



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la N et de la vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département :** Microbiologie

قسم: الميكروبيولوجيا

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

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Écologie et environnement

**Spécialité :** Écologie microbienne

Intitulé :

---

**Essai de production de l'AIA par une souche  
actinobactérienne rhizosphérique appartenant à l'espèce  
*Nocardopsis dassonvillei***

---

**Présenté par :** ROUBA Nehla

**Le 28/06/2022**

Tabet Wissam

**Jury d'évaluation :**

**Encadreur :** OULMI Lamia (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 1 :** KITOUNI Mahmoud (Prof.- Université Frères Mentouri Constantine1).

**Examineur 2 :** ALLATOU Radia (Prof. - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire**

**2021-2022**

## **Remerciements**

Nous remercions très vivement, Mr KITOUNI M. prof à l'UFM Constantine 1 qui nous a fait l'honneur qu'il me fait en acceptant d'examiner et de juger notre travail.

Nous remercions également, Mme ALLATOU R. Prof à l'UFM Constantine1 d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre encadreur Dr. OULMI L. pour le privilège et la confiance qu'elle nous a accordé durant la réalisation de ce travail, pour son aide, sa patience, ainsi pour ses chers conseils. « Sincèrement madame, 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 ».

## **Remerciements**

Nous remercions la doctorante Attar Sara Ghozlane pour sons aide, soutien et ses encouragement durant la période de notre stage, merci énormément.

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

## Dédicaces

Quand il y a le souci de réaliser un dessin tout devient facile pour à nos fins malgré les obstacles qui s'opposent je dédie ce travail à...

À l'être le plus cher de ma vie, ma Mère Khoudjia.

À mon père Rabah.

À mes chères sœurs Amel et sa fille Rahaf, Souad et Lamia pour leurs amour, leurs encouragements et soutiens moral.

À mes frères Allawa et Billal.

À mon petit ange Akram, source de joie et de bonheur.

À ma meilleure amie Wissam, chère amie avant d'être binôme.

Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Nehla...

## Dédicaces

Je dédie ce mémoire à moi-même, grâce à mes efforts fournis de plusieurs années, pour réaliser mon projet professionnel qui est d'être une biologiste.

Ma mère, mon père et mes frères, je vous remercie encore une fois pour votre soutien, confiance, motivation et le support pendant mes études.

À ma sœur Selma et sa fille Maria, je ne trouve aucun mot qui pourrait exprimer vos sacrifices et l'encouragement verbal et le support moral.

À mes amies, Nehla, Amel et Chafia, qui ont été une source de motivation, de respect, d'amour et d'encouragement pendant toutes les cinq années d'étude.

Wissam...

## Résumé

Les actinobactéries font partie des microorganismes les plus importants par leurs diversités par rapport aux métabolites qu'elles sécrètent, soit primaires ou secondaires. Ces bactéries se trouvent dans plusieurs écosystèmes parmi lesquels la rhizosphère, où elles jouent un rôle biotique dans la fertilisation du sol, et donc aident le développement des plantes. En plus, ces bactéries sont capables de synthétiser des hormones végétales comme les auxines, parmi lesquelles l'acide indole 3- acétique (AIA).

Notre étude a pour but de déterminer les caractères morphologique et culturaux d'une souche de l'espèce *Nocardiopsis dassonvillei* et est isolée préalablement du sol rhizosphérique, et analyser la capacité de synthétiser le phytohormone qui est l'acide indole acétique. Le test de productivité d'AIA est effectué dans des milieux de fermentation contenant différents composants, en faisant varier des paramètres: le substrat, le pH, le tryptophane, l'extrait de levure, le NaNO<sub>3</sub>, le Na Cl et peptone.

Après Le dosage d'AIA, nous concluons que la farine de datte, NaNO<sub>3</sub>, présence de précurseur tryptophane, extrait de levure et affect positivement la production d'AIA.

**Mots clés :** Rhizosphère, PGPR, Actinomycètes, *Nocardiopsis*, *Nocardiopsis dassonvillei*, Acide Indole acétique (AIA).

## **Abstract**

Actinobacteria are among the most important microorganisms in terms of their diversity in relation to the metabolites they secrete, whether primary or secondary. These bacteria are ecosystems, including the rhizosphere, where they play a biotic role in the fertilization of biotic role in the fertilization of the soil, and therefore help the development of plants. In addition, these bacteria are able to synthesize plant hormones such as auxins such as indole 3-acetic acid (IAA).

Our study aims to determine the morphological and cultural characteristics of a strain of the species *Nocardiopsis dassonvillei* and previously isolated from rhizospheric soil, and analyze the ability to synthesize the phytohormone which is 1 indole acetic acid. The test of productivity of IAA is carried out in fermentation media containing different components, by varying parameters: substrate, pH, tryptophan. From yeast extract, NaNO and NaCl After the determination of IAA, we conclude that date flour, NaNO<sub>3</sub>, tryptophan precursor, yeast extract and peptone positively affect IAA production.

**Key words:** Rhizosphere, PGPR, Actinomycete, *Nocardiopsis*, *Nocardiopsis dassonvillei*, indole acetic acid (IAA).

## الملخص

تعد البكتيريا من سلالة الاكتينومييسات من أهم الكائنات الحية الدقيقة من حيث تنوعها ومن حيث المواد التي تفرزها ، سواء كانت أولية أو ثانوية .توجد هذه البكتيريا في العديد من النظم البيئية بما في ذلك منطقة الجذور ، حيث تلعب دورًا حيويًا في تخصيب التربة ، وبالتالي تساعد في نمو النبات .بالإضافة إلى ذلك ، فإن هذه البكتيريا قادرة على تصنيع هرمونات نباتية مثل الأكسينات ، من بينها حمض الأستيك الإندول (AIA) .تهدف دراستنا إلى تحديد الخصائص المورفولوجية لسلالة *Nocardiosis dassonvellei* والتي تم عزلها من تربة الجذور ، وتحليل قدرتها على تركيب الهرمون النباتي وهو حمض الأستيك الإندول (AIA) ، يتم إجراء اختبار إنتاجية AIA في اوساط التخمر التي يحتوي على مكونات مختلفة ، من خلال متغيرات : دقيق التمر ، درجة حموضة الوسط pH ، والتربتوفان ، ومستخلص الخميرة ، . نترات الصوديوم كلوريد الصوديوم والبيتون.

بعد اختبار AIA ، نستنتج أن دقيق التمر ،  $NaNO_3$  ، التربتوفان و مستخلص الخميرة يؤثر إيجابا على إنتاج حمض الأستيك الأندول.

**الكلمات المفتاحية:** Rhizosphere ، PGPR ، Actinomycete ، *Nocardiosis* ، *Nocardiosis dassonvellei* ، indole acetic acid (AIA).



## Liste des tableaux

Tableau N° 1 : les milieux de fermentation avec différents composants et concentrations....	10
Tableau N° 2: Les caractères macroscopique de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> sur les différents milieux de culture après 7 et 21 jours d'incubation.....	15
Tableau N° 3: Aspect de la croissance de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> sur les milieux de fermentation après 7jours d'incubation .....	19
Tableau N° 4: les valeurs des concentrations d'AIA produite par la souche après 30 min et 24de réaction.....	20

## Liste des figures

Figure N° 1 : cycle de vie des actinobactéries montrant la sporulation et la maturation des spores .....	04
Figure N° 2 : représentation schématique des spores et de la chaîne de spores des actinobactéries. (A) sporanges sur le mycélium du substrat. (B) production des spores unique en chaîne courtes. (C) formes générale des spores. (D) morphologie de surface des spores	05
Figure N° 3 : la production de l'acide indole acétique à partir le tryptophane .....	07
Figure N° 4 : les douze flacons de fermentation .....	10
Figure N° 5 : la courbe d'étalonnage de l'AIA .....	12
Figure N° 6 : examen macroscopique de la souche sur le milieu DSMZ65 et Glu-Asp	13
Figure N° 7 : la culture de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> sur les différents milieux de culture après 7 jours d'incubation .....	14
Figure N° 8 : la culture de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> sur les différents milieux de culture après 21 jours d'incubation .....	14
Figure N° 9 : la culture jeune de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> sous microscope optique après 7 jours d'incubation sur les différents milieux de culture. (A, C) mycélium aérien et (B, D) mycélium de substrat .....	16
Figure N° 10 : la culture jeune de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> sous microscope optique après 7 jours d'incubation sur les différents milieux de culture. (E, G) mycélium aérien et (F, H) mycélium de substrat .....	17
Figure N° 11 : la culture âgée de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> de 21 jours d'incubation sous microscope optique sur différents milieux de culture. (A, B et E) mycélium aérien et (C, D et F) mycélium de substrat .....	18
Figure N° 12 : aspect de certaines cultures après 7 jours d'incubation .....	19
Figure N° 13 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA ( $\mu\text{g/ml}$ ) après 30 min et 24h de .....	20

Figure N° 14 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA ( $\mu\text{g/ml}$ ) en fonction de la présence et de l'absence de substrat après 30min de réaction .....	21
Figure N° 15 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA ( $\mu\text{g/ml}$ ) en fonction de $\text{NaNO}_3$ , après 30 min de réaction .....	22
Figure N° 16 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA ( $\mu\text{g/ml}$ ) en fonction des quantités d'extrait de levure, après 30 min et de réaction.....	22
Figure N° 17 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA ( $\mu\text{g/ml}$ ) en fonction de tryptophane, après 30 min et de réaction.....	23

## Liste des abréviations

**PGPR** : Plant Growth-Promoting-Rhizobacteria.

**GC%** : Coefficient de Chargaff.

**AIA** : Acide indole acétique.

**GAS** : chrome azurole s.

**ACC** : Acide aminocyclaparapane 1 carboxylique.

**ISR** : Résistance Systémique Induite.

**ISP** : international Streptomyces Project.

**Glu-Asp** : Glucose-Asparagine.

**Czapek** : Czapek-DOX-Agar.

7

## Table des matières

Remerciements.....	I
Dédicaces.....	III
Résumé.....	V
Introduction.....	01

### Revue Bibliographique

1. La rhizosphère.....	02
2. Les Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR).....	02
3. Les actinomycètes.....	03
3.1. Définition et caractéristique général.....	03
3.2. Mycélium de substrat et mycélium aérien.....	04
3.3. La morphologie des spores.....	04
3.4. Le rôle bénéfique des actinobactéries en agriculture.....	05
4. Les phytohormones.....	06
5. Les Auxines.....	06
5.1. L'Acide-indole-acétique(AIA).....	07
5.2. Le Précurseur de l'acide indole acétique.....	08
5.3. Le rôle de l'acide indole acétique.....	08

### Matériel et Méthode

1. Le matériel biologique.....	09
2. Les milieux de culture utilisés.....	09
3. La revivification de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> .....	09
4. La détermination des caractères morphologique.....	09
4.1. L'étude macroscopique.....	09
4.2. L'étude microscopique.....	09
5. La production de l'acide indole acétique.....	10
5.1. La préparation des milieux de fermentation.....	10
5.2. La préparation de l'inoculum.....	11
5.3. L'inoculation des milieux de fermentation.....	11
6. Le dosage de l'acide indole acétique.....	11
6.1. La récupération des filtrats.....	11
6.2. La réaction de Salkowski.....	11
6.3. Le dosage de l'acide indole acétique.....	11

## Résultats et Discussion

1. La revivification de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> .....	13
2. La détermination des caractères morphologique de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i> ..	13
2.1 L'étude macroscopique .....	13
2.2 L'étude microscopique .....	15
3. La production d'acide indole acétique.....	18
3.1. La fermentation .....	18
3.2. Le dosage d'acide indole acétique .....	20
3.3. Les mesures de la production d'acide indole acétique .....	20
3.4. L'effet de défférents conditions de culture sur la productivité d'acide indole acétique	21
3.4.1. L'effet de la farine de datte sur la productivité d'acide indole acétique.....	21
3.4.2. L'effet de $\text{NaNO}_3$ sur la productivité d'acide indole acétique .....	22
3.4.3. L'effet de d'extrait de levure sur la productivité d'acide indole acétique .....	23

Conclusion

Référence bibliographique

Annexe

# **Introduction**





Le monde est confronté à un problème de sécurité alimentaire dû à la surpopulation mondiale qui conduit à une utilisation accrue des engrais chimiques pour augmenter la productivité agricole. Bien que les engrais chimiques présentent des avantages, ils ont des effets négatifs sur l'environnement et la santé humaine. Cela a suscité un intérêt pour l'utilisation des rhizobactéries qui favorisent la croissance des plantes (RFCP), en tant que principes actifs des biofertilisants. Les RFCP favorisent la croissance des plantes par des mécanismes directs et indirects tels que la production de phytohormones, la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate, la production d'antibiotiques et des enzymes lytiques et la production de sidérophores.

Parmi ces rhizobactéries connues, les actinomycètes, ces derniers ont un rôle très important pour la stimulation et la croissance des plantes, elles peuvent protéger efficacement la plante contre la sécheresse, présence d'agent pathogène, salinité, niveau élevé des métaux toxiques, les polluants organiques et la basse température (Glick, 2012 ; Santoyo *et al.* ; 2016). Des mécanismes étudiés des actinomycètes montrent qu'elles fournissent aux plantes des nutriments tels que l'azote fixe, le fer et le phosphore nécessaires à la croissance des plantes dans les sols agricoles manquant d'une quantité adéquate de ces composés (Sathya *et al.* ; 2017). Les actinomycètes de sol peuvent également favoriser la croissance des plantes, en accélérant l'acquisition des ressources ou réguler les niveaux d'hormones végétales (Vierma *et al.* ; 2004).

Présent travail, nous avons deux parties, une première partie qui représente une recherche bibliographique, nous avons défini la rhizosphère et les bactéries favorisant la croissance des plantes, nous avons donné aussi des idées générales sur les actinobactéries leurs propriétés et leur importance biologiques, et un aperçu sur les métabolites secondaires synthétisés par ces actinobactéries.

Une deuxième partie pratique nous nous sommes concentrés sur la détermination des caractères morphologiques (macroscopique et microscopique) de la souche d'actinomycètes, *Nocardiopsis dassonvillei*, appartenant au genre *Nocardiopsis*. La mise en évidence de l'AIA est basée sur la réaction de Salkowski et la filtration des suspensions bactériennes et la mesure des concentrations à l'aide d'un spectrophotomètre. Suivie d'une étude des conditions de production et dosage d'AIA, en présence de différentes conditions (pH, NaCl, farine de datte, tryptophane, extrait de levure).

# **Revue bibliographique**

## **1. La rhizosphère**

La rhizosphère telle qu'elle a été définie par Hiltner en 1904 est la région du sol qui entoure directement le système racinaire, elle est influencée chimiquement, physiquement et biologiquement par la racine des plantes. Cette région est caractérisée par sa biodiversité bactérienne, notamment les bactéries et les champignon (Hartmann *et al.* ; 2008).

La rhizosphère est donc un zone dynamique, bien structuré et fortement active où les microorganismes interagissent entre eux et avec le système racinaire des plantes de diverses façons. Au sein de la rhizosphère on peut différencier les microorganismes rhizosphériques en deux groupes les microorganismes symbiotiques et les non symbiotiques. Ils se distinguent par le niveau d'interdépendance qui existe entre la plante et les microorganismes. Au sein de chaque groupe, les microorganismes exerçant des effets positifs, négatifs ou neutres sur la plante (Wardle *et al.* ; 2004).

La rhizosphère représente la principale source des bactéries ayant des activités bénéfiques pour les plantes. Ces bactéries sont généralement définies comme des bactéries favorisant la croissance des plantes (Bashan et Holguin, 1998). Ils influencent de manière bénéfique la plante en stimulant directement sa croissance et en jouant un rôle primordial dans la lutte biologique contre les phytopathogènes (Glick, 1995).

La rhizosphère est caractérisée par une intense activité biologique due à la libération d'exsudats racinaires qui stimulent ou inhibent les organismes de la rhizosphère. Les interactions entre le sol, la plante et les microorganismes qui composent la rhizosphère caractérisent la complexité et la dynamique de cette région (Barea *et al.* ; 2005).

## **2. Les Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes**

De nombreuses espèces bactériennes se développent dans la rhizosphère et exercent des effets bénéfiques sur la croissance des plantes lors de la colonisation des racines. Elles sont définies comme des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes ou en anglais Plant Growth promoting Rhizobacteria (PGPR) (Kloepper *et al.* ; 1989). Il s'agit de Bactéries non pathogènes fortement colonisatrices des racines (à la surface des racines des plantes) et qui augmentent le rendement des plantes par un ou plusieurs mécanismes (Babalola, 2010). Ces bactéries vivent librement et peuvent directement ou indirectement faciliter l'enracinement (Mayak *et al.* ; 1999) et la croissance des plantes (Glick, 1995), diminuer les dommages causés par les phytopathogènes et leur conférer une résistance contre le stress abiotique (Kloepper *et al.* ; 1991).

Les PGPR peuvent affecter la croissance des plantes par différents mécanismes. Elles fixent l'azote atmosphérique, solubilisent les phosphates insolubles dans le sol, produisent des

phytohormones telles que l'AIA, le GAS et les kinétines en plus de la production de la désaminase d'ACC (Glick *et al.* ; 1999) qui aide à la résistance systémique d'éthylène.

Les PGPR appartiennent à différents genre bactériens telles que *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Sterptomyces*, *Klebseiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Flavobacyerium*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* et *Rhodococcus* (Verma *et al.* ; 2019).

### **3. Les actinomycètes**

#### **3.1. Définition et caractéristique général**

Le mot « Actinomycètes » est dérivé du mot grec (champignon à rayons), ayant des caractéristiques à la fois de bactéries et de champignons (Das *et al.* ; 2008).

Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positives, filamenteuses et aérobies formant des spores. Elles ont une forte teneur en GC (70%) dans leur génome, et appartiennent Au phylum Actinobacteria et à l'ordre des Actinomycetales (Segaran *et al.* ; 2017).

Elles ont la capacité des produire des mycelia où les cellules n'ont pas de paroi nucléaire distincte mais ont un chromosome organisé en un nucléoïde procaryote (Ventura *et al.* ; 2007).

Les actinomycètes présentent une grande variété de morphologie. Elles diffèrent principalement par la présence ou l'absence du mycélium aérien ou de mycélium de substrat, la couleur de ces derniers, la structure, le nombre et l'apparence des spores, et la production des pigments diffusible. Ces caractéristiques morphologique sont importantes pour la classification des actinobactéries (Li *et al.* ; 2016) .

La fragmentation mycélienne est une forme particulière de reproduction végétative qui produit des spores ou des conidies. Cette fragmentation et la formation des spores permettent la propagation de l'espèce et la survie dans des conditions défavorables (Saffroy, 2006). (Figure N° 1).

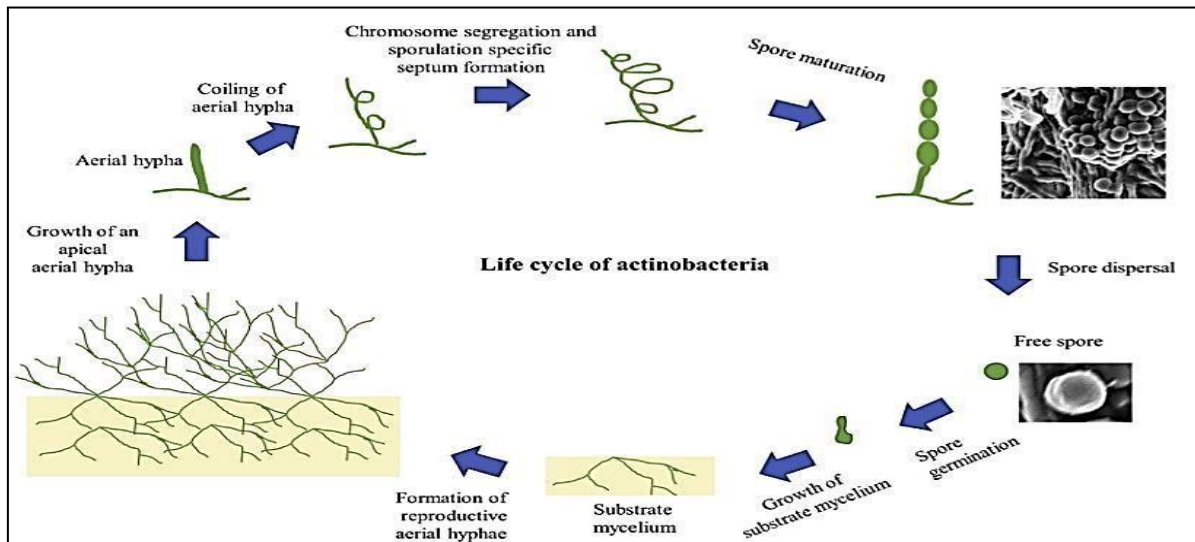


Figure N° 1 : cycle de vie des actinobactéries montrant la sporulation et la maturation des spores (Li *et al.* ; 2016).

### 3.2. Mycélium de substrat et mycélium aérien

Le mycélium de substrat est connu sous le nom de mycélium primaire ou végétatif. Il se développe à la fois dans les cultures solides par la germination des spores, et se différencie pour former des hyphes aérien sur les surfaces solides. Le mycélium du substrat des actinobactéries diffère par sa taille, sa forme et sa couleur (Li *et al.* ; 2016).

Le mycélium aérien développe des spores et d'hyphes reproducteurs. Les hyphes aériens et le mycélium du substrat sont parfois difficiles à distinguer. Le mycélium aérien est généralement plus épais, moins ramifiés et plus hydrophobes que le mycélium du substrat. Le mycélium aérien présente une différenciation suffisante comprenant la structure poudreuse (Li *et al.* ; 2016).

### 3.3. La morphologie des spores

Le mycélium de substrat et aérien forment des spores soit isolées, soit regroupées en chaînes de différentes longueurs. Pour la classification des actinobactéries la longueur, la position, la forme, la structure et la couleur de la chaîne des spores d'actinobactéries sont très importantes (Lechvelier et Lechavelier, 1989). Les spores peuvent également être en forme de zigzag, droites ou flexibles (Li *et al.* ; 2016).

La diversité morphologique des actinobactéries est illustrée principalement par leur mycélium, qui conduit à la formation de diverse structure des spores. Ces spores peuvent avoir une épaisseur d'environ 1 à 2mm et différer par leur formes (ovoïde, bâtonnet, allantoïde et réniforme) et leur caractéristiques de surface. Les spores matures présentent une variation de

couleurs telle que le gris, le blanc, le rose, le jaune, le vert et le bleu (Philips *et al.* ; 2002). La figure N° 2 représente les caractéristiques des spores des actinobactéries.

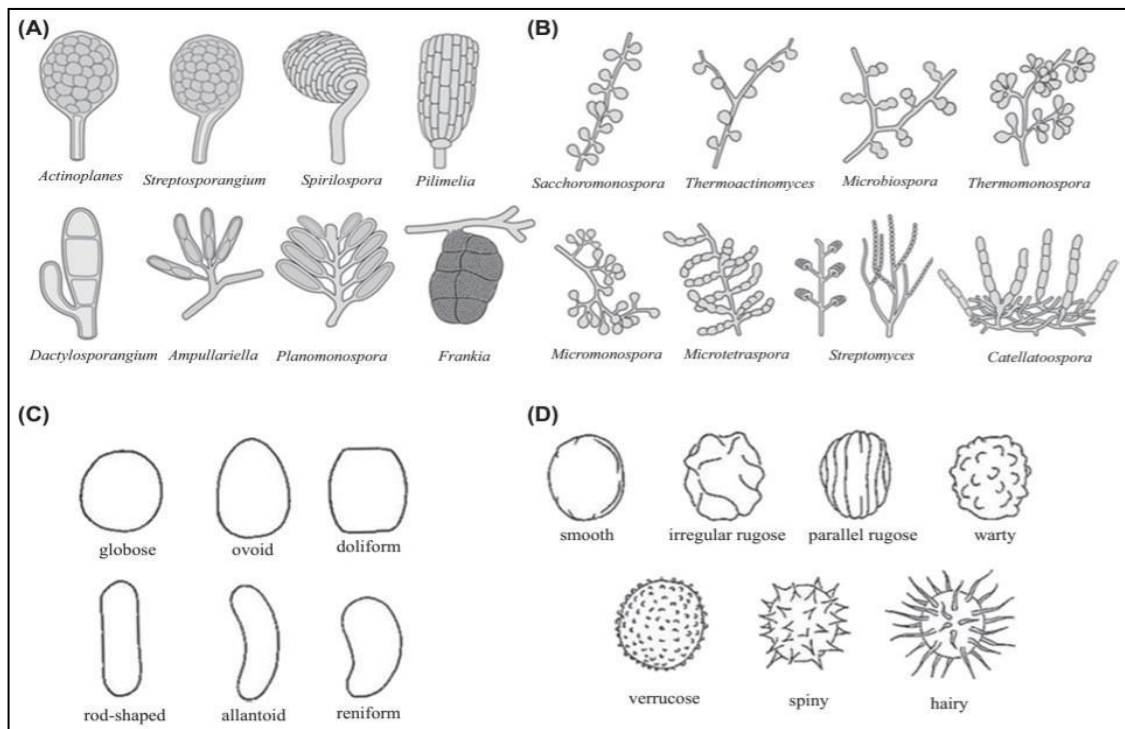


Figure N° 2 : représentation schématique des spores et de la chaîne des spores des actinobactéries. 3.2.1. spores sur le mycélium du substrat. (B) production de spores unique en chaîne courtes. (C) formes générale des spores. (D) morphologie de surface des spores.

### 3.4. Le rôle bénéfique des actinobactéries en agriculture

Les principaux mécanismes étudiés des actinomycètes montrent qu'elles fournissent aux plantes des nutriments tels que l'azote fixe, le fer et le phosphore nécessaires à la croissance des plantes, surtout que les sols agricoles manquent d'une quantité adéquate d'un ou plusieurs de ces composés (Sathya *et al.* ; 2017).

Les actinomycètes du sol peuvent également favoriser la croissance des plantes, en accélérant l'acquisition des ressources ou régulant les niveaux d'hormones végétales. La solubilisation du phosphate dans le sol (Verma *et al.* ; 2001 ; Wakelin *et al.* ; 2004), la production d'acide indole acétique (Kim *et al.*, 2012), la production de sidérophore (Ahmed et Holmström, 2014), l'ACC désaminase (Sathya *et al.*, 2017).

Les actinomycètes sont capables de fixer l'azote atmosphérique et le transférer à la plante sous forme assimilable (Sellstedt et Richau, 2013),

La production de phytohormones est connue sous le nom de phytostimulation, qui favorise la croissance des plantes. Les actinobactéries produisent une large gamme de phytohormones comme les auxines, les cytokinines et les gibbérellines. L'exemple le plus courant de phytostimulation implique l'utilisation de l'enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase qui réduit les niveaux d'éthylène des hormones végétales et la production d'acide indole acétique (AIA) pour les plantes.

Les actinobactéries peuvent protéger efficacement la plante contre la sécheresse, la présence d'agent pathogène, la salinité, le niveau élevé des métaux toxiques, les polluants organiques et contre la basse température (Glick, 2012 ; Santoyo *et al.*, 2016).

#### **4. Les phytohormones**

Les phytohormones sont des messagers chimiques qui jouent un rôle important dans la promotion de la croissance et développement des plantes (Lymperopoulos *et al.* ; 2018).

Les phytohormones affectent la croissance et la germination des graines, la floraison, la formation des feuilles et la réduction de la sénescence des feuilles et des fruits. Elles régulent également de nombreux processus physiologiques dans la plante, notamment la division et la croissance cellulaire, le développement végétatif et reproductif et les réponses au stress et améliorant le rendement et la qualité des cultures. Il existe différents groupes chimiques des phytohormones : les cytokinines, les auxines, les gibbérellines, l'éthylène, les polyamines, les jasmonates et l'acide salicylique (Khan *et al.* ; 2016)

#### **5. Les Auxines**

Les auxines synthétisées par la plante et les microorganismes ne diffèrent que par la voie de biosynthèse, selon la plante et/ou le microorganisme. Plus de 80 % des bactéries du sol de la rhizosphère sont capables de produire des auxines. Le potentiel de ces microorganismes à affecter les niveaux endogènes de ce régulateur et, par conséquent, ses effets sur la croissance des plantes est remarquable. Les auxines affectent principalement les racines des plantes (Salisbury, 1994). Parmi les auxines l'acide indole acétique (AIA) occupe une place de choix. Il est issu du métabolisme de L-tryptophane chez de nombreux microorganismes (Muller *et al.* ; 1989), champignon (Stein *et al.* ; 1990) et algues (Finnie et Van Staden, 1985).

## 5.1. L'Acide-indole-acétique

La synthèse microbienne de la phytohormone Acide-indole-acétique (AIA) est connue depuis longtemps. Il est rapporté que 80% des micro-organismes isolés de la rhizosphère de diverses cultures possèdent la capacité de synthétiser et de libérer des auxines comme métabolites secondaires (Patten et Glick, 1996).

Les PGPR secrètent l'AIA, qui est une hormone végétale produite dans des bourgeons et des jeunes feuilles, à travers diverses voies biosynthétiques indépendantes. Ces voies comprennent: la voie indéfinale-3-acétamide, la voie d'acide indole-3-pyruvique, la voie de tryptamine et la voie indéterminée-3-acétaldoxime (Mano et Nemoto, 2012).

## 5.2. Le précurseur de l'AIA

Le tryptophane est la molécule la plus importante qui peut limiter le niveau de synthèse d'AIA. Il est identifié comme le principal précurseur de l'IAA. Il joue également un rôle important dans la modulation du niveau de biosynthèse de l'AIA (Spaepen et Vanderleyden, 2011).

Le tryptophane est converti en acide indole-pyruvique par une réaction de transamination ou une désamination oxydative ; l'acide indol-pyruvique pourrait, à son tour, donner soit de l'acide indol-lactique par hydrogénéation, soit de l'acide indole-acétique par décarboxylation oxydative (Brakel et Hilger, 1965), (Figure N° 3).

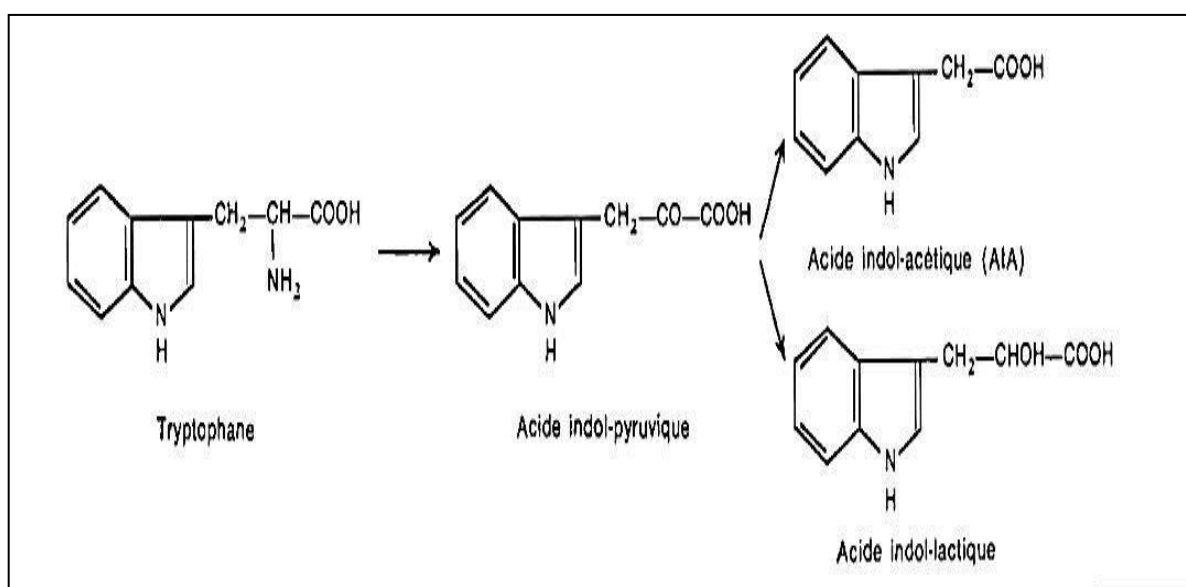


Figure N° 3 : la production de l'acide indole acétique à partir le tryptophane



### 5.3. Le rôle de l'AIA

L'AIA affecte la division des cellules végétales, la différenciation et la prolongation des cellules. Il stimule la germination des semences et des tubercules et augmente la vitesse de développement du xylème et de la racine. De plus, l'AIA contrôle les processus de croissance végétative, initie la formation de racines latérales affecte la photosynthèse et stimule la résistance aux conditions stressantes (Spaepen *et al.* ; 2007).

L'AIA protège la plante contre plusieurs bactéries phytopathogènes en renforçant les mécanismes de défense de la plante (Olanrewaju *et al.* ; 2017) . L'AIA produit par les PGPR stimule les processus physiologiques des plantes en modifiant l'équilibre hormonal de la plante hôte (Egamberdieva, 2009). Il contrôle donc tous les aspects de la croissance et du développement des plantes ainsi que les réponses de défense (Gray, 2004).

# **Matériel et Méthodes**

Notre travail de fin d'étude a été réalisé dans le laboratoire de Génie Microbiologique et applications (biopôle) Chaab Erssas de l'université Frères Mentouri Constantine1, sous la responsabilité de Mme Oulmi L.

## **1. Le matériel biologique**

La souche d'actinomycète utilisée dans notre étude est une souche de l'espèce *Nocardioopsis dassonvillei* de la collection du laboratoire. La conservation a été faite à -18 °C sur le milieu ISP5 additionné de Glycérol (V/V).

## **2. Les milieux de culture utilisés**

Pour la culture de la souche *Nocardioopsis dassonvillei*, nous avons préparé les milieux suivant : ISP2, ISP5, ISP5 modifier, ISP7, DSMZ65, GELM, Glu-Asp et le milieu Czapek-Dox-Agar. La composition de ces milieux des cultures est présentée en Annexe. Après l'ajustement du pH, nous les avons stérilisées à 121°C à l'autoclave pendant 20 min.

## **3. La revivification de la souche**

Nous avons cultivé la souche *Nocardioopsis dassonvillei* sur deux milieux de culture Glu-Asp et DSMZ65. À l'aide d'une anse de platine nous avonsensemencé la surface des géloses par la souche, La méthode utilisée est la méthode des stries serrée. Les cultures sont incubées à 30 °C jusqu'à l'apparition d'une bonne croissance.

## **4. La détermination des caractères morphologique**

### **4.1. L'étude macroscopique**

Nous avonsensemencé la surface des huit milieux (ISP2, ISP5, ISP5 modifié, ISP7, GELM, DSMZ65, Glu-Asp et Czpek- Dox- Agar) par trois stries. Les cultures sont incubées à 30 °C pendant 21 jours. À l'œil nu, nous avons pu apprécier (après 7, 15 et 21 joursd'incubation) le développement de la masse sporale, le mycélium aérien, mycélium de substrat et s'il y a une éventuelle production de pigment diffusible.

### **4.2. L'étude microscopique**

L'étude microscopique a été réalisée par la technique des lamelles. Elle consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans le milieu de culture de manière à former avec la

gélose un angle 45°. Par la suite l'ensemencement est réalisé par un prélèvement des colonies par l'anse de platine déposée à l'intersection lamelle-Gélose. Tous sont incubés à 30 °C pendant 7, 15 et 21 jours. Les lamelles sont retirées de la gélose ensuite déposées sur une lame stérile, suivie d'une coloration par bleu de méthylène puis examiner sous microscope optique au grossissement X100.

## 5. La production de l'acide indole acétique

### 5.1. La préparation des milieux de fermentation

Pour tester la capacité de la souche à produire l'AIA, nous avons préparé douze flacons stériles qui contiennent douze milieux liquides différents (figure N° 4). Les milieux sont constitués d'un milieu de base (voir l'annexe) additionné de Na Cl (5% et 10%), peptone, extrait de levure, NaNO<sub>3</sub>, tryptophane, MgSO<sub>4</sub>, et ajustés les pH à la valeur 9 pour six d'entre eux et à la valeur 7 pour les six autres, puis nous avons ajouté la farine de datte comme substrat. Les différents composants et concentrations sont illustrés dans le tableau N° 1.

Tableau N° 1 : les milieux de fermentation avec différents composants et concentrations.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
Farine (g)	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0
NaNO <sub>3</sub> (g)	0	0.6	0.6	0	0.6	0.6	0.6	0	0	0	0.6	0
Extrait de levure (g)	2	0.2	2	2	0.2	2	2	2	0.2	0.2	0.2	0.2
Peptone (g)	0.2	2	0.2	2	2	0.2	2	8	9	0.2	0.2	0.2
Tryptophane (mg)	2	1	1	1	2	1	2	2	1	2	2	1
Mg SO <sub>4</sub> (g)	0.2	0.2	0.2	0	0	0	0.2	0	0.2	0.2	0	0
Na Cl (%)	5	10	10	10	5	5	5	10	5	10	10	5
pH	7	7	7	9	7	9	9	7	9	9	9	7



Figure N° 4 : les douze flacons de fermentation.

## 5.2. La préparation de l'inoculum

À l'aide d'un ensemencement stérile nous avons raclé les surfaces des cultures jeunes de la souche *Nocardiosis dassonvillei*. Les cellules ont été récupérées dans un tube conique stérile contenant 40ml d'eau physiologique (annexe). Après agitation, la densité optique de la suspension cellulaire est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 660 nm puis ajustée à la valeur 1.31.

## 5.3. L'inoculation des milieux de fermentation

Les douze milieux de fermentation sont inoculés par la suspension cellulaire. 2 ml pour chaque milieu. Les cultures sont incubées à 30 °C pendant 7 jours d'incubation.

## 6. Le dosage de l'acide indole acétique

### 6.1. La récupération des filtrats

Après 7 jours d'incubation, nous avons réalisé le dosage de la productivité de l'AIA. 5 ml de chaque milieu sont prélevés puis filtrés à travers du papier Wattman N° 3 dans les conditions d'asepsie totale.

### 6.2. La réaction de Salkowski

La détection de l'AIA dans le filtrat est réalisée grâce à la réaction de Salkowski par la méthode décrite par Bric *et al.* ; (1991). Dans douze tubes stériles, 2ml de filtrat sont ajoutés dans chaque tube additionnée de 4 ml de réactif de Salkowski déjà préparée (voir annexe). Le mélange a été agité et laissé à l'obscurité et à l'air libre.

### 6.3 . Le dosage de l'acide indole acétique

À l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 530 nm, Nous avons réalisé la mesure de la densité optique après (30 min et 24 h) et après l'agitation de chaque tube. Les taux de l'AIA libérés sont déterminés à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage (figure N° 5).

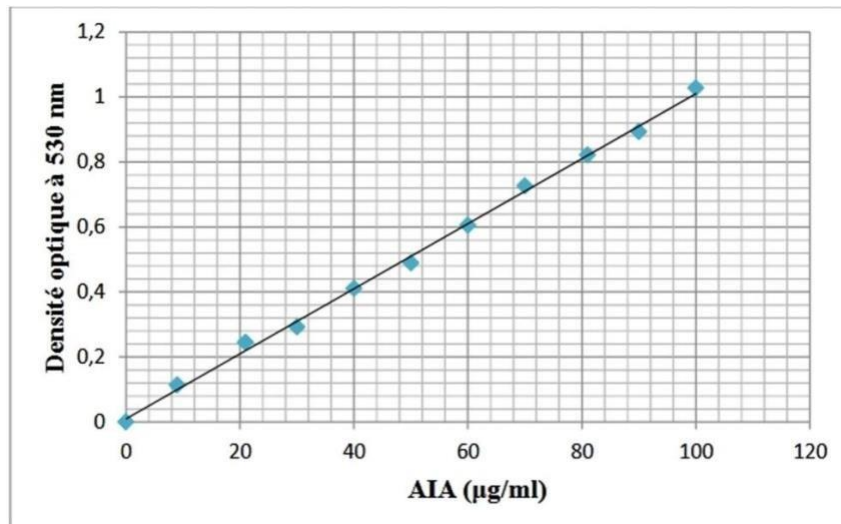


Figure N° 5: la courbe d'étalonnage de l'AIA (Annab et Dafri, 2018).

## **Résultat et discussion**

## 1. La revivification de la souche *Nocardiosis dassonvillei*

Suite à la revivification de la souche *Nocardiosis dassonvillei* sur les deux milieux de culture DSMZ65 et Glu-Asp, nous avons remarqué une bonne croissance de la souche sur les deux milieux de culture. Les colonies apparaissent après 3 jours d'incubation de forme ronde, bien incrustée dans la gélose, de taille variée, de couleur blanche grise. Elles sont plates et sèches, avec la présence des deux mycélium aérien et du substrat (figure N° 6).



Figure N° 6 : Examen macroscopique de la souche *Nocardiosis dassonvillei* sur le milieu DSMZ65 et Glu-Asp.

## 2. La détermination des caractères morphologique de la souche

### 2.1. L'étude macroscopique

Les caractères macromorphologiques et culturaux de la souche *Nocardiosis dassonvillei* sont déterminés sur les différents milieux de culture après 7 et 21 jours d'incubation.

Après 7 jours d'incubation à 30 °C, les colonies apparaissent avec un degré de croissance différent; faible, moyen et abondant, d'une forme ronde, plates, sèches, une surface poudreuse et opaque ; leurs tailles varient entre 1 à 2 mm et d'autres de 3 à 5 mm, de couleur différente, selon la composition des milieux.

Nous avons remarqué une bonne croissance de la souche et une masse sporale importante sur les milieux DSMZ65, Glu-Asp et Czapek-Dox-Agar. La croissance est moyenne sur le milieu ISP2 et faible sur le milieu ISP7. Une absence totale de la croissance sur les milieux ISP5, ISP5modifier et GELM.

Les mycélium présentent des couleurs variées sur les différents milieux de culture. Pour le mycélium aérien, il prend la couleur blanc-gris sur le milieu DSMZ65, blanc sur Czapek- Dox-Agar, Glu-Asp et ISP2 et la couleur beige-brun sur l'ISP7.



La couleur du mycélium de substrat sur les milieux ISP2, ISP7, Glu-Asp et Czapek-Dox-Aga est la même couleur de mycélium aérien, par contre la couleur de mycélium de substrat est marron sur DSMZ6. Les caractères morphologiques de la culture jeune sont illustrés dans la figure N° 7.

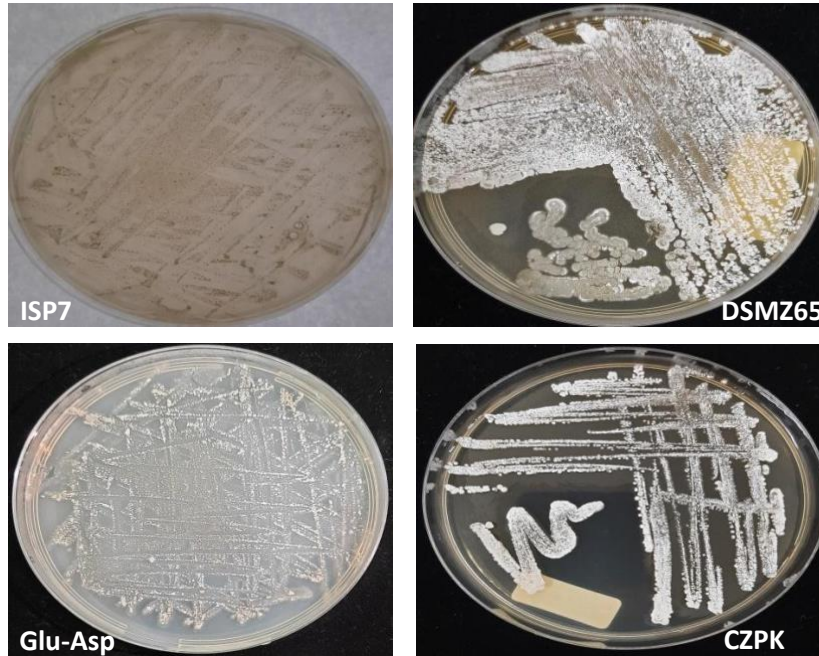


Figure N° 7 : la culture de la souche *Nocardiosis dasonvillei* sur les différents milieux de culture après 7 jours d'incubation.

Après 21 jours d'incubation, la souche se développe sur les milieux DSMZ65, Czapek-Dox-Agar, Glu-ASP, ISP2 et ISP7 de la même manière. Pour la couleur de mycélium aérien et de substrat gardent presque la même coloration de celle du septième jour d'incubation, mais le mycélium de substrat sur DSMZ65 devient marron foncé. Les caractères morphologiques de la culture âgée sont illustrés dans la figure N° 8.



Figure N° 8 : la culture de la souche *Nocardiosis dasonvillei* sur les différents milieux de culture après 21 jours d'incubation.

On note une absence totale de production des pigments diffusible sur tous les milieux de culture, et absence totale de la croissance sur les milieux ISP5, ISP5 modifié et GELM.

Les caractères macroscopiques de la souche *Nocardiopsis dassonvillei* sur les différents milieux de culture sont illustrés dans le tableau N° 2.

Tableau N° 2: Les caractères macroscopique de la souche *Nocardiopsis dassonvillei* sur les différents milieux de culture après 7 et 21 jours d'incubation.

milieu	Âge (jour)	Croissance et masse sporale	Mycélium aérien	Mycélium de substrat	Pigment diffusible
SP2	7	+	Blanchâtre	Blanchâtre	Absence
	21	++	Blanchâtre	Blanchâtre	
ISP5	7	-	-	-	Absence
	21	+ /-	Beige	Beige	
ISP5 Modifié	7	-	-	-	Absence
	21	-	-	-	
ISP7	7	+ /-	Beige-brun	Beige-brun	Absence
	21	+	Beige-brun	Beige-brun	
DSMZ65	7	++	Blanc-gris	Marron	Absence
	21	++	Blanc-gris	Marron foncé	
GELM	7	-	-	-	Absence
	21	-	-	-	
Glu-Asp	7	++	Blanchâtre	Blanchâtre	Absence
	21	++	Blanchâtre	Blanchâtre	
Czapek-Dox- Agar	7	++	Blanc	Blanc	absence
	21	++	Blanc	Blanc	

(+) = croissance moyenne.

(++) = bonne croissance.

(-) = absence de croissance de la souche.

## 2.2. L'étude microscopique

La caractérisation microscopique de la souche est déterminée par la technique des lamelles et après coloration par bleu de méthylène puis observation sous microscope optique grossissement X100. Après 7 jours d'incubation, nous avons observé clairement le bon développement des deux mycéliums, aérien et de substrat.

Sur le milieu ISP2, nous avons noté un mycélium aérien épais, ramifié, long et peu enchevêtré (Figure N° 9-A), un mycélium de substrat épais et fragmenté et une présence des spores libres de forme ovoïde (Figure N° 9- B).

Sur le milieu ISP7, le mycélium aérien est fin, très ramifiée et enchevêtré (Figure N° 9- C), le mycélium de substrat épais et ramifiée (Figure N° 9- D). Les spores sont présentent sur des deux mycéliums sont de forme ovoïde.

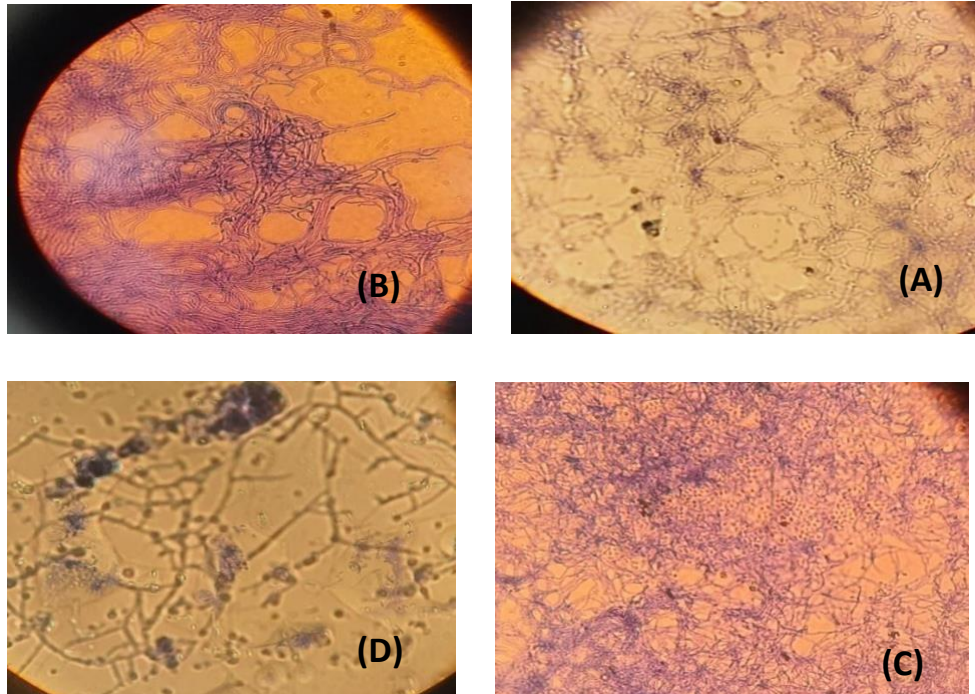


Figure N° 9 : la culture jeune de la souche *Nocardioopsis dassonvillei* sous microscope optique après 7 jours d'incubation sur les différents milieux de culture. (A, C) mycélium aérien et (B, D) mycélium de substrat.

Pour le milieu DSMZ65 le mycélium aérien est ramifié, peu enchevêtrés et fragmenté (Figure N° 10- E), le mycélium de substrat est épais et peu ramifié (Figure N° 10- F).

Le mycélium aérien sur Czapek-Dox-agar est fragmenté et fin, les deux mycéliums sont riche en amas de spores (Figure N° 10- G).

Sur le milieu glucose Asparagine, le mycélium aérien est épais et fragmenté et pour le mycélium de substrat, il est épais, un peu ramifié et très long. On note également la présence des spores (Figure N° 10- H).

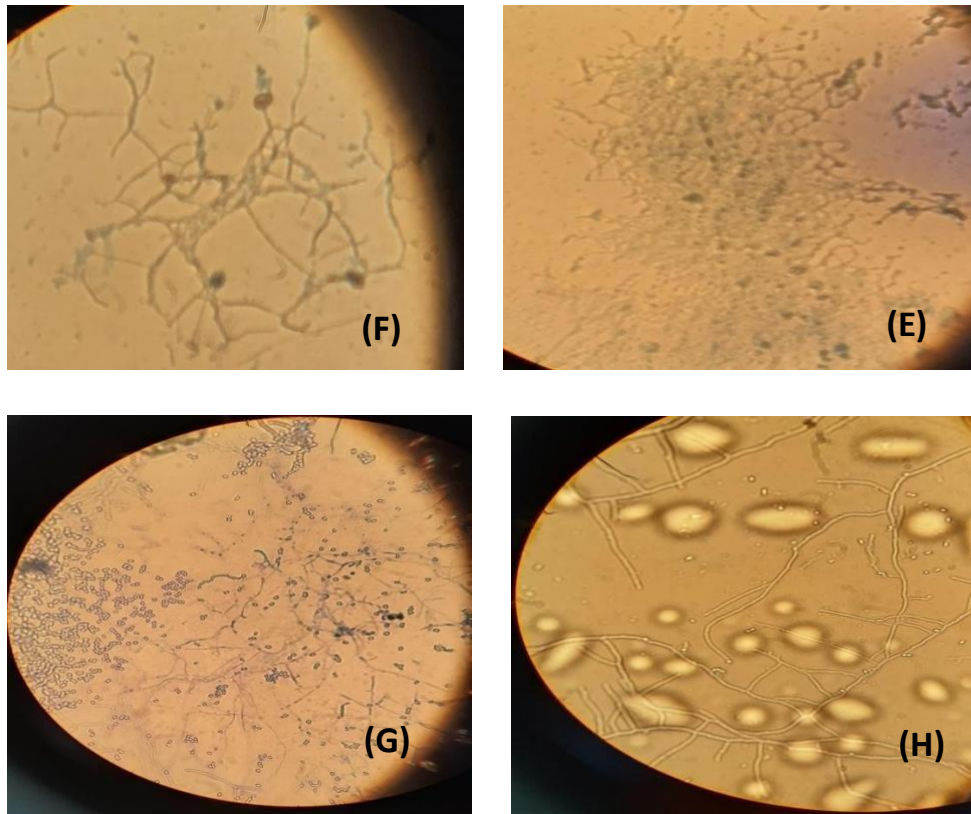


Figure N° 10 : la culture jeune de la souche *Nocardioopsis dassonvillei* sous microscope optique après 7 jours d'incubation sur les différents milieux de culture. (E, G) mycélium aérien et (F, H) mycélium de substrat.

Après 21 jours d'incubation, nous avons remarqué que les deux mycelia deviennent plus développés et les spores deviennent plus riches et forment des chaînes.

Sur le milieu ISP2, le mycélium aérien devient plus enchevêtré et les spores de forme ovoïde se libèrent (Figure N° 11-A).

Le mycélium aérien sur le milieu Glu-Asp (Figure N° 11-B) et le mycélium de substrat sur ISP7 (Figure N° 11-C) deviennent plus fragmentés. Sur le milieu DSMZ65 les spores sont libres ou en amas (Figure N° 11-D). Les figures E et F représentent le mycélium aérien et le mycélium de substrat avec les chaînes de spores sur le milieu Czapek-Dox-Agar.

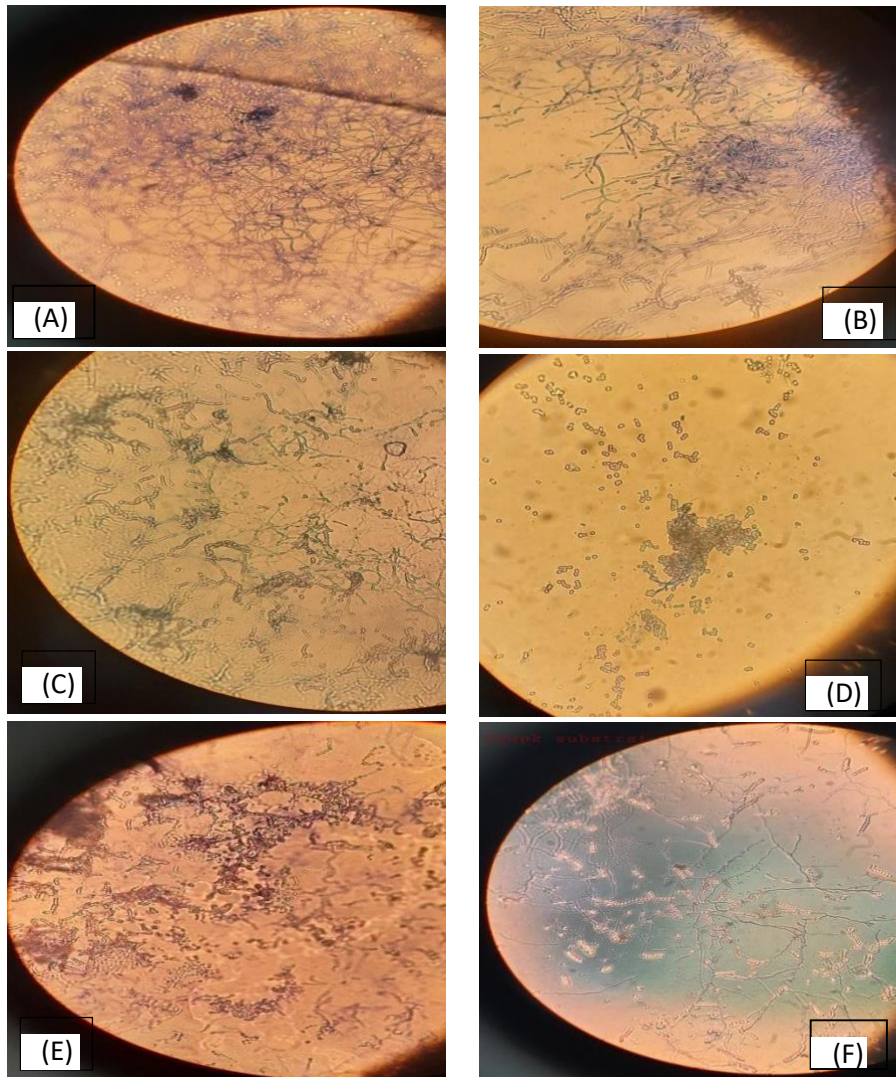


Figure N° 11 : la culture âgée de la souche *Nocardioopsis dassonvillei* de 21 jours d'incubation sous microscope optique sur différents milieux de culture. (A, B et E) mycélium aérien et (C, D et F) mycélium de substrat.

### 3. La production de l'acide indole acétique

#### 3.1. La fermentation

Après 7 jours d'incubation à 30 °C, nous avons noté une croissance dans tous les flacons sous forme d'un trouble (Figure N° 12). Une forte croissance sur les milieux M4 et M6, faible croissance sur M11 et M12. Les résultats sont regroupés dans le tableau N° 3.

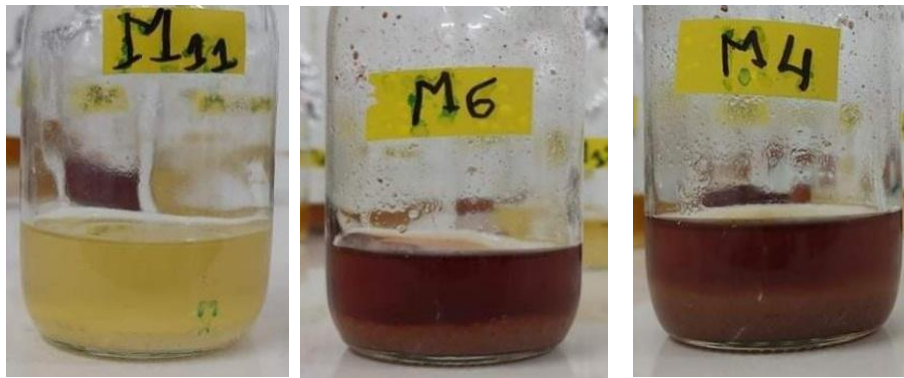


Figure N° 12 : aspect de certaines cultures après 7 jours d'incubation.

Tableau N° 3: Aspect de la croissance de la souche *Nocardiopsis dassonvillei* sur les milieux de fermentation après 7 jours d'incubation.

Milieux	croissance	Caractéristique
M1	+	Trouble
M2	+	Trouble
M3	+	trouble
M4	++	trouble
M5	+	trouble
M6	++	trouble
M7	+	trouble
M8	+	Trouble
M9	+	trouble
M10	+	trouble
M11	+ /-	trouble
M12	+/-	trouble

(+/-) = croissance faible.  
 (+) = croissance moyenne.  
 (++) = bonne croissance.

### 3.2. Le dosage et la mesure de la production de l'acide indole acétique

À l'aide d'un spectrophotomètre, nous avons réalisée deux mesures de la DO, la première après 30 min de réaction et la deuxième après 24 heures (Annexe). À partir de la courbe d'étalonnage, nous avons calculé les concentrations d'AIA produites par notre souche et les résultats sont rassemblés dans le tableau N° 4.

Tableau N° 4: les valeurs des concentrations d'AIA produite par la souche après 30 min et 24h de réaction.

Milieux	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
C (30 min)	17	14,1	12,7	28,1	21,3	22,7	10,3	13,8	7,3	15,2	4,3	7
C (24 h)	21,6	16,9	16,1	32,6	21	30,4	17,8	19	9,2	17,3	5,3	8,9

Selon les résultats obtenus après 30min et 24h réaction, et après une mesure de la DO<sub>530</sub> des douze milieux, les résultats des concentrations d'AIA présentés dans l'histogramme de la Figure N° 13.

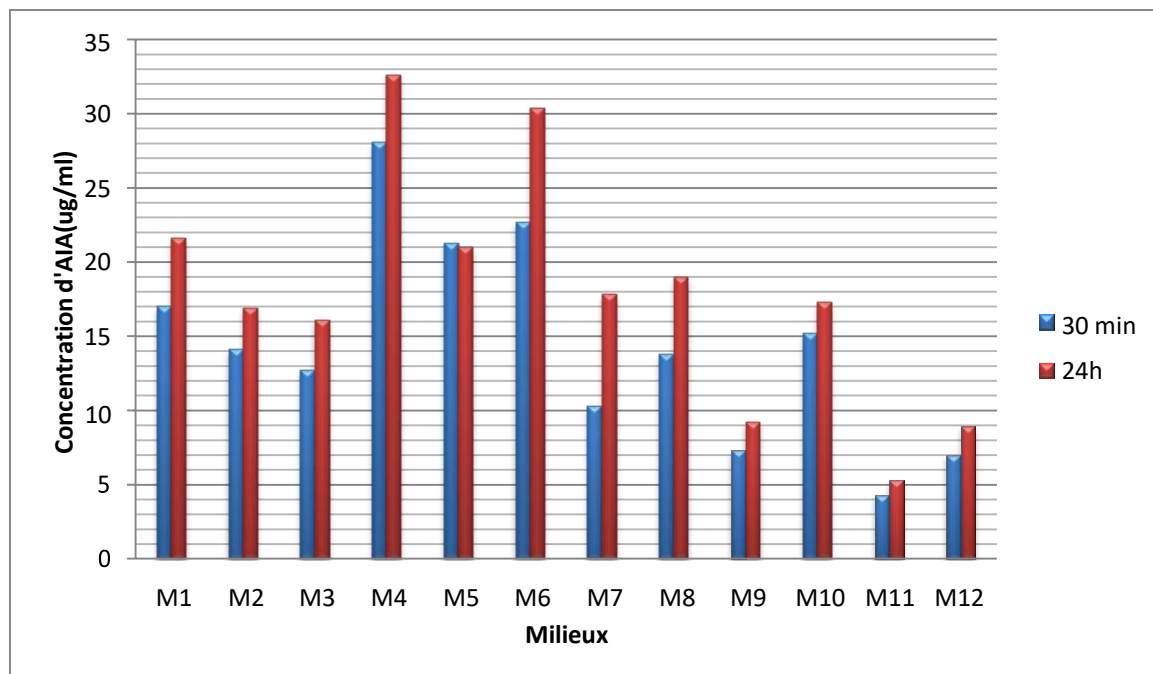


Figure N° 13 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA (µg/ml) après 30 min et 24h de réaction.

Pour le premier dosage d'AIA (30 min), nous avons observé une production maximale dans le milieu M4 avec un taux de 28.1 µg/ml, et une production minimale dans le

M11 avec un taux de 4.3µg/ml. La production d'AIA dans les autres milieux est faible, elle varie entre 7.3µg/ml et 22.7µg/ml.

Pour le deuxième dosage d'AIA (24h), nous avons constaté les mêmes résultats, la valeur la plus élevée dans M4 et la valeur la plus faible dans M11. Cette différence entre eux est marquée attendu que la différence de composition de chaque milieu, dans les quantités de la farine de datte, NaNO<sub>3</sub>, tryptophane, extrait de levure et peptone.

Donc, ne pas nécessaire d'attendre 24 h pour mesurer les concentrations d'AIA, par ce que la durée de 30 min est suffisante pour cette réaction.

### 3.3. L'effet des différentes conditions de cultures sur la productivité d'acide indole acétique

#### 3.3.1. L'effet de la farine de datte sur la productivité d'acide indole acétique

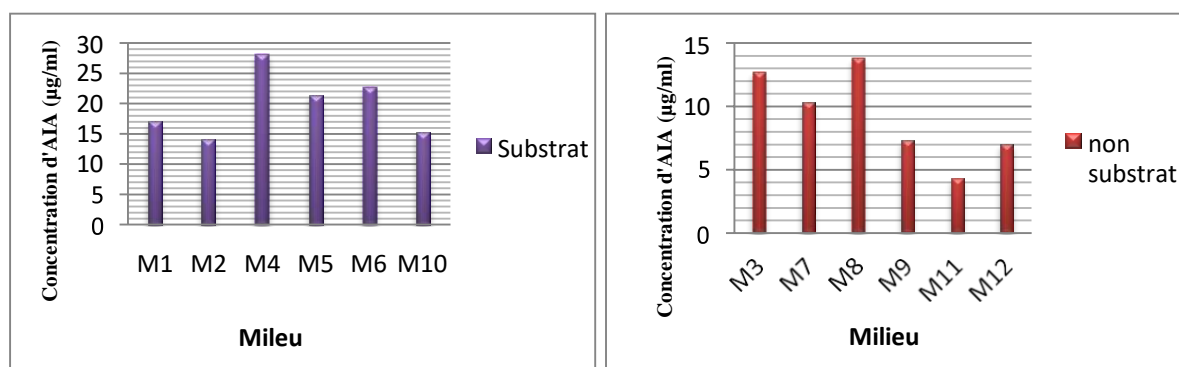


Figure N° 14 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA (µg/ml) en fonction de la présence et de l'absence de substrat, après 30min de réaction.

L'étude de l'influence de substrat qui est la farine de datte, sur la production d'AIA illustrés par l'historgramme (Figure N° 14), nous avons remarqué en présence de substrat, les valeurs des concentrations d'AIA sont plus élevées par rapport aux valeurs des concentrations d'AIA en absence de substrat.

La présence de substrat a un effet positif sur la production d'AIA.



### 3.3.2. L'effet de $\text{NaNO}_3$ sur la productivité d'acide indole acétique

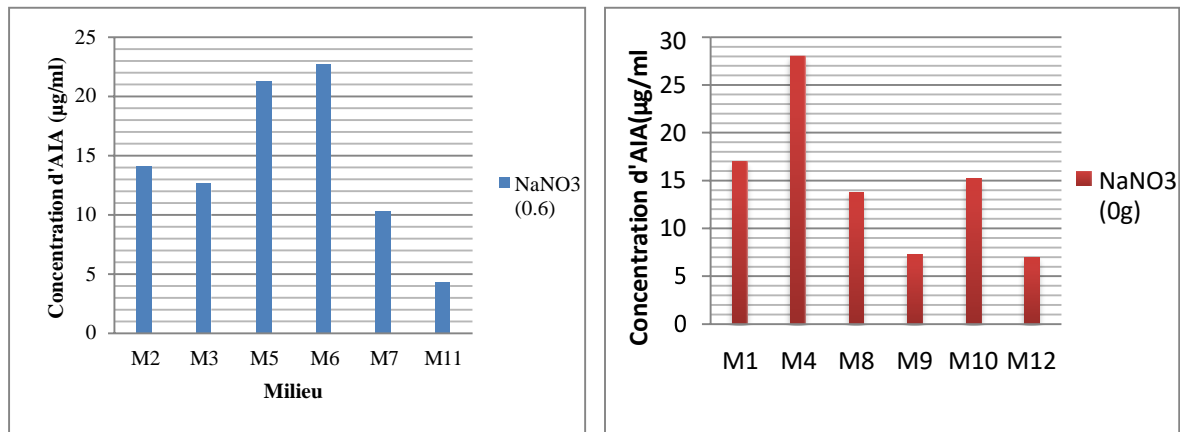


Figure N° 15 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA ( $\mu\text{g/ml}$ ) en fonction de  $\text{NaNO}_3$ , après 30 min de réaction.

L'effet de  $\text{NaNO}_3$  sur la production d'AIA est illustré par histogramme (figure N° 15), nous avons observé aucune différence significative entre la production d'AIA en présence et en absence de ce facteur.

Le facteur  $\text{NaNO}_3$  n'a aucun effet significatif sur la production d'AIA.

### 3.3.3. L'effet d'extrait de levure sur la productivité d'acide indole acétique

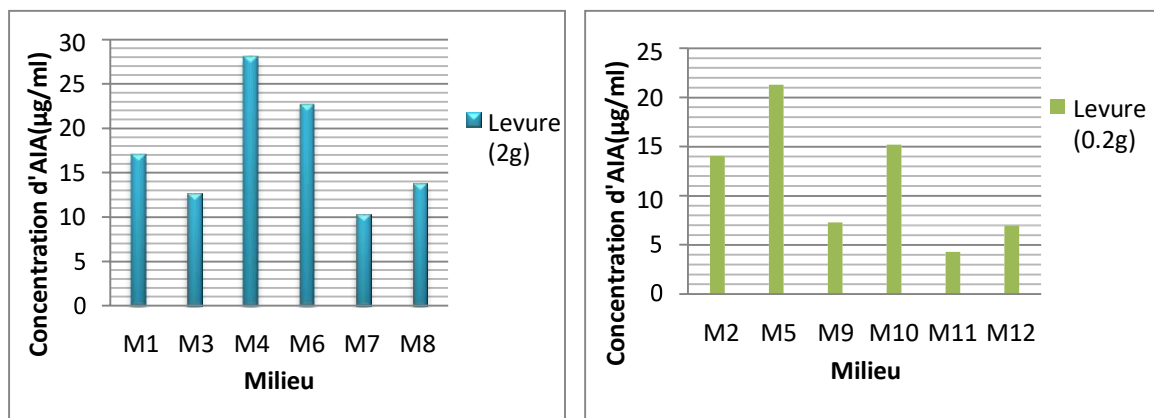


Figure N° 16 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA ( $\mu\text{g/ml}$ ) en fonction des quantités d'extrait de levure, après 30 min et de réaction.

Pour l'effet d'extrait de levure sur la production d'AIA, nous avons la meilleure quantité est égale 2g pour obtenir une quantité d'AIA la plus élevée dans M4 avec un taux de  $28.1 \mu\text{g/ml}$  et on observe aussi une bonne quantité d'AIA dans M5 avec un taux de  $21.3 \mu\text{g/ml}$

Donc, l'extrait de levure exerce un effet positif sur la production d'AIA, il permet d'accélérer la croissance.

### 3.3.4. L'effet de tryptophane sur la production d'acide indole acétique

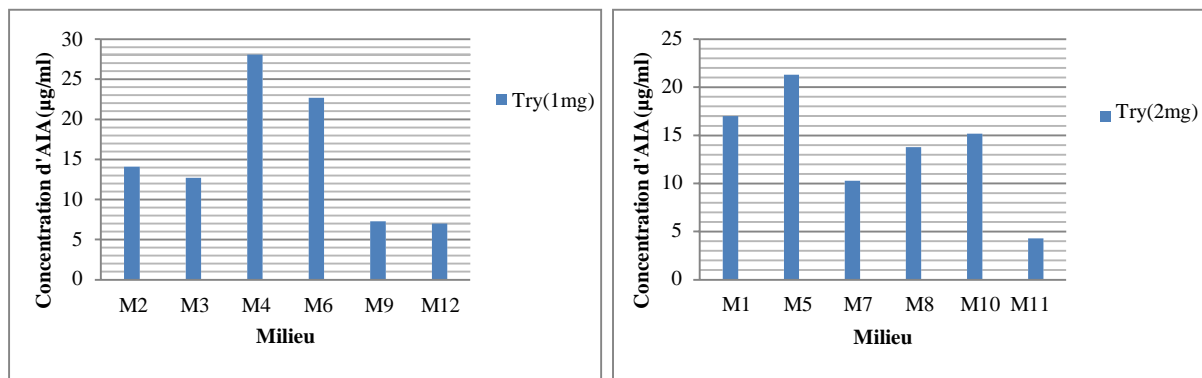


Figure N° 16 : histogramme représente les variations des concentrations d'AIA (µg/ml) en fonction de tryptophane (1mg et 2mg), après 30 min de réaction.

L'étude de l'influence de tryptophane qui est le précurseur d'AIA sur la production d'AIA (Figure N° 16).

Pour 1mg de tryptophane la meilleure production d'AIA a été observée dans le milieu M4 avec un taux de 28.1µg/ml et dans les autres milieux faible productivité d'AIA varie entre 7µg/ml et 22.7µg/ml. Par contre pour 2mg de tryptophane, les valeurs sont élevées.

Le tryptophane a un effet positif sur la production d'AIA.

D'après les résultats obtenus de la production d'AIA en fonction des différents paramètres, la meilleure productivité d'AIA par notre souche *Nocardiopsis dassonvillei* a été observé dans le milieu M4 dans les conditions suivantes : le pH=9, la concentration de (10%) de Na Cl, la quantité de 1mg de tryptophane, le substrat qui est la farine de datte, l'extrait de levure de quantité 2g.

## **Conclusion et perspectives**

L'utilisation des actinobactéries est devenue nécessaires dans de nombreux domaines : industriel, médical et vétérinaire, notamment dans le domaine de l'agriculture et l'agro-alimentaire (George *et al.*, 2012 ; Solecka *et al.*, 2012). Les actinomycètes produisent une phytohormone appelé auxine (AIA) qui participent au contrôle de la division des cellules végétales, à l'élongation et la différenciation cellulaires.

Les principaux objectifs de notre travail étaient la détermination des caractéristiques morphologique (macro et micro-morphologique) de la souche bactérienne *Nocardiopsis dassonvillei* appartenant au genre *Nocardiopsis* et la mise en évidence de la capacité de cette souche à produire de l'acide indole acétique en différentes conditions et en présence ou en absence du substrat (la farine de datte).

Nos résultats montrent que *Nocardiopsis dassonvillei* à la capacité de synthétiser une phytohormone appartenant à la famille des auxines (AIA) dans un temps très limité 30 min, et influencée par la farine de datte, le tryptophane, l'extrait de levure, le pH et le Na Cl, ces dernier ont donnés un rendement maximal pour la production d'AIA par notre souche.

Ces résultats encouragent des nouvelles recherches sur leur application à d'autres cultures stratégiques. Des recherches supplémentaires devraient être axées sur l'utilisation de la souche *Nocardiopsis dassonvillei* dans les champs agricoles afin de promouvoir le développement de cette bactérie en tant que biofertilisant commerciaux améliorant la productivité de la culture.

À l'avenir les biostimulants impliquant les actinomycètes et leur métabolites devraient en cours décoller et entré sur le marché afin de réduire l'utilisation des engrais chimiques et leurs effets négatifs sur l'environnement et la santé humaines.

**Référence**

**Bibliographique**

- Ahemad M. and Kibret M. (2014) Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. JKSUS, 26, p 1–20.
- Annab A. et Dafri F. (2018) production de l'auxine chez des actinobactéries rhizosphériques appartenant aux genres *Streptomyces* et *Nocardiopsis*. Mémoire de master : microbiologie et appliquée. Oum el bouaghi. Université Larbi ben m'hidi, 65p.
- Babalola O.O. (2010) Beneficial bacteria of agricultural importance, Biotechnol Lett. 32, p 1559–1570.
- Bashan Y. and Holguin G. (1998) Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria). Soil Biol Biochem 30, p 1225–1228.
- Brakel J. et Hilger F. (1965) Rhizosphère ; Dommergues M. Y. et Mangenot M. F. Ecologie du sol, masson, paris 1.
- Das S.; Lyla P. S. and Khan S. A. (2008) Distribution and generic composition of culturable marine Actinomycetes from the sediments of Indian continental slope of Bay of Bengal, Chin. J. Oceanol. Limnol. 26(N° 2), p 166-177.
- Egamberdieva D. (2009) Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat. Acta. Physiol. Plant, 31, p 861–864.
- Egamberdieva D. ; Li L. ; Lindström K. and Räsänen L. A. (2016) A synergistic interaction between salt-tolerant *Pseudomonas* and *Mesorhizobium* strains improves growth and symbiotic performance of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fish.) under salt stress. Appl. Microbiol. Biotechnol, 100, p 2829–2841..
- Glick B. R. (1995) Enhancement of plant growth by free living bacteria. Can J Microbiol, 41, p 109-117.
- Gilck B.R.; Patten C. L.; Holguin G. and Penrose D. M. (1999) Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. Imperial college press, London, p 187-189.
- Glick B. R. (2012) Plant growth-promoting Bacteria: mechanisms and applications. Sci. Tech. Rep, 15.
- Gray W.M. (2004) Hormonal Regulation of Plant Growth and Development. PLoS Biol. 2(N° 9), p 311.
- Hartmann A.; Rothballer M. and Schmid M. (2008) Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. Plant and Soil, 312, p 7-14.

Hopkins W. G.; Norman P. A. H. (1999) Introduction to Plant Physiology, fourth ed. John Wiley & Sons. Inc. New York, NY, p 61-76.

Khan M. M. A. ; Khatun A. and Islam M. T. (2016) Promotion of plant growth by phytohormone producing bacteria. *Microbes in Action*; Nova Science Publishers: New York, NY, USA, p 1-43.

Kim S. W. ; Jung J. H. ; Lamsal K. ; Kim Y. S. ; Min J. S. and Lee Y. S. (2012) Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobiology*, 40 (N° 1), p 53-58.

Kloepper J. W. ; Litshitz R. and Zablotowicz R.M. (1989) Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7, p 39-43.

Kloepper J.W.; Zablotowicz R.M.; Tipping E.M. and Lifshitz R. (1991) Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers.: The rhizosphere and plant growth; Keister D.L. et Cregan B. P. Springer, Netherlands. p 315-326.

Lechevalier M.P. and Lechevalier H.A. (1989) Genus *Sporichthya*. In: Williams, S.T., Sharpe, M.E., Holt, J.G. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 4, p 2507-2508.

Li Q. (2016) Morphological Identification of Actinobacteria. *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*. Dharumadurai Dhanasekaran and Yi Jiang, IntechOpen. Cité dans l'ouvrage : *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*, dans le chapitre : Actinobactéria par Shabiha N.H. et Dibajit T. p 443-476.

Mano Y. et Nemoto K. (2012) The pathway of auxin biosynthesis in plants. *Journal of Experimental Botany*, 63(N° 8), p 2853–2872.

Mayak S.; Tirosh T.; Glick B. R. (1999) Effect of wild-type and mutant plant growth promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. *J Plant Growth Regul*, 18, p 49–53.

Olanrewaju O.S.; Glick B.R. and Babalola O.O. (2017) Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol*, 33 (N° 197), p 1-16.

Patten C. L. and Glick B.R. (1996) Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.* 42, p 207– 220.

Phillips R. W. ; Wiegel J. ; Berry C. J. ; Fliermans C. ; Peacock A. D. ; White D. C. and Shimkets L. J. (2002). *Kineococcus radiotolerans* sp. a radiation-resistant, Gram- positive bacterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(N° 3), p 933-938.

Saffroy S. (2006) Etude du métabolisme carboné chez *Streptomyces pristinaespiralis*. Thèse de Doctorat en Biotechnologies et Alimentaires Institut National Polytechnique de Lorraine, p 14-16.

Sathya A.; Vijayabharathi R. et Gopalakrishnan S. (2017) Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. *3 Biotech*, 7 (N° 2), p 102.

Segaran G. ; Sundar R. D. V. ; Settu S. ; Shankar S. and Sathiavelu M. (2017) A review on endophytic actinomycetes and their applications. *J Chem Pharm Res*, 9(10), 152-158.

Sellstedt A.; Richau K. H. (2013) Aspects of nitrogen-fixing Actinobacteria, in particular free-living and symbiotic *Frankia*. *FEMS Microbiol. Lett.* 342 (N° 2), p 179-186.

Spaepen S. and Vanderleyden J. (2011) Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 3(N° 4), p 1438.

Spaepen S. ; Vanderleyden J. and Remans R. (2007) Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31, p 425–448.

Ventura M. ; Canchaya C. ; Tauch A. ; Chandra G. ; Fitzgerald G.F. ; Chater K. F. and Sinderen D. (2007) Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and molecular biology reviews*, 71(3), 495-548.

. Verma S. C.; Ladha J. K. and Tripathi A. K. (2001) Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *J. Biotechnol*, 91 (N° 2-3), p 127-141.

Verma M.; Mishra J. and Arora N. K. (2019) Plant growth-promoting rhizobacteria: diversity and applications. In: Sobti R. C.; Arora N. K. and Kothari R.; *Environmental biotechnology: for sustainable future*. Springer, Singapore. p 129–173.

Wakelin S. A.; Warren R. A.; Harvey P. R. and Ryder M. H. (2004) Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Biol. Fertil. Soils* 40 (N° 1), p 36-43.

Wardle D. A.; Bardgett R. D.; Klironomos J.N.; Setälä H.; Parton W. H. et Wall D. H. (2004) Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, p 304.





# **Annexe**

---

---

## La composition des milieux de culture

### Milieu ISP2

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
D-glucose	4 g
Agar	4 g
Eau distillée	Qsp1000ml

pH=7.3

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min

### Milieu ISP5

Glycérol	10 g
L-Asparagine	1 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
Solution saline	1 ml
Agar	20 g
Eau distillée	Qsp 1000ml

pH=7.2 à 7.4

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min

### Milieu ISP5 modifié

Glycérol	10 g
Glucose	10 g
L-Asparagine	1 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
Solution saline	1 ml
Agar	20 g
Eau distillée	Qsp 1000ml

PH=7à7.4

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min

**Milieu ISP7**

Glycérol	15 g
L-Asparagine	1 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
Fe SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.01 g
Na Cl	0.5 g
Agar	20 g
Eau distillée	Qsp 1000ml

PH=7.2 à 7.4

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min

**Milieu Glu-Asp**

Glucose	10 g
L-Asparagine	0.5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
Agar	15 g
Eau distillée	Qsp 1000ml

PH=6.8

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min

**Milieu CZPK**

Saccharose	3 g
NaNO <sub>3</sub>	3 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.5 g
KCl	0.5 g
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.01 g
Agar	15 g
Eau distillée	Qsp 1000ml

pH=7.3 à 7.5

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min

**Milieu GELM**

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

PH=7.2

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min

**Solution saline**

Fe SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.1 g
Mn Cl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.1 g
Zn SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.1 g
Eau distillée	Qsp100ml

**Milieu de base**

GBA	1000 ml
Glycérol	20 g
Amidon	20 g
Extrait de viande	5 g
Ca CO <sub>3</sub>	3 g

**Milieu DSMZ65**

Glucose	4 g
Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Ca CO <sub>3</sub>	2 g
Agar	12 g
Eau distillée	Qsp 1000ml

PH=7.2

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min

---

**GBA**

Glycérol	20 g
Amido soluble	20 g
Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
CaCO <sub>3</sub>	3 g
Agar	15 g

pH=7

**Réactif de salkowski**

FeCL <sub>3</sub>	1ml (0.5M)
Acide perchlorique	50ml (35%)

**L'eau physiologique**

Na Cl	0.9 g
Eau distillée	Qsp1000 ml

**Année universitaire : 2021-2022**

**Présenté par : ROUBA Nehla**  
**TABET Wissam**

**Essai de production de l'AIA par une souche actinobactérienne  
rhizosphérique appartenant à l'espèce *Nocardopsis dassonvillei***

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie microbienne**

**Résumé**

Les actinobactéries font partie des microorganismes les plus importants par leurs diversités par rapport aux métabolites qu'elles sécrètent, soit primaires ou secondaires. Ces bactéries se trouvent dans plusieurs écosystèmes parmi lesquels la rhizosphère, où elles jouent un rôle biotique dans la fertilisation du sol, et donc aident le développement des plantes. En plus, ces bactéries sont capables de synthétiser des hormones végétales comme les auxines, parmi lesquelles l'acide indole 3- acétique (AIA).

Notre étude a pour but de déterminer les caractères morphologique et culturels d'une souche de l'espèce *Nocardopsis dassonvillei* et est isolée préalablement du sol rhizosphérique, et analyser la capacité de synthétiser la phytohormone qui est l'acide indole acétique. Le test de productivité d'AIA est effectué dans des milieux de fermentation contenant différents composants, en faisant varier des paramètres: le substrat, le pH, le tryptophane, l'extrait de levure, le NaNO<sub>3</sub>, le NaCl et peptone.

Après le dosage d'AIA, nous concluons que la farine de datte, NaNO<sub>3</sub>, présence de précurseur tryptophane, extrait de levure et peptone affect positivement la production d'AIA

**Mots-clefs :** Rhizosphère, PGPR, Actinomycètes, *Nocardopsis*, *Nocardopsis dassonvillei*, acide indole acétique (AIA).

**Laboratoires de recherche :** Laboratoire de biopôle (Université Frères Mentouri, Constantine 1)

**Président du jury :** KITOUNI Mahmoud. (prof-UFC Constantine 1).

**Rapporteur :** OULMI Lamia (MCB, UFC Constantine 1).

**Examineurs :** ALLATOU Radia. (prof-UFC Constantine 1).