

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 : الميكرو بيولوجيا

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 :

**Optimisation d'un milieu de production d'AIA par une souche actinobactérienne
Du genre *Nocardiosis***

Présenté par : *TABET Lydia*
TOUAT Maroua

Le 21/06/2023

Jury d'évaluation :

Encadreur : OULMI Lamia (Dr- Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Président : KITOUNI Mahmoud (Pr- Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur : ALATOU Radia (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2022 - 2023**

REMERCIEMENTS

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

Tout d'abord, On souhaite exprimer notre gratitude envers monsieur KITOUNI Mahmoud. (Professeur – UFM Constantine 1) qui nous a ouvert les portes de son laboratoire de génie microbiologique et applications au bio Pol, complexe Chaab Erssas, Université Frères Mentouri Constantine.

Ensuite, on remercie notre encadrante Mme OULMI Lamia (M.C.BUFORM Constantine 1), qui n'a pas lésinée sur ses connaissances, et pour son précieux soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire. Son expertise et ses conseils éclairés ont été d'une valeur inestimable. Son dévouement et sa disponibilité constante ont été des facteurs essentiels qui nous ont poussées à donner le meilleur de nous-mêmes pour finir avec une réalisation dont nous sommes fiers.

On est également reconnaissantes envers les membres de jury qui ont accepté d'examiner notre travail. Monsieur KITOUNI Mahmoud. (Professeur – UFM Constantine 1) et madame ALATOU Radia (Professeur – UFM Constantine 1).

Merci à la doctorante Sara Ghozlene pour tout ce que tu as fait pour nous et pour ton soutien moral et tes encouragements.

DÉDICACE

Je souhaite dédier mon mémoire de fin d'études à :

Ma chère grand-mère qui a fait de moi la personne que je suis aujourd'hui, j'espère que tu es fière de moi là où tu es reby yerahmek.

Mon père, mon idole, je te remercie pour tes conseils, ton expertise et ta confiance en moi m'a donné la force et la détermination nécessaires pour poursuivre mes études avec passion et persévérance.

Ma mère, mon trésor, je ne te remercierais jamais assez pour tes sacrifices, ton soutien et ton amour inconditionnel, et votre croyance en mes capacités ont été les moteurs de ma réussite.

Mes tantes, mes vraies sœurs, j'aimerais que vous sachiez que je suis vraiment chanceuse de vous avoir dans ma vie.

À mes amis, vous vous reconnaissez surement, Votre présence joyeuse et vos encouragements constants ont été une bouffée d'air frais dans les moments les plus intenses. Je vous aime un par un et je vous souhaite le meilleure.

Que cette dédicace soit le reflet de ma reconnaissance éternelle envers vous tous. J'espère que ce mémoire vous rendra fiers.

LYDIA

DÉDICACE

A mon père Brahim et ma mère Nacira pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leur prières tout au long de mes études.

A ma chère sœur : Manar.

A mon chère : Farouk.

Mon petite oncle: sidra.

A tous mes amis chacun en nom.

A tous les collègues de ma promotion, avec qui j'ai passé mes plus beaux jours.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et la fruit de votre soutien infaillible.

Merci d'être toujours là pour moi.

MAROUA

Résumé

Les actinobactéries de la zone rhizosphérique du sol sont des bactéries spécifiques qui vivent en symbiose avec les racines des plantes. Elles solubilisent les nutriments inaccessibles, et synthétisent des hormones de croissance végétale qui favorisent le développement et la résistance des plantes. Nous avons étudié leur capacité de produire un biostimulant comme l'acide indole acétique.

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de génie microbiologique et applications. Il a porté sur quatre souches actinobactérienne : *Streptomyces iakyrus*, *Streptomyces xantholittcus*, *Nocardiopsis aegyptia* et *Nocardiopsis dassonvillei* préalablement isolées et conservé à -18 °C dans le milieu ISP2 additionné du glycérol (v/v).

L'étude morphologique macro et microscopique, par la technique des lamelles, a permis de déterminer la structure microscopique des mycelia (mycélium du substrat et mycelium aérien) et la caractérisation des colonies sur le milieu DSMZ65. Nous avons sélectionné la souche *Nocardiopsis dassonvillei*, pour évaluer l'influence de trois facteurs sur la production de l'AIA : le tryptophane, la farine de datte et le sulfate de magnésium. Chaque facteur a été étudié à cinq concentration différentes. Le dosage de l'AIA produit a été réalisé par la réaction colorimétrique de Salkowski, et les différentes concentrations ont été déterminées selon la méthode décrite par Monita *et al.* publiée en 2014.

Les résultats expérimentaux ont montré que la valeur optimale d'AIA obtenu, égale à 90,09 µg/mL, a été obtenue avec une quantité de tryptophane équivalente à 2,84 mg/L. À notre avis il agit comme un précurseur clé dans la voie de sa biosynthèse.

Mots clés : Actinobactérie, rhizosphère, acide indole acétique, *Nocardiopsis dassonvillei*, tryptophane.

Abstract

Actinobacteria from the rhizosphere zone of the soil are specific bacteria that live in symbiosis with plant roots. They solubilize inaccessible nutrients and synthesize plant growth hormones that promote plant development and resistance. We studied their ability to produce a biostimulant called indole-3-acetic acid (IAA).

Our work was conducted in the Laboratory of Microbial Engineering and Applications. It focused on four actinobacterial strains: *Streptomyces iakyrus*, *Streptomyces xantholittcus*, *Nocardiopsis aegyptia*, and *Nocardiopsis dassonvillei*, which were previously isolated and preserved at -18 °C in ISP2 medium supplemented with glycerol (v/v).

Macroscopic and microscopic morphological studies using the slide technique allowed us to determine the microscopic structure of the mycelia (substrate mycelium and aerial mycelium) and the characterization of colonies on DSMZ65 medium. We selected the *Nocardiopsis dassonvillei* strain to evaluate the influence of three factors on IAA production: tryptophan, date palm flour, and magnesium sulfate. Each factor was studied at five levels. The quantification of produced IAA was carried out using the Salkowski colorimetric reaction, and the different concentrations were determined according to the method described by Monita et al., published in 2014.

The experimental results showed that the optimal value of IAA obtained, equal to 90,09 µg/mL, was achieved with a quantity of tryptophan equivalent to 2,84 mg/L. In our opinion, tryptophan acts as a key precursor in its biosynthesis pathway.

Keywords: Actinobacteria, rhizosphere, indole-3-acetic acid, *Nocardiopsis dassonvillei*, tryptophan.

الملخص

الأكتينوبكتيريا المتواجدة في المنطقة الجذرية للتربة هي بكتيريا تعيش في تكافل مع جذور النباتات. تذوب المواد الغذائية غير المتاحة وتركب هرمونات نمو النبات التي تعزز مقاومته. قمنا بدراسة قدرتها على إنتاج محفز حيوي يسمى حمض الإندول الأسيتيك.

قمنا بهذه التجارب في مختبر الهندسة الميكروبيولوجية والتطبيقات. قمنا بالتركيز على أربع سلالات من الأكتينوبكتيريا:

Nocardiopsis و *Nocardiopsis aegyptia* و *Streptomyces xantholitticus* و *Streptomyces iakyrus dassonvillei* التي تم فصلها والحفاظ عليها في درجة حرارة -18 درجة مئوية في وسط ISP2 المضاف الجليسرول (حجم/حجم) تمكنت الدراسة المورفولوجية والمجهريّة بواسطة تقنية الساترة من تحديد التركيب المجهرى للفطريات وتطور لمستعمرات في الوسط DSMZ65.

اخترنا سلالة *Nocardiopsis dassonvillei* لتقييم تأثير ثلاثة عوامل على إنتاج الاسيد الاندول الاستيك التريبتيوفان ودقيق التمر وكبريتات المغنيسيوم. تمت دراسة كل عامل على خمسة مستويات. تم إجراء تحليل الكمية لحمض الإندول المنتج بواسطة التفاعل اللوني سالكوفسكي ، وتم تحديد التراكيز المختلفة وفقاً للطريقة الموضحة من قبل Monita 2014 أظهرت النتائج التجريبية أن القيمة المثلى لإندول حمض الأسيتيك التي تم الحصول عليها تساوي 90,09 ميكروغرام/مل تم الحصول عليها باستخدام كمية من التريبتيوفان تعادل 2,84 ملغ/لتر و منه توصلنا الى ان التريبتيوفان يؤثر على انتاج الاسيد الاندول اسيتيك.

الكلمات المفتاحية: الأكتينوبكتيريا, الرايزوسفير, حمض الإندول الأسيتيك. التريبتيوفان, *Nocardiopsis dassonvillei*

Liste des Tableaux

Tableau N°1 : Répartition des actinobactéries dans la nature	10
Tableau N° 2 : La composition des différents milieux de culture pour les fermentations.....	16
Tableau N°3 : caractères macroscopique des cultures durant les 21 jours d'incubation à 30 °C.....	18
Tableau N° 4: Caractère microscopique des trois souches après 21 jours d'incubation.....	21
Tableau N°5 : la quantité de la biomasse après 72H.....	26

Liste des figures

Figure N°1 : les racines et la rhizosphère.....	3
Figure N° 2 : la Structure chimique de l'acide indole acétiq.....	8
Figure N°3 : La biosynthèse de l'acide indole-3-acétique.....	8
Figure N°4 : la courbe d'étalonnage de l'AIA.....	17
Figure N°5 : les caractères culturaux de la souche <i>Nocardiopsis dassonvillei</i>	18
Figure N° 6 les caractères culturaux de la souche <i>Nocardiopsis aegyptia</i>	18
Figure N° 7 : les cultures de la souche <i>Streptomyces iakyrus</i>	18
Figure N° 8 : le caractère cultural de la souche <i>Streptomyces xantholittcus</i>	18
Figure N° 9 : Observation microscopique G×100 de la souche <i>Streptomyces xantholittcus</i>	18
Figure N° 10 : Observation microscopique G×100 de la souche <i>Streptomyces iakyrus</i>	18
Figure N° 11 : Observation microscopique G×100 de la souche <i>Nocardiopsis aegyptia</i>	21
Figure N12 : aspects des différents milieux de cultures.....	22
Figure N° 13 : formation de l'anneau rosé	22
Figure N° 14 : représentation en histogramme des valeurs des concentrations d'AIA en µg/ml.....	24
Figure N° 15 : représentation en histogramme la quantité de tryptophane mg/l à différents milieux de culture.....	24
Figure N°16 : représentation en histogramme la quantité de MgSO ₄ g/l à différents milieux de culture.....	24
Figure N° 17 : représentation en histogramme la quantité de poudre de farine de datte g/l en fonction des différents milieux de culture.....	25

Liste des abréviations

AIA	Acide indole acétique.
MA	Mycélium aérien.
MS	Mycélium du substrat.
AIM	L'acide indole-3-acétamide.
AIP	L'acide indole-3- pyruvique.
AIOX	L'acide indole-3- acétaldoximé.
PGPR	Plant Growth- Promoting Rhizobacteria.
DSMZ65	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen Medium.65.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Introduction..... 01

Revue bibliographique

La rhizosphère

1. La définition.....	03
2. L'importance de la rhizosphère	04
3. Le monde microbien présent dans la rhizosphère.....	04
4. Les interactions bénéfiques pour la santé et la croissance de la plante au sein de la rhizosphère	05
4.1 L'interaction plante - champignon mycorhizien.....	05
4.2 Les interactions microorganismes – microorganismes	05
Les phytohormones.....	07
1. Définition	07
2. L'auxine.....	07
3. L'acide indole acétique.....	08
3.1 Définition et structure.....	08
3.2 La biosynthèse de l'acide indole acétique.....	08
Les Actinomycètes.....	10
1. Définition et caractères généraux	10
2. Ecologie et distribution dans la nature	10
3. Taxonomie.....	11
3.1 Critères morphologique	11
3.1.1 Caractéristiques macromorphologiques	11
3.1.2 Caractéristiques micro morphologiques	12

3.2	Critères physiologiques.....	12
3.3	Critères moléculaire.....	12
4.	Production des substances biologiquement actives.....	12
4.1	Production d'antibiotique.....	12
4.2	Production des enzymes.....	13
5	Importance des Actinomycètes.....	13
5.1	Importance agronomique.....	13

Matériel et Méthode

1.	Le matériel biologique.....	15
2.	Etude morphologique.....	15
2.1	Etude macroscopique.....	15
2.2	Etude microscopique.....	15
3.	Production de l'acide indole acétique.....	15
3.1	Préparation de l'inoculum.....	15
3.2	Test de productivité.....	16
4.	Mise en évidence de la présence de l'acide indole acétique.....	16
4.1	Récupération des filtrats.....	16
4.2	Dosage de l'AIA.....	17
4.3	Production de biomasse.....	17

Résultats et discussion

1.	Etude morphologique.....	18
1.1	Etude macroscopique.....	18
1.2	Etude microscopique.....	21
2	Production de l'acide indole acétique.....	22
2.1	Aspect de la croissance de la souche dans les milieux de fermentation.....	22
2.2	Le Dosage de l'AIA.....	23
3	Effet de la composition du milieu de culture sur la production d'AIA.....	24
3.1	Effet du tryptophane sur la production de l'AIA.....	24
3.2	Effet du MgSO ₄ sur la production de l'AIA.....	24

3.3	Effet de la poudre de farine de datte sur la production de l'AIA	25
4	La production de la biomasse.....	26
	Conclusion et Perspectives	27
	Reference Bibliographique	28
	Annexe	33

Introduction

L'Algérie, pays d'Afrique du Nord, est confrontée à plusieurs défis en matière de sécurité alimentaire. Cette dernière, représente une préoccupation majeure pour le gouvernement, compte tenu de la nécessité de répondre aux besoins d'une population croissante, et d'assurer un accès suffisant à une alimentation saine et nutritive

En application des dispositions de l'article 13 de la loi n°15-21 (du 18 Rabie el-aouel 1437 correspondant au 30 décembre 2015) modifiée, portant loi d'orientation sur la recherche scientifique et le développement technologique, le décret n° 21.89 (du 17 Rajab 1442 correspondant au 1er Mars 2021), le gouvernement a établi le plan de développement pluriannuel pour la mise en œuvre des trois programmes nationaux de recherche scientifique et de développement technologique prioritaires qui sont fixés comme suit :

Le programme national de recherche sur la sécurité alimentaire

Le programme national de recherche sur la santé du citoyen

Le programme national de recherche sur la sécurité énergétique

Le premier programme, qui nous intéresse, vise à promouvoir une agriculture durable et à améliorer la productivité agricole en utilisant des méthodes biologiques avancées. Les biologistes jouent un rôle essentiel dans la mise en place de pratiques agricoles respectueuses de l'environnement, favorisant ainsi une utilisation responsable des ressources naturelles et une préservation de la biodiversité (Programme National de recherche sur la sécurité alimentaire).

Notre travail s'inscrit dans cette thématique et nous avons choisi le groupe des actinobactéries reconnus par leurs rôles très importants dans le domaine de l'agronomie moderne.

En effet, de nombreux chercheurs ont rapporté une influence positive sur les plantes traitées par des actinomycètes, grâce à leurs localisations spécifiques dans la zone rhizosphérique. Ces bactéries améliorent la croissance des plantes grâce à des mécanismes tels que la synthèse des cytokines et des phytohormones (Alper *et al.* , 2020 ; Djebaili *et al.* , 2020).

Les actinobactéries ont la capacité de synthétiser une molécule appelée l'acide indole acétique (IAA), qui est l'hormone végétale la plus connue de la famille des auxines, dont les actions sont directement impliquées dans les réponses de croissance des plantes, régulant la différenciation cellulaire, l'élongation cellulaire, l'initiation des racines et la division cellulaire (Shah *et al.* ; 2020).

Au cours de ce présent travail, nous nous sommes intéressés à tester l'effet de trois facteurs (la farine de datte, le tryptophane et le sulfate de magnésium) sur la production d'AIA par des souches actinomycétales.

Notre manuscrit est scindé deux parties :

Une première partie théorique, où nous avons commencé par une description de la rhizosphère et l'importance du monde microbien présent dans cette partie du sol ; ensuite une partie qui parle des phytohormones et tous ce qui concerne la synthèse de l'acide indole acétique et finir par une représentation générale du monde des actinobactéries.

Une seconde partie pratique, où nous avons exposé l'ensemble des méthodes mises en œuvre au cours de ce travail.

Revue bibliographique

La rhizosphère

1. La définition

Le terme rhizosphère, a été introduit en 1904 par Lorenz Hiltner, “*rhizo*” vient du grec “*rhiza*” signifiant racine et “*sphère*” est le champ action ou influence (Lynch *et al.* , 1990).

La rhizosphère est la région du sol qui entoure les racines, cette région s’étend au fur et à mesure que la plante pousse et que les microorganismes interagissent avec les plantes (Michel *et al.* , 2005), Plus précisément, elle englobe la fine couche du sol qui est directement influencée par les sécrétions racinaires (Figure1). En effet elle représente le lieu des échanges entre le sol, les racines et les microorganismes. Ces échanges intenses, se traduisent par des flux bidirectionnels d’eau et de nutriments (Lynch et Whipps, 1990 ; Schwartz *et al.* , 2005). C’est un système complexe, hétérogène, dynamique et interactif, qui dépasse la simple notion d’interface entre le monde végétal et le monde minérale. Il s’agit d’un condensé des processus physiques, chimiques et biologiques qui animent les sols (Hinsinger, 1998 ; Michel *et al.* , 2005).



Figure 1 : les racines et la rhizosphère (Márquez, 2021).

2. L'importance de la rhizosphère

L'importance de la rhizosphère réside dans les interactions qui se produisent entre les plantes et le microbiote du sol. On peut citer :

Absorption des nutriments : Les racines des plantes libèrent des exsudats racinaires, tels que les sucres, les acides organiques et les enzymes, dans la rhizosphère. Ces exsudats stimulent l'activité microbiologique et favorisent la décomposition de la matière organique, ce qui libère des nutriments (azote, phosphore, potassium, etc.) et les rend disponibles pour les plantes. Ainsi, la rhizosphère est un lieu clé pour l'absorption des nutriments par les plantes (Philipport *et al.*, 2013).

La microflore de la rhizosphère protège la racine contre les pathogènes et les maladies des racines, et produit des substances qui stimulent la croissance des plantes.

Structuration du sol : Les racines des plantes ont la capacité de modifier la structure du sol en créant des canaux et des agrégats, ce qui favorise la formation de pores et améliore la circulation de l'air et de l'eau dans le sol. Cette structuration du sol par les racines aide à prévenir l'érosion, favorise l'infiltration de l'eau et permet le développement d'une microflore bénéfique (Philipport *et al.*, 2013).

3. Le monde microbien présent dans la rhizosphère

La rhizosphère est caractérisée par une forte activité microbienne due au renouvellement des composés organiques assimilables issus des exsudats racinaires, des mucilages et des cellules épidermiques mortes disponible pour la croissance et le développement des microorganismes dans la rhizosphère (Venant *et al.*, 2011).

Ces êtres vivants sont requis dans le processus de la décomposition et le recyclage des nutriments dans cette région du sol (Germida *et al.*, 1998). Certaines de ces bactéries du sol sont appelées Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR).

Elles sont capables de coloniser la rhizosphère avec un effet bénéfique sur la plante (Venant *et al.*, 2011). Outre leur capacité remarquable à concentrer les ions dissous dans le sol, les bactéries disposent d'autres mécanismes pour augmenter la disponibilité de certains éléments au bénéfice de la communauté rhizosphérique : c'est le cas en particulier de l'azote, du phosphore et du fer (Gobat *et al.*, 2010).

D'après Kloepper (1993), les PGPR se distinguent par leur capacité à coloniser la surface racinaire, survivre, se multiplier et être compétitif vis-à-vis d'autres microorganismes, tout en stimulant la croissance des plantes. Dans la rhizosphère, ces bactéries.

Peuvent se retrouver aux niveaux intra ou extracellulaire. Au niveau intracellulaire, les bactéries sont dites endophytiques et colonisent l'apoplaste. Ces bactéries font parties de la famille des rhizobiums. Généralement symbiotiques, ce sont notamment les PGPR spécialisées dans les structures nodales des Fabaceae. Au niveau extracellulaire, elles sont localisées en surface ou à proximité des racines, elles sont donc rhizosphériques (Vessey, 2003).

Quatre effets principaux ont été identifiés chez ces PGPR. Elles peuvent augmenter la disponibilité des éléments nutritifs, réguler la production de phytohormones, augmenter la tolérance aux stress abiotiques et inhiber les bios agresseurs par compétition (Glick, 2012).

4. Les interactions bénéfiques pour la santé et la croissance de la plante au sein de la rhizosphère

Il existe différentes interactions dans la rhizosphère (Dijssel, 2003).

4.1 L'interaction plante - champignon mycorhizien

La mycorhize (du grec «mukês» pour champignon et «rhiza» pour racine) est l'association symbiotique d'un champignon avec les racines d'une plante (Simon *et al.* , 2002). Vu l'incapacité et les difficultés que les plantes trouvent pour accéder a' certains minéraux.Elles ont réussi a créé des relations fines avec ces champignons dits mycorhizogènes, qui sont capables de former des structures particulières autour (ectomycorhizes) ou à l'intérieur (endomycorhizes) des tissus racinaires. Il s'agit d'une symbiose mutualiste dans laquelle le champignon mycorhizien est complètement dépendant de l'hôte pour les glucides, tandis que la plante hôte reçoit de l'eau et des nutriments absorbés par les hyphes fongiques (christophe, 2006).

4.2 Les interactions microorganismes – microorganismes

Les microorganismes en particuliers les bactéries sont fréquemment impliquées dans une multitude d'interactions non génétiques avec d'autres microorganismes. Les interactions entre les individus au sein des populations ou des communautés microbiennes sont souvent nutritionnelles, (Kaioua *et al.* , 2015) elles peuvent être d'ordre mutualiste, commensale, amensale ou antagoniste.

Ainsi, certaines populations microbiennes sont favorables à la santé des plantes soit en exerçant une action antagoniste à l'encontre de champignons phytopathogènes conduisant à une réduction de la fréquence des infections racinaires, soit en stimulant les réactions de défense des plantes (Christophe, 2006).

Il existe aussi des interactions entre les microorganismes symbiotiques et non symbiotiques. En effet, dans certains cas les microorganismes non symbiotiques vont faciliter l'implantation des microorganismes symbiotiques au niveau de la plante hôte. L'étude de Pivato *et al* (2009) met en évidence une meilleure colonisation mycorhizienne à l'intérieur des racines de la légumineuse *Medicago truncatula* en présence de la bactérie non symbiotique *Pseudomonas fluorescens*. Dans d'autres cas, un microorganisme peut exercer un effet nuisible sur les autres microorganismes, par exemple par la production d'antibiotiques ou de composés toxiques, elles peuvent être reconnues comme des interactions négatives (compétition, amensalisme).

Les phytohormones

1. Définition

Les hormones végétales ou phytohormones sont des molécules de signalisation produites à l'intérieur des plantes, qui se présentent en concentration extrêmement faibles et sur de longues distances (American society of plant biologistes, 2010). Ces substances agissent comme des messagers chimiques pour influencer la croissance ou les processus de développement des plantes. Les phytohormones sont de petites molécules qui facilitent la communication cellulaire, et sont véhiculées par transport actif ou passif (Liu wang *et al.* , 2020).

Les différentes hormones peuvent être classées en différentes classes, en fonction de leur structure chimique. Au sein de chaque classe d'hormones, les structures chimiques peuvent varier, Ces hormones végétales sont les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène et les abscisines (Michael *et al.* , 2013).

2. L'auxine

Le mot « auxine » est dérivé du mot grec « auxein », qui signifie « augmenter » ou « grandir ». C'est la première hormone végétale découverte en 1880 (Shih-Feng *et al.* , 2015). Elle provient du métabolisme du L-tryptophane dans de nombreux microorganismes et bactéries (Muller *et al.* , 1989).

Les auxines sont connues pour inhiber la croissance du bourgeon terminal, mais sont également impliquées dans la croissance et la différenciation cellulaire. Elles participent à l'élongation et à la prolifération cellulaire, à la rhizogenèse et autres organogenèses (Bohn-Courseau. , 2010).

L'acide indole acétique bactérienne stimule l'augmentation de la surface et de la longueur racinaire, donnant accès à la plante d'explorer un important volume de sol pour une meilleure acquisition des éléments nutritifs (Glick, 2012). Cependant, une production excessive d'AIA peut inhiber la croissance racinaire et entraver le développement normal de la plante (Xie *et al.* , 1996). Deuxièmement, elle permet un relâchement des parois cellulaires au niveau des racelles afin de faciliter les exsudations, sources d'énergie pour le développement bactérien (Glick, 2012). Elle intervient également dans la germination.

Par conséquent, l'AIA joue un rôle clé dans la régulation de divers processus physiologiques tels que la division et l'élongation cellulaire, la différenciation vasculaire, le gravitropisme et le phototropisme (Bi-Xian Zhanga *et al.* , 2021).

3. L'acide indole acétique

3.1 Définition et structure

L'acide indole acétique est l'hormone végétale la plus courante de la classe des auxines. Elle est essentielle à la croissance et au développement des plantes.

Les niveaux d'AIA sont régulés dans les plantes par de multiples moyens, y compris sa biosynthèse par des voies à la fois dépendantes et indépendantes du Tryptophane (Xing *et al.*, 2012).

Cette acide se présente souvent sous forme conjuguée, synthétisé à partir d'un noyau indole en association avec des sucres (figure 02), des acides aminés ou des protéines, grâce à des liaisons de type ester ou amide (Ljung *et al.*, 2005).

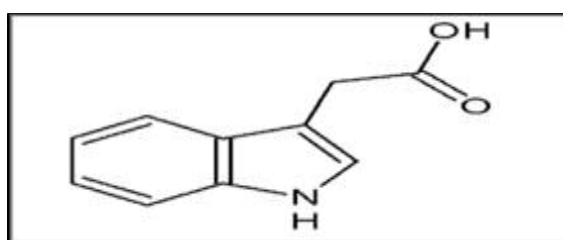


Figure 2 : la Structure chimique de l'acide indole acétique (Herrbach, 2013).

3.2 La biosynthèse de l'acide indole acétique

La production d'AIA a été observée dans de nombreuses bactéries. On assume que Plus de 80% des bactéries isolées de la rhizosphère sont capables de synthétiser l'AIA (Patten et Glick, 1996 ; Khalid *et al.*, 2004).

La biosynthèse de l'AIA nécessite le tryptophane comme précurseur, l'ajout du tryptophane aux milieux de culture entre dans tous les cas de production plus élevée d'AIA. A partir du tryptophane dépendantes ou indépendantes en utilisant généralement l'indole et l'indole-3-glycérol phosphate .Plusieurs sous voies sont connues à côté de la voie tryptophane-dépendante comme la voie de l'indole-3-acétamide (AIM), de l'indole-3-pyruvic acide (AIP), de la tryptamine et de l'indole-3-acetaldoxine (AIOX).et la plupart des voie sont similaires à celles décrites dans les plantes, mais certains intermédiaires peuvent différer (Patten et Glick, 1996) (Figure 3).

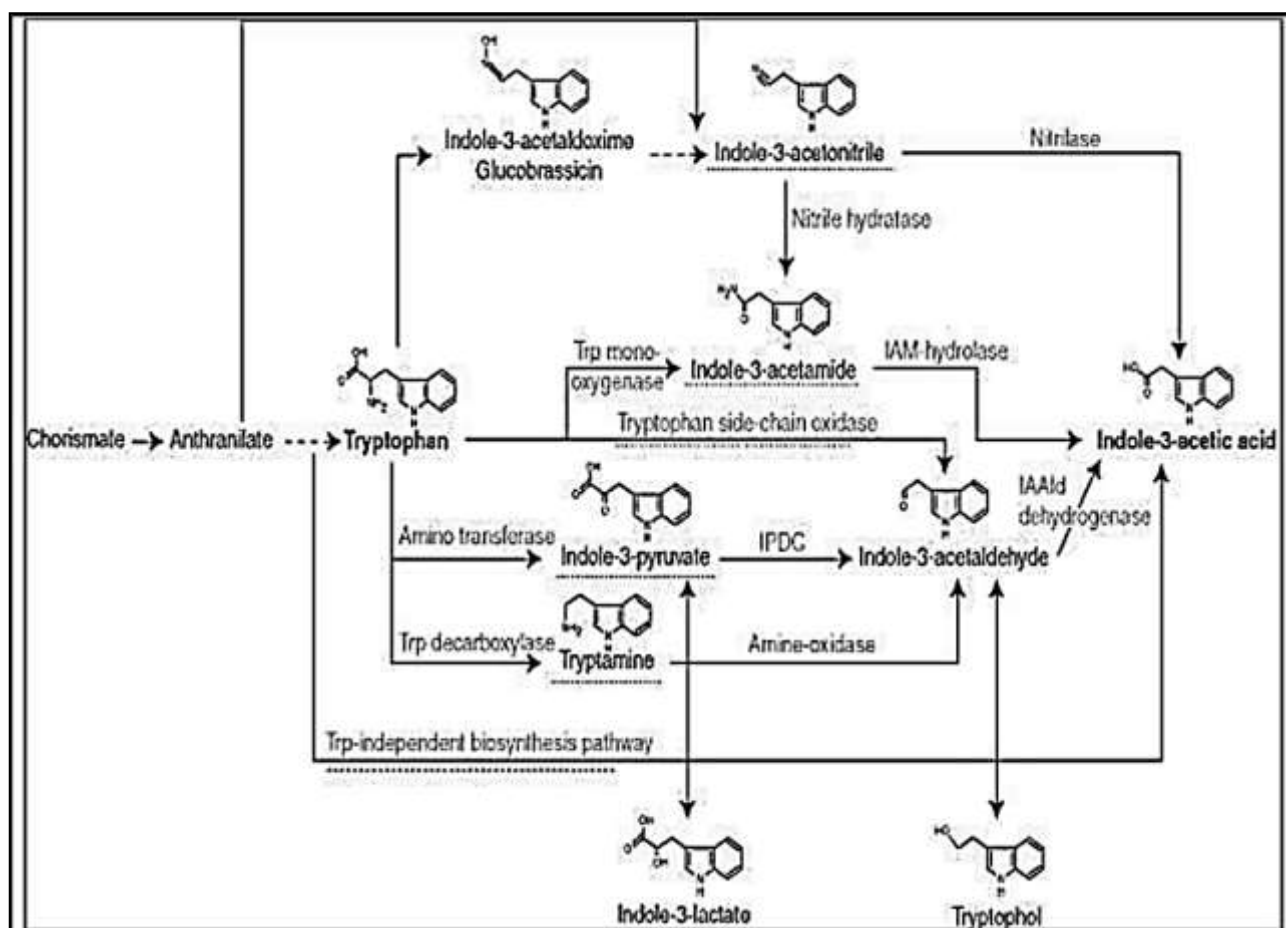


Figure 3 : La biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (Spaepen et al. , 2007).

Chez les microorganismes plusieurs voies de biosynthèse de l'AIA existent, la voie indole-acétamide (IAM) a été identifiée comme étant de nature constitutive, tandis que l'indole-3-pyruvate (AIPY) et l'indole acétonitrile sont des voies inductibles qui peuvent déterminer l'identité des bactéries. Les voies de biosynthèse de l'AIA diffèrent selon le microorganisme est pathogène ou non. En effet, la voie IAM est principalement utilisée par les bactéries pathogènes, tandis que la voie AIPY est principalement utilisée par les PGPR pour la biosynthèse de l'AIA (Spaepen *et al.* , 2007). De plus, la voie AMI est déjà en place pour que les agents pathogènes des plantes induisent des tumeurs chez les plantes hôtes, comme *Agrobacterium tumefaciens* (Patten *et al.* , 2012).

Les Actinomycètes

1. Définition et caractère généraux

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

Étymologiquement, le mot Actinomycète a été dérivé du mot grec « Aktis » qui veut dire rayon et « mykes » signifiant champignon. Les Actinomycètes ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactéries et champignons. Maintenant, ils sont reconnus comme des organismes procaryotes. Pourtant, ces microorganismes présentent des similitudes à la fois avec les bactéries et avec les champignons (Krasilnikov, 1958).

Les actinomycètes sont généralement des bactéries filamenteuses qui ont une paroi cellulaire mince, un chromosome structuré dans un nucléoïde procaryote (Barka *et al.*, 2016). Ils sont à coloration de Gram positive, et peuvent produire des hyphes ramifiés et des spores asexuées. La composition chimique de leur paroi, en particulier celle du peptidoglycane, la séquence de l'ARNr 16S et la forte teneur en G+C de leur ADN (70%) sont également caractéristiques de ce groupe bactérien, dont de nombreuses espèces jouent un rôle important au niveau de la minéralisation des sols. Ils sont très connus comme la principale source de la plupart des antibiotiques synthétisés naturellement (Davaïl *et al.*, 2017).

2. Ecologie et distribution dans la nature

Les actinobactéries sont des organismes saprophytes vivant dans le sol. Cependant, le phylum s'est adapté à un large éventail d'environnements écologiques, mais quelques formes sont pathogènes pour l'homme, les plantes ou les animaux. Ils sont capables de se développer sur une large gamme de substrats.

Les actinomycètes sont largement réparties dans divers milieux terrestres et aquatiques (Jong *et al.*, 2020) Ils sont présents dans les sols, l'eau douce et salée et dans l'air. Ils sont plus abondants dans les sols que les autres milieux, en particulier dans les sols alcalins et les sols riches en matière organique. La plupart des espèces sont chimio-organotrophes, strictement aérobies, mésophiles. D'autres espèces ont des besoins nutritionnels comme les vitamines et certains acides aminés, et elles se multiplient souvent sur des substrats insolubles comme le carbone (Bouaziz, 2018). Physiologiquement, les formes aérobies des actinomycètes sont les plus nombreuses, les types anaérobies se trouvent primitivement chez les animaux et l'homme. Comme les autres bactéries du sol, les actinobactéries sont

majoritairement mésophiles, avec une croissance optimale à des températures comprises entre 25 et 30 °C, le pH neutre ou peu alcalin compris entre 7 et 8 (Hagedron, 1976), par une faible humidité. Le tableau ci-dessous présente quelque habitat de certains actinobactéries.

Tableau1 : Répartition des actinobactéries dans la nature (Grigorova et Norris,1990).

Genres	Habitats
<i>Actinoplanes</i>	L'eau douce, la litière végétale, sol
<i>Actinomadure</i>	Sol
<i>Frankia</i>	Les nodules racinaires des non-légumineuses
<i>Micromonospora</i>	Sol, eau, sédiments, les sols humides
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Nacrodia amarae</i>	Sol, eau, boues
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, la litière végétale

3. Taxonomie

Les actinomycètes sont classés dans le domaine des Bactérie et le phylum Actinobacteria selon « le Bergey's manual » 2012 est subdivisé en 06 classes, 23 ordres, 53 familles et 222 genres.

Leur taxonomie est basée sur plusieurs critères : morphologiques, physiologiques et moléculaires (Goodfellow *et al.*, 2012).

3.1 Critères morphologique

Les critères morphologique sont cités en 1994, 2010 et 2012 dans le Bergy's Manual. En premier temps les critères macro et micro morphologique permettaient la différenciation des genres d'actinobactéries entre eux.

3.1.1 Caractéristiques macromorphologiques

L'ensemble des caractères macromorphologiques des actinomycètes sont déterminés sur différents milieux de culture. Ces derniers contribuent parfois à différencier les groupes d'actinomycètes (Saker, 2015). Ils reposent sur une observation à l'œil nu de la production ou non d'un mycélium aérien (MA) et la présence d'un mycélium du substrat (MS) ainsi que la détermination de la couleur du MA et du MS et de pigments diffusibles dans le milieu de culture (Boudjalal, 2012).

3.1.2 Caractéristiques micro morphologiques

La définition des caractéristiques micros morphologiques est réalisée par l'observation directe des cultures cultivées sur milieu gélosés au microscope optique ou électronique. Il est important de signaler la présence de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges ainsi que la longueur des sporangiophores ainsi que la recherche des fragmentations du MS. Il est également important de décrire la formation de spores sur le MA et ou sur le MS, leur forme, leur taille et leur agencement (groupées par deux, par quatre ou en chaînes). La présence de spores mobiles est signalée chez les espèces du genre *Planomonospora*, alors que chez les bactéries du genre *Streptomyces*, les spores sont non mobiles tel que (Boudjella, 2007).

3.2 Critères physiologiques

En plus des caractères morphologiques, la détermination des espèces se base également sur les caractères physiologiques. Il est important d'utiliser des tests physiologiques de type de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques, protéiques, polymères complexes. D'autres tests interviennent parfois dans la définition des espèces, comme les agents physiques (température, pH) et chimiques (chlorure de sodium, antibiotique,...).

3.3 Critères moléculaire

Avec l'avènement de la biologie moléculaire au début des années 1980, les méthodes de classification traditionnelles ont commencé à être remplacées par des techniques moléculaires. Grâce au séquençage rapide du génome, cette technique est un outil important pour la taxonomie des actinomycètes. Les principaux tests utilisés pour la détermination des espèces sont le séquençage de l'ADN ribosomique 16S et l'hybridation ADN-ADN, et même le séquençage du génome qui est devenu une routine ; en fait, le séquençage du génome a résolu le débat de longue date sur la relation entre *Lispora militaris* et *Streptomyces* et a démontré de manière concluante qu'il est en fait un genre distinct (Barka *et al.*, 2020).

4. Production des substances biologiquement actives

4.1 Production d'antibiotique

Les antibiotiques constituent la part la plus importante des applications industrielles des

actinomycètes et principalement des *Streptomyces*, ces molécules d'origine nature

manifestent à faibles concentration des activités biologique de nature principalement antibactérienne, antifongiques, anticancéreuses, antivirales ou antiparasitaire (Bouaziz, 2017). Les antibiotiques produits par les actinomycètes sont parfois utilisés pour le traitement chimique des maladies des plantes d'origine microbienne, comme la blasticidine S est un puissant fongicide de type nucléotidique, connue pour son activité sur *Pyricularia oryzae*, pathogène chez le riz (Demain, Emerging concepts of secondary metabolism in actinomycetes, 1995), D'autres produits du champignon incluent la kasugamycine, une toxine multirésistante (Hery rado, 2017)

4.2 . Production des enzymes

Les actinomycètes produisent un grand nombre d'enzymes ayant des applications industrielles potentielles, telles que les protéases, les chitinases, les amylases, les cellulases, les xylanases et les lipases (Park *et al.* , 2002). Ces enzymes sont les produits les plus importants des actinomycètes après les antibiotiques. Certains sont utilisés à cette fin dans l'industrie alimentaire.

Par exemple, les protéases sont des enzymes importantes sur le plan industriel. Elles sont utilisées dans les applications pharmaceutiques, blanchisserie, alimentaire, et la production des détergents dans le traitement des déchets. Elles sont produites par *Nocardiopsis sp* (Garcia-conesa *et al.* , 1999). Les chitinases utilisées dans la protection contre les champignons phytopathogènes et dans le traitement des déchets des crustacés produites par *Streptomyces thermoviolaceus* (Tsujiho *et al.* , 2003). Les amylases sont utilisées dans l'industrie alimentaire comme conservateur dans la production des gâteaux, les jus des fruits. Elle sont synthétisées par *Streptomyces erumpens* (Mobini-Dehkorde *et al.* , 2012). Les cellulases sont utilisées dans l'industrie des pâtes et du papier et dans la production des vins. Elles sont généralement produites par *Streptomyces ruber* (El-Sersy *et al.* , 2010). Les xylanase sont utilisées dans la biotransformation des textiles et la fabrication des aliments pour animaux exemple des producteurs *Streptomyces sp*. Enfin, les lipases sont couramment utilisées en boulangerie et en biscuiterie...

5 Importance des Actinomycètes

5.1 Importance agronomique

Certains métabolites produits par les actinomycètes sont impliqués dans le processus de recyclage. Elles jouent un rôle très important dans les phénomènes de la biodégradation et

De transformation de la matière organique et les éléments minéraux. Ils sont capables de dégrader les substances organiques non biodégradables par les autres organismes. Il s'agit principalement de polymères complexes, les polysaccharides, la chitine et les lignocellulose des plantes. Cette capacité de décomposition très active donne plus d'importance aux actinomycètes dans la microflore de la rhizosphère. Grâce à leurs propriétés antagonistes, les actinomycètes sont également utilisés dans la lutte biologique des maladies des plantes (Sutthinan, 2009) comme c'est le cas de la kasugamycine. Ces antibiotiques sont utilisés depuis longtemps et à grande échelle dans l'agriculture japonaise, notamment contre certaines maladies du riz (Boudjelal Bencheikh, 2012).

De plus, les actinomycètes du genre *Frankia* joue un rôle dans la fixation d'azote atmosphérique en symbiose dans les nodules racinaires de certains arbres dicotylédones (Boudjelal Bencheikh, 2012). Les souches de ce genre ont une aptitude considérable à produire de nombreuses substances probiotiques qui leur confère un rôle essentiel dans les interactions plantes-sols.

Ainsi, le rôle des actinomycètes en l'agriculture est également de protéger les racines des plantes contre l'invasion fongique (Lamari, 2006). Ils influencent la croissance des plantes et cela à cause de leurs aptitude à produire des phytohormones et d'autres molécules importante aux plantes. Ils augmentent la vitesse de la production et de minéralisation de la matière organique (Ylima, 2008). Les actinomycètes peuvent aussi dégrader la biomasse et décomposer des déchets agricoles ou urbains (Goodfellow *et al.*, 1984).

Les actinomycètes sont capables de recycler et de dégrader quelques toxines produites par des champignons toxigènes et réduire leurs teneurs dans les produits finaux en agroalimentaire (Valois, 1996 ; William, 1983). Grace à leurs propriétés antagonistes, les actinomycètes sont aussi utilisés dans la lutte biologique contre les maladies des plantes (Sutthinan, 2009).

Matériel et Méthode

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

1. Le matériel biologique

Nous avons utilisé dans ce travail les souches actinomycétales *Streptomyces iakyrus*, *Streptomyces xantholittcus*, *Nocardiosis aegyptia* et *Nocardiosis dassonvillei*. De la collection du laboratoire, conservée à -18 °C sur le milieu ISP 5 (V/V). La revivification des souches a été effectuée sur milieu DSMZ 65 (voir annexe).

2. Etude morphologique

2.1 Etude macroscopique

L'identification des caractères culturels est effectuée sur le milieu DSMZ 65, que nous avons préparé et stérilisé à 121 °C pendant 20 min (voir annexe). Le milieu ensemencé par stries serrées, puis incubés à 30 °C. Après 4 jours, 11 jours et 21 jours d'incubation, l'importance de la croissance (le développement du mycélium aérien et de substrat et la masse sporale) est estimée.

2.2 Etude microscopique

L'observation microscopique des mycéliums du substrat, aérien et des spores est réalisée selon la technique des lamelles décrite par Williams et Cross en 1971. Elle consiste en l'insertion oblique de 45 degrés d'une lamelle stérile dans le milieu DSMZ 65. Le milieu est ensemencé à l'intersection lamelle-gélose. Après incubation à 30 °C une lamelle retirée après 21 jours est déposée soigneusement sur une lame stérile.

Après coloration au bleu de méthylène, on observe au microscope optique à immersion (Gx100).

3. Production de l'acide indole acétique

3.1 Préparation de l'inoculum

La souche *Nocardiosis dassonvillei* est ensemencée encore une fois sur le milieu DSMZ 65 avec. Et incubée à 30 °C. À partir des cultures âgées de 21 jours, on racle la surface des colonies afin de récupérer le maximum des spores et des mycéliums, puis nous les avons mis dans 20 ml d'eau physiologique stérile.

3.2 Test de productivité

La capacité de production de l'acide indole acétique par la souche actinomycétale est testée sur 16 milieux de culture liquide différents. Pour cela, 50 ml du milieu de culture GBA (voir annexe) sont introduites dans chaque flacon. À chaque flacon, nous avons ajouté la farine de datte, le tryptophane et le sulfate de magnésium à des concentrations variables comme c'est expliqué dans le tableau suivant. La valeur du pH a été ajustée à 7 pour les seize milieux.

Les milieux sont inoculés avec 2 ml de suspension sporale à 6 Mac Farland. Les flacons sont ensuite incubés à 28 °C pendant 7 jours.

Tableau 2 : La composition des différents milieux de culture pour les fermentations.

Milieu	Farine de datte g/l	Tryptophane mg/l	MgSO ₄ g/l
M1	0,5	1,5	0,15
M2	0,5	1,5	2,5
M3	0,5	2,5	0,15
M4	0,5	2,5	0,25
M5	1,5	1,5	0,15
M6	1,5	1,5	0,25
M7	1,5	2,5	0,15
M8	1,5	2,5	0,25
M9	0,16	2	0,2
M10	1,84	2	0,2
M11	1	1,16	0,2
M12	1	2,84	0,2
M13	1	2	0,116
M14	1	2	2,84
M15	1	2	0,2
M16	1	2	0,2

4 Mise en évidence de la présence de l'acide indole acétique

4.1 Récupération des filtrats

Après incubation, les cultures bactériennes ont été centrifugées à 5000 rpm pendant 35 min. Pour cela, nous avons utilisé la centrifugeuse Hettich Zentrifugen, Universal 320R. La récupération des surnageant et des culots a été sous des conditions d'aseptise.

4.2 Dosage de l'AIA

La concentration de l'AIA est déterminée par la méthode colorimétrique décrite par Brick et al. (1991). Dans des tubes propres, à chaque 2 ml de filtrats nous avons ajouté 4 ml du réactif de Salkowski (voir annexe). Les préparations sont mises à l'obscurité.

Après 30 min La coloration rose rouge indique la présence de l'AIA.

Pour la mesure de la densité optique(DO) de 16 tube au spectrophotomètre (analytik Jena, SPEKOL 1300) à $\lambda=530$ nm les quantités d'AIA produites sont déterminées à l'aide de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage d'AIA (Monita et al. , 2014) (Figure 4).

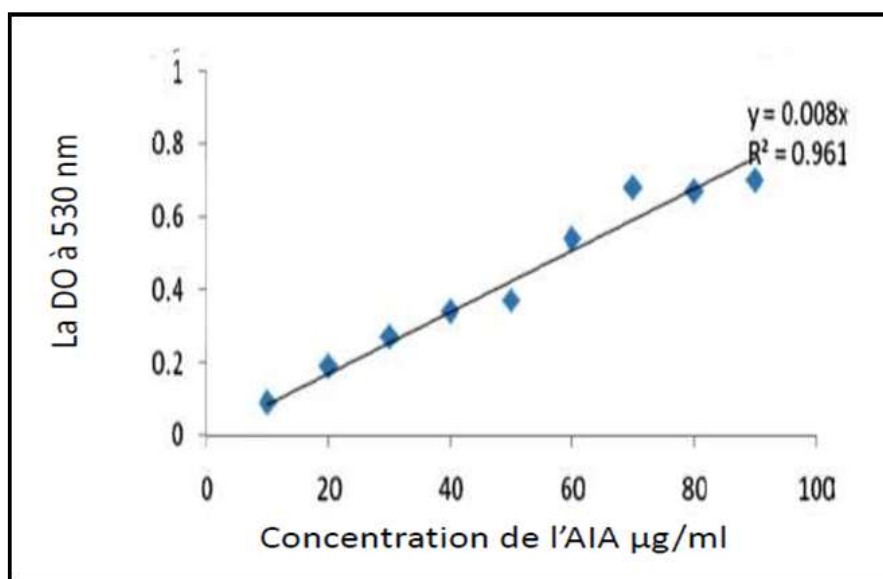


Figure4 : la courbe d'étalonnage de l'AIA (Monita et al. , 2014).

4.3 Production de biomasse

Afin d'apprécier la production de la biomasse cellulaire dans les différents milieux de culture, nous avons incubé les seize culots dans une étuve réglée à 50 °C. À l'aide d'une balance deux pesées ont été réalisées, la première après 24 H d'incubation et la deuxième après 72 H.

Résultat et discussion

1. Etude morphologique

L'étude des caractéristiques morphologique (macroscopiques et microscopiques) est nécessaire pour caractériser les quatre souches *Streptomyces iakyrus*, *Streptomyces xantholittcus*, *Nocardiosis aegyptia* et *Nocardiosis dassonvillei*.

1.1 Etude macroscopique

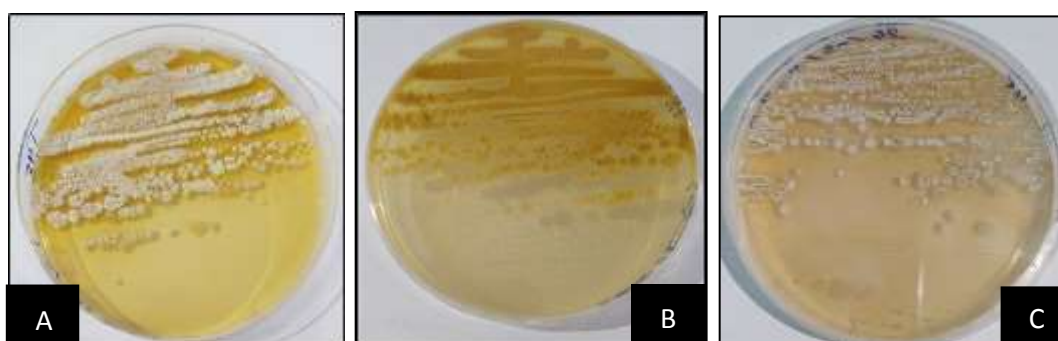
L'étude macroscopique consiste en une analyse à l'œil nu, c'est le premier examen effectué à partir des cultures de revivification sur le milieu de culture DSMZ65.

La croissance à commencer par la formation des mycéliums de substrat. Les souches ont présentées des variations au niveau de la vitesse de croissance, de la couleur des mycélium du substrat et aérien ainsi que la masse sporale.

Après 4 jours d'incubation à 30 °C, les souches *Nocardiosis dassonvillei* et *Nocardiosis aegyptia* ont donnée sur le milieu DSMZ 65 des colonies incrustées dans la gélose, rondes, plates, de la taille 1 à 2 mm et une surface blanchâtre poudreuse avec un aspect sec.

Nous avons remarqué que les mycéliums aériens et les mycéliums de substrat ont été decouleur blanche avec une faible production de masse sporale.

Après 11 jours d'incubation, on a constaté une augmentation dans la masse sporale donnant une couleur blanche à la surface des colonies. Le mycélium aérien reste blanc contrairement au mycélium de substrat qui a apparue d'une couleur jaune (Figure5).



. **Figure 5** : les caractères culturaux de la souche *Nocardiosis dassonvillei* sur le milieu DSMZ65 (A) : mycélium du aérien après 11 d'incubation ; (B) : mycélium substrat après 11 jours d'incubation ; (C) : mycélium aérien après 21 jours d'incubation.

Après 21 jours d'incubation, les colonies gardent les mêmes couleurs des mycéliums avec une un bon développement de la masse sporale.



Figure 6 : les caractères cultureux de la souche *Nocardioopsis aegyptia* sur le milieu DSMZ65A : mycélium du aérien après 11 jours d'incubation ; B : mycelium substrat après 11 jours d'incubation ; (C) : mycélium aérien après 21 jours d'incubation.

En ce qui concerne les souches *Streptomyces iakyrus* et *Streptomyces xantholittcus* nous avons observé une faible croissance après 4 jours d'incubation. Les colonies étaient plates, rondes et de petite taille 1 à 2 mm avec une surface blanchâtre poudreuse et un aspect sec. Le mycélium aérien et de substrat étaient de couleur brune.

Après 11 jours, nous avons constaté un développement dans la quantité de la masse sporale avec un changement de couleur de blanche à grise (Figure7).

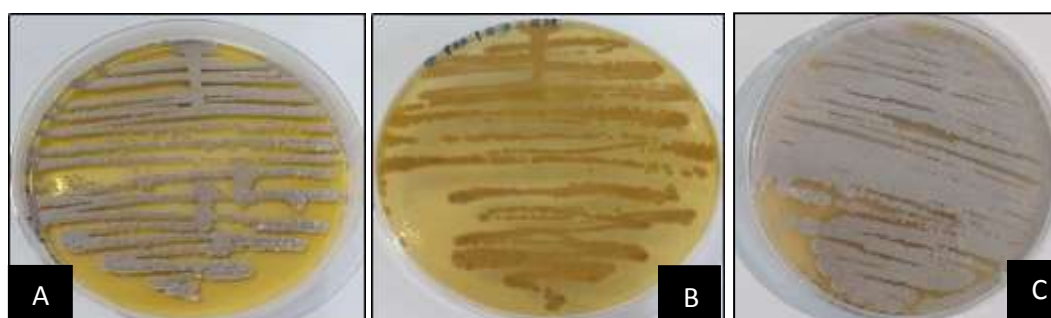


Figure 7 : les caractères cultures de la souche *Streptomyces iakyrus* sur le milieu DSMZ65. A : mycélium du aérien après 11 jours d'incubation ; B : mycélium substrat après 11 jours d'incubation ; C : mycélium aérien après 21 jours d'incubation.

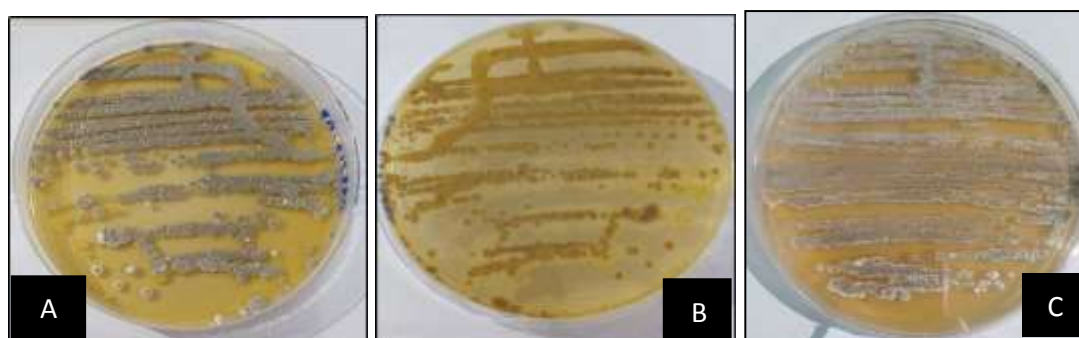


Figure 8 : les caractères culturels de la souche *Streptomyces xantholittcus* sur le milieu DSMZ65. A : mycélium du aérien après 11 jours d'incubation ; B : mycélium substrat après 11 jours d'incubation ; C : mycélium aérien après 21 jours d'incubation.

Après 21 jours d'incubation, les souches ont présenté une progression remarquable dans leurs croissances en gardant la même couleur grise. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 3 : caractères macroscopique des cultures durant les 21 jours d'incubation à 30 °C.

Les souches étudiées	Durée d'incubation	Les caractéristiques			
		croissance	Mycélium de substrat	Mycélium Aérien	Masse sporale
<i>Nocardioopsis dassonvillei</i>	4 jours	-	- Blanche	- Blanche	- Blanche
<i>Nocardioopsis aegyptia</i>		-	- Blanche	- Blanche	- Blanche
<i>Streptomyces iakyrus</i>		-	- Brun claire	- Blanche	- Blanche
<i>Streptomyces xantholittcus</i>		-	- Brun claire	- Blanche	- Blanche
<i>Nocardioopsis dassonvillei</i>	11 jours	+/-	+/- jaune	+/- blanche	+/- blanche
<i>Nocardioopsis aegyptia</i>		+/-	+/- jaune	+/- blanche	+/- blanche
<i>Streptomyces iakyrus</i>		+/+	+/- Brun	+/- blanche	+/+ grise
<i>Streptomyces xantholittcus</i>		+/+	+/- Brun	+/- blanche	+/+ grise
<i>Nocardioopsis dassonvillei</i>	21 jours	+/-	+/- jaune	+/- blanche	+/- blanche
<i>Nocardioopsis aegyptia</i>		+/-	+/- jaune	+/- blanche	+/- blanche
<i>Streptomyces iakyrus</i>		+/+	+/+ Brun	+/- grise	+/+ grise
<i>Streptomyces xantholittcus</i>		+/+	+/+ Brun	+/- grise	+/+ Grise

(-) : croissance faible ; (+/-) : croissance moyenne ; (++) : bonne croissance

1.2 Etude microscopique

D'après les observations microscopiques que nous avons obtenues après 21 jours d'incubation, toutes les cultures sont pures avec une absence totale de contamination. Les résultats de ces examens sont représentés dans le tableau numéro 4.

Tableau 4: Caractère microscopique des trois souches après 21 jours d'incubation.

Les souches	Mycélium du substrat	Mycélium aérien	spores	Pigment diffusible
<i>Streptomyces iakyrus</i>	Ramifié fin long et porte des spores.	Ramifié, fin peu fragmenté et porte des spores	Ovoïdes, organisés en chaîne	Absence de production
<i>Streptomyces xantholittcus</i>	Ramifié, épais, peu fragmenté et porte des spores	Ramifié, fin peu fragmenté et porte des spores	Ovoïdes, organisés en chaîne	Absence de production
<i>Nocardiopsis aegyptia</i>	Peu ramifié Peu fragmentée et porte des spores	Peu ramifié, peu fragmentée et porte des spores	Ovoïdes, organisés en chaîne	Absence de production

Le mycélium du substrat et le mycélium aérien ont des structures similaires sous forme de filaments ramifié et fragmentée. On constate que les spores ont une structure ovoïde de différentes tailles soit isolée ou organisée en chaîne (Figure 9, 10,11).

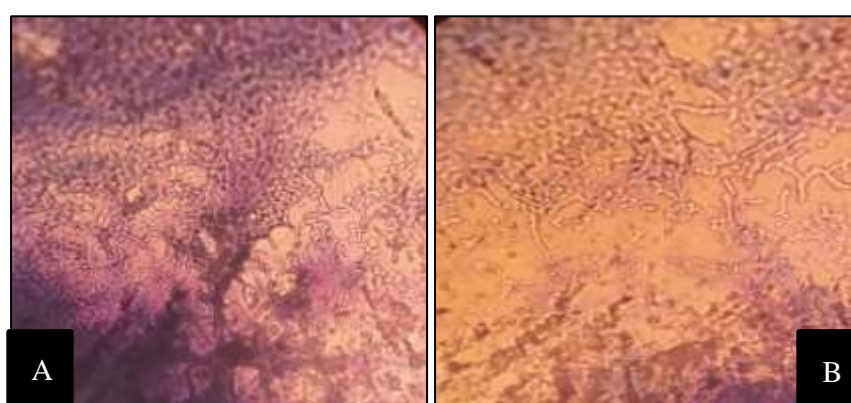


Figure 9 : Observation microscopique G \times 100 de la souche *Streptomyces xantholittcus* après coloration au bleu de méthylène (technique des lamelles sur milieu DSMZ65) après 21 jours d'incubation. (A) : Mycélium du substrat ; (B) : Mycélium aérien.



Figure 10 : Observation microscopique G \times 100 de la souche *Streptomyces iakyrus* après coloration au bleu de méthylène (technique des lamelles sur milieu DSMZ65) après 21 jours d'incubation. (A) : Mycélium aérien ; (B) : Mycélium du substrat.

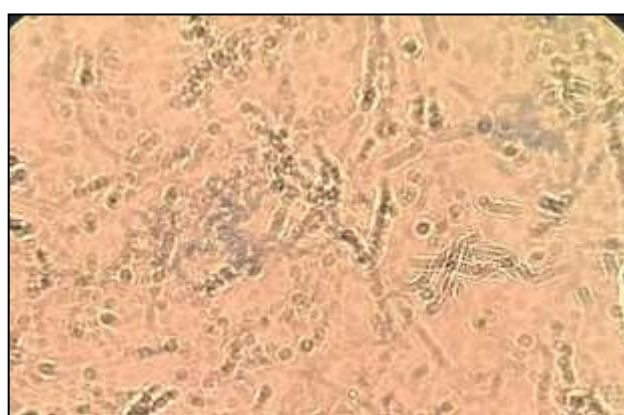


Figure 11 : Observation microscopique G \times 100 de la souche *Nocardioopsis aegyptia* après coloration au bleu de méthylène (technique des lamelles sur milieu DSMZ65) après 21 jours d'incubation.

2 Production de l'acide indole acétique

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

Après 7 jours d'incubation, la souche *Nocardioopsis dassonvillei* a donné une bonne croissance dans les 16 milieux de fermentation en formant des troubles accompagnés par des particules blanchâtre (Figure 12).

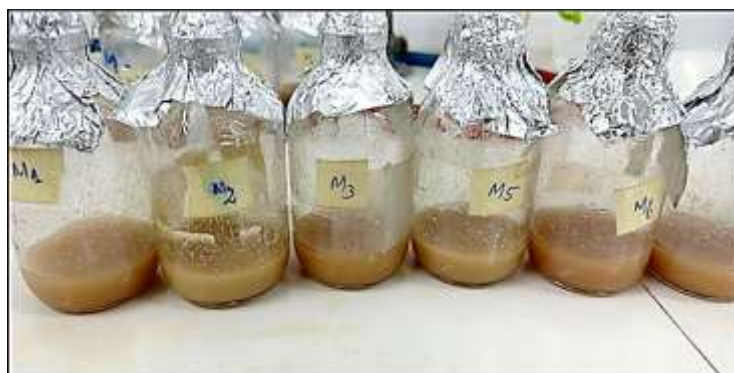


Figure 12: aspects des différents milieux de fermentation après 7 jours d'incubation avec agitation.

2.2 Le Dosage de l'AIA

Après addition du réactif du salkowski aux surnagent, nous avons remarqué l'apparition d'un anneau rosé (Figure13). Les valeurs de la densité optique ont été mesurées à une longueur d'onde 530 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité. Les concentrations de d'AIA produits ont été calculé à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage publiée par Monita *et al.* en 2014.

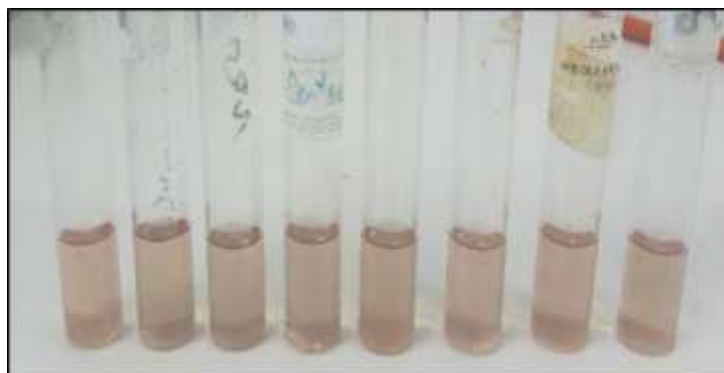


Figure 13 : formation de l'anneau rosé après l'ajout du réactif de salkowski et incubation à température ambiante pendant 30 minutes.

Les valeurs de la concentration d'AIA produite se situent entre 31,18 μ g/ml et 90,09 μ g/ml. La meilleure production d'AIA est observée dans le milieu M12 et la plus faible est obtenue dans le milieu M13.

Les résultats des concentrations sont représentés dans l'histogramme suivant (Figure14).

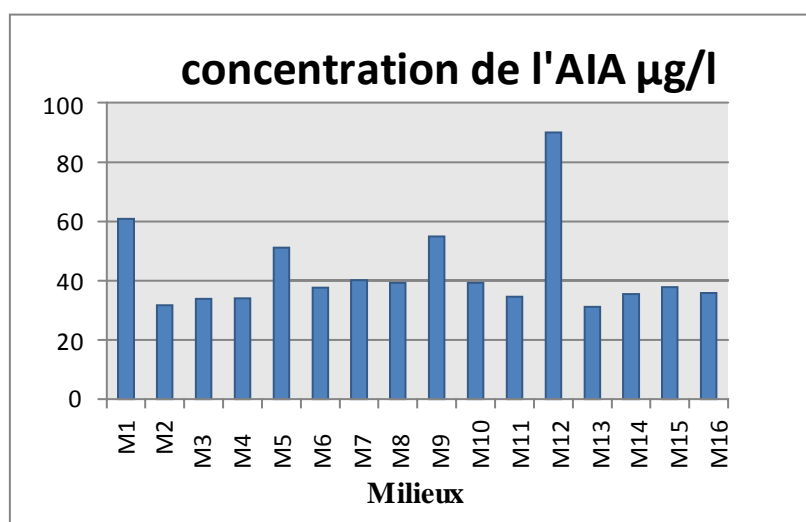


Figure 14 : représentation en histogramme des valeurs des concentrations d'AIA en μ g/ml produit après 7 jours de fermentation.

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

3.1 Effet du tryptophane sur la production de l'AIA

Nous avons testé la capacité de notre bactérie à produire l'AIA en utilisant des concentrations différentes de tryptophane car selon l'étude de Khamna *et al.* (2010), le tryptophane joue un rôle de précurseur qui influence positivement la production d'AIA avec une concentration optimale de 2 mg/l.

Dans le milieu 12, qui a donné la meilleure production (90,09 µg/ml), on constate qu'il contient la concentration la plus élevée en tryptophane (2,84 mg/L) par rapport aux autres milieux.

Par contre, la quantité la plus faible de tryptophane (0,16mg/L) produite par le milieu 11 a donné une faible production qui ne dépasse pas 35 µg/ml (Figure15).

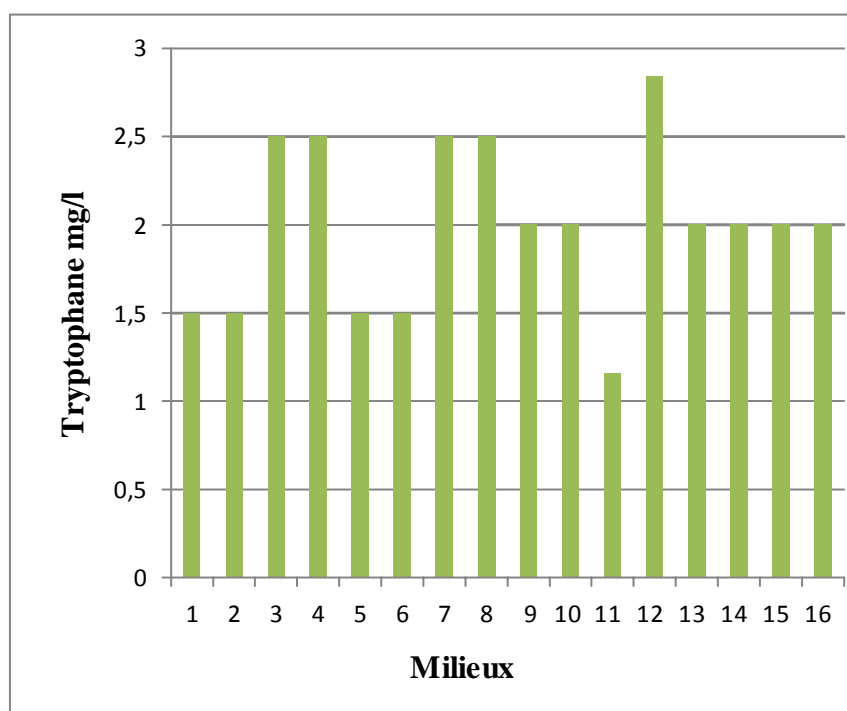


Figure 15 : représentation en histogramme la quantité de tryptophane mg/l à différents milieux de culture.

3.2 Effet du MgSO₄ sur la production de l'AIA

On a ajouté le sulfate de magnésium qui est un composé chimique minéral, dans nos milieux de fermentation à des concentrations différentes qui varient de 0,116g/l à 2,84g/l. Les résultats montrent que lorsque sa concentration se situe entre 0,15 g/L et 0,2 g/L on obtient une bonne production d'AIA, alors que si elle sort de cet intervalle elle donne une

faible production, comme c'est le cas pour le milieu 1 où la concentration en $MgSO_4$ était de 0,15g/L et une production d'AIA égale à 60,9 $\mu\text{g/ml}$. Pour le milieu 2, une concentration de 2,5 g/L en $MgSO_4$ donne une production de 31,63 $\mu\text{g/ml}$ en AIA malgré qu'ils contiennent les mêmes quantités des autres composants (Figure16).

Ainsi, la présence du $MgSO_4$ aide dans la bonne production de l'AIA mais seulement s'il est utilisé avec les concentrations mentionnée au paravent sinon il joue le rôle d'inhibiteur et réduis considérablement la production de l'AIA

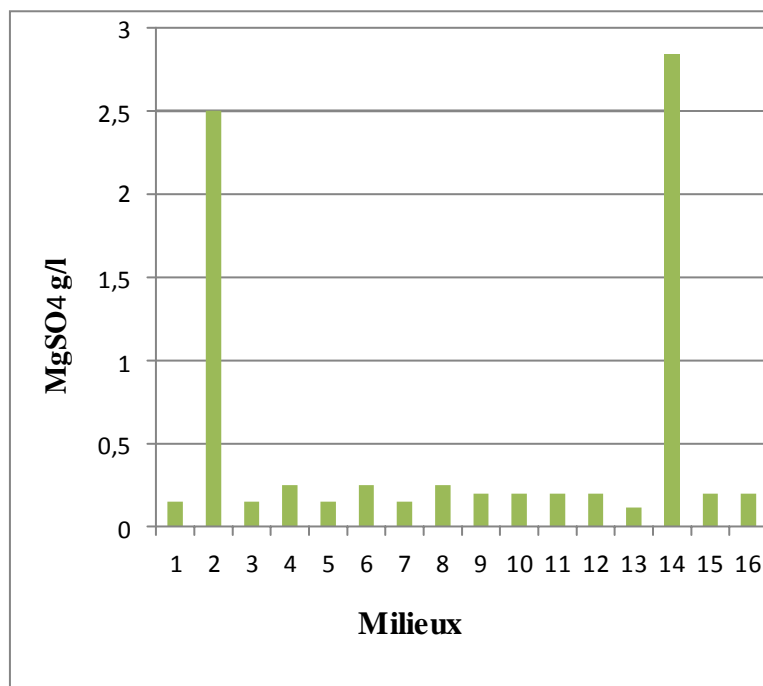


Figure 16 : représentation en histogramme la quantité de $MgSO_4$ g/l à différents milieux de culture.

3.3 Effet de la poudre de farine de dattes sur la production de l'AIA

La poudre de farine de dattes est une matière dégradée par les microorganismes. Elle représente une source de sucre 80,7% et sa composition est riche en vitamines et en minéraux.

On a voulu tester son influence sur la production de l'acide indole acétique en la mettant avec des concentrations différentes pour chaque milieu.

On peut voir dans l'historgramme suivant que les milieux 9 et 10 qui présentent la valeur la plus faible de 0,16g/l et la plus forte de 1,84g/l respectivement (Figure 17). Ils ont donné des résultats de production convergents.

D'après cette expérimentation on pense que l'effet de ce facteur est peu remarquable.

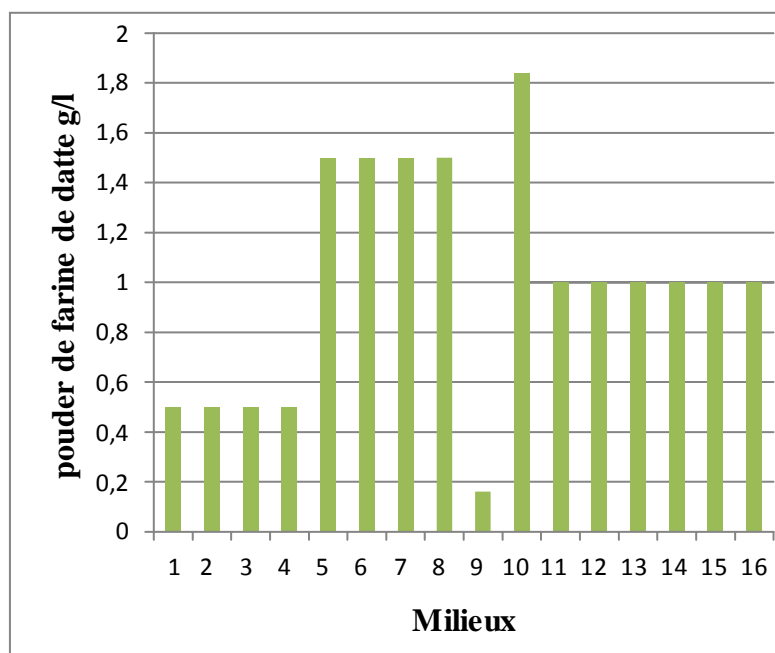


Figure 17 : représentation en histogramme la quantité de poudre de farine de datte g/l en fonction des différents milieux de culture.

4 La production de la biomasse

Après de séchage des culots dans une l'étuve à 50 °C, les valeurs de la biomasse sèche sont représentées dans le (tableau 5).

Nous avons constaté une quantité de biomasse importante de 0,938g dans le milieu M2 alors que le milieu M13 a produit la plus faible quantité 0,077g.

Tableau 5 : la quantité de la biomasse après 72H

Milieux	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
Poids	0,783	0,938	0,749	0,519	0,823	0,735	0,528	0,325

Milieux	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16
Poids	0,669	0,714	0,933	0,349	0,077	0,551	0,721	0,654

Conclusion et perspectives

Tout au long de ce manuscrit, nous avons présenté l'objectif de notre étude qui est l'évaluation de la production d'acide indole acétique par des souches actinomycétales rhizosphériques : *Streptomyces iakyrus*, *Streptomyces xantholiticus*, *Nocardiopsis aegyptia* et *Nocardiopsis dassonvillei*.

Les souches conservées à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans le milieu ISP2 additionné de glycérol (v/v) ont été revivifiées sur le milieu DSMZ65. Les études macro-morphologiques et micro-morphologique (technique des lamelles) nous ont permis de confirmer l'appartenance des souches utilisées aux genres bactériens *Nocardiopsis* et *Streptomyces*.

Les actinomycètes sont connus pour leur capacité de produire une variété de composés bioactifs. On s'est focalisé sur la souche *Nocardiopsis dassonvillei* pour réaliser le test de la productivité de l'AIA. Les milieux de fermentations ont été à base du milieu GBA modifié additionné de trois facteurs : le tryptophane, le MgSO_4 , et la poudre de farine de datte. Chaque facteur a été utilisé à cinq niveaux. Pour la mise en évidence de la production de l'AIA, nous avons utilisé la réaction colorimétrique de Salkowski.

Les résultats expérimentaux ont révélé l'efficacité de la souche *Nocardiopsis dassonvillei* à produire des quantités importantes d'AIA à une concentration de $90,09\text{ }\mu\text{g/ml}$ en présence de $2,84\text{ mg/l}$ tryptophane. À notre avis, la production de cet acide est dose-dépendante par rapport à la concentration de tryptophane, donc il agit comme un précurseur clé dans la voie de sa biosynthèse.

Parallèlement, l'effet de l'ajout du MgSO_4 est considéré positif seulement s'il est utilisé avec des concentrations qui sortent de l'intervalle $0,15\text{ g/l}$ et $0,2\text{ g/l}$; alors que l'influence de la poudre de farine de datte est peu remarquable sur la production de l'AIA.

Les résultats de notre étude viennent donc confirmer les connaissances existantes sur la production d'AIA par les actinobactéries. En corroborant les résultats antérieurs ce qui renforce la validité et la fiabilité de nos observations.

En conclusion, ces tests ouvrent des perspectives prometteuses pour l'utilisation des actinobactéries comme bactéries productrices d'AIA dans l'agriculture durable, en offrant des informations précieuses pour l'optimisation des conditions de culture et l'amélioration des rendements agricoles.

Références bibliographique

Références bibliographique

A

Alper D, Kıymet G, Nevzat Ş. (2020). Isolation, plant growth-promoting traits, antagonistic effects on clinical and plant pathogenic organisms and identification of actinomycetes from olive rhizosphere. *Microbial Pathogenesis*. P: 11.

American Society of Plant Biologists 2010: Introduction to Phytohormones in *The Plant Cell* Volume 22 Issue 3.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104134>,

B

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

Bi-Xian Zhanga, Pei-Shan Lib, Ying-Ying Wangb, Jia-Jun Wangc, Xiu-Lin Liua, Xue-Yang Wangc and Xiao-Mei Huc (2021) Characterization and synthesis of indole-3-acetic acid in plant growth promoting *Enterobacter* sp.

Bouaziz S. (2018) Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouargla.

Boudjelal-Bencheikh F. (2012) Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. P: 5-35.

Boudjella H. (2007) Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens. Thèse de Doctorat. Institut national agronomique El Harrach. P : 16-29.

C

Christophe calvaruso (2006) Quantification de l'effet des racine d'arbres et des microorganismes associés sur l'altération des minéraux de sols forestiers : observation en forêt et expérimentation. L'université Henri Poincaré, Nancy1, P : 18-19-20.

D

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

Djigal, D. (2003). Interactions entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhizienne) et les nématodes bactérivores: effet sur la nutrition minérale et la croissance de différente plante. Diplôme de docteur de 3ème cycle de biologie végétal, P: 166.

E

El-Sersy N., Abd-Elnaby H., Abou-Elela G. M., Ibrahim H. A. H. and El-Toukhy N. M. K. (2010). Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine *Streptomyces ruber*. Afr Journal Biotechnol 9 (38) P: 6355-6364.

J

Jong H, Jae Y, Dong H, Dong-Jin P, Min G, So Y, Yoon J, Jun Y, Minghui W, ChangJin K, Yeon H. (2020). Isolation and characterization of the insect growth regulatory substances from actinomycetes . Comparative Biochemistry and Physiology. Part C journal homepage, P :9.

https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.108651_9

K

Khalid (2004): Relative efficiency of rhizobacteria for auxin biosynthesis in rhizosphere and non-rhizosphere soils in Australian Journal of Soil Research Volume 42 Issue 8 , P : 921-926.

G

Garcia-Conesa M.T., Kroon P.A., Ralph J., Mellon F.A., Colquhoun I.J., Saulnier L., Thibault J.F. & Williamson G. (1999) Esterase from *Aspergillus niger* can break plant cell wall cross links without release of three diferulic acids. eur. j. biochem. P: 266- 644-652.

Germida JJ, Siciliano SD, Freitas R et Seib AM. (1998). Diversity of root-associated bacteria associated with field-grown canola (*Brassica napus* L) and wheat (*Triticumaestivum* L). FEMS Microbiol. Ecol, 26:P: 43-50.

Glick B.R.(2012).Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and applications Hindawi publishing Corporation, Scientifica.

Gobat JM, Aragno M et Matthey W. (2010). Le sol vivant Bases de pédologie Biologie des sols. 3^{ème} Ed , Presses polytechniques et universitaires romandes ,P:705.

Goodfellow M and Cross T. 1984. Classification. In: The Biology of the actinomycetes. Goodfellow M., Williams S.T. and Mordarski M. (Eds.). Academic Press London.P : 7-164.

Goodfellow M., Whitman W.B., Kämpfer P., Busse, H.J. Ludwig, W., Trujillo M.E. and Suzuki K. (2012) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, seconde édition, Vol. 5, part2, Goodfellow et al. (Eds)., Springer New York Dordrecht Heidelberg London, P:2083.

H

Hagedorn C. (1976) Influence of soil acidity on Streptomyces populations inhabiting forest soils. Applied. Environmental Microbiology, P:368-378.

Harir M. (2018) Caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d'actinobactéries isolées des sols semi arides d'Algérie. Thèse de Doctorat. Université d'Oran1, Ahmed Ben Bella. P : 4-12. 4-13.

Hinsinger P. (1998). How do plant roots acquire mineral nutrients?. Chemical processes involved in the rhizosphere. Adv. Agron, 64, P: 225-265.

K

Kaioua, A et Grairi, I.(2015). Solubilisation du phosphate, production de sidérophores et activité antifongique de souches d'actinomycètes et du genre Pseudomonas isolées des sols rhizosphériques. Identification de souches représentatives. Microbiologie Générale et biologie moléculaire des Micro-organismes, UFM Constantine I. P : 52.

Krasilnikov. (1958). Soil Microorganisms and higher plants office of technical services. US. Dept of commerce. Washington.

L

Ljung, K., A. K. Hull, J. Celenza, M. Yamada, M. Estelle, J. Nonmanly, and G. Sandberg. (2005), Sites and regulation of auxin biosynthesis in Arabidopsis roots: Plant Cell, v. 17, P: 1090-1104.

Lynch, J.M., Whipps, J.M. (1990). substrate flow in the rhizosphere. Plant and soil 129:P :1-10.

Lamari L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines Par une nouvelle espèce d'actinomycète, Saccharothrix algeriensis. Thèse de Doctorat. Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. P : 45.

M

Michel CG, Christian W, Jean-Claude R, Jacques B et Jean-Louis M. (2005). Sols et environnement. Ed, Dunod, paris, P : 881.

Mobini-Dehkordi M and Fahime A.J. (2012) Application of alpha-amylase in biotechnology Journal of Biology and today's world P:39,50.

P

Park J.O ; El-Tarabily K.A ; Ghisalberti E.L ; and Sivasithamparam K. (2002) Pathogenesis of *Streptovorticillium albireticuli* on *Caenorhabditis elegans* and its antagonism to soil-borne fungal pathogens. Letters in Applied Microbiology, 35: P :361– 365.

Patten CL., Blakney A.IC and Coulson T.J.D. (2012) Activity, distribution, and function of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in bacteria. Crit. Rev Microbiol. P:1, 21.

Patten et Glick 1996: Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid in Canadian Journal of Microbiology Volume 42, N:3.

Philippot, Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., et Van der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. Nature Reviews Microbiology, doi:10,P:789-799.

S

Saker R. (2015) Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas-Sétif 1. P:7.

Schwartz C, Decroux J et Muller JC. (2005). Guide de la fertilisation raisonnée: grandes cultures et prairie, Ed Boeck Université Paris, P: 414.

Shah R, Chaudhari K, Patel P, Natarajan A, Ramar K. (2020). Isolement, caractérisation et optimisation de l'acide indole acétique- production d'espèces *Providencia* (7MM11) et leurs effets sur la tomate (*Lycopersicon esculentum*) plants. Biotechnology et biocatalyse agricole, P : 15.

<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101732>.

Shih-Feng Fu, Jyuan-Yu Wei, Hung-Wei Chen, Yen-Yu Liu, Hsueh-Yu Lu & Jui Yu Chou (2015) Indole-3-acetic acid: a widespread physiological code in the interactions of fungi with other free organisms.

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

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

Sutthinan K., Akira Y., Aaisamorn I (2009) Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils : diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal Microbiol Biotechnol* 25: P :649–655.

T

Tsujibo H., Okami Y., Tanno H., Inamori Y. (2003) Cloning, sequence and expression of a chitinase gene from a marine bacterium, *Alteromonas* sp. strain O-7. *Journal of Bacteriology* P:175,181

V

Venant N, Marc O, Maité S et Philippe T. (2011). Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Journal of Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 15(2), P :327-337.

Vessey JK. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255 :P : 571-586.

W

Wang L. Hart B. Abbas Khan G. Cruz E. Persson S. and Wallace I. (2020) Associations between phytohormones and cellulose biosynthesis in land plants. *Annals of Botany*, Volume 126, n 5, 9, P: 807–824,

<https://doi.org/10.1093/aob/mcaa121>.

X

Xing L. L. Barkawi , Gary Gardner et Jerry D. Cohen (2012) Transport de l'acide indole-3-butérique et de l'acide indole-3-acétique dans les hypocotyles d'*Arabidopsis* à l'aide d'un marquage isotopique stable. *Physique Végétale*. Vol 158. n 4. P:1988-2000.

www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.111.191288288

Xie et al. 1996: Isolation and Characterization of Mutants of the Plant Growth Promoting Rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 That Overproduce

Indoleacetic Acid in *Curr Microbiol* Volume 32, P : 67-71.

Annexes

Milieu de culture:**Composition du milieu DSMZ65**

Glucose	4g
Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Ca Co	22g
Agar	12g
Eau distiller	Qsp 1000 ml
PH = 7,2	

Température de stérilisation : 121 °C pendant 20 min.

Composition de l'eau physiologique

Na Cl	9g
Eau distiller	1000ml

Composition du milieu GBA

Glycérol	20g/l
Amidon	20g/l
Peptone	10g/l
Extrait de viande	5g/l
CaCo ₃	3g/l
Nacl	10g/l
Eau distiller	Qsp1000ml
PH=7	

Composition du réactif Salkowski

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

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

Filière : Ecologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Titre :
Optimisation d'un milieu de production d'AIA par une souche actinobactérienne du genre *Nocardiopsis*

Résumé :

Les actinobactéries de la zone rhizosphérique du sol sont des bactéries spécifiques qui vivent en symbiose avec les racines des plantes. Elles solubilisent les nutriments inaccessibles, et synthétisent des hormones de croissance végétale qui favorisent le développement et la résistance des plantes. Nous avons étudié leur capacité de produire un biostimulant qui est l'acide indole acétique.

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de génie microbiologique et applications. Il a porté sur quatre souches actinobactériennes : *Streptomyces iakyrus*, *Streptomyces xantholitticus*, *Nocardiopsis aegyptia* et *Nocardiopsis dassonvillei* préalablement isolées et conservées à -18 °C dans le milieu ISP2 additionné du glycérol (v/v).

L'étude morphologique macro et microscopique, par la technique des lamelles, a permis de déterminer la structure microscopique des mycelia (mycélium du Substrat et mycélium aérien) et la caractérisation des colonies sur le milieu DSMZ65. Nous avons sélectionné la souche *Nocardiopsis dassonvillei*, pour évaluer l'influence de trois facteurs sur la production de l'AIA : le tryptophane, la farine de datte et le sulfate de magnésium. Chaque facteur a été étudié à cinq niveaux. Le dosage de l'AIA produit a été réalisé par la réaction colorimétrique de Salkowski, et les différentes concentrations ont été déterminées selon la méthode décrite par Monita *et al.* Publiée en 2014.

Les résultats expérimentaux ont montré que la valeur optimale d'AIA obtenue, égale à 90.09 µg/mL, a été obtenue avec une quantité de tryptophane équivalente à 2.84 mg/L. À notre avis il agit comme un précurseur clé dans la voie de sa biosynthèse.

Mots clés : Actinobactérie, rhizosphère, acide indole acétique, *Nocardiopsis dassonvillei*, tryptophane.

Membre du jury :

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

Président : KITOUNI Mahmoud (Pr- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : ALATOU Radia (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Présentée par : TABET Lydia
TOUAT Maroua

Année universitaire : 2022 -2023