



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Essai de production de l'acide indole acétique par une souche actinobactérienne

Présenté par : AISSA Iskander Abdeldjoud

Le : 11/06/2024

MARIR Farida

BOUHENGUEL Chourouk Nour Elhouda

Jury d'évaluation

Président : KITOUNI Mahmoud (Pr – U1FM Constantine)

Encadrante : OULMI Lamia (MCB – U1FM Constantine).

Examinatrice : LIFA Maroua (MCB – U1FM Constantine).

Année universitaire

2023 - 2024

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier et glorifier en premier lieu, Allah le tout puissant et miséricordieux pour nous avoir donné la patience et la volonté durant notre cursus universitaire.

Nos vifs remerciements vont à notre promoteur Dr. OULMI Lamia, qui nous a encadrés d'une manière exemplaire, pour son aide, sa patience, son appui et ses conseils tout au long du projet. Qu'elle soit assurée de notre reconnaissance et de nos sentiments les plus respectueux.

Nous remercions très vivement, Monsieur le Professeur à l'université Constantine 1 Frères Mentouri KITOUNI Mahmoud qui nous a fait l'honneur de présider notre jury. Nos remerciements s'adressent également à Madame LIFA Maroua maitre de conférence grade B à l'université Constantine 1 Frères Mentouri d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos vifs remerciements vont également à tous les enseignants du département de Microbiologie et tous ceux qui nous ont apporté de l'aide pour la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

A ma chère mère

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon cher père

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse. Grâce à toi j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours.

A l'homme que j'aime et qui m'a soutenu tout au long de ce travail, mon cher mari Aymen.

Mes chères sœurs Assia et Amina,

qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À mes nièces merveilleuses, Maria, Aya, Tasnime et Shahd qui sont mes étoiles dans la nuit et mes rayons de soleil dans la grisaille.

A mes proches amies.

Saoussene , Khadidja , Lamis et leurs familles.

A toute personne que j'aime.

Farida

Dédicaces

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

A ma très chère maman « Nassira »

Elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Quoi que je fasse ou je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles

A la mémoire de mon père « Youcef »

Ce travail est dédié particulièrement à mon père, décédé trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'un fils qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu le tout puissant, lui garde dans son vaste paradis.

A mon frère « Oussama »

A ma sœur « Imen » et ses enfants « Youcef et Aya »

Et spécialement à ma sœur « Bouthaina »

Elle qui n'a jamais cessé de me soutenir et de m'épauler durant ces années d'études pour que je puisse atteindre mes objectifs

Puisse dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

A mes chers amis et collègues

Pour leurs aides et support dans les moments difficiles.

Skander

El hamdoulillah qui nous a permis de réaliser ce travail

Je dédie ce travail à moi-même **CHOUROUK NOUR EL HOUDA** car j'ai cru en moi, pour tout le travail dur pendant 18 ans, pour le manque de sommeil et le repos, pour essayer le max, pour refuser d'abandonner, pour toutes mes sacrifices.

Je dédie mon travail à ma source confort et de paie, mon papa **AZZOUZ**

Je dédie mon travail à ma source de gentillesse la mère et le père au même temps, ma maman **AMEL**

Je dédie mon travail à la personne qui m'encourage, toujours à mes côtés et m'aime le plus ma chère sœur **ROUMEISSA**.

Je dédie mon travail à ma source de force qui me conseille toujours ma chère sœur **NOUHA**.

Je dédie mon travail à la personne qui me gâte le plus ma chère sœur **ESMA**.

A ma chère petite nièce **Dendouna**

Je dédie mon travail à mon oncle **MOUSTAPHA** qui ma soutenue dans mon parcours.

Je dédie mon travail à toute personne qui a cru en moi, merci à vous.

وأخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين

CHOUROUK

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à coloration de Gram positive, saprophytes et ubiquitaires. Elles jouent des rôles importants dans le domaine de l'agriculture, la clinique et la biotechnologie. Certains genres des actinobactéries font partie du groupe des PGPR, capable de produire de l'AIA qui est la principale auxine régulatrice de la croissance des plantes.

Dans ce travail, nous avons réalisé une étude morphologique de quatre souches actinobactériennes, parmi ces dernières nous avons choisis une souche pour tester sa capacité à produire de l'AIA dans un milieu de fermentation spécifique.

L'étude morphologie des quatre souches actinomycétales a été réalisée par la description de l'aspect de croissance des colonies cultivées sur le milieu DSMZ65, suivi par une étude microscopique à fort grossissement après coloration de Gram. Grâce à la technique des lamelles, nous avons pu suivre le développement du mycélium aérien et le mycélium de substrat dans le temps. Par la suite, nous avons choisis la souche S4 pour tester sa capacité à produire de l'AIA dans seize milieux de fermentation différents. Nous avons utilisé comme milieu de base le milieu GBA auquel nous avons fait varier les concentrations de trois facteurs (le tryptophane, le $MgSO_4$ et la farine de datte). Après 8 jours de fermentation, nous avons utilisé une réaction colorimétrique qui utilise le réactif de Salkowski pour la mise en évidence de la production et la quantification de l'AIA produit. La souche à montrer une bonne production de l'AIA sur le milieu M15.

Mots clés

Actinobactérie, PGPR, Acide indole acétique, Auxine, Réactif de Salkowski.

Abstract

Actinomycetes are filamentous bacteria Gram-positive, saprophytic and ubiquitous. They play important roles in agriculture, clinic and biotechnology. Some genera of Actinobacteria are part of the PGPR group, capable of producing AIA, which is the main auxin regulator of plant growth.

In this work, we carried out a morphological study of four actinobacterial strains, among which we chose one strain to test its ability to produce AIA in a specific fermentation medium. The morphology study of the four actinomycetal strains was carried out by describing the growth aspect of the colonies grown on the DSMZ65 medium, followed by a microscopic study at high magnification after Gram stain. Owing to the coverslip technique we were able to follow the development of the aerial mycelium and the substrate mycelium over time. Subsequently, we chose strain S4 to test its ability to produce AIA in sixteen different fermentation media. We used GBA medium as a base medium, varying the concentrations of three factors (tryptophan, MgSO₄ and date flour). After 8 days of fermentation, we used a colorimetric reaction that uses Salkowski's reagent for the identification of production and the quantification of AIA produced. The strain showed good production of AIA on the M15 medium.

Key words

Actinomycete, PGPR, Indole acetic acid, auxin, Salkowski reagent.

ملخص

الاكتينوبكتيريا هي بكتيريا خيطية ذات Gram إيجابي، مترامية وواسعة الانتشار، تلعب أدوارا مهمة في الزراعة، الصحة والبيوتكنولوجيا. بعض أنواع الاكتينوبكتيريا تنتمي الى مجموع PGPR القادرة على إنتاج L'acide indole acétique الذي يعتبر الاوكسين الرئيسي لنمو النباتات.

في هذا العمل، أجريت دراسة مورفولوجية لاربعة سلالات من الاكتينوبكتيريا من خلال وصف جانب نمو المستعمرات المزروعة على وسط DSMZ65، تليها دراسة مجهرية بتكبير عالي بعد تلوين Gram. بفضل تقنية الساترة، تمكنا من متابعة تطور الميسليوم الهوائي والسفلي للبكتيريا مع مرور الوقت. بعد ذلك، اخترنا السلالة S4 لاختبار قدرتها على إنتاج ال AIA في ستة عشر وسط تخمير مختلفة.

باستخدام وسط GBA كوسط أساسي قمنا من التحقق من تراكيز ثلاثة عوامل (التربتوفان، $MgSO_4$ ودقيق التمر). بعد 8 أيام من التخمر، استخدمنا تفاعلا لونيًا يستخدم كاشف Salkowski لإبراز إنتاج ال AIA وقياس كميته. أظهرت السلالة إنتاجا جيدا لل AIA على وسط M15.

الكلمات المفتاحية

الاكتينوبكتيريا، PGPR، حمض الإندول-3-أسيتيك، اوكسين، متفاعل سالكوفسكي.

Liste des abréviations

GC% : Coefficient de Chargaff.

MS : Mycélium du substrat.

MA : Mycélium aérien.

PGPR : Plant Growth-Promoting Rhizobacteria.

AIA : Acide indole acétique.

ISR : induction de la résistance de la plante.

IPA : indole-3-pyruvate acid.

DO : Densité optique.

DSMZ65 : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen Medium 65.

ACC deaminase : acide 1-aminocyclopropane-1-carboxyl.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Importance médicale de certains antibiotiques produits par le genre <i>Streptomyces</i> (Chater , 2006).	6
Tableau 2 : Liste de certains PGPR utilisées dans les grandes cultures (manish <i>et al.</i> , 2020).	12
Tableau 3 : Caractères cultureux de la souche 1, souche 2, souche 3 et la souche 4 sur le milieu DSMZ 65 après 7, 14 et 21 jours.....	19
Tableau 4 : Caractéristiques microscopiques des quatre souches étudiées	21
Tableau 5: Caractères cultureux sur 16 milieux après 8 jours d'incubation.....	25

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries sporulantes (Ait Barka <i>et al.</i> , 2016).	4
Figure 2 : La différence entre iPgpr et ePGPR (Sayyed <i>et al.</i> , 2022).	7
Figure 3 : Modes d'action des PGPR (Garcia Fraile <i>et al.</i> , 2015).	8
Figure 4 : Rôle de l'acide indole acétique dans l'amélioration de la croissance végétale (Khan <i>et al.</i> , 2009).	10
Figure 5 : La structure chimique de l'AIA (Hopkins,2003).	13
Figure 6 : Biosynthèse d'AIA (Quittenden, 2009	15
Figure 7 : Biosynthèse de l'AIA à partir de tryptophane par la souche de <i>Streptomyces</i> et les voies de transformation des dérivés d'indol en AIA (Manulis <i>et al.</i> , 1994).....	15
Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'AIA (Monita <i>et al.</i> ;2014).	18
Figure 9 : Aspect de la culture de la souche actinomycétale S1 sur le milieu DSMZ 65 après sept jour d'incubation à 30 °C (A et B)	20
Figure 10 : Culture de la souche S2 sur le milieu DSMZ65 après 7 jours d'incubation.	20
Figure 11 : Aspect des colonies de la souche actinobactérienne S3 sur le milieu DSMZ65 après 7 jours d'incubation.	20
Figure 12 : L'aspect de la culture de la souche S4 sur le milieu DSMZ 65 après 7 jours d'incubation à 30°C	21
Figure 13 : Observations microscopiques de la souche : S1 après coloration de Gram (culture de 7 (a), 14 (mycélium aérien (b), mycélium de substrat (c) et 21 (mycélium aérien (d) jours , technique des lamelles).	22
Figure 14 : Observations microscopiques de la souche : S2 après coloration de Gram (culture de 7 (a), 14 (c) et 21 (mycélium de substrat (c), (mycélium aérien (d) jours, technique des lamelles).	23
Figure 15 : Observations microscopiques de la souche : S3 après coloration de Gram (culture de 7, jours, technique des lamelles).....	23
Figure 16 : Observations microscopiques de la souche : S4 après coloration de Gram (culture de 7(a) et 21(b) jours, technique des lamelles).	24
Figure 17 : Production de l'AIA dans la première expérience.....	26
Figure 18 : Production de l'AIA dans la deuxième expérience.	26
Figure 19 : Histogramme représentant l'effet du Tryptophane sur la concentration de l'AIA en fonction des milieux.....	27
Figure 20 : Histogramme représentant l'effet du MgSO4 sur la concentration de l'AIA en fonction des milieux.	28
Figure 21 : Histogramme représentant l'effet de la farine de datte sur la concentration de l'AIA en fonction des milieux.....	29
Figure 22 : Aspect des cultures des 16 milieux de fermentation après 8 jours d'incubation. ..	38
Figure 23 : Les seize tubes avant l'ajout du réactif du salkowski.....	38

Table des matières

Remerciements	I
Dédicace	II
Résumé	VIII
Liste des abréviations	IV
Liste des tableaux	V
Liste de figures	VI
Table de matière	VII
Introduction	1
1 Présentation des actinobactéries	2
2 Écologie des actinobactéries	2
2.1 Les actinobactéries dans le sol.....	2
2.2 Les actinobactéries de l'eau.....	3
2.3 Les actinobactéries dans les composts et les végétaux.....	3
3 Classification et taxonomie des actinobactéries	3
4 Cycle de vie des actinobactéries	4
5 Rôle des actinobactéries	5
5.1 Dans le domaine de l'agriculture et l'écologie.....	5
5.2 Dans le domaine de la biotechnologie	5
5.3 Dans le domaine clinique.....	5
6 Définition des PGPR	6
7 Habitat des PGPR	7
8 Mode d'action des PGPR	7
8.1 Mode directe.....	7
8.1.1 La fixation de l'azote	8
8.1.2 Production des hormones de croissance.....	9
8.2 Mode indirecte	10
8.2.1 L'antibiose (la compétition pour l'espace et les nutriments).....	10
8.2.2 Les sidérophores	11
8.2.3 Induction de la résistance de la plante.....	11
9 Intérêt des PGPR	12
10 L'acide indole acétique	13

10.1	Biosynthèse de l'AIA	14
10.2	Biosynthèse d'AIA chez les microorganismes	14
10.3	Biosynthèse d'AIA chez les actinobactéries	14
1	Matériel biologique	16
2	Revivification des souches	16
3	Etude morphologique	16
3.1	Examen macroscopique	16
3.2	Examen microscopique	16
4	Production de l'acide indole acétique (AIA)	17
4.1	Préparation du milieu de fermentation	17
4.2	Préparation de l'inoculum	17
4.3	Dosage de l'AIA	17
4.3.1	La préparation du réactif de Salkowski	17
4.3.2	La mesure de la densité optique par le spectrophotomètre	17
1.	Étude morphologique	19
1.1	Étude macroscopique	19
1.2	Étude microscopique	21
1.2.1	Souche 1	22
1.2.2	Souche 2	22
1.2.3	Souche 3	23
1.2.4	Souche 4	24
2	Production de l'acide indole acétique	24
2.1	Aspect de la croissance bactérienne dans les milieux de fermentation	24
2.2	Détermination des concentrations d'AIA	25
2.2.1	Résultats de l'expérience	25
2.2.2	Effet du tryptophane dans la production de l'AIA	27
2.2.3	Effet du MgSO ₄ dans la production de l'AIA	28
2.2.4	Effet de la farine de dattes dans la production de l'AIA	28
	Conclusion	30
	Annexe	37

L'application inappropriée d'engrais chimiques dans l'agriculture moderne a entraîné de nombreux effets négatifs notamment la pollution environnementale (Chen *et al.*, 2021). C'est un problème mondial qui touche tous les écosystèmes terrestres et atmosphériques de tous les pays. Cependant, les mesures visant à trouver des solutions écologiquement durables sont considérées comme trop coûteuse (Canipari *et al.*, 2020).

L'agriculture biologique serait une alternative très prometteuse pour minimiser l'utilisation d'engrais synthétiques considérée respectueuse pour l'environnement (Maçik *et al.*, 2020). La rhizosphère favorise le développement et l'activité d'une communauté microbienne immense et diversifiée, dont des microorganismes capables de favoriser la croissance des plantes (Baliyan *et al.*, 2021). Les bactéries associées aux racines des plantes et ayant la capacité de promouvoir leurs croissances sont appelées *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) (Rehman *et al.*, 2020). Leur utilisation comme biofertilisants s'est avérée très intéressante dans les pratiques agricoles durables (Goswami *et al.*, 2016).

La promotion de la croissance des plantes est accomplie à la fois par des mécanismes directs et indirects (Mustafa *et al.*, 2019) tels que la solubilisation du phosphate, la synthèse d'hormones de croissance, la fixation biologique de l'azote, la production de 1-aminocyclopropane-1-carboxylate déaminase et de sidérophores (Niehaus *et al.*, 2020).

La production de phytohormones microbiennes est un mécanisme efficace de régulation de la physiologie des plantes (Backer *et al.*, 2018). Le régulateur de croissance le plus important est une auxine, appelée acide indole 3-acétique (AIA). Il est naturellement synthétisé par les plantes. Remarquablement, près de 80 % des bactéries rhizosphériques peuvent le produire et le libérer sous forme de métabolite secondaire (Mustafa *et al.*, 2019).

Dans notre étude, la recherche de la production de cette phytohormone chez les actinobactéries a été effectuée.

Ce travail est reparti en trois parties, une première partie présentée sous forme d'une synthèse bibliographique, contenant principalement des généralités sur les actinobactéries, leur cycle de vie et leur rôle dans la nature suivi d'une introduction sur les bactéries PGPR et la production de l'acide indole acétique.

La deuxième partie décrit le matériel et la méthodologie de travail adoptée dans notre étude afin de répondre à nos objectifs.

La dernière partie est consacrée à la représentation des différents résultats obtenus et aux discussions. Ce travail s'achève par une conclusion générale des principaux résultats obtenus et des perspectives.

Revue bibliographies

1 Présentation des actinobactéries

Les actinobactéries anciennement appelées actinomycètes sont une classe de bactéries filamenteuses, à coloration de Gram positive avec un GC % très élevé, compris entre 60 et 70%. Il s'agit de bactéries saprophytes largement réparties dans divers milieux terrestres et aquatiques (Jong *et al.*, 2020).

Bien que les actinobactéries soient des microorganismes procaryotes, leur macro morphologie ressemble fortement à celle des champignons filamenteux (Osada, 1998). La plupart des actinobactéries sont terrestres et se trouvent essentiellement dans le sol. Elles comptent parmi les principaux acteurs de la vie du sol et du cycle de carbone en contribuant à la décomposition des matières organiques aussi la disponibilité des nutriments, la teneur en humidité relative, la température, le pH et la végétation du sol, et certaines d'autres espèces sont marines (Mincer *et al.*, 2002). Elles sont également mésophiles mais il y'a aussi des espèces thermophiles. Elles croissent de façon optimale dans la gamme de pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité (Williams et Wellington, 1982a ; Goodfellow et Williams, 1983).

Elles sont caractérisées par une croissance sous forme de colonies circulaires, constituées d'hyphes. Le diamètre des hyphes varie habituellement de 0,5 à 1 μm (Perry *et al.*, 2004). Sur un milieu solide ces bactéries forment des colonies souvent pigmentées avec une couleur grise, rouge ou verte (Asma *et al.*, 2017).

2 Écologie des actinobactéries

Les actinobactéries sont des organismes ubiquitaires et constituent une partie importante de la population microbienne. Elles sont adaptées à divers milieux écologiques (Goodfellow et Williams 1983). Ainsi, elles peuvent être dans les sols, dans les eaux douces et dans l'air.

2.1 Les actinobactéries dans le sol

Elles sont particulièrement abondantes dans le sol, spécialement dans les sols alcalins et les sols riches en matières organiques. Elles représentent 13 à 30 % de la totalité de la population microbienne du sol (Loqman, 2009). Elles sont présente en surface, entre 0 et 2 m de profondeur (Omura, 1992 ; Zaitlin *et al.*, 2003 ; Zaitlin et Watson, 2006).

De nombreuses actinobactéries sont saprophytes et participent à la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus. Elles ont la capacité de la dégradation de certaines toxines produites par des champignons toxigènes et donc de réduire leur teneur dans les produits agro-alimentaires finaux (Holzapfel *et al.*, 2002 ; Belyagoubi, 2014).

2.2 Les actinobactéries de l'eau

Les actinobactéries ont été également isolées dans de nombreux environnements aquatiques à partir des eaux de mer et sédiments marins (Jensen *et al.*, 1991 ; Ghanem *et al.*, 2000), d'eau douce (Kitouni *et al.*, 2005) et dans les marécages salés (Al-Zarban *et al.*, 2002; Boughachiche *et al.*, 2005).

2.3 Les actinobactéries dans les composts et les végétaux

Elles se trouvent également sur les débris des végétaux qu'on trouve au bord des rivières et des lacs, les champs de riz (Wang *et al.*, 2006) et les cavernes naturelles (Lee, 2006). Beaucoup sont capables de sporuler, ce qui leur permet de survivre en conditions défavorables tel que la salinité (Zaitlin et Watson, 2006). Cette propriété joue un rôle principal dans leur distribution.

3 Classification et taxonomie des actinobactéries

Les actinobactéries sont rattachés au phylum des Actinobacteria, à la classe des Actinobacteria, à la sous classe des Actinobacteridae et à l'ordre des Actinomycetales créé par Buchanan en 1917 (Don j. brenner *et al.*, 2007).

Le groupe des actinobactéries comprend 6 classes, 22 ordres, 54 familles, 250 genres et 3000 espèces. Cependant, cette liste est inévitablement incomplète car de nombreux nouveaux taxons continuent d'être découverts (Hazarika *et al.*, 2020).

Sur la base des structures de ramification, l'embranchement des actinobactéries se divise en six sous-classes telles que Thermoleophilales, Rubrobacteraces, Nitrospirales, Coriobacteridae, acidimicrobiales et actinobacteria. La classe des actinobactéries est encore classée en : les Bifidobacteriales et les Actinomycetales. L'ordre des actinomycétales est ensuite classé en ordres comme Streptosporangiales, Streptomycinales, Pseudocardinales, Propionibacteriales, Micromonosporiales, Micrococcales, Kineosporiales, Jiangelliales, Glycomycinales, Frankiales, Corynebacteriales, Catenulesporiales, Actinopolysporiales, et Actinomycinales (Karthik, 2022).

4 Cycle de vie des actinobactéries

Les recherches précédentes des actinobactéries filamenteuses ont montré qu'elles ont un cycle de vie très complexe (Danielenko *et al.*, 2005) illustré par la Figure 1 suivante.

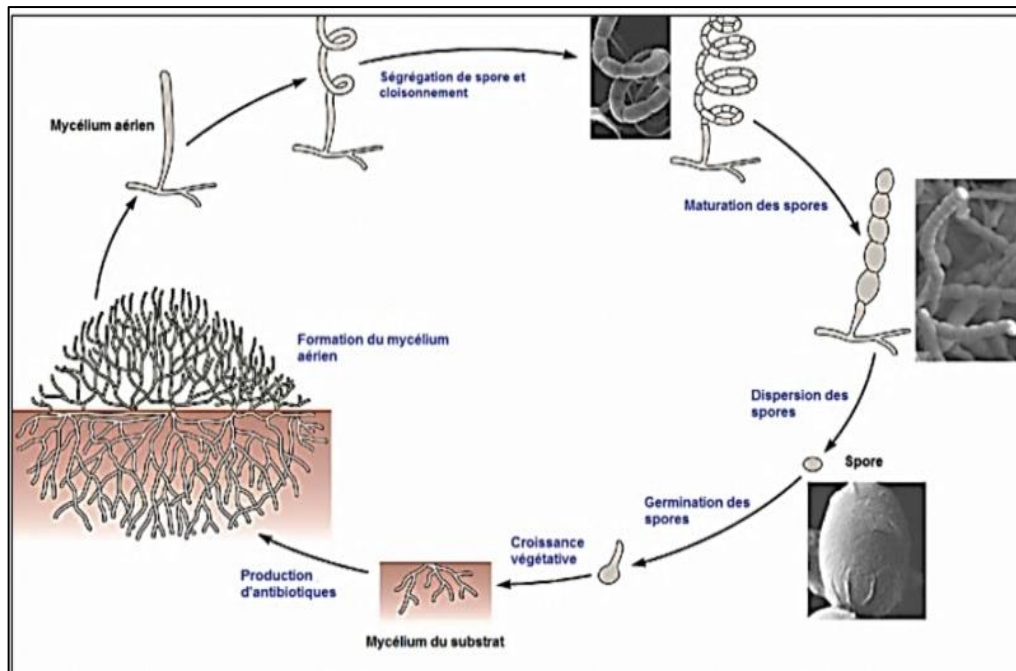


Figure 1 : Représentation schématique du cycle de vie des bactéries filamenteuses sporulantes (Ait Barka *et al.*, 2016).

La première étape du cycle, commence par les spores qui vont germer pour donner des hyphes non cloisonnées, plurinuclées, ramifiée et ancré dans le milieu solide. Ces derniers peuvent utiliser la matière organique insoluble à l'aide des enzymes extracellulaire (Miguelg *et al.*, 2000 ; Boudemagh 2007). Ces hyphes vont se ramifier de façon très complexe et donner naissance à un mycélium végétatif primaire appeler le mycélium du substrat (MS) aérobic facultatif (Medjemadj, 2021). Sur les extrémités de ce MS vont différencier un autre mycélium aérien (MA) aérobic strict plus épais au MS ; compact et poilu en chou-fleur. Les extrémités de ce mycélium vont différencier des spores pour recommencer un nouveau cycle (Drago, 2015).

Dans le milieu liquide, les cellules se développent seulement sous forme de mycélium primaire du substrat (Medigan et Martinko, 2007).

5 Rôle des actinobactéries

5.1 Dans le domaine de l'agriculture et l'écologie

Les actinobactéries sont les organismes les plus abondant dans le sol (Bhatti *et al.*, 2017). Le genre *Streptomyces* peut produire de 70 à 80 % des substances bioactives et jouent un rôle important dans le sol (Conn, 2005).

Les actinobactéries jouent un rôle très important dans le recyclage de la matière organique dans la rhizosphère en décomposant le complexe des polymère des plantes ; des animaux et des champignons (Bhatti *et al.*, 2017). Les actinobactéries produisent des enzymes extracellulaires qui sont utilisées dans la maturation des cultures agricoles (Bhatti *et al.*, 2017).

Dans l'agriculture moderne, l'application des produits agro-chimiques restent une méthode efficace et importante mais il est successible d'utiliser un bio contrôle à la base des actinobactéries comme le bio pesticide (Mayer *et al.*, 2007 ; Williams, 2009).

Les actinobactéries jouent le rôle du bio contrôle du sol par la fixation du nitrogène et la dégradation des molécules hydrocarboné dans les sols polluées. Les actinobactéries améliorent la qualité du sol par la stabilisation des composts et la formation d'un humus stable ainsi, elles sont combinées avec autre micro-organismes dans la dégradation des résidus des plantes comme la cellulose pour le maintien de l'équilibre biotique (Bhatti *et al.*, 2017).

5.2 Dans le domaine de la biotechnologie

Les différentes sociétés de la biotechnologie travaillent sur les nouvelles stratégies pour les applications pharmaceutiques de nouveaux composés secrétés par les micro-organismes qui englobent les actinobactéries. Plusieurs antibiotique sont produits par les actinobactéries marin (Maskey *et al.*, 2003 ; Mahyudin *et al.*, 2012).

5.3 Dans le domaine clinique

Selon la bibliographie, 16500 molécules antibiotiques connus sont produites par les actinobactéries dont 6550 par le genre *Streptomyces* (Choulet, 2006). Le Tableau n°1 résume certain antibiotiques produits par le genre *Streptomyces*. Aussi, elles sont connus par la production d'enzymes, de toxines et des immunosuppresseurs (Dairi, 2005 ; Pizzul, 2006). Elles sont capable de produire une quantité très variable et importante des molécules bioactives (Kitouni *et al.* ;, 2005).

Le développement de la résistance bactérienne aux antibiotiques est le problème le plus fréquent ces dernières années. Des échantillons de l'eau et de sol de Sebka ont été explorés dans le cadre de la recherche des souches des actinobactéries productrices de nouveaux antibiotiques (Boughachiche *et al.*, 2005).

Tableau 1 : Importance médicale de certains antibiotiques produits par le genre *Streptomyces* (Chater , 2006).

Antibiotique	organisme ou cible	Organisme producteur
Chloramphénicol	Typhoïde	<i>Streptomyces venezuelae</i>
Rifampicine	Tuberculose et Lèpre	<i>Streptomyces mediteranei</i>
Vancomycine	<i>Staphylococcus aureus</i> Méthicilline résistant (SARM)	<i>Streptomyces orientalis</i>
Daunomycine	Cancer	<i>Streptomyces coeruleorubidus</i>
Acide clavularique	Pathogènes résistants à la pénicilline	<i>Streptomyces clavuligerus</i>

6 Définition des PGPR

Les PGPR sont un groupe de bactéries capables de coloniser activement le système racinaire des plantes et d'améliorer leur croissance et leur rendement (Wu *et al.*, 2005). Les PGPR représentent environ 2 à 5 % des bactéries rhizosphériques totales (Antoun et Kloepper, 2001). Le terme PGPR a été proposé par Kloepper *et al.*, en 1980 et a été utilisé pendant longtemps, notamment pour les *Pseudomonas* fluorescents impliqués dans le contrôle biologique des agents pathogènes et l'amélioration de la croissance des plantes. Plus tard, Kapulnik *et al.*, (1981) ont étendu ce terme aux rhizobactéries capables de favoriser directement la croissance des plantes.

Aujourd'hui, le terme de PGPR est utilisé pour désigner toutes les bactéries vivant dans la rhizosphère et améliorant la croissance des plantes par un ou plusieurs mécanismes (Haghighi *et al.*, 2011).

7 Habitat des PGPR

Les PGPR colonisent la rhizosphère ou les racines des plantes. Ils peuvent être classés en deux principaux types : les rhizobactéries extracellulaires (ePGPR) et les rhizobactéries intracellulaires (iPGPR). Les ePGPR colonisent la rhizosphère (sur le rhizoplane) ou les espaces entre les cellules du cortex racinaire, tandis que les iPGPR habitent principalement à l'intérieur des structures nodulaires spécialisées des cellules racinaires (Figure 2).

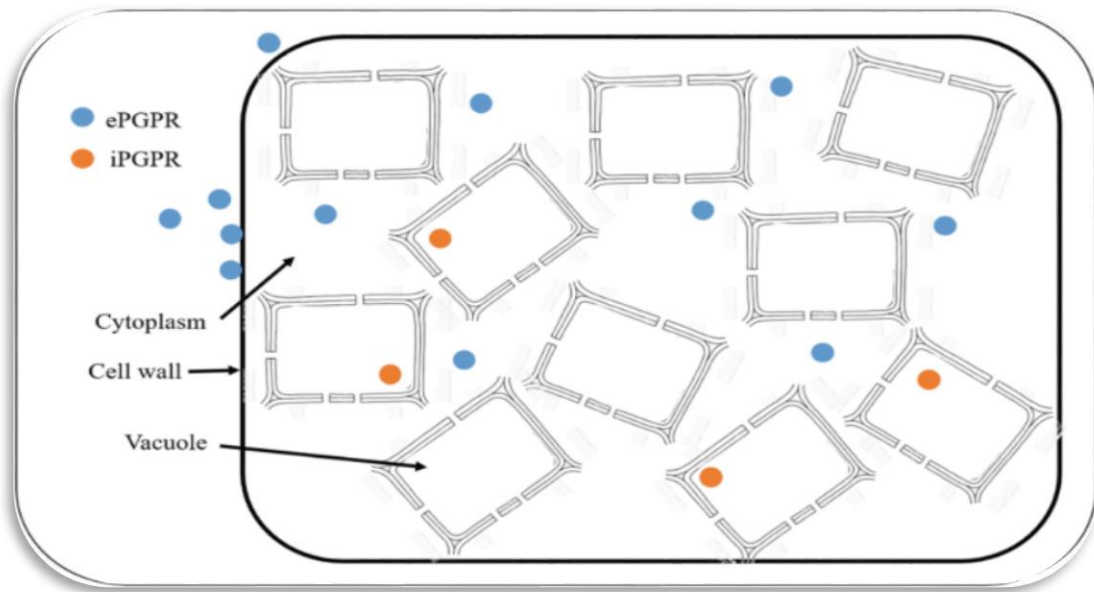


Figure 2: La différence entre iPGPR et ePGPR (Sayyed *et al.*, 2022).

Les genres bactériens inclus en tant que ePGPR sont *Azotobacter*, *Serratia*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* et *Burkholderia*. Les bactéries endophytes appartenant aux iPGPR comprennent *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* et *Rhizobium*, ainsi que des espèces de *Frankia*, capables de fixer l'azote atmosphérique spécifiquement pour les plantes supérieures (Bhattacharyya et Jha, 2012).

8 Mode d'action des PGPR

8.1 Mode directe

Les PGPR participent à l'augmentation de la disponibilité des nutriments et des phytohormones dans la rhizosphère, ce qui stimule directement le développement et la croissance de la plante par de multiples mécanismes cités ci-dessous (Figure 3).

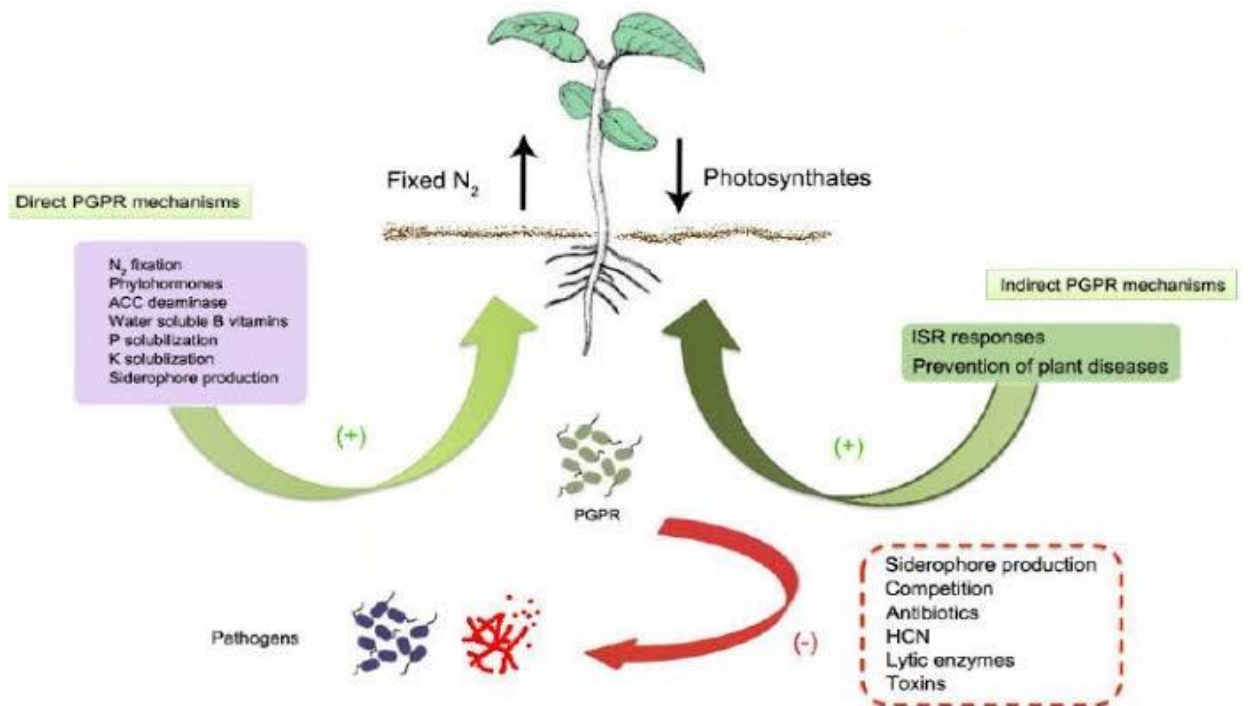


Figure 3: Modes d'action des PGPR (Garcia Fraile *et al.*, 2015).

8.1.1 La fixation de l'azote

L'azote est un nutriment essentiel pour la croissance des plantes car il constitue environ 2 % de la matière sèche totale d'une plante. L'azote moléculaire présent dans l'atmosphère ne peut pas être utilisé directement par les plantes, en raison de l'apport élevé d'énergie nécessaire à sa conversion en une forme disponible pour les plantes (Santi *et al.*, 2013). Le diazote (N_2) qui représente environ 80 % de l'atmosphère n'est pas accessible aux plantes. Les plantes ne peuvent absorber que l'azote disponible dans le sol sous forme d'ammonium et de nitrate qui est assimilé en acides aminés. Il stimule la ramification des racines pour augmenter la surface d'absorption des nutriments ainsi pour avoir des résultats en acide aminé plus élevés.

Le nitrate peut être conservé chez la plante afin d'être utilisé lorsque celle-ci en a besoin, il doit être converti en ammonium avant de pouvoir être utilisé (Beeckman *et al.*, 2018). Le N_2 est converti en nitrates et nitrites par le processus de fixation des microorganismes symbiotiques ou de diazotrophes libres (Jackson *et al.*, 2008).

Les microorganismes à associations symbiotiques produisent 80 % de l'azote et le reste provient des systèmes libres ou associés (Graham, 1988). La fixation de l'azote non symbiotique a une grande importance agronomique (Saxena et Tilak, 1998). Les bactéries fixatrices d'azote associées à la rhizosphère sont de plus en plus utilisées dans les cultures comme la canne à sucre, le riz, le maïs, et le blé (Dobereiner, 1997 ; Hecht-Buchholz, 1998 ; Sahin *et al.*, 2004). Parmi les bactéries fixatrices d'azote non-symbiotiques on peut citer *Azoarcus* sp.,

Gluconacetobacter diazotrophicus, *Herbaspirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Achromobacter*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azomonas*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas* et *Xanthobacter*.

Azospirillum est le représentant des PGPR, ses capacités ont été évaluées dans des expériences à travers le monde (Burdman *et al.*, 2000 ; Dobbelaere *et al.*, 2003 ; Vessey, 2003 ; Lucy *et al.*, 2004 ; Ramirez et Mellado, 2005). De plus, des espèces de *Pseudomonas*, de *Bacillus* (Glick *et al.*, 1994a ; Alam *et al.*, 2001 ; Cakmakci *et al.*, 2001 ; Kokalis-Burelle *et al.*, 2002), et d'autres bactéries endophytiques telles que *Enterobacter*, *Klebsiella* et *Stenotrophomonas*, ont attiré l'attention de nombreux chercheurs ces dernières années en raison de leur association avec des cultures importantes et leur potentiel à améliorer la croissance des plantes (Chélius et Triplett, 2000 ; Verma *et al.*, 2001 ; Dong *et al.*, 2003 ; Ramirez et Mellado, 2005).

L'utilisation de bio-engrais tels que les bactéries fixatrices d'azote peut accroître la productivité et constitue une alternative viable qui contribue à réduire la pollution due aux applications d'engrais chimiques, à préserver l'environnement et à baisser le coût de la production. Ainsi, Figueiredo *et al.*, (2008) ont rapporté que, au cours des deux dernières décennies, l'utilisation de PGPR pour le développement durable de l'environnement et de l'agriculture a considérablement augmenté dans plusieurs régions du monde. Les microorganismes prennent de l'importance dans l'agriculture en favorisant la circulation des éléments nutritifs (Sahin *et al.*, 2004 ; Orhan *et al.*, 2006).

8.1.2 Production des hormones de croissance

Plusieurs étapes de la croissance et du développement des plantes telles que l'élongation et la division cellulaires, la dominance apicale et la différenciation tissulaire, sont régulées par des hormones. De nombreuses phytohormones sont produites par les PGPR. Bien que le rôle de la biosynthèse de ces phytohormones par ces micro-organismes ne soit pas entièrement expliqué, les phytohormones sont des déterminants clés du comportement des plantes et jouent un rôle de premier plan dans divers aspects physiologiques.

Traditionnellement, les hormones végétales ont été divisées en cinq classes différentes : l'auxine, les cytokinines, les gibbérellines, les acides abscissiques et l'éthylène (Olenska *et al.*, 2020).

L'auxine, en particulier la production d'acide indole-3-acétique (AIA) par les microbes, revêt une grande importance et a été signalée il y a longtemps. Il a été déclaré que ~80 % des

microbes isolés de la rhizosphère de nombreuses cultures synthétisent des auxines comme métabolites secondaires. Par conséquent, l'AIA est très importante dans les interactions plantes-rhizobactéries (Spaepen et Vanderleyden, 2011).

En outre, plusieurs phytohormones comme les jasmonates, les brassinostéroïdes et les acides salicyliques jouent également un rôle important dans la croissance et le développement des plantes surtout dans des conditions de stress biotique et abiotique (Wong *et al.*, 2015 ; Kang *et al.*, 2016). Une large gamme de bactéries rhizosphériques peut produire des phytohormones pour faciliter la croissance et le développement des plantes. Ces phytohormones sont impliquées dans l'amélioration de la croissance des plantes (Maheshwari *et al.*, 2015). Les régulateurs de croissance des végétaux sont les substances qui influencent les processus physiologiques de la plante à de très faibles concentrations et modifient ou contrôlent un ou plusieurs événements spécifiques du métabolisme d'une plante. Les hormones végétales sont des signaux chimiques affectant la capacité de la plante à réagir à son environnement. Sans compter qu'elles jouent un rôle important dans la réponse de la plante aux stress biotiques et abiotiques illustrée dans la Figure 4.

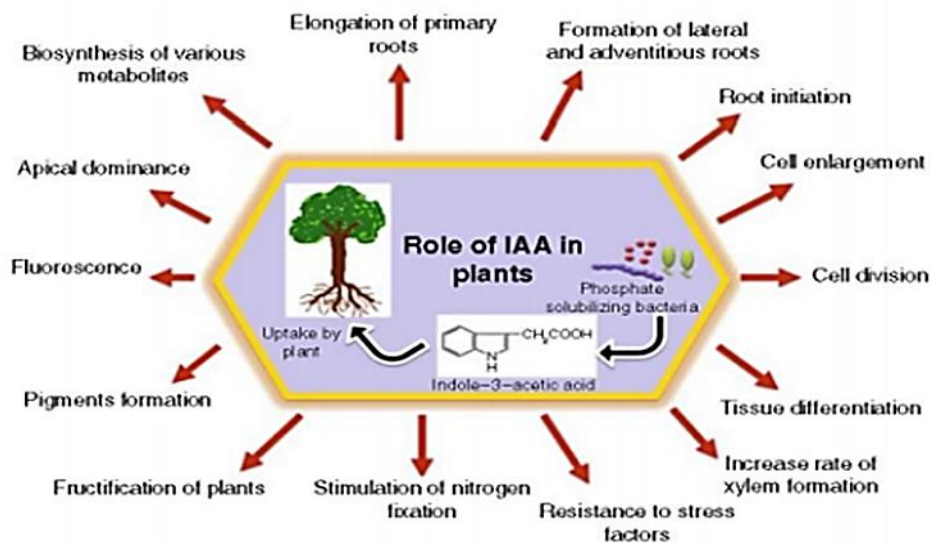


Figure 4 : Rôle de l'acide indole acétique dans l'amélioration de la croissance végétale (Khan *et al.*, 2009).

8.2 Mode indirecte

Les bactéries peuvent coloniser les systèmes racinaires des plantes et influencer de manière indirecte dans le processus du bio contrôle.

8.2.1 L'antibiose (la compétition pour l'espace et les nutriments)

De nombreux chercheurs ont trouvé que le genre *Bacillus* et le genre *Pseudomonas* sont des agents de bio contrôles (Arora *et al.*, 2001). *Pseudomonas aueruginosa*, *Pseudomonas*

plecoglossicida et *Pseudomonas mosselii* produisent des substances qui laissent la feuille de la plante humide, cette dernière facilite aux microorganismes d'utiliser l'eau, la solubilisation et la diffusion des nutriments. Donc les bactéries épiphytes peuvent donner une activité antagoniste contre l'agent pathogène empêchant son développement ou sa sporulation (Bunster *et al.*, 1989). Les PGPR peuvent instaurer une compétition avec les pathogènes pour les nutriments nécessaires pour leur survie dans la rhizosphère.

Les bactéries du genre *Pseudomonas* et *Bacillus* peuvent aussi synthétiser des molécules chélatrices du fer nécessaires pour la croissance des plantes nommées les sidérophores.

8.2.2 Les sidérophores

Parmi les nutriments les plus importants pour les organismes vivants, le fer. Il joue un rôle essentiel dans l'amélioration et le développement de toute catégorie d'organismes vivants. Les petites quantités de fer sont nécessaires à une compétition aux racines des plantes (Loper et Henkels, 1997).

Les sidérophores viennent du Grec '*iron carrier*' signifie les porteurs du fer. Ce sont des biomolécules à poids moléculaire élevé secrétées par les micro-organismes bénéfiques et jouent un rôle très important dans la rhizosphère. Les PGPR produisent des sidérophores pour capter le fer ferrique Fe^{3+} dans le milieu qui contient des petites quantités de fer (Mehmod *et al.*, 2018)

Les bactéries du genre *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobia* et *Serratia* peuvent produire les sidérophores. Généralement, il existe quatre types de ces molécules : les hydroxamate, catecholate, salicylate et carboxylate qui jouent un rôle très important dans la solubilisation extracellulaire du fer dans les conditions de stress. Les sidérophores produits par *Rhizobium meliloti* sont utilisés pour la protection contre les maladies des plantes ainsi pour la biomasse et le poids des nodules. Ces molécules jouent un rôle dans la fixation du nitrogène par *Azotobacter vinelandii* (Arora *et al.*, 2013).

Il est possible de l'utiliser comme un bio pesticide et comme un produit chimique détoxifiant contre les activités enzymatiques et métaboliques (Arora *et al.*, 2013).

8.2.3 Induction de la résistance de la plante

L'induction de la résistance de la plante (ISR) a été découverte comme un mode d'action contre les maladies par les PGPR (Arora *et al.*, 2013). Quelques PGPR peuvent utiliser l'ISR contre les infections des pathogènes. L'activation du système de défense protège les plantes contre les attaques (Arora *et al.*, 2013). Lorsque elle stimule la croissance, les plantes vont développer une capacité de défense nommée ISR (Arora *et al.*, 2013). Après il y a une production

des protéines : chitinases, peroxidases, superriode, dismutase, phenylalamine, amidon lyase, phytoalexins, polyphenol oxydase (Arora *et al.*, 2013). Ainsi une production d'éléciteurs de la classe des antibiotiques comme 2,4 diacetylphor-glucinol et principalement les phytohormones liée au stress comme l'acide jasmonique, l'acide salicylique (Takishta, 2018).

9 Intérêt des PGPR

Les PGPR peuvent être utilisés dans le domaine de la bioremédiation des sols polluées par les métaux lourds toxique (Arora *et al.*, 2013). Ils sont utilisés aussi comme régulateur de l'activité métabolique par la production des auxines et dans la biofertilisation pour améliorer la disponibilité des nutriments et la protection de la plante contre les maladies par leur renforcement des mécanismes de défenses (Raj *et al.*, 2020). Aussi par la production de métabolites à activité antimicrobienne tels que l'ammoniac, les antibiotique, le phénazinique et les enzymes hydrolytiques tels que les chitinases, les glucanases, les protéases et les lipases (Beneduzi *et al.*, 2012).

Ils peuvent également favoriser la croissance de la plante hôte par la fixation de l'azote et la solubilisation d'oligo-éléments tels que le phosphate (Arora *et al.*, 2013) mais, il faut limiter l'application excessive des PGPR pour éviter d'influencer négativement un certain nombre de facteur physique et chimique du sol (Raj *et al.*, 2020). Le Tableau 2 représente une liste de certain PGPR utilisées dans les grandes cultures.

Tableau 2 : Liste de certains PGPR utilisées dans les grandes cultures (Manish *et al.*, 2020).

Cultures	PGPR	Les mécanismes
Riz	<i>Azoarcus</i>	Fixation du N ₂
	<i>Rhizobium</i>	Fixation du N ₂
Blé	<i>Azorhizobium</i>	Fixation du N ₂
Blé,haricot	<i>Pseudomonas</i>	ACC deaminase
Blé,tabac,café...	<i>Azotobacter</i>	Nitrogène fixation
Blé	<i>Pseudomonas</i>	Antibiotiques
Canne à sucre	<i>Azospirillum</i>	Fixation du N ₂
Canne à sucre	<i>Beijerinckia</i>	Fixation du N ₂
Pomme de terre	<i>Bacillus</i>	Auxines
Maïs	<i>Bacillus</i>	ISR
	<i>Bacillus</i>	Résistance au stress
Luzerne	<i>Bacillus</i>	Sidérophores
Coton,maïs	<i>Pseudomonas</i>	Antibiotiques
Pomme de terre,maïs	<i>Pseudomonas</i>	Chitinase et beta-glucanase
Légumineuse	<i>Rhizobia</i>	Fixation de N ₂
	<i>Rhizobia</i>	Hydrogène cyanide
Arachide	<i>Rhizobia</i>	Résistance au stress
Tomate	<i>Rhizobium</i>	AIA

10 L'acide indole acétique

L'acide indole acétique (AIA) est considéré comme l'auxine principale pour la régulation de la croissance des plantes. Il est indispensable au développement de ces dernières. Il agit sur la division cellulaire et l'élongation et joue de nombreux rôles, sur la dominance apical, la floraison, la formation des fruits, le développement des organes, et particulièrement des racines et des racines latérales (Herrbach, 2013), aussi sur la différenciation des tissus vasculaires (Keyeo *et al.*, 2011).

L'AIA est l'un des plus importantes molécules secrétées et produites par les bactéries et certain champignons filamenteux (Miyagi *et al.*, 2020). 80 % des micro-organismes comme *Pseudomonas*, *Arthobacter*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Rhizobium* et *Bacillus*, peuvent le synthétiser et le produire comme métabolite secondaire (Munees et Mulugeta, 2014).

Plusieurs étapes de la croissance et du développement des plantes telles que l'élongation et la division cellulaires, la dominance apicale et la différenciation tissulaire, sont régulées par des hormones. De nombreuses phytohormones sont produites par les PGPR. Bien que le rôle de la biosynthèse de ces phytohormones par ces micro-organismes ne soit pas entièrement expliqué. Les phytohormones sont des déterminants clés du comportement des plantes et jouent un rôle de premier plan dans divers aspects physiologiques.

L'action de l'auxine dépend à la fois de sa concentration et du tissu sur lequel elle agit. Selon les plantes, une même concentration sur un même organe peut entraîner des conséquences différentes,

Les changements de concentrations sont certes importants, mais le message hormonal aussi doit être lu, reconnu, interprété et traduit par les cellules pour aboutir à une réponse cellulaire, puis tissulaire, observable à l'échelle d'un tissu, d'un organe ou de la plante entière. Donc l'action de l'auxine est dépendante de sa présence et sa concentration dans la cellule, sa perception, son transport, et la régulation de gènes cible (Herrbach, 2013).

La Figure 5 suivante, montre que la molécule d'AIA (formule chimique : $C_{10}H_9O_2N$) est constituée d'un noyau indole et une courte chaîne latéral du groupement carboxyl (Paque, 2013 ; Girousse, 2015).

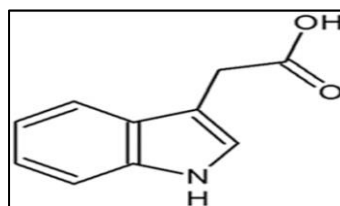


Figure 5 : la structure chimique de l'AIA (Hopkins,2003).

10.1 Biosynthèse de l'AIA

L'AIA est produit par des micro-organismes et des plantes via des voies dépendantes ou indépendantes du tryptophane.

Les voies de biosynthèse menant à l'acide indole-3-acétique (AIA) sont :

- La voie de biosynthèse de l'acétamide indole-3-acétique (IAM)
- La voie de biosynthèse de l'acide indole-3-pyruvique (IPA) ; est considérée comme la principale voie de synthèse de l'AIA chez les plantes.
- La voie de biosynthèse de l'indole-3-acetaldoxime (IAOx).

10.2 Biosynthèse d'AIA chez les microorganismes

De nombreuses bactéries ont été isolées comme productrices d'AIA tels que : *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter cloacae*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Alcaligènes faecalis*, *Azotobacter tumefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* et *Bacillus mesonae* (Shah *et al.*, 2020 ; Akhilesh *et al.*, 2021 ; Bishun *et al.*, 2021).

L'AIA est également synthétisée par des bactéries du sol phytopathogènes : comme *Agrobacterium* et *Pseudomonas*. Dans ce cas, la production de cette molécule peut perturber le métabolisme hormonal des plantes infectées. Par exemple, certaines bactéries peuvent induire la formation de tumeurs sur les plantes infectées en augmentant la concentration d'auxine. Ces tumeurs correspondent à une prolifération cellulaire anormale causée par l'infection bactérienne.

10.3 Biosynthèse d'AIA chez les actinobactéries

La biosynthèse de l'AIA chez les actinobactéries implique plusieurs étapes enzymatiques, notamment la conversion du tryptophane en indole-3-pyruvate (IPA) par l'enzyme tryptophane aminotransférase, puis la conversion de l'IPA en AIA par l'enzyme indole-3-pyruvate décarboxylase (Figure 6).

L'AIA peut résulter de plusieurs voies de biosynthèse. La présence de la voie l'indole-3-acétamide (IAM) chez *Streptomyces violaceuset*, *Streptomyces exfoliatus* est corroborée par identification chimique de l'intermédiaire indole, IAM, pendant le catabolisme du tryptophane en AIA, la production d'AIA suite à l'infiltration des cellules bactériennes par l'IAM et l'incorporation de carbone radioactif de tryptophane dans l'IAM et l'AIA (Manulis *et al.*, 1994) résumé dans la Figure 7.

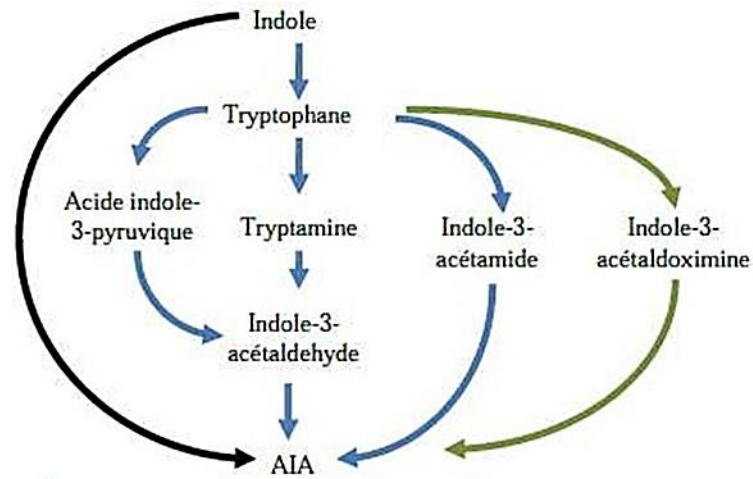


Figure 6 : Biosynthèse d'AIA (Quittenden, 2009)

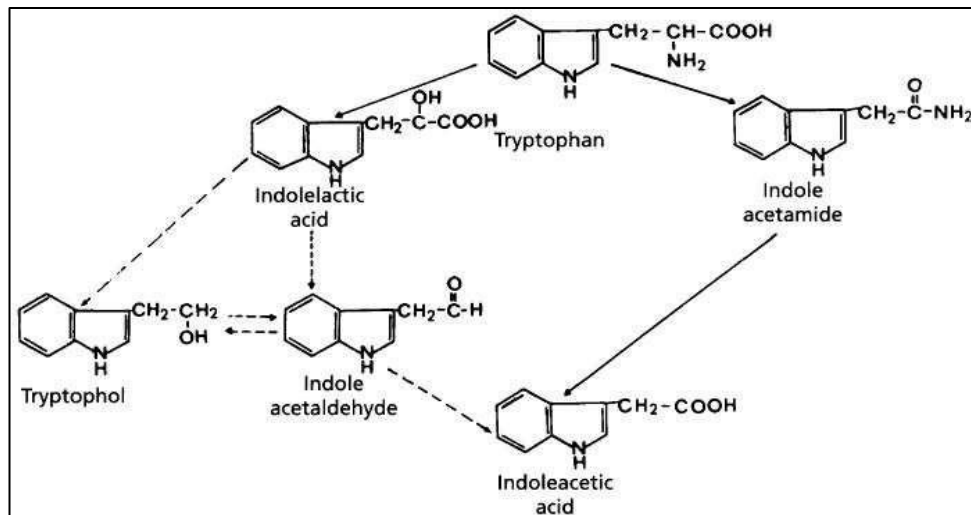


Figure 7 : Biosynthèse de l'AIA à partir de tryptophane par la souche de *Streptomyces* et les voies de transformation des dérivés d'indole en AIA (Manulis *et al.*, 1994).

Matériel
Et
Méthodes

Nous avons réalisé notre travail dans le laboratoire de recherche scientifique de Génie Microbiologique et Applications qui se situe au campus Chaab Erssas, Université Constantine 1 Frères Mentouri, sous la charge Dr. Oulmi L.

1 Matériel biologique

Dans notre travail, nous avons utilisé quatre souches actinomycétales notées S1, S2, S3 et S4 de la banque de collection du laboratoire conservées à - 18 °C sur le milieu liquide ISP5.

2 Revivification des souches

Nous avons préparé le milieu de culture DSMZ 65 (voir annexes) spécifique à ces souches. Ce milieu a été ajusté à un pH 7,6 puis stérilisé à 121°C pendant 20 min dans l'autoclave.

L'ensemencement a été réalisé en surface par la méthode des stries serrées (4 boîtes pour chaque souche). Les cultures ont été incubées dans une étuve réglée à 30 °C.

3 Etude morphologique

3.1 Examen macroscopique

L'observation macroscopique à l'œil nu basé sur l'observation des caractères cultureux des souches bactériennes développées sur le milieu DSMZ 65, a été effectuées après 7, 14 et 21 jours d'incubation à 30 °C.

Cette étude consiste à étudier la forme, le relief, le contour, la taille et l'aspect des colonies ainsi que la surface, la couleur, la texture et la production de la masse sporale et de pigments.

3.2 Examen microscopique

L'observation microscopique a été opérée selon la technique de culture sur lamelle nommée également la technique de la lamelle oblique (Williams et Cross, 1971).

C'est une technique combinée avec la coloration de Gram qui permet l'observation de la forme, la disposition et le caractère tinctoriale du mycélium aérien (MA) et du mycélium du substrat (MS). Elle permet également d'apprécier l'épaisseur, la ramification et le degré d'enchevêtrement des filaments. Elle permet aussi de décrire le type et le mode d'arrangement des spores.

La première étape été la stérilisation des lamelles avec de l'éthanol pendant 10 min. La deuxième étape été l'insertion des lamelles, de façon très délicate, dans le milieu gélosé DSMZ (3 lamelles pour chaque souche) en formant un angle de 45°. À l'aide d'une pipette Pasteur nous avons ensemencé à l'intersection lamelle/ milieu. L'incubation a été à 30 °C pendant 21 jours.

Chaque semaine, un examen microscopique a été réalisé après une coloration de Gram. Les lamelles sont retirées, avec précaution pour éviter la dénaturation de la structure des mycelia, puis colorées et observées à l'aide d'un microscope optique (MO) à l'objectif d'immersion (grossissement X100).

4 Production de l'acide indole acétique (AIA)

4.1 Préparation du milieu de fermentation

Nous avons préparé le milieu de base GBA (Annexe) dans 16 flacons bouchonnés et stériles contenant 50 ml du bouillon, additionnés de différentes concentrations de farine de datte, de Tryptophane et du MgSO₄. Les pH des différents milieux ont été ajustés à la valeur 7,2.

4.2 Préparation de l'inoculum

Nous avons préparé une suspension bactérienne de la souche S4 en raclant toutes les surfaces des colonies cultivées sur le milieu DSMZ65. Les fragments de mycélium et la masse sporale ont été suspendu dans 20 ml d'eau physiologique stérile puis homogénéisé par vortex.

Nous avonsensemencé 1 ml de l'inoculum de la souche S4 dans chaque'un des seize milieux de culture puis les incubés dans une étuve réglée à 30 °C pendant 8 jours avec une agitation manuel quotidiennement.

4.3 Dosage de l'AIA

4.3.1 La préparation du réactif de Salkowski

Nous avons adopté la méthode colorimétrique établis par Brick *et al.*, (1991) qui utilise le réactif de Salkowski. Il s'agit d'une méthode spécifique capable de mettre en évidence la production de l'acide indole acétique.

Le réactif de Salkowski est à base de l'acide perchlorique et une solution de FeCl₃ à 0.5 M (voir annexes).

4.3.2 La mesure de la densité optique par le spectrophotomètre

Après fermentation, nous avons filtré les seize milieux de culture et nous avons récupéré 2 ml de chaque milieux que nous avons mis dans 16 tubes a essaie auxquels nous avons ajoutée 4 ml du réactif de salkowski. Après 30 min d'incubation à l'obscurité le virage de la couleur vers le rose signifie la production de l'AIA par la souche S4, et l'absence du virage de couleur signifie que la souche ne produit pas l'AIA. La densité optique des 16 tubes réactionnels est mesurée au spectrophotomètre réglé à $\lambda=530$. Les quantités d'AIA produites sont déterminées

à l'aide de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage d'AIA décrite par Monita *et al.*, en 2014 (Figure 8).

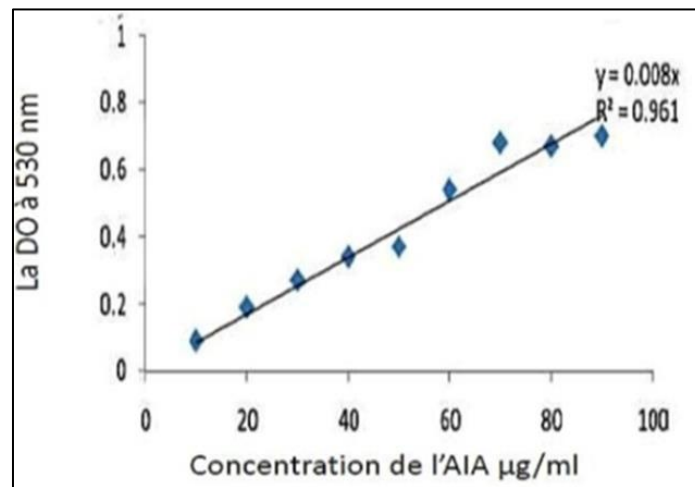


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'AIA (Monita *et al.*, 2014).

Résultats
Et
Discussion

1. Étude morphologique

1.1 Étude macroscopique

Sur le milieu de croissance DSMZ 65, nous avons remarqué une lente croissance des souches actinomycétales. La première apparition des colonies a été observée après 7 jours d'incubation à 30 °C. L'aspect des colonies, la couleur du mycélium aérien et du mycélium de substrat ainsi que la masse sporale sont résumés dans le Tableau 4 suivant.

Tableau 3 : Caractères culturaux de la souche 1, souche 2, souche 3 et la souche 4 sur le milieu DSMZ 65 après 7, 14 et 21 jours

La durée d'incubation	La souche étudiée	Caractéristiques morphologiques	
		La croissance	La couleur de la masse sporale
7 jours d'incubation	S1	faible croissance	Blanche
	S2	faible croissance	Crémeuse et grises
	S3	croissance moyenne	Blanche
	S4	faible croissance	Crémeuse
14 jours d'incubation	S1	faible croissance	Blanche
	S2	faible croissance	Crémeuse et grises
	S3	croissance moyenne	Crémeuse et grise
	S4	faible croissance	Crémeuse
21 jours d'incubation	S1	faible croissance	Blanche
	S2	faible croissance	Crémeuse et grises
	S3	croissance moyenne	Crémeuse et grise
	S4	faible croissance	Crémeuse

Après 7 jours d'incubation nous avons observé une faible croissance des colonies de la souche S1. Elles sont blanches, rondes, de petites taille avec des surfaces plates et une texture très sèche. Le MS est de couleur marron clair et le MA est de couleur grise.

Après 14 jours et 21 jours d'incubation, nous avons noté les mêmes aspects illustrés dans la Figure 9 suivante.

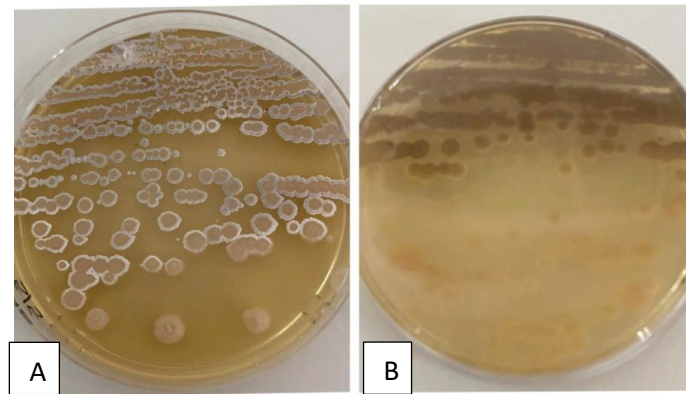


Figure 9: Aspect de la culture de la souche actinomycétale S1 sur le milieu DSMZ 65 après sept jour d'incubation à 30 °C (A et B)

Pour la souche S2, nous avons observé, après 7 jours d'incubation des colonies rondes, bombées avec un contour irrégulier et une surface rugueuse. La couleur des colonies est crèmeuse à grises, avec une surface poudreuse (Figure 10).

Après 14 et 21 jours d'incubation nous avons observé la même croissance.



Figure 10 : Culture de la souche S2 sur le milieu DSMZ65 après 7 jours d'incubation.

L'examen macroscopique des cultures de la souche S3, a donné des colonies de tailles moyennes, de formes rondes, bombées avec des contours irréguliers. La surface des colonies est rugueuse de couleur crème à grise avec une surface poudreuse (Figure 11).

Nous avons noté les mêmes observations après 14 et 21 jours d'incubation.

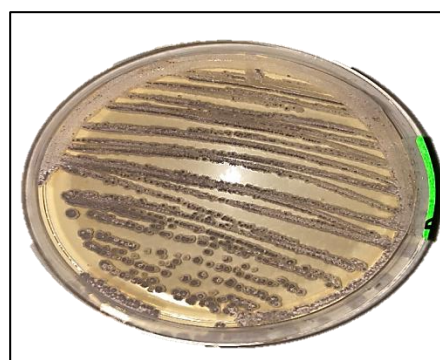


Figure 11 : Aspect des colonies de la souche actinobactérienne S3 sur le milieu DSMZ65 après 7 jours d'incubation.

Après 7 jours d'incubation, nous avons observé des colonies de la souche S4, d'une taille moyenne, de forme ronde, relief bombé avec un contour irrégulier et une surface rugueuse. La couleur des colonies est crèmeuse, avec une texture poudreuse (Figure 12). Les mêmes observations ont été notées après 14 et 21 jours d'incubation.

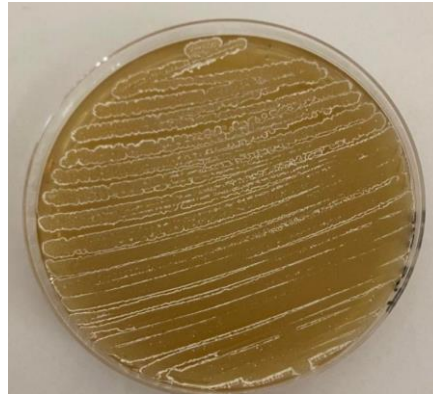


Figure 12 : L'aspect de la culture de la souche S4 sur le milieu DSMZ 65 après 7 jours d'incubation à 30°C

1.2 Étude microscopique

La croissance des souches S1, S2, S3 et S4 sur le milieu DSMZ a donnée naissance à des filaments mycéliens aériens et du substrat ainsi que des spores résumé dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Caractéristiques microscopiques des quatre souches étudiées

	Souches actinobactériennes			
	S1	S2	S3	S4
MA	De fin filaments ramifiés avec des ramifications primaire et secondaire.	Fin filaments non ramifié	-	Fin filaments ramifiés des ramifications primaires et secondaires.
MS	Fin filament ramifiés	Fin filaments non ramifiés	Fin filaments ramifiés.	Fin filaments avec des ramifications primaires et secondaires.
Les spores	Production importante de spores ovoïdes regroupées en chaines	Production moyenne de spores ovoïdes regroupées en chaines	Production importante de spores ovoïdes regroupées en masse	Production faible de spores ovoïdes regroupées en chaines

1.2.1 Souche 1

Après 7 jours d'incubation, l'examen microscopique a donné une présence des filaments fins ramifiés et d'une longue chaîne de spores ovoïdes composées de 27 spores sur toute la surface de la lame (Figure 13-a).

Après 14 jours d'incubation, l'examen microscopique a révélé pour la souche S1 la présence d'un mycélium aérien très enchevêtré et très ramifié en plus de la présence de quelques spores de forme ovale (Figure 13-b) et sur le MS, nous avons observé des chaînes de spores (Figure 13-c).

Après 21 jours d'incubation, dans le MA nous avons observé une présence des amas de spores constituées de 8 spores au niveau du centre de la lamelle présentée dans la figure 13

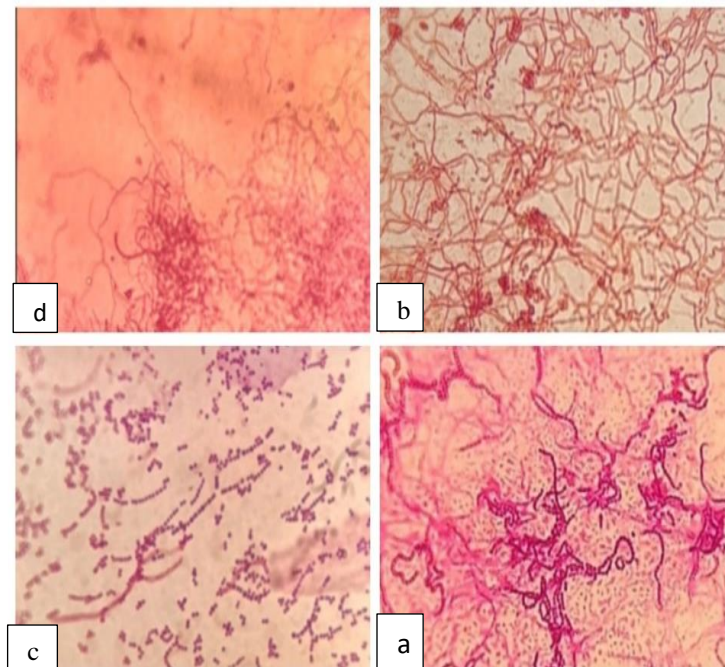


Figure 13: Observations microscopiques de la souche : S1 après coloration de Gram (culture de 7 (a), 14 (mycélium aérien (b), mycélium de substrat (c) et 21 (mycélium aérien (d) jours, technique des lamelles).

1.2.2 Souche 2

Après 7 jours d'incubation, l'examen microscopique a montré :

des filaments très fins non ramifiés et des chaînes de spores et un mycélium de substrat non cloisonné (Figure 14-a).

Après 14 jours d'incubation, nous avons remarqué la présence de très fins filaments, non ramifiés et des chaînes de spores. Le mycélium de substrat est non cloisonné, structure illustrée dans la Figure 14-b.

Après 21 jours d'incubation, nous avons observé des filaments enchevêtrés et beaucoup de spores condensées. Dans le MS on n'a pas observé des spores, par contre il y a une présence des filaments fins en plus d'autres filaments épais. Du côté MA, nous avons observé des spores et des filaments fins et enchevêtrés présenté dans la Figure 14 -c et d.

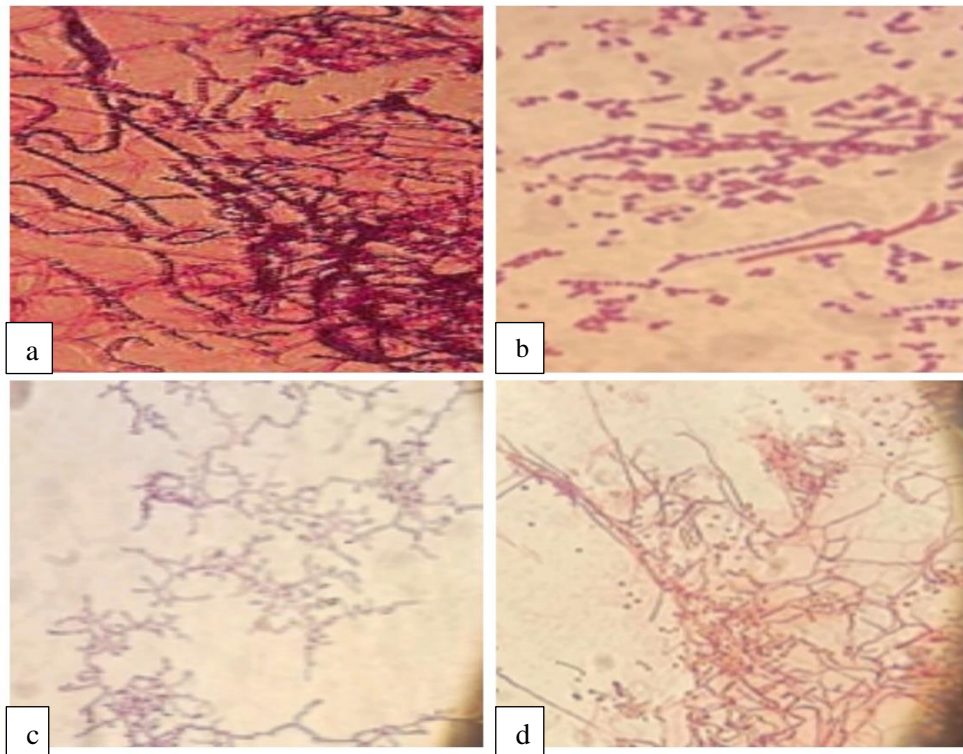


Figure 14 : Observations microscopiques de la souche : S2 après coloration de Gram (culture de 7 (a), 14 (c) et 21 (mycélium de substrat (c), (mycélium aérien (d) jours, technique des lamelles).

1.2.3 Souche 3

Après 7 jours d'incubation, l'examen microscopique a montré :

Des filaments ramifiés (Figure15-a), le mycélium de substrat est non cloisonné et des sporanges contenant des spores (Figure15-b).

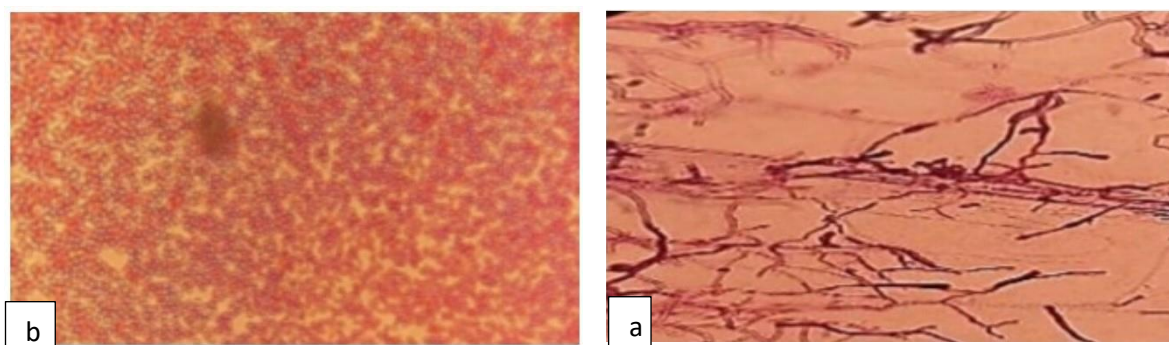


Figure 15: Observations microscopiques de la souche : S3 après coloration de Gram (culture de 7, jours, technique des lamelles).

1.2.4 Souche 4

Après 7 jours d'incubation, nous avons observé la présence de spores de forme ovoïdes organisées en longues chaînes et des filaments fins (Figure 16-a).

Après 21 jours d'incubation, nous avons observé des chaînes de filaments enchevêtrées avec des ramifications primaires et secondaires (Figure 16-b).

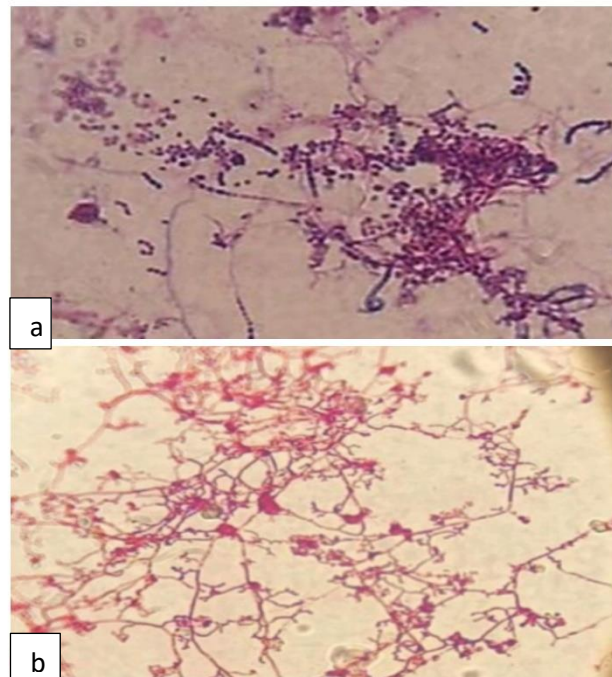


Figure 16 : Observations microscopiques de la souche : S4 après coloration de Gram (culture de 7(a) et 21(b) jours, technique des lamelles).

2 Production de l'acide indole acétique

2.1 Aspect de la croissance bactérienne dans les milieux de fermentation

Après huit jours d'incubation, et d'agitation quotidienne des flacons, la croissance de la souche S4 (voir l'annexe) dans les seize milieux se traduit par la formation d'un trouble et d'agrégat de filaments, avec la présence d'un dépôt au fond du milieu quatre, les caractères des cultures sont rapportés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : La croissance de la souche 4 sur les 16 milieux après 8 jours d'incubation.

Milieux de culture	Caractéristiques		Milieux de culture	Caractéristiques	
	Trouble	Agrégat de filament		trouble	Agrégat de filament
M1	+	+	M9	+	+
M2	+	+	M10	+	+
M3	++	++	M11	+	+
M4	+	+/-	M12	+	+
M5	+	+	M13	+	+
M6	+++	+++	M14	+	+
M7	+	+	M15	+++	+++
M8	+	+	M16	+	+

+/- faible +moyenne ++forte +++intense

En termes de biomasse l'observation de la croissance bactérienne dans les milieux de fermentation a pu objectiver une production intense de biomasse sous forme d'agrégat de filament dans le M15 et M6 contrairement à M4.

2.2 Détermination des concentrations d'AIA

2.2.1 Résultats de l'expérience

Pour mettre en évidence la production de l'AIA dans un milieu de fermentation nous avons fait un dosage dans les milieux de fermentation par la technique de Salkowski.

On a confirmé la production de l'AIA par la visualisation de la couleur rouge.

Après la mesure des densités optiques à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda=530$ nm on utilisant la courbe d'étalonnage de Monita *et al* 2014, on a pu calculer les concentrations d'AIA dans les deux expériences. Les résultats des expériences, sont illustrés dans les figures 17 et 18.

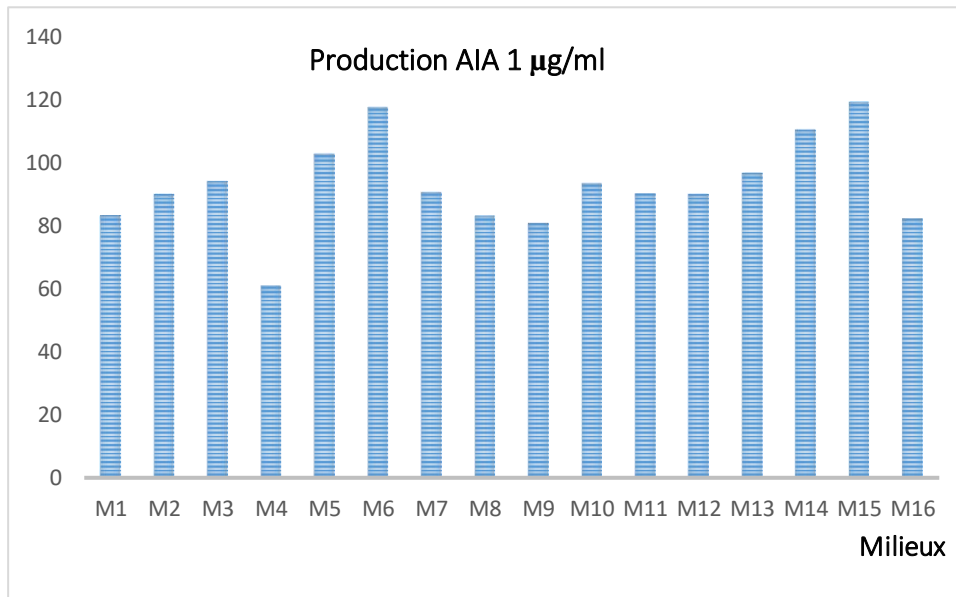


Figure 17 : Production de l'AIA dans la première expérience.

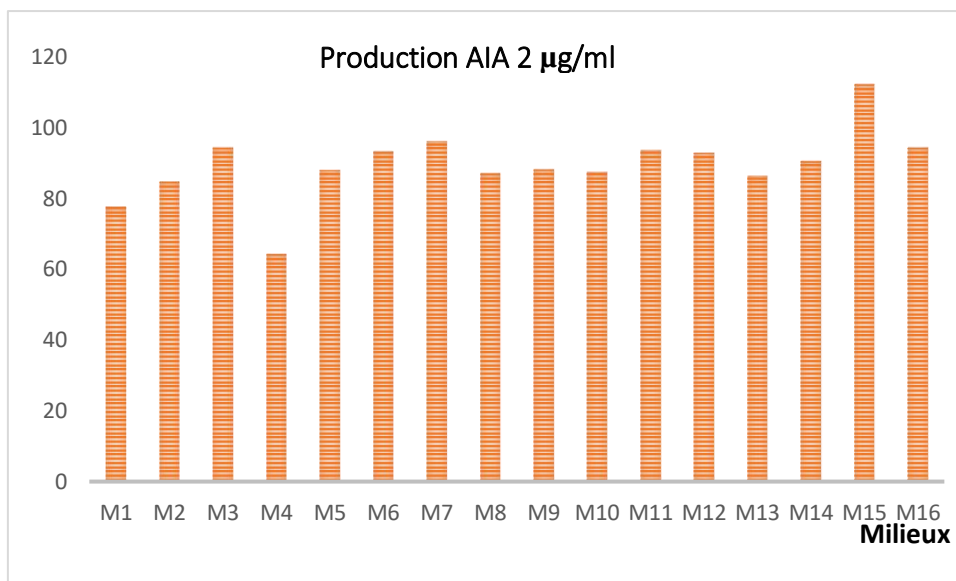


Figure 18 : Production de l'AIA dans la deuxième expérience.

En termes de biomasse l'observation de la croissance bactérienne dans les milieux de fermentation a pu objectiver une production intense de biomasse sous forme d'agrégat de filaments dans M15 et M6 contrairement à M4.

On ce qui concerne la production de l'AIA on remarque que les valeurs de la concentration d'AIA calculée dans les deux expériences sont presque identiques.

On note une production optimale d'AIA dans le M15 chiffrée à 119 µg/ml dans la première expérience et 112 µg/ml dans la deuxième, suivi du M6 ou on a enregistré des valeurs de 117 µg/ml et 93 µg/ml. Cette production est favorisée par la présence en quantités importantes de farine de datte et de tryptophane.

Par contre l'absence d'une quantité suffisante de farine de datte avec l'utilisation d'une grande quantité de tryptophane au M4 a inhibée la production de l'AIA ou on a observé la concentration la plus basse dans les deux expériences chiffrée à 61 µg/ml et 64 µg/ml respectivement.

La production de l'AIA dans le reste des milieux est moyenne. Il en résulte que la production de l'AIA est directement liée à la production de biomasse.

2.2.2 Effet du tryptophane dans la production de l'AIA

Le tryptophane est un précurseur de l'AIA, sa présence en quantité élevée (2mg/l) a favorisé la production de l'AIA en quantité optimale ; tandis qu'une petite quantité (1mg/l) a fait diminuer la production de l'AIA.

L'utilisation d'une quantité encore plus élevée de tryptophane (2,5mg/l) à exercer un effet inverse sur la production de l'AIA. La figure suivante représente l'effet du tryptophane sur les milieux M4 et M15.

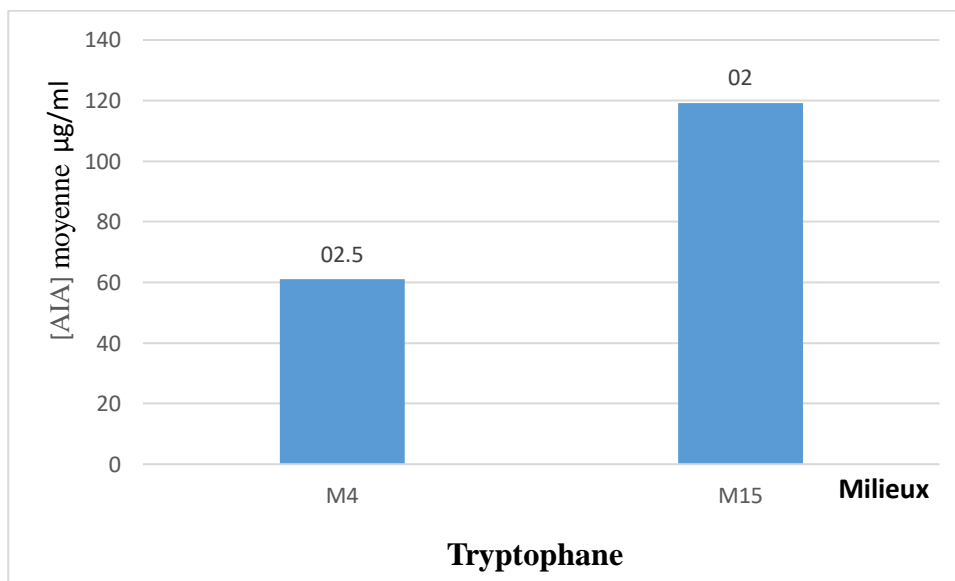


Figure 19 : Histogramme représentant l'effet du Tryptophane sur la concentration de l'AIA en fonction des milieux.

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

2.2.3 Effet du MgSO₄ dans la production de l'AIA

Pour le MgSO₄, les valeurs maximales d'AIA ont été obtenues avec des taux faibles de MgSO₄ (0,20g/l), l'utilisation d'une quantité de (0,25 g/l) dans le M4 à fait diminué considérablement la synthèse de l'AIA. La figure suivante représente l'effet du MgSO₄ sur les milieux M4 et M15.

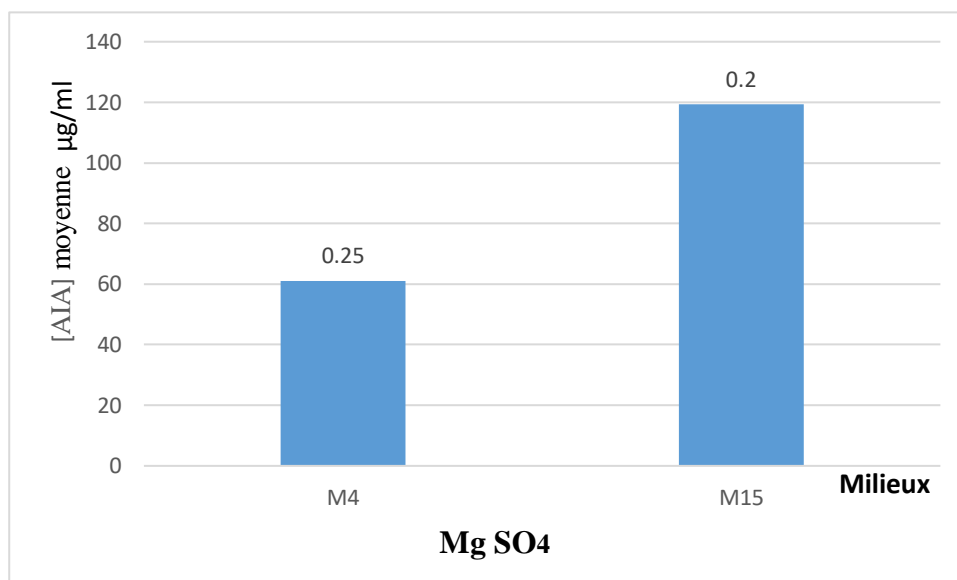


Figure 20 : Histogramme représentant l'effet du MgSO₄ sur la concentration de l'AIA en fonction des milieux.

2.2.4 Effet de la farine de dattes dans la production de l'AIA

Lorsque la quantité de la farine de dattes augmente dans les milieux, la production de l'AIA par la souche 4 augmente jusqu'à arriver à la valeur maximale. Et lorsque la quantité de la farine de dattes diminue, la production de l'AIA est en petite quantité.

Ainsi, on peut dire que :

La présence de la farine de datte en grande quantité influence directement et positivement sur la production de l'AIA. Dans les fortes concentrations de la farine de dattes on observe une

production maximale de l'AIA, par contre dans les concentrations basses de la farine de dattes on note une diminution de la production.

Cela résumé dans le milieu M4 lors de la première expérience dont la concentration de la farine de dattes est égale à 0.5 g/l la production de l'AIA est faible (61 µg/ml).

Et dans le milieu M15 dont la production de l'AIA est maximale (119.25 µg/ml) nécessite des fortes concentrations de la farine de dattes (1g/l). La figure suivante représente l'effet de la farine de datte sur les milieux M4 et M15.

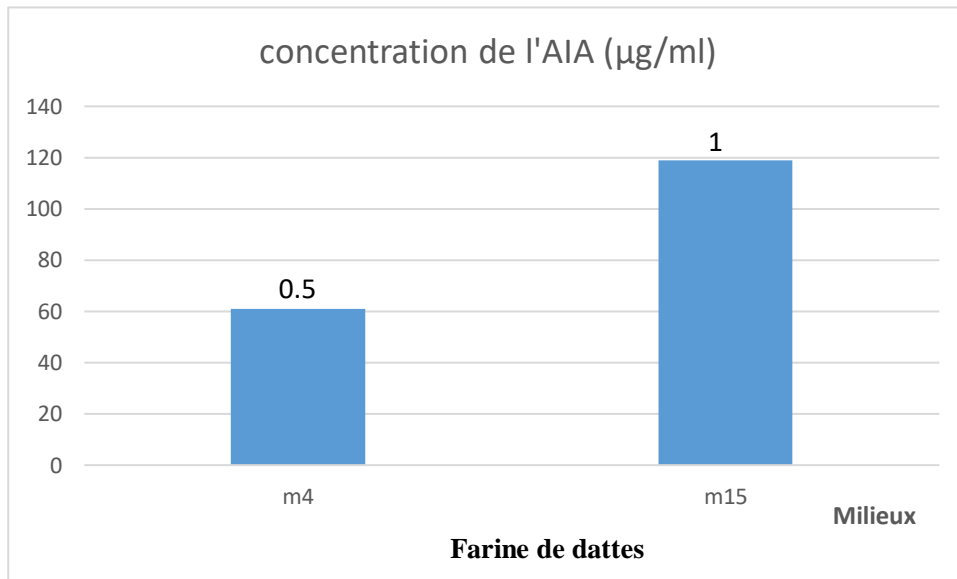


Figure 21 : Histogramme représentant l'effet de la farine de datte sur la concentration de l'AIA en fonction des milieux.

Nos résultats montrent qu'il existe une relation positive entre les concentrations de l'AIA produite par la souche 4 et la farine de dattes.

Conclusion

Au terme de ce travail nous avons pu atteindre l'objectif principal de notre recherche et les résultats obtenus ont permis de conclure que la souche S4 a la capacité de produire une auxine importante dans le domaine de l'agriculture qui est l'acide indole-3-acétique (AIA) à des quantités significatives.

La caractérisation macromorphologique des souches sur le milieu DSMZ 65 couplée à l'étude microscopique (technique des lamelles) ont confirmées l'apparence du mycélium aérien et le mycélium de substrat.

Notre étude a montré que l'activité des souches bactériennes est limité par la composition du milieu de culture qui affecte non seulement la concentration d'AIA produite mais également la croissance de la souche étudiée.

Les résultats indiquent que les conditions de culture les plus favorables pour une production maximale d'AIA représentés par un pH neutre 7.2 et par une température de 28 °C.

Cette souche bactérienne peut être utilisée avec succès à grande échelle comme un biofertilisant potentiel combinant la fixation d'azote atmosphérique et la promotion de croissance. Cette technologie prometteuse offre une alternative pour minimiser la pollution environnementale dans les champs de culture, due à l'utilisation excessive d'engrais industriels. On tient également à encourager les agriculteurs à remplacer les pratiques actuelles (utilisation d'engrais chimique) par l'agriculture biologique, c'est une action moins coûteuse et plus respectueuse pour l'environnement, elle permet d'améliorer la productivité des cultures.

Références
et
bibliographie

Références et bibliographies

Ahemad M., & Khan M S. (2010). Plant growthpromotingactivities of phosphate-solubilizing *Enterobacterasburiae* as influenced by fungicides. *EurAsian J BioSci*, 4,P : 88-95.

Aggarwal N.,Thind SK. And Sharma S. (2016). Role of secondary metabolites of actinomycetes in crop protection. P : 100. <https://10.107/978-981-10-0707-1-7>.

Akhilesh K., Saurabh S., Arpan M., Rajesh P. and Jay Prakash V. (2021). Salt-tolerant plant growth-promoting *Bacillus pumilus* strain JPVS11 to enhance plant growth attributes of rice and improve soil health under salinity stress,Institute of Environment and Sustainable Development, Banaras Hindu University, Varanasi 221005, Uttar Pradesh, India b Division of Research Environment, Ministry of Environment, Forest and Climate Change, Indira Paryavaran Bhawan, New Delhi, India . <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126616>.

Alper D., Kıymet G. and Nevzat Ş. (2020). Isolation, plant growth-promoting traits, antagonistic effects on clinical and plant pathogenic organisms and identification of actinomycetes from oliverhizosphere.*MicrobialPathogenesis*. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104134>, P : 11.

Annab A. et Dafri F. (2018). Production de l'auxine chez des actinobactéries rhizosphériques appartenant aux genres *Streptomyces*et*Nocardiosis*. Mémoire de master : microbiologie appliquée. Oum el bouaghi. Université Larbi ben m'hidi, P : 65.

Apastambh AR., Tanveer K., & Baig MMV. (2016). Isolation and characterization of plant growthpromotingrhizobacteriafrom banana rhizosphere. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 5(2),P : 59-65.

Arasu MV., Duraipandiyan V., Agastian P. and Ignacimuthu S. (2009) In vitro antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. ERI-3 isolated fromWestern Ghats rock soil (India). *J. De Mycol. Médicale*19, P : 22–28.

Arora N. (2013). Multifaceted Plant-Associated Microbes and their mechanisms Diminish the concept of direct and indirect PGPRs dans : Arora N , Tewari S ;Singh R.Plant microbe symbiosis:Fundamentals and advances. India, P : 425-428.

Asma A. Shamsul H. et Rouf A. (2017). Rôle bénéfique des actinomycètes dans la santé des sols et des plantes phatogène microbienne.*Journal hemophage*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.036>. 21

Barka EA., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Meier-Kolthoff JP., Klenk HP.; Clément C., Ouhdouch Y. and Van Wezel GP. (2015). Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80, P : 1–43.

Belyagoubi L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat : biologie. Tlemcen : Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P : 209.

Beneduzi A., Ambrosini A. and Passaglia LMP (2012). Plant growth – promoting rhizobacteria(PGPR) :their potential as antagonists and biocontrol agents .Universidade Federal do Rio Grande du Sul ; Instituto de Biociencias ,Departento de Genetica,Porto Algere,RS,Brazil. P : 1044-1051.

Bhatti A., Haq S. and Bhat RA (2017). Actinomycètes benefaction role in soil and plant health. Microbial pathogenesis. India. P : 460-463.

Bhat BA., Tariq L., Nissar S., Islam ST., Islam SU., Mangral Z., ... & Dar TU H. (2022). The role of plantassociatedrhizobacteria in plant growth, biocontrol and abiotic stress management. *Journal of AppliedMicrobiology*, 133(5), P : 2717-2741.

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

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

Bunster L., Fokkema NJ and Schippers B (1989). Effect of surface-Active *Pseudomonas* spp. on Leaf Wettability .Willie Commelin Scholten Phytopathological Laboratory ; Havalaan 20;3742 CP Baarn ,The Netherlands. P : 1340-1345 .

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

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

Choulet F. Aigle B. Gallois A. Mangenot S. Gerbaud C. Truong C. Francou F-X. Fourrier C. Guérineau M. Decaris B. Barbe V. Pernodet J-L.and Leblond P (2006). Evolution

of the Terminal regions of the *Streptomyces* Linear Chromosome. *Molecular Biology and Evolution*. 23(12). <https://doi.org/10.1093/molbev/msl108>. P : 2361-2369.

Conn VM. (2005). Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de doctorat. Flindersq university. P : 29.

Dairi T. (2005). Studies on Biosynthetic Genes and Enzymes of Isoprenoids Produced by Actinomycete. *Journal of antibiotics*. Japan. vol58 (4). P : 227-243.

Danielenko VN, Mironov VA, and Elizarov SM. (2005). Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes : A Review. *Applied biochemistry and Microbiology*, 41(4), P : 319-319.

Drago L., Romano C., Scarponi S., Gallazzi E and Romano D. (2015). Actinobacterial coating of implants in orthopaedics and trauma: a classification proposal in an evolving panorama. *Journal of orthopedic surgery and research*, DOI 10.1186/s13018-015-0294-5. P : 1-4.

Hazarika SN., Saikia K., Borah A. & Thakur D. (2021). Prospecting endophytic bacteria endowed with plant growth promoting potential isolated from *Camellia sinensis*. *Frontiers in microbiology*, 12, 738058.

Kitouni M., Boudemagh A., Oulmi L., Reghioua S., Boughariche F, Zerizer H., Hamdiken H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A and Boiron P. (2005). Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark sampleq of the north-east of Algeria. *Journal de Mycologie Médicale ELSEVIE*. P : 45-51.

Lewin GR., Carlos C., Chevrette MG., Horn HA., Mcdonald BR., Stankey RJ., Fox B G. et Curie C R. (2016). Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenergy Applications. *Annu Rev Microbiol.*, 70. Doi : 10.1146/annurevmicro-102215-095748, P : 235-254.

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

Loper GE and Henkels MD. (1996). Availability of Iron to *Pseudomonas fluorescens* in rhizosphere and Bulk Soil Evaluated with an Ice Nucleation Reporter Gene. Horticultural Crops Research Laboratory, Agricultural Research Serviv ,U .S. Departement of Botany and Plant Plant Pathology, Oregen State University, Corvallis, Oregon 97330. P : 99-105 .

Maskey RP., Helmke E and Laastsch H (2003). Himalomycin And B : isolation and structure elucidation of new fridamycin type antibiotics from a marine *Streptomyces* isolate. *J Antibiot*, P : 942-949.

Medigan M. et Martinko M. (2007). Biologie des microorganismes. Pearson education France ; 11^{ème} édition, P : 331-422 ; P : 686-718.

Manulis S., Shafrir H., Epstein. E., Lichter A & Barash. I.(1994). Biosynthesis of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in *Streptomyces* spp. *Microbiology*, 140(5),P : 1045-1050.

Medhmadj M. (2021) Etude de la biodiversité des actinobactéries dans quelques eaux thermals de la région Est de l'Algérie. Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme du doctorat en microbiologie. Constantine : Université frères Mentouri. P : 11-25.

Mehmood U., Imam –ul-Haq M., Azam A., Azam F and Sikandan H. (2018). A brief Review on plant growth promoting rhizobacteria(PGPR) :A key role in plant Growth promoting . Pakistan. P : 77-78.

Miyagi M., Wilson R., Saigusa D., Umeda K., Saijo R. and Hager C. (2020). Indole -3-acetic acid synthesized through the indole -3-pyruvate promotes *Candida tropicalis* biofilm formation. *PLoS ONE*15(12) : e0244246 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244246>. P : 1-2.

Muneq A. et Mulugeta K. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria : current perspective. Journal of king Saud University-science.[En ligne],vol (26) n°1 page consulté le (24/04/2024). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jku.2013.05.001>.

Mushtaq Z. (2020). PGPR : present role, mechanism of action and future prospects along bottlenecks in commercialization. *EQA international journal of Environemenental Quality* ,vol(41). <https://10.6092/issm.2281-4485/11103>. P : 10.

Quittenden LJ., Davies NW., Smith JA., Molesworth PP., Tivendale ND & Ross JJ. (2009). Auxin biosynthesis in pea : characterization of the tryptamine pathway. *Plant physiology*, 151(3),P : 1130-1138.

Raj M., Kumal R., Lal K., Sirisha L., Chaudhary R and Patel SK. (2020). Dynamic role of plant growthpromoting rhizobacteria (PGPR) in agriculture. *Internationnal journal of chemical studies*8 (5); <https://doi.org/10.2271/chemi.2020.v8.i5b.10284>. P : 105-107.

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

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

Takishita Y. (2018). *Pseudomona entomophila* 23S, a PGPR with potential for control of bacterial cancer disease in tomat. *McGILL University*. Canada.

Van Bergeijk DA., Barbara RT., Marnix HM., Gilles PV. (2020). Ecology and genomics of Actinobacteria : new concepts for natural product discovery. *Nature Reviews | Microbiology*, 18, 546 – 558. Yurekli. F., Geckil. H. and Topcuoglu. F. (2003). The synthesis of indole-3-acetic acid by the industrially important white-rot fungus *Lentinus sajor-caju* under different culture conditions. *Mycological Research*, 107, P : 305-309.

Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg NR., Ludwig W., Rainey. F. A and Whitman WB. (2011). *Bergey's manual of systematic bacteriology : Volume 3 : The Firmicutes*. Springer Science & Business Media.

Williams ST et Cross T (1971). Actinomycetes dans : Booth.C.Commonwealth Mycological. Institute. England:Elsevier.[https://doi.org/10.1016/50580-9517\(09\)70016-9](https://doi.org/10.1016/50580-9517(09)70016-9). P : 295-334.

Annexe

Annexe**Composition du milieu de culture ISP5**

Glycerol	10 g
L-asparagine	1 g
K ₂ HPO ₄	1g
Solution saline	1 ml
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7 à 7.4

Composition du milieu de culture DSMZ

Glucose	4 g
Extrait de levure	4 g
Extrait de Malt	10 g
CaCO ₃	3 g
Nacl de sebkha	50 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH 7,6	

Composition du milieu de fermentation GBA

Glycérol	20 g/l
Amidon	20 g/l
Peptone	10 g/l
Extrait de viande	5 g/l
CaCO ₃	3 g
NaCl	10 g
H ₂ O	1000 ml
pH	7.2

Composition de solution FeCl₃ (6H₂O) à 0.5 M

FeCl ₃ 6H ₂ O	1.35 g
Eau distillée	QSP10 ml

Composition du réactif de salkowski

Solution $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3 ml
Acide perchlorique 70%	75 ml
Eau distillée	75ml

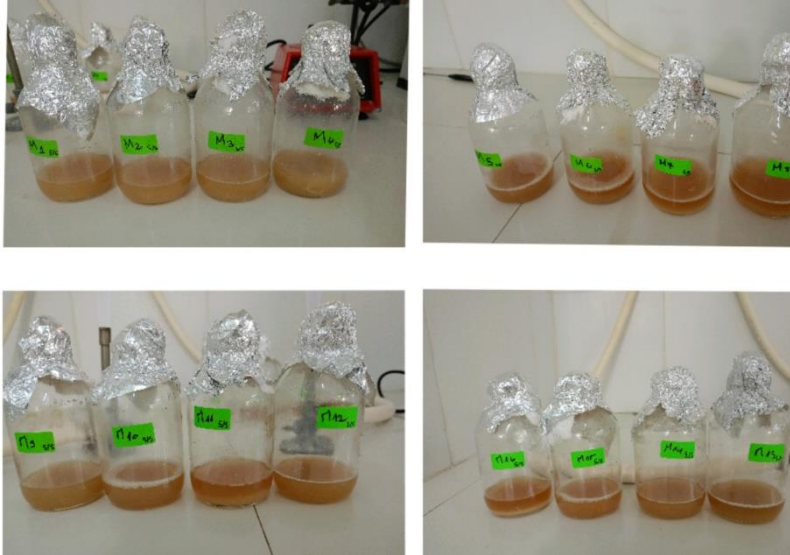


Figure 22 : Aspect des cultures des 16 milieux de fermentation après 8 jours d'incubation.

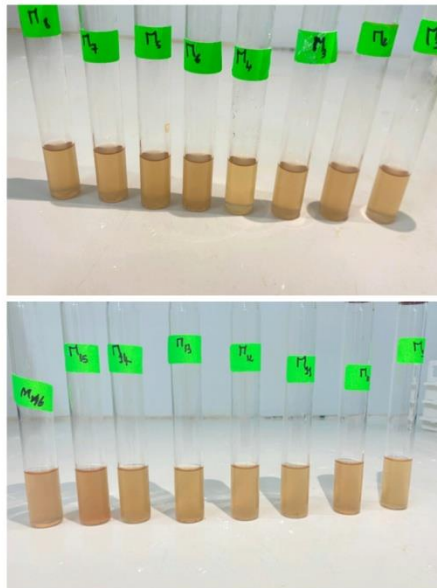


Figure 23 : Les seize tubes avant l'ajout du réactif du salkowski.

Année universitaire : 2023-2024

**Présenté par : AISSA Iskander Abdeldjouad
MARIR Farida
BOUHENGUEL Chourouk Nour Elhouda**

Essai de production de l'acide indole acétique par une souche actinobactérienne

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Écologie et Environnement

Les actinobactéries sont des bactéries filamenteuses à coloration de Gram positive, saprophytes et ubiquitaires. Elles jouent des rôles importants dans le domaine de l'agriculture, la clinique et la biotechnologie. Certains genres des actinobactéries font partie du groupe des PGPR, capable de produire de l'AIA qui est la principale auxine régulatrice de la croissance des plantes.

Dans ce travail, nous avons réalisé une étude morphologique de quatre souches actinobactériennes, parmi ces dernières nous avons choisis une souche pour tester sa capacité à produire de l'AIA dans un milieu de fermentation spécifique.

L'étude morphologie des quatre souches actinomycétales a été réalisée par la description de l'aspect de croissance des colonies cultivées sur le milieu DSMZ65, suivi par une étude microscopique à fort grossissement après coloration de Gram. Grâce à la technique des lamelles, nous avons pu suivre le développement du mycélium aérien et le mycélium de substrat dans le temps. Par la suite, nous avons choisis la souche S4 pour tester sa capacité à produire de l'AIA dans seize milieux de fermentation différents. Nous avons utilisé comme milieu de base le milieu GBA auquel nous avons fait varier les concentrations de trois facteurs (le tryptophane, le $MgSO_4$ et la farine de dattes). Après 8 jours de fermentation, nous avons utilisé une réaction colorimétrique qui utilise le réactif de Salkowski pour la mise en évidence de la production et la quantification de l'AIA produit. La souche à montrer une bonne production de l'AIA sur le milieu M15.

Mots-clefs : Actinobactérie, PGPR, Acide indole acétique, Auxine, Réactif de Salkowski.

Laboratoires de recherche : laboratoire de Génie microbiologique et applications
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Président du jury : Pr KITOUNI Mahmoud (PROF- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr OULMI Lamia (MCB) - UFM Constantine 1).

Examineur(s) : Dr LIFA Maroua (MCB) - UFM Constantine 1).