

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 : Ecologie et Environnement
Spécialité : Ecologie Microbienne

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Essai de production de l'acide indole acétique par des actinobactéries
cultivées sur le lixiviat**

Présenté par : BENGUEDOUAR Rouida
BENSDIRA Souad

Le 21/06/2023

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme OULMI Lamia (Dr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinateur 1 : Mr BENHIZIA Yacine (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinateur 2 : Mr KITOUNI Mahmoud (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2022 – 2023

Remerciement

Avant toute chose Merci au bon Dieu de nous avoir aidé à réaliser ce travail.

Nous adresse nos plus vifs remerciements à notre encadreur Mme OULMI LAMIA Docteur à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Constantine, pour son encadrement, ses encouragements, ses orientations, pour ses aides et ses conseils scientifiques judicieux.

Nous tenons à remercier Monsieur BENHIZIA Yacine Professeur à l'université Frères Mentouri, Constantine 1 qui a accepté de présider le jury.

Un grand merci également à Monsieur KITOUNI Mahmoud Professeur à l'université Frères Mentouri, Constantine 1 d'avoir examiné notre travail.

Nous remercions notre doctorante ATTAR Ghazlane pour son aide, soutien et ses encouragements.

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

Dédicaces

Je dédie ce travail à ma source de joie et mon bonheur, le fil d'espoir qui allume mon chemin, maman.

A mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, papa.

A mon frère et mes deux chères sœurs qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager tout au long de mes études.

Sans oublier mon binôme Souad pour son soutien moral et sa patience tout au long de ce projet.

A tout ce qui ont participé à ma réussite et à tous qui m'aiment.

Rouida

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mon père et ma mère, pour tous leurs sacrifices et leur amour.

A mes chères frères Abd El Salam et Abd El Moumen et ma sœur Wissam.

A toutes ma famille surtout ma grande mère que dieu prolonge sa vie.

A mes très chères amies surtout Yasmine.

A mon binôme Rouida, je lui souhaite succès.

Souad

ملخص

الأكتينوبكتيريا هي مجموعة منتشرة في كل مكان من الكائنات الحية الدقيقة التي يمكن أن تنمو في ظروف بيئية قاسية. لديهم القدرة على تعزيز نمو النبات من خلال إنتاج محفزات النمو مثل auxin AIA. في هذه الدراسة، اختبرنا قدرة الأكتينوبكتيريا على تحليل المادة العضوية من المادة المرشحة لتخليق AIA.

تم اختبار أربع سلالات أكتينوبكتيرية لقدرتها على إنتاج AIA. تنتمي هذه السلالات إلى جنسين *Streptomyces* و *Nocardiosis*. من ناحية، تم إجراء توصيف كبير على وسائط DSMZ65 ووسط NBRIP المعدل مع المادة المرشحة، تليها دراسة مجهرية بتقنية الساترة على وسط DSMZ65. من ناحية أخرى، تم إجراء اختبار إنتاجية AIA في ثلاثة أوساط تخمير حيث استخدمنا المادة المرشحة كمكون رئيسي، كل ذلك في غياب وحضور الترتوفان. بعد 7 أيام من الحضارة تحت الاهتزاز، تم إجراء اختبار AIA من خلال تطبيق الطريقة اللونية التي تستخدم كاشف Salkowski. أظهرت السلالات الأربعة قدرة إنتاجية عالية لحمض الإندول الأسيتيك بتركيز عالي للمادة المرشحة. كانت أفضل سلالة منتجة هي السلالة التي تنتمي إلى النوع *Nocardiosis dasonvillei*.

الكلمات المفتاحية: *Streptomyces*، *Nocardiosis*، حمض الإندول الأسيتيك، المادة المرشحة، كاشف Salkowski.

Résumé

Les actinobactéries sont un groupe de micro-organismes omniprésent et qui peuvent se développer dans des conditions écologiques extrêmes. Ils ont la capacité de favoriser la croissance des plantes par la production de promoteurs de croissance tels que l'auxine AIA. Dans ce travail, nous avons testé la capacité des actinobactéries à dégrader la matière organique du lixiviat pour synthétiser l'AIA.

Quatre souches actinobactériennes ont été testées pour leur capacité à produire de l'AIA. Ces souches appartiennent aux deux genres *Streptomyces* et *Nocardiopsis*. D'une part, on a réalisé une caractérisation macromorphologique sur les milieux DSMZ65 et le milieu NBRIP modifiée additionnée de lixiviat suivit d'une étude microscopique par la technique des lamelles sur le milieu DSMZ65. D'autre part on a effectué un test de productivité de l'AIA dans trois milieux de fermentation où nous avons utilisé le lixiviat comme principal constituant, le tout en absence et en présence de tryptophane. Après 7 jours d'incubation sous agitation, le dosage de l'AIA a été réalisé en appliquant la méthode colorimétrique qui utilise le réactif de Salkowski. Les quatre souches ont montré une grande capacité de production de l'acide indole acétique à de forte concentration de lixiviat. La meilleure souche productrice était la souche appartenant à l'espèce *Nocardiopsis dassonvillei*.

Mot clés : *Streptomyces*, *Nocardiopsis*, acide indole acétique, lixiviat, réactif de Salkowski.

Abstract

Actinobacteria are a ubiquitous group of microorganisms that can grow in extreme ecological conditions. They have the ability to promote plant growth through the production of growth promoters such as auxin AIA. In this study, we tested the ability of actinobacteria to degrade organic matter from leachate to synthesize AIA.

Four actinobacterial strains were tested for their ability to produce AIA. These strains belong to the two genera *Streptomyces* and *Nocardiopsis*. On the one hand, a macromorphological characterization was carried out on the DSMZ65 media and the modified NBRIP medium supplemented with leachate, followed by a microscopic study by the coverslip technique on the DSMZ65 medium. On the other hand, an AIA productivity test was carried out in three fermentation media where we used the leachate as the main constituent, all in the absence and in the presence of tryptophan. After 7 days of incubation under shaking, the AIA assay was carried out by applying the colorimetric method which uses Salkowski's reagent. The four strains showed a high production capacity of indole acetic acid at high leachate concentration. The best producing strain was the strain belonging to the species *Nocardiopsis dassonvillei*.

Keywords: *Streptomyces*, *Nocardiopsis*, indole acetic acid, leachate, Salkowski reagent.

Liste des abréviations

GC% : Coefficient de chargaff

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN 16S : Acide ribonucléique ribosomique

PGPR : Plant Growth-Promoting Rhizosphère

AIA : Acide indole-3-acétique

DCO : Demande chimique en oxygène

ISP : International Streptomyces Project

DSMZ65 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen Medium.65

McF : McFarland

DO : Densité optique

MS : mycélium du substrat

Liste des tableaux

Tableau 1 : classification des lixiviats.....	15
Tableau 02 : La composition des différents milieux de culture pour les fermentations....	17
Tableau 3 : Caractères culturaux de différentes souches sur le milieu de culture DSMZ 65.....	19
Tableau 4 : Description des caractères microscopiques des souches.....	23
Tableau 5 : mesure de la biomasse des souches dans les différents milieux.....	27

Liste des figures

Figure 1 : Les différentes morphologies rencontrés chez les Actinomycètes.

Schéma du genre *Streptomyces* (A) et du genre *Nocardia* (B) ; (C) : Les cellules du genre *Arthrobacter* par microscopie électronique à balayage ; (D) : Examen microscopique des cellules du genre *Micrococcus*.....4

Figure 2 : Morphologie commune d'une colonie d'actinomycète filamenteuse cultivée sur milieu gélosé (coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant le mycélium du substrat et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores).....4

Figure 3 : Caractéristiques morphologiques des spores.

Forme générale des spores : (A) globuleuses, (B) ovoïdes, (C) doliformes, (D) en forme de bâtonnet, (E) allantoïdes, (F) réniformes.

Type de flagellation: (G) monopolaire monotriches, (H) péritriches, (I) polytricheuses, (J) mono-polarpolytricheuses (= lophotriches), (K) polytricheuses subpolaires, (L) polytricheuses latérales. Ornementation de surface: (M) lisse, (N) irrégulière rugueuse, (O) parallèle rugueuse, (P) verruqueuse, (Q) échinulée, (S) épineuse, (T), poilue.....5

Figure 4 : Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries.....6

Figure 5 : structure de bactérie Frankia H: hyphes V: vésicule S: sponges.....9

Figure 6 : La structure chimique de l'AIA.....11

Figure 7 : voie de biosynthèse de l'acide indole -3- acétique.....12

Figure 8 : lixiviat d'une d'écharge.....13

Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'AIA.....18

Figure 10 : la souche *Streptomyces iakyrus* sur le milieu DSMZ65 A : mycélium du substrat après 11 jours d'incubation. B : mycélium aérien après 11 jours d'incubation ; C : mycélium aérien après 21 jours.....20

Figure 11 : la souche *Streptomyces xantholiticus* sur le milieu DSMZ65 A : mycélium du substrat après 11 jours d'incubation ; B : mycélium aérien après 11 jours d'incubation ; C : mycélium aérien après 21 jours d'incubation.....20

Figure 12 : la souche *Nocardiopsis dassonvillei* sur le milieu DSMZ65 A. mycélium du substrat après 11 jours d'incubation ; B : mycélium aérien après 11 jours d'incubation ; C. mycélium aérien après 21 jours d'incubation.....21

Figure 13 : la souche *Nocardiopsis aegyptia* sur le milieu DSMZ65 A : mycélium du substrat après 11 jours d'incubation ; B : mycélium aérien après 11 jours d'incubation ; C : mycélium aérien après 21 jours d'incubation.....21

Figure 14 : les souches actinomycétales après 7 jours d'incubation sur le milieu M1

A : la souche <i>Streptomyces iakyrus</i> ; B : la souche <i>Streptomyces xantholiticus</i> ; C : la souche <i>Nocardiosis aegyptia</i>	22
Figure 15 : les souches actinomycétales après 7 jours d'incubation sur le milieu M3 A : la souche <i>Streptomyces iakyrus</i> ; B : la souche <i>Streptomyces xantholiticus</i> ; C : la souche <i>Nocardiosis aegyptia</i> ; D : <i>Nocardiosis dassonvillei</i>	22
Figure 16 : la souche <i>Streptomyces iakyrus</i> sous microscope optique après 21 jours d'incubation (objectif à immersion). (A) : mycélium aérien. (B) : mycélium du substrat..	23
Figure 17 : la souche <i>Streptomyces xantholiticus</i> sous microscope optique après 21 jours d'incubation (objectif à immersion). (A) : mycélium aérien, (B) : mycélium du substrat..	24
Figure 18 : la souche <i>Nocardiosis aegyptia</i> sous microscope optique après 21 jours d'incubation (objectif à immersion).....	24
Figure 19 : les milieux liquides après 7 jours d'incubation en absence de tryptophane (A) et en présence du tryptophane (B).....	24
Figure 20 : Production d'AIA après 30 mn d'incubation.....	25
Figure 21 : Histogramme représentant les valeurs des concentrations d'AIA en µg/ml dans les différents milieux de fermentation après 30 min et 24h d'incubation A : la souche <i>Streptomyces iakyrus</i> ; B : la souche <i>Streptomyces xantholiticus</i> ; C : la souche <i>Nocardiosis aegyptia</i> ; D : <i>Nocardiosis dassonvillei</i>	25
Figure 22 : Histogramme représentant les valeurs des concentrations d'AIA en µg/ml dans les différents milieux de fermentation après 30 min et 24h d'incubation A : la souche <i>Streptomyces iakyrus</i> ; B : la souche <i>Streptomyces xantholiticus</i> ; C : la souche <i>Nocardiosis aegyptia</i> ; D : <i>Nocardiosis dassonvillei</i>	26

Tables des matières

Remerciement	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Table des matières	
Introduction.....	1

Revue bibliographique

Les Actinomycètes

1. Généralités.....	3
2. Cycle de vie des actinomycètes.....	6
3. Intérêts des actinomycètes.....	7
3.1 L'intérêt agronomique.....	7
3.2 L'intérêt médical.....	7
3.3 L'intérêt écologique.....	8
4. Rôle des bactéries dans la rhizosphère.....	8

Les Phytohormones

1. Définition.....	10
2. Les auxines.....	10
3. L'acide indole-3-acétique.....	11
3.1 Définition.....	11
3.2 Le rôle de l'acide indole-3-acétique.....	11
3.3 La biosynthèse de l'acide indole-3-acétique.....	11

Les Lixiviat

1. Définition.....	13
2. Processus de formation.....	13
3. Composition.....	14
4. Types du lixiviat.....	14
4.1 Les lixiviats jeunes.....	14
4.2 Les lixiviats intermédiaires.....	14
4.3 Les lixiviats stabilisés.....	14
5. Traitement de lixiviat.....	15
6. Impact de lixiviat sur l'environnement.....	15

Matériel et Méthodes

1. Le matériel biologique.....	16
2. La revivification des souches.....	16
3. L'étude morphologique.....	16
3.1 L'étude macroscopique.....	16
3.2 L'étude microscopique.....	16
4. La production de l'acide indole acétique (AIA).....	16
4.1 La préparation des inocula.....	16
4.2 Le test de productivité.....	17
4.2.1 La première étape, en absence du tryptophane.....	17

4.2.2 La deuxième étape, en présence du tryptophane.....	17
4.3 Le dosage de l'AIA.....	17
4.3.1 La préparation du réactif de Salkowski.....	17
4.3.2 Le dosage de l'AIA.....	18
4.4 La production de la biomasse.....	18
Résultats et Discussions	
1. Etude morphologique.....	19
1.1 Etude macroscopique.....	19
1.2 Etude macroscopique sur les milieux M1 gélosés.....	21
1.3 Etude microscopique.....	22
2. Test de productivité des souches.....	24
2.1 Aspect de la croissance dans les milieux de fermentation.....	24
2.2 Détermination des concentrations d'AIA.....	25
2.2.1 En absence de tryptophane.....	25
2.2.2 En présence de tryptophane.....	26
3. Production de biomasse.....	27
Conclusion.....	28
Références bibliographiques.....	29
Annexes	

Introduction

En mars 2019, le Programme des Nations unies pour l'environnement (PNUE) a lancé une alerte à la communauté internationale sur l'état général de l'environnement mondial qui continue de se détériorer à cause de la pollution de l'air, du sol et de l'eau et il insiste pour renverser la situation (Ministère de l'Europe et des affaires étrangères).

La protection de l'environnement est avant tout une prise de conscience de la mondialisation des problèmes écologiques tel que le problème de lixiviat des décharges qui est un phénomène qui s'ajoute aux nombreux problèmes de pollution du milieu environnant (Chtioui *et al.*, 2008).

En 2014, les services du Ministère de l'Aménagement du Territoire et du Tourisme (MATET) Algérien ont recensé plus de 3000 décharges sur le territoire national. Ces décharges, exploitées de manière non appropriée constituent des menaces sérieuses pour l'environnement et la santé publique à cause du taux de lixiviat produit (Kehila *et al.*, 2014). Ce lixiviat est le résultat de la percolation et la filtration des eaux qui circulent entre les déchets des décharges et qui se caractérise par ses polluants organiques élevés et ses niveaux de micro-organismes pathogènes. Par son rejet dans l'environnement, il peut contaminer le sol, l'eau et l'air (Abdel-Shafy *et al.*, 2022).

Les actinomycètes sont l'un des grands groupes de microorganismes qui constituent jusqu'à 20% du total de la microflore tellurique (Bouaziz, 2018). Ils sont omniprésents et peuvent se développer pas seulement dans le sol, mais dans différents écosystèmes terrestres, aquatiques et dans des conditions écologiques très extrêmes (Zeeshan *et al.*, 2022).

Les actinomycètes sont surtout connus comme une source principale d'enzymes à intérêt industriel (Naligama *et al.*, 2022). Sur le plan écologique, ils ont un rôle prépondérant dans la santé des sols (Zeeshan *et al.*, 2022), grâce à leurs capacités de décomposition et de minéralisation des substances organiques par la production des enzymes extracellulaires. D'autres molécules bioactives sont également sécrétées par les actinobactéries, telles que les vitamines, les insecticides et les phytohormones.

L'acide indole acétique (AIA), le plus reconnu comme phytohormone de la famille des auxines, est synthétisé par de nombreuses souches actinomycétales. Il joue un rôle majeur dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes.

L'objectif principal de notre travail est de tester la capacité des actinomycètes à se développer dans les conditions présentées par le lixiviat et à produire l'acide indole acétique à partir de ce déchet toxique.

Nous avons développé notre sujet dans trois parties. La première partie présente une synthèse bibliographique sur les caractères généraux et l'intérêt des actinomycètes, les phytohormones et l'AIA ainsi que le lixiviat et ses propriétés. La deuxième décrit les différentes techniques utilisées dans notre pratique. La troisième partie, consacrée à discuter les résultats obtenus sur la productivité de l'AIA dans les différents milieux testés.

Revue Bibliographique

Les Actinomycètes

1. Généralités

Le monde du vivant se divise en trois domaines principaux : les *Archae*, les *Bacteria* et les *Eucarya*. Cette division s'appuie sur les travaux de comparaison de séquences ARNr de Woese (Woese, 1987). Parmi le groupe des *Bacteria*, il existe un groupe de microorganismes appelé actinomycètes qui ont été isolés la première fois en 1875 à travers un isolat d'un canal lacrymal, l'isolat était nommé "*Sterptothrix Foersteri*" (Sowani *et al.* , 2017). Le nom actinomycètes est dérivé des mots grecs pour rayon (*aktis* ou *aktin*) et champignon (*mukēs*) grâce à son développement par une combinaison d'extension de la pointe et de ramification des hyphes (Ait Barka *et al.* , 2016).

Les actinomycètes sont des microorganismes qui englobent les propriétés des bactéries et des champignons (Michaud, 2016). Ils possèdent les caractéristiques de la paroi cellulaire des bactéries et la morphologie des champignons. Ce sont des microorganismes à coloration de Gram positive, filamenteux (formant des hyphes-ramifiés), mobil ou non mobiles (Romaric, 2018) avec un coefficient de Chargaf (GC %) élevé d'environ 57% à 73% (Singleton, 2005).

Les actinomycètes sont ubiquitaires, ils colonisent plusieurs habitats naturels comme l'eau, le sol, les plante et même les environnements extrêmes tels que les milieux alcalins, les milieux salés, les sols contaminés par le pétrole ou les métaux lourds (Bouaziz, 2018).

Selon le manuel de Bergey de l'année 2012 les actinomycètes appartiennent au phylum Actinobacteria, à la classe des Actinobacteries et l'embranchement des Firmicutes. Ils sont ensuite divisés en cinquante-trois familles telles que *Actinoplanaceae*, *Actinomycetaceae*, *Dermatophilaceae*, *Frankiaceae*, *Micromonosporaceae*, *Mycobacteriaceae*, *Nocardiaceae* et *Streptomyceteceae* et compte plus de deux cents genres (Ruan, 2013).

La taxonomie des actinomycètes comprend leurs identifications, nomenclature et classification. Elle est basée sur plusieurs critères morphologiques, physiologiques, chimiques et moléculaires (Belyagoubi, 2014).

Les actinomycètes ont des morphologies très diverses (figure 1), de la forme coccoïde (*Micrococcus*), bâtonnet-coccoïde (*Arthrobacter*), formes hyphales fragmentaires (*Nocardia*) au mycélium ramifié (*Streptomyces*).

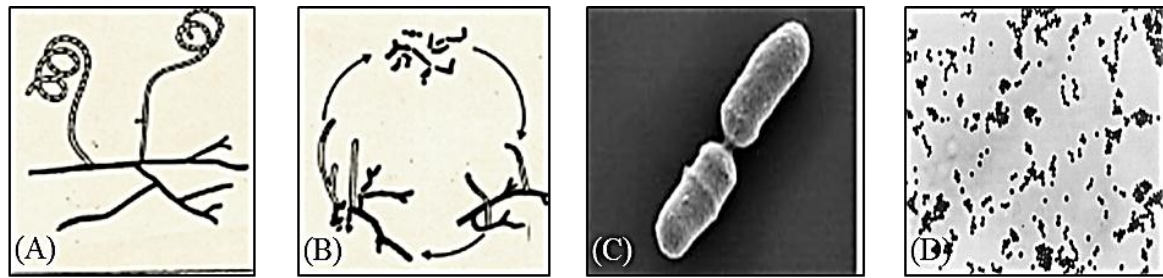


Figure 1 : Les différentes morphologies rencontrés chez les Actinomycètes. Schéma du genre *Streptomyces* (A) et du genre *Nocardia* (B) (Qinyuan *et al.* , 2016). (C) : Les cellules du genre *Arthrobacter* par microscopie électronique à balayage (Can *et al.* , 2010) ; (D) : Examen microscopique des cellules du genre *Micrococcus* (John, 1990).

Au niveau macromorphologique, l'observation à l'œil nu des cultures permet de décrire des colonies très diversifiées, de tailles et de couleurs différentes. Nous avons des espèces qui produisent à la fois du mycélium du substrat et du mycélium aérien (figure 2), des espèces avec un mycélium du substrat sans la production de mycélium aérien ou le contraire, d'autres espèces ne produisent ni l'un ni l'autre (Ait Barka *et al.* , 2015).

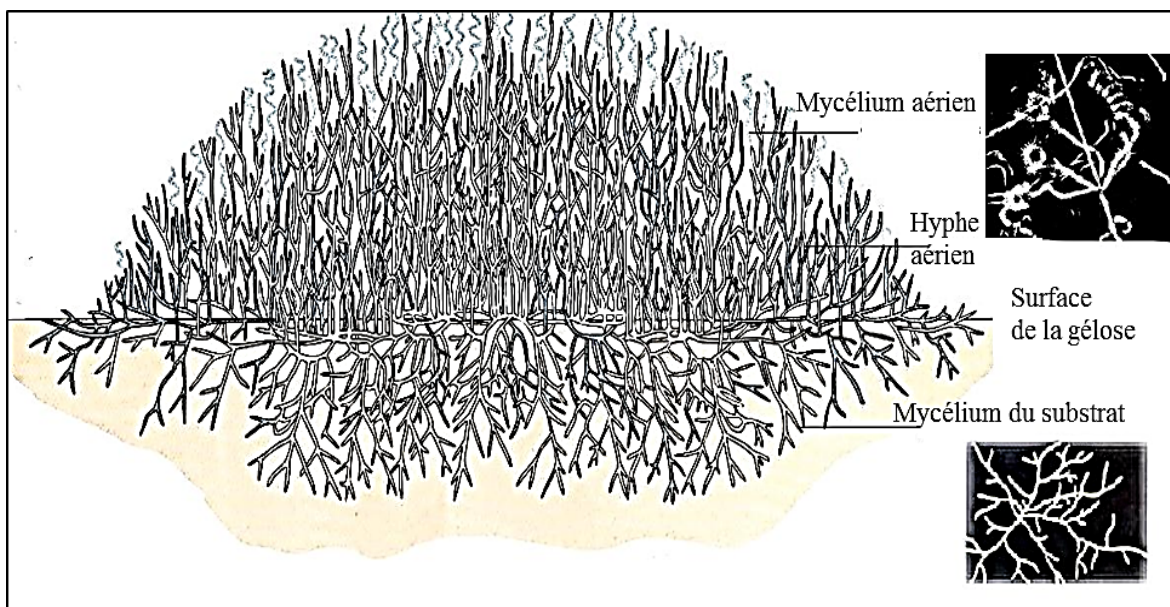


Figure 2: Morphologie commune d'une colonie d'actinomycète filamenteuse cultivée sur milieu gélosé (coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant le mycélium du substrat et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores) (Qinyuan *et al.* , 2016).

L'étude au microscope électronique permet la description de la forme des spores, la surface des spores (rugueuse, lisse...) (figure 3) et la présence de certaines structures comme les sporanges sur le mycélium aérien. Elle permet aussi l'examen des fragmentations des mycéliums (Saker, 2015).

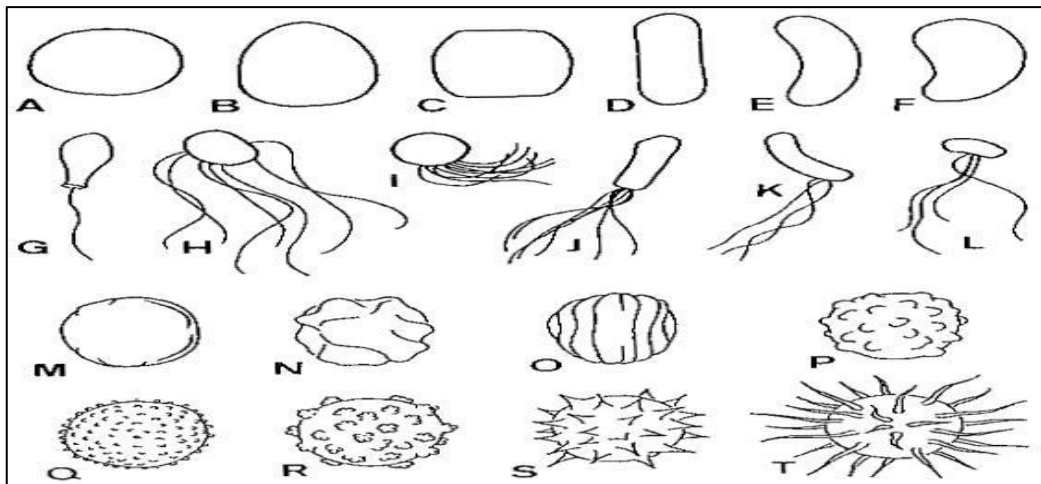


Figure 3: Caractéristiques morphologiques des spores.

Forme générale des spores: (A) globuleuses, (B) ovoïdes, (C) doliformes, (D) en forme de bâtonnet, (E) allantoides, (F) réniformes.

Type de flagellation: (G) monopolaire monotriches, (H) péritriches, (I) polytricheuses, (J) monopolarpolytricheuses (= lophotriches), (K) polytricheuses subpolaires, (L) polytricheuses latérales. Ornementation de surface: (M) lisse, (N) irrégulière rugueuse, (O) parallèle rugueuse, (P) verruqueuse, (Q) échinulée, (S) épineuse, (T), poilue (Qinyuan *et al.*, 2016).

L'identification des actinomycètes comprend aussi l'étude des propriétés métabolique par des tests sur la capacité de dégradation de différentes substances comme les protéines les polymères complexes et la résistance aux différents agents chimiques et physiques tel que les antibiotiques, la température, le pH et l'humidité du sol (Bouaziz, 2018).

En général, les actinomycètes sont hétérotrophes ou chimio-autotrophes, mais la plupart sont chimio-hétérotrophes, capables d'utiliser une variété de sources de nutriments, y compris une variété de polysaccharides complexes. Les actinomycètes sont pour la plupart mésophiles et la température de croissance optimale se situe entre 25 °C et 30 °C. Cependant, les actinomycètes thermophiles peuvent se développer à des températures allant de 50 °C à 60 °C. La plupart des actinomycètes se développent dans des écosystèmes à pH neutre avec un optimum de croissance à des niveaux de pH entre 6 et 9 (Ait Barka *et al.*, 2016).

La chimio-taxonomie des actinomycètes est précieuse, car elle permet la discrimination entre les sous-ordres. Elle est fondée sur la distribution et la présence des composants chimiques spécifiques de la paroi cellulaire. Ces composants pariétaux sont principalement des acides aminés, des sucres et des lipides (Saker, 2015).

Les deux acides aminés majeurs de la paroi cellulaires sont la glycine et l'acide diamino-pimélique. Ce dernier peut être remplacé par l'acide diaminobutyrique, l'ornithine et la lysine chez certains actinomycètes (Bouaziz, 2018). La distribution des sucres dans la

paroi cellulaire des actinomycètes est classée en cinq groupes : groupe A : arabinose et galactose ; groupe B : madurose ; groupe C : sucre non identifié ; groupe D : arabinose et xylose ; groupe E : rhamnose (Medjemadj, 2021).

La composition membranaire en lipides s'agit également de trois groupes cruciales dans la taxonomie : les acides gras, les phospholipides et les ménaquinones (Saker, 2015).

En moléculaires, les outils utilisés en complément des caractères phénotypiques pour identifier et classer les actinomycètes sont le pourcentage GC, la digestion de l'ADN et l'analyse par l'électrophorèse en champ pulsé (DGGE) et le séquençage de l'ARNr16s qui est très utilisée pour classer les espèces (Ripert, 2013).

2. Cycle de vie des actinomycètes

Les actinomycètes filamenteux ont un cycle de vie complexe comme c'est illustré dans la figure 4. Le cycle de vie de la plupart des actinomycètes commence par les spores qui germent pour former des hyphes végétatifs. Ensuite, un processus de croissance et de ramification des hyphes se traduit par la production d'un mycélium végétatif à ramifications complexes (Medjemadj, 2021).

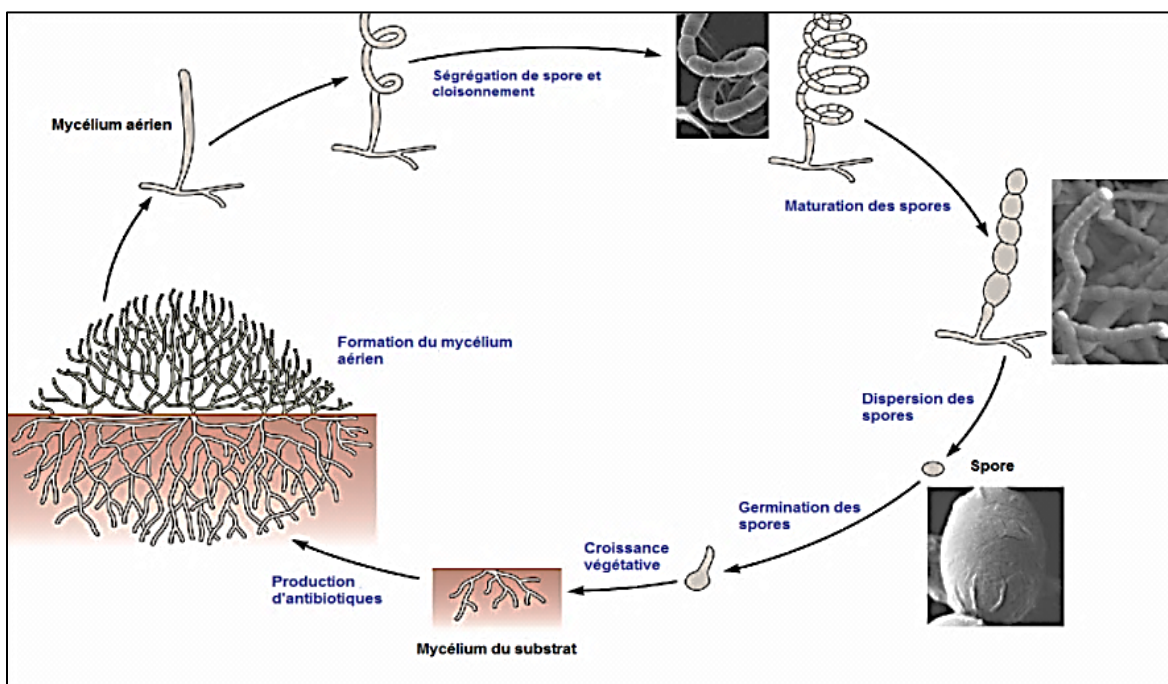


Figure 4: Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries sporulantes (Ait Barka *et al.*, 2016).

3. Intérêts des actinomycètes

Les actinomycètes ont une grande importance économique. Ils jouent un rôle essentiel dans le sol et dans les interactions avec les plantes. Ils synthétisent également de nombreux métabolites d'intérêt biotechnologique et ont des applications dans différents domaines : agronomique, médicale et écologique.

3.1 L'intérêt agronomique

Les actinomycètes dégradent et transforment les substances organiques complexes que les champignons ne peuvent pas dégrader comme la chitine, la lignocellulose des plantes, les polymères complexes et les polysaccharides dans des matières végétales, animales ou fongiques (Bouaziz, 2018). Par la dégradation de ces matières organiques, les actinomycètes synthétisent des métabolites qui ont une importance dans la fertilisation des sols, l'amélioration de la disponibilité des nutriments et des minéraux (Bhatti *et al.*, 2017).

Ils sont aussi capable de lutter contre les champignons toxigènes et les agents phytopathogènes (Bouaziz, 2018) tel que *Erwinia amylovora* (une bactérie qui cause le feu bactérien du pommier) et *Agrobacterium tumefaciens* l'agent causal de la maladie de Crown Gall (Bhatti *et al.*, 2017).

3.2 L'intérêt médical

Les actinomycètes sont bien connus pour la production d'une large gamme de métabolites secondaires de diverses valeurs médicales comme les antibiotiques, les antifongiques, les antiprotozoaires, les antiviraux, les anti-cholestérols, les anti-helminthes, les anticancéreux et les immunosuppresseurs (Bhatti *et al.*, 2017).

Les antibiotiques sont des molécules issues du métabolisme secondaire des actinobactéries. Ces molécules ont été particulièrement étudiées du fait de leur importance en thérapie humaine et vétérinaire (Ravi Ranjan *et al.*, 2014). Plus de 80% des antibiotiques existés ont été produits par ce groupe bactérien (Aouiche *et al.*, 2012). Ces antibiotiques inclut différentes classes : Aminoglycosides, macrolides, anthracyclines, nucleosides, peptides, glycopeptides, polyenes, polytheres, tetracyclines, terpens et β -lactame (Ravi Ranjan *et al.*, 2014).

Les deux genres d'actinomycètes prolifiques des antibiotiques sont : *Micromonospora* et *Streptomyces*. Ce dernier est la source principal de plusieurs composés antifongiques (nystatine), antiparasitaires (ivermectine), antibactériennes (tétracycline), immunosuppressives (rapamycine) et antitumorales (mitomycine) (Belyagoubi, 2014)

3.3 L'intérêt écologique

La fonction écologique des actinomycètes au sein des écosystèmes est la décomposition des substances organiques (Fox, 2008). Ils jouent un rôle important dans le recyclage des matières organique par leurs combinaisons avec d'autres micro-organismes (Bactéries et Champignons) du sol dans l'environnement. Ils décomposent les résidus végétaux tels que la cellulose et les résidus animaux grâce à la production de nombreuses enzymes hydrolytiques (Bhatti *et al.* , 2017).

Les actinobactéries ne contaminent pas l'environnement, ils aident durablement à améliorer la santé du sol par la formation et la stabilisation de tas de compost (Bhatti, 2017), la formation d'humus qui a des propriétés similaires à l'argile et participe à la stabilité de la structure du sol (Fox, 2008).

L'odeur de la terre fraîchement labourée est due à la présence des molécules volatiles appelées géosmines produites par les actinomycètes dans le sol (Bhatti *et al.* , 2017).

Les actinomycètes peuvent avoir une partie naturelle de la dégradation des déchets dans le sol (Mohammed *et al.* , 2018), et aussi les composés de haut poids moléculaire comme les hydrocarbures dans les sols pollués (Bhatti *et al.* , 2017).

4. Rôle des bactéries dans la rhizosphère

Le sol est un milieu vivant composé de nombreux microorganismes tel que les protozoaires, les champignons, les virus et les bactéries. Ces derniers sont les plus nombreux, ils représentent 6.10^8 cellules par gramme de sol et ils sont nommés les rhizobactéries (Cherif, 2014).

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR : Plant Growth-Promoting Rhizosphère) sont des microorganismes qui ont la capacité de coloniser des sites racinaires durant tout le cycle de développement de la plante et favorisent sa croissance en améliorant les échanges des composés organiques, de l'eau et des éléments minéraux entre le sol et la plante, et en produisant des hormones végétales ou d'autres molécules qui stimulent le développement. De plus, ils jouent un rôle important à l'induction de la résistance de la plante hôte à divers stress biotiques et abiotiques par libération des métabolites antimicrobiens, synthèse des phytohormones, production des sidérophores et modulation des réponses de résistance de la plante (Duangkhaetita *et al.* , 2021).

La présence de PGPR a des effets bénéfiques sur la santé des plantes. Les PGPR inhibent les micro-organismes pathogènes et accélèrent la disponibilité et l'absorption des nutriments. Ils améliorent la fertilité des sols et les rendements des cultures et réduisent l'impact négatif des engrais chimiques sur l'environnement (Franco-Correa et Chavarro-Anzola, 2016).

Les actinobactéries sont l'un des composants majeurs des populations microbiennes présentes dans le sol. Ils ont été récemment considérés comme des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (Franco-Correa et Chavarro-Anzola, 2016). Le genre bactérien *Frankia* est un actinomycète filamenteux (Gissing, 2018) qui fixe l'azote atmosphérique et peut établir une relation avec huit familles des plantes (Rouvier *et al.*, 2013). Il possède des structures spécifiques tels que les sporanges et les vésicules (figure 5), ces derniers sont le site de fixation de l'azote atmosphérique (Lafond, 2014).

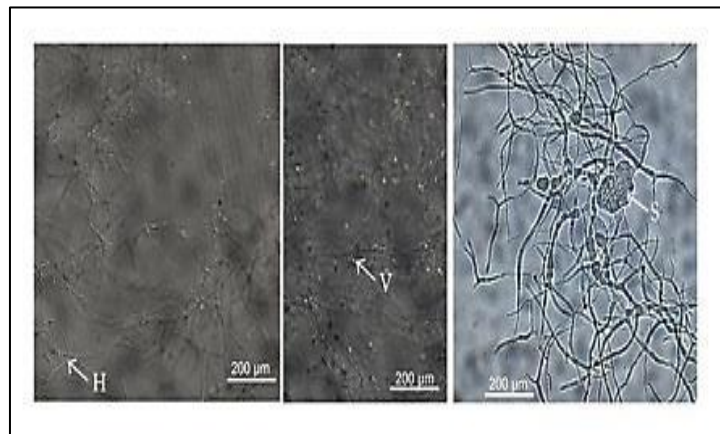


Figure 5 : structure de la bactérie *Frankia*. H: hyphes V: vésicule S: sporanges (Diagne *et al.*, 2013).

Les bactéries du genre *Frankia* vivent en symbiose avec les plantes et entraîne la formation des nodules et même la sporulation au sein des cellules végétales. Tous ces phénomènes permettent de favoriser et réguler la croissance des actinorhiziens dans des milieux extrêmes (Cotin, 2014). Elles ont aussi un rôle dans la survie, la dissémination et la reproduction de la plante (Lafond, 2014). Elles synthétisent des phytohormones comme l'acide indolacétique et l'acide phénylacétique qui stimulent la croissance des poils.

Les Phytohormones

1. Définition

La notion d'hormone a été utilisée d'abord en physiologie animale (Grandin, 2004), puis en biologie végétale à la fin du 19^{ème} siècle (Fortin et Nadeau, 2002).

Les phytohormones, ou hormones végétales, sont des substances chimiques naturelles ou synthétiques (Hopkins, 2003). Ils peuvent agir sur le site de leur production ou loin de celui-ci par diffusion de cellules en cellules (Taulera, 2022). L'effet des phytohormones dépend de sa concentration, son lieu d'action et du stade de développement de la plante (Leclerc *et al.*, 2007). Ils incluent plusieurs molécules qui servent de signaux chimiques aux organismes végétales. Ce sont des régulateurs de contrôle des réponses physiologiques (Grandin, 2004), effecteurs des taux de croissance et des phénomènes de différenciation des cellules et des organes végétaux (Hopkins, 2003).

Les phytohormones englobent cinq principaux groupes de molécules : les auxines, les cytotoxines, l'éthylène, les gibbirellines et l'acide abscissique (AbA). En plus de ces principaux groupes, il y a deux autres groupes qui influencent principalement la croissance, il s'agit des brassinostéroïdes et des polyamines (Hopkins, 2003).

2. Les auxines

Le nom chimique des auxines, provient du grec "*aukseis*" et qui signifie "accroître". Il représente un groupe de composants chimiques. Les auxines sont les premières phytohormones qui ont été découvertes, elles sont synthétisées dans les apex racinaires et caulinaires de la plante (Hopkins, 2003).

Les auxines impliquées dans la majorité des étapes du développement de la plante, de l'embryogénèse jusqu'à la formation des fleurs. La perception des auxines est soutenue par des mécanismes de transduction des signaux qu'entraînent des modifications importantes dans les cellules végétales (Arevalillo, 2017). L'action des auxines induit des facteurs de transcription de la famille "AUXIN RESPONSE FACTOR", qui activent l'expression des gènes cibles (Truskina, 2018).

La principale auxine est l'acide indole-3-acétique (AIA), mais il existe d'autres molécules naturelles qui sont des dérivés indoliques, parmi lesquels : l'indole-3-éthanol, l'indole-3-acétaldéhyde et l'indole-3-acétonitrile. Ces composés indoliques sont des précurseurs de l'AIA (Hopkins, 2003).

Les effets de l'auxine dépendent à la fois de sa concentration et des tissus sur lesquels elle agit. Elles jouent un rôle dans la croissance et le développement de la plante, l'élongation cellulaire, la différenciation tissulaires et la formation des bourgeons, des fleurs et des fruits (Hopkins, 2003).

3. L'acide indole-3-acétique

3.1 Définition

La plupart des rhizobactéries produisent des hormones aux quelles les végétaux sont sensibles. L'acide indole acétique est un acide carboxylique de la famille des auxines végétales. Il est synthétisé par la plante à partir du tryptophane dans le tube pollinique, le méristème apical et intercalaire racinaire et des tiges, les graines en formation et dans les jeunes feuilles (Romaric, 2018). Il est ainsi produit par différents groupes des bactéries du sol. Plus de 80 % des micro-organismes isolés de la rhizosphère possèdent la capacité de synthétiser et libérer l'acide indole-3-acétique (Munees et Mulugeta, 2014).

L'AIA est un composé organique de formule chimique : $C_{10}H_9O_2N$ (figure 6).

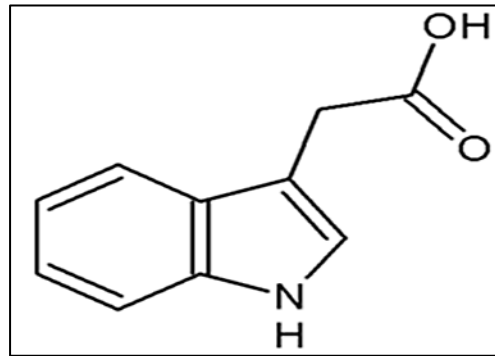


Figure 6 : La structure chimique de l'AIA (Hopkins, 2003).

3.2 Le rôle de l'acide indole-3-acétique

L'acide indole acétique est une substance de croissance et de développement des végétaux, provoque l'élongation cellulaire, la dominance apicale et améliore l'enracinement (Lance, 2023). Il agit également comme une molécule de signalisation réciproque affectant l'expression d'une variété de gènes microbiens. Par conséquent, l'AIA joue un rôle très important dans les interactions rhizobactéries-plantes. Il est impliqué dans presque tous les aspects de la croissance et du développement des plantes, ainsi que dans les réponses de défense. Cette diversité fonctionnelle se reflète dans la complexité des voies de biosynthèse de l'AIA (Munees et Mulugeta, 2014).

3.3 La biosynthèse de l'acide indole-3-acétique

Plusieurs stress environnementaux influencent et accélère la biosynthèse de l'AIA tels que : le stress osmotique, l'acidité... (Arif, 2015). Il fait partie du métabolisme secondaire et pour cela il n'est pas synthétisé dans la vie normale des bactéries.

La biosynthèse de l'AIA dépendant essentiellement du tryptophane (Leblond, 2011). On différencie cinq voies principales de biosynthèse de l'AIA et qui sont résumées dans la figure numéro 7 :

- La voie passant par l'indole-3-pyruvique et l'indole-3-acétaldéhyde, voie caractéristique de : *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella* et *Azospirillum*.
- La voie passant par l'indole-3- acétamide, voie caractéristique de certaines bactéries phytopathogènes comme *Agrobacterium Tumefaciens* et *Pseudomonas* saprophyte.
- La voie passant par l'indole-3- acétonitrile, la voie qui caractérise les cyanobactéries.
- La voie arrivant à la production de la tryptamine, la voie qui caractérise *Azospirillum* et *Pseudomonas*.
- La voie de tryptophane-indépendant, voie connue chez les cyanobactéries et les bactéries du genre *Azospirillum* (Arif, 2015).

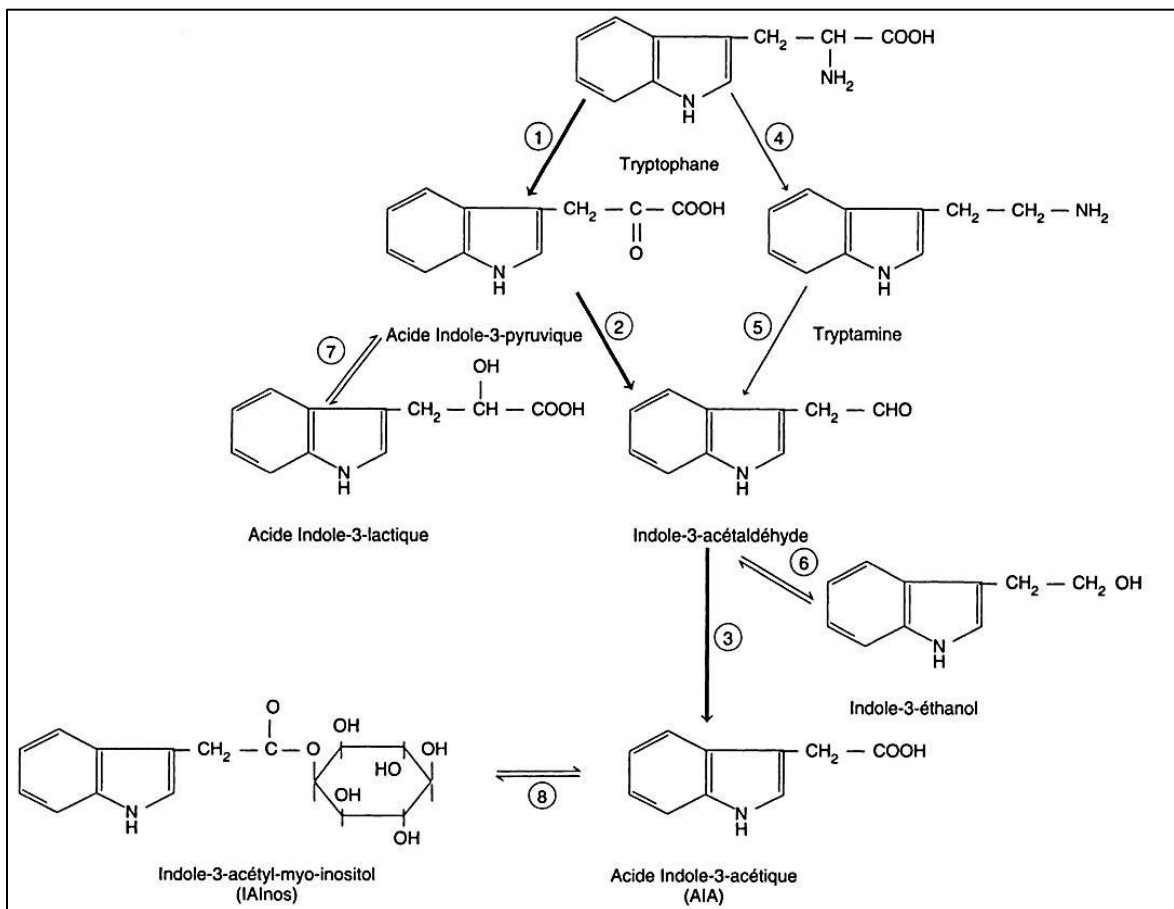


Figure 7 : Les voies de biosynthèse de l'acide indole -3- acétique (Hopkins, 2003).

Les Lixiviat

1. Définition

Par définition, le lixiviat est un liquide qui circule entre les déchets dans les décharges (Portillo, 2022). Il est dû à la percolation des eaux à travers les déchets durant leur décomposition dans les stations d'enfouissement (Mutchinson, 2007) (figure 8). Ces eaux sont ceux de ruissellement des précipitations ou des déchets eux-mêmes (Ismail, 2008).

La couleur de lixiviat varie du brun-gris lorsqu'il est frais à une couleur noire visqueuse lorsqu'il est vieilli (Corena, 2008). Sa qualité est lié au temps qu'ils s'y trouvent et aussi au type et à la quantité des déchets (Portillo, 2022).

Le lixiviat libère plusieurs substances toxiques dans le milieu naturel tel que les métaux lourds, les substances organiques et les microorganismes (Trabelsi, 2011).



Figure 8 : lixiviat d'une décharge (Geannelli, 2019).

Ce lixiviat et ses biogaz générés entraînent plusieurs types de pollution organique et inorganique qui ont un impact négatif sur la santé des riverains et sur tous les compartiments de l'environnement (air, eau et sol) (Iounes *et al.*, 2018). Ils représentent donc un danger pour l'environnement et la santé des êtres vivants.

2. Processus de formation

La formation du lixiviat durant le processus de fermentation et de décomposition de la matière organique (Portillo, 2022) est due principalement à l'infiltration de l'eau (les eaux météoriques, les eaux de ruissellement, ...) à travers les déchets (Sillet *et al.*, 2008) et lorsque le taux d'humidité des déchets devance la valeur maximale de rétention (Trabelsi, 2011). Cette formation dépend de plusieurs facteurs : la qualité des déchets, les facteurs climatiques et hydrogéologiques, les mécanismes internes comme la dégradation de la matière organique et la formation de biogaz (Emilien, 2008).

3. Composition

La composition chimique et biochimique du lixiviat est diverse et variable. Elle varie d'une décharge à une autre selon la nature et l'âge des déchets, les conditions climatiques et la topographie du site (Jirou *et al.*, 2014). Elle englobe principalement : les matières organiques dissoutes ou en suspension exprimé en la demande chimique en oxygène (DCO), les composés minéraux (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , ...), les cations de métaux lourds, les micropolluants organiques (composés aromatiques, les hydrocarbures ...) et les microorganismes pathogènes (Trabelsi, 2011).

4. Types du lixiviat

4.1 Les lixiviats jeunes

Les lixiviats jeunes correspondent aux déchets récents. Ces lixiviats sont chargés par les molécules organiques, ils sont riches en acide volatile (acide gras volatile : AGV) qui est facilement biodégradable (Sillet *et al.*, 2001). Les lixiviats jeunes sont caractérisés par une biodégradabilité moyenne, une teneur en métaux élevée et un pH voisin de 6,5 (Ismail, 2008).

4.2 Les lixiviats intermédiaires

Au cours du temps quand la décharge et les déchets avancent en âge, la charge organique et les acides volatiles sont abaissés (Trabelsi, 2011). De ce fait, les lixiviats intermédiaires sont indiqués par une biodégradabilité faible, un pH neutre et une teneur en métaux bas (Ismail, 2008).

4.3 Les lixiviats stabilisés

Appelé aussi les lixiviats vieux sont ceux des décharges anciennes, ils sont composés essentiellement des molécules complexes et non volatiles comme les substances humiques et fulviques (SHV) de haut poids moléculaires (Sillet *et al.*, 2001). Ces lixiviats présentent une charge organique et une biodégradabilité faibles, une teneur en métaux bas et un pH supérieur à 7.5 (Ismail, 2008).

Tableau 1 : classification des lixiviats (Sillet, 2001).

	Lixiviat jeune	Lixiviat intermédiaire	Lixiviat stabilisé
Age de lixiviat	<5 ans	5-10ans	>10 ans
PH	<6.5	7	>7.5
DCO (g.L ⁻¹)	>20	3-15	<2
Biodégradabilité (DBO/DCO)	>0.3	0.1-0.3	<0.1
Matières organiques	70%-90%	20%-30%	N'existe presque pas
Métaux (g.L ⁻¹)	2	<2	<2

5. Traitement de lixiviat

Les lixiviats doivent être traités avant d'être rejetés dans la nature. Vue leur charge polluante, il faut un traitement adéquat. Ce traitement dépend de la composition du lixiviat (Jirou, 2014). On distingue alors deux types de traitement : biologique (aérobies ou anaérobies) qui est efficace pour traiter des lixiviats immatures. Contrairement au traitement physico-chimique (précipitation, coagulation/floculation, adsorption, oxydation, stripping) qui est utilisé pour traiter des lixiviats plus matures (Trabelsi, 2011).

6. Impact de lixiviat sur l'environnement

Lorsque les déchets sont mis en décharge, des processus de dégradation associés à des interactions biologiques et physico-chimiques complexes se produisent. L'eau s'y infiltre et produit des lixiviats et du biogaz contenant des substances organiques ou minérales qui produisent principalement des pollutions de type organique et métallique liées à la biodégradation naturelle des déchets restreints et de leurs composants anthropiques, libérant de nombreux produits chimiques toxiques dans le milieu naturel. On rencontre essentiellement trois types de pollution : pollution par les matières organiques et/ou minérales, pollution par les métaux lourds et pollution par les microorganismes (Kehila *et al.* 2014).

Matériel et Méthodes

Nous avons réalisé notre travail dans le laboratoire de génie microbiologie et application, située au complexe Chaab Erssas, Université Frère Mentouri Constantine (UFMC1), sous la charge du Professeur M. Kitouni.

1. Le matériel biologique

Les souches actinomycétales que nous avons utilisées dans ce travail sont *Streptomyces iakyrus*, *Streptomyces xantholiticus*, *Nocardioopsis aegyptia* et *Nocardioopsis dassonvillei* de la collection du laboratoire, conservé à -18 °C sur le milieu ISP5 additionné de glycérol (V/V).

2. La revivification des souches

Nous avons cultivé les souches bactériennes sur le milieu DSMZ 65 (voir annexe). Le pH du milieu a été ajusté à 7,4 puis stérilisé à 121 °C pendant 20 min. L'ensemencé a été en surface par stries serrés et les cultures ont été incubées à 30 °C, jusqu'à l'appariations des colonies.

3. L'étude morphologique

3.1 L'étude macroscopique

La détermination des caractères cultureux a été réalisé après ensemencement sur le du milieu DSMZ 65. L'incubation a été à 30 °C durant 4 et 11 et 21 jours.

3.2 L'étude microscopique

L'observation microscopique des mycélia du substrat et aérien, ainsi que des spores a été réalisée selon la technique des lamelles décrite par Williams et Cross (1971). Elle consiste en l'insertion délicate des lamelles stériles dans les milieux gélosés (DSMZ65) de telles sortes qu'elles forment un angle de 45 °. L'ensemencement a été fait à partir d'une goutte d'inoculum déposée à l'intersection lamelle-gélose. Après 21 jours d'incubation à 30 °C, les lamelles ont été retirées de la gélose et ont été déposé sur des lames propres. Après coloration au bleu de méthylène, les préparations ont été examinées au microscope optique à l'objectif d'immersion (G×100).

4. La production de l'acide indole acétique (AIA)

4.1 La préparation des inocula

Pour chaque souche bactérienne, nous avons raclé les surfaces des colonies cultivées sur milieu DSMZ 65 pour une récupération maximale des spores et mycélia.

Ensuite nous les avons suspendues dans 10 mL d'eau physiologique stérile. Après agitation, nous avons ajusté la turbidité des suspensions à 6 McFarland.

4.2 Le test de productivité

La capacité des souches à produire l'acide indole acétique a été testée à deux étapes :

4.2.1 La première étape, en absence du tryptophane

Pour chaque souche nous avons préparé trois (03) flacons contenant 50 mL de milieu de base, le milieu NBRIP modifié. Ce milieu est constitué de : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, KCl et l'extrait de levure à des concentrations bien définies (voir Annexe). À ce milieu, nous avons additionné le glucose et le lixiviat comme illustré dans le tableau suivant.

Les milieux sont inoculés avec 2 mL de la suspension sporale, ensuite sont incubés dans un incubateur/agitateur à une température de 28 °C, une agitation à 180 rpm pendant 7 jours.

Tableau 02 : La composition des différents milieux de culture pour les fermentations.

Composants	M1	M2	M3
Glucose	0.5 g	0	0
Lixiviat	0	5 mL	10 mL

4.2.2 La deuxième étape, en présence du tryptophane

Pour chaque souche nous avons préparé deux (02) flacons. Le premier flacon contient le milieu M1 et le deuxième flacon, contient le milieu M3. Tous les flacons ont été supplémenté de tryptophane pour avoir une concentration finale de 142 mg/L de Trp.

Les milieux sont inoculés avec 2 mL de la suspension cellulaire à 6 McF. Par la suite, les flacons sont incubés dans un incubateur/agitateur à 28 °C/180 rpm (IKA KS 4000 i control) pendant 7 jours.

- Etude macroscopique sur les milieux M1 et M3 gélosés

Une autre identification des caractères macroscopique est effectuée par ensemencement des milieux de fermentation M1 et M3 avec stries serrés ensuite incubées à 30 °C et observées après 7 jours.

4.3 Le dosage de l'AIA

4.3.1 La préparation du réactif de Salkowski

La mise en évidence de la production de l'AIA est effectuée selon la méthode colorimétrique décrite par Brick *et al.*, 1991 à l'aide du réactif de Salkowski.

Nous avons préparé le réactif avec la solution FeCl_3 à 0,5 M et de l'acide perchlorique à 35% (voir annexe...).

4.3.2 Le dosage de l'AIA

Afin de récupérer les surnageants, les cultures ont été mises dans des tubes de centrifugation stériles et centrifugées à 5000 rpm pendant 35 min dans la centrifugeuse UNIVERSAL 320R.

2 mL de chaque surnageant sont ajoutés à 4 mL de réactif de Salkowski déjà préparé dans des tubes propres. Après 30 min à l'obscurité (la coloration rose indique la présence d'AIA), les densités optiques ont été mesurées au spectrophotomètre (analytik jena SPE KOL 1300) réglé à la longueur d'onde 530 nm. Les quantités d'AIA produites sont déterminées à l'aide de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage d'AIA décrite par Monita *et al.*, (2014).

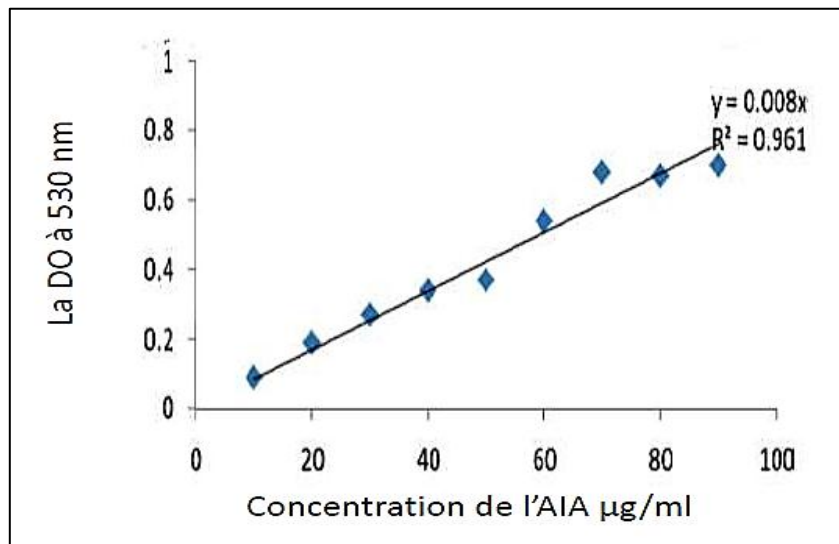


Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'AIA (Monita *et al.*, 2014).

4.4 La production de la biomasse

Nous avons récupéré les culots au fond des tubes de centrifugation que nous avons par la suite mis dans une étuve ventilée réglée à 50 °C afin de récupérer la biomasse cellulaire séchée.

Résultats et discussions

1. Etude morphologique

1.1 Etude macroscopique

Les colonies des quatre souches sont apparues après 4 jours d'incubation à 30 °C. Ceci signifie que la croissance des souches est moyennement rapide. Cette croissance diffère par l'aspect des colonies, l'aspect et la couleur du mycélium et la masse sporale.

Tableau 3 : Caractères cultureux de différentes souches sur le milieu de culture DSMZ 65.

Durée d'incubation	Souches utilisées	Caractéristiques			
		Croissance	Mycélium du substrat	Mycélium aérien	Masse sporale
4 jours	<i>Streptomyces xantholiticus</i>	-	- marron claire	- blanc	- blanche
	<i>Nocardiosis aegyptia</i>	-	- blanc	- blanc	- blanche
	<i>Streptomyces iakyrus</i>	-	- marron clair	- blanc	- blanche
	<i>Nocardiosis dassonvillei</i>	-	- blanc	- blanc	- blanche
11 jours	<i>Streptomyces xantholiticus</i>	+	+ marron	+ blanc	+ Grise
	<i>Nocardiosis aegyptia</i>	+/-	+ jaune	+ blanc	+/- blanche
	<i>Streptomyces iakyrus</i>	+	+ marron	+ blanc	+ Grise
	<i>Nocardiosis dassonvillei</i>	+/-	+ jaune	+ blanc	+/- blanche
21 jours	<i>Streptomyces xantholiticus</i>	+/+	+ marron	+ blanc	++ Grise
	<i>Nocardiosis aegyptia</i>	+	+ jaune	+ blanc	+ blanche
	<i>Streptomyces iakyrus</i>	+/+	+ marron	+ blanc	++ Grise
	<i>Nocardiosis dassonvillei</i>	+	+ jaune	+ blanc	+ blanche

(-) faible croissance ; (+/-) croissance moyenne ; (+) bonne croissance ; (++) très bonne croissance.

Après 4 jours d'incubation, une faible croissance est observée pour les cultures des *Streptomyces iakyrus* et *Streptomyces xantholiticus*. Les colonies sont rondes de 1 à 2 mm de taille, plates avec un aspect sec, et une surface blanchâtre poudreuse. Elles sont incrustées dans la gélose par un mycélium du substrat qui est de couleur marron claire. Le mycélium aérien de couleur blanche donne une faible masse sporale de couleur blanche.

Après 11 jours, les colonies sont devenues plus grandes de 3 à 4 mm de taille. Nous avons remarqué un développement important des mycéliums et de la quantité des spores qui ont pris une couleur grise.

Après 21 jours d'incubation, la croissance augmente de plus en plus. La masse sporale est très abondante dû à sa maturation. On note absence totale des pigments diffusibles.

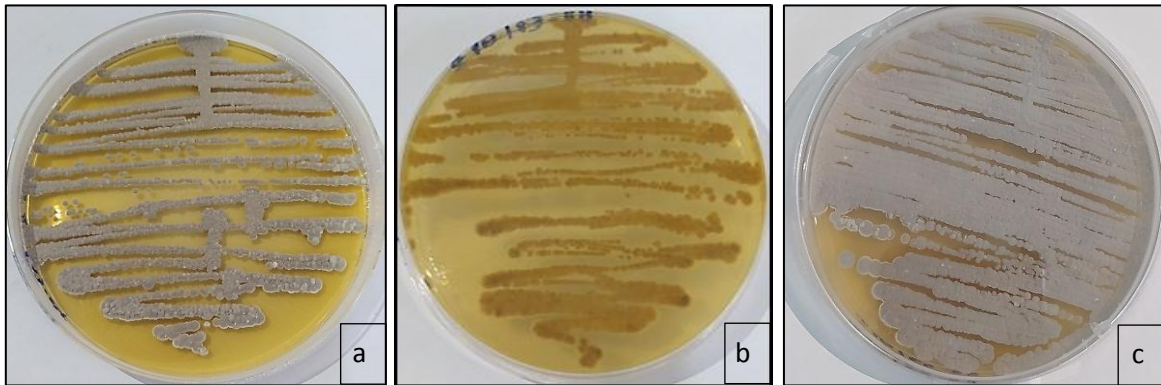


Figure 10 : la souche *Streptomyces iakyrus* sur le milieu DSMZ65
 a : mycélium du substrat après 11 jours d'incubation. b : mycélium aérien après 11 jours d'incubation ; c : mycélium aérien après 21 jours.

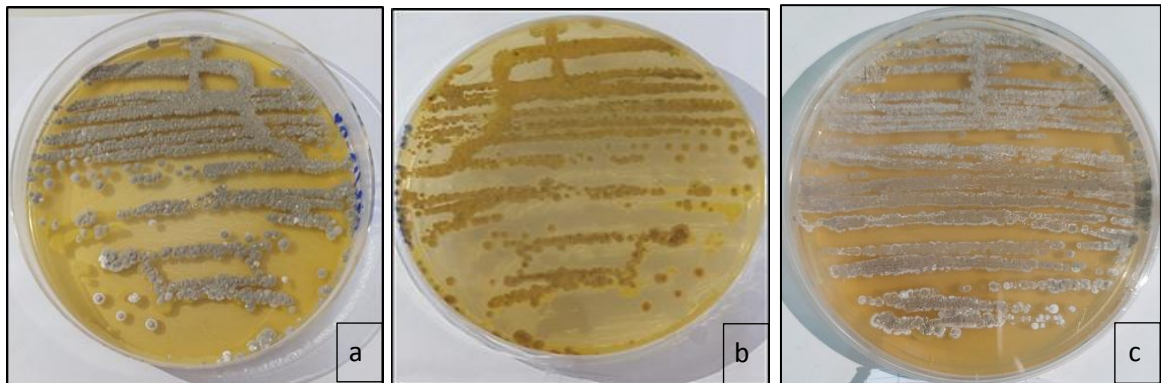


Figure 11 : la souche *Streptomyces xantholiticus* sur le milieu DSMZ65
 a : mycélium du substrat après 11 jours d'incubation ; b : mycélium aérien après 11 jours d'incubation ; c : mycélium aérien après 21 jours d'incubation.

Au niveau des souches *Nocardiopsis aegyptia* et *Nocardiopsis dassonvillei* après 4 jours d'incubation, nous avons remarqué une moyenne croissance. Les colonies sont rondes et plates, de 1 à 2 mm de taille et une surface blanchâtre poudreuse avec un aspect sec. Elles sont incrustées dans la gélose avec un mycélium du substrat de couleur blanche. Le mycélium aérien de couleur blanche donne une faible croissance de masse sporale blanche.

Après 11 jours, la croissance augmente et les colonies sont devenues de 2 à 4 mm de taille. Nous avons remarqué un développement des mycéliums et la masse sporale reste de couleur blanche.

Après 21 jours d'incubation, la croissance augmente de plus en plus. La masse sporale est abondante dû à sa maturation. On note absence totale des pigments diffusible.

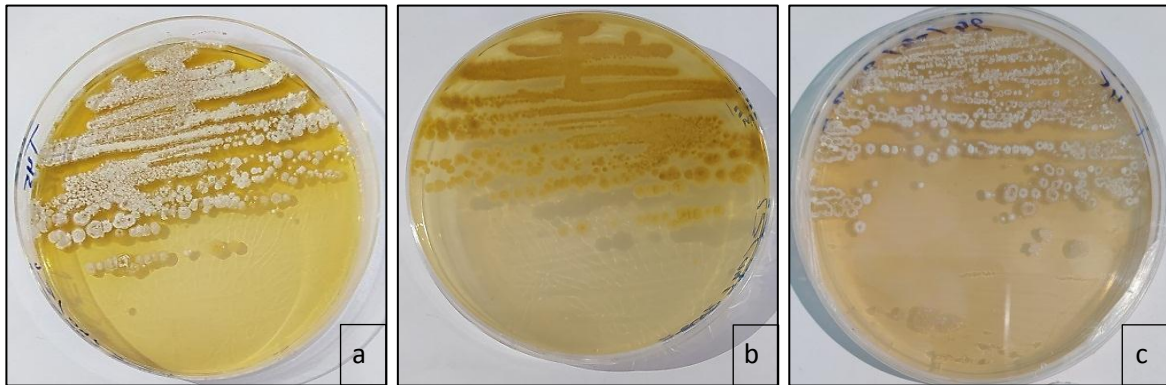


Figure 12 : la souche *Nocardioopsis dassonvillei* sur le milieu DSMZ65
a : mycélium du substrat après 11 jours d'incubation ; b : mycélium aérien après 11 jours d'incubation ; c : mycélium aérien après 21 jours d'incubation.

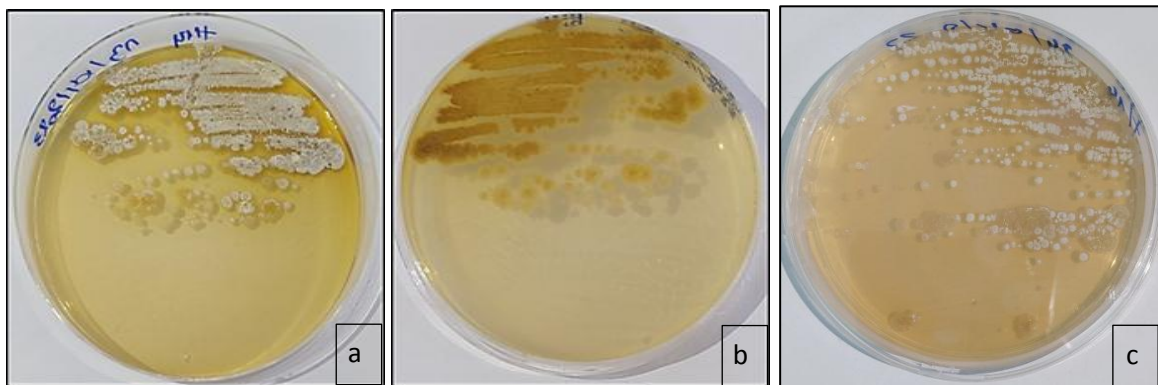


Figure 13 : la souche *Nocardioopsis aegyptia* sur le milieu DSMZ65
a : mycélium du substrat après 11 jours d'incubation ; b : mycélium aérien après 11 jours d'incubation ; c : mycélium aérien après 21 jours d'incubation.

1.2 Etude macroscopique sur les milieux M1 gélosés

Sur le milieu de fermentation M1 gélosé, les quatre souches donnent après 7 jours d'incubation une bonne croissance avec des colonies de taille 1 à 2 mm pour les souches *Streptomyces iakyrus* et *Streptomyces xantholiticus* et de 2 à 3 mm de taille pour les souches *Nocardioopsis dassonvillei* et *Nocardioopsis aegyptia*. Elles sont rondes avec une surface blanchâtre (figure 14).

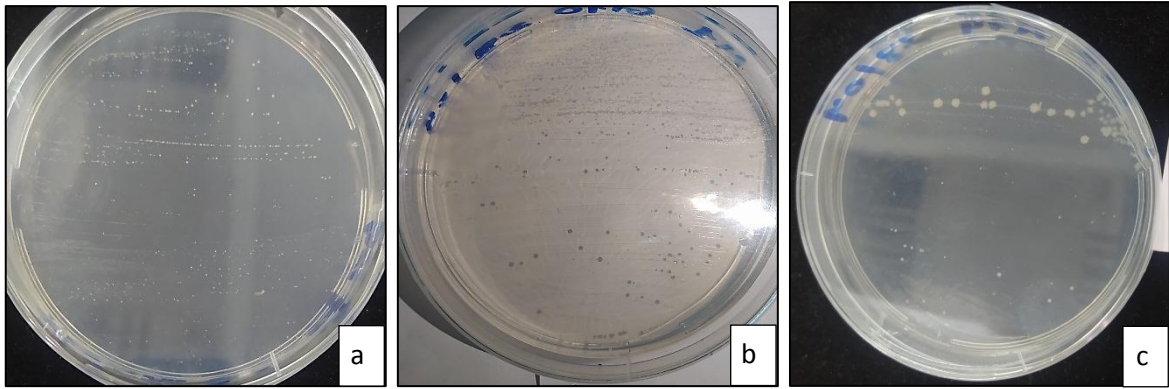


Figure 14 : les souches actinomycétales après 7 jours d'incubation sur le milieu M1
 a : la souche *Streptomyces iakyrus* ; b : la souche *Streptomyces xantholiticus* ; c : la souche *Nocardiosis aegyptia*.

Par contre sur le milieu M3, on observe une très bonne croissance des quatre souches, des colonies de meilleur développement, de 1 à 3 mm pour les souches *Streptomyces iakyrus* et *Streptomyces xantholiticus* et de 2 à 5 mm pour les souches *Nocardiosis aegyptia* et *Nocardiosis dassonvillei*. Elles sont rondes d'une surface blanchâtre et un aspect sec (figure 15).

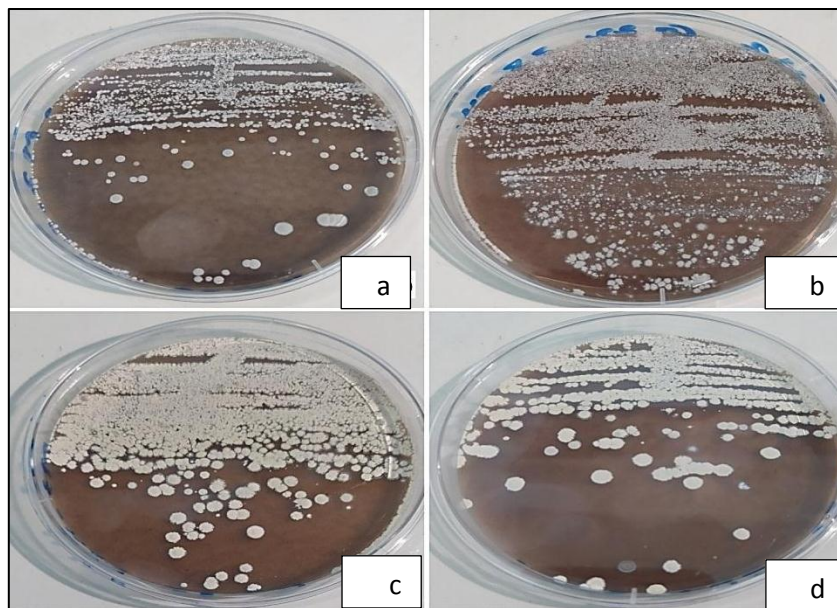


Figure 15 : les souches actinomycétales après 7 jours d'incubation sur le milieu M3 a : la souche *Streptomyces iakyrus* ; b : la souche *Streptomyces xantholiticus* ; c : la souche *Nocardiosis aegyptia* ; d : *Nocardiosis dassonvillei*.

1.3 Etude microscopique

Les souches *Streptomyces iakyrus*, *Streptomyces xantholiticus* et *Nocardiosis aegyptia* présentent un mycélium aérien, un mycélium de substrat ainsi que des spores sur le milieu DSMZ65.

Tableau 4 : Description des caractères microscopiques des souches.

Souches actinomycétales	Mycélium du substrat	Mycélium aérien	Spores
<i>Streptomyces iakyrus</i>	Ramifié, fin, long, peu fragmenté et porte des spores.	Ramifié, fin, peu fragmenté et porte des spores	Ovoïdes, organisé en chaînes.
<i>Streptomyces xantholiticus</i>	Ramifié, épais, peu fragmenté et porte des spores.	Ramifié, fin, peu fragmenté et porte des spores	Ovoïdes, organisé en chaînes.
<i>Nocardiopsis aegyptia</i>	Peu ramifié, peu fragmenté et portes des spores.	Peu ramifié, peu fragmenté et portes des spores.	Ovoïdes, organisé en chaînes.

Après 21 jours d'incubation, le mycélium de substrat et le mycélium aérien des souches porte des spores.

Pour la *Streptomyces iakyrus* le MS il est ramifié, fin et long par contre pour la souche *Streptomyces xantholiticus* il est épais et peu fragmenté. Pour la souche *Nocardiopsis aegyptia* le MS est peu ramifié et peu fragmenté.

Le mycélium aérien est ramifié, fin et peu fragmenté pour les souches *Streptomyces iakyrus* et *Streptomyces xantholiticus* et Peu ramifié, peu fragmenté pour la souche *Nocardiopsis aegyptia*.

Les spores sont ovoïdes et organisé en chaînes pour les trois souches.

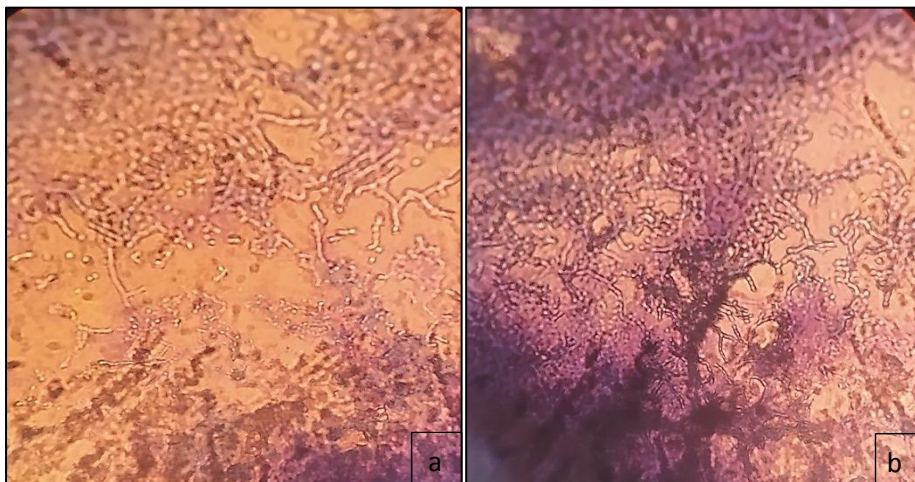


Figure 16 : la souche *Streptomyces iakyrus* sous microscope optique après 21 jours d'incubation (objectif à immersion). (a) : mycélium aérien. (b) : mycélium du substrat.

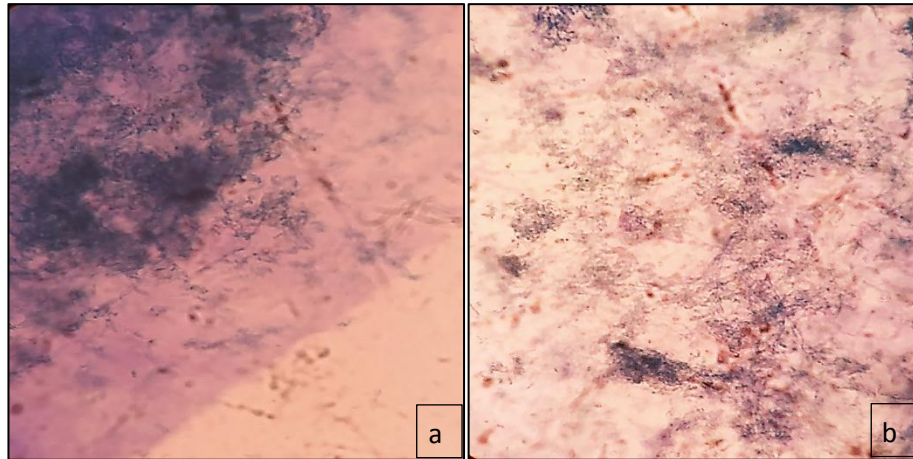


Figure 17 : la souche *Streptomyces xantholiticus* sous microscope optique après 21 jours d'incubation (objectif à immersion). (a) : mycélium aérien, (b) : mycélium du substrat.

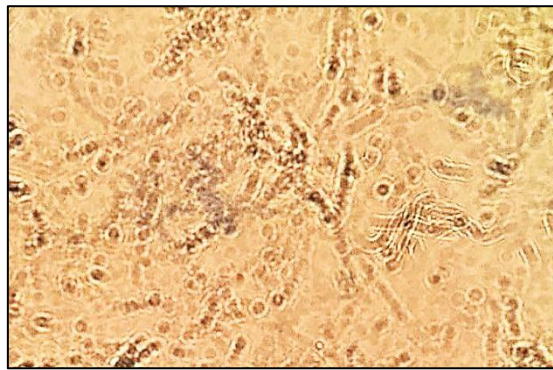


Figure 18 : la souche *Nocardiosis aegyptia* sous microscope optique après 21 jours d'incubation (objectif à immersion).

2. Test de productivité des souches

2.1 Aspect de la croissance dans les milieux de fermentation

Après 7 jours d'incubation nous avons noté les aspects de croissance de la souche dans les vingt milieux de fermentation (figure 19). La croissance se présente dans des flacons, sous forme d'un trouble en observant la présence de particules et des filaments dans certains flacons.

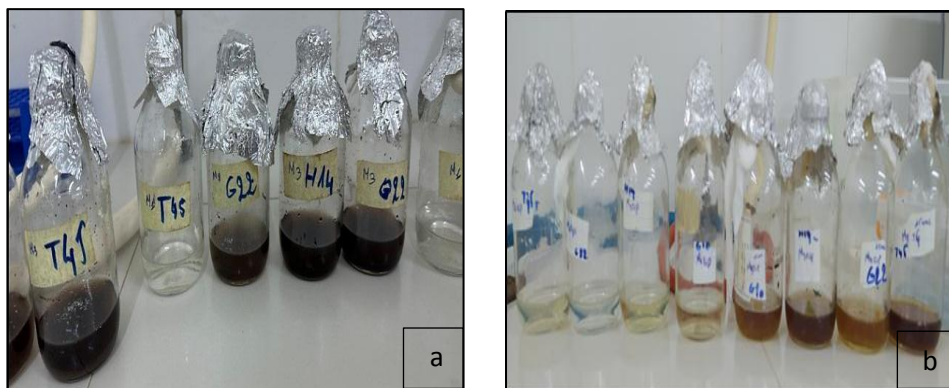


Figure 19 : les milieux liquides après 7 jours d'incubation en absence de tryptophane (a) et en présence du tryptophane (b).

2.2 Détermination des concentrations d'AIA

Après mélange des surnageant et du réactif du Salkowski, les DO mesurés, après 30 min et 24h d'incubation à l'obscurité (figure 20), sont convertis en concentrations d'AIA produites à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage publié par Monita *et al.*, en 2014.

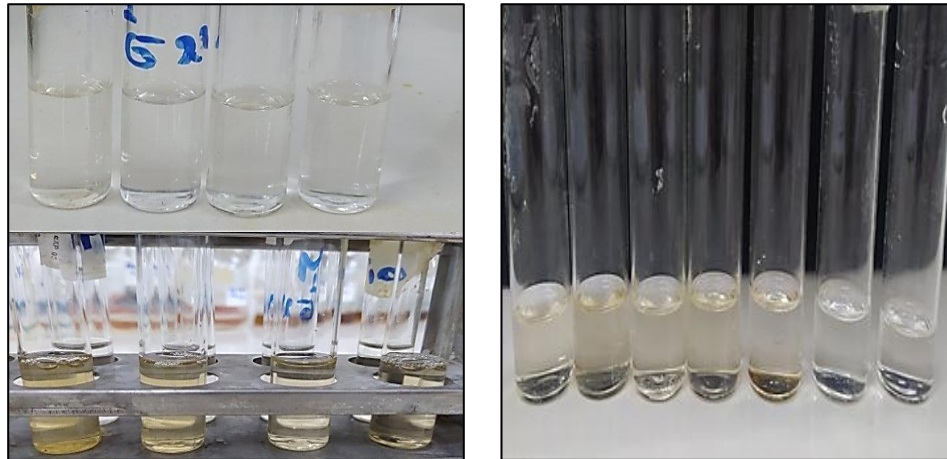


Figure 20 : Production d'AIA après 30 min d'incubation.

2.2.1 En absence de tryptophane

La concentration d'AIA mesuré après 30 min d'incubation à l'obscurité se situe entre 3,90 $\mu\text{g/mL}$ et 17,45 $\mu\text{g/mL}$ et après 24h d'incubation à l'obscurité, elle se situe entre 5,64 $\mu\text{g/mL}$ et 22,5 $\mu\text{g/mL}$.

La meilleure production d'AIA est observée dans le milieu M3 de la souche *Nocardiosis dassonvillei* et la plus faible est obtenue dans le milieu M1 de la souche *Streptomyces xantholiticus* (figure 21).

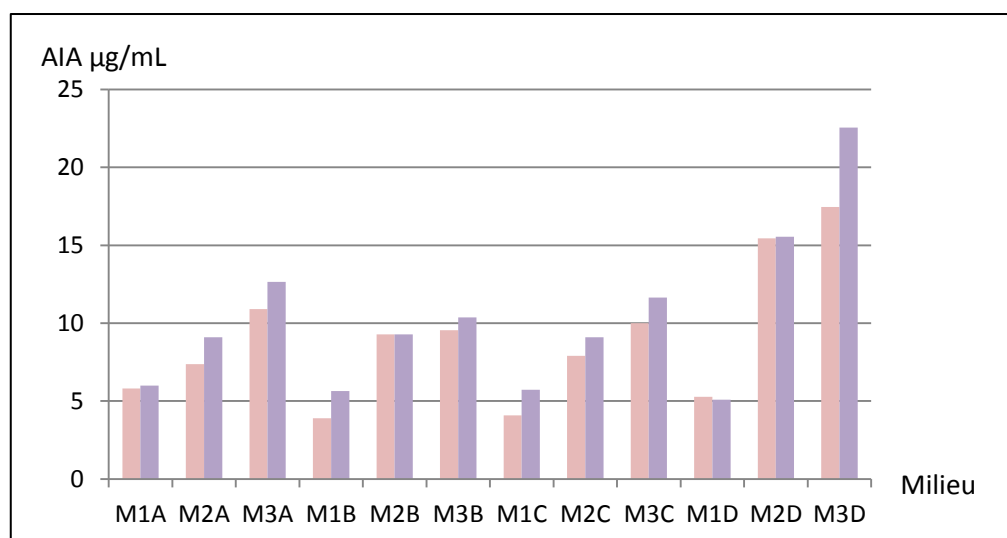


Figure 21 : Histogramme représentant les valeurs des concentrations d'AIA en $\mu\text{g/ml}$ dans les différents milieux de fermentation après 30 min et 24h d'incubation A : la souche *Streptomyces iakyrus* ; B : la souche *Streptomyces xantholiticus* ; C : la souche *Nocardiosis aegyptia* ; D : *Nocardiosis dassonvillei*.

Nous avons remarqué que les souches actinomycétales utilisées sont capables de produire l'AIA en absence du tryptophane. Les quantités produites après 24h sont plus élevées que ceux produites après 30 min, sauf pour le M1 de la souche *Nocardioopsis dassonvillei* on observe une faible diminution.

Dans le M1 les souches ont dégradé le glucose qui est utilisée comme un hydrate de carbone pour produire l'AIA mais à des concentrations faibles varie entre 3,90 µg/mL et 5,81 µg/mL après 30 min et entre 5,09 µg/mL et 6 µg/mL après 24h.

La quantité d'AIA produite par les quatre souches dans le milieu à volume 10 mL de lixiviat est plus élevée (atteint 17,45 µg/mL après 30 min et 22,55 µg/mL après 24h) que la quantité produite dans le milieu de 5 mL qui ne dépasse pas 15,45 µg/mL après 30 min et 15,55 µg/mL après 24h.

Ces quantités ont montré que les souches utilisées ont dégradée le lixiviat et produisent l'AIA et que le volume élevé du lixiviat favorise cette production.

2.2.2 En présence de tryptophane

La concentration d'AIA produite après 30 min à l'obscurité se situe entre 6,64 µg/mL et 14,73 µg/mL. Après 24h d'incubation, elle se situe entre 6,36 µg/mL et 27,09 µg/mL. La meilleure production d'AIA est observée dans le milieu M3 de la souche *Nocardioopsis dassonvillei* et la plus faible est obtenue dans le milieu M1 de la souche *Streptomyces xantholiticus* (figure 22).

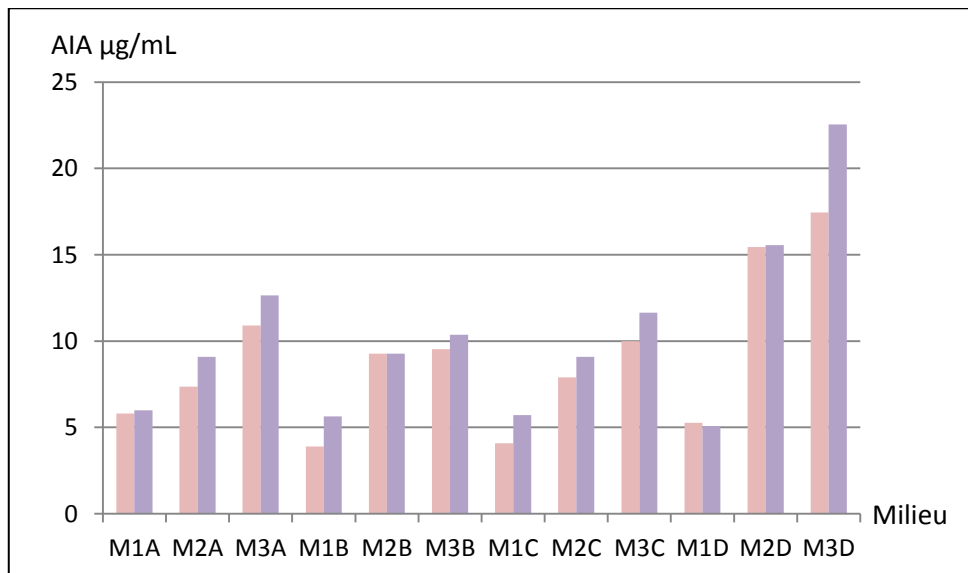


Figure 22 : Histogramme représentant les valeurs des concentrations d'AIA en µg/ml dans les différents milieux de fermentation après 30 min et 24h d'incubation A : la souche *Streptomyces iakyrus* ; B : la souche *Streptomyces xantholiticus* ; C : la souche *Nocardioopsis aegyptia* ; D : *Nocardioopsis dassonvillei*.

D'après ces résultats on constate que la présence du tryptophane qui est un précurseur de l'AIA, a fait augmenter la production en comparant avec la production en cas d'absence et que la souche *Nocardiosis dassonvillei* est la meilleure pour une production d'AIA à partir d'un liquide toxique qui est le lixiviat.

3. Production de biomasse

Après mesure de la biomasse nous avons eu les résultats suivants :

Tableau 5 : mesure de la biomasse des souches dans les différents milieux.

Les souches	En absence du tryptophane	En présence du tryptophane
<i>Streptomyces iakyrus</i> M1	0,576 g	0,362 g
<i>Streptomyces iakyrus</i> M2	0,413 g	/
<i>Streptomyces iakyrus</i> M3	0,536 g	0,243 g
<i>Streptomyces xantholiticus</i> M1	0,468 g	0,526 g
<i>Streptomyces xantholiticus</i> M2	0,097 g	/
<i>Streptomyces xantholiticus</i> M3	0,030 g	0,121 g
<i>Nocardiosis aegyptia</i> M1	0,308 g	0,340 g
<i>Nocardiosis aegyptia</i> M2	0,050 g	/
<i>Nocardiosis aegyptia</i> M3	0,028 g	0,174 g
<i>Nocardiosis dassonvillei</i> M1	0,403 g	0,325 g
<i>Nocardiosis dassonvillei</i> M2	0,319 g	/
<i>Nocardiosis dassonvillei</i> M3	0,103 g	0,226 g

D'après ces résultats, nous avons remarqué que les quatre souches ont données une bonne biomasse en absence et en présence de tryptophane dans les milieux 1 qui ne contient pas le lixiviat. Alors que dans les milieux 3 la biomasse a diminué jusqu'à 0,028 g en absence du tryptophane et 0,121 g en présence du tryptophane.

Nous avons constaté que les actinomycètes ont résisté à ces conditions difficiles présentées par ce liquide toxique.

Conclusion

Le principal but de notre travail était en premier lieu, tester la capacité de quatre souches actinomycétales à se multiplier dans un milieu extrême présenté par le lixiviat et dans un deuxième lieu, tester leurs aptitudes à utiliser ce dernier pour produire une auxine importante dans le domaine de l'agronomie, qui est l'acide indole acétique.

La caractérisation macro-morphologique des souches sur le milieu DSMZ 65 couplée à l'étude microscopique (technique des lamelles) a confirmé l'appartenance des souches utilisées aux deux genres actinobactériens qui sont le genre *Streptomyces* et le genre *Nocardiosis*.

Sur le milieu NBRIP modifié additionnés de lixiviat les cultures donnent de très bonnes croissances et des colonies bien développées. Les colonies sont incrustées dans la gélose, sèches avec un bon développement des mycéliums (mycélium aérien et du substrat) et une bonne masse sporale.

Nous avons testé la production de l'AIA sur différents milieux en absence et en présence du tryptophane. Nous avons remarqué que toutes les souches sont capables de produire l'AIA dans les trois milieux utilisés même en absence du tryptophane comme précurseur. Nous avons remarqué que le lixiviat a un effet positif sur la production d'AIA, cette dernière augmente avec l'augmentation de la quantité du lixiviat dans les milieux de fermentation. De sa part, le tryptophane influence positivement la production de l'AIA.

L'étude montre que la souche *Nocardiosis dassonvillei* est la meilleure souche productrice d'AIA à partir d'un liquide toxique qui est le lixiviat.

Cette étude préliminaire a montré clairement la capacité de certaines souches appartenant aux genres *Streptomyces* et *Nocardiosis* à produire de l'auxine en présence ou en absence du tryptophane à partir du lixiviat.

Les résultats de la présente étude ne constituent qu'une initiation à la recherche de la résistance des actinobactéries aux conditions présentées par le lixiviat et la production d'AIA à partir de ce déchet toxique.

À la suite de ces résultats, il serait intéressant de les approfondir par :

- Une étude physico-chimique du lixiviat ;
- Faire des répartitions des mêmes manipulations pour la confirmation et la validation des résultats obtenus dans cette étude ;
- Refaire les manipulations avec des lixiviat de décharges naturelles.

Références bibliographiques

Abdel-Shafey H.I. Ibrahim A.M. Al-Sulaiman A.M. et Okasha R.A. (2023) Landfill leachate: Sources, nature, organic composition, and treatment: An environmental overview. *Ain Shams Engineering Journal* [en ligne] (page consulté 28/05/2023).<https://doi.org/10.1016/j.asej.2023.102293>.

Ait Barka E. Vatsa P. Sanchez L. Gaveau-Vaillant N. Jacquard C. Klenk H. P. Clément C. Ouhdouch Y. Gilles P. et Wezeld V. (2016) Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [en ligne] vol 80.n°1, (date de consultation 24/02/2023).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4711186/pdf/zmr1.pdf>

Aouiche A. Sabaou N. Meklat A. Zitouni A. Mathiot F. et Lebrihi A. (2012) Activité antimicrobienne de *Streptomyces Sp.PAL111* d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxigènes résistants aux antibiotiques. *Journal de Mycologie Médicale*.22 (1). P: 42-51.

Arevalillo R.M. (2017) Aspects fonctionnels, structuraux et évolutifs de la réponse transcriptionnelle à l'auxine. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en biologie végétale. France : université Grenoble Alpes.

Arif F. (2015) Effets du stress salin et d'osmoprotecteur naturels sur la germination de blé dur (*Triticum durum*) inoculé par *Pseudomonas fluorescences*. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en microbiologie. Sétif : université Ferhat Abbas Sétif 1. P : 19-21.

Belyagoubi L. (2014) Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en biologie. Tlemcen: université Aboubakr Belkaied. P : 17-18-146.

Bhatti A. Haq C. et Bhat R. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis*. Vol 111. P : 458-467.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.036>.

Bouaziz S. (2018) recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes: isolement, sélection identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en biologie.Ouargla: université Kasdi Merbah. P : 1-5-11-100.

Can I. Torsten H. Hamid H. Trinad C. and Eugen D. (2010) Erythema caused by a localised skin infection with *Arthrobacter mysorens*. *BMC Infect* [en ligne] 10, 352. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-352>

Cherif M. (2014) Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus*.Sp et *Pantaea agglomerans* isolées de sols arides. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en microbiologie. Sétif : université Ferhat Abbas Sétif 1. P : 8.

Chtioui H. Khalil F. Souabi S. et Aboulhassan M.A. (2008) Evaluation de la pollution générée par les lixiviats de la décharge publique de la ville de Fès. *EPI science*. N°49, P : 25-28.

Corena, M.J (2008). Sistemas de tratamientos para lixiviados generados en rellenos sanitarios. Línea de profundización gestión integral de residuos sólidos. Mémoire du projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'ingénieur civil. Colombie- Sincelejo : Universite de Sucre. P : 19.

Cotin G.L. (2014) Relation plante-hôte *Frankia* dans les symbioses actinorhiziennes cas particulier des souches non-isolables capable de sporuler *in-planta*. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en microbiologie. Lyon : université Claude Bernard. P: 5.

Davail S. Gretry J. et Lenzini M. (2017) les actinomycètes, source de biomolécules d'intérêt industriel. Dans : Benhadj M. Les actinomycètes : source de biomolécules d'intérêt. Province de liège. France. P:

Diagne N. Arumugam K. Ngom M. Nambiar-Veetil M. Franche C. Kumar-Narayanan K. and Laplaze L. (2013) Use of *Frankia* and Actinorhizal plants for degraded lands reclamation. [En ligne] (Page consulté 01/04/2023). <https://doi.org/10.1155/2013/948258>

Duangkhaetita K. Wanthakarn A. Suraphon T. and Chanyarat P.L. (2021) Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agent in Rice. *Scientific Research*. [en ligne] 12 (N°1) (page consulté 20/03/2023) doi 10.4236/as.2021.121001

Emilien B. (2008) Evolution de l'impact environnemental de lixiviats d'ordures ménagères sur les eaux superficielles et souterrains, approche hydrobiologique et

hydrogéologique. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en sciences de terre et de l'environnement. France : université de Franche-Comté. P : 12-13.

Fortin J. et A. Nadeau (2002) L'influence des phytohormones sur la croissance des plantes. Chibougamau, Québec. P : 1-17.

Fox D. (2008) La dégradation des sols dans le monde [en ligne], (page consulté le 05/03/2023). <https://unt.univ-cotedazur.fr/uohldegsol/matiere-organique.php>

Franco-Correa M. et Chavarro-Anzola V. (2016) Les actinobactéries en tant que rhizobactéries favorisant la croissance des plantes. In Dhanasekaran D. and Jiang Y. Actinobactéries - Bases et applications biotechnologiques. IntechOpen [en ligne] (consulté 22/03/2023) DOI: 10.5772/61291

Giannelli M. (2019) Lixiviat : une soupe chimique. Fondation ReBin [en ligne] (Page consulté le 22/03/2023). <https://rebin.ch/lixiviat-une-soupe-chimique/>

Gissing R. (2018) *Frankia alni* une bactérie fixatrice d'azote. Over blog [en ligne], (page consulté le 22/03/2023). <https://www.drthrasher.org/Frankia>.

Grandin G. (2004) Effet des phytohormones sur les réactions de défense de l'érable à sucre (*Acer Saccharum* Marsh) suite à l'entaillage et à d'autres types de blessure mécanique. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en science du bois et de la forêt. Canada ; Université Laval.

Hopkins W. (2003) Rôle des hormones dans le développement d'une plante. Dans : Hopkins W. Physiologie végétale. Boeck. Belgique. P : 309-331.

Iounes N. Sassioui I. Ait Ouadi A. Bassou M. Namoussi S. Merbouh Ch. Mestaghanmi H. et El Amrani S. (2018) Réhabilitation de la décharge sauvage de mediouna : caractérisation du biogaz et traitement du lixiviat. Larhyss Journal, (N°35). P : 107-117.

Ismail A.R. (2008) Caractérisation et traitement des lixiviats générés par les déchets du centre d'enfouissement technique d'ouled Fayet. Mémoire du projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en génie de l'environnement. Boumerdes : Ecole nationale polytechnique. P : 18-22.

Jirou Y. Harrouni M.C. Belattar M. Fatmi M. et Daoud S. (2014) Traitement des lixiviats de la décharge contrôlée du Grand Agadir par aération intensive. Rev. Mar. Sci. Agron. Vét, 2 (N°2). P : 59-69.

John R. Cole Jr. (1990). *Micrococcus* and *Staphylococcus*. Science Direct [en ligne] P : 201-209. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-161775-2.50020-7>

Kehila Y. Mezouari F. Matejka G. et Bouhadiba B. (2014). "Impact de l'enfouissement des déchets solides urbains en Algérie : expertise de deux centres d'enfouissement technique (CET) à Alger et Biskra." Revue francophone d'écologie industrielle 56.

Lafond L.C. (2014) La morphogénèse d'hyphes toruleux chez l'actinomycète *Frankia* Spp. Savoirs udes. [En ligne] (Page consulté le 22/03/2023) <https://hdl.handle.net/11143/13628>

Leblond C.J. (2011) Caractérisation de l'interaction des protéines IMA/MIF2 et CSN5 au niveau moléculaire et physiologique. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en biologie végétale. Bordeaux, France : Université de bordeaux2. P : 29.

Leclerc, M.-E., Olivier, A. et L. Lapointe (2007) L'effet de phytohormones sur la multiplication végétative de la matreucie fougère-à-l'autruche. Nat. Can. 131, P : 15–23.

Medjmadj M. (2021) Etude de la biodiversité des actinobactéries dans quelques eaux thermales de la région Est de l'Algérie. Mémoire de fin de cycle en une de l'obtention du doctorat en microbiologie. Constantine : Université Frères Mentouri. P : 11-25.

Michaud L. (2016) le compost: pourquoi? Comment ? Le compost et le compostage: quoi? Pourquoi? Comment? France: édition multi-Mondes. P: 5-16.

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 P : 17-28.

Munees A. and K. Mulugeta (2014) Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. Journal of king Saud University –science. [En ligne], vol26, n°1 (page consulté le 02/02/2023). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>

Mutchinson M. (2007) Vos déchets et vous : un guide pour comprendre et agir. Les déchets. Edition Multi mondes. Canada. P : 13-28.

Naligama k. Weerasinghe k. et Halmillawewa A. (2022) Characterization of Bioactive Actinomycetes Isolated from Kadolkele Mangrove Sediments, Sri Lanka. Sciendo. 71(2) P : 191-204. [10.33073/pjm-2022-017](https://doi.org/10.33073/pjm-2022-017)

Portillo S. (2022) Lixiviat : Définition, exemples et traitement. ProjetEcolo [en ligne] (Page consulté le 22/03/2023). <https://www.projetecolo.com/lixiviat-definition-exemples-et-traitement-692.html>

Qinyuan L., Xiu Ch., Yi J. and Chenglin J. (2016). Morphological Identification of Actinobacteria, Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, Dharumadurai Dhanasekaran and Yi Jiang, IntechOpen doi: 10.5772/61461

Ravi Ranjan K. Vasaantba J. Bhooni M. Bonisha T. and Bhumika C. (2014). Antibacterial potentials of actinomycetes isolated from Gujarat. International journal of pharmaceutical sciences review and research 30 (1). P: 78-83.

Ripert C. (2013) Actinomycoses. In: Ripert C. Mycologie médicale. Lavoisier. France. P : 584-598.

Romarc F. (2018) Dictionnaire des sciences de la vie. France. Boeck. P: 6

Rouvier C. Schwencke J. Prin Y. Navarro E. Benoist P. Muller A. Girgis M. Selin S. Reddell P. Gauthier D. Rinando G. Normand P. et Simonet P. (2013) Biologie et diversité génétique des souches de Frankia associées aux Casuarinacées. Journal homepage. P: 567-580.

Ruan J. (2013). Bergey's manual of systematic bacteriology (second edition) Volume 5 and the study of Actinomycetes systematic in China. Wei Sheng Wu Xue Bao ; 53(6) P : 30-52.

Saker R. (2015) recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Mémoire de fin de cycle en une de l'obtention du doctorat en microbiologie. Sétif: université Ferhat Abbas Sétif 1 P : 7-14.

Sillet A.A. Royer S. Coque Y. Bourgois J. et Thomas O. (2001) Les lixiviat de décharges d'ordures ménagères gènèse, composition et traitement. Revue Francophone d'écologie industrielle (22). P : 7-11.

Singleton P. (2005) Bacteriologies. Dunod, paris. P: 510

Sowani H. Kulkarni M. Zinjarde S. and Javdekar V. (2017) *Gordonia* and Related Genera as Opportunistic Human Pathogens Causing Infections of Skin, Soft Tissues, and Bones. In: Kon K. and Rai M. The Microbiology of Skin, Soft Tissue, Bone and joint Infections. Elsevier Inc. France. P: 105-121. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811079-9.00007-0>

Trabelsi S. (2011) Etude de traitement des lixiviats des déchets urbains par les procédés d'oxydation avancée photochimiques et électrochimiques : application aux lixiviats de la décharge Tunisienne "Jebel Chakir". Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention de doctorat en sciences et technologie de l'environnement. Tunisie-France : Université de Carthage-Institut Francilien des sciences appliqués. P : 11-17.

Truskina J. (2018) the role of auxin in cell differentiation in meristems plants genetics. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en biologie des plantes. Lyon, Université de Nottingham. P : 3.

Went F.W. et K. V. Thiman (2003) Biochimie et mode d'action des hormones. Dans : Hopkins W. physiologie végétale. Boeck. Belgique. P : 340-341.

Woese C. (1987) Bacterial evolution national library of medicine (en ligne), date de consultation le 2/2/2023.

Zeeshan U.R. Siva P.C. Lein T. et Kuldeep S. (2022) Paradigme de la symbiose actinorhizienne sous le régime des changements climatiques globaux : nouveaux éclairages et perspectives. Journal de microbiologie fondamentale. 62 (N°7) P :

Annexes

Annexes**Composition de milieux de culture****Milieu ISP5**

Glycérol	10 g
L-asparagine	1 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Solution saline	1 mL
Agar	20 g
Eau distillée	1000 mL
pH = 7 à 7,4	

Milieu DSMZ 65

Glucose	4 g
Extrait de levure	4 g
Extrait de Malt	10 g
CaCO ₃	2 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 mL
pH = 7,2	

Milieu NBRIP modifié

NH ₄ SO ₄	0,5 g
Mg SO ₄ 7H ₂ O	0,25 g
Mg Cl ₂ 6H ₂ O	10 g
KCl	0,2 g
Extrait de levure	0,1 g
Sel du sabkha	50 g
Eau distillée	QSP 1000
pH = 7,2	

Composition de solution saline

FeSO ₄ 7H ₂ O	0,1 g
MnCl ₂ 4H ₂ O	0,1 g
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,1 g
Eau distillée	100 mL

Composition de solution $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ à 0.5 M

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.35 g
Eau distillée	QSP 10 mL

Composition du réactif de Salkowski

Solution $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.5M)	3 mL
Acide perchlorique 70 %	75 mL
Eau distillée	75 mL

Composition du lixiviat

Liquide des déchets ménagers (épluchures des légumes et des fruits et marc de café) de 3 mois.

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

Filière : Ecologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Essai de production de l'acide indole acétique par des actinobactéries cultivées sur le lixiviat

Résumé

Les actinobactéries sont un groupe de micro-organismes omniprésent et qui peuvent se développer dans des conditions écologiques extrêmes. Ils ont la capacité de favoriser la croissance des plantes par la production de promoteurs de croissance tels que l'auxine AIA. Dans ce travail, nous avons testé la capacité des actinobactéries à dégrader la matière organique du lixiviat pour synthétiser l'AIA.

Quatre souches actinobactériennes ont été testées pour leur capacité à produire de l'AIA. Ces souches appartiennent aux deux genres *Streptomyces* et *Nocardopsis*. D'une part, on a réalisé une caractérisation macromorphologique sur les milieux DSMZ65 et le milieu NBRIP modifiée additionnée de lixiviat suivit d'une étude microscopique par la technique des lamelles sur le milieu DSMZ65. D'autre part on a effectué un test de productivité de l'AIA dans trois milieux de fermentation où nous avons utilisé le lixiviat comme principal constituant, le tout en absence et en présence de tryptophane. Après 7 jours d'incubation sous agitation, le dosage de l'AIA a été réalisé en appliquant la méthode colorimétrique qui utilise le réactif de Salkowski. Les quatre souches ont montré une grande capacité de production de l'acide indole acétique à de forte concentration de lixiviat. La meilleure souche productrice était la souche appartenant à l'espèce *Nocardopsis disenvillei*.

Mot clés : *Streptomyces*, *Nocardopsis*, acide indole acétique, lixiviat, réactif de Salkowski.

Membre du jury :

Encadreur : Mme OULMI Lamia Dr - UFMC1

Président de jury : Mr BENCHIZIA Yacine Pr - UFMC1

Examineur : Mr KITOUNI Mahmoud Pr - UFMC1

Présentée par : BENGUEDOUAR Rouida

BENSDIRA Souad

Année universitaire : 2022 -2023

