

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

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Microbiologie

قسم الميكرو بيولوجيا

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 par
*Nocardiosis aegyptia***

Présenté par : Hamza Nour-El houda

le 28/06/2022

Mallem Kaouther

Hassani Madjeda

Jury d'évaluation :

Encadreur : KITOUNI Mahmoud

(Professeur- Université Frère Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : BENHIZIA Yacine

(Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : OULMI Lamia

(M.C.B - Université Frères Mentouri, Constantine1).

Année universitaire

2021 – 2022

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier Allah le tout puissant, qui nous a donné la force et le courage afin d'élaborer ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé, au Laboratoire de Génie Microbiologique et Applications Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université des Frères Mentouri Constantine Route Ain El Bey 25000 Constantine. Algérie.

Nous remercierons profondément, notre encadreur Mr. KITOUNI M Professeur à l'UFM Constantine pour le privilège et la confiance qu'il nous a accordé durant la réalisation de ce travail, Pour son aide, sa patience, ainsi que pour ses précieux conseils. « Sincèrement monsieur, nous ne pouvons que vous exprimons notre respect et notre gratitude, grâce à vos conseils et à votre supervision on est entré dans un nouveau monde de sciences et de savoir».

Nous tenons à remercier Mr. BENHIZIA Y. professeur à Université Frères Mentouri Constantine d'avoir accepté de juger ce mémoire.

Un grand merci également à Mme Oulmi lamia. Maître de Conférences au Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des Frères Mentouri Constantine, d'avoir bien voulu examiner notre travail et aussi pour ses précieux conseils. Nous remercions la doctorante Sara Ghozlane pour son aide, ses précieux conseils et sa patience avec nous tout à long de ce stage

Enfin, un grand merci à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mon père décédé depuis 10 mois il nous a quitté trop tôt, tu as toujours été pour moi l'exemple de père respectueux, courageux, patient, sage. Je tiens à honorer l'homme que tu es, ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation. Je t'aime cher papa et que Dieu le tout puissant te bénisse et t'accueille dans son vaste paradis.

À ma très chère mère ma confidente, qui m'a entourée d'amour, d'affection, et qui a tout fait pour ma réussite. Aucune dédicace ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour toi, tu m'as aidé et soutenu depuis toujours, puisse Dieu tout puissant te combler de santé, de bonheur et te procurer une longue vie.

À mon frère **Nidal**, qui a toujours été présent à mes côtés et tellement prêt à me protéger de tout.

À mes deux petites sœurs adorées **Nada** et **Aya** que Dieu vous protège et j'espère vous voir votre réussite dans tout ce que vous allez entreprendre Inchallah.

À mes deux grands-parents décédés **Ragheb** et **Larbi** que Dieu vous accueille dans son vaste paradis.

À mes deux grands-mères **Adra** et **Akila**, Merci pour vos attentions particulières, vos prières et votre amour inconditionnel, que Dieu vous donne bonne santé et longue vie.

À mes tantes paternelles **Wided**, **Wakiba** et **Wafa** et mon cher oncle **Mohamed**, Merci pour votre soutien et encouragements depuis toujours et surtout en cette dernière période.

À mes tantes maternelles **Sbtissem**, **Zineb** et **Fatima-zohra** et leurs conjoints, merci d'être toujours là pour moi, Merci pour votre soutien moral et que Dieu vous protège.

À mes très chères et adorables cousines **Amira**, **Aridj**, **Ines** et **Ikhlasse** je ne pourrais jamais imaginer ma vie sans votre présence, vous comptez énormément pour moi. Merci d'avoir toujours été là pour moi.

À mes très chères amies d'enfance **Maissa**, **Maroua** et **Selsabil**, je ne pourrais imaginer ma vie sans votre présence à mes côtés, je ne pourrais pas oublier les bons moments et les bons souvenirs qu'on a vécu ensemble tout au long de notre enfance, adolescence et jusqu'à ce jour vous avez été là pour moi dans la période la plus difficile de ma vie. Je vous aime que Dieu vous garde pour moi.

À mes amies et collègues **Amira**, **Nada**, **Madjda**, **Kaouther**, **Rania**, **Khadija**, **Aya** et **J.R.G.M** Merci d'être toujours là, Merci de m'avoir soutenu dans mes moments difficiles et d'avoir partagé avec vous de belles années d'études que je n'oublierai jamais. Que Dieu vous garde pour moi. En fin une spéciale dédicace pour ma très chère cousine **Nadjoua** qui m'a énormément aidé à rédiger ce travail. Merci ma douce cousine je n'oublierai jamais ton aide.

Nour E.L. Houda

Dédicace

Je Dédie ce travail

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie, mon paradis et mon bonheur : ma mère Nadia que j'adore.

Merci maman pour ton amour et surtout tes sacrifices.

À Celui qui m'a fait de moi une femme, mon père.

À mes sœurs, mon modèle et ma force Dr Amira, Dr Ghada, la plus belle Sara, ma petite Lina.

À mon âme sœur Hassa Khadija Melak.

À la plus belle nièce Esine.

À mes copines : sisa, melak, Houria, Amira, Dina, ikram.

Kacuthar, Nour el Houda et Maïssa mes collègues les plus proches pour leur soutien et leur esprit de travail d'équipe.

Medjda

Je Dédie ce travail

À ma très chère mère quici que je fasse ou que je dise je ne saurai point te remercier comme il se doit et qui a tout fait pour ma réussite. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles, ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployées pour mon éducation et ma formation. Puisse Dieu tout puissant te combler une bonne santé, de bonheur et te procurer une vie sereine et heureuse. Je t'aime maman chérie.

*À l'âme de mon père défunt que Dieu accepte son âme dans son vaste paradis
À mes sœurs adorées Wissam, Nedjma et Manel pour ses soutiens moral et leurs conseils, que Dieu vous protège et j'espère vous voir votre réussite dans tout ce que vous allez entreprendre Inchallah.*

À mon cher frère Mohamed, pour son appui et son encouragement qui a toujours été présent à mes côtés et tellement prêt à me protéger de tout.

À mes plus belle nièce Miral, Aline, et mes petit soucou Chahine et Lyn Puisse dieu vous donne sante, bonheur, courage et surtout réussite

À ma chère grande mère Warda

À mon très cher ami Arif qui m'a aidé et supporte dans les moments difficiles

À mes très chères et adorables amies Sara, Rihana, , Ikram, Khadidja, Aya, Yassmin, Rasha, Nour elhouda

À mon adorable binôme Majida, Nour pour leur soutien et leur esprit de travail.

À moi-même et À toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment.

Je remercie toute personne de prêt et de soin qui m'ont soutenue durant mon parcours universitaire Allant de ma famille au professeur et encadrant.

Kacuther...

Résumé

La production de plusieurs métabolites secondaires biologiquement actifs par les actinobactéries, nous a incité à effectuer la caractérisation d'une souche actinomycétale et d'effectuer divers test de productivité d'AIA par cette dernière.

L'étude morphologique de la souche *Nocardiopsis aegyptia* est effectuée sur différents milieux de cultures : ISP2, ISP5, ISP5M, ISP7, GELM, GLU-ASP, Czapec-Dox-Agar et DSMZ65 pendant différentes périodes d'incubation.

Ainsi à partir d'une culture mère, huit milieux de culture différents sontensemencé par la technique en trois quadrants pour l'observation macroscopique et la technique des lamelles pour l'observation microscopique. La souche actinomycétale utilisée est isolée d'un écosystème extrême qui est « sebkha ». La souche est capable de produire l'AIA dans différents milieux et de différentes concentrations. La concentration maximale d'AIA produite est égale à 117,37 µg/ml.

Suite à cette étude, il a été conclu que *Nocardiopsis agyptica* produit des concentrations différentes d'Acide Indole Acétique et cela dépend principalement des caractéristiques physico-chimiques des milieux de fermentation sur lesquels elle a été cultivée.

Mots clés : *Nocardiopsis aegyptia*, acide indole acétique (AIA), actinobactéries

Abstract

The production of various biologically-active secondary metabolites by actinobacteria incited the characterization of an actinomycetal strain as well as the conduction of several tests of IAA productivity by the aforementioned strain. The morphological investigation of the *Nocardiopsis aegyptia* strain is carried out on different growth mediums: ISP2, ISP5, ISP5M, ISP7, GELM, GLU-ASP, Czapek-Dox-Agar and DSMZ65 during diversified incubation periods. As such, from a BACTERIAL MOTHER CROP, eight different GROWTH MEDIUMS are inoculated by the three-quadrant technique for macroscopic observation and the SLIDE technique for microscopic observation. The actinomycetal strain is isolated from an extreme ecosystem known as "sebkha". The strain is potentially able to produce IAA in different growth mediums and at different concentrations. The maximum concentration of IAA produced is equal to 117.37 µg/ml. In a nutshell, it was concluded that *Nocardiopsis aegyptia* produces different concentrations of Indole Acetic Acid. The production is primarily dependent on the physico-chemical characteristics of the fermentation medium in which it was cultivated.

Key words: *Nocardiopsis aegyptia*, indole acetic acid (IAA), actinobactéries

ملخص

من أجل التأكد من إنتاج الأكتينومييسات للعديد من المواد الحيوية النشطة , تم إجراء العديد من التجارب على سلالة مختارة هي " *Nocardiosis aegyptia* " و التي تم عزلها من وسط بيئي مالح "سبخة", لتعرض في إطار دراسة مورفولوجية على أوساط زراعية مختلفة : « ISP2, ISP5, , ISP5M ,ISP7, DSMZ65 , GELM, GLUCOSE- ASPARAGINE , Czapec Dox Agar » خلال فترات حضانة مختلفة (07 أيام / 21 يوم), و في سبيل تنشيط هذه السلالة استعملت تقنية " **L'ensemencement par épuisement** " عبر وسطي حضان مختلفين , أما فيما يخص تحديد المظهر الكلي و المجهري للسلالة فقد اعتمدنا طريقة البذر في الأوساط الزراعية المذكورة أعلاه وفقا لتقنيتين: "ensemencement en trois quadrants" و " la technique des lamelles " , وقد أكدت النتائج المتحصل عليها أن السلالة " *Nocardiosis aegyptia* " لها القدرة على إنتاج حمض الأستيك الإندول (AIA) بتراكيز مختلفة حسب الوسط الزراعي, كما بينت أن وتيرة إنتاج هذا الهرمون النباتي تختلف باختلاف المؤثرات الفيزيائية و الكيميائية.

الكلمات المفتاحية: *Nocardiosis aegyptia* , AIA , Actinomycètes ,

Liste des tableaux

Tableau 01 : différents types de parois et leurs constituants majoritaires chez les actinobactéries (Loquman, 2009).....	09
Tableau 02 : liste des espèces d'actinobactéries halophiles et halotolérantes de l'ordre des actinomycetales et de la famille des Nocardiopsaceae.....	16
Tableau 03 : la répartition des pourcentages d'Na Cl et de pH dans les douze milieux de fermentation.....	26
Tableau 04 : Aspect macroscopique de la souche Nocardiopsis aegyptia cultivée sur différents milieux de culture après 7 et 21 jours.....	30
Tableau 05 : description des caractères microscopique de la souche Nocardiopsis aegyptia cultivée sur différents milieux de culture après 7 et 21 jours.....	33
Tableau 06 : l'aspect de la croissance après 5 jours d'incubation.....	36

Liste des figures

Figure 01 : cycle de vie d'actinobactérie (Ait berka <i>et al.</i> , 2005).....	07
Figure 02 : différentes chaînes de spores chez les actinobactérie .A) Micromonospora, (B) Thermomonospora, (C) Saccharomonospora, (RÉ) Thermoactinomyces. Disporeux : (E)Microbispora.Oligosporeux : (F) Nocardia brevicatena, (G) Catellatospora (Qunyuanyuan <i>et al.</i> , 2016).....	08
Figure 03 : l'arbre phylogénique d'actinobactérie (Wei-Chun K <i>et al.</i> , 2016).....	12
Figure 04 : Dendrogramme montrant les relations phylogénétiques entre la majorité des espèces de <i>Nocardiopsis</i> , établi sur la base de l'analyse des séquences de l'ADNr 16S, et construit à partir des distances d'évolution par la méthode du "neighbor-joining". La barre indique 0,005 substitution par position de nucléotide. (Boudjelal, 2012).....	15
Figure 05 : structure de l'acide indole acétique (Herrbach, 2013).....	19
Figure 06 : voies de biosynthèse de l'acide 3-indole acétique chez les plantes et les microorganismes ainsi que les différents modes de conjugaisons (leblond- casting, 2011).....	22
Figure 07 : Courbe étalon de l'AIA (Monita <i>et al.</i> , 2014).....	27
Figure 08 : photographie qui représente la culture de <i>Nocardiopsis aegyptia</i> âgée de 5 jours sur le milieu DSMZ65 et ISP7.....	29
Figure 09 : la culture de la souche <i>Nocardiopsis aegyptia</i> après 7 jours d'incubation sur différents milieux de culture.....	31
Figure 10 : la culture de la souche <i>Nocardiopsis aegyptia</i> après 21 jours d'incubation sur différents milieux de culture.....	32
Figure 11 : observation sous microscope optique Gx100 de la souche <i>Nocardiopsis aegyptia</i> après 7 jours d'incubation le milieu ISP7. (A) : le mycélium du substrat, (B) : le mycélium aérien.....	34
Figure 12 : observation sous microscope optique Gx100 de la souche <i>Nocardiopsis aegyptia</i> après 7 jours d'incubation le milieu DSMZ65. (A) : le mycélium du substrat, (B) : le mycélium aérien.....	34

Figure 13 : observation sous microscope optique Gx100 de la souche <i>Nocardiosis aegyptia</i> après 7 jours d'incubation le milieu Glucose-Asparagine. (A) : le mycélium du substrat, (B) : le mycélium aérien.....	35
Figure 14 : observation sous microscope optique Gx100 de la souche <i>Nocardiosis aegyptia</i> après 7 jours d'incubation le milieu Czapec Dox Agar. (A) : le mycélium du substrat, (B) : le mycélium aérien.....	35
Figure 15 : Observation sous microscope optique Gx100 de la souche <i>Nocardiosis aegyptia</i> après 21 jours d'incubation.....	36
Figure 16 : Histogramme qui représente la concentration de l'acide indole acétique dans les 12 milieux en fonction de la densité optique à 30min et 24h.....	37
Figure 17 : Histogramme qui représente l'effet du pH sur la concentration d'AIA.....	39
Figure 18 : Histogramme qui représente l'effet du pourcentage d' Na Cl sur la concentration d'AIA.....	40
Figure 19 : Histogramme qui représente l'effet du tryptophane sur la concentration d'AIA.....	41
Figure 20 : Histogramme qui représente l'effet du sous-produit sur la concentration d'AIA.....	42

Liste des abréviations

AIA : acide indole-3- acétique.

DO : densité optique.

PGPR : rhizobactérie promotrices de la croissance des plantes.

V/V : volume par volume.

MA : mycélium aérien.

MS : mycélium du substrat.

ADN : acide désoxyribonucléique.

ARNr 16s : acide ribonucléique ribosomique 16s.

PCR : réaction en chaîne par polymérase.

Trp : tryptophane.

pH : potentiel hydrogène.

DAP : acide diaminopimélique.

ISP : International Streptomyces Project.

GLU-ASP : GLUCOSE-Asparagine.

C-Z-P : Czapek Dox Agar.

TAM : la voie de tryptamine.

GC% : coefficients de chargaff.

% : pourcentage.

nm : nanomètre.

M : molaire.

µg : microgramme

Table des matières

Remerciements	I
Dédicace	II
Résumé	V
Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	IV
Introduction	1
Partie bibliographique	4
1. Les actinobactéries	4
1.1.....	4
Historique.....	4
1.2. Définition et caractéristiques des actinobactéries	5
1.2.1. Caractéristiques macromorphologiques	5
1.2.2. Caractéristiques micromorphologiques.....	6
1.3. Cycle de vie.....	6
1.4. Taxonomie	7

1.4. 1. Les critères morphologiques	7
1.4.2.....	8
Les critères chimiotaxonomique	8
1.4.3. Les critères physiologiques	9
1.4.4. Les critères moléculaires.....	9
1.5. Ecologie des actinobactéries	10
2. Le genre <i>Nocardiopsis</i>	12
2.1. Historique.....	12
2.2. Ecologie	12
2.3. Classification.....	13
2.4. Mécanisme d'adaptation aux solutions salines	13
3. Les intérêts des actinobactéries	14
3.1. L'importance dans le domaine agronomique.....	15
5.2. L'importance pharmaceutique	15
4. L'acide indole acétique (AIA)	16
4.1. Définition et structure chimique de l'AIA	16
4.2. Le rôle de l'AIA.....	17
4.3. Mode d'action de l'AIA	18

4.4. La biosynthèse d'AIA	18
Matériel et méthodes	24
1. Préparation des milieux de culture	24
2. préparation de matériel biologique.....	24
3. Etude morphologique	24
2-1 Etude macroscopique.....	25
2-2 Etude microscopique	25
3. La productivité de la souche Nocardiosis	25
3.1. Préparation de l'inoculum.....	25
3.2. Production de l'acide indole acétique	26
4. La mise en évidence de la présence de l'AIA	27
4.1. Récupération des filtrats.....	27
4.2. Dosage de l'AIA	27
Résultats et discussion.....	29
1. Revivification	29
2. Etude morphologique	29
2.1. Etude macroscopique	29
2.2. Etude microscopique.....	32

3. la productivité de la souche	35
3.1 Aspect de la croissance de la souche dans les milieux de fermentation	35
3.2. Concentration d'Acide indole acétique.....	36
- Effet du pH	37
- Effet d'Na Cl	38
- Effet du Tryptophane	38
- Effet de mélasse de dattes	39
- Effet d'une variété de Source d'azote	40
Conclusion.....	43
Références bibliographique.....	45
Annexes 01 : Composition de milieux de culture :	54
Annexes 02 : Composition des milieux de fermentation	56
Annexes 3 : tableau des valeurs la densité optique	57

Introduction

Pendant près de deux milliards d'années les microorganismes représentent l'acteur Majeur de la vie sur terre. Si nous analysons cette réalité d'un point de vue scientifique, nous pourrions dire qu'ils ont insufflé la vie à la surface de cette planète par la purification des eaux, la fertilisation des sols, l'action dans les cycles biogéochimiques, les fermentations ainsi que plusieurs autres facultés. La force de cette entité, réside dans la variation en termes de leur écosystème, leur morphologie, leur physiologie, leur mode de reproduction et leur écologie. Les microorganismes sont présents dans tous les écosystèmes et même ceux qui représentent des conditions extrêmes ; en raison de leur mécanisme d'adaptation.

Parmi ces microorganismes en question, on y trouve ceux qui occupent la majeure proportion de la microflore tellurique, qui sont les actinobactéries appartenant au groupe des PGPR. L'importance de ces dernières a été illustrée dans divers domaines de la vie : industriel, pharmaceutique, ainsi que dans le domaine de l'agriculture et l'agroalimentaire, notamment dans la biotechnologie en raison de leur capacité de produire divers métabolites secondaires biologiquement actifs.

L'Acide Indole Acétique (AIA) est une phytohormone qui influence la croissance et le développement des plantes, il est synthétisé par plusieurs voies principalement par celle du tryptophane (Trp) ; molécule précurseur majeure de cette auxine. Plusieurs espèces actinomycétales possèdent la capacité de le produire tel que *Nocardopsis aegyptia*.

Ce mémoire renferme en un premier temps, des recherches bibliographiques sur les actinobactéries précisant toutes leurs spécificités et leur utilité dans divers domaines en prenant comme axe majoritaire la production de l'AIA.

En second lieu, nous avons effectué une étude morphologique sur différents milieux afin de caractériser la souche étudiée. Par la suite, nous avons testé la production d'AIA par *Nocardopsis aegyptia* en variant plusieurs paramètres physicochimiques : pH, concentration de NaCl, source de carbone, source d'azote et Trp.

En fin, nous avons analysé et discuté tous les résultats obtenues, en se basant sur des travaux de recherches précédentes afin d'obtenir des conclusions et des perspectives.

Partie Bibliographique

1. Les actinobactéries

1.1. Historique

À travers l'histoire des microorganismes, l'actinomycose a d'abord été décrite chez le bétail, puis chez l'homme. La première culture fut réalisée en 1878 en Israël. En 1888, Nocard, vétérinaire français a décrit le farcin ; une infection du bétail qui ressemble à une tuberculose chronique. Par la suite, Eppinger a observé en 1890, le premier cas de nocardiose à allure de pseudo-tuberculose associée à des abcès cérébraux. Et ce n'est qu'en 1940, qu'Erickson a reconnu plusieurs espèces dont le mécanisme est anaérobique, tel que *Actinomyces israelii*, *A. bovis*.... Ainsi, Waksman, en 1959, a proposé une classification distinguant les *Actinomyces* anaérobies stricts ou parfois facultatifs des *Nocardia* et des agents des mycétomes aérobies (Medical Actu, 2020).

D'après Waksman (1959), Ferdinand Cohn fut le premier à décrire un actinomycète en 1875, suivie par Harz, en 1878, qui l'a nommé *Actinomyces bovis* un organisme parasite trouvé dans une infection de la mâchoire d'un bovin (Hubert, 2022). Les actinobactéries ont été isolés pour la première fois par Cohn en 1875 à partir de la source humaine (Williams *et al.*, 1984). C'est en 1943 que Waksman a pu isoler un genre d'actinobactéries à partir du sol. Ce même auteur, divise l'histoire des actinobactéries en quatre grandes périodes. La première, comprise entre 1874 et 1890, est celle de la découverte de leur rôle pathologique. La seconde période, allant de 1900 jusqu'à 1910, se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinobactéries du sol. Ensuite, vient la troisième période cernée entre 1919 et 1940 au cours de laquelle, une meilleure connaissance des germes a été acquise grâce aux recherches de Waksman, de Lieske, de Krassilinkov. La quatrième et dernière partie qui dura jusqu'à ce jour allant de 1940, est celle des antibiotiques produits par les actinobactéries. De ce fait, on peut noter les travaux du professeur Sabou Naser Eddine en Algérie (1980) et ses collaborateurs.

1.2. Définition et caractéristiques des actinobactéries

Elles ont la capacité de produire une grande variété de métabolites secondaires tel que : les antibiotiques, les enzymes, les auxines...

Les actinobactéries représentent un phylum bactérien, qui constitue une grande partie du sol. La plupart d'entre eux, sont terrestres en plus d'une minorité marine. Ces bactéries font parties des groupes à Gram positif, dont le coefficient de Chargaff est supérieur à 55%, compris généralement entre 60 et 75% (Ameur, 2014).

Bien que les actinobactéries soient des microorganismes procaryotes, leur morphologie en forme d'hyphe ressemble fortement à celle des microorganismes eucaryotes, comme les champignons filamenteux. Leur reproduction, se fait via des spores ou des fragmentations d'hyphes (Bouaziz, 2018).

L'abondance de l'activité de ces microorganismes est principalement orchestrée par la disponibilité des nutriments, la nature et l'abondance de la matière organique, la salinité, la teneur en humidité relative et la température (Arar, 2019). De plus, la majorité des actinobactéries, sont chimioorganotrophes aérobies, mésophiles et croissent de façon optimale dans un pH compris entre 5,0 et 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité. (Harir, 2018).

Ces bactéries peuvent être autotrophes, hétérotrophes, phototrophes ou chimiotrophes. Elles se caractérisent par une grande polyvalence métabolique. Cela, leur permet d'utiliser de multiples sources de carbone et d'azote et de survivre sous un grand nombre de substrats (Litizia *et al.*, 2016).

La majorité des actinomycètes est saprophyte, mais quelques-uns peuvent être pathogènes ou symbiotes de plantes ou d'animaux (Williams *et al.*, 1983). Les caractères culturels contribuent parfois à différencier les groupes d'actinomycètes entre eux. Ces caractères consistent en :

1.2.1. Caractéristiques macromorphologiques

- La production ou non d'un mycélium aérien (MA).
- La présence d'un mycélium du substrat (MS).

- Détermination de la couleur du mycélium aérien et du mycélium du substrat ainsi que des pigments diffusibles dans le milieu de culture.

1.2.2. Caractéristiques micromorphologiques

- La fragmentation ou non du mycélium du substrat.
- La formation de spores sur le mycélium aérien et /ou sur le mycélium du substrat, leur forme, leur taille et leur agencement : isolées, par deux ou en chaînes.
- Mode de sporulation : spores portées par des sporophores ou mycélium aérien qui se fragmente de manière anarchique en spores.
- Présence de spores mobiles ou non mobiles (Arar, 2019).

1.3. Cycle de vie

Le cycle de vie des actinobactéries, est l'un des plus développé et complexe, comportant trois processus physiologiques majeurs respectivement, la germination, la sporulation et sénescence (Danilenko *et al.*, 2005). De ce fait, ce cycle permet d'obtenir deux types de mycélium à partir d'une spore.

Premièrement, une germination a lieu. La présence du calcium est indispensable pour l'accomplissement de cette phase (Harir, 2018). La croissance est d'abord apicale, qui donne naissance à un mycélium ramifiée et non fragmenté appelé « mycélium du substrat » (O'Gara *et al.*, 2008). Le développement de cet hyphe dans la partie superficielle, donne un « mycélium aérien ». Après quelques jours de croissance, les mycéliums se différencient pour former des spores asexuées (Kim *et al.*, 2004 ; Smaoui, 2010) qui peuvent être classées en deux types : les endospores et les exospores selon leur mode de reproduction (Harir, 2018). Ces dernières, permettent la survie de l'espèce dans les conditions défavorable (Saffory, 2006). En effet, les endospores hautement résistantes (Kitouni, 2007) ont des caractéristiques pour le genre *Thermoactinomyces*, produites par des actinobactéries thermophiles (Harir, 2018). Tandis que les exospores qui sont les plus fréquentes, les moins résistantes (Kitouni, 2007) représente des formes très variables. Elles sont formées par la fragmentation d'hyphe aérien qui donne naissance à un hyphe végétative (Harir, 2018). Après la sporulation le mycélium

végétative s'autolyse et les produits de la lyse sont utilisés par le mycélium aérien (Smaoui, 2010).

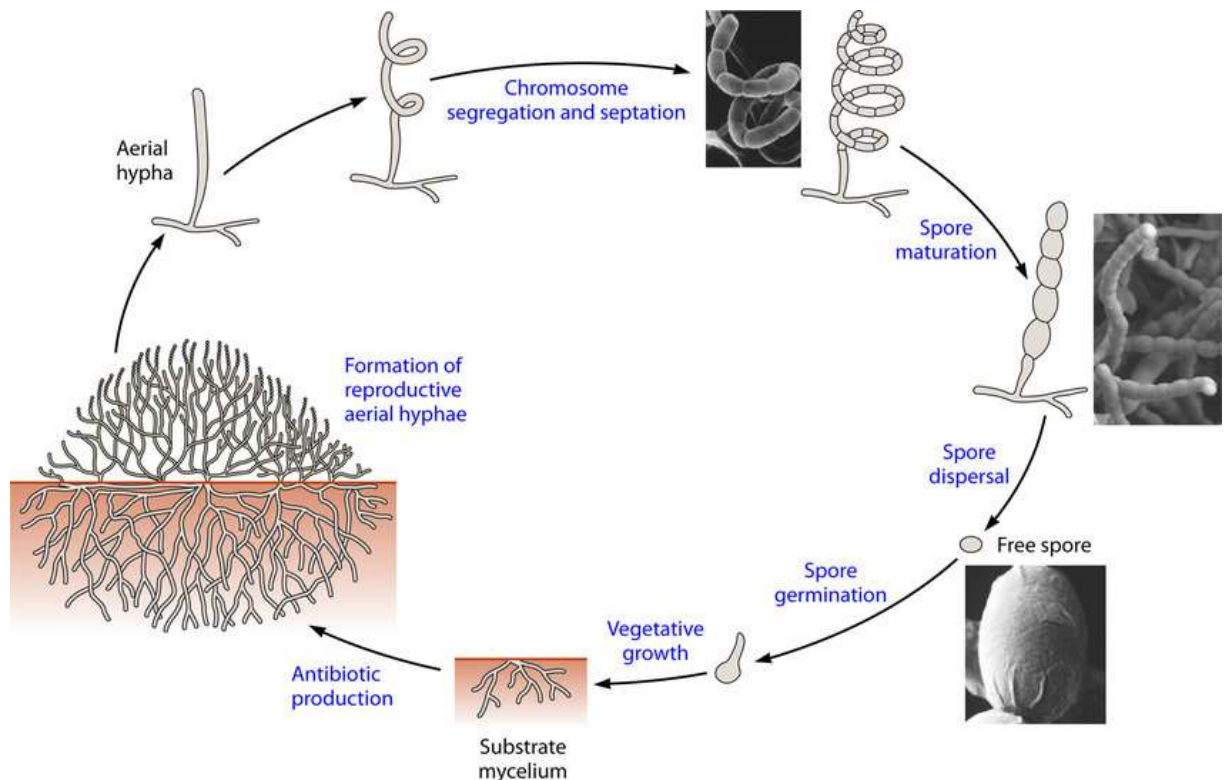


Figure 1 : le cycle de vie d'actinomycètes (Berka et al., 2016).

1.4. Taxonomie

Selon le *Bergey's manual of systematic bacteriology* (le volume cinq, 2012) le phylum Actinobacteria comprend cinq classes, 19 ordres, 50 familles et 221 genres (Oulmi, 2014). Ainsi, la classification est basée sur plusieurs critères comme suit :

1.4. 1. Les critères morphologiques

- a. critères macromorphologique : type et couleur du mycélium, la présence ou non de spores, la pigmentation.
- b. critères micromorphologique : fragmentation des mycéliums, la mobilité des spores et leur disposition sur les hyphes, leur nombre, la présence ou non de sporanges et leur type (Ibrahimi, 2020).

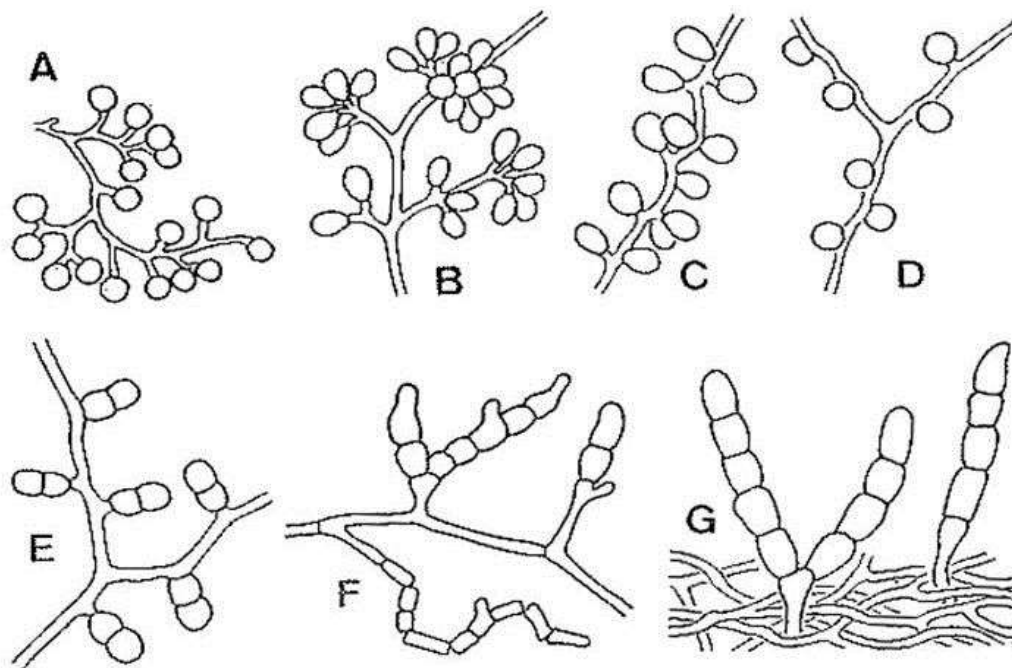


Figure 2: Différentes chaînes de spores chez les actinobactéries . A) *Micromonospora*, (B) *Thermomonospora*, (C) *Saccharomonospora*, (D) *Thermoactinomyces*, (E) *Microbispora*, (F) *Nocardia brevicatena*, (G) : *Catellatospora* (Qunyuanyan li et al., 2016). <https://www.intechopen.com/media/chapter/49285/media/image5.jpg>.

1.4.2. Les critères chimiotaxonomique

Ces critères sont basés sur la détermination de la composition cellulaire en acides aminés pariétaux, en sucres (cellules entières) et en lipides membranaires et pariétaux (Jones et Krieg, 1989). Les parois des actinobactéries sont principalement composées de glucides, d'acides aminés pariétaux, de peptidoglycane, de sucres cellulaires, de phospholipides membranaires et produisent massivement les d'antibiotique (Ibrahimi, 2020).

Tableau 1: différents types de parois et leur constituants majoritaires chez les actinobactéries (Ibrahimi, 2020).

Type de paroi	Constituants pariétaux majeurs	Genres représentatifs
I	L-DAP+Glycine	<i>Arachina</i> , <i>Pimelobacter</i> , <i>Nocardiodes</i> , <i>Streptomyces</i>

II	Méso-DAP +Glycine	<i>Actinoplanes, Actinomyces</i>
III	Méso-DAP	<i>Dermatophilus, Maduromycetes, Frankia, Geodermatophilus, Thermonospora, Kitasatospira, Spirillosporia, Thermoactinomyces</i>
IV	Méso-DAP +Arabinose,galactose	<i>Micropolyspora, Nocardioformes</i>
V	Lysine + Ornithine	<i>Actinomyces</i>
VI	Présence variable de L'acide aspartique et de galactose	<i>Microbacterium, Oerskovia, Promicromonospora, Actinomyces, Arcanobacterium</i>
VII	Acide diaminobutyrique + Glycine	<i>Agromyces, Calvibacter</i>
VIII	Ornithine	<i>Aureobacterium, Curtobacterium, Cellulomonas</i>

1.4.3. Les critères physiologiques

Cette étude basée sur les tests de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques et protéiques (Ibrahimi, 2020). Des tests de résistance, tolérance au pH, la température, la salinité.

1.4.4. Les critères moléculaires

Le séquençage d'ADN ribosomal 16S et l'hybridation ADN-ADN, le pourcentage G+C dans le cas de nouveaux genres (Loqman, 2009).

a. Le séquençage d'ADN ribosomal 16S

Il s'agit d'un gène chromosomique d'une taille d'environ 1500 paires de bases présent chez toutes les bactéries qui s'appelle l'ADNr 16S, c'est l'outil de l'identification moléculaire (Boudjelal, 2012).

Le séquençage débute par l'amplification du gène par la technique de PCR à l'aide d'une ADN polymérase thermostable. Après la polymérisation nous recevons plusieurs taxons qui doivent subir une étude comparative avec les autre taxons qui sont présent dans les banques de donnés génomique. Si le taux de similarité des séquences est inférieur ou égale à 97% les souches sont différentes, et similaire si le taux de similarité est supérieur à 97% (Boudjelal, 2012).

b. Hybridation ADN-ADN

Cette technique est basée sur les propriétés d'appariement des bases complémentaires entre deux séquences nucléotidiques. Si le taux d'hybridation est inférieur à 70% les espèces sont différentes (Boudjelal, 2012).

C. le pourcentage GC%

Selon Chargaff *et al.*, 1949, le taux de bases pyrimidiques de l'ADN peut varier d'un genre à une autre, mais il est identique au sein de la même espèce. De ce fait, lorsque deux bactéries représentent une variation de 10% dans le pourcentage G+C, cela signifie que les deux bactéries font parties de deux genres différents (Boudjelal, 2012).

Le phylum Actinobacteria à un pourcentage de GC supérieure à 55%, cela lui permet de se distinguer facilement des autres genres (Boudjelal, 2012).

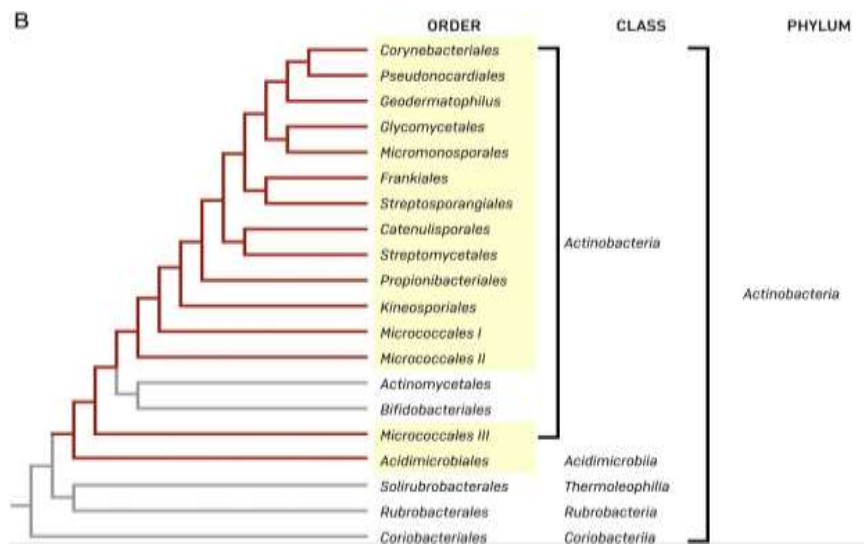


Figure 3 : l'arbre phylogénétique d'actinobactérie (Wei-Chun K, *et al.*, 2016).
<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0005272816305916-gr1.jpg>.

1.5. Ecologie des actinobactéries

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires que l'on rencontre dans la plupart des niches écologiques (Boudjelal, 2012). La grande proportion est d'origine tellurique et c'est à partir du sol que ces bactéries peuvent coloniser de nombreux biotopes : air, composts, eaux... (Groth *et al.*, 1999). Ils sont présents dans

les sols polaires gelés, les sols désertiques chauds et secs, le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec des métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés. Par contre, ils semblent être absents des eaux minières très acides ($\text{pH} < 1$) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique (Groth et al., 1999).

La fonction écologique des actinomycètes au sein des écosystèmes, est la décomposition des substances organiques. Les actinomycètes, fort nombreux dans les sols, se joignent aux autres Bactéries et aux champignons comme nettoyeurs de la nature et formateurs d'humus (Rayen *et al.*, 2012). Ils prolifèrent surtout quand l'action des bactéries ordinaires touche à sa fin, on pourrait dire qu'ils terminent leur action (Eubert *et al.*, 2020).

Tout le monde connaît l'odeur de la terre fraîchement labourée. Cette odeur est due surtout à une huile neutre de bas poids moléculaire « **la Géosmine** » produite par les actinomycètes présents dans le sol.

En plus de leur influence importante sur la santé humaine, les actinobactéries ont des rôles écologiques clés. Avant de se concentrer sur la découverte d'antibiotiques, les travaux du lauréat du prix Nobel Selman Waksman sur les bactéries du sol et leur impact sur la productivité agricole, ont été parmi les premiers à impliquer les actinobactéries comme des contributeurs importants au processus de décomposition de la biomasse végétale. Plus récemment, les actinobactéries se sont révélées être des symbiotes répandus d'eucaryotes, aidant les herbivores à accéder à la biomasse végétale en tant que mutualistes nutritionnels et produisant des produits naturels en tant que mutualistes défensifs. Des études sur les actinobactéries en tant que mutualistes défensifs, ont conduit à la découverte de nouveaux antibiotiques avec des applications pharmaceutiques potentielles, renouvelant la reconnaissance de la valeur de la compréhension de l'écologie des actinobactéries pour la découverte de médicaments et écoutant en retour au voyage de Waksman à la découverte de la streptomycine.(Hubert, 2020).

Outre les interactions avec les micro-organismes, les actinobactéries filamenteuses interagissent largement avec les organismes supérieurs, vivant souvent en symbiose mutualiste avec leur hôte. En particulier, les espèces de *Streptomyces* forment des

associations étroites avec les plantes en tant qu'endosymbiotes, saprophytes et agents pathogènes (Van der Meijer *et al.*, 2017).

2. Le genre *Nocardiopsis*

2.1. Historique

Une nouvelle souche a été isolée à partir d'un sédiment Marin en Egypte. Elle représente un mycélium aérien beige à jaune claire, un mycélium du substrat brun et des hyphes droites à flexueuses avec une variation dans les chaînes des spores (Sabri *et al.*, 2004). Elle est aérobique à Gram positive (She *et al.*, 2022). Les caractères physiologiques et chimio taxonomique de cette dernière correspondant à celles du genre *Nocardiopsis*, pour établir cette hypothèse les chercheurs sont passés à l'étude d'ADNr 16S le résultat montre que cette souche est phylogénétiquement apparentée au genre *Nocardiopsis* avec une variation de 2% par rapport aux autres espèces. Cette étude a conduit à la découverte d'une nouvelle souche qui s'appelle *Nocardiopsis aegyptia* (Sabri *et al.*, 2004).

2.2. Ecologie

Parmi les actinobactéries, celles qui sont halophiles ou halotolérantes suscitent l'intérêt tant du point de vue taxonomique que biotechnologique (Smati et Kitouni, 2019). Les écosystèmes extrêmes comme les sebkhas représentent des niches écologiques intéressantes pour l'isolement des espèces bactériennes déjà connues ou de nouvelles espèces.

Il existe plusieurs écosystèmes extrêmes en Algérie, on va prendre comme exemple les sabkha. La recherche réalisée par Smatti, sur les actinobactéries dans les deux sites : les sabkhas d'Ezzemoul et de Djendli, des régions caractérisées par leur climat semi-aride qui provoque la salinisation des sols (Rengasamy, 2006). Parmi les espèces isolées de cette recherche les *Nocardiopsis*.

2.3. Classification

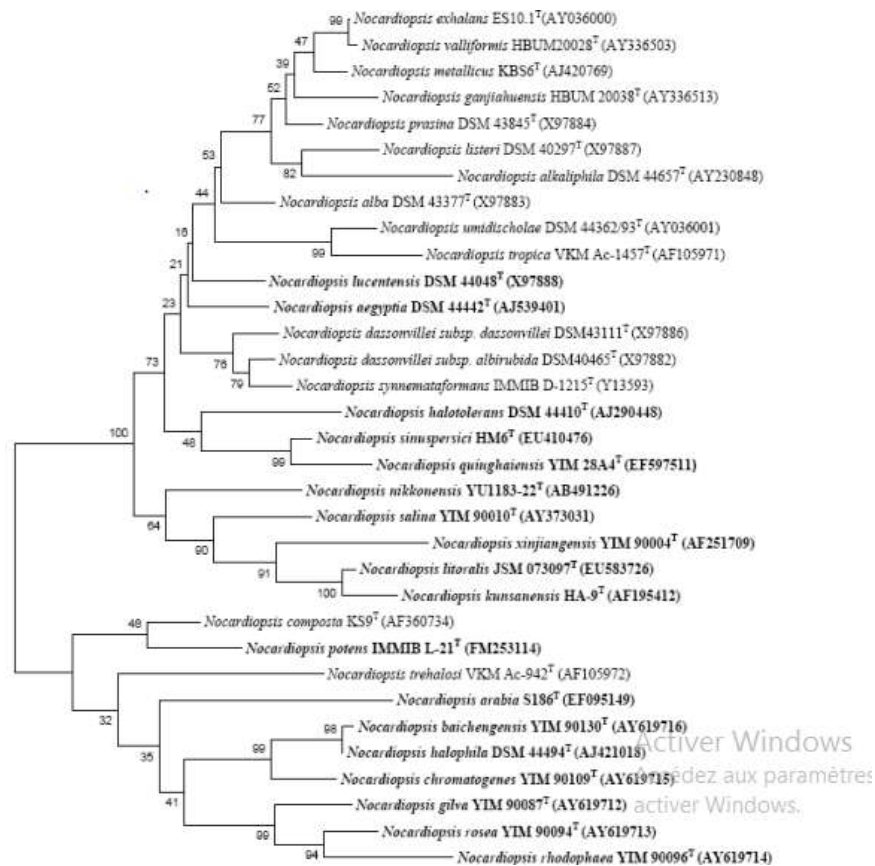


Figure 4 : Dendrogramme montrant les relations phylogénétiques entre la majorité des espèces de *Nocardioptis*, établi sur la base de l'analyse des séquences de l'ADNr 16S, et construit à partir des distances d'évolution par la méthode du "neighbor-joining". La barre indique 0,005 substitution par position de nucléotide. (Boudjelal, 2012).

2.4. Mécanisme d'adaptation aux solutions salines

Pour s'adapter aux conditions salines, les bactéries halophiles ont développé diverses stratégies pour maintenir leur structure et leurs fonctions cellulaires. Il s'agit notamment, de l'accumulation d'osmolytes (Vargas *et al.*, 2008). Dans ce cas, il y a la synthèse de substances osmorégulatrices. Ces dernières, sont accumulées dans le cytoplasme à une concentration supérieure à 1 moles/Kg d'eau. Elles n'interagissent pas avec les métabolites cellulaires mais elles servent purement à une fonction osmotique en permettant une rapide adaptation à différentes concentrations de NaCl. Une intervention de la machinerie enzymatique a aussi été constaté (Boudjelal, 2012).

Tableau 2 : Liste des espèces d'actinobactéries halophiles et halotolérantes de l'Ordre des Actinomycetales et de la famille des Nocardiopsaceae. (Boudjelal, 2012).

Espèces	Origine	Gamme (optimum) de NaCl (%)	Référence
<i>Haloactinospora alba</i>	Lac salé, Xinjiang (Chine).	15	Tang <i>et al.</i> (2008)
<i>Nocardiopsis nikkonensis</i>	Compost (Japon).	0-10	Yamamura <i>et al.</i> (2010)
<i>Nocardiopsis terrae</i>	Sols salés, Bassin de Qaidam (Chine).	1-15 (3-5)	Chen <i>et al.</i> (2010a)
<i>Nocardiopsis sinuspersici</i>	Sol sableux rhizosphérique (Golfe persique).	0-15 (2,5)	Hamed <i>et al.</i> (2010)
<i>Nocardiopsis potens</i>	Déchets ménagers.	0-16 (12)	Yassin <i>et al.</i> (2009)
<i>Nocardiopsis litoralis</i>	Mer "Anémone"(Chine).	1-15 (5-7)	Chen <i>et al.</i> (2009)
<i>Nocardiopsis arabia</i>	Sable (Egypte).	0-18	Hozzein and Goodfellow (2008).
<i>Nocardiopsis quinghaiensis</i>	Sols salés, bassin de Qaidam (Chine).	0-10 (3)	Chen <i>et al.</i> (2008)
<i>Nocardiopsis baichengensis</i>	Sédiments salés du Xinjiang (Chine).	0-18 (5-8)	Li <i>et al.</i> (2006)
<i>Nocardiopsis chromatogenes</i>	" " "	0-18 (5-8)	Li <i>et al.</i> (2006)
<i>Nocardiopsis gilva</i>	" " "	0-18 (5-8)	Li <i>et al.</i> (2006)
<i>Nocardiopsis rhodophaea</i>	" " "	0-18 (5-8)	Li <i>et al.</i> (2006)
<i>Nocardiopsis rosea</i>	" " "	0-18 (5-8)	Li <i>et al.</i> (2006)
<i>Nocardiopsis salina</i>	" " "	3-20 (10)	Li <i>et al.</i> (2004a)
<i>Nocardiopsis aegyptia</i>	Sédiments marins (Egypte).	5-30	Sabry <i>et al.</i> (2004)
<i>Nocardiopsis xinjiangensis</i>	" " "	10	Li <i>et al.</i> (2003a)
<i>Nocardiopsis halotolerans</i>	Sols salés du Koweit.	0-15 (10)	Al Zarban <i>et al.</i> (2002a)
<i>Nocardiopsis kunsanensis</i>	Marais salant (Corée).	3-20 (5-15)	Chun <i>et al.</i> (2000)
<i>Nocardiopsis halophila</i>	Sols salés (Irak).	3-20 (5-15)	Al Tai et Ruan (1994)
<i>Nocardiopsis lucentensis</i>	Sols salés (Espagne).	5-10 (7)	Yassin <i>et al.</i> (1993)
<i>Streptomonospora alba</i>	Sols du Xinjiang (Chine)	5-25 (10-15)	Cui <i>et al.</i> (2001)
<i>Streptomonospora salina</i>	" " "	15	Li <i>et al.</i> (2003d)
<i>Streptomonospora halophila</i>	Sols hypersalés (Chine).	5-20 (10)	Cai <i>et al.</i> (2008)
<i>Streptomonospora amylolytica</i>	" " "	" "	Cai <i>et al.</i> (2009)
<i>Streptomonospora flavabla</i>	" " "	" "	" "

3. Les intérêts des actinobactéries

Les actinobactéries ont une importance majeure dans la biotechnologie grâce à leur capacité de produire un nombre important des antibiotiques et des enzymes ainsi que d'autres métabolites secondaires bioactifs ayant des applications dans divers domaines notamment industriel, alimentaire, biotechnologique et pharmaceutique (Vijayakumar *et al.*,, 2007). Aussi ils ont des rôles importants dans le sol et dans les interactions avec les plantes, et ont une grande importance économique et des rôles importants dans les domaines d'agronomie et de chimie.

3.1. L'importance dans le domaine agronomique

Les actinobactéries ont la capacité de dégrader et transformer la matière organique complexe non dégradables par les autres microorganismes dans le sol, tel que les polymères complexes, les polysaccharides, la chitine et les lignocelluloses des plantes (Goodfellow *et al.*, 1984), donc ils jouent un rôle important dans la fertilité des sols grâce à un potentiel enzymatique riche. Ils peuvent aussi dégrader la biomasse et décomposer des déchets agricoles ou urbains. Les actinobactéries sont également utilisés dans la lutte biologique contre les agents phytopathogènes telluriques, grâce à leurs pouvoirs antagonistes (Sutthinan, 2009).

5.2. L'importance pharmaceutique

Les actinobactéries ont la capacité à produire plusieurs métabolites secondaires tels que les antibiotiques qui constituent la part la plus importante des applications industrielle. Selman Waksman a été le premier à démontrer l'abondance des actinomycètes sur le terrain. C'est dans ses laboratoires que furent isolés les quatre premiers antibiotiques utiles : l'actinomycine (1940), un agent antitumoral ; la streptomycine (1944), antibactérien notamment contre la tuberculose ; la néomycine (1949), antibactérien et la candidicine (1953) un agent antifongique.

Après les antibiotiques les plus importants produits synthétisé par les actinobactéries sont les enzymes. Certaines sont utilisées à cet effet dans l'industrie alimentaire tel que l'isomérase du glucose et dans celle des détergents comme les protéases (Kitouni, 2007). Aussi les glycosidases jouent un rôle important dans la dégradation des biomasses végétales (amylases, xylanases) et animales (chitinases). D'autres enzymes peuvent avoir des applications médicales : neuraminidases, estérases et oxydases des stéroïdes et d'autres sont utilisées en biologie moléculaire : endonucléases de restriction.

Les actinobactéries produisent des enzymes inhibiteurs des antibiotiques pour se protéger de leur action toxique. Ils secrètent également des antitumorales

(actinomycine), des insecticides (mikkomycine), des pesticides (antimycine A), des herbicides (phinotricine) (Kitouni, 2007). Plus de 60% des substances médicamenteuses utilisées en chimiothérapie cancéreuse la plupart proviennent de composés naturels et d'actinobactéries, tels que l'actinomycine D (Demain et Lancini, 2006).

4. L'acide indole acétique (AIA)

Les actinobactéries jouent un rôle important dans la protection de l'environnement en améliorant la croissance des plantes grâce à la fixation de l'azote, à la biodégradation (Djebaili *et al.*, 2020), et à la production des régulateurs de croissance ; on va prendre à titre d'exemple les phytohormones.

D'une façon générale, une hormone est une molécule synthétisée par un organisme à des concentrations variées. Cette dernière, va avoir une action sur le développement de cet organisme. On distingue quatre groupes de phytohormones : (Gomez, 2003).

- Les auxines
- Les gibbérellines
- Les cytokinines,
- Les brassinostéroïdes

Les auxines sont les premières hormones de croissance à être découvertes. Les auxines sont une classe d'hormones végétales dérivées du tryptophane ou autre. Les plantes produisent des auxines naturelles comme l'acide indole-3-acétique et l'acide indole butyrique. Les auxines naturelles se trouvent dans les tiges et les racines en croissance (Agri, 2020).

4.1. Définition et structure chimique de l'AIA

L'AIA soit l'acide 1H-indole-3-acétique, est l'hormone végétale naturelle la plus courante de la classe des auxines (Zhao, 2010). C'est l'un des auxines les plus physiologiquement actives (Malhotra et Srivastava, 2008). C'est un composé organique

de formule $C_{10}H_9NO_2$, la masse molaire 175, 184 g/mol, fusion : 168,5 °C, c'est un solide incolore soluble : très soluble dans l'éthanol, l'éther, l'acétone, le benzène et insoluble dans l'eau (Gomez, 2003).

L'AIA, est formé d'un noyau indole et d'une courte chaîne latérale carbonée portant le groupement carboxyle (Perrot, 2022).

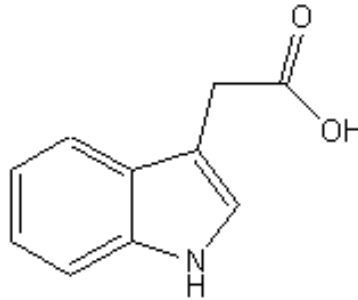


Figure 5 : Structure de l'acide indole acétique (Herrbach, 2013).

4.2. Le rôle de l'AIA

La production d'acide indole-3-acétique par les rhizobactéries plus précisément les actinobactéries, joue un rôle important dans les interactions bactériennes des plantes. Diverses espèces bactériennes possèdent la capacité de produire la phytohormone auxine (AIA) (Perrot, 2020). De ce fait, les effets de l'auxine dépendent des concentrations de l'hormone dans un organe donné. Les nombreux rôles de l'auxine sont :

- L'élongation cellulaire (sur cellules jeunes aux parois extensibles)
- La division cellulaire : L'auxine stimule les mitoses, mais cette action ne s'exerce pas indistinctement sur tous les méristèmes, En revanche, elle a une action très marquée sur la prolifération des cambiums (Fukaki et al., 2008).
- L'auxine contribue à la croissance des tiges et des rameaux, à partir des bourgeons apicaux ou axillaires (concentration d'auxines) par contre l'élongation des entre nœuds n'est pas le fait de l'auxine (Spaenpen et al., 2007).

- Au niveau des feuilles, les pétioles et les gaines, leur élongation est stimulée par l'auxine. Cependant, l'action de l'auxine sur l'élongation des racines est toute différente de son action sur les tiges (Raven et al., 2007).

Les plantes qui synthétisent l'AIA peuvent prévenir les effets délétères des stress environnementaux ce qui donne des fruits sains, mures et sans aucune impuretés (Dinesh, 2011).

4.3. Mode d'action de l'AIA

Plusieurs paramètres physiologiques chez la plante sont influencés par l'AIA, comme l'élongation et la division cellulaire, la dormance apicale, la différenciation des tissus vasculaires et la production d'éthylène. Également, on dénombre l'initiation et la prolifération racinaire aboutissant ainsi à une meilleure disponibilité en eau et en nutriments (Keyeo *et al.*, 2011). Chez de nombreuses espèces de *Streptomyces*, l'AIA stimule aussi la formation du mycélium et améliore également la production des antibiotiques (Matsukawa *et al.*, 2007).

4.4. La biosynthèse d'AIA

Comme il a déjà été mentionné, l'AIA est une phytohormone qui a un rôle majeur dans l'élongation racinaire, elle est synthétisée dans les apex des tiges, dans les méristèmes et les jeunes feuilles, ou bien par les microorganismes du sol bactéries, champignon, algue (Kudoyarova *et al.*, 2019). Cela est réalisé via cinq voies (Leblond-casstaing, 2011), quatre voies en présence de tryptophane qui est le précurseur principale (Simon, 2021) et la cinquième voie indépendantes du tryptophane (Choloe, 2006 ; Laura *et al.*, 2009 ; Herrbach, 2013).

La première voie c'est l'utilisation de tryptophane-2-mono-oxygénase pour transformer le tryptophane en indole-3-acétamide qui va se transformer en acide indole acétique, ensuite on a la voie IAOx et glucosinate les enzymes de cette voie ne sont pas encore connues elle conduit à la formation d'AIA et de glucosinate indolique, troisièmement on a la voie TAM le substrat de cette voie est la tryptamine qui va se convertir en AIA à l'aide des enzymes qui possèdent des fonctions redondantes, en fin on a la voie IPA l'intermédiaire de cette voie c'est l'Indole-3-pyruvate qui va se

transformer en AIA par une Tryptophane aminotransférase. Dans la voie indépendante de tryptophane le précurseur c'est l'indole- 3-glycérol phosphate au bien l'indole (Leblond-casstaing, 2011).

80% des rhizobactéries sont capables de produire les phytohormones tel que les actinomycètes le genre *Agrobacterium* ou certain pathovares (Kudoyarova *et al.*, 2019) par l'utilisation des matières qui sont présentes dans la rhizosphère.

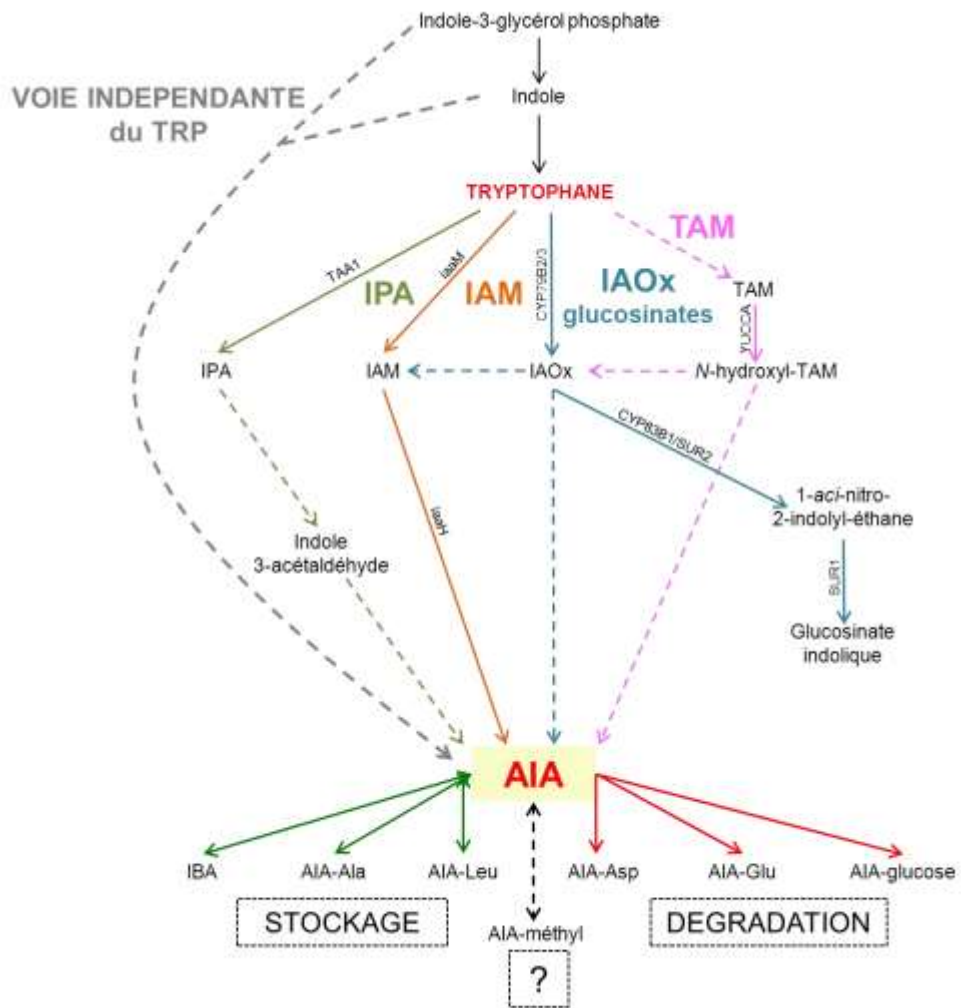


Figure 6 : Voies de biosynthèse de l'acide 3-indole acétique (AIA) chez les plantes et les microorganismes ainsi que les différents modes de conjugaison (leblond casstaing, 2011).

Matériel & Méthodes

Matériel et méthodes

Les objectifs de cette étude, sont :

- L'identification morphologique d'une souche actinomycète
- Tester la capacité de cette souche à produire l'Acide Indole Acétique.

Pour cela, plusieurs techniques ont été appliquées avec précision afin d'avoir des résultats fiables et reproductibles. Ainsi, nous avons procédé d'une manière méthodique.

1. Préparation des milieux de culture

Nous avons préparé huit milieux de culture : ISP2, ISP5, ISP5 modifié, ISP7, DSMZ65, Glucose-Asparagine, Czapek Dox Agar, GELM dont les différentes compositions sont mentionnées en annexes 1. Tous ces milieux, ont été stérilisés pendant 20 minutes à 121 °C. Le pH de chaque milieu est individuellement ajusté.

2. Préparation de matériel biologique

La souche bactérienne utilisée, était conservée à -18 °C, dans un milieu ISP5 contenant le glycérol (v/v) et 5% d'Na Cl. Pour confirmer sa viabilité et sa croissance, nous l'avons ensemencé sur les milieux de culture ISP7 et DSMZ65 à partir du tube de conservation par la technique d'épuisement, les cultures ont été incubées à 30 °C pendant 5 jours.

3. Etude morphologique

Après 5 jours de revivification, la souche est mise en culture par deux techniques d'ensemencement : en trois quadrants et la technique des lamelles sur les milieux : ISP2, ISP5, ISP5M, ISP7, DSMZ65, GELM, Czapek Dox Agar, glucose-asparagine. La lecture s'est faite après 7 et 21 jours d'incubation à 30 °C.

2-1 Etude macroscopique

L'observation a été faite à l'œil nu dans des conditions d'asepsie. Cette étude, nous permet la détermination de certains caractères morphologiques qui sont :

- le degré de croissance,
- la forme et la couleur de la colonie,
- la présence ou l'absence de mycélium du substrat,
- la présence ou non des spores et leurs pigmentations.

2-2 Etude microscopique

La réalisation de la technique des cultures sur lamelles, consiste à :

- Insérer délicatement une lamelle stérilisée par l'éthanol dans les milieux de culture (une boîte de chaque milieu) de façon à former un angle de 45° ;
- Une petite quantité de culture est déposée contre la lamelle en contact avec la gélose ;
- Après 7 et 21 jours d'incubation une lamelle est retirée délicatement du milieu gélosé ;
- En fin, une coloration simple au bleu de méthylène et l'observation au microscope optique à l'objectif x100 avec l'huile à émersion.

Cette technique nous a permis de définir les caractéristiques du mycélium aérien et le mycélium du substrat, leur mode de développement, la forme et la présence ou non des spores.

4. La productivité d'AIA par la souche *Nocardiopsis*

4.1. Préparation de l'inoculum

La masse sporale d'une culture de 7 jours sur le milieu ISP7 à 30 °C est raclée à l'aide d'une anse à usage unique, la masse récupérée est resuspendue dans 40 ml de l'eau physiologique stérile (annexe 1). Toute cette opération se passe en condition d'asepsie totale. Après une agitation vigoureuse, la densité optique de cette suspension est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 660 nm.

4.2. Production de l'acide indole acétique

La capacité de production d'AIA par la souche est effectuée sur douze milieux de fermentation liquides préparés (annexes 2). Ces milieux sont constitués de bouillon du milieu GBA enrichie par l'extrait de levure, Na NO₃, la peptone, Trp, Mg SO₄ et additionnée de Na Cl 5 % et 10 %, le pH est ajusté entre 7 et 9 (tableau 3). Six de ces milieux sont additionnés par la mélasse de dattes, puis agités et stérilisés. Les milieux sont inoculés avec 2 ml de la suspension bactérienne. Les cultures sont alors incubées pendant 5 jours à 30 °C.

Tableau 3 : la répartition des pourcentages de Na Cl et de pH dans les douze milieux de fermentation.

Milieux	Na Cl (%)	pH
M1	5	7
M2	10	7
M3	10	7
M4	10	9
M5	5	7
M6	5	9
M7	5	9
M8	10	7
M9	5	9
M10	10	9
M11	10	9
M12	5	7

5. La mise en évidence de la présence de l'AIA

5.1. Récupération des filtrats

Après 5 jours d'incubation, nous avons filtré les 12 cultures à travers la gaze et du papier filtre Wattman n°01.

5.2. Dosage de l'AIA

La mise en évidence de la production de l'AIA est réalisée par la méthode colorimétrique décrite par Brick *et al.*, 1991, en utilisant le réactif de Salkowski.

2ml de chaque filtrat récupéré sont ajoutés à 4ml de réactif de Salkowski. Les tubes sont mis à l'obscurité pendant 30 min et 24h. La densité optique des 12 tubes est mesurée au spectrophotomètre à $\lambda=530$ nm. Les quantités d'AIA produites sont calculées à l'aide de la courbe étalon d'AIA de Monita *et al.*, (2014)

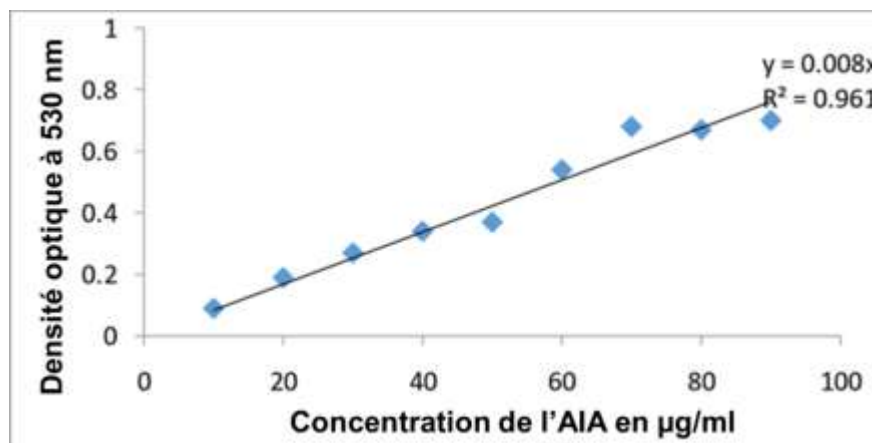


Figure 7 : Courbe étalon de l'AIA (Monita *et al.*, 2014).

Résultats & Discussion

Résultats et discussion

1. Revivification

Après 5 jours d'incubation nous avons observé une bonne croissance de *Nocardioopsis aegyptia* sur les milieux : ISP7 et DSM65



Figure 8 : photographies qui représente la culture de *Nocardioopsis aegyptia* âgée de 5 jours sur le milieu DSMZ65 et ISP7.

2. Etude morphologique

Cette étude permet de déterminer les caractéristiques macroscopique et microscopique pour permettre la caractérisation de différentes espèces des différents genres.

2.1. Etude macroscopique

Plusieurs milieux de culture sont utilisés pour déterminer la bonne croissance de la souche. Les différents degrés de croissance ont été observés sur différents milieux de culture. La croissance est rapide sur les milieux ISP7 et DSMZ65, les colonies apparaissent dès le troisième jour de l'ensemencement alors qu'elle est moyenne sur le milieu Czapec-Dox-Agar, et faible sur le milieu Glu-Asp. Elle est nulle sur les milieux : ISP5, ISP5 modifié et GELM (tableau 02).

Le milieu ISP7 après sept jours d'incubation donne de petites colonies, plates, de couleur gris verdâtre avec des bordures irrégulières. Sur le milieu Glu-Asp, les colonies sont petites, bombées, avec des bordures irrégulières, de couleur blanche. Sur le milieu DSMZ65; les colonies ont un aspect dentelaire, petites, avec des bordures irrégulières de couleur blanche. Sur le milieu Czapec Dox Agar les colonies sont petites avec des bordures régulières, un aspect poudreux et une couleur blanche.

Tableau 4 : Aspect macroscopique de la souche *Nocardiosis aegyptia* cultivée sur différents milieux de culture après 7 et 21 jours.

Durée d'incubation	Milieu	Croissance	Mycélium du substrat	Mycélium aérien	Masse sporale	Production des pigments diffusibles
Après 7 jours à 30 °C	ISP2	-	-	-	-	-
	ISP5	-	-	-	-	-
	ISP5M	-	-	-	-	-
	GELM	-	-	-	-	-
	Glucose-asparagine	+	+	+	+/-	-
	DSMZ65	+	+	+	+	-
	ISP7	++	-	+	+	-
	Czapec Dox Agar	++	+	+	+	-
Après 21 jours à 30 °C	ISP2	+/-	-	+	-	-
	ISP5	-	-	-	-	-
	ISP5M	-	-	-	-	-
	ISP7	++	+	+	+	-
	Glucose-asparagine	+	+	+	+/-	-
	DSMZ65	++	++	+	++	-
	GELM	-	-	-	-	-
	Czapec Dox agar	++	++	+	+	-
	ISP2	+/-	-	+	-	-

++ : Très bonne croissance. + : bonne croissance. +/- : faible croissance. - : absence de croissance.

Après 21 jours d'incubation (Figure 10) nous avons observé sur le Milieu DSMZ65 des colonies rondes, plates, petites (2mm) d'une couleur blanchâtre opaque et poudreuses. Sur le milieu Czapec Dox Agar les colonies sont sèches, plates avec des bordures irrégulières, qui ont une couleur blanchâtre et de taille petite (1mm). Sur le milieu Glucose-Asparagine les colonies sont punctiformes de couleur grise et translucides. Sur le milieu ISP7 les colonies sont rondes, blanchâtre et petite de taille (1mm) avec un aspect crémeux, la production des pigments diffusible est absente dans les quatre milieux de culture.

Une forte odeur de la **Géosmine** produite par la souche est sentie lorsque les boites de Petri sont ouvertes.

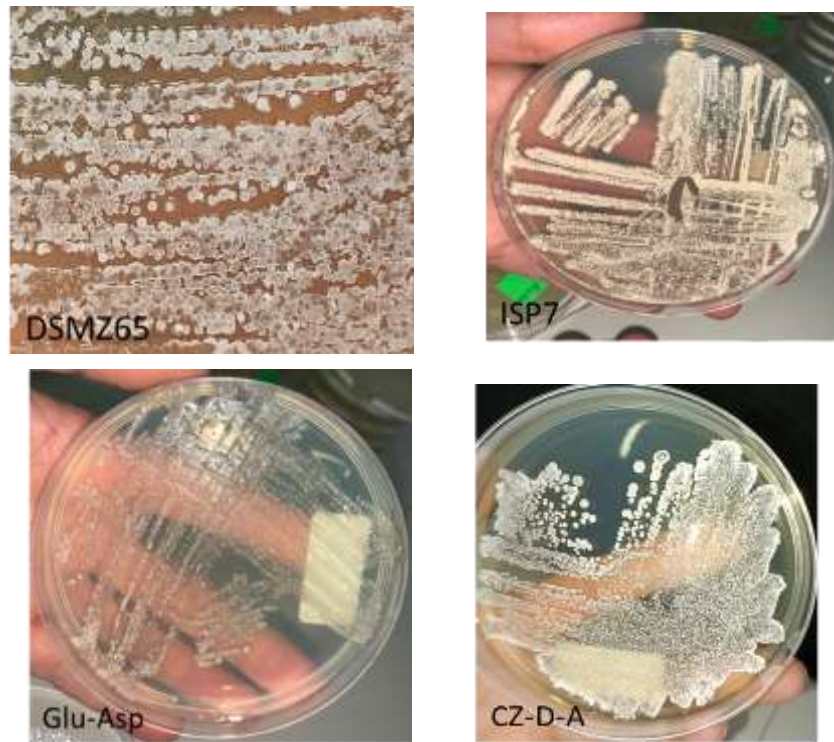


Figure 9 : la culture de la souche *Nocardioopsis aegyptia* après 7 jours d'incubation sur différents milieux de culture.

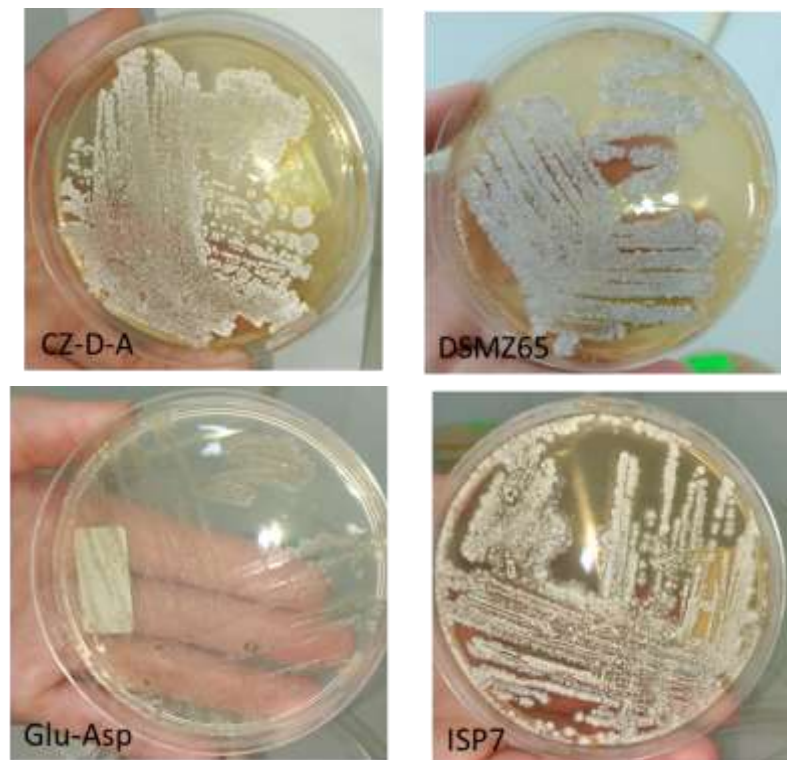


Figure 10 : la culture de la souche *Nocardioopsis aegyptia* après 21 jours d'incubation sur différents milieux de culture.

2.2. Etude microscopique

L'observation de la souche *Nocardiosis aegyptia* cultivée sur les milieux ISP7, DSMZ65 et Glu-ASP, sous microscope optique après 7 jours d'incubation, à l'aide de l'objectif à immersion après coloration au bleu de méthylène révèle ce qui suit :

- Sur le milieu ISP7 la présence d'un mycélium du substrat long, ramifié et enchevêtré. Le mycélium aérien est ramifié et fragmenté. La présence de spores rondes et isolées.
- Sur le milieu DSMZ65 le mycélium du substrat est ramifié et enchevêtré par contre le mycélium aérien est fin et peu ramifié. Les spores sont rondes.
- Sur le milieu glucose-asparagine le mycélium du substrat et le mycélium aérien sont ramifiés et riches en spores rondes et isolées.
- Sur le milieu Czapek Dox Agar le mycélium du substrat est ramifié tandis le mycélium aérien est ramifié et enchevêtré. Les spores sont rondes et isolées.

Après 21 jours d'incubation nous avons obtenu les résultats suivants : L'observation des fragments hyphales qui suit la fragmentation des mycéliums dans les deux parties substrat et aérien. Les spores sont matures bien définies qui ont une forme ronde. Elles sont organisées soit en longues chaînes ou bien isolées. La masse sporale est plus abondante que les mycéliums.

Selon (Saker, 2015) ces caractères microscopiques rappellent fortement ceux du genre *Nocardiosis* avec un MA ramifié et fragmenté de manière anarchique de couleur blanc ou beige-jaune avec une formation de chaînes de spores le MS se fragmente un peu ce qui est cohérent avec les résultats obtenus.

Tableau 5 : Description des caractères microscopique de la souche *Nocardiosis aegyptia* cultivée sur différents milieux de culture après 7 et 21 jours d'incubation.

Durée d'incubation	Milieux de culture	croissance	Mycélium de substrat	Mycélium aérien	Spores
Après 7 jours à 30 °c	ISP2	-	-	-	-
	ISP5	-	-	-	-
	ISP5M	-	-	-	-
	ISP7	+	ramifié	ramifié et enchevêtrée	rondes et isolées
	Glucose-Asparagine	+	ramifié	Ramifié et enchevêtrée	Rondes et isolées
	DSMZ65	+	ramifié	Ramifié et enchevêtré	rondes
	GELM	-	-	-	-
	Czapec Dox Agar	+	ramifié	ramifié	rondes
Après 21 jours à 30 °C	ISP2	-	-	-	-
	ISP5	-	-	-	-
	ISP5M	-	-	-	-
	ISP7	+	Ramifié enchevêtre	ramifié enchevêtre	Ronde isolée
	Glucose-asparagine	+	Fragmenté	Fragmenté	Longue chaines de forme ronde
	DSMZ65	+	Fragmenté	Fragmenté	Longue chaines de forme ronde
	GELM	-	-	-	-

++ : Très bonne croissance. + : bonne croissance. +/- : faible croissance. - : absence de croissance.

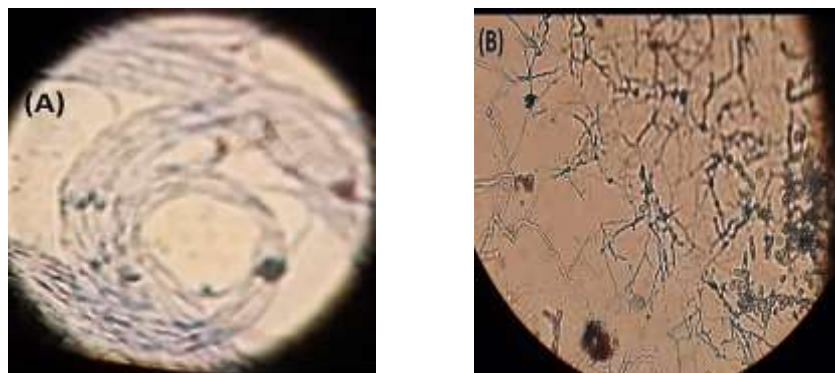


Figure 02 : observation sous microscope optique G×100 de la souche *Nocardiosis aegyptia* après 7 jours d'incubation sur le milieu ISp7. (A) : Mycélium du substrat, (B) : Mycélium aérien.

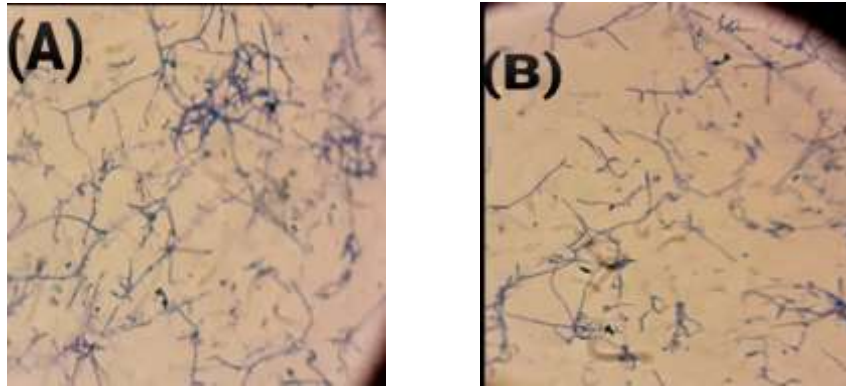


Figure 03 : Observation sous microscope optique G×100 de la souche *Nocardioopsis aegyptia* après 7 jours d'incubation cultivée sur le milieu DSMZ65. (A) : Mycélium du substrat,(B) : Mycélium aérien.

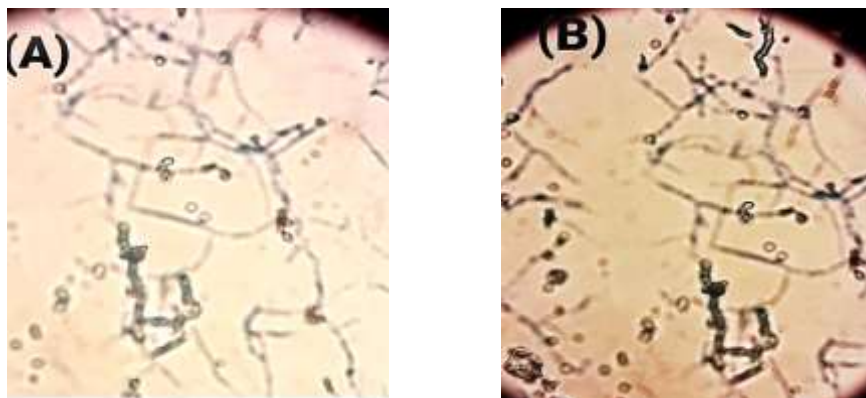


Figure 04 : Observation sous microscope optique G×100 de la souche *Nocardioopsis aegyptia* après 7 jours d'incubation sur le milieu Glucose-Asparagine. (A) : Mycélium du substrat,(B) : Mycélium aérien.

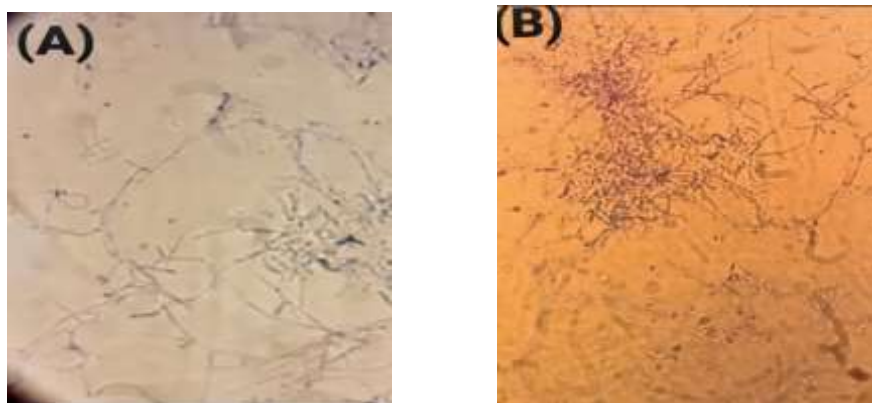


Figure 05 : observation sous microscope optique G×100 de la souche *Nocardioopsis aegyptia* après 7 jours d'incubation sur le milieu CZAPEK-Dox Agar. (A) : Mycélium du substrat,(B) : Mycélium aérien.

Selon Oulmi (2014), les colonies de *Nocardiosis* dans différents milieux de culture sont compactées avec des bordures filamenteuses avec une absence totale des pigments diffusibles, la couleur des mycéliums diffère selon le milieu, le MS est blanc avec la présence d'une poudre blanche sous forme d'un tapis de velours à partir de ça nous pouvons dire que nos résultats sont compatibles avec ses résultats. Et dans le premier article publié sur cette souche Sabri *et al.*, (2004) disent que *Nocardiosis aegyptia* forme un mycélium aérien blanc sale, devenant légèrement jaunâtre gris dans les cultures âgés .

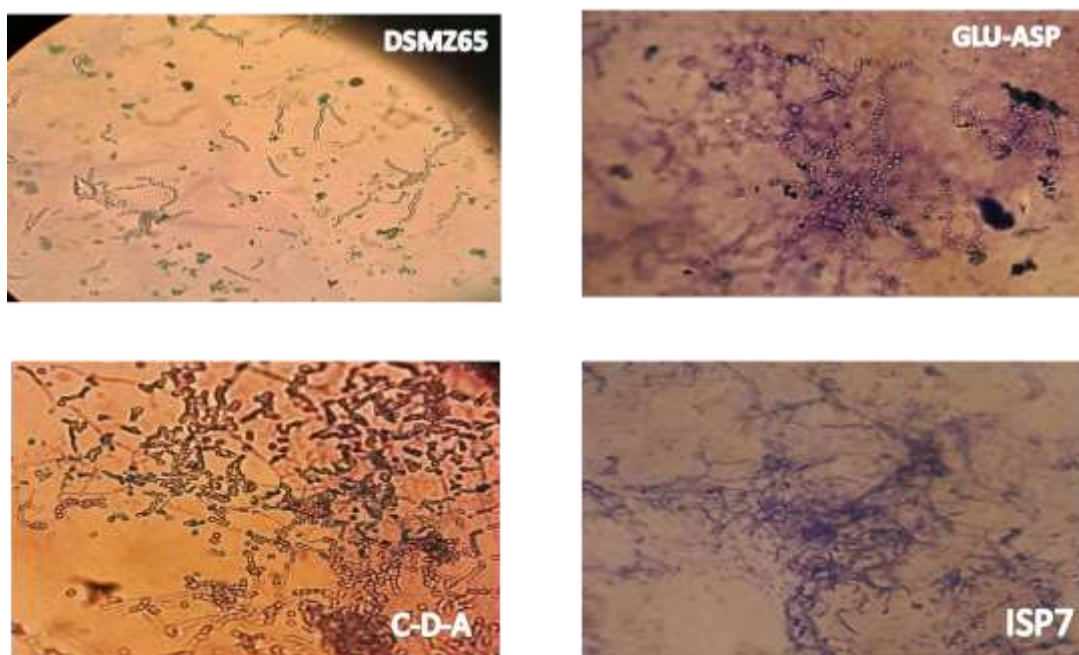


Figure 15 : Observation sous microscope optique G×100 de la souche *Nocardiosis aegyptia* après 21 jours d'incubation

3. la productivité de la souche

3.1 Aspect de la croissance de la souche dans les milieux de fermentation

Après 5 jours d'incubation la croissance dans les douze milieux de fermentation a donné plusieurs aspects (tableau 6) ; il y a une croissance sur tous les milieux mais à des degrés différents. Sous forme de dépôt au fond du tube. Elle est optimale sur le milieu M1 et M4.

Tableau 6 : Aspect de la croissance après 5 jours d’incubation.

Milieux	La croissance	L’aspect
M1	+++	Trouble
M2	++	Trouble
M3	+/-	Trouble
M4	+++	Trouble
M5	++	Trouble
M6	++	Trouble
M7	+/-	Trouble
M8	+/-	Trouble
M9	-	Trouble + virage de la couleur du milieu
M10	++	Trouble
M11	++	Trouble
M12	++	Trouble + virage de la couleur du milieu

+++ : Très bonne croissance, ++ : croissance moyenne, +/- : faible croissance, - : très faible croissance.

3.2. Concentration d’Acide indole acétique

Le calcul des concentrations d’AIA produite par *Nocardiopsis aegyptia* en µg/ml après 5jours d’incubation est fait selon l’équation de la droite de régression retirée du courbe étalon de Monita, *et al.*, (2014).

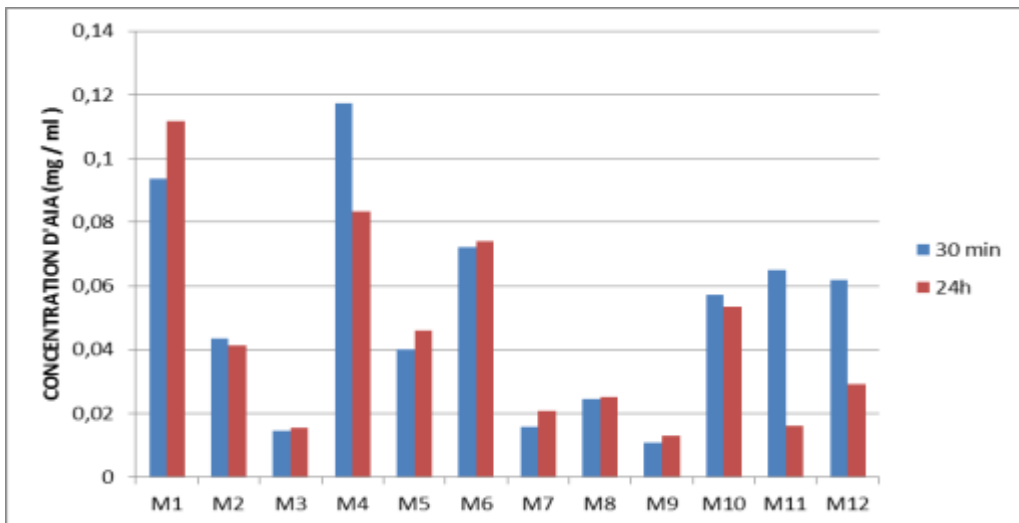


Figure 16: Histogramme des concentrations d’Acide Indole Acétique produites dans les 12 milieux en fonction de la densité optique à 30min et 24h.

Après le calcul de la concentration d’AIA dans les douze milieux de fermentation, la production varie entre 10,75 µg/ml et 117,37 µg/ml. Elle est maximale dans le milieu 4 et minimale dans le milieu 9.

Depuis plusieurs années, l'AIA a fait l'objet de différentes études afin d'identifier son rôle, son mode d'action.... Pour cela, nous avons choisi de cerner les caractéristiques et les conditions dans lesquelles les actinobacétéries produisent une concentration considérables de cette phytohormone. Ainsi, nous avons cultivé les bactéries dans 12 milieux différents pendant 5 jours d'incubation.

3.2.1. Effet du pH

Un pH adéquat est une nécessité pour la survie et le développement de toutes espèces bactérienne. Ainsi, selon la littérature les actinobacétéries se développent dans un milieu à pH neutre (pH=7), mais certaines de ces bactéries font l'exception de pouvoir se développer dans des milieux alcalins avec un pH allant jusqu'au 9. Certains auteurs suggèrent que la biosynthèse d'AIA nécessite un milieu neutre, l'augmentation ou bien la diminution du pH affecte le système enzymatique de la bactérie ou la solubilité de certains de ses composants. C'est la raison pour laquelle nous avons varié la teneur du pH entre 7 et 9. D'après l'histogramme nous pouvons observer que la productivité est optimale dans les milieux dont le pH est égale à 9 ce qui ne concorde pas avec les travaux de recherche précédents. D'autre part, Harir, M (2018) démontre qu'il existe certaines espèces qui sont alcalophiles et se développent à un intervalle de pH de 8 à 11 et comme pour notre bactérie.

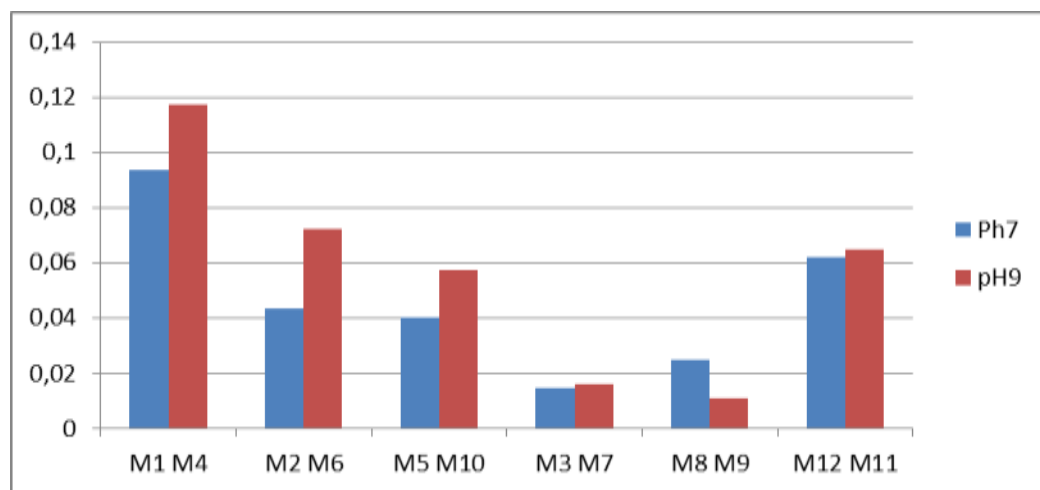


Figure 17: Histogramme qui représente l'effet du pH sur la concentration d'AIA.

3.2.2. Effet du NaCl

Les actinomycètes halophiles poussent de façon optimale dans des milieux contenant 5 à 25% de NaCl et même dans des milieux saturés en Na Cl (Kokare *et al.*, 2004), les expériences faites par Boudjlél (2012) montrent qu'il y a plusieurs genres d'actinobactéries qui peuvent tolérer jusqu'à 25% de NaCl parmi lesquelles le genre *Nocardiosis* utilisé dans notre étude. Pour cela les résultats que nous avons obtenus sont corrects, ces derniers illustrent une croissance et une production maximale de l'AIA dans le milieu 4 avec un pourcentage d'NaCl égale à 10%.

Selon Ameer (2014) un optimum de croissance chez *Nocardiosis* sp est obtenu dans les milieux avec 3% d'NaCl, mais dans les milieux salins la souche a la capacité de produire des osmolytes afin de réguler leur réponse au stress osmotique. Nous avons comme résultat une bonne production dans les milieux a 5% d' NaCl mais elle est maximale dans le milieu M4 (NaCl 10%) donc nos résultats sont compatibles avec ceux obtenu par cet auteur.

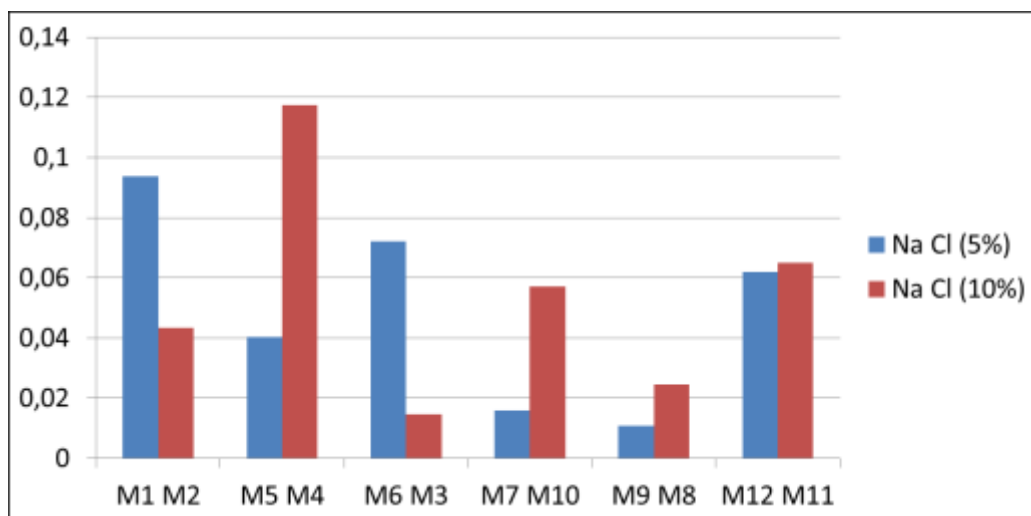


Figure 18 : Histogramme qui représente l'effet du pourcentage d'Na Cl sur la concentration d'AIA.

3.2.3. Effet du Tryptophane

Il y'a plusieurs voies pour synthétiser l'Acide Indole Acétique parmi lesquelles la voie de la biosynthèse d'AIA à partir d'une molécule précurseur qui est le tryptophane (trp). Le trp, est transformé en Indole-3-Propionic Acid (IPA) ensuite en

Acide Indole Acétique (Christina, *et al.*, 2011). Les résultats obtenus ont montré qu'il y a une production d'AIA dans tous les milieux de fermentation additionnés du tryptophane mais à différents degrés. Elle est maximale dans le milieu 4 avec une quantité de trp égale à 5 mg/L et minimale dans le milieu 9 avec une quantité de trp égale à 10 mg/L. Donc nos résultats sont compatibles avec les résultats obtenus par Ibrahimi, (2020) qui dit lorsqu'il y a une petite quantité de trp la production est maximale alors qu'elle est minimale en présence de grandes quantités de ce dernier. Au contraire d'autres chercheurs préconisent que plus le taux de trp est élevé plus la concentration d'AIA est considérable.

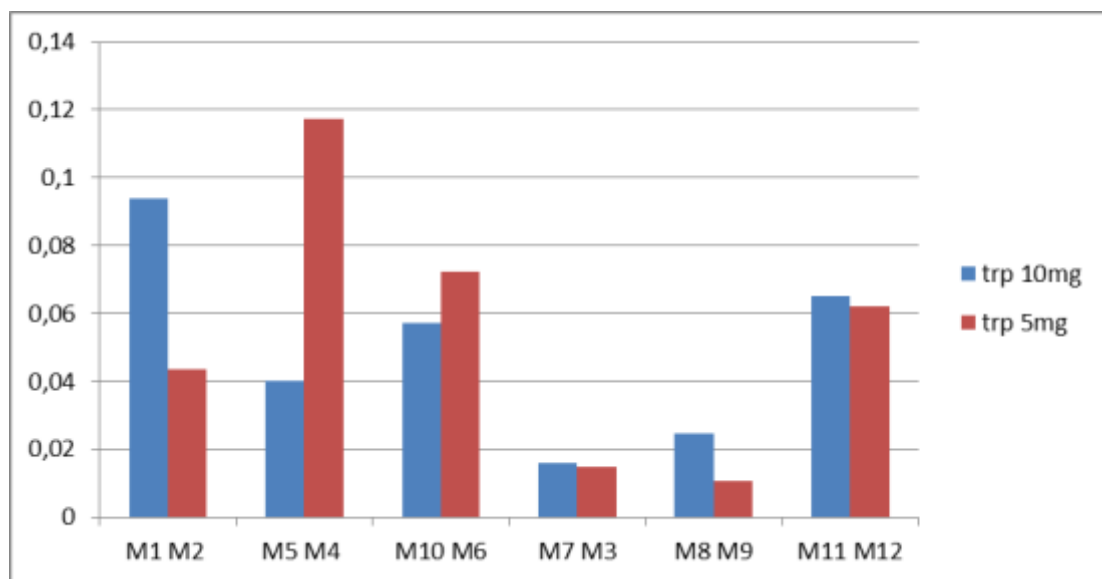


Figure 19 : Histogramme qui représente l'effet du tryptophane sur la concentration d'AIA.

3.2.4. Effet de mélasse de dattes

Pour ce qui est de la mélasse de dattes utilisée comme source de carbone qui est ; un sirop d'une couleur foncé obtenu à partir de l'extrait de dattes. Cette dernière, a été ajoutée dans six des milieux de fermentation préparés. Une croissance est observée sur les six milieux contenant la mélasse, la production est maximale dans le milieu 4. Ce qui nous permet de conclure que *Nocardiosis aegyptia* peut utiliser la mélasse comme une source de carbone. Les résultats de Morakchi (2011), montrent que la plupart des souches des actinomycètes de différents genres utilisent des glucides comme source de carbone mais de manières différentes selon les besoins nutritionnelle de chaque souche.

Donc, l'environnement dans lequel les actinomycètes se développent peut déterminer leurs besoins en sources de carbone.

D'autre part, la source de carbone peut réprimer la sécrétion de certains métabolites secondaires lorsque elle dépasse une certaine concentration, cet effet est appelé «effet glucose» ou bien la répression catabolique glucidique ou le glucose exerce un effet négatif sur l'activité enzymatique de la bactérie (Harir, 2014).

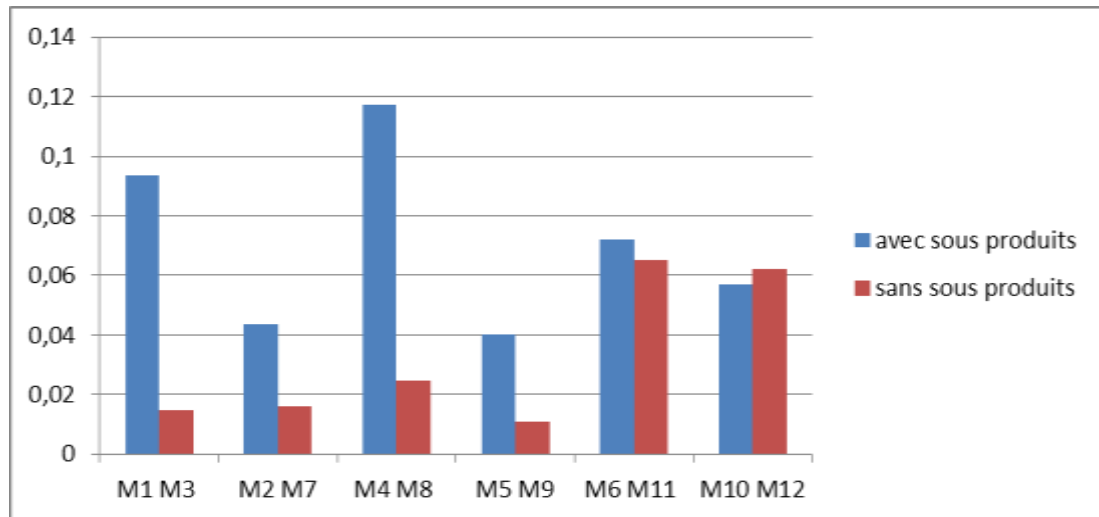


Figure 20: Histogramme qui représente l'effet du sous-produit sur la concentration d'AIA.

3.2.5. Effet des sources d'azote

Dans les milieux de fermentation préalablement préparés, nous avons testé trois sources d'azote différentes le NaNO_3 , l'extrait de levure et la peptone. Les résultats obtenus après 5 jours d'incubation, montrent qu'une production maximale est observée sur le milieu 4 dont la quantité d'extrait de levure et la peptone sont égales (10g/1L), et dans le milieu 9 où la production d'AIA était la plus faible. Ce milieu contient une faible quantité d'extrait de levure donc on peut conclure que la production est meilleure en présence d'extrait de levure. Ces résultats sont confirmés par Messoudi, (2020), qui stipule que plusieurs genres d'actinobactéries parmi lesquels *Nocardiosis* ont la capacité d'utiliser 15 sources d'azote différentes.

Conclusion

Conclusion

Les recherches dans le domaine de la microbiologie, ne cesseront jamais de donner d'avantage de résultats menant à la découverte de nouvelles facultés qui pourraient être très utiles dans l'industrie pharmaceutique, agro-alimentaire ou autre. Ainsi, notre travail a pour but de caractériser une souche d'actinobactérie rhizosphérique isolée à partir d'une sebkha.

Les résultats d'étude morphologique, montrent que notre souche représente une culture qui diffère d'un milieu à un autre. La caractéristique commune entre toutes les cultures, est l'aspect poudreux du mycélium aérien qui signifie la production d'une masse sporale abondante avec une couleur beige et un mycélium du substrat développé. Ces caractéristiques morphologique et culturelle des colonies de la souche actinomycète nous ont permis de la rapprocher au genre *Nocardiopsis*.

De plus, les résultats révèlent également que la souche *Nocardiopsis aegyptia* synthétise l'AIA suivant une voie tryptophane dépendante, car le Trp est considéré comme précurseur majeur de la production d'AIA. Cette dernière, est détectée par une réaction colorimétrique de Salkowski. Le dosage repose sur la mesure de la densité optique à 530 nm et les quantités d'auxine produites varient entre 10,75 µg/ml et 117,37 µg/ml.

De ce fait, l'étude reflète la capacité de *Nocardiopsis* à produire l'auxine Acide Indole Acétique sous l'influence de plusieurs conditions physico-chimique. Les principaux résultats, confirment que les conditions les plus favorables où la production est maximale sont une concentration de 10% d'NaCl, un pH alcalin égal à 9, un extrait de levure comme meilleure source d'azote à une quantité égale à 10g/L, une mélasse de dattes comme source de carbone et une concentration de tryptophane égale à 5mg/L.

Références Bibliographique

Références Bibliographique

AgriMagreb.ma (2020). Les auxines et leurs effets sur les végétaux [en ligne]. Consulté le 01/06/2022. <https://www.agrimaroc.ma/les-auxines-et-leurs-effets-sur-les-vegetaux/> .

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 en microbiologie. L'Algérie : Université Ferhat Abbas sétif 01, 551p.

Anne ven der meiji et al ., FEMS Microbiology Reviews, Volume 41, Issue 3, 2017, Pages 392–416, <https://doi.org/10.1093/femsre/fux005>

Arar, H (2020). Caractérisation phénotypique et étude préliminaire des activités enzymatiques et inhibitrices des actinomycètes du sol de Touggourt et Biskra. Mémoire de master : Microbiologie Fondamentale et Appliqué. Université Mohammed Kheidre de Biskra, 59 P.

Barka, E.,*et al.* (2016). Taxinomy, physiology and natural products of actinobacteria. Microbial Mol Biolrev 80 : 1 -43.

Bouaziz, S. (2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives[en ligne]. THESE de Doctorat. Ouargla : Université kasdi Merbah, 160.

https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/bitstream/123456789/16826/1/BOUAZIZ-Sabrina.pdf?fbclid=IwAR0vwWUXBhJ26Ni7Ll1q9JAIDG7IH_hchSC_Y7qlU0RxUqiH9X9Aa0TluF8æ

Boudjelal-Bencheikh, F. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par Actinoalloteichus sp. AH97. Thèse de Doctorat en science Agronomique. EL-HERRACH ALGER : Ecole nationale supérieure agronomique, 167p.

Brick J.M., Bostock R.M. and Silvestone S.E. (1991). Rapid in situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane. *Applied : Environmental Microbiology*, 57, 535-538.

Catherine,P,(2020).Auxines, Encyclopædia Universalis [en ligne]. Consulté le 05/05/2022.

<https://www.universalis.fr/encyclopedie/auxines/2-structure-chimique/#:~:text=Structure%20chimique%20des%20principales%20auxines,un%20noyau%20benz%C3%A8ne%20ou%20naphtal%C3%A8ne.>

Chloe, V. (2006). Analyse quantitative des réponses précoces à l'auxine dans une suspension de cellules de tabac. Thèse de doctorat : Biologie Cellulaire et moléculaire. Bordeaux : Universités bordeaux 1, 382p.

Christina,W. et al., (2011). Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by tryptophan aminotransferase of *Arabidopsis* and *yuccas* in *Arabidopsis*. [en ligne]. <https://doi.org/10.1073/pnas.1108436108>

Danilenko, V.,*et al.* (2005). Calcium as a regulator of intracellular processes in Actinomycetes : A review . *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41(4), 319-329.

Demain, A.L., Lancini, G. (2006). *Bacterial Pharmaceutical Products*. New York, NY: Dworkin, Martin and Falkow, Stanley and Rosenberg, Eugene and Schleifer, Karl-Heinz and Stackebrandt, Erko. 812-833. 5.

https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/0-387-30741-9_24?noAccess=true

Dinesh, K (2011). *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management*, [en ligne], De Boek université, p: 345. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-21061-7>.

Djebaili, R *et al.*,(2020). Actinomycete Strains Isolated from Saline Soils: Plant-Growth-Promoting Traits and Inoculation Effects on *Solanum lycopersicum*. Sustainability [en ligne] ,12(11), consulté le 01/05/2022.<https://www.mdpi.com/2071-1050/12/11/4617>.

Fukaki, H *et al.*,(2008). International Review of Cytology:A Survey of Cell Biology. , San Diego: Ed. Kwang W. Jeon Elsevier, [en ligne], p: 300.
<https://www.elsevier.com/books/international-review-of-cytology/jeon/978-0-12-364577-7>.

Gomez Gérard. ABECEDAIRE DE CHIMIE ORGANIQUE [en ligne]. (page consultée le 10/05/2022). <https://tice.ac-montpellier.fr/ABCDORGA/ORGANIQUE.htm>

Goodfellow, M., & Haynes, J. A. (1984). Actinomycetes in marine sediments. Biological, biochemical and biomedical aspects of actinomycetes, 453-472.

Goodfellow, M.,Williams, S. T.(1983). ECOLOGY OF ACTINOMYCETES. Annual Review of Microbiology [en ligne], 37 (1) (page consultée le 30 avril 2022).
<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.mi.37.100183.001201>

Groth, J *et al.*, (1999). Actinomycetes in Karstic caves of northern Spain (Altamira and Tito Bustillo), J. microbiol. Meth., 36., pp. 115-122.

Harir, M (2018). Caractérisation des molécules bioactives produites par les souches d'actinobactéries isolées des sols arides et semi arides d'Algérie. Thèse de doctorat : intérêt des microorganismes en agriculture et agroalimentaire. Université d'Oran 1 AHMED BEN BELLA, 221 P.

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

Hubert, A. Le chevalier actinomycètes [en ligne]. consulté le 25/05/2022.
<https://www.universalis.fr/encyclopedie/actinomycetes/>

Ibrahimi, M. (2020). Extraction et caractérisation de nouveaux antibactériens produits par les actinobactéries prédatrices d'origine marine. Thèse de Doctorat en biochimie, biologie moléculaire. Maroc, Marrakech : Université de poitiers ; Université cadi Ayyad, 165p.

Jones D. and Krieg R. (1989). - Bacterial classification. V. Serology and chemotaxonomy. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 4. Williams S.T. Sharpe M.E. and Holt J.G. (Eds.). Williams and Wilkins Co. Baltimore pp. 2313-2316.

Keyeo, F.*et al.*, (2011). The effects of nitrogen fixation activity and phytohormones production of diazotroph in promoting growth of rice seedlings. *Biotech.*(10), 1-7.

Khamna, S., Yokota, A., Lumyong, S.(2009). Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal Microbiol Biotechnol* [en ligne], 25:649–655.

https://www.researchgate.net/publication/226812970_Actinomycetes_isolated_from_medical_plant_rhizosphere_soils_Diversity_and_screening_of_antifungal_compounds_in_indole-3-acetic_acid_and_siderophore_production

Kim, S., et al. (2004). Taxonomic Study of neurotolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil land description of streptomyces yeochonensis sp.nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary microbiology*, 54(1), 211-214.

Kitouni, M. (2007). Isolement de bactérie actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystème extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Constantine : Université mentouri constantine 01, 170p.

Kudoyarova, G., *et al.* (2019). Phytohormone mediation of interactions Between Plants and NON-symbiotic Growth promoting bacteria Under Edaphic Stresses. *Frontiers in plant science* [en ligne], 10 (1368), (10/05/2022).

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.01368/full>.

- L**aura, J., *et al.* (2009). Auxin Biosynthesis in Pea: Characterization of the Tryptamine Pathway, *Plant Physiology* [en ligne], 151(3), (22/04/2022).<https://doi.org/10.1104/pp.109.141507>
- Leblond-Casting, J. (2011). Caractérisation de l'interaction des protéines IMA/MIF2 et CSN5 au niveau moléculaire et physiologique. Thèse de Doctorat en biologie végétale. Bordeaux 1 : Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé, 344p.
- Litizia, L. *et al.*, (2016). Production of antibacterial compounds from actinomycetes [en ligne]. Consulté le 04/05/2022. <https://www.aquaportail.com/definition-4941>
- Loqman, S. (2009). La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : Isolement, caractérisation de souche de bactéries actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvage d'origine marocaine. Thèse de Doctorat en biologie et physiologie végétale. La France : Université de REMS CHAMPAGNE-ARDENNE, 217p.
- M**alhotra, M., Srivastava, S. (2008). Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum Brasilense SM* and its ability to modulate plant growth. *European Journal of Soil Biology* [en ligne], 45 (la page consulté le 07 mai 2022).
[https://www.researchgate.net/publication/223688845 Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum brasilense SM* and its ability to modulate plant growth](https://www.researchgate.net/publication/223688845_Stress-responsive_indole-3-acetic_acid_biosynthesis_by_Azospirillum_brasilense_SM_and_its_ability_to_modulate_plant_growth)
- Matsukawa, E., (2007). Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. *Actinomycetol.* [en ligne] (21), 32-39. *clinic science* consulté le 01/05/2022
- Medical Actu. (2020) Actinomycètes [en ligne]. (Consulté le 10/05/2022). <https://www.medical-actu.com/cours/bacteriologie/actinomycetes/>.
- Messaoudi, O (2020). Isolement et caractérisation de nouvelles molécules bioactives à partir d'actinomycètes isolés du sol algérien. Thèse de doctorat : Microbiologie. Université ABOU BAKR BELKAID de Tlemcen. 220 P.

Morakchi H. 2011. Isolement et identification de souche d'actinomycètes productrices de molécules bioactives au niveau du lac Oubeira : Etude morphologique, physiologique, moléculaire et spectre d'activité. Thèse de doctorat , Université Badji Mokhtar, Annaba ,16p.

Monita Patel V., Rajesh Patel K. (2014). Indole-3-acetic acid (IAA) production by endophytic bacteria isolated from saline desert, the little run of kutch. CIBTech Journal of Microbiology. 3 : 17-28. DOI: 10.1007/s00284-013-0348-z. consulté le 05/06/2022.

Oulmi, L. (2014). Etude des infections causées par les actinomycètes aérobie autres que les mycobactéries dans la région de constantine. . Thèse de Doctorat en biochimie et microbiologie appliquées. Constantine : Université constantine 01, 169p.

Ramasamy Vijayakumar.,et al.(2007). Études sur la diversité des actinomycètes dans la région du détroit de Palk dans le golfe du Bengale. Actinomycétologique [en ligne] ,21 (2) (page consultée le 07/05/2022). <https://doi.org/10.3209/saj.SAJ210203>

Raven, P et al., (2007). Biologie végétale. 2ème Ed,De Boeck Université Bruxelles, p 870.

Rengasamy, P (2006). World salinisation with emphasis on Australia. Comparative biochemistry and physiology part a molecular and integrative physiology, ,[en ligne], 141 : 337-348, consulté le 05/04/2022.https://www.researchgate.net/publication/283969475_World_salinisation_with_emphasis_on_Australia.

Ryan F. Seipke, Martin Kaltenpoth, Matthew I. Hutchings, *Streptomyces* as symbionts: an emerging and widespread theme?, FEMS Microbiology Reviews, Volume 36, Issue 4, July 2012, Pages 862–876, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00313.x>

Sabri, A *et al.*, (2004). *Nocardiopsis aegyptia* sp. nov., isolated from marine sediment. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology [en ligne], 54(2), consulté le 28/04/2022.

https://www.researchgate.net/publication/8677122_Nocardiopsis_aegyptia_sp_nov_isolated_from_marine_sediment.

Saffory, S. (2006). Etude du métabolisme carboné chez *Streptomyces pristinaespiralis*. Thèse de Doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. La France : Institut nationale polytechnique de lorraine, 150p.

Saker, R. (2015). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse de Doctorat en microbiologie. Stétif : université Ferhat Abbas, 181p.

Simon, p. (2020). Les hormones dans la symbiose mycorhizienne : étude de la production et des effets d'hormones végétales par les champignons endomycorhiziens. . Thèse de Doctorat en Interaction plantes-microorganismes. Toulouse : école doctorale sciences écologique, vétérinaires, agronomique et bioingénieries, 163p.

Smaoui, S. (2010). Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de procédés et environnement. La France : Université de Toulouse, 251p.

Smati, M., et Kitouni, M. (2019). Diversity of actinobacteria in the marshes of Ezzemoul and Djendli in northeastern Algeria. *European Journal of Ecology*, [en ligne] 5(2), 41–53. Consulté le 25/04/2022 <https://doi.org/10.2478/eje-2019-0009>

Spaepen, S et al., (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signalling. *FEMS Microbiol*, [en ligne], 31(4), consulté le 15/05/2022. <https://academic.oup.com/femsre/article/31/4/425/2399113>.

Ting, S., et al. (2022). Genus *Nocardiopsis* : A producer of Natural Products. *Marine dugs* [en ligne], 20(347), (01/06/2022). <https://www.mdpi.com/1660-3397/20/6/374/pdf-vor>.

Vargas, C *et al.*, (2008). - Unravelling the adaptation responses to osmotic and temperature stress in *Chromohalobacter salexigens* a bacterium with broad salinity tolerance. *Saline Syst.*, 4, 14-33.

Wei-chun k., *et al.* (2016). The obligate respiratory supercomplex from *Actinobacteria*. *Biochimica et biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* [en ligne], 1857(10), (30 /04/2022). <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2016.07.009>.

Williams, D et Fleming I. (1983). Spectroscopic methods in organic chemistry. 4th Eds. Mc Graw Hill book company London. p. 264.

Zhao, Y. (2010). Auxin biosynthesis and its role in plant development. Annu Rev Plant Biol 61 : 49-64 .<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3070418/>.

Annexes

Annexes

Annexes 01 : Composition de milieux de culture :

Composition de milieu ISP2

Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Glucose	4g
Ca Co ₃	2g
Agar	20g
Eau distillée	Qsp 1000 ml
pH = 7	

Composition du milieu ISP5

Glycerol	10g
l-Asp	1g
K ₂ HPO ₄	1g
Solution saline 01	1ml
Agar	20g
Eau distillée	Qsp 1000ml
pH =7.2-7.4	

Composition du milieu ISP5 modifié

Glycérol	10g
L-Asp	1g
K ₂ HPO ₄	1g
Solution saline	1ml
Glucose	10g
Agar	20g
Eau distillée	QSP 1000ml
pH= 7,2-7,4	

Composition du milieu ISP7

Glycérol	15g
L-Asp	1g
K ₂ HPO ₄	0, 5g
Na Cl	0, 5g
Fe SO ₄ 7H ₂ O	0, 01g
Agar	20g
Eau distillée	Qsp1000ml
pH =7.2-7.4	

Composition du milieu DSMZ65

Glucose	4g
---------	----

Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
CaCO ₃	2g
Agar	12g
Eau distillée	Qsp1000ml

pH =

Composition du milieu glucose-Asparagine

Glucose	10g
L-Asp	0,5g
K ₂ HPO ₄	0,5g
Agar	15g
Eau distillée	Qsp 1000ml pH= 6,8

Composition du milieu GELM

Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Glucose	4g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

pH =7.2

Composition du milieu Czapec- Dox Agar

Saccharose	30g
NaNO ₃	3g
K ₂ HPO ₄	1g
KCl	0,5g
Mg SO ₄ 7H ₂ O	0, 5g
Fe SO ₄ 7H ₂ O	0,01g
Agar	15g
Eau distillée	1000m

pH =7.3-7.5

Composition du milieu GBA

Agar	15 g
Amidon	20 g
Glycérol	20 g
Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Ca Co 3	3 g
Eau distille	1000 ml

pH = 7,0

N.B : Tous ces milieux sont stérilisés à une température 121 °C pendant 20 minutes.

Composition de la solution saline 01 :

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

La solution est stérilisée à 121 °C pendant 20 minutes

Composition du réactif salkowski :

Acide perchlorique (35 %)	25ml+25ml eau distillée
Fe Cl ₃	2,02g/25ml d'eau distillée

Annexes 02 : Composition des milieux de fermentation :

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
NaNO ₃	0g	3g	3g	0g	3g	3g	3g	0g	0g
Extrait levure	10g	1g	10g	10g	1g	10g	10g	10g	1g
Peptone	1g	10g	1g	10g	10g	1g	10g	10g	10g
Trp	0,01g	0,005g	0,005g	0,005g	0,01g	0,005g	0,01g	0,01g	0,005g
MgSO ₄	1g	1g	1g	0g	0g	0g	1g	0g	1g
Na Cl	5%	10%	10%	10%	5%	5%	5%	10%	5%
Mélasse de dattes	20g	20g	0g	20g	20g	20g	0g	0g	0g
	M10	M11	M12						
NaNO ₃	0g	3g	0g						
Extrait levure	1g	1g	1g						
Peptone	1g	1g	1g						
Trp	0,01g	0,01g	0,005g						
MgSO ₄	1g	0g	0g						
Na Cl	10%	10%	5%						
Mélasse de dattes	20g	0g	0g						

N.B : l'ajustement des pH des milieux de cultures est effectué à l'aide d'une solution NaOH ou une solution d'HCL selon le cas.

Annexes 3 : tableau des valeurs la densité optique

DO milieu	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
DO 30min	0,750	0,348	0,117	0,939	0,322	0,577	0,127	0,197	0,085	0,457	0,520	0,496
DO 24h	0,893	0,332	0,124	0,666	0,369	0,593	0,166	0,202	0,103	0,428	0,128	0,234

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 par *Nocardioopsis aegyptia*

Résumé

la production de plusieurs métabolites secondaires biologiquement actifs par les actinobactéries, nous a incités à effectuer la caractérisation d'une souche actinomycétale et d'effectuer divers test de productivité d'AIA par cette dernière.

L'étude morphologique de la souche *Nocardioopsis aegyptia* est effectuée sur différents milieux de cultures : ISP2, ISP5, ISP5M, ISP7, GELM, GLU-ASP, Czapec-Dox-Agar et DSMZ65 pendant différentes périodes d'incubation.

Ainsi à partir d'une culture mère, huit milieux de culture différents sont ensemencé par la technique en trois quadrants pour l'observation macroscopique et la technique des lamelles pour l'observation microscopique. La souche actinomycétale utilisée est isolée d'un écosystème extrême qui est « sebka ». La souche est capable de produire l'AIA dans différents milieux et de différentes concentrations. La concentration maximale d'AIA produite est égale à 117,37 µg/ml.

Suite à cette étude, il a été conclu que *Nocardioopsis agyptica* produit des concentrations différentes d'Acide Indole Acétique et cela dépend principalement des caractéristiques physico-chimiques des milieux de fermentation sur lesquels elle a été cultivée.

Mot clés : actinobactéries, *Nocardioopsis aegyptia*, acide indole acétique (AIA).

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Génie microbiologique et applications.
(Université Frères Mentouri, Constantine 1).

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

Présentée par : HAMZA nour el houda
MALLEM kaouther
HASSANI madjeda

Année universitaire : 2021-2022