

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم: الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biologie Moléculaire des microorganismes*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Optimisation de la production de l'acide indole acétique
(AIA) par la souche *Streptomyces iakyrus***

Présenté par :

BENDJEMIL Amina
KRIKOU Imad

Le 28/06/2022

Jury d'évaluation:

Encadreur :	KITOUNI Mahmoud	Professeur - UFMC1
Examineur 1 :	BENHIZIA Y.	Professeur - UFMC1
Examineur 2 :	OULMI L.	MCB - UFMC1

**Année universitaire
2021 - 2022**

Remerciement

Nous tenons à remercier notre encadreur le Professeur Kitouni M. qui a bien voulu dirigé ce travail avec une grande patience et beaucoup de compétence et qui nous a ouvert son laboratoire et offert ses idées pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier aussi les examinateurs, le professeur Benhizia Yacine et Le docteur Oulmi Lamia d'avoir bien voulu examiner et noter notre mémoire.

Nos sincères remerciements vont également à Mme Oulmi pour son aide, ses conseils et sa gentillesse, il est rare de trouver des personnes aussi aimables et dévouées Madame.

Nous tenons à témoigner notre profonde gratitude envers tous les enseignants qui ont contribué, durant ces années, à notre formation et à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin.

Dédicace

Ce travail est dédié la mémoire de ma chère Mama, qui nous manque énormément Allah yarhamha.

Je dédie ce travail à mon cher papa qui m'a donnée du courage et de la patience tout au long de mes études

A ma chère sœur et mes chères frères et ma famille et A mes amies Enfin, un grand merci à tout personne qui contribué de loin ou de près pour arriver à ce jour.

IMED

Dédicace

A mon père,
ma mère,
mes sœurs,
et mon frère,

C'est grâce à vous, pour vous et avec vous que je fais tout dans la vie,
Vous êtes le monde pour moi.

Amina

Résumé

Notre étude a été réalisée sur une souche actinomycétale de la collection du laboratoire de génie microbiologique et application. La souche a été assignée à l'espèce *Streptomyces iakyrus*. Les objectifs du travail étaient l'étude des caractères morphologiques et culturels de la bactérie et sa capacité à produire l'acide indole acétique (AIA), hormone de croissance des plantes.

Sur les milieux de culture utilisés, la souche a montré un bon développement sur ISP2, Glucose Asparagine, DSMZ65 et Czapek DOX Agar, le milieu ISP7 a été le meilleur pour une bonne et rapide croissance, alors qu'il n'existait pas de croissance sur les milieux GELM ISP5, et ISP5 modifié. L'examen microscopique a permis de montrer le bon développement mycéliens des colonies sur le milieu Czapek Dox Agar et de déterminer grâce à la technique des lamelles la structure microscopique du mycélium du substrat et aérien après 7 et 21 jours d'incubation à 30° C. En effet, la souche présente de longs filaments, ramifiés, plus un moins enchevêtrés.

Pour tester la production de l'AIA, *Streptomyces iakyrus* est cultivé dans des milieux à différentes conditions physico-chimiques afin de trouver les conditions les plus favorables. Le dosage de l'AIA est réalisé après 30 min d'incubation en appliquant la méthode colorimétrique décrite par Brick et al. (1991) qui utilise le réactif de Salkowski. Nous avons trouvé que la souche est capable de produire l'acide indole acétique à différentes concentrations selon la composition du milieu de fermentation, la concentration du NaCl et le pH.

Mots clés : Actinobactéries, *Streptomyces iakyrus*, acide indole acétique (AIA).

Abstract

Our study was carried out on an actinomycetal strain from the collection of the microbiological engineering and application laboratory. The strain was assigned to the species “*Streptomyces iakyrus*”. The objectives of the work were the study of the morphological and cultural characters of the bacteria and its ability to produce indole acetic acid (IAA), a plant growth hormone.

On the culture media used, the strain showed good development on ISP2, Glucose Asparagine, DSMZ65 and Czapek DOX Agar, the ISP7 medium was the best for a good and rapid growth, while there was no growth on GELM, ISP5 and modified ISP5 media. The microscopic examination made it possible to show the good mycelial development of the colonies on the Czapek Dox Agar medium and to determine, using the coverslip technique, the microscopic structure of the substrate and aerial mycelium after 7 and 21 days of incubation at 30° C. In fact, the strain presents long, branched, more or less entangled filaments.

To test the production of AIA, *Streptomyces iakyrus* is cultured in media at different physico-chemical conditions in order to find the most favorable conditions. The AIA assay is carried out after 30 min of incubation by applying the colorimetric method described by Brick et al. (1991) which uses Salkowski's reagent. We found that the strain is able to produce indole acetic acid at different concentrations depending on the composition of the fermentation medium, the NaCl concentration and the pH.

Key words: Actinobacteria, *Streptomyces iakyrus*, indole acetic acid (IAA).

الملخص

تمت دراستنا حول سلالة من الأكتينومييسات من مجموعة مخبر الهندسة الميكروبيولوجية والتطبيقية حيث صنفت هذه الأخيرة من نوع *Streptomyces iakyrus* ، إن الهدف من هذا العمل هو دراسة الخصائص المورفولوجية والزراعية للبكتيريا واختبار إنتاج حمض الإندول الأستيك (AIA) ، الذي يحفز نمو النباتات . أظهرت السلالة تطورا جيدا في وسائط الزرع المستخدمة ISP2, Glucose Asparagine, DSMZ65, Czapek Dox Agar ، بينما كان الوسط ISP7 هو الأفضل للنمو والبلوغ الجيد، أما على الأوساط الزراعية ISP5, GELM, ISP5 Modifie لاحظنا غياب كلي لنمو البكتيريا. أظهر الفحص المجهرى تطور جيد للمستعمرات على الوسط الزراعي Czapek Dox Agar وقد تم تحديد التركيب المجهرى للفطريات الهوائية باستخدام تقنية الشريحة بعد 7 و 21 يوما من الحضارة على 30 درجة مئوية. في الواقع السلالة لها خيوط طويلة متفرعة ومتشابكة إلى حد ما. أظهرت السلالة القدرة على تصنيع الهرمون النباتي AIA تحت ظروف فيزيوكيميائية مختلفة حيث تم اجراء اختبار إنتاج هذا الهرمون عن طريق طريقة القياس اللوني التي وصفها (1991) Brick et al. والتي تستخدم كاشف Salkowski ، وجدنا أن السلالة قادرة إنتاج حامض الإندول الخلوي بمختلف التراكيز، ومن هذا نتوصل إلى أن الظروف الفيزيائية والكيميائية لها تأثير على القدرة الإنتاجية بواسطة سلالة *Streptomyces iakyrus*.

الكلمات المفتاحية: الاكتينومييسات, *Streptomyces iakyrus* ، حمض الإندول الأستيك .

Liste des tableaux

Tableau N° 1 : La composition des différents milieux de culture pour les fermentations	18
Tableau N° 2 : Caractères cultureux de la souche « Streptomyces iakyrus » sur les différents milieux de culture	20
Tableau N° 3 : Caractères microscopiques de la souche « Streptomyces iakyrus » après 7 et 21 jours d'incubation.....	23
Tableau N° 4 : Caractères cultureux sur milieu liquide après 6 jours d'incubation.. ..	25

Liste des Figures

Figure N° 1: Distribution des sites d'Actinobactéries les plus explorés en Algérie. 1: Alger, 2: Tizi Ouzou, 3: Béjaia, 4: Jijel, 5: Annaba, 6: El Taref, 7: Constantine, 8: Djelfa, 9: Biskra, 10: Khenchela, 11: Laghouat, 12: El Oued, 13: Ouargla, 14: Ghardaia, 15: Bechar, 16: Adrar, et 17: Tamanrasset.....	06
Figure N° 2: Caractéristiques morphologiques des chaines de spores de différents genres d'Actinobactéries.....	10
Figure N° 3 : structure chimique de l'acide indole 3-acétique (simon, 2020)....	14
Figure N° 4 : biosynthèse d'AIA (Quittenden 2009).....	15
Figure N° 5 : La voie de biosynthèse de l'AIA à partir de tryptophane par quelques souches de <i>Streptomyces</i> et les voies de transformation des drivés d'indole en AIA (Manulis et al.,1994).....	15
Figure N° 6 : Courbe d'étalonnage de l'AIA (Monita et al., 2014).....	19
Figure N° 7 : Culture de la souche « <i>Streptomyces iakyrus</i> » sur milieu ISP7 après 7 jours	21
Figure N° 8 : Culture de l'espèce sur milieu glucose-asparagine après 7 jours.....	21
Figure N° 9: Culture de l'espèce sur milieu ISP 7 après 21 jours.....	22
Figure N° 10 : Culture de l'espèce sur milieu ISP 2 après 21 jours.....	22
Figure N° 11 : Culture de l'espèce sur milieu Czapek-Dox-Agar après 21 jours ...	22
Figure N° 12 : Culture de l'espèce sur milieu DSMZ 65 après 21 jours.....	22
Figure N° 13 : Observation microscopique du mycélium du substrat sur milieu Czapek Dox Agar après après : A: 7 jours, B: 21 jours d'incubation.....	24
Figure N° 14 : Observation microscopique du mycélium aérien sur milieu Czapak- Dox Agar après : A: 7 jours, B: 21 jours d'incubation.....	24
Figure N° 15: Observation microscopique des spores sur milieu Czapak- Dox Agar après : A: 7 jours, B: 21 jours d'incubation.....	24
Figure N° 16 : Cultures sur milieu liquide après 5 jours d'incubation.....	25
Figure N° 17: Filaments du mycélium au fond du milieu M3	25
Figure N° 18 : Production d'AIA après 24 H d'incubation.....	26
Figure N° 19: Histogramme représentant les valeurs des concentrations d'AIA en µg/ml dans les différents milieux de fermentation après 30 mn d'incubation.....	26
Figure N° 20 : Histogrammes représentant les concentrations d'AIA (µg/ml) en fonction des valeurs des sources de carbone.....	27
Figure N° 21 : Histogrammes représentant les concentrations d'AIA (µg/ml) en fonction des valeurs des sources d'azote	28
Figure N° 22 : Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction des valeurs du NaCl (%).....	28
Figure N° 23 : Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction des valeurs du pH...../.....	29
Figure N° 24 : Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction des valeurs du tryptophane (mg/l) et du Mg SO4 (g/l).....	24

Liste des Abréviations

GC%	Coefficient de Chargaff
ANI	Identité nucléotidique moyenne
NGS	Séquençage de nouvelle génération
DAP	Acide 2,6-diaminopimélique
AIA	Acide indole acétique
PGPR	Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes
UFC	unité formant colonie
ARNr 16S	Acide ribonucléique ribosomique
MLSA	Multilocus séquence analysis
ADN	Acide désoxyribonucléique
DGGE	Denaturing gradient gel electrophoresis
RAPD	Random amplified polymorphic DNA
PCR	Polymerase Chain Réaction
DSMZ 65	Gym <i>Streptomyces</i> Medium.65

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Introduction 1

Revue bibliographique

1. Définition et propriétés générales des actinobactéries.....	4
2. Ecologie et habitat	4
2.1. Au niveau du sol.....	4
2.2. Au niveau de l'eau.....	5
2.3. Au niveau des végétaux	5
2.4. Chez l'homme et l'animal.....	5
3. Classification des actinobactéries	6
4. Critères d'identification des actinobactéries	8
4.1. Critères morphologiques.....	8
4.2. Critères chimiotaxonomiques.....	11
4.3. Critères génotypiques	12
5. Application et intérêt en biotechnologie	12
6. Acide Indole acétique.....	13
6.1. Définition.....	14
6.2. Structure chimique.....	14
6.3. Biosynthèse	14
6.4. Mode d'action	15
6.5. Application et intérêt des AIA	15
Matériel et méthodes	17
1. Le matériel biologique	17
2. Etude morphologique	17
2.1. Etude macroscopique	17
2.2. Etude microscopique	17
3. Production de l'Acide Indole Acétique (AIA).....	18
3.1. Préparation de l'inoculum.....	18
3.2. Test de productivité	18
3.3. Dosage de l'AIA	18
Résultats et discussion	20

1. Etude morphologique	20
1.1. Etude macroscopique	20
1.2. Etude microscopique	23
1.2. Aspect de croissance dans les milieux de fermentation	25
2.2. Détermination des concentrations d'AIA.....	26
2.3. Effet de la composition du milieu de culture sur la production d'AIA.....	27
2.3.1. Effet des sources de carbone sur la production de l'AIA.....	27
2.3.2. Effet des sources d'azote sur la production d'AIA	28
2.3.3. Effet de la concentration en NaCl sur la production de l'AIA.....	29
2.3.4. L'effet du pH sur la production de l'AIA	29
2.3.5. Effet des autres composants	30
Conclusion.....	31
Références bibliographiques.....	33
Annexes.....	1
Conclusion.....	34
Références bibliographique.....	36
Annexe	

Introduction

Depuis 2014, date à laquelle le monde s'est engagé à éliminer la faim, l'insécurité alimentaire et toutes les formes de malnutrition d'ici 2030 dans le cadre du programme de développement durable de l'ONU, la prévalence mondiale de l'insécurité alimentaire (évaluée par l'échelle d'expérience de l'insécurité alimentaire) ne cesse d'augmenter ; en effet, l'augmentation estimée en 2020 était équivalente aux cinq années précédentes combinées.

En 2020, environ un tiers de la population mondiale (2,37 milliards) manquait de nourriture appropriée, soit une augmentation de près de 320 millions de personnes en un an seulement. Parmi eux, 720 à 811 millions de personnes étaient confrontées à la faim soit jusqu'à 161 millions de plus qu'en 2019, dont plus de la moitié se trouve en Asie (418 millions) et plus d'un tiers en Afrique (282 millions), (FAO, 2021).

A l'instar des pays en voie de développement, l'Algérie, grand importateur des produits agro-alimentaires notamment les céréales, le sucre, la poudre de lait et l'huile, est au cœur des menaces de faim et de malnutrition.

Selon le Sommet mondial sur l'alimentation à Rome en 1996: « La sécurité alimentaire aux niveaux individuel, familial, national, régional et mondial, existe lorsque tous les êtres humains ont, à tout moment, un accès physique et économique à une nourriture suffisante, saine et nutritive leur permettant de satisfaire leurs besoins énergétiques et leurs préférences alimentaires pour mener une vie saine et active ». Il y a quatre dimensions de la sécurité alimentaire (FAO, 2008) : La disponibilité alimentaire, l'accès à la nourriture, l'utilisation de la nourriture et la stabilité dans le temps.

Par ailleurs, les principaux facteurs de risque de l'insécurité alimentaire sont : le réchauffement climatique avec tous ce qui s'en suit des phénomènes météorologiques violents, l'évolution des précipitations et la pénurie d'eau...etc qui peuvent avoir des effets délétères sur l'ensemble de la chaîne alimentaire ; les conflits armés affectant négativement tous les aspects du système alimentaire et les facteurs économiques qui ont un impact négatif sur l'accès à l'alimentation. D'autres facteurs contribuent à la création de l'insécurité tels que : la dégradation des sols (bétonnage, monoculture, agriculture intensive), les maladies des cultures agricoles, la dépendance aux énergies fossiles et les épidémies (l'Ebola a mis 1,3 million de personnes dans une situation d'insécurité alimentaire dans la région de l'Afrique de l'ouest, la Covid 19 pourrait augmenter le nombre de personnes confrontées à la faim en 2030 de 30 millions de plus).

Avec une population mondiale de 9,8 milliards de personnes prévue d'ici 2050, la demande alimentaire devrait augmenter de 56 %. Ceci est confronté à la réduction de la production alimentaire et certains aspects de la qualité des aliments. En effet, les rendements de nombreuses cultures devraient diminuer en raison des effets de la concurrence accrue des mauvaises herbes et des ravageurs sur les plantes cultivées, en plus des conséquences de la pollution chimique (pesticides, herbicides), de la déforestation, des pratiques agricoles et des systèmes de distribution alimentaire. La production du bétail et des produits de la mer devrait également chuter et les prix devraient augmenter.

Dans de telles situations, les gens se tournent vers des aliments pauvres en nutriments mais riches en calories, avec des conséquences allant de la malnutrition à l'obésité et jusqu'à la faim. Aussi, la valeur nutritionnelle de certains aliments devrait diminuer. Un CO₂ atmosphérique élevé est associé à une diminution de la concentration d'azote dans les plantes, et donc à une diminution des protéines dans de nombreuses cultures, telles que l'orge, le sorgho et le soja. La teneur en nutriments des cultures tels que le calcium, le fer, le zinc, les vitamines et les sucres devrait également diminuer (CDC, 2022).

Ainsi, en gardant les mêmes stratégies et les mêmes politiques nationales et mondiales, et en tenant compte des conséquences de la Covid 19 et de la guerre d'Ukraine, la faim ne sera pas éradiquée en 2030 et pourrait toucher environ 660 millions de personnes (FAO, 2021), d'où la nécessité de changer de direction en matière de sécurité alimentaire.

Plusieurs solutions sont proposées par différentes agences et organisations internationales pour accroître la productivité agricole et réduire l'insécurité alimentaire, parmi elles on cite :

- Stimuler la science et la technologie pour augmenter les rendements agricoles.
- Assurer une gouvernance plus inclusive des terres et de l'eau.
- Renforcer la résilience climatique dans tous les systèmes alimentaires.
- Intervenir le long des chaînes d'approvisionnement alimentaire pour réduire le coût des aliments nutritifs.
- Lutter contre la pauvreté et les inégalités structurelles.
- Modifier le comportement des consommateurs afin de promouvoir des habitudes alimentaires bénéfiques sur la santé humaine et l'environnement.

C'est sur le premier point que vient le rôle des chercheurs et des universitaires pour trouver des alternatives biologiques aux engrais chimiques responsables d'effets indésirables.

Au cours de ce présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la production de l'acide indole acétique (AIA), l'un des principales phytohormones de la famille des auxines. Il s'agit d'une hormone de croissance des végétaux, inductrice de la division cellulaire, de l'élongation et du développement des fruits. L'AIA, ainsi que la plupart des autres auxines, sont également connus pour agir de concert avec, ou en opposition avec d'autres hormones végétales. Par exemple, le rapport de l'auxine à la cytokinine dans certains tissus végétaux détermine l'initiation des bourgeons racinaires par rapport aux bourgeons des pousses.

La synthèse de l'acide indole acétique est produite par les plantes (en particulier dans les très jeunes feuilles), mais aussi par les microorganismes, parmi lesquels de nombreuses bactéries du sol, phytopathogènes (*Agrobacterium* ou *Pseudomonas*) où il interfère avec le métabolisme des hormones de la plante infectée et conduit à la formation de tumeurs, ou non (*Rhizobium*, *Azospirillum*).

Parmi les Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR), bactéries qui existent naturellement dans le sol et colonisent les racines des plantes promouvant leur croissance, les actinobactéries constituent le type de bactéries le plus fréquent et le plus productif. Elles constituent 10^4 à 10^7 UFC par gramme de sol et elles ont la capacité de produire des molécules à activités biologiques variées (environ 10000 métabolites secondaires bioactifs soit 45% de tous les métabolites microbiens bioactifs découverts) (Berdy, 2005), essentiellement les antibiotiques, des antiviraux, des agents anti tumoraux, des inhibiteurs d'enzymes, des insecticides...

L'objectif de ce travail est l'étude des caractères morphologiques de la souche actinomycétale « *Streptomyces iakyrus* » et sa capacité de production de l'acide indole acétique. La partie théorique est scindée en 2 chapitres : le premier décrira la physiologie et le rôle des actinobactéries, et le deuxième étudiera la synthèse et l'utilisation de l'AIA. La partie expérimentale comprendra toutes les étapes faites au laboratoire pour la production de l'AIA.

Partie bibliographique

1. Définition et propriétés générales des actinobactéries

Le phylum *Actinobacteria* représente l'une des plus grandes unités taxonomiques parmi les 18 lignées majeures actuellement reconnues au sein du domaine Bactéria.

Anciennement appelés « actinomycètes », dérivé des mots grecs pour rayon (aktis ou aktin) et champignons (mukes), les actinobactéries étaient considérés comme des champignons à cause de leur structure filamenteuse ; en effet, nombreuses d'entre elles forment un mycélium, et nombre de ces actinomycètes mycéliens se reproduisent par sporulation. Cette ressemblance est probablement due à l'adaptation au même habitat (Mukesh et al., 2014) ; Cependant, elle n'est que superficielle, les actinobactéries ont une paroi cellulaire mince, un chromosome structuré dans un nucléoïde procaryote et sont sensibles aux médicaments antibactériens (Barka et al., 2016).

Les actinobactéries sont ubiquitaires et constituent l'un des groupes de bactéries les plus diversifiés dans la nature où elles répondent l'odeur "terreuse" du sol. Ce sont des bactéries Gram positif avec un coefficient C +G% élevé variant entre 50 à 70%.

Le genre *Streptomyces* est le plus grand et le plus important genre des actinobactéries, il représente à lui seul près de 5 % des ~16 000 espèces bactériennes décrites (Lewin et al., 2016), notamment dans le sol où il joue un rôle majeur dans le cycle du carbone piégé dans les débris organiques insolubles en particulier des plantes et des champignons ; il présente une propagation phylogénétique assez large et produit une multitude étonnante de métabolites secondaires bioactifs présentant un grand intérêt pour la médecine et l'industrie.

2. Ecologie et habitat

2.1. Au niveau du sol

Le sol reste l'habitat le plus important pour les actinobactéries qui représentent 10 à 50 % de la communauté microbienne totale. Ils sont moins dominants que les bactéries et plus dominants que les champignons. Leur nombre est très variable dans différents types de sols, allant de 10^5 à 10^8 g/l dans les zones tempérées, et de 10^2 à 10^3 par gramme de poids sec de sol gorgé d'eau, anaérobie et acide. Leur présence est maximale dans les premiers centimètres du sol et diminue avec la profondeur. Les actinomycètes les plus abondants dans le sol sont *Streptomyces* spp. (> 95%); d'autres genres peuvent être trouvés : *Nocardia*, *Micromonospora*, *Actinomadura*, *Thermoactinomyces*, *Microbispora*, *Thermomonospora*, *Microellobosporia*, *Actinoplanes*,

Streptosporangium, *Pseudonocardia*, *Micropolyspora*, *Mycobacterium*. (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

On les trouve également en plus grande abondance en tant que constituants de la litière, de l'humus, du fumier, le compost végétal, mais aussi dans les fumiers, les produits alimentaires, les surfaces rocheuses et dans l'air (Goodfellow et Williams, 1983).

2.2. Au niveau de l'eau

Dans les eaux douces, les actinomycètes sont généralement plus nombreux dans les ruisseaux et les rivières que dans les lacs et les réservoirs. Les genres les plus fréquents sont : *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces* et *Thermoactinomyces*. Ils transforment l'eau potable en une eau désagréable, en développant un goût et une odeur de terre ou de moisi par plusieurs composés volatils notamment la géosmine (Silini, 2012).

Des actinomycètes ont été trouvés dans de nombreux habitats marins, notamment des sédiments marins, des estuaires, des poissons, des mollusques, des mangroves et des algues; mais également dans des sources chaudes, et des lacs de cratère telles que : *Actinoplanes*, *Microbispora*, *Micromonospora*, *Micropolyspora*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Streptoverticillium* et *Thermoactinomycete*, (Goodfellow et Williams, 1983).

2.3. Au niveau des végétaux

Les actinobactéries sont abondantes dans la rhizosphère. Les actinomycètes endophytes tels que *Nocardiopsis*, *Actinoplanes* spp. et *Micromonospora* sont connus pour améliorer la santé des plantes.

Peu d'espèces sont phytopathogènes, l'exemple le plus étudié est *Streptomyces scabies*, responsable de la gale de la pomme de terre (Lindholm, 1997).

2.4. Chez l'homme et l'animal

Les actinobactéries anaérobies appartenant aux genres *Actinomyces*, *Arachnia* et groupes voisins font partie de la flore endogène de Veillon, et ne sont pas présents dans le sol, les eaux minières et les sources thermales (Oulmi, 2014).

Certaines actinobactéries aérobies sont responsables de graves infections humaines, notamment : *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Actinomadura*, *Dermatophilus*, *Gordonia*, *Nocardia*, *Nocardiopsis*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*,

Tsukamurella, et dans une moindre mesure, *Amycolata*, *Amycolatopsis*, *Micromonospora*, *Saccharopolyspora*, *Saccharomonospora*, et *Thermoactinomyces*.

Chez les animaux domestiques et sauvages, le genre *Nocardia* (*N. brasiliensis*, *N. crassostreae*) peuvent causer également des maladies mortelles.

En Algérie, en raison de la grande superficie et la diversité climatique, plusieurs souches d'actinobactéries ont été isolées de différents écosystèmes, y compris les plantes sahariennes, les grottes, les eaux usées, les sédiments fluviaux, les zones hypersalines, le sol du désert saharien et les algues dérivées. Les sites d'échantillonnage les plus étudiés pour l'isolement des actinobactéries sont répertoriés dans la figure 1 (Djinni et al., 2019).

Par la suite, un grand nombre de nouvelles espèces ont été découvertes, principalement issues de l'écosystème saharien. Le nombre d'espèces nouvelles dans les écosystèmes algériens a augmenté au cours des dernières années, avec la découverte de six nouvelles espèces entre 2012 et 2013, pour atteindre un pic de 20 nouvelles espèces et un genre entre 2014 et 2017.

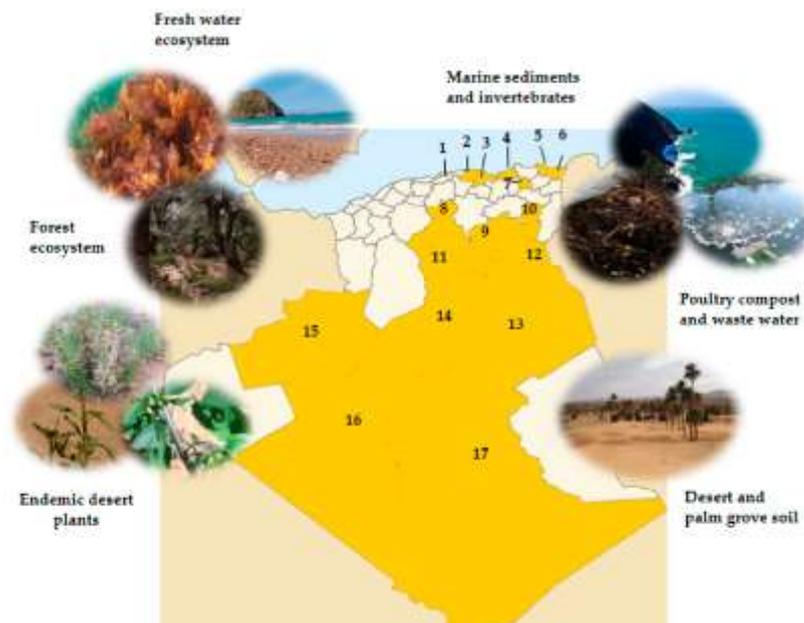


Figure 1: Distribution des sites d'Actinobactéries les plus explorés en Algérie. 1: Alger, 2: Tizi Ouzou, 3: Béjaïa, 4: Jijel, 5: Annaba, 6: El Taref, 7: Constantine, 8: Djelfa, 9: Biskra, 10: Khenchela, 11: Laghouat, 12: El Oued, 13: Ouargla, 14: Ghardaïa, 15: Bechar, 16: Adrar, and 17: Tamarasset.

3. Classification des actinobactéries

La classification des procaryotes est actuellement basée sur la taxonomie polyphasique qui comprend des caractéristiques phénotypiques (la morphologie, les

caractéristiques antigéniques, la plage de croissance, la production métabolique, la pathogénèse et l'écologie), chimiotaxonomiques et génotypiques (Schleifer, 2009).

L'utilisation de cette approche polyphasique a amélioré la résolution taxonomique du phylum Actinobacteria ; cependant, le gène de l'ARNr 16S et les caractéristiques phénotypiques ne sont pas toujours suffisants pour la description de nouvelles espèces. En effet, les variations de nucléotides dans plusieurs opérons d'ARNr et le transfert horizontal de gènes d'ARNr 16S ont tendance à avoir des relations relativement instables entre les taxons dans les arbres phylogénétiques (Mohammadipanah and Dehghani, 2017). Par exemple, le statut taxonomique du genre *Kitasatospora* au sein de la famille *Streptomycetaceae* a été contesté pendant de nombreuses années ; une relation étroite similaire existe entre *Micromonospora*, *Verrucospora* et *Salinispora* (Barka et al., 2016).

Pour cela, d'autres marqueurs moléculaires ont été utilisés pour construire des arbres phylogénétiques et discriminer les genres étroitement apparentés tels que *rpoB* et plus récemment, *ssgB* (Barka et al., 2016). Aussi, les séquences complètes du génome des bactéries ont fourni des informations précises sur la systématique bactérienne. Plusieurs indices génétiques ont été utilisés pour l'analyse taxonomique, notamment le DDH, l'identité nucléotidique moyenne (ANI) et le typage de séquence multilocus (MLSA). De plus, le séquençage de nouvelle génération (NGS) accélère l'accumulation de données sur les séquences bactériennes et améliore la résolution de la parenté entre les taxons (Mohammadipanah and Dehghani, 2017).

Selon la Seconde Edition du Volume Five de "Bergey's manual of Systematic Bacteriology", les actinobactéries sont classées par des analyses des gènes d'ARNr 16S et 23S, la présence d'insertions et de délétions conservées dans certaines protéines et des réarrangements de gènes caractéristiques. Dans cette édition, les rangs taxonomiques des sous-classes et des sous-ordres ont été élevés aux rangs des classes et des ordres réduisant le nombre de subdivisions dans les rangs de 6 à 4. Les taxons définis dans les tomes précédents n'ont été unifiés, disséqués ou transférés qu'en cas de fort support phylogénétique apportant ainsi des modifications conservatrices dans le but de rendre la taxonomie des "Actinobactéries" plus cohérente et faciliter les comparaisons entre les phylums.

Ainsi, le phylum « *Actinobacteria* » est divisé en six classes : *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria* et *Thermoleophilia*. La classe *Actinobacteria* contient 16 ordres y compris « *Actinomycetales* » limité aux

membres de la famille des *Actinomycetaceae* et *Bifidobacteriales*; en outre, 43 familles sont classées dans la classe Actinobacteria, alors que les cinq autres classes ne contiennent que 10 familles.

4. Critères d'identification des actinobactéries

4.1. Critères morphologiques

Les actinobactéries présentent des morphologies variées : des cocci chez *Micrococcus*, des bâtonnets chez *Mycobacterium*, ainsi que des formes d'hyphes fragmentées chez *Nocardia spp.* et également des formes avec des mycéliums ramifiés chez *Streptomyces spp.*, *Frankia*. Les rhodocoques forment des filaments allongés sur le substrat et ne produisent pas de véritable mycélium, tandis que les corynébactéries ne produisent pas du tout de mycélium.

De plus, la morphologie cellulaire peut différer selon le stade du cycle biologique et selon les conditions de culture, les *acidothermaceae* poussent sous forme de filaments minces lorsque la source de carbone est le glucose ou le cellobiose, et sous forme de bâtonnets courts lorsque la source de carbone est la cellulose ou le xylane (Hamedi and Poorinmohammad, 2017).

- Le mycélium

Les actinobactéries mycéliennes ont un cycle de vie complexe et forment généralement deux types de mycéliums : végétatif ou de substrat et aérien.

Le mycélium du substrat se développe dans les cultures submergées et solides, à partir de l'excroissance d'une spore en germination qui pousse à la surface du milieu de culture pour absorber les nutriments. Sa ramification est souvent monopodiale, rarement dichotomique chez les *Thermoactinomyces*.

Sur les surfaces solides, beaucoup se différencient pour former des hyphes aériens, dont le but principal est de produire des spores reproductrices. Ils sont enfermés dans une fine gaine qui n'existe pas dans le mycélium du substrat (Hamedi and Poorinmohammad, 2017).

Ces structures peuvent produire des pigments responsables des couleurs des mycéliums du substrat et aériens et qui peuvent également être utilisés pour l'identification des actinobactéries.

Certains genres produisent un seul type de mycélium ; par exemple, *Sporichthya sp.* produit de courtes chaînes de mycélium aérien mais aucune formation de mycélium de substrat. La famille des Micromonosporaceae développe un mycélium de substrat

étendu et des hyphes aériens rudimentaires ou absents. D'autres taxons ne produisent pas de mycélium aérien tels que *Kineosporia*, *Rhodococci* certaines Mycobactéries, ainsi que le genre *Intrasporangium* et *Tsukamurella spumae* (Rosenberg et al. 2014).

- Les spores et les formes de résistance

Les actinobactéries forment des cellules non végétatives résistantes afin de survivre dans les conditions défavorables. Différentes formes de résistance sont observées telles que les endospores principalement dans les bacilles et les clostridies, les exospores qui se forment à l'extérieur, les kystes d'*Azotobacter*, les formes au repos chez les *Arthrobacter* et les conidies impliquées dans la réplication et la survie.

Les spores peuvent se former sur le mycélium du substrat (*Micromonospora*, *Micropolyspora* et *Thermoactinomycètes*) et/ou aérien (*Streptomyces*), elles peuvent être hébergées dans des vésicules spéciales appelées sporanges (*Frankia*), dotées de flagelles et mobiles (*Actinoplanes* et *Actinosynnema*, *Sporichthya*, *Ampullariella*, *Spirillospora*, etc).

La forme des spores d'actinobactéries est souvent sphérique, mais elle peut être cuboïde chez *Chainia*, ovale chez *Actinomadura* ou claviforme chez *Dactylosporangium* (Figure 2). Elles peuvent avoir des surfaces lisses, rugueuses ou verruqueuses, épineuses et poilues. De plus, les spores matures présentent des couleurs différentes: blanc, rose, gris, bleu, etc.

Le nombre de spores par chaîne varie considérablement allant de spores isolées chez *Micromonospora*, *Salinispora*, *Thermomonospora*, *Saccharomonospora* et *Promicromonospora*; des bispores chez *Microbispora*; de courtes chaînes chez *Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Sporichthya* et certaines *Nocardia spp.*, ou de très longues chaînes jusqu'à 100 spores chez *Streptomyces*, *Nocardioïdes*, *Kitasatospora*, *Streptovercillium* et certaines *Nocardia spp.* Ces chaînes peuvent être classées comme étant droites à flexueuses (Rectus-Flexibilis), en boucles ouvertes (Relinaculam-Apertum), en spirales ouvertes ou fermées (spira) ou verticillées. (Rosenberg et al., 2014).

Les endospores sont extrêmement résistantes à la chaleur (> 100° C), aux produits chimiques (Acides, bases, alcool, chloroforme), à la dessiccation et au rayonnement en raison de leur concentration élevée en protéines spécifiques protégeant l'ADN ainsi que la déshydratation du cytoplasme et l'imperméabilité de l'enveloppe des endospores (Hamedi et Poorinmohammad, 2017).

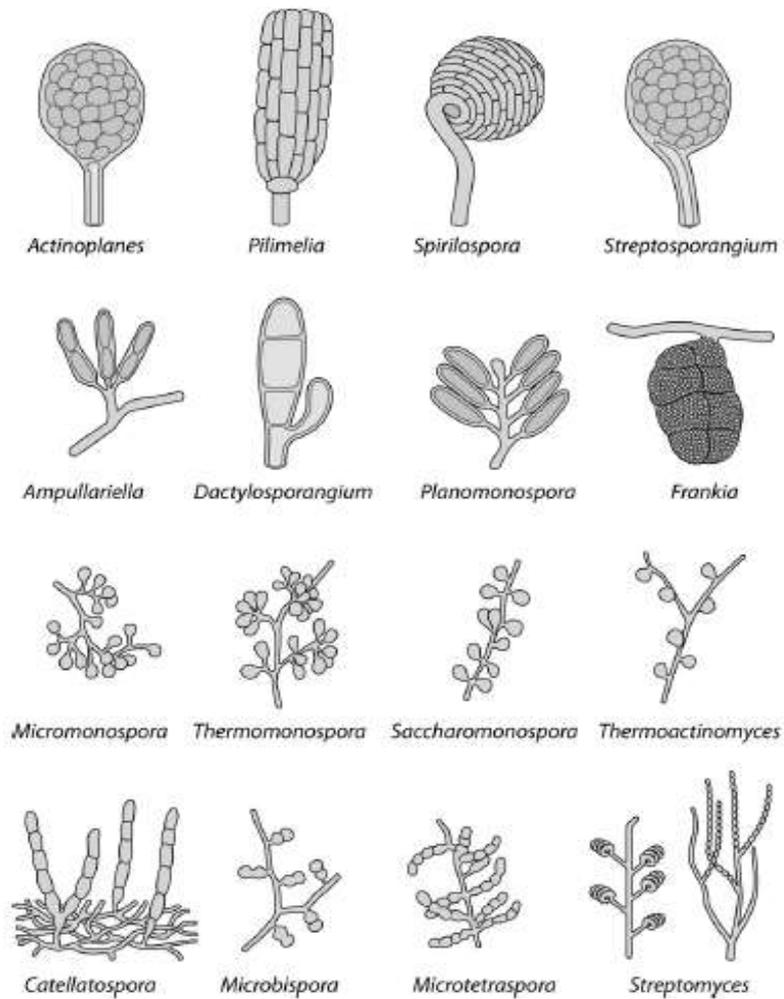


Figure 2: Caractéristiques morphologiques des chaînes de spores de différents genres d'Actinobactéries

Les espèces d'*Azotobacter* forment des kystes qui ne peuvent résister qu'à la dessiccation et à certains produits chimiques mais pas à la température élevée. Le genre *Arthrobacter* forme des cellules au repos ressemblant à des kystes avec un métabolisme extrêmement réduit dans des environnements défavorables.

Enfin, il existe d'autres structures reproductrices moins étudiées, telles que les hyphes cylindriques qui portent des chaînes de conidies appelées synnemata (*Actinosynnema*) et des sclérotés (*Streptomyces*, *Chainia*), ou des vésicules dépourvues de spores (Intrasporangium).

- Les pigments mélanoïdes

Les actinobactéries produisent des pigments qui peuvent être rouges, jaunes, oranges, roses, brunâtres, brun verdâtre, bleus ou noirs, selon la souche, le milieu utilisé et l'âge de la culture.

Appelés mélanines ou pigments mélanoïdes, ces polymères métaboliques brun-noir formées par la polymérisation oxydative de composés phénoliques et indoliques sont importants non seulement dans les études taxonomiques, mais également en raison de leur similitude avec les substances humiques du sol. Elles jouent un rôle crucial dans l'amélioration de la survie et la compétitivité des organismes (Barka et al., 2016).

4.2. Critères chimiotauxonomiques

La chimiotauxonomie est l'étude des composants chimiques des cellules qui sont utilisés dans la classification des micro-organismes. Les composants chimiques les plus utilisés dans les études de chimiotauxonomie sont les acides aminés de la paroi cellulaire, les acides gras, les ménaquinones, les sucres et le rapport des bases d'ADN.

– Acides aminés

Le peptidoglycane des actinobactéries peut contenir selon le genre, soit LL- soit DL-(méso)-DAP, qui sont des isomères optiques spécifiques de l'acide aminé chiral non protéinogène acide 2,6-diaminopimélique (DAP) (Kitouni, 2007).

– **Glucides** : Les sucres ont pu être détectés sur la base de cinq groupes:

- Le groupe A comprend les espèces (*Nocardia*, *Saccharopolyspora*) dont les parois cellulaires contiennent de l'arabinose et du galactose ;
- Les parois cellulaires du groupe B (*Actinomadura*, *Streptosporangium*) contiennent du madurose (3-O-méthyl-D-galactose);
- Le groupe C (*streptomyces*) comprend ceux qui n'ont pas de sucres;
- Les parois cellulaires du groupe D (*Actinoplanes*, *Micromonospora*) contiennent de l'arabinose et du xylose;
- Le groupe E contient du galactose et du rhamnose.

De plus, la présence de 3-O-méthyl-rhamnose chez *Catellatospora* et de tyvelose chez les agromyces a été précieux pour la classification de certains taxons d'actinomycètes (Barka et al., 2016).

– Acides gras

Les différences de longueur de chaîne carbonée, la présence d'acides gras saturés et insaturés, de groupes méthyle, de cyclopropane et d'acides gras hydroxylés sont toutes considérées comme des valeurs taxonomiques.

Les acides gras bactériens ont une longueur de chaîne allant de deux à plus de 90 atomes de carbone, mais seuls ceux compris entre C10 et C24 ont une valeur taxonomique particulière. Trois grands types de profils d'acides gras ont été identifiés

chez les actinobactéries. La présence d'acides mycoliques est caractéristique des genres tels que *Nocardia*, *Mycobacterium* et *Rhodococcus*.

4.3. Critères génotypiques

La taille de chromosome des actinomycètes est de 3 Méga daltons, l'ADN est riche en guanine et cytosine (CG% : 60 à 70%), le principal support de l'information génétique est le chromosome circulaire souvent présent en multiples copies. Les plasmides ont une taille de 4 à 200 kb et sont au nombre de 1 à 300 (Chelli, 2010). Les actinobactéries sont génétiquement instables, avec des taux de mutations élevés, liées à des réarrangements du génome notamment au niveau de la partie terminale du chromosome. Les gènes de résistance aux antibiotiques sont souvent associés aux gènes de structure (Boudemagh, 2007).

Actuellement, la taxonomie moléculaire s'est imposée comme un outil incontournable dans la classification des actinobactéries grâce aux progrès rapides du séquençage du génome. Les principales analyses moléculaires utilisées pour la détermination des espèces sont le séquençage de l'ADN ribosomal 16S et l'hybridation ADN-ADN et même le séquençage du génome qui devient une routine; en effet, le séquençage du génome a résolu un débat de longue date sur la relation de *Kitasatospora* avec le genre *Streptomyces* et a démontré de manière concluante qu'il s'agit en fait d'un genre distinct (Barka et al., 2020).

Aussi, il existe d'autres méthodes d'analyses moléculaires dites « techniques d'empreintes génétiques ou encore de « fingerprint », telle que la DGGE, RAPD, l'AFLP, la rep-PCR et la BOX. Elles sont utilisées dans le génotypage où elles permettent de façon rapide et hautement discriminante de caractériser et comparer des souches entre elles. Ces analyses moléculaires reposent sur une réaction de polymérase en chaîne (PCR), utilisant soit des amorces universelles bactéries, soit des amorces spécifiques des Actinobacteria.

5. Application et intérêt en biotechnologie

Les actinobactéries sont d'une grande importance dans le domaine de la biotechnologie, en tant que producteurs d'un arsenal de métabolites secondaires bioactifs avec de nombreuses applications industrielles, médicales et agricoles. En particulier, les actinobactéries produisent la majorité des antibiotiques naturels: les aminoglycosides (néomycine, kanamycine, streptomycine), B-lactamines

(céphamycine), acide clavulanique, chloramphenicol, glycopeptides (vancomycine, teichoplanine), lipopeptides (daptomycine), lantibiotiques (mersacidine, actagardine), macrolides (clarythromycine, érythromycine, tylosine, clarithromycine), oxazolidinones (cyclosérine), streptogramines (streptogramine) et tétracyclines (Barka et al, 2016).

Outre les antibiotiques, les actinobactéries produisent également une grande variété d'autres médicaments ayant une activité antifongique, anti-helminthique, des antitumoraux ou immunosuppresseurs, ainsi que des produits tels que les enzymes (la glucose-isomérase, la pénicillinase, la cellulose et l'hémicellulose), les acides aminés (l'isoleucine), les herbicides, les vitamines, les pigments, des larvicides et des tensioactifs, qui sont d'une grande valeur commerciale (Anandan *et al.*, 2016).

Les actinomycètes sont responsables d'une grande partie de la digestion des glucides résistants tels que la chitine et la cellulose. Plusieurs actinomycètes et autres actinobactéries sont reconnus comme dégradeurs de matières toxiques et sont utilisés en bioremédiation.

Aussi, elles sécrètent une variété de produits naturels (phytohormones) qui aident à la récupération des éléments nutritifs des plantes et à la défense contre les bactéries et les champignons pathogènes (van Bergeijk et al., 2020).

6. Acide Indole acétique

Les hormones sont des molécules de signalisation, synthétisées par un organisme et agissant à faible concentration. Elles régulent la physiologie, le développement et les réponses de cet organisme face aux différents stress biotiques et abiotiques.

Les phytohormones sont des substances régulatrices de la croissance végétale, composées de neuf familles (Simon, 2020), dont la plus importante est celle des auxines.

Les auxines sont un groupe d'anneau indole composés qui ont la capacité d'améliorer la croissance des plantes en stimulant la germination des graines, l'initiation des racines, l'élongation cellulaire et la croissance des plantules (Parul et al., 2007).

6.1. Définition

L'acide indole acétique (AIA) est la principale hormone de la classe des auxines biologiquement active pour la croissance végétative (Bishnu et al., 2021, Nutaratat et al., 2016). Il est produit par les bactéries comme *Streptomyces violaceus* et *Streptomyces exfoliatus* (Manulis et al., 1994). Elle est issue du métabolisme du-L-Tryptophane chez de nombreux microorganismes, bactéries (Muller et al., 1989). L'acide indole-3-acétique (AIA) pourrait agir comme un régulateur endogène de la germination des spores chez *Streptomyces atroolivaceus* et pourrait être impliqué dans la différenciation des actinomycètes (Manulis et al., 1994).

6.2. Structure chimique

L'AIA se trouve sous forme conjuguée ce qui empêche sa dégradation (Cherif, 2014). Il est synthétisé à partir d'un noyau indole et se présente sous forme conjugué en association avec des sucres, des acides aminés ou des protéines, grâce à des liaisons ester ou amides (Figure 3). Sous cette forme, l'auxine est inactive: la conjugaison est donc un mécanisme d'appoint permettant de réguler la concentration de l'auxine active dans la cellule (Herrbach, 2013).



Figure 3: structure chimique de l'acide indole 3-acétique (simon, 2020)

6.3. Biosynthèse

La synthèse d'AIA par des microorganismes implique une de ces trois voies (Figure 4):

- La première voie: la formation d'acide indole acétique par l'intermédiaire de l'acide indole-3-pyruvique et l'acide-3-indolacétaldéhyde.
- La deuxième voie: la conversion du tryptophane en acide 3-acide indole acétaldéhyde (Figure 5) peut constituer une voie alternative dans laquelle la tryptamine est formée (Khan et al., 2014).
- La troisième voie est la biosynthèse de l'AIA par la formation de l'indol-3-acétamide, signalée chez divers espèces de *Streptomyces* (Manulis et al., 1994).

- Il existe également une voie de biosynthèse à partir du précurseur indole, sans passer par l'étape du tryptophane (Herrbach.2013).

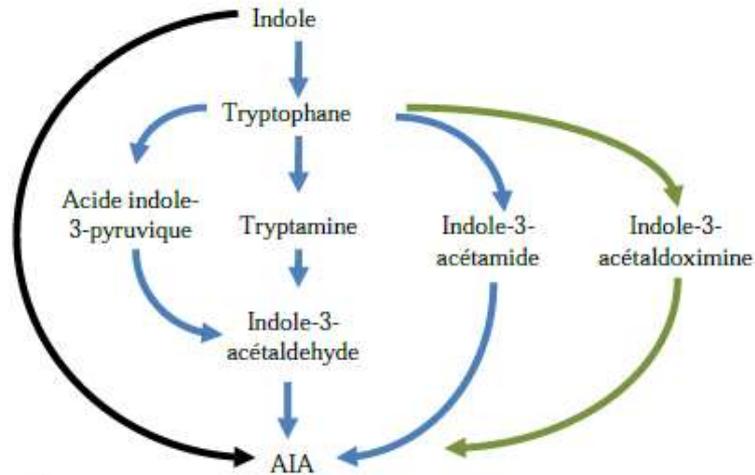


Figure 4: biosynthèse d'AIA (Quittenden 2009).

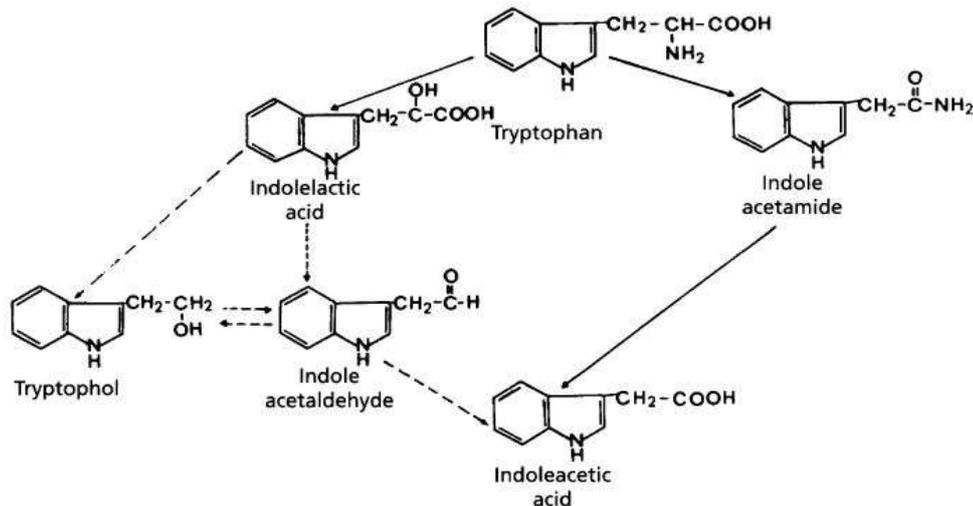


Figure 5: La voie de biosynthèse de l'AIA à partir de tryptophane par quelques souches de streptomyces et les voies de transformation des dérivés d'indol en AIA (Manulis et al.,1994).

6.4. Mode d'action

L'action de l'auxine dépend à la fois de sa concentration et du tissu sur lequel elle agit. Selon les plantes, une même concentration sur un même organe peut entraîner des conséquences différentes, ceci implique une régulation très fine en amont et en aval de l'auxine. L'action de l'auxine est donc dépendante de sa présence et sa concentration dans la cellule, son transport, sa perception et la régulation de gènes cibles (Herrbach, 2013).

6.5. Application et intérêt des AIA

L'auxine est une phytohormone indispensable au développement des plantes, et agit sur l'élongation et la division cellulaire. Ses rôles sont nombreux, sur la dominance apical, la formation des fruits, la floraison, la réponse à l'environnement, le

développement des organes, et particulièrement des racines et les racines latérales (Herrbach.2013), ainsi que sur la différenciation des tissus vasculaires, la production d'éthylène, l'initiation racinaire (Keyeo et al., 2011). Chez de nombreuses espèces de *Streptomyces* l'AIA stimule la formation de mycélium et améliore également la production des antibiotiques (Ameur, 2014).

L'analyse du rôle de l'AIA montre que les bactéries utilisent cette phytohormone pour établir des interaction avec les plantes dans le cadre de leur stratégie de colonisation notamment la phytostimulation et l'intervention dans les mécanismes de base de défense des plantes (Ryan et al., 2008). Une partie de l'AIA est repris par la plante qui s'ajoute à l'AIA endogène de la plante pour stimuler la prolifération cellulaire des plantes et l'allongement racinaire (Ahmad et al., 2005).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de Génie Microbiologique et applications au niveau du bio-pôle situé à « Chaab Erssas », Université Frères Mentouri - Constantine 1, sous la direction du Pr. M. Kitouni.

1. Le matériel biologique

Nous avons utilisé dans ce travail la souche actinomycétale «*Streptomyces iakyrus*» de la collection du laboratoire, conservée à - 18 °C sur le milieu ISP 5 additionné de NaCl à 5 % et le glycérol (V/V). La revivification de la souche a été effectuée sur milieu Glucose-Asparagine.

2. Etude morphologique

2.1. Etude macroscopique

L'identification des caractères culturels est effectuée sur les milieux : ISP 2, ISP 5, ISP 5 modifié, ISP 7, DSMZ 65, glucose-asparagine, GELM et Czapek – Dox – Agar, que nous avons préparé et stérilisé à 121 °C pendant 20 min (voir annexe). Les milieux sont ensemencés par des stries serrées, puis incubés à 30 °C et observés après 7 et 21 jours.

2.2. Etude microscopique

L'observation microscopique des mycéliums du substrat, aérien et des spores est réalisée selon la technique des lamelles décrite par Williams et Cross en 1971. Elle consiste en l'insertion oblique de 45 degrés d'une lamelle stérile dans les milieux gélosés ; dans notre cas, dans les milieux ISP 2, ISP 5, ISP 5 modifié, DSMZ 65, GELM et Czapek – Dox – Agar. Le milieu est ensemencé à l'intersection lamelle-gélose. Après incubation à 30°C, une lamelle est retirée après 7 et 21 jours de chaque milieu et est déposée soigneusement sur une lame stérile.

Après coloration au bleu de méthylène, on observe au microscope optique à immersion (G×100).

3. Production de l'Acide Indole Acétique (AIA)

3.1. Préparation de l'inoculum

Nous avons raclé la surface des colonies cultivées sur le milieu Glucose – Asparagine et le milieu ISP 7 afin de récupérer le maximum des spores et des mycéliums, puis nous les avons mis dans 40 ml d'eau physiologique.

3.2. Test de productivité

La capacité de production de l'acide indole acétique par la souche actinomycétale est testée sur 12 milieux de culture liquide. Pour cela 50 ml de chaque milieu de culture constitué du milieu de base (Annexe) additionné de différents constituants sont introduites dans chaque flacon (Tableau). Les milieux sont inoculés avec 2 ml de suspension sporale de 0,233 de densité optique à 660 nm. Les flacons, sont ensuite incubés à 30 °C pendant 5 jours.

Tableau 1. La composition des différents milieux de culture pour les fermentations.

Milieux	Epluchures de pomme de terre (g/l)	NaNO ₃ (g/l)	Extrait de levure (g/l)	Peptone (g/l)	Trypto Phane (mg/l)	MgSO ₄ (g/l)	NaCl (%)	pH
M1	20	0	10	1	10	1	5	7
M2	20	3	1	10	5	1	10	7
M3	00	3	10	1	5	1	10	7
M4	20	0	10	10	5	0	10	9
M5	20	3	1	10	10	0	5	7
M6	20	3	10	1	5	0	5	9
M7	00	3	10	10	10	1	5	9
M8	00	0	10	10	10	0	10	7
M9	00	0	1	10	5	1	5	9
M10	20	0	1	1	10	1	10	9
M11	00	3	1	1	10	0	10	9
M12	00	0	1	1	5	0	5	7

3.3. Dosage de l'AIA

La concentration de l'AIA est déterminée par la méthode colorimétrique décrite par Brick *et al.* 1991 à l'aide du réactif de Salkowski (Annexe). 4 ml de ce réactif sont ajoutés à 2 ml des filtrats récupérés à partir des milieux filtrés par le papier Watman, ensuite les tubes sont mis à l'obscurité pendant 30 min et 24 H. La coloration rose rouge indique la présence de l'AIA.

La densité optique des 12 tubes est mesurée au spectrophotomètre à $\lambda=530$ nm. Les quantités d'AIA produites sont déterminées à l'aide de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage d'AIA (Monita *et al.*, 2014) (figure 6).

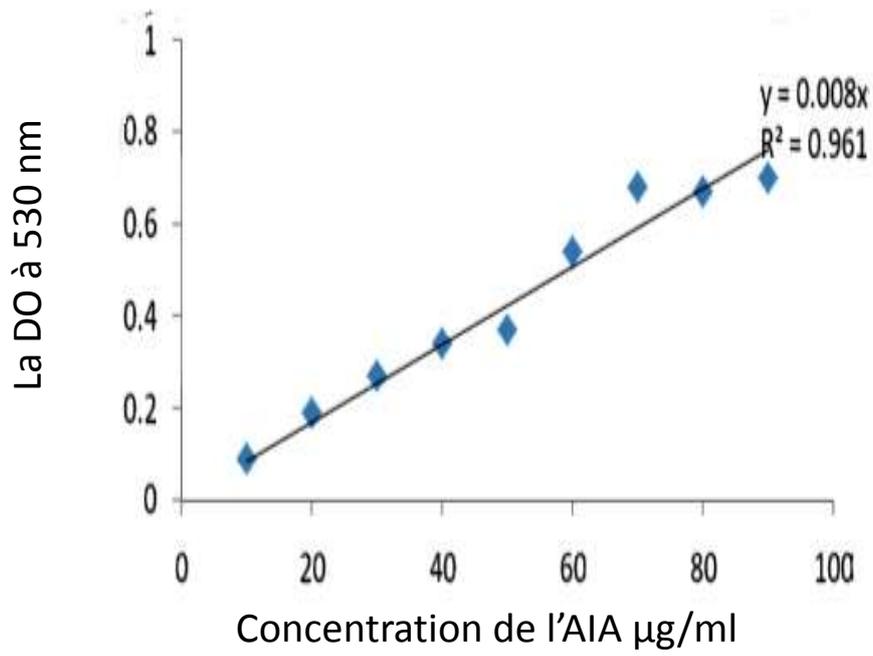


Figure 6. Courbe d'étalonnage de l'AIA (Monita *et al.*, 2014)

Résultats et discussions

Résultats et discussion

1. Etude morphologique

1. Etude morphologique

1.1. Etude macroscopique

La souche croît sur tous les milieux de culture utilisés à des degrés de croissance différents : La croissance est rapide sur le milieu ISP 7 et Glucose-Asparagine, lente sur les milieux ISP 2, DSMZ 65 et Czapek Dox Agar. Cette croissance diffère aussi par : la taille des colonies, l'aspect et la couleur du mycélium, la masse sporale et la présence de pigments diffusibles (Tableau 2).

Tableau 2. Caractères cultureux de la souche « *Streptomyces iakyrus* » sur les différents milieux de culture.

Milieu de culture	Age	Croissance	Mycélium du substrat	Mycélium aérien	Masse sporale	Pigments diffusibles
Glu-Asp	7 jours	+	Jaunâtre	Blanchâtre	+	-
ISP 7	7 jours	++	Noir	Blanchâtre	++	-
	21 jours	++	Marron noirâtre	Blanchâtre	++	-
ISP 2	7 jours	+/-	-	-	-	-
	21 jours	+	Orange	Blanchâtre	+	-
ISP5	7 jours	-	-	-	-	-
	21 jours	-	-	-	-	-
ISP 5 modifié	7 jours	-	-	-	-	-
	21 jours	-	-	-	-	-
DSMZ 65	7 jours	+/-	-	-	-	-
	21 jours	++	Marron	Blanchâtre	+	-
GELM	7 jours	-	-	-	-	-
	21 jours	-	-	-	-	-
Czapek Dox Agar	7 jours	+/-	-	-	-	-
	21 jours	++	Gris	Blanchâtre	++	-

- absence de croissance, +/- faible croissance, + croissance moyenne, ++ très bonne croissance.

Après 7 jours d'incubation, une bonne croissance est observée au niveau du milieu ISP7, les colonies sont rondes, opaques, de 1 à 3 mm de taille, à contours réguliers et une surface blanchâtre poudreuse sèche. Elles sont plates et non incrustées dans la gélose (figure 7).



Figure 7. Culture de la souche « *Streptomyces iakyrus* » sur milieu ISP7 après 7 jours.

Au niveau du milieu Glucose-Asparagine et après 7 jours d'incubation, les colonies sont petites, de 1 à 2 mm de taille, rondes, plates et à contour régulier.

Par contre, au niveau des milieux ISP 2, DSMZ 65 et Czapek Dox Agar, la croissance est faible et de très petites colonies sont apparues.



Figure 8. Culture de la souche sur milieu glucose-asparagine après 7 jours.

A J21, les colonies sont devenues plus grandes de 2 à 4 mm de taille sur le milieu ISP 7, elles sont toujours rondes, plates, opaques, à contours réguliers et de consistance sèche (Figure 9).



Figure 9. Culture de la souche sur milieu ISP 7 après 21 jours.

Sur le milieu ISP 2, les colonies sont rondes, bombées, de 4 à 6 mm de diamètre, à bords ondulés et de consistance sèche.

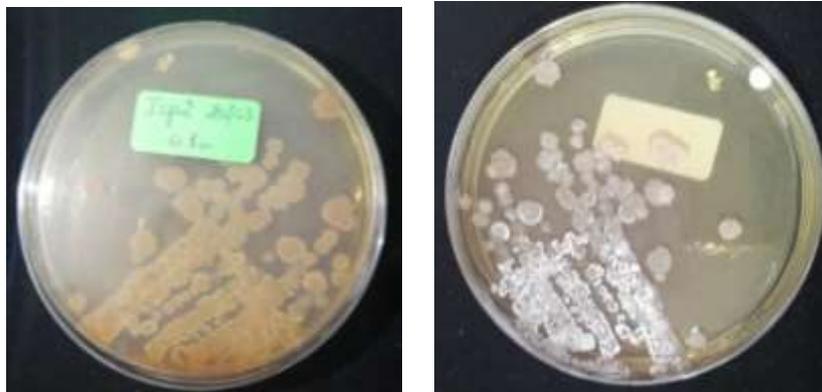


Figure 10. Culture de la souche sur milieu ISP 2 après 21 jours.

Sur le milieu Czapek Dox Agar, les colonies sont circulaires, soulevées, de 5 à 7 mm de diamètre, lobés et de consistance sèche.



Figure 11. Culture de la souche sur milieu Czapek-Dox-Agar après 21 jours.

Sur DSMZ 65, les colonies sont circulaires, soulevées, de 5 à 6 mm de diamètre, à bords irréguliers et de consistance crémeuse.



Figure 12. Culture de la souche sur milieu DSMZ 65 après 21 jours.

1.2. Etude microscopique

Après 7 jours d'incubation, le mycélium de substrat de la souche « *Streptomyces iakyrus* » sur le milieu Czapek Dox Agar est peu ramifié et +/- épais ; après 21 jours, il est devenu ramifié, fin, long, enchevêtré et porte des spores (Figure 13).

Pour le mycélium aérien, il est formé de filaments peu ramifiés ramifié, +/- épais après 7 jours d'incubation, et est devenu Ramifié, fin, peu fragmenté et porte des spores après 21 jours (Figure 14).

Les spores sont ovoïdes et isolées après 7 jours, organisées en chaînes après 21 jours (Figure 15), ceci est conforme à la description théorique (Shirling et Gottlieb, 1972).

Par contre, il y a une absence totale de croissance sur les autres milieux.

Tableau 3. Caractères microscopiques de la souche « *Streptomyces iakyrus* » après 7 et 21 jours d'incubation.

Milieu de culture	Durée d'incubation	Mycélium du substrat	Mycélium aérien	Spores	Pigments diffusibles
ISP 2	7 jours	-	-	-	-
	21 jours	-	-	-	-
ISP5	7 jours	-	-	-	-
	21 jours	-	-	-	-
ISP 5 modifié	7 jours	-	-	-	-
	21 jours	-	-	-	-
DSMZ 65	7 jours	-	-	-	-
	21 jours	-	-	-	-
GELM	7 jours	-	-	-	-

	21 jours	-	-	-	-
Czapek Dox Agar	7 jours	Peu ramifié, +/- épais.	Peu ramifié, +/- épais.	Ovoïdes, isolées.	-
	21 jours	Ramifié, fin, long, enchevêtré et porte des spores.	Ramifié, fin, peu fragmenté et porte des spores.	Ovoïdes, isolées ou organisées en chaîne.	-

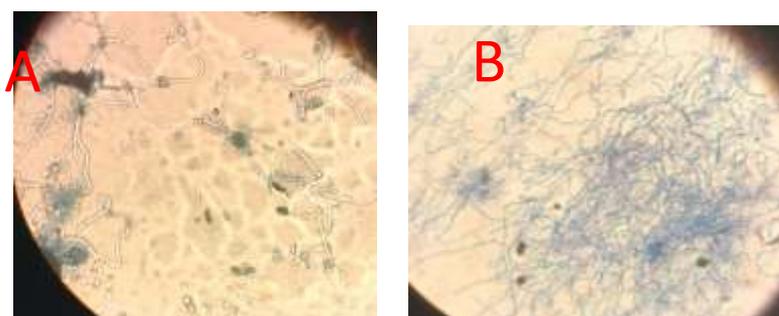


Figure 13. Observation microscopique du mycélium du substrat sur milieu Czapek Dox Agar après : A: 7 jours, B: 21 jours d'incubation.

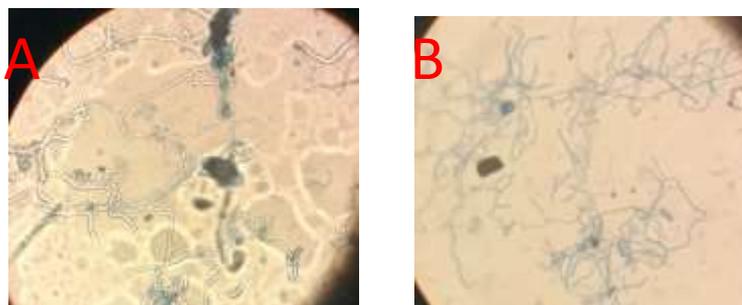


Figure 14. Observation microscopique du mycélium aérien sur milieu Czapek Dox Agar après : A: 7 jours, B: 21 jours d'incubation.

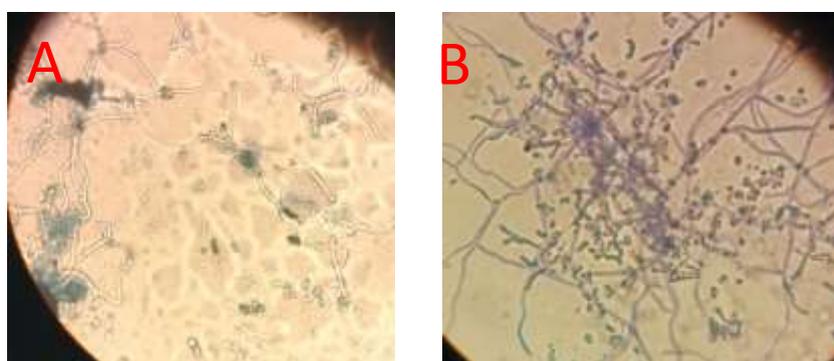


Figure 15. Observation microscopique des spores sur milieu Czapek Dox Agar après : A: 7 jours, B: 21 jours d'incubation.

2. Production de l'acide indole acétique

1.2. Aspect de croissance dans les milieux de fermentation

Après 6 jours d'incubation, la croissance de la souche dans les milieux liquide se produit sous forme d'un trouble, les caractères des cultures sont rapportés dans le tableau 4.

Tableau 4. Caractères culturaux sur milieu liquide après 6 jours d'incubation.

Milieu de culture	Caractéristiques
M1	Trouble, présence de pellètes
M2	Trouble, présence de pellètes
M3	Trouble, avec présence des filaments
M4	Trouble, présence de pellètes
M5	Trouble, présence de pellètes
M6	Trouble, présence de pellètes
M7	Trouble
M8	Trouble
M9	Trouble
M10	Trouble, présence de pellètes
M11	Trouble, dépôt au fond
M12	Trouble

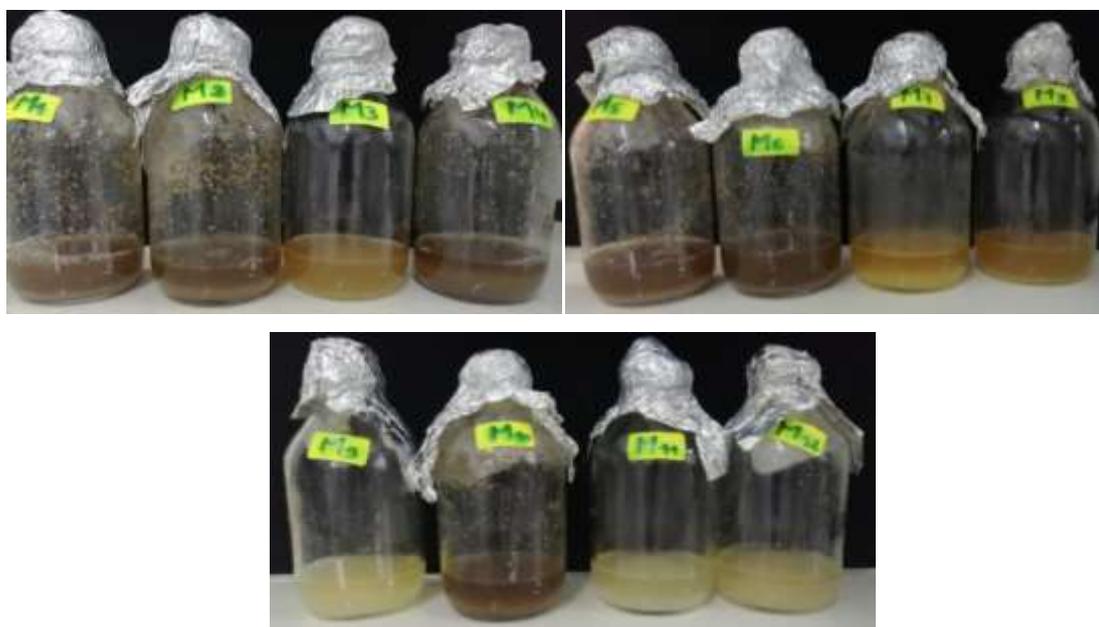


Figure 16. Cultures sur milieu liquide après 5 jours d'incubation



Figure 17. Filaments du mycélium au fond du milieu M3.

2.2. Détermination des concentrations d'AIA

Après mélange des filtrats et du réactif du salkowski (Figure 18), les concentrations d'AIA produites par la souche sont calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de Monita *et al.*, (2014) après 30 mn d'incubation.

La concentration d'AIA produite après 30 mn d'incubation se situe entre 5,54 $\mu\text{g/ml}$ et 34,54 $\mu\text{g/ml}$. La meilleure production d'AIA est observée dans le milieu M8 et la plus faible est obtenue dans le milieu M9 d'incubation (Figure 19).

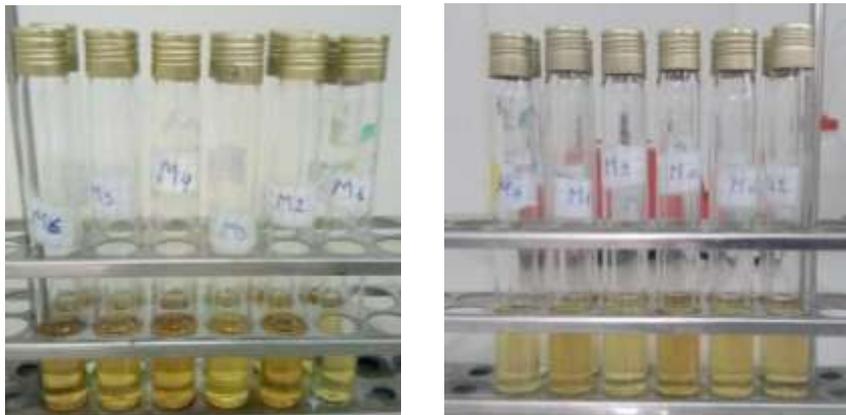


Figure 18. Production d'AIA après 30 mn d'incubation.

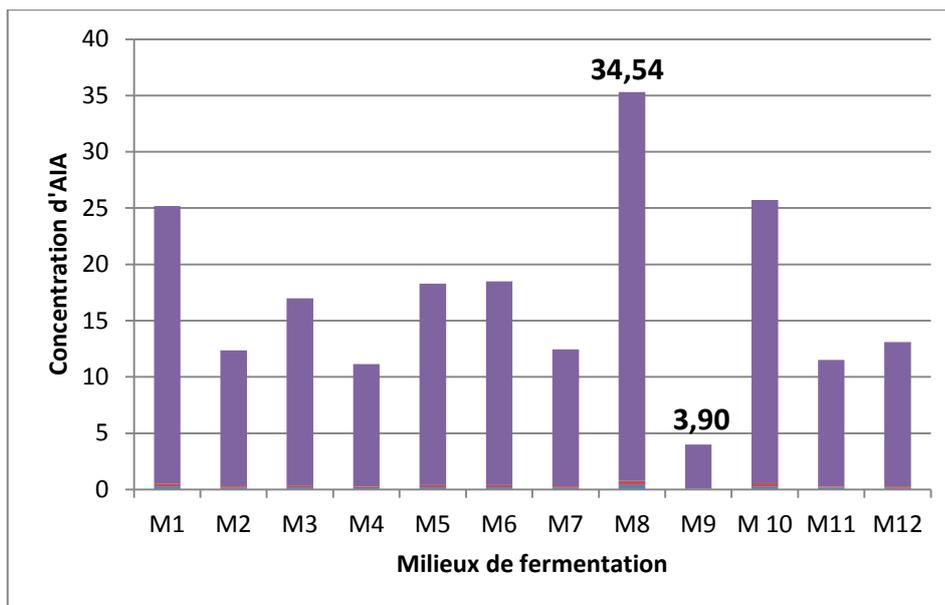


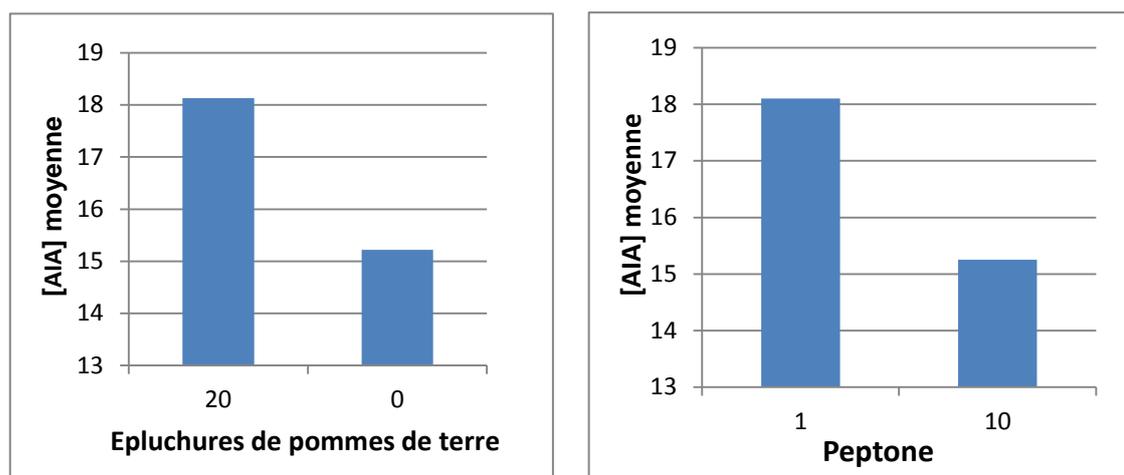
Figure 19. Histogramme représentant les valeurs des concentrations d'AIA en µg/ml dans les différents milieux de fermentation après 30 mn d'incubation

2.3. Effet de la composition du milieu de culture sur la production d'AIA

2.3.1. Effet des sources de carbone sur la production de l'AIA

Différentes sources de carbone ont été utilisées dans les milieux de culture : les épiluchures de pomme de terre et la peptone qui peut être aussi une source d'azote, l'effet des sources de carbone sur la capacité de la souche « *Streptomyces iakyrus* » à produire l'AIA a été étudié en calculant la concentration moyenne de l'AIA pour chaque valeur (Figure 20).

Figure 20. Histogrammes représentant les concentrations d'AIA ($\mu\text{g/ml}$) en fonction



des valeurs des sources de carbone.

La quantité d'AIA produite dans les milieux à concentration d'épiluchures de pommes de terre de 20 mg/l est plus importante qu'en cas d'absence des épiluchures, ce qui prouve que la présence des épiluchures dans le milieu de culture favorise la production d'AIA.

Concernant la peptone, sa valeur élevée (10 g/l) ne favorise pas la production d'AIA qui est plus faible soit de 15,25 $\mu\text{g/ml}$, et 18,1 $\mu\text{g/ml}$ quand sa valeur est de 1 g/l (Figure 20).

2.3.2. Effet des sources d'azote sur la production d'AIA

L'apport en azote par l'extrait de levure affecte positivement la production d'AIA par notre souche avec une concentration moyenne de 19,49 $\mu\text{g/ml}$ dans les milieux à 10 g/l d'extrait de levure et de 13,85 $\mu\text{g/ml}$ dans les milieux à 1 g/l.

Par contre, la présence du Na NO_3 n'affecte pas la production d'AIA qui est de 14,86 $\mu\text{g/ml}$ en ajoutant 3 g/l de Na NO_3 dans 6 milieux, et de 16,52 $\mu\text{g/ml}$ en absence du Na NO_3 (Figure 21).

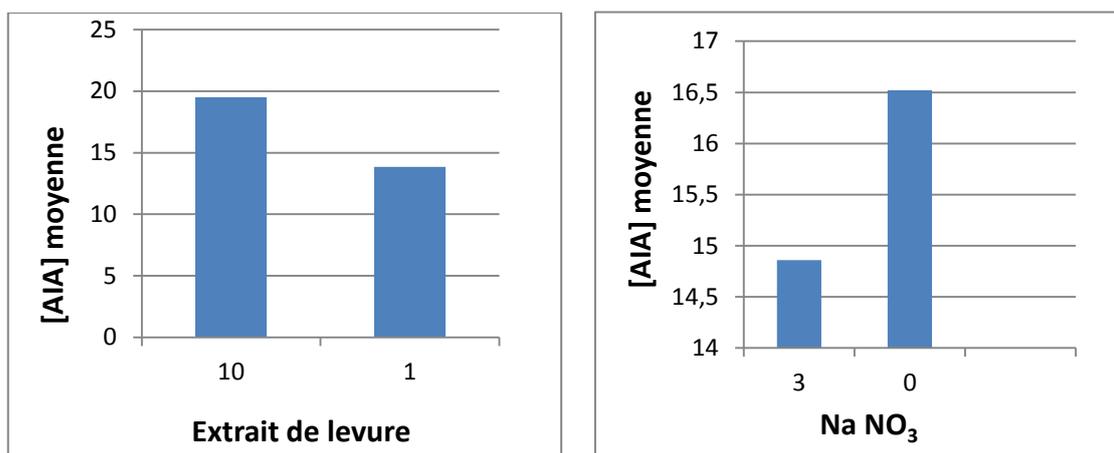


Figure 21: Histogrammes représentant les concentrations d'AIA ($\mu\text{g/ml}$) en fonction des valeurs des sources d'azote (g/l).

2.3.3. Effet de la concentration en NaCl sur la production de l'AIA

L'effet de la concentration en NaCl a été étudié pour une concentration de 5% et de 10%. La quantité d'AIA produite par la souche « *Streptomyces iakyrus* » dans les milieux à concentration de 10% est plus élevée que la quantité produite dans les milieux à 5% pendant la période d'incubation. Par conséquent, la concentration du NaCl la plus favorable pour la production d'AIA est 10% (Figure 22). En comparant ce résultat avec une étude de Lebrazi et al. (2013) sur la production d'AIA par des PGPR (*Rhizobium* sp.), la concentration du NaCl optimale était de 0,1 g/l.

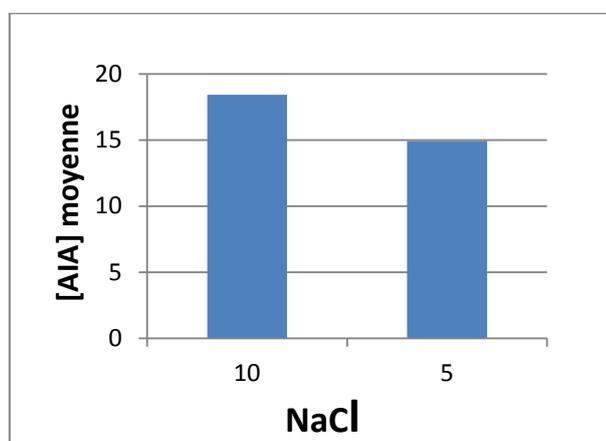


Figure 22. Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en $\mu\text{g/ml}$ en fonction des valeurs du NaCl (%).

2.3.4. L'effet du pH sur la production de l'AIA

L'étude de l'effet du pH sur la production d'AIA est réalisée à pH 7 et 9 après la période d'incubation de 30 min. La production de l'AIA par la souche « *Streptomyces iakyrus* » dans les milieux à pH 7 est plus importante que dans les milieux à pH alcalin où elle diminue avec un taux moyen de 13,58 $\mu\text{g/ml}$, et une concentration de 19,76 $\mu\text{g/ml}$ à pH 7 (Figure 23).

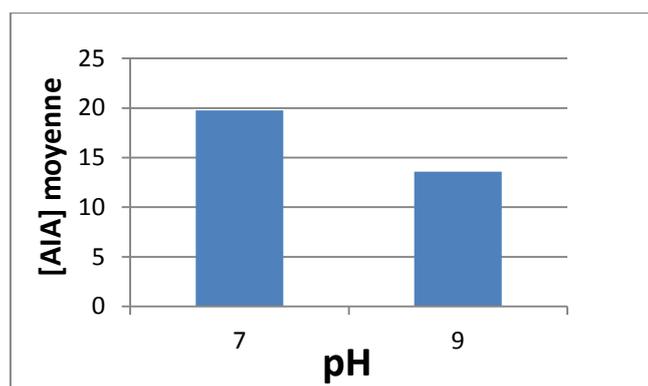


Figure 23. Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en $\mu\text{g/ml}$ en fonction des valeurs du pH.

Dans la rhizosphère, la répartition des actinobactéries dans les sols acides et très alcalins est plus faible que dans les sols neutres. Le pH acide et très alcalin affecte le fonctionnement des systèmes enzymatiques et la solubilité de nombreuses substances nécessaires à la croissance bactérienne et la production d'IAA (Khamna et al., 2010).

Le pH optimal trouvé dans notre travail est en accord avec une étude de Khamna *et al.* (2010). Yurekli et al. (2003) ont rapporté un pH de 7,5 alors que Abd-alla et al. (2013) a trouvé un pH optimal de 6 pour la production d'AIA par de multiples souches de *Streptomyces*. Autre étude sur la production de l'AIA chez différentes espèces de *Streptomyces* par Hariharan *et al.*, (2013) a montré que le pH optimal est 8, et que à partir du pH 9, la production commence à diminué.

2.3.5. Effet des autres composants

Le tryptophane est un précurseur de l'AIA, sa présence en quantité élevée (10 mg/l) a fait augmenter considérablement la production de l'AIA avec un taux de 20,95 $\mu\text{g/ml}$, tandis qu'une petite quantité (5 mg/l) a fait diminuer la production de l'AIA à 12,40 $\mu\text{g/ml}$ (Figure 24).

Plusieurs études ont montré l'importance du tryptophane dans la synthèse de l'AIA, Hariharan et al. (2014) ont identifié la concentration du tryptophane à 0,5% pour une production maximale d'AIA par plusieurs souches de *Streptomyces*. Dans Khamna et al. (2010), une concentration de 2 mg/l donne la meilleure production par plusieurs souches de *Streptomyces*, tandis que des concentrations plus élevées de tryptophane exerce l'effet inverse. De Fretes et al. ont trouvé une concentration optimale de tryptophane de 1 mg/l et Abd-alla et al. (2013) de 5 mg/l.

Pour le Mg SO_4 , les valeurs maximales ont été obtenues lors de son absence, en utilisant une quantité de 1 g/l, la concentration de l'AIA a diminué à 15,76 $\mu\text{g/ml}$.

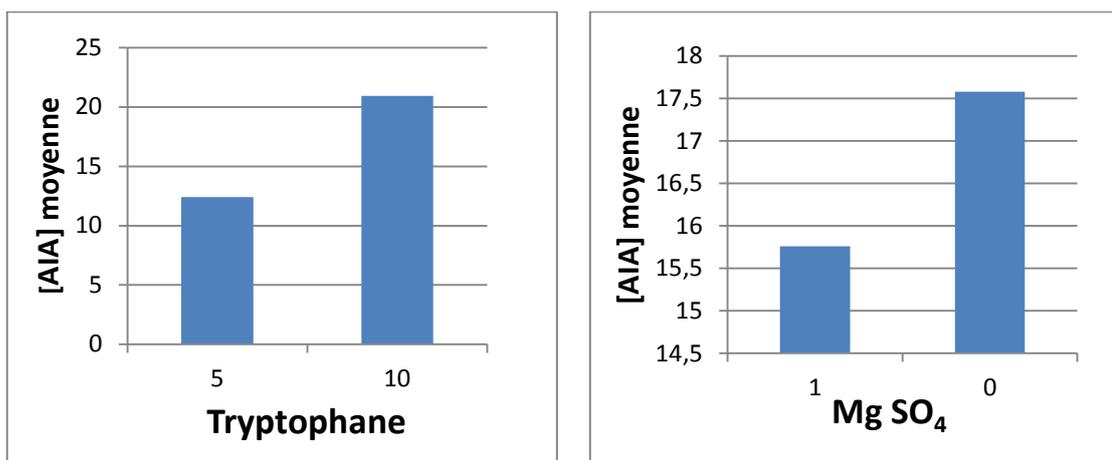


Figure 24. Histogrammes représentant les concentrations d'AIA en µg/ml en fonction des valeurs du tryptophane (mg/l) et du Mg SO₄ (g/l).

Conclusion

Conclusion

Les objectifs essentiels de ce travail étaient la caractérisation morphologique (macro et micro-morphologique) d'une souche bactérienne « *Streptomyces iakyrus* » du groupe des actinobactéries et la mise en évidence de la capacité de cette souche à produire d'acide indole acétique (AIA).

Les caractéristiques morphologiques macroscopique et microscopique de la souche ont été étudiées sur différents milieux (ISP2, ISP5, ISP5 modifié, DSMZ65, CzapekDox-agar, ISP7, GELM et Glucose-Asparagine) qui permettent le suivi du développement et de l'arrangement des mycéliums de substrat et aérien ainsi que la formation des spores. Elles montrent que la croissance et la couleur des mycéliums varient selon la composition du milieu et l'âge de la culture.

Les résultats montrent que la souche « *Streptomyces iakyrus* » présente sur le milieu ISP7 de petites colonies (1 à 4 mm de diamètre), incrustées dans la gélose et sèches. Les colonies sont constituées de mycélium aérien bien développé de couleur blanchâtre, un mycélium de substrat de couleur marron noirâtre et une bonne croissance de la masse sporale. La souche n'a pas produit de pigments diffusible sur tous les milieux de culture, avec une absence totale de croissance dans les milieux ISP 5, ISP 5 modifié et GELM.

La réalisation de la technique de la culture sur lamelle nous a permis de déterminer les caractères microscopiques de la souche : un mycélium de substrat ramifié, enchevêtré et plus ou moins fragmenté ; un mycélium aérien ramifié, fin et fragmenté et les spores produites sont organisées en longues chaînes au isolées, elles ont une forme ovoïde.

Cette observation macroscopique et microscopique des colonies a permis de confirmer l'appartenance de cette souche à l'espèce « *Streptomyces iakyrus* »

La souche a été testée en vue de mettre en évidence de sa capacité à produire l'acide indole acétique, en évaluant les différents facteurs qui peuvent influencer la fonctionnalité de cette souche sélectionnée à produire l'AIA. Le test de la productivité d'AIA de la souche a été réalisé dans un milieu de base additionné par plusieurs composants et selon la variation des différents paramètres physico-chimiques tels que le pH, le NaCl, la peptone, le Mg SO₄ et le tryptophane.

Nous avons trouvé que la souche « *Streptomyces iakyrus* » est capable de synthétiser l'AIA dans tous les milieux de culture utilisés mais à des différentes concentrations, la quantité produite par la souche à la fin de la période d'incubation se situe entre 35.54 µg/ml et 3.90 µg/ml. Les conditions les plus favorables où la production est maximale sont un pH de 7, une concentration de 10% de Na Cl, et concentration de Tryptophane de 10 mg/l.

Cette étude préliminaire a montré clairement la capacité de la souche *Streptomyces* à produire l'acide indole acétique de manière biologique ce qui peut substituer aux engrais chimiques responsables de beaucoup de dégâts écologiques et humains.

À la suite de ces résultats, il serait intéressant d'approfondir ce travail et d'étudier l'influence d'autres composants et d'autres concentrations sur la production de l'AIA par « *Streptomyces iakyrus* ».

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abd-alla et al. (2013). Indol 3 acetic acid production by *Streptomyces atrovirens*.
Journal of Biology et earth sciences, 3 (2), B 182 – B 193.

Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M.S. (2005). Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. Turk. J. Biol. 29, 29-34.

Ameur, H. (2014). Effet d'osmoprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de *Streptomyces* et de plantes d'intérêt agricole sur sol salé ou aride. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Anandan, R. et al. An Introduction to Actinobacteria. Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications. Dhanasekaran, D., & Jiang, Y., (Eds.). 2016. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/60457>.

Barka, E. et al. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80 (1), 1-43.

Bishnu, M., Dhurva, P., Sanjay, N., Sharmila, C., Janardan, L. (2021). Amelioration of growth attributes of *Bambusa nutans* subsp. *cupulata* Stapleton by indole-3-acetic acid extracted from newly isolated *Bacillus mesonae* MN511751 from rhizosphere of *Bambusa tulda* Roxburgh, Department of Biotechnology, School of Science, Kathmandu University, Dhulikhel, Nepal b Department of Environmental Science and Engineering, School of Science, Kathmandu University, Dhulikhel, Nepal, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101920>.

Boudemagh, A. (2007). Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse de Doctorat : Microbiologie Appliquée. Constantine : Université Frères Mentouri.

CDC, Food Security. [en ligne] (page consultée le 15/02/2022). https://www.cdc.gov/climateandhealth/effects/food_security.htm

Chelli, R. (2010). Etude de la diversité des bactéries actinomycétales dans les sols fertiles d'El-baaraouia de la région de Constantine. Mise en évidence de l'activité antibiotique des isolats d'actinomycètes autres que *Streptomyces*. Thèse de Magister en Biologie. Constantine : Université Frères Mentouri, 77 p.

Cherif H. (2014). Amélioration de la croissance de blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* SP. et *pantoea* agglomerans isolées de sols ardes. Thèse de doctorat : Microbiologie. Université Farhat Abbas sétif 1.

De Fretes, et al. (2013). Characterization of *Streptomyces* spp. Producing Indole-3-acetic acid as Biostimulant Agent. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 18 (2), 83-91.

Djinni et al. (2019). Actinobacteria Derived from Algerian Ecosystems as a Prominent Source of Antimicrobial Molecules. *Antibiotics*, 8, 172.

FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. 2021. The State of Food Security and Nutrition in the World 2021. Transforming food systems for food security, improved nutrition and affordable healthy diets for all. Rome, FAOP. <https://doi.org/10.4060/cb4474en>.

Goodfellow, M., and Williams, ST. (1983). ECOLOGY OF ACTINOMYCETES. *Annual Review in Microbiology*, 37, 189-216.

Hamedi, J. and Poorinmohammad, N. The Cellular Structure of Actinobacteria. In *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, J. Wink et al. (eds.) Springer International Publishing AG Eds., 2017, Suisse, p 5-28.

Hariharan, H., Vellasamy, S., Natesan, B. (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 (8), 158-171.

Herrbach, V. (2013). Stimulation du développement des racines latérales par des lipochitoooligosaccharides (LCOs) symbiotiques chez *Medicago truncatula*. Thèse de doctorat: ED SEVAB : Interactions plantes-microorganismes. Toulouse : Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier).

Keyeo, F., Noor Ai'shah, O., Amir, H.G. (2011). The effects of nitrogen fixation activity and phytohormones production of diazotroph in promoting growth of rice seedlings. *Biotech.* 10, 1-7.

Khan, N., Shabbir A, George D, Hassan G, Adkins S W. (2014). Suppressive fodder plants as part of an integrated management program for *parthenium hysterophorus* L. *Field Crops Res.*, 156 : 172-179.

Kitouni, M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat : Microbiologie Appliquée. Constantine : Université Frères Mentouri, 250p.

Kurtböke, D.İ. Ecology and Habitat Distribution of Actinobacteria. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, J. Wink et al. (eds.) Springer International Publishing AG Eds., 2017, Suisse, p 123-150.

Lebrazi et al. (2020). Screening and optimization of indole-3-acetic acid production by *Rhizobium* sp. strain using response surface methodology. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18 (21), 1 -10.

Lechevalier HA, Lechevalier MP. (1970). Chemical composition as a criterion in the Classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 20. 435–443.

Lewin, GR. et al. (2016). Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenergy Applications. *Annu Rev Microbiol.*, 70: 235–254. Doi: 10.1146/annurev-micro-102215-095748.

Lindholm, P. et al. (1997). *Streptomyces* spp. Isolated from Potato Scab Lesions Under Nordic Conditions in Finland. *Plant disease*, 81 (11). Publié en ligne le 22/02/2007. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.11.1317>

Ludwig W, Euzéby J, Schumann P, Buss HJ, Trujillo ME, Kämpfer P, Whitman WB. 2012. Road map of the phylum Actinobacteria, p 1–28. In Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Suzuki KI, Ludwig W, WhitmanWB(ed), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 5. Springer-Verlag, New York, NY.

Manulis Sh, Shafrir H, Epstein E, Lichter A, Barash I. (1994). Biosynthesis of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in *Streptomyces* spp. *Microbiology*, 140, 1045-1050.

Mohammadipanah, F. and Dehghani, M. Classification and Taxonomy of Actinobacteria. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, J. Wink et al. (eds.) Springer International Publishing AG Eds., 2017, Suisse, p.

Monita Patel V., Rajesh Patel K. (2014). Indole-3-acetic acid (IAA) production by endophytic bacteria isolated from saline dessert, the little run of kutch. *CIBTech Journal of Microbiology.* 3 : 17-28.

Mukesh, S. et al. (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3 (2), 801-832.

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

Nutaratat P, Srisuk N, Arunrattiyakorn P, ET Limtong S. (2016) Fed-batch Fermentation of Indole-3-acetic acid production in stirred tank fermenter by red yeast *Rhodospiridium paludigenum*. The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering and Springer. Thailand. 21, p 414.

Oulmi, L. (2014). Étude des infections causées par les actinomycètes aérobie autres que les mycobactéries dans la région de Constantine. Thèse de Doctorat : Biochimie et Microbiologie Appliquées. Constantine : Université Frères Mentouri.

Parul V, Aziz Z, Marine R, Sandra V, Hamid M, Christophe C, Essaid A.B . (2017) How *Stryptomyces anulatus* primes Grapevine Defenses to cope with Gray Mold: A Study of the Early Responses of Cell suspensions.

Quittenden L J, Davies N W, Smith J ,Molesworth P. (2009). Auxin Biosynthesis in Pea: Characterization of the Tryptamine Pathway: *Plant Physiology*, v. 151, p. 1130-1138.

Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ, Dowling DN. (2008). Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS. Microbiol. Lett*, 278: 19.

Rosenberg, E., et al. (2014). *The prokaryotes: Actinobacteria*. Springer, Berlin Heidelberg. 2014. *The prokaryotes: Actinobacteria*. Springer, Berlin Heidelberg.

SHIRLING AND GOTTLIEB (1972). Cooperative Description of Type Strains of *Streptomyces*. *INTERNATIONAL JOURNAL of SYSTEMATIC BACTERIOLOGY*, 22 (4), p 265-394.

Schleifer, KH. (2009). Classification of bacteria and archaea: past, present and future. *Syst Appl Microbiol*, 32(8), 533–542.

SILINI Soumaya, 2012. Contribution à l'étude de la biodégradation de la méthyléthylcétone en réacteur batch par les actinomycètes isolés à partir des boues activées de la station d'épuration d'El-Atmania. Mémoire de Magister: ECOLOGIE. Constantine : Université Frères Mentouri.

Simon Pons. (2020). Les hormones dans la symbiose mycorhizienne étude de production et des effets d'hormone végétale par les champignons endomycorhiziens. Thèse de doctorat : interaction plantes-microorganisme. Université Toulouse 3. Paul sabatier P 20.

Sutthinan et al. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4, 23-32.

Van Bergeijk, DA. et al. (2020). Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. *Nature Reviews | Microbiology*, 18, 546 – 558.

Yurekli, F., Geckil, H., Topcuoglu, F. (2003). The synthesis of indole-3-acetic acid by the industrially important white-rot fungus *Lentinus sajor-caju* under different culture conditions. *Mycological Research*, 107, 305-309.

ANNEXES

Annexes

1. Milieux de culture:

Composition du milieu ISP2

Extrait de levure	15 g
Extrait de malt	10 g
Glucose	4 g
Ca Co ₃	2 g
Agar	20 g
H ₂ O	Qsp 1000 ml

pH = 7

Température de stérilisation: 121°C pendant 20 min

Composition du milieu ISP5

Glycérol	10 g
L-Asparagine	1 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Solution Saline	1 ml
Agar	20 g
H ₂ O	Qsp 1000 ml

PH = 7 à 7,4

Température de stérilisation: 121°C pendant 20 min

Composition du milieu ISP7

Glycérol	15 g
L-Asparagine	1 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
Na Cl	0,5 g
Fe SO ₄ 7 H ₂ O	0,01 g
Agar	20 g
H ₂ O	Qsp 1000 ml

PH = 7,2 à 7, 4

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min.

Composition du milieu DSMZ 65

Glucose	4 g
Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Ca Co ₂	2 g
Agar	12 g
H ₂ O	Qsp 1000 ml

PH = 7,2

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min.

Composition du milieu GELM

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Glucose	4 g
Agar	15 g
H ₂ O	Qsp 1000 ml

pH = 7,2

Température de stérilisation : 121°C pendant 20 min

Composition du milieu Czapek – Dox – Agar

Saccharose	30 g
Na NO ₃	3 g
K ₂ HPO	41 g
Mg SO ₄ 7 H ₂ O	0,5 g
K Cl	0,5 g
Fe SO ₄ 7 H ₂ O	0,01 g
Agar	15 g
H ₂ O	QSP 1000 ml

PH = 7,3 à 7,5

2. Composition de la solution saline :

Fe SO ₄ H ₂ O	0,1 g
Mn Cl ₂ 4 H ₂ O	0,1 g
Zn SO ₄ 7 H ₂ O	0,1 g
Eau distillée	Qsp 1000 ml

3. Composition de l'eau physiologique :

Na Cl	9 g
Eau distillée	1000 ml

4. Composition du milieu de Base :

Extrait de viande	5 g
Glycérol	5 g
Amidon	20 g
Ca CO ₃	3 g
H ₂ O	QSP 1000 ml

5. Composition du réactif Salkowski

Acide perchlorique	(35%)
Fe Cl	3 g/50 ml d'eau distillée
Eau distillée	25 ml

6. Concentration d'AIA

Tableau. Concentration d'AIA produite par la souche après 30 min d'incubation

Milieux	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M 10	M 11	M 12
DO 530	0,271	0,133	0,183	0,120	0,197	0,199	0,134	0,380	0,043	0,277	0,124	0,141
Concentration d'AIA (µg/ml)	24,63	12,09	16,63	10,90	17,90	18,09	12,18	34,54	3,90	25,18	11,27	12,81

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

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

Optimisation de la production de l'acide indole acétique (AIA) par la souche *Streptomyces iakyrus*

Résumé

Notre étude a été réalisée sur une souche actinomycétale de la collection du laboratoire de génie microbiologique et application. La souche a été assignée à l'espèce *Streptomyces iakyrus*. Les objectifs du travail étaient l'étude des caractères morphologiques et culturels de la bactérie et sa capacité à produire l'acide indole acétique (AIA), hormone de croissance des plantes.

Sur les milieux de culture utilisés, la souche a montré un bon développement sur ISP2, Glucose Asparagine, DSMZ65 et Czapek DOX Agar, le milieu ISP7 a été le meilleur pour une bonne et rapide croissance, alors qu'il n'existait pas de croissance sur les milieux GELM ISP5, et ISP5 modifié. L'examen microscopique a permis de montrer le bon développement mycéliens des colonies sur le milieu Czapek Dox Agar et de déterminer grâce à la technique des lamelles la structure microscopique du mycélium du substrat et aérien après 7 et 21 jours d'incubation à 30° C. En effet, la souche présente de longs filaments, ramifiés, plus un moins enchevêtrés.

Pour tester la production de l'AIA, *Streptomyces iakyrus* est cultivé dans des milieux à différentes conditions physico-chimiques afin de trouver les conditions les plus favorables. Le dosage de l'AIA est réalisé après 30 min d'incubation en appliquant la méthode colorimétrique décrite par Brick et al. (1991) qui utilise le réactif de Salkowski. Nous avons trouvé que la souche est capable de produire l'acide indole acétique à différentes concentrations selon la composition du milieu de fermentation, la concentration du NaCl et le pH.

Mot clés : Acide indole acétique, Actinomycètes, phytohormones, *Streptomyces laquirus*.

Jury d'évaluation:

Encadreur :	KITOUNI Mahmoud	Professeur - UFMC1
Examineur 1 :	BENHIZIA Y.	Professeur - UFMC1
Examineur 2 :	OULMI L.	MCB - UFMC1

Présentée par : BENDJEMIL Amina
KRIKOU Imad

Année universitaire : 2021-2022