Haïmoud A., Chami M., Djellali N., Bounaga D., 1979.- Le palmier dattier et la fusariose. VI. Activité microbiologique de la rhizosphère de quelques variétés de palmier dattier (*Phoenix dactylifera*). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord*, 68: 3-36.
- [5].- Bennaceur M., 1981.- Sur la fusariose du palmier dattier : effets des exsudats racinaires sur le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Killian et Maire) Gordon. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle, Université de Montpellier, 78 p.
- [6].- Baaziz M., Mokhlisse N., Bendiab K., Koulla L., Aouad A., Hdadou H., Majourhat K., 1996.- Peroxidases as markers in date palm culture. In: Obinger C., Burner U., Ebermann R., Penel C., Greppin H., eds. *Plant peroxidases, biochemistry and physiology*. University of Agriculture, Vienna, and University of Geneva: 298-302.
- [7].- Azouaoui-Ait kettout T., Rahmania F., 2013.- Contribution à l'étude de l'activité toxique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal du bayoud. *Algerian Journal of Arid Environment*, 3: 68-81.
- [8].- Amir H., Bennaceur M., Laoufi Z., Amir A., Bounaga N., 1985.- Le palmier dattier et la fusariose. XIII. Contribution à l'étude de l'écologie microbienne du sol de 2 palmeraies sahariennes atteintes de bayoud. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, 22: 313-330.
- [9].- Rouhi R., 1989.- Contribution à l'étude de la mycoflore rhizosphérique du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) sur un sol infesté de bayoud. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle, Université de Marrakech, 176 p.

- [10].- Zaarati H., 1989.- Analyse de la mycoflore associée à la rhizosphère du palmier dattier indemne de bayoud et recherche de quelques antagonistes vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle, Faculté des sciences de Marrakech, 163 p.
- [11].- Lamari L., Sabaou N., 1993.- Etude comparative de la flore bactérienne de la rhizosphère de deux cultivars de palmier dattier sensible et résistant à la fusariose. Canadian Journal of Microbiology, 39: 874-881.
- [12].- Belarbi R., 1980.- Recherches sur la rhizosphère du palmier dattier *Phoenix dactylifera*. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle, Université de Nancy I, 158 p.
- [13].- Sabaou N., Amir H., Bounaga D., 1980.- Le palmier dattier et la fusariose. X.- Dénombrement des actinomycètes de la rhizosphère; leur antagonisme vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Annals of Phytopathology, 12: 253-257.
- [14].- Garber R. H., Houston B. R., 1966.- Penetration and development of *Verticillium albo atrum* in the cotton plant. Phytopathology, 56: 1121-1126.
- [15].- Belarbi-Halli R., Dexheimer J., Mangenot F., 1983.- Le pneumatode chez *Phoenix dactylifera*. I. Structure et ultrastructure. Canadian Journal of Botany, 61: 1367-1376.
- [16].- Belarbi-Halli R. et Mangenot F., 1986. - Bayoud disease of date palm: ultrastructure of root infection through pneumatodes. Canadian Journal of Botany, 64: 1703-1711.
- [17].- Rappilly F., 1968.- Techniques de mycologie en pathologie végétale. Annales des Epiphyties, 19, numéro hors série, 102 p.
- [18].- Lingappa Y., Lockwood J.L., 1962.- Chitin media for selective isolation and cultures of actinomycetes. Phytopathology, 52: 317-323.
- [19].- Shirling E.B., Gottlieb D., 1966.- Methods for characterization of *Streptomyces* species. International Journal of Systematic Bacteriology, 16: 313-340.
- [20].- Becker B., Lechevalier M.P., Gordon R.E., Lechevalier H.A., 1964.- Rapid differentiation between *Nocardia* and *Streptomyces* by paper chromatography of whole-cell hydrolysates. Applied Microbiology, 12: 421-423.
- [21].- Lechevalier M.P., Lechevalier H.A., 1970.- Composition of whole-cell hydrolysates as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. In: *The Actinomycetales*. H. Prauser Edition Gustav Fisher Verlag, Jena: 311-316.
- [22].- Minnikin D.E., Alshamaony L., Goodfellow M., 1975.- Differentiation of *Mycobacterium*, *Nocardia* and related taxa by thin-layer chromatographic analysis of whole-organism methanolysates. Journal of General Microbiology, 88: 200-204.
- [23].- Luedemann G.M., 1971.- Species concepts and criteria in the genus *Micromonospora*. Transactions of the New York Academy of Sciences, 33: 207-218.
- [24].- Gordon R.E., Barnett D.A., Handerhan J .E., Hor-Nay Pang C., 1974.- *Nocardia*

- coeliaca*, *Nocardia autotrophica* and the nocardin strains. International Journal of Systematic Bacteriology, 24: 54-63.
- [25].- Shirling E.B., Gottlieb D., 1968a.- Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. II. Species description from first study. International Journal of Systematic Bacteriology, 18: 69-189.
- [26].- Shirling E.B., Gottlieb D., 1968b.- Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. III. Additional species descriptions from first and second studies. International Journal of Systematic Bacteriology, 18: 279-392.
- [27].- Shirling E.B. et Gottlieb D., 1969.- Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. IV. Species description from the second, third and fourth studies. International Journal of Systematic Bacteriology, 19: 391-512.
- [28].- Shirling E.B., Gottlieb D., 1972.- Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. V. Additional descriptions. International Journal of Systematic Bacteriology, 22: 265-394.
- [29].- Nonomura H., 1974.- Key for classification and identification of 458 species of the Streptomycetes included in I.S.P. Journal of Fermentation Technology, 52: 78-92.
- [30].- Whitman W.B., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.J., Trujillo M.E., Ludwig W., Suzuki K.I., Parte A., . 2012.- The Actinobacteria. Bergey's manual of systematic bacteriology. vol. 5, 2nd Edition, Springer Publishing Company, New York: 435-437.
- [31].- Bouhot D., Rouxel F. 1971.- Technique sélective et quantitative d'analyse des *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* dans le sol. I. Mode d'emploi. Annals of Phytopathology, 3: 251-254.
- [32].- Booth C., 1971.- The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, kew surrey, 273 p.
- [33].- Sabaou N., 1988.- Contribution à l'étude des actinomycètes des sols des palmeraies algériennes: systématique et écologie. Thèse Doctorat d'Etat ès-sciences, USTHB, Alger, 202 p.
- [34].- Amir A., 1991.- Rôle des facteurs biotiques et abiotiques dans le déterminisme de la réceptivité de quelques sols de palmeraies algériennes aux fusarioses vasculaires. Thèse de Doctorat d'Etat ès-sciences, USTHB, Alger.
- [35].- Trolldenier, G., 1975.- Influence of some environmental factors on nitrogen fixation in the rhizosphere of rice. Processing, 2: 1-14.
- [36].- Basil A.J., Strap J.L., Knotek-Smith H.M., Crawford D.L., 2004.- Studies on the microbial populations of the rhizosphere of big sagebrush (*Artemisia tridentata*). Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 31: 278-288.
- [37].- Krafczyk L., Trolldenier G., Beringer H, 1984.- Soluble root exudates of maize: influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. Soil Biology and

Biochemistry, 16: 315-322.

- [38].- Prade K., Trolldenier G, 1990.- Denitrification in the rhizosphere of plants with inherently different aerenchyma formation: wheat (*Triticum aestivum*) and rice (*Oryza sativa*). *Biology and Fertility of Soils*, 9: 215-219.
- [39].- Araragi M., 1979.- Comparaison of actinomycete flora between tropical and temperate upland farm soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 25: 245-254.
- [40].- Prauser H., 1976.- *Nocardioides*, a new genus of the order *Actinomycetales*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 26: 58-65.
- [41].- Lechevalier H. A., Lechevalier M. P., 1967. - Biology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 21, 71 p.
- [42].- Dong D., Guichen C., Bochan W., 2013.- Culturable actinomycetes from desert ecosystem in northeast of Qinghai-Tibet Plateau. *Annals of Microbiology*, 63: 259-266.
- [43].- Elwan S. H., Diab A., Al Gounaim M. Y., 1985.- Ecology of streptomycetes flora in the desert soil of Kuwait. *Systematic and Applied Microbiology*, 6: 99-104.
- [44].- Cross T., 1981.- Aquatic actinomycetes: a critical survey of the occurrence, growth and role of actinomycetes in aquatic habitats. *Journal of Applied Bacteriology*, 50: 397-423.
- [45].- Belarbi R., 1986.- Ultrastructure du pneumatode, son rôle dans la fusariose du palmier dattier: relation hôte-parasite. Thèse Doctorat d'Etat, Université de Nancy, 216 p.