



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département :** Microbiologie و بيولوجيا الميكروبيولوجيا

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

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

**Filière :** Écologie et Environnement

**Spécialité :** Écologie microbienne

Intitulé :

---

**Production de l'AIA par une souche actinobactérienne appartenant à l'espèce**

***Streptomyces xantholiticus***

---

**Préparé par :** Bouteldja Ouiem  
Khantoul Sawsan

**Le :** 30/09/2021

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** KITOUNI M. (Prof - UFM Constantine).

**Rapporteur :** OULMI L. (MCB - UFM Constantine).

**Examineurs :** ALATOU R. (Prof- UFM Constantine).

**Année universitaire  
2020- 2021**



## **Remerciements**

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

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Génie Microbiologiques et Applications Université Des Frères Mentouri Constantine.

Nous remercierons profondément, notre encadreur Mme OULMI L. pour le privilège et la confiance qu'elle nous a accordé durant la réalisation de ce travail, pour son aide, sa patience, ainsi que pour ses précieux conseils.

Nous remercierons notre directeur de laboratoire de Génie Microbiologiques et Applications Professeur KITOUNI M. pour la confiance, son aide et ses remarques constructives, grâce a lui qui nous avons pu travailler dans les meilleures conditions.

Nous remercierons aussi madame ALATOU R. (professeur à l'université des frères mentouri) D'avoir accepté d'examiner notre travail.

Un remerciement spécial et chaleureux à mademoiselle GHOUZLEN ATTAR, pour le soutien, pour sa coopération et sa compréhension.

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

## **Dédicace**

Je dédie ce travail à :

Mes parents **Mostafa** et **Rahima** rabi yarhamhom inchallah

Mon cher frère **Khalil** pour son encouragement

Mon mari **Mohamed** pour l'encouragement et le soutien moral

Mon cher fils **Amir Ibrahim**

Ma belle mère **Badiaa** pour son aide et son encouragement

Toute **ma famille** pour leur soutien moral et leurs encouragements

**Ouiem**

## **Dédicace**

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents **Azzouz** et **Fahima** pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, aucun mot ne peut exprimer mes sentiments à ce moment

Mes très chers frères **Younes, Yahia, Yakoub** et ma sœur **Rahma**

Ma chère **grande mère** Rabi yarhamha inchallah

Mes amies et collègues pour leur soutien

**sawsan**

## **Résumé**

Les actinomycètes sont un group de bactérie à Gram positive, la majorité d'entre elles se trouve dans le sol où elles jouent un rôle d'une importance capitale. Elles ont la capacité de dégrader les polymères comme la cellulose et la chitine. Les actinomycètes peuvent favoriser la croissance des plantes par la production de promoteurs de croissance tels que l'auxine AIA. Ce dernier est considéré comme la phytohormone majeure responsable du contrôle de la croissance et du développement chez les plantes. Dans notre étude pratique, nous avons testés la capacité d'une souche appartenant à l'espèce *Streptomycesxantholiticus* à produire l'auxine dans un milieu liquide en faisant varier des paramètres physicochimique (concentration en NaCl et pH, la taille de l'inoculum ainsi que la durée et la température d'incubation). La production et le dosage de l'auxine ont été étudiés par la méthode colorimétrique basée sur la réaction de Salkowski en se référant aux propriétés chimiques de l'AIA. Les résultats montrent que cette souche peut produire l'auxine dans des conditions bien définis. L'examen macro et microscopique de la souche confirme l'appartenance de la souche à l'espèce *Streptomycesxantholiticus*. La technique des lamelles nous a permis d'observer la structure du mycélium aérien et du mycélium de substrat sur les différents milieux de cultures utilisés.

## **Mots clés**

Actinomycète, *Streptomycesxantholiticus*, Auxine, Acide Indole Acétique

**Abstract**

Actinomycetes are a group of Gram positive bacteria, the majority of them are found in the soil where they play a role of paramount importance. They have the ability to degrade polymers such as cellulose and chitin. Actinomycetes can promote plant growth through the production of promoters such as auxin AIA, is considered to be the major phytohormone responsible for controlling growth and development in plants. In our practical study, we tested the ability of a strain belonging to the species *Streptomyces xantholiticus* to produce auxin in a liquid medium by varying physicochemical parameters (NaCl concentration and pH, the size of the inoculum as well as the time and the incubation temperature). The production and dosage of auxin were studied by the colorimetric method based on the Salkowski reaction. Results show that this strain can produce auxin under well defined conditions. Macro and microscopic examination of the strain confirms that the strain belongs to the species *Streptomyces xantholiticus*, the slip culture technique allowed us to observe the structure of the aerial mycelium and of the substrate mycelium on the different culture media

**Key words**

Actinomycete, *Streptomyces xantholiticus*, Auxin, Indole acetic acid

الأكتينومييسيت هي مجموعة من البكتيريا موجبة الجرام, معظمها موجود في التربة حيث يلعبون دورا هاما جدا, لديهم القدرة على تكسير البوليميرات مثل السيليلوز والكيئين. تعزز هاته البكتيريا نمو النبات من خلال إنتاج محفزات النمو مثل الاوكسين, ويعتبر هذا الأخير هو الهرمون النباتي الرئيسي المسؤول عن التحكم في نمو وتطور النبات. من خلال دراستنا العلمية, إختبرنا قدرة هاته البكتيريا على إنتاج AIA في وسط سائل مع تغيير العوامل الفيزيائية والكيميائية كدرجة الحموضة ودرجة الحرارة وغيرها. تمت دراسة إنتاج الأوكسين AIA بطريقة القياس اللوني بناء على تفاعل سالكوسكي مع الإشارة إلى الخصائص الكيميائية للأوكسين. أظهرت النتائج أن

يمكن أن تنتج الأوكسين في ظل ظروف محددة جيدا. سمحت لنا تقنية الزرع الساتري بمراقبة بنية البكتيريا على مختلف الوسائط المستخدمة

الكلمات المفتاحية:

Streptomyces xantholiticus, AIA, الأكتينومييسيت, الأوكسين



## Liste des abréviations

**G** : guanine

**C** : cytosine

**UFC** : unité formant colonies

**AIA** : acide indole acétique

**DO** : densité optique

**MS** : mycélium de substrat

**MI** : mycélium aérien

**UV** : ultra violet

**S** : suspension sporale

**G22** : la souche *Streptomyces xantholiticus*

**GA** : le milieu glucose asparagine

**MO** : matière organique

**MS** : matière de sol

## Liste des tableaux

Tableau 1: distribution des actinomycètes dans la nature (Goodfellow ; 1983).....	3
Tableau 2 : différents microorganismes isolées en fonction des phases de compostage (Ryckeboer et al, 2003; Haruta et al ; 2005) .....	11
Tableau 3 : les conditions physicochimiques utilisées dans les milieux.....	14
Tableau 4: les caractères cultureux de la souche Streptomycesxantholiticus sur le milieu ISP5 .....	16
Tableau 5:aspect microscopique de la souche Streptomycesxantholiticus par la technique des lamelles. ....	18
Tableau 6 : aspect macroscopique des fermentations .....	21

## Liste des figures

Figure 1 : types des chaînes des exospores chez les actinomycètes .....	4
Figure 2: Cycle de développement de Streptomyces sur le milieu solide (Delaunay et al ; 2003).....	5
Figure 3: Classification du genre Streptomyces selon Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2006).....	6
Figure 4: schéma simplifié du processus de compostage (Aboulam, 2005).....	8
Figure 5 : Courbe théorique d'évolution de la température au cours du compostage (Francou, 2003). ...	9
Figure 6 : courbe de variation du pH au cours du compostage (Mustin, 1987).....	10
Figure 7: la filtration de suspension sporale après 4 et 8 jours d'incubation.....	15
Figure 8: culture de la souche Streptomyces xantholiticus sur le milieu ISP5 .....	16
Figure 9: aspect macroscopique de la souche Streptomycesxantholiticus sur le milieu ISP5 après 7 et 14 et 21 jours d'incubation.....	17
Figure 10 : les caractères cultureux de Streptomycesxantholiticus sur les différents milieux de cultures après 21 jours d'incubation .....	17
Figure 11 : observation macroscopique de la souche Streptomycesxantholiticus sur le milieu ISP7 ....	17
Figure 12: culture de Streptomycesxantholiticus par la technique des lamelles.....	18
Figure 13: observation microscopique (×100) de la souche Streptomyces xantholiticus sur le milieu ISP5 après 7 ; 14 ; 21 jours d'incubation. A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien. ....	19
Figure 14: observation microscopique (×100) de la souche Streptomyces xantholiticus sur le milieu Glucose-Aspartagine après 7 ; 14 ; 21 jours d'incubation. A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien.....	19
Figure 15: observation microscopique (×100) de la souche Streptomyces xantholiticus sur le milieu DSMZ65 après 7 ; 14 ; 21 jours d'incubation. A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien.....	20
Figure 16: observation microscopique (×100) de la souche Streptomyces xantholiticus sur le milieu ISP7 après 7 ; 14 ; 21 jours d'incubation. A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien. ....	20
Figure 17:observation macroscopique des flacons de fermentations après incubation de 8 jours .....	22

Figure 18: réaction colorimétrique de la souche <i>Streptomycesxantholicus</i> .....	22
Figure 19 : courbe d'étalonnage de l'AIA (Annab et Dafri ; 2018) .....	22
Figure 20 : l'effet de la température et du pH sur la production de l'AIA .....	24
Figure 21: l'effet du NaCl et de la taille d'inoculum sur la production de l'AIA .....	25

## **Table des matières**

Remerciements	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	

### ***Les actinomycètes***

1 Généralité sur les actinomycètes .....	2
1.1 Définition et caractéristiques.....	2
1.2 Classification.....	3
1.3 Habitats.....	3
1.4 Le développement des Actinomycètes .....	4
1.5 La formation des spores .....	4
1.6 Production des antibiotiques par les actinomycètes .....	4
1.7 Le genre <i>Streptomyces</i> .....	5
1.8 Caractéristiques du genre <i>Streptomyces</i> .....	5
1.9 Cycle de développement du genre <i>Streptomyces</i> .....	5
1.10 La classification du genre <i>Streptomyces</i> (Bergey's manual of systematic bacteriology ; 2006)	6
1.11 L'importance des <i>Streptomyces</i> .....	6
1.12 Les phytohormones .....	6
1.13 Le mode d'action.....	6
1.14 Le rôle des actinomycètes dans la décomposition du compost .....	7

### ***Le compostage***

2 Le compostage .....	7
2.1 Généralité sur le compostage .....	7
2.2 Définition et principe de compostage.....	7
2.3 Les phases du compostage .....	8
2.4 Les Paramètres de compostage.....	9
2.5 Les populations microbiennes .....	11
2.6 Le métabolisme du carbone et d'azote durant le compostage .....	12

## ***Matériels et méthodes***

1	Matériel biologique.....	13
1.1	Revivification de la souche .....	13
1.2	Examen macroscopique.....	13
1.3	Examen microscopique .....	13
1.4	la production des pigments mélanoides.....	13
1.5	La Production de l'acide indole acétique AIA .....	14
1.5.1	Préparation des milieux de cultures .....	14
1.5.2	Préparation de l'inoculum .....	14
1.5.3	Ensemencement .....	15
1.5.4	Récupération des filtrats.....	15
1.6	Le dosage de l'auxine.....	15
1.6.1	Préparation du réactif de Salkowski.....	15
1.6.2	Dosage de l'auxine au spectrophotomètre .....	15

## ***Résultats et discussion***

1	La mise en culture de la souche .....	16
2	Les caractères cultureux de la souche.....	16
3	La production des pigments mélanoides.....	17
4	L'observation microscopique .....	18
5	Production de l'acide indole acétique.....	21
6	Dosage de l'auxine au spectrophotomètre .....	22



# **Introduction**

## **Introduction**

Les actinomycètes sont des microorganismes procaryotes ayant un pourcentage de guanine-cytosine élevé supérieur à 55%. Les bactériologistes les considèrent comme des bactéries ; sont hétérotrophes ; mais certaines sont chimio-autotrophe ; aérobies mésophiles. Elles synthétisent les antibiotiques et les autres molécules bioactives

Elles sont des producteurs d'enzymes extracellulaires qui participent à la dégradation et le recyclage des polymères naturels (Bennur *et al* ; 2014)

Les actinomycètes ont un rôle très important en agronomie grâce à leur capacité de dégrader les résidus des matières organiques comme la chitine et la cellulose (lechevalier et williams ; 1983)

Les hormones participent à la régulation de la croissance et au développement des plantes. Parmi ces hormones l'auxine ou l'AIA ; c'est la première hormone découverte et la plus étudiée

Les actinomycètes peuvent favoriser la croissance racinaire des plantes par la production de l'auxine (khamna *et al* ; 2010)

Au cours de notre travail ; nous somme intéressés à l'étude de la production et dosage de l'auxine chez les actinomycètes

Notre travail est structuré en 3 parties :

La première partie ; présente une généralité sur les actinomycètes ; la définition ; les caractéristiques ; l'écologie ; la classification de actinomycètes

La deuxième partie sur le compostage biologique ; la définition ; le principe de compostage ; ses phases ; et le rôle des actinomycètes dans le compostage

La troisième partie expose la partie expérimental ; le matériel et les méthodes de recherche pour la production de l'AIA



**Les  
actinomyc  
ètes**

# 1 Généralité sur les actinomycètes

## 1.1 Définition et caractéristiques

Les actinomycètes étaient autrefois considérés comme apparentés aux bactéries et aux champignons ; mais sont maintenant reconnus comme des organismes procaryotes proches des les bactéries. Morphologiquement ; les actinomycètes ressemblent à des champignons en raison de leurs cellules allongées qui se ramifient en hyphes peuvent se développer en un mycélium (Pepper *et al* ; 2014).

Les actinomycètes sont des bactéries à coloration de Gram positive qui présentent l'un des plus grands taxons parmi les principales lignées reconnues dans le domaine bactéries; Elles sont filamenteuses, dont le coefficient de Chargaff est élevé avec un GC% supérieur à 55%. La majorité des actinomycètes sont hétérotrophes et généralement sont des mésophiles ; saprophytes ; mais quelques espèces sont pathogènes pour l'homme et les plantes surtout (Boukahili A *et al* ; 2020) ; sont aérobies strictes ou microaérophiles. Les conditions optimales pour leurs croissance sont : un pH neutre et des températures comprises entre 25-30°C ; de nombreuses espèces ont été isolées à partir des environnements extrêmes (En singer *et al* ; 1993 ; Watre *et al* ; 2001).

Les actinomycètes ou les actinobactéries sont ubiquitaires, on les trouve dans tous les milieux naturels, de différentes niches écologiques : sol, aire, débris, rivières, grains de céréales, sol pollué ; la grande majorité sont d'origine tellurique (Oulmi, 2014).

Après observation macroscopique ; l'étude des caractères morphologiques montré que les colonies d'actinobactéries sont petites ; régulières ou non ; aplaties ou bombées ; pigmentées ; sporulées et poudreuses avec une odeur terreuse. Les actinomycètes ont une capacité importante dans la dégradation des polymères de structure complexe, comme la cellulose, la pectine, la kératine, et la chitine (Lechevalier *et al.* ,1973).

Les actinomycètes sont immobiles ; mais certains types produisent des spores flagellés ; elles produisent un mycélium du substrat (MS) qui peut fragmenté; certaines espèces produisent également un mycélium aérien (MA) ; Certaines présentent des structures particulières comme les sporanges (Boudjelal ; 2012).

Le scientifique malaisien Dr Lee LearnHan à inventé le terme « Actinobactéries modernes » (MOD ACTINO) ; est une grande expérience dans le domaine de la recherche sur les actinobactéries. Le groupe d'actinobactéries modernes est capable de synthétiser des composés nécessaires pour des applications modernes telles que le développement de nouveaux médicaments et cosméceutiques (Jodi Woan Fei Law *et al* ; 2020).



## 1.2 Classification

Selon la dernière classification ; l'actinobactéria se compose de 6 classes et 6 ordres et 14 sous-ordres ; les actinobactéries appartiennent au règne des procaryotes ; à la division des Firmicutes et à la classe des *Actinobactéria* ; La majorité appartiennent à l'ordre des *Actinomycétales* (Larpen ; 2000). Parmi les types spécifiques d'actinomycètes ; *Nocardia asteroides* est la principale cause de nocardiose ; plusieurs espèces d'*actinomyces* causant la maladie l'actinomyose chez l'homme ; *Streptomyces* sont des sources des antibiotiques tels que streptomycine (Britanica ; 2018).

## 1.3 Habitats

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux ; principalement dans le sol ; dans les eaux douces ou salines et dans l'air (Goodfellow *et williams* ; 1983). Les actinomycètes ont été isolés dans de nombreux milieux aquatiques ; ils ont été isolées à partir des eaux de mer ; des eaux douces et dans les marécages salés (Al-Zarban *et al* ; 2002).

Le genre *Faenia* se trouve dans le compost ; les *Actinoplanes* dans les sols cultivés ; les *Micromonospora* au fond des lacs et des réservoirs ; les *Streptomyces* se trouvent presque partout (Goodfellow *et williams* ; 1983).

*Tableau 1: distribution des actinomycètes dans la nature (Goodfellow ; 1983).*

Genre	Habitats
<i>Actinomadura</i>	Sol
<i>Frankia</i>	Nodule de racines
<i>Nocardia</i>	Sol ; eau
<i>Streptomyces ; Actinoplanes</i>	Sol ; eau ; litière

Le sol est l'habitat principal pour les actinomycètes ; sont les principaux acteurs de la vie du sol. Elles participent à la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus. Les actinomycètes ont un effet sur la structure du sol grâce à leurs hyphes qui donnent une structure granuleuse, Elles produisent des substances spécifiques telles que la géosmine et le 2 méthyl isobornéol MIB responsables de l'odeur caractéristique des sols. Elles sont, souvent, moins reconnus en tant qu'organismes du sol comme est le cas des cyanobactéries et des champignons comme le genre *Penicillium sp* et *Chaetomium sp.* qui sont des producteurs importants de ces métabolites (Conn *et al* ; 2008).

## 1.4 Le développement des Actinomycètes

Sur un support solide ; la germination d'une spore conduit à la formation d'un mycélium primaire qui s'étend à la surface du substrat ; la germination des spores comprend quatre étapes : l'activation ; l'initiation ; l'émergence du tube germinatif et la croissance pour donner des hyphes qui se ramifient. De ce mycélium végétatif ; émergent des hyphes aériens formant un mycélium secondaire qui couvre les colonies de surface et donnant un aspect poudreux ; le mycélium aérien est plus épais et moins ramifié que le mycélium du substrat. Le mycélium du substrat est aérobic facultatif ; mais le mycélium aérien est aérobic strict (Paolozzi ; 2015). (Silvey et Roach ; 1975).

## 1.5 La formation des spores

On trouve deux types de spores chez les actinomycètes ; les endospores qui sont produites par les actinomycètes thermophiles ; elles ont une paroi externe épaisse ; très résistante ; ces spores contiennent de l'acide dipicolinique. Les exospores se produisent par fragmentation des hyphes ; se trouve notamment chez *Actinoplanes* et *Streptomyces*. Elles sont dépourvue de structures spécialisées et ne contiennent pas d'acide dipicolinique (Loucif ; 2008).

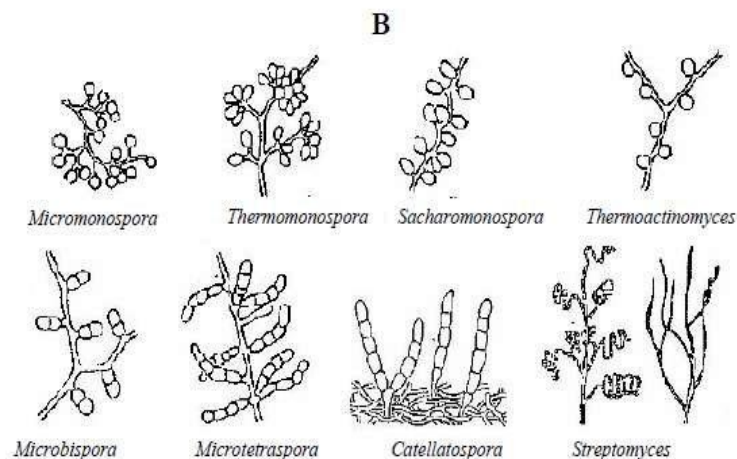


Figure 1 : types des chaines des exospores chez les actinomycètes

## 1.6 Production des antibiotiques par les actinomycètes

Les actinomycètes sont connues pour leur grande capacité à produire des antibiotiques qui sont des métabolites secondaires généralement synthétisés à la fin de phase exponentielle (arasu *et al* ; 2008)

En effet ; plus de 90% des antibiotiques utilisés proviennent de ces bactéries qui produisent environ deux tiers de tous les composés bioactifs isolées (Brédy ; 2005). Par ailleurs ; 70% des antibiotiques commercialisés sont produits par le genre *Streptomyces* (Sujatha *et al* ; 2005)

## 1.7 Le genre *Streptomyces*

Le genre *Streptomyces* appartient à l'ordre des Actinomycetales ; groupe des Streptomycètes. Ce sont des bactéries avec un taux de C+G est élevé (78%) (Goodfellow *et al* ; 2012). Sont filamenteuses Gram positif non pathogène. Ces bactéries sont principalement retrouvées dans les couches superficielles des sols ; elles sont saprophytes ; assurant leur croissance à partir de la dégradation des matières organiques du sol. C'est le genre le mieux étudié en terme de cycle de vie ; les *streptomyces* sont des antagonistes des champignons telluriques et ont la capacité de coloniser les racines de plantes hôtes (El tarabily *et al* ; 2006)

## 1.8 Caractéristiques du genre *Streptomyces*

Les *Streptomyces* ont pour niche écologique le sol ; la majorité joue un rôle important dans la décomposition de différents biopolymères et dans la minéralisation de la matière organique. Ces bactéries saprophytes produisent divers enzymes extracellulaires impliquées dans la dégradation de nombreuses macromolécules issues des plantes et des animaux comme la chitine ; la pectine et la kératine. 70% de ces microorganismes sont producteurs de métabolites secondaires (Hirsh et Christensen ; 1983)

## 1.9 Cycle de développement du genre *Streptomyces*

Les actinobactéries ont un cycle de développement complexe (Figure 2). Il commence par la germination d'une spore qui donne un mycélium primaire ou (MS) formé d'hyphes qui se ramifient. Le développement du mycélium du substrat vers la partie superficielle donne le mycélium secondaire ou (MA). Les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores ; qui sont des agents de dissémination (Kim *et al* ; 2004)

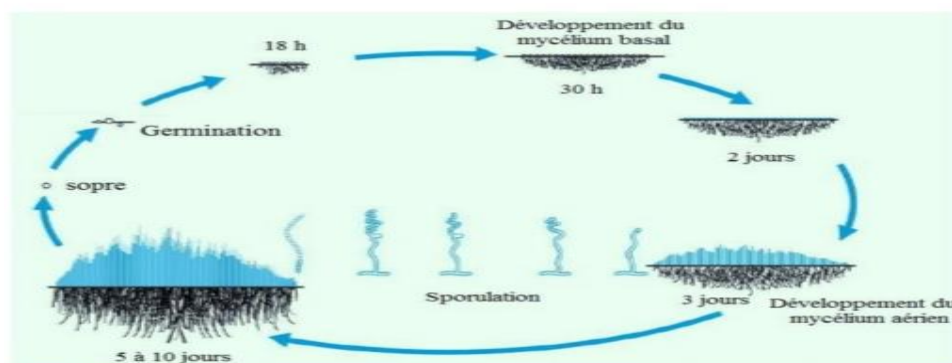


Figure 2: Cycle de développement de *Streptomyces* sur le milieu solide (Delaunay *et al* ; 2003)

### 1.10 La classification du genre *Streptomyces* (Bergey's manual of systematic bacteriology ; 2006)

Selon le manuel de Bergey's de systématique bactériennes ; 2006 ; la taxonomie de ce genre est la suivante :

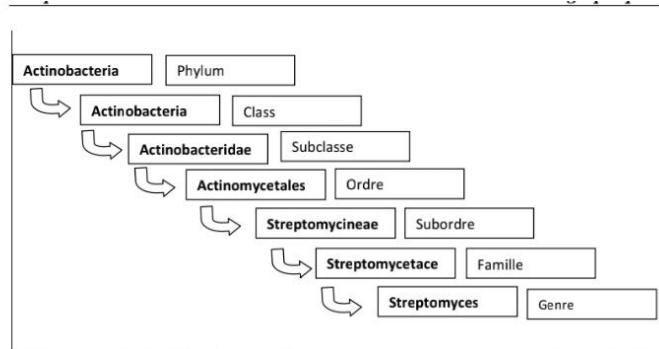


Figure 3: Classification du genre *Streptomyces* selon Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2006)

### 1.11 L'importance des *Streptomyces*

Sont les microorganismes les plus recherchés pour leur capacité de produire beaucoup de métabolites primaires et secondaires (Barkat et al ; 2002). En plus de leur rôle dans la décomposition de la matière organique ; ils sont connus pour leur production de substances biologiquement actives telles que les phytohormones et les enzymes (El Mehalawy *et al* ; 2004)

### 1.12 Les phytohormones

Sont des substances participant à la régulation de la croissance et le développement des plantes. Principalement sont des auxines. Parmi les auxines ; l'acide indole acétique (AIA) ; il est issu du métabolisme du L-tryptophane chez de nombreux microorganismes bactéries ; champignons ; algues. L-tryptophane constitue le précurseur principal pour l'AIA (Ahmed et al ; 2005)

### 1.13 Le mode d'action

Les auxines sont les principaux régulateurs de la croissance des plantes ; elles présentent de nombreuses fonctions physiologiques telles que l'élongation des racines primaires ; la division cellulaire ; la formation des pigments ; la stimulation de la fixation de l'azote et la résistance aux différents facteurs de stress. Chez de nombreuses espèces de *Streptomyces* ; l'AIA aussi stimule la formation du mycélium et améliore la production des antibiotiques (Matsukawa *et al* ; 2007).

## 1.14 Le rôle des actinomycètes dans la décomposition du compost

Voyons les organismes les plus actifs parmi la faune du compost ; ils peuvent être en 2 catégories ; les microorganismes et les macroorganismes (Deloraine *et al* ; 2002). Parmi les microorganismes les bactéries et les actinomycètes ;

D'après MUSTIN (1987) ; Les actinomycètes réagissent mal dans les conditions d'acidité (pH 5) et d'humidité importantes ; mais interviennent au mieux dans les zones de températures moyennes du tas de compost. Les actinomycètes prennent le relais à la fin des processus de décomposition et produisent alors souvent des antibiotiques qui bloquent la croissance des bactéries. Elles ont une préférence pour les matières organiques dures ; et se sont-elles qui donnent au bon compost cette plaisante odeur d'humus. Elles sont importantes dans la formation de cet humus ; elles libèrent du carbone (C) ; de l'azote nitrique (NO<sub>3</sub>) et du nitrate d'ammoniac (NH<sub>4</sub>) ; mettant ces nutriments à la disposition des plantes. De ce fait ; les genres *Streptomyces* et *Nocardia* représentent environ 90% de la biomasse des actinomycètes présentes dans le compost.

## 2 Le compostage

### 2.1 Généralité sur le compostage

Le compostage est un processus aérobie dans lequel des matériaux biodégradables sont bio transformés pour former, après maturité, un compost stable et riche en humique. (Ben Aye *et al*, 2005).

Le compost produit, très riche en substances humiques, constitue un amendement organique qui améliore la biodiversité des sols et les propriétés physicochimiques de ce dernier. Ainsi, il lutte contre son appauvrissement par minéralisation des éléments nutritifs assimilable par les plantes cultivées (Giloux, 1995 ; Soudi, 2001 ; Leclerc, 2001) et par conséquent, il contribue énormément à diminuer les besoins en engrais industriels (Denys, 2002).

Le compostage est une technologie en pleine expansion pour le recyclage des déchets organiques. Il s'agit d'un processus qui produit des substrats microbiens, chimiques et poussiéreux. C'est une pratique très connue et très utilisée par les agriculteurs. D'ailleurs elle est apparue chez les anciennes civilisations et plus précisément la civilisation d'Extrême-Orient (Aubert ,1993).

### 2.2 Définition et principe de compostage

Le compostage est un processus de décomposition et de synthèse .il est souvent défini comme une bio-oxydation de matière organique présentes provoquée par des microorganismes indigènes en condition contrôlées ; en effet, dès que les conditions physico-chimiques (aération ; humidité; température). Le permettent ; les microorganismes constituent une flore complexe (bactérie, levure, champignon etc.) qui se met en activité rapidement .cette activité se produit par une dégradation

## les actinomycètes

microbienne aérobie de la matière organique solide qui génère une chaleur intense responsable de la phase thermophile (Mustin, 1987 ; ANRED, 1999 ; ENSP, 2002).

L'augmentation de température et la composition microbienne permettent pasteurisation du compost par la destruction des microorganismes pathogènes et exercent une sélection sur la diversité microbiologique du compostage (de Bertoldi *et al.*; 1983; Mustin, 1987).

Le compost est aussi le résultat

- D'une technique biologique de dégradation de matière organique qui donne de l'humus, agent stabilisant du sol et sa fertilité.
- D'une activité microbiologie complexe qui se produit dans conditions particulières.

On peut aussi dire que le compostage est un produit organique stable et sain semblable Au sol, riche en composé humiques et fluviques (Mustin, 1987).

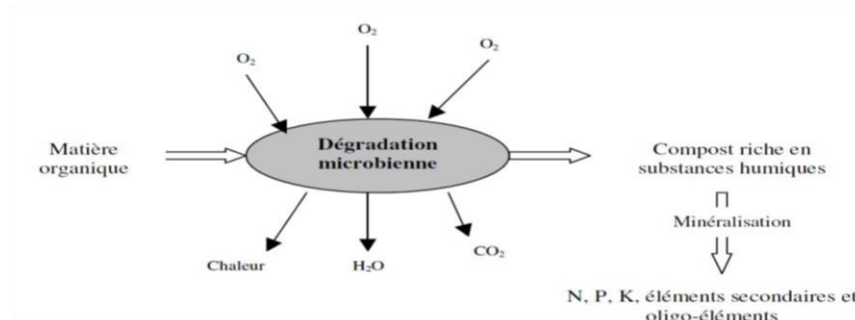


Figure 4: schéma simplifié du processus de compostage (Aboulam, 2005).

### 2.3 Les phases du compostage

Ces phases sont largement décrites par les auteurs (Mustin, 1987 ; Chevalier, 1990 ; Leclerc, 2001). Le processus de compostage se déroule en trois phases selon le développement de température :

. **La phase mésophile** c'est la phase oxydative ou décomposition du compostage.

Durant les premiers jours, la matière organique facilement biodégradable (protéines, sucres, hémicellulose...) est dégradée en gaz et en produits minéraux ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ...) ce qui entraîne une forte activité microbienne générant une rapide montée en température à l'intérieur du compost, donc la température s'élève progressivement à cause de l'activité et la croissance des microorganismes mésophiles aérobies. Dans la plupart des cas la température, atteint rapidement les 70 à 80 °C durant les deux premiers jours (Sierra *et al.*, 2013). L'activité de la population microbienne mésophile est inhibée à des températures trop élevées, il leur succède alors d'autres population microbienne et fongique dite thermophile.

#### La phase thermophile

## les actinomycètes

Durant cette phase, l'activité des champignons s'arrête pour laisser la place au développement des actinomycètes et des bactéries thermophiles. Ces derniers, qui conduisent une importante minéralisation de la matière organique à très haute température supérieur à 70 °C. Au cours de cette phase, on note une décomposition des particules organiques complexes en des particules plus petites qui peuvent être utilisées par d'autres microorganismes. Dans cette étape, une grande partie de matière organique est perdue sous forme de CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O.

### La phase de maturation ou de stabilisation

Cette phase est remarquée par un ralentissement de l'activité microbienne. Elle est adaptée à la colonisation par des macro-faunes, en particulier les vers de terre.

Sur la figure 2, les deux premières phases sont regroupées sous le nom de fermentation. Le compost évolue en condition aérobie, l'évolution de température au sein du compost dépend de la production interne de la chaleur et des échanges avec l'extérieur (Francou, 2003).

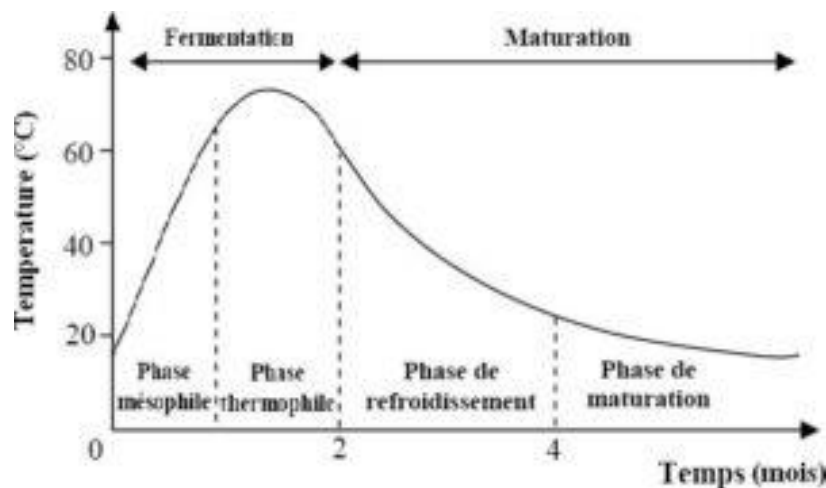


Figure 5 : Courbe théorique d'évolution de la température au cours du compostage (Francou, 2003).

## 2.4 Les Paramètres de compostage

Le compostage est un processus spontané dans la nature, lié à plusieurs facteurs aussi bien physiques, chimiques que biologiques pour la production d'un compost qualité. Des nombreux facteurs permettent d'accélérer la dégradation de MO pour favoriser l'activité microbienne qui améliorent le substrat nutritif et régulent les conditions de pH; de température, d'humidité et d'aération (Yulipriyant, 2001).

**A/pH** orientent les réponses de compostage en favorisant certains types de microorganismes. Un pH acide provoque la croissance de bactéries et de champignons au début du processus de compostage, tandis qu'à un pH basique, des actinomycètes et les bactéries alcalines se développent la plupart des

## les actinomycètes

bactéries impliquées dans le compostage ont un pH idéal entre 6 à 8, alors que les champignons sont plus tolérants aux de pH 5 à 8,5 généralement, à la fin du processus de fertilisation (phase de maturation), le pH est équilibré vers la neutralité (figure3).(yulipriyant, 2001).

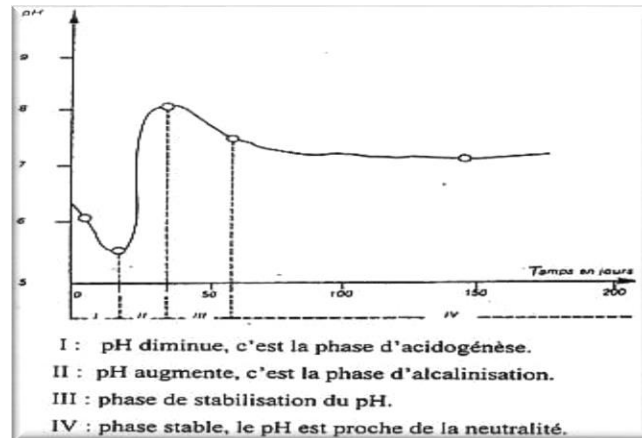


Figure 6 : courbe de variation du pH au cours du compostage (Mustin, 1987).

**B/Humidité** du substrat ou teneur en eau c'est la condition de bon démarrage et le bon déroulement de compostage et aussi considéré comme un facteur important pour l'activité microbienne, la teneur de l'eau optimal dépend de la densité du milieu (Mustin, 1987).

Le compost doit être humidité pour permettre aux microorganismes de se développer car ces derniers ont besoin d'eau. Le taux d'humidité idéal se situe aux entre 50-60% (Gajalakshi & Abbasi, 2001). L'élévation de la température dans un tas va provoquer un phénomène d'évaporation de l'eau sous l'effet de l'énergie calorifique libérée par la fermentation.

**C/Température** c'est un facteur important du compostage, c'est un paramètre de suivi facile à mesurer qui permet d'évaluer l'équilibre biochimique de la matière lors du processus de compostage, en effet, la température est une mesure indirecte de l'activité microbienne. Il reflète système d'échange thermique de masse en compostage (Belgoeth *et al*, 2004).

L'augmentation de la température est due à la chaleur émise par l'activité microbienne une partie de cette chaleur est stockée grâce aux propriétés isolantes des déchets organiques, en mass solides, dans l'eau et dans les gaz des espaces interstitiels (Barrington *et al*, 2003).

**D/Aération** c'est en interaction négative avec l'humidité. L'augmentation de teneur en l'eau joue un rôle important dans le transport des éléments nutritifs pour l'activité métabolique, physiologique des microorganismes (Taquia *et al*, 2005). Donc la teneur en l'eau réduit la part de l'espace



## les actinomycètes

Rempli d'air, il est nécessaire de prévoir de l'aération pour les déchets en compostage afin de donner de l'oxygène aux microorganismes (Mustin, 1987). La température et le pH, humidité et l'aération sont des facteurs interconnectés lors de compostage (strom, 1985).

### 2.5 Les populations microbiennes

En microbiologie, le compostage est un processus microbien. Les différentes étapes du compostage correspondent à différents environnements et divers communautés microbiennes (Yulipriyant, 2001).

Les principaux microorganismes présents dans un compost sont les bactéries, les actinomycètes et les champignons (spores et mycélium). Il a été rapporté plus de 155 espèces de procaryotes, dont 33 actinomycètes, et 408 espèces fongiques (Ryckeboer *et al.* 2003).

Les bactéries sont toujours présentes (en quantité et en qualité) et largement dominantes dans les déchets organiques (Barje, 2010). Plusieurs études ont montrés la grande diversité des bactéries et leurs grandes distributions en fonctions des phases de compostage (tableau

*Tableau 2 : différents microorganismes isolées en fonction des phases de compostage (Ryckeboer et al, 2003; Haruta et al ; 2005)*

Phase mésophiles	Phase thermophile	Phase maturation
Bacillaceae, Clostridiaceae, Corynebacteriaceae, Enterobacteriaceae,	Actinomycètes: Streptomyetaceae, Thermoactinomycetaceae, Micromonosporaceae,	Autre actinomycètes

Les bactéries filamenteuses multicellulaires agit plus tard que les autres et joue un rôle important dans le processus de compostage, cas des actinomycètes Tuomela *et al.*, 2000). Pendant la phase thermophile et la phase de maturité du compostage, Deloraine 2002 a montré que les actinomycètes thermophiles présentent  $10^3$  UFC/g MS dans la matière première et  $3.10^6$ UFC/g MS dans le produit final (compost). Le genre *thermomonospora* (avec un pourcentage de 75 %) et le genre *Thermoactinomycès* (10%) sont dénombrés au début de processus. *Saccharomonospora viridis* et *Faeni arectivirgula* sont des populations qui existent à la phase de maturation. Ces actinomycètes sont des bactéries à croissance

## **les actinomycètes**

lente et qui tolèrent un pH légèrement alcalin. Ils peuvent cependant dégrader la cellulose et la lignine comme certains champignons.

Parmi les champignons la plupart préfèrent un environnement acide et tolèrent avec un niveau modérément élevé de l'azote nécessaire à leur développement. La majorité des champignons sont mésophiles et se développent entre 5 et 37 °C (Dix et Webster, 1995). Ces derniers ont la possibilité de consommer les éléments non transformés par les bactéries (Godden, 1986). Selon Tuomela (2000), Les champignons thermotolérants sont capables de dégrader la lignine, la cellulose et /ou hémicellulose.

En plus de ces trois catégories (bactéries, champignons et actinomycètes), nous avons aussi les algues, les virus, les protozoaires et les macro-organismes tels que les vers de terre et les insectes, les polypodes.....etc. tous ces organismes peuvent coexister et coloniser le compost.

## **2.6 Le métabolisme du carbone et d'azote durant le compostage**

Pour la pratique du compostage, le carbone et l'azote sont principales ressources de la croissance bactérienne. Les bactéries oxydent le carbone pour obtenir de l'énergie et incorporation de l'azote pour la synthèse de protéines (fourti ,2013). Il y a trois types de réactions intéressantes au métabolisme du carbone

(Golueke, 1991): la respiration des microorganismes leur fournit l'énergie; l'assimilation des substances de base leur permet la synthèse des molécules et la réorganisation du carbone.

Pour l'azote il est présent au début du compostage dans des molécules telles que l'urée et l'ammoniac, c'est un constituant cellulaires et entre dans l'ensemble des réactions du cycle de l'azote: nitrification, dénitrification, fixation, minéralisation ou ammonification (beffa *et al*, 1995).

A decorative border resembling a scroll, with a black outline and rounded corners. The top-left and bottom-left corners feature a scroll-like flourish that curves inward and then outward.

**Matériels**  
**et**  
**Méthodes**

## Matériels et Méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Génie Microbiologique et Application (GMA) ; de L'Université Frères Mentouri Constantine 1 ; le travail a duré un mois (de 1 à 30 juin).

L'objectif de notre travail est l'étude morphologique de la souche *Streptomyces xantholiticus* ; le teste de sa capacité à produire l'acide indole acétique AIA et enfin l'étude des différents paramètres physicochimiques qui influence sur la production de l'AIA.

## 1 Matériel biologique

Notre étude a été réalisée sur une bactérie de la collection du laboratoire appartenant à l'espèce *Streptomyces xantholiticus*

### 1.1 Revivification de la souche

La souche *Streptomyces xantholiticus* est conservée à -18°C dans le milieu liquide ISP2 avec du glycérol (v/v). En microbiologie ; les souches conservées viable et à l'identique ; c'est-à-dire dans des conditions qui gardent le génome à l'identique. Après une longue conservation ; la souche est revivifiée en procédant comme suit :

On ensemence avec l'anse de platine la souche conservée dans le milieu ISP5 (annexe) à la surface par des stries serré puis ; on incube à 30°C jusqu'à apparition des colonies

### 1.2 Examen macroscopique

L'étude morphologique de la souche *Streptomyces xantholiticus* est basée sur l'observation à l'œil nu des cultures (déterminer l'aspect ; la taille ; la forme ; et la couleur des colonies) sur différents milieux gélosés : Milieu ISP5, ISP7, Glucose asparagine et le milieu DSMZ 65. La composition des milieux est indiquée en annexe.

### 1.3 Examen microscopique

Observation au microscope optique ; après culture selon la technique des lamelles ; permet de mieux caractériser les actinomycètes. Cette technique consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans les quatre milieux gélosés ; ensuite une goutte de l'inoculum de la souche est déposée contre la lamelle en contact avec le milieu

Après 5 jours d'incubation à 30 °C la lamelle est retirée soigneusement de la gélose puis déposée sur une lame propre ; Puis fixés en passant par des mouvements rapides dans la chaleur du bec bunsen. Après fixation ; la lamelle est recouvert par le bleu coton pendant 1 min ; puis lavée à l'eau distillée et séchée ; la lame est observée au microscope optique (objectif×40 puis ×100)

### 1.4 la production des pigments mélanoïdes

## Matériels et Méthodes

La mise en évidence de la production des mélanines (pigment brun diffusible) est réalisée sur le milieu ISP7 (voir l'annexe) par des stries médianes en boîte de pétri ; les boîtes sont incubées à 30 °C et la production des mélanoides est appréciée après 7 jours ; 14 et 21 jours d'incubation

### 1.5 La Production de l'acide indole acétique AIA

#### 1.5.1 Préparation des milieux de cultures

Nous avons préparé 8 milieux de cultures à base de bouillon tryptophane dans des conditions variables ; pH valeurs 7,5 et 9 ; température d'incubation 30 °C et 40 °C ; taille de l'inoculum 0,5 ml et 1 ml et la concentration en NaCl 10% et 5%

Le tableau 3 suivant résume les conditions de T ; pH ; la concentration de NaCl et la taille d'inoculum utilisés dans les milieux

*Tableau 3 : les conditions physicochimiques utilisées dans les milieux*

Milieux	pH	Taille de l'inoculum	Concentration De NaCl %	Température d'incubation
M1	7.5	2%	10%	30 °C
M2	9	1%	10%	30 °C
M3	7.5	2%	5%	30 °C
M4	9	1%	5%	30 °C
M5	7.5	1%	5%	40 °C
M6	9	2%	5%	40 °C
M7	7.5	1%	10%	40 °C
M8	9	2%	10%	40 °C

#### 1.5.2 Préparation de l'inoculum

Nous avons préparé la suspension sporale à partir des spores raclées d'une boîte de pétri contenant une culture âgée de la souche *Streptomyces xantholiticus* sur le milieu ISP5 ; dans des tubes on a mélangé la masse sporale avec de l'eau physiologique ; puis la densité optique de notre suspension a été lue à 660 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible.

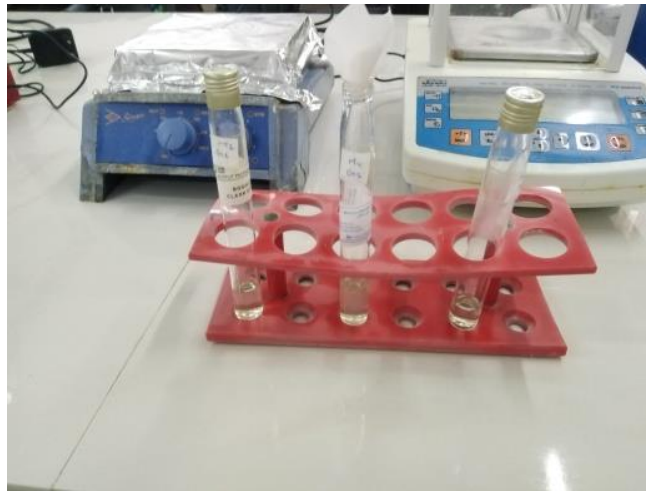
### 1.5.3 Ensemencement

Dans 50 ml de milieu de culture nous avonsensemencés les cultures ; 4 flacons par 1% (0,5 ml) d'inoculum et 4 flacons par 2% (1ml) ; l'incubation se faite à 30 °C et à 40 °C pendant 8 jours.

### 1.5.4 Récupération des filtrats

Après incubation pendant 4jours à 30°C et 40°C ; 5 ml de la suspension sporale ont été filtrées dans des tubes à travers du papier filtre whatman n° 4

La même étape est répétée après 8 jours d'incubation



*Figure 7: la filtration de suspension sporale après 4 et 8 jours d'incubation*

## 1.6 Le dosage de l'auxine

Le dosage de l'auxine a été selon la méthode colorimétrique basé sur la réaction de Salkowski

### 1.6.1 Préparation du réactif de Salkowski

Nous avons préparé le réactif de Salkowski ; on a mis 50 ml (35%) d'acide perchlorique avec 1 ml de Chlorure de fer  $\text{FeCl}_3$  que nous avons déjà préparés en solution (50 ml eau distillé avec 4,06 g  $\text{FeCl}_3$ ).

### 1.6.2 Dosage de l'auxine au spectrophotomètre

L'estimation de l'acide indole acétique dans les filtrats a été réalisée par la technique colorimétrique décrite par Brick *et al.* ; (1991). 2 ml du filtrat ont été ajoutés à 4 ml de réactif de Salkowski. Après agitation ; ils ont été mis à l'obscurité pendant 20 minutes. La coloration rose révèle la présence de l'auxine. La DO a été lue à 530 nm avec le spectrophotomètre UV-Visible (Rabhi ; 2012) ; les taux de

## **Matériels et Méthodes**

l'AIA libérés ont été calculés à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage et exprimés en  $\mu\text{g} / \text{ml}$ .

A decorative border resembling a scroll, with a black outline and rounded corners. The top-left and bottom-left corners feature a scroll-like flourish.

# **Résultats et Discussion**



## Résultats et Discussion

Le but de notre travail est l'étude morphologique de la souche *Streptomycesxantholiticus* et l'étude de sa capacité à produire l'acide indole acétique.

### 1 La mise en culture de la souche

Après une incubation de 7 jours à 30 °C sur le milieu ISP5 ; les colonies de *Streptomycesxantholiticus* apparaissent de tailles de 1 à 2 mm de diamètre. Elles incrustées dans la gélose, rondes, sèches de couleur blanche avec une absence de production de pigments diffusibles.



Figure 8: culture de la souche *Streptomyces xantholiticus* sur le milieu ISP5

### 2 Les caractères cultureux de la souche

La croissance de la souche *Streptomycesxantholiticus* sur le milieu ISP5 est observée après 7 ; 14 et 21 jours d'incubation ; les résultats sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 4: les caractères cultureux de la souche *Streptomycesxantholiticus* sur le milieu ISP5

Période d'incubation	aspect	forme	MS	MI	sporulation	pigment	
						surface	revers
7 jours	poudreux	ronde	moyenne	moyenne	moyenne	blanche	beige
14 jours	poudreux	ronde	moyenne	moyenne	abondante	Blanche à grise	Grise foncée à noir
21 jours	poudreux	ronde	Abondante	moyenne	abondante	Grise foncée	noir

Les figures ci-dessous représentent le suivi de la croissance de *Streptomycesxantholiticus* après 7, 14 et 21 jours d'incubation sur le milieu ISP5 ; ISP7 ; DSMZ65 et Glucose-Asparagine.

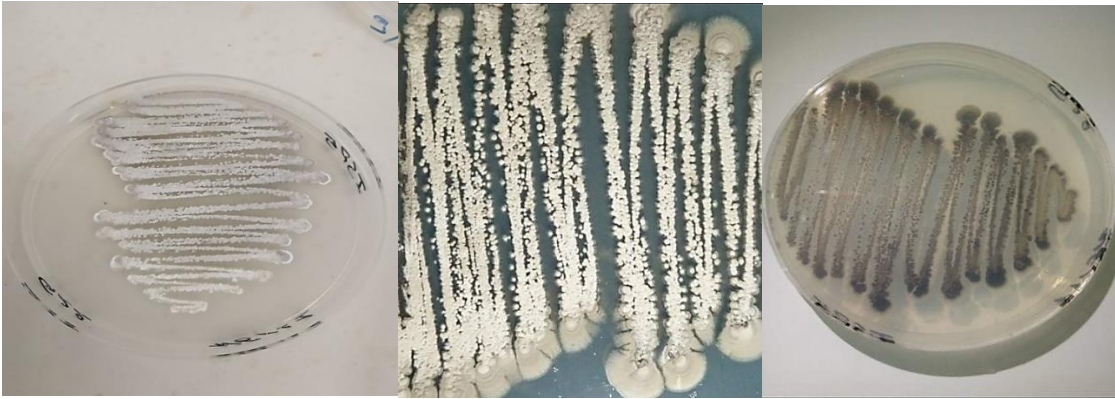


Figure 9: aspect macroscopique de la souche *Streptomycesxantholiticus* sur le milieu ISP5 après 7 et 14 et 21 jours d'incubation

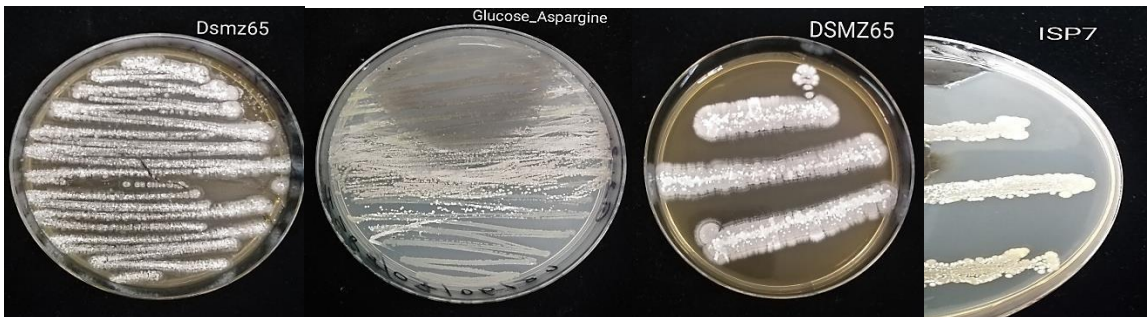


Figure 10 : les caractères cultureux de *Streptomycesxantholiticus* sur les différents milieux de cultures après 21 jours d'incubation

Nous avons observés que la croissance et la sporulation de la souche *Streptomycesxantholiticus* est abondante sur le milieu ISP5 ; et elle est faible sur le milieu Glucose-Asparagine ; par contre sur le milieu DSMZ65, elle présente une bonne croissance et une sporulation abondante. La couleur du mycélium aérien à la surface est blanche et le mycélium de substrat coloré de beige à vert.

### 3 La production des pigments mélanoïdes

Les résultats illustrés par la figure montrent l'absence totale des pigments diffusibles. La production des pigments dépend de la composition du milieu et des conditions de culture

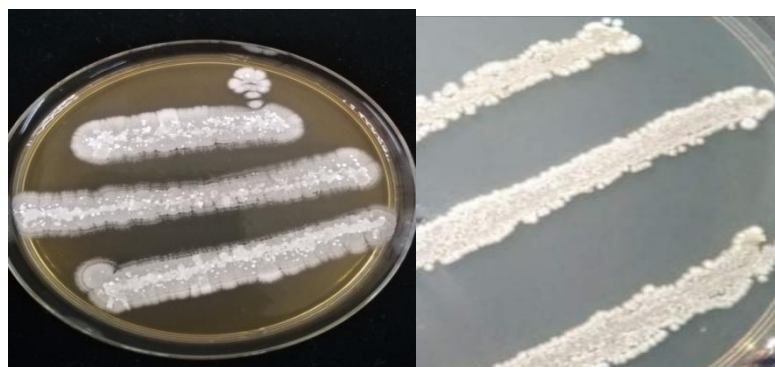


Figure 11 : observation macroscopique de la souche *Streptomycesxantholiticus* sur le milieu ISP7

#### 4 L'observation microscopique

Au cours de notre étude,; nous avons pu cultiver cette souche sur quatre milieux de cultures différents par la technique des lamelles (figure 12)

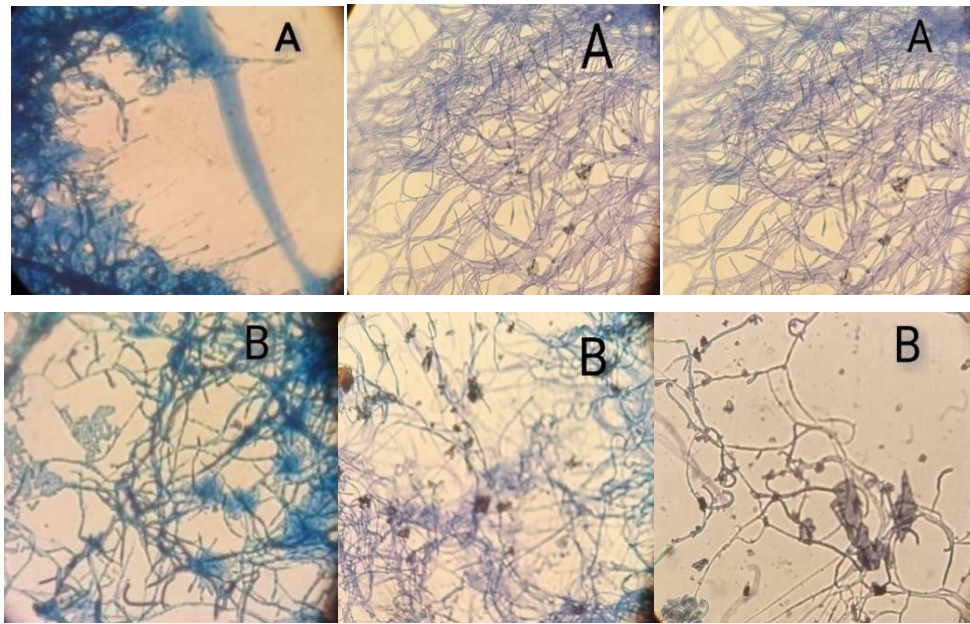


*Figure 12: culture de Streptomyces xantholiticus par la technique des lamelles*

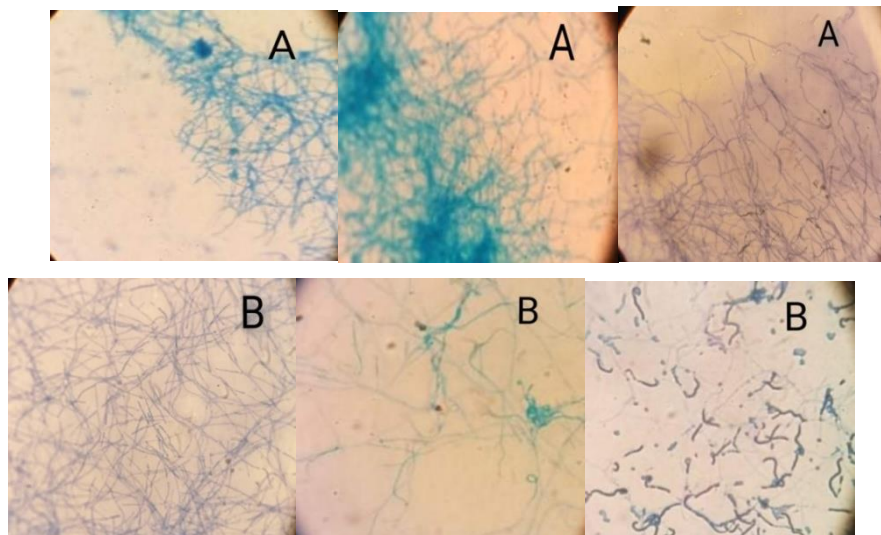
La souche *Streptomyces xantholiticus* présente un mycélium aérien ainsi qu'un mycélium de substrat sur les quatre milieux gélosés. Le tableau ci-dessous, représente l'aspect microscopique de cette souche après une observation au microscope optique (objectif×100)

*Tableau 5: aspect microscopique de la souche Streptomyces xantholiticus par la technique des lamelles.*

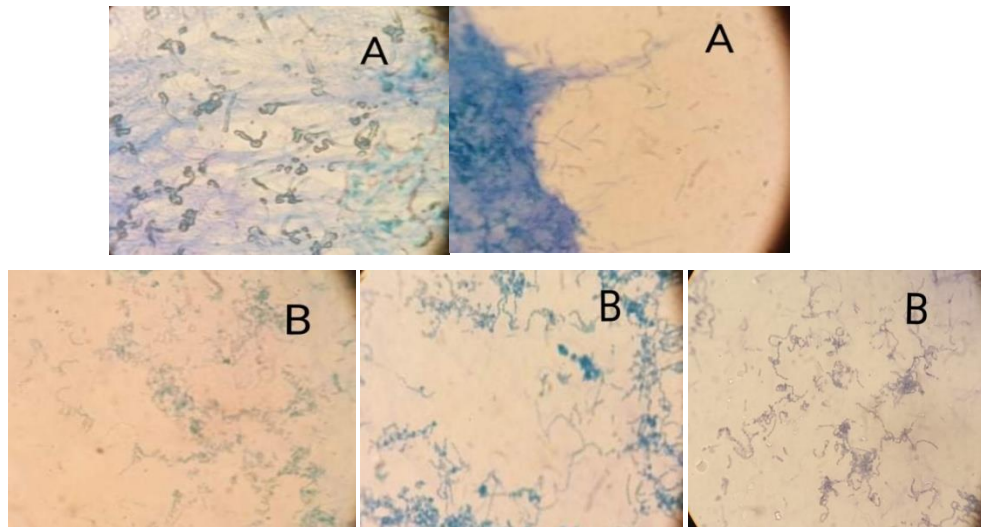
Milieux	Mycélium de substrat	Mycélium aérien
<b>ISP5</b>	Ramifié et non fragmenté	Ramifié enchevêtré
<b>ISP7</b>	Ramifié	Ramifié
<b>DSMZ65</b>	Ramifié	Bien développé portant des spores
<b>Glucose asparagine</b>	Ramifié	Ramifié et fragmenté



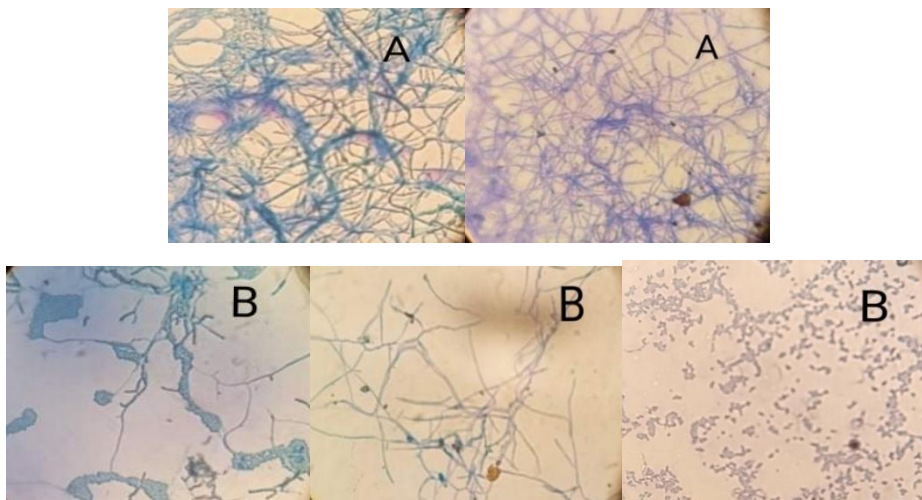
*Figure 13: observation microscopique ( $\times 100$ ) de la souche *Streptomyces xantholiticus* sur le milieu ISP5 après 7 ; 14 ; 21 jours d'incubation. A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien.*



*Figure 14: observation microscopique ( $\times 100$ ) de la souche *Streptomyces xantholiticus* sur le milieu Glucose-Asparagine après 7 ; 14 ; 21 jours d'incubation. A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien.*



**Figure 15: observation microscopique ( $\times 100$ ) de la souche *Streptomyces xantholiticus* sur le milieu DSMZ65 après 7 ; 14 ; 21 jours d'incubation. A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien.**



**Figure 16: observation microscopique ( $\times 100$ ) de la souche *Streptomyces xantholiticus* sur le milieu ISP7 après 7 ; 14 ; 21 jours d'incubation. A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien.**

L'examen microscopique de la souche sur le milieu ISP5 révèle la présence d'un mycélium aérien ainsi qu'un mycélium de substrat. On a observés de longs filaments très ramifiés ; après 7 jours d'incubation ; le mycélium de substrat bien développé et enchevêtré ; et le mycélium aérien qui est ramifié et non fragmenté. Après 21 jours d'incubation on observe la présence d'un mycélium de substrat moins développé ; et les ramifications diminuent chez le mycélium aérien et devient fragmentées

La souche *Streptomyces xantholiticus*, après 7 jours d'incubation, sur le milieu Glucose-Asparagine révèle la présence d'un mycélium aérien ramifié et fragmenté ; le mycélium de substrat un

## Résultats et Discussion

peu développé et non fragmenté. Après 21 jours, le mycélium de substrat est ramifié, non fragmenté et le mycélium aérien présente des fragmentations et donne des chaînes de spores.

Sur le milieu DSMZ65, le mycélium de substrat de la souche *Streptomycesxantholiticus* est bien développée et non fragmenté après 7 jours ; et peu développé après 14 et 21 jours. Le mycélium aérien est ramifié après 7 jours ; puis il se fragmente après 14 jours sur lequel se forment des chaînes de spores de forme spirale

Sur le milieu ISP7 ; la souche *Streptomycesxantholiticus* révèle la présence d'un mycélium aérien qui est ramifié et non fragmenté mais après 21 jours le mycélium aérien présente des fragmentations qui donnent des chaînes de spores. Le mycélium de substrat est enchevêtré et non fragmenté

## 5 Production de l'acide indole acétique

Après incubation des flacons de fermentation pendant 8 jours à 30 °C et 40 °C ; l'aspect macroscopique des cultures est résumé dans le tableau suivant.

*Tableau 6 : aspect macroscopique des fermentations*

<b>Flacons de fermentation</b>	<b>Limpide / trouble</b>	<b>Filaments/pellettes</b>	<b>Croissance (fond/surface)</b>
M1	trouble	Filament	Au fond
M2	trouble	filament	Au fond
M3	trouble	pellette	Au fond
M4	trouble	filament	Au fond
M5	trouble	filament	Au fond
M6	trouble	filament	Au fond
M7	trouble	filament	Au fond
M8	trouble	filament	Au fond

Après 8 jours d'incubation des cultures sur les milieux de fermentation ; la croissance des cultures au fond ; forme des filaments sauf dans le milieu M3 forme des pellettes ;

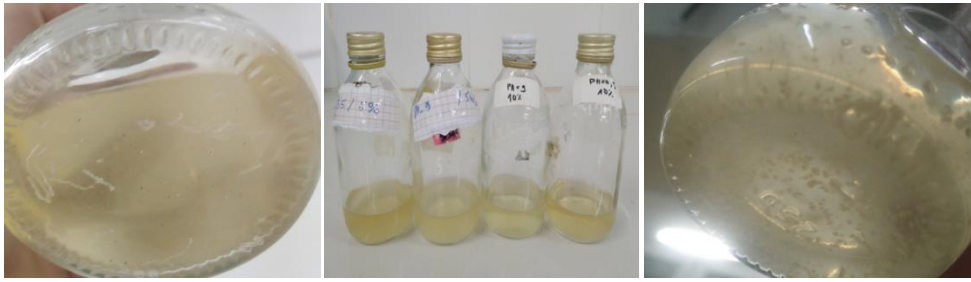


Figure 17: observation macroscopique des flacons de fermentations après incubation de 8 jours

La production de l'acide indole acétique a été réalisée après 4 et 8 jours d'incubation ; l'apparition d'une coloration rose montre la présence de l'acide indole acétique

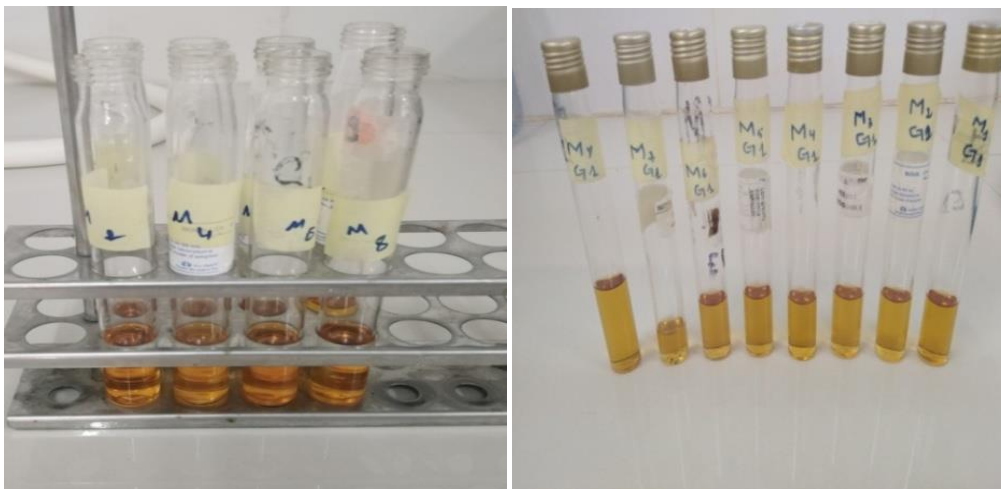


Figure 18: réaction colorimétrique de la souche *Streptomyces xantholicus*

## 6 Dosage de l'auxine au spectrophotomètre

La densité optique a été lue à 530 nm avec le spectrophotomètre ; les taux de l'AIA libérés ont été calculés à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage et exprimés en  $\mu\text{g}/\text{ml}$

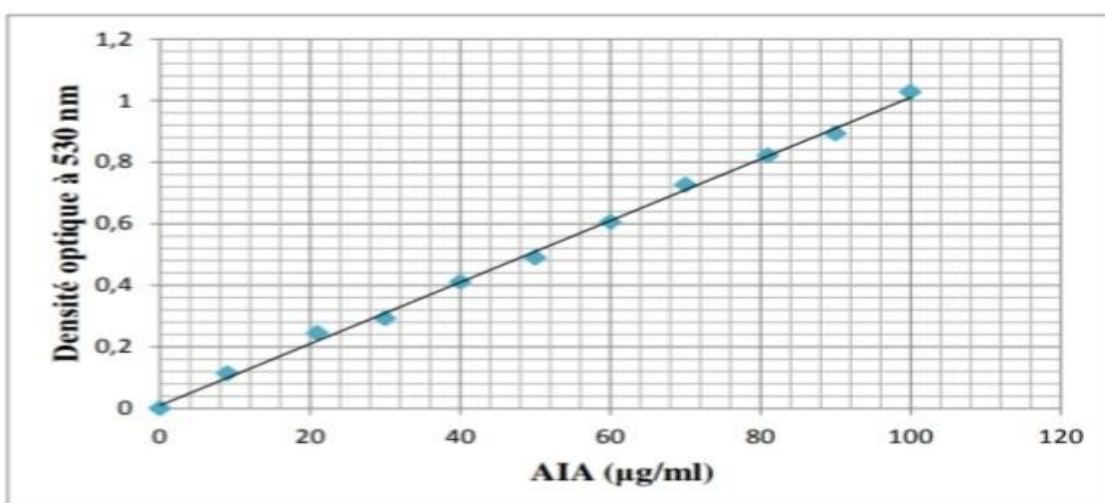
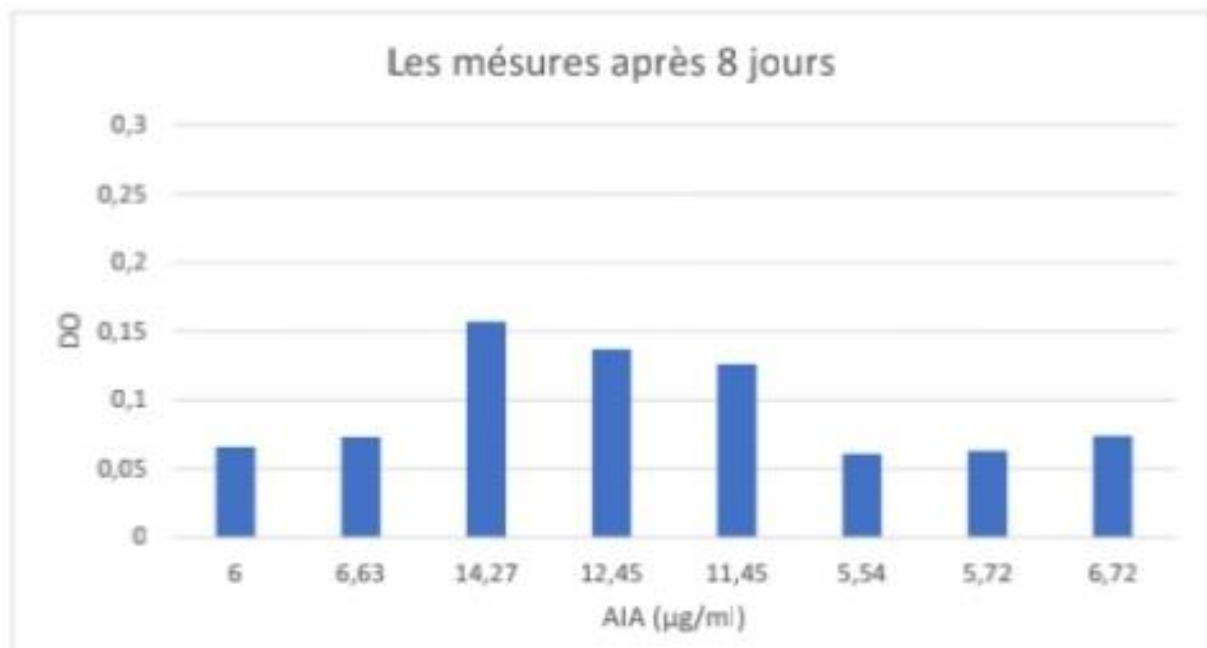
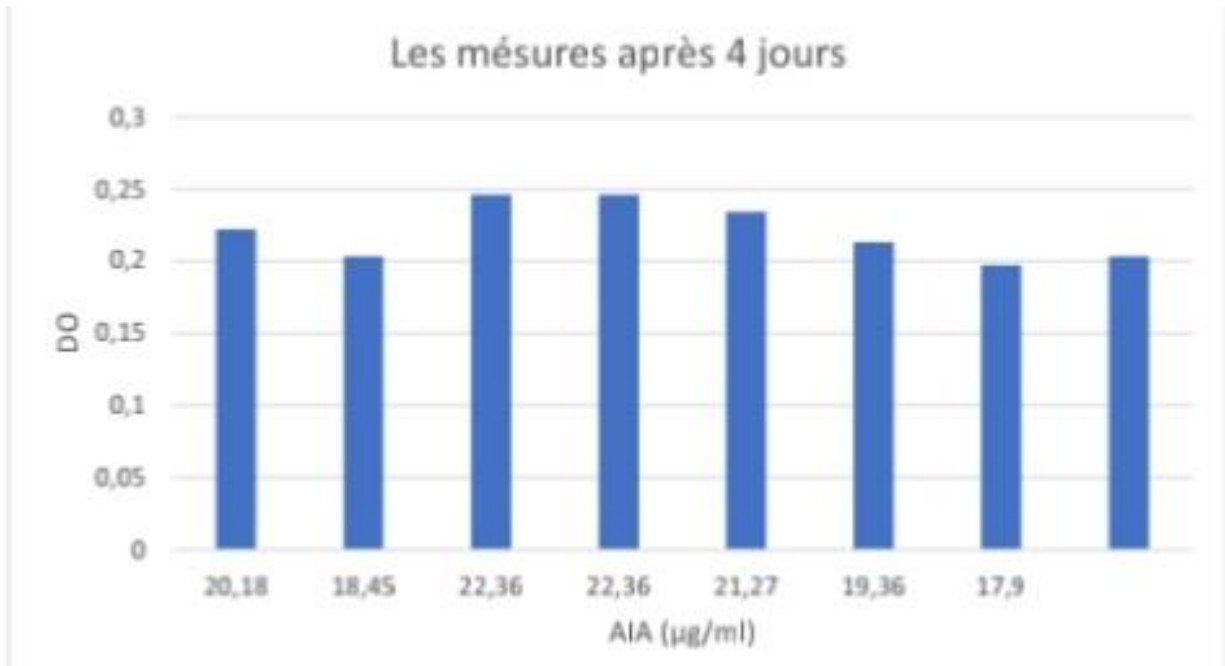


Figure 19 : courbe d'étalonnage de l'AIA (Annab et Dafri ; 2018)

Les taux de l'AIA libérés après 4 et 8 jours d'incubation sont présentés par les figures suivantes.



Après 4 jours d'incubation ; nous avons une production maximal dans le milieu M3 ; et M4 ; et une production minimale dans le milieu M7. Pour le deuxième dosage après 8 jours d'incubation ; les résultats montrent une production maximale de l'AIA dans le milieu M3 ; par contre dans le milieu M6 est la production la plus faible



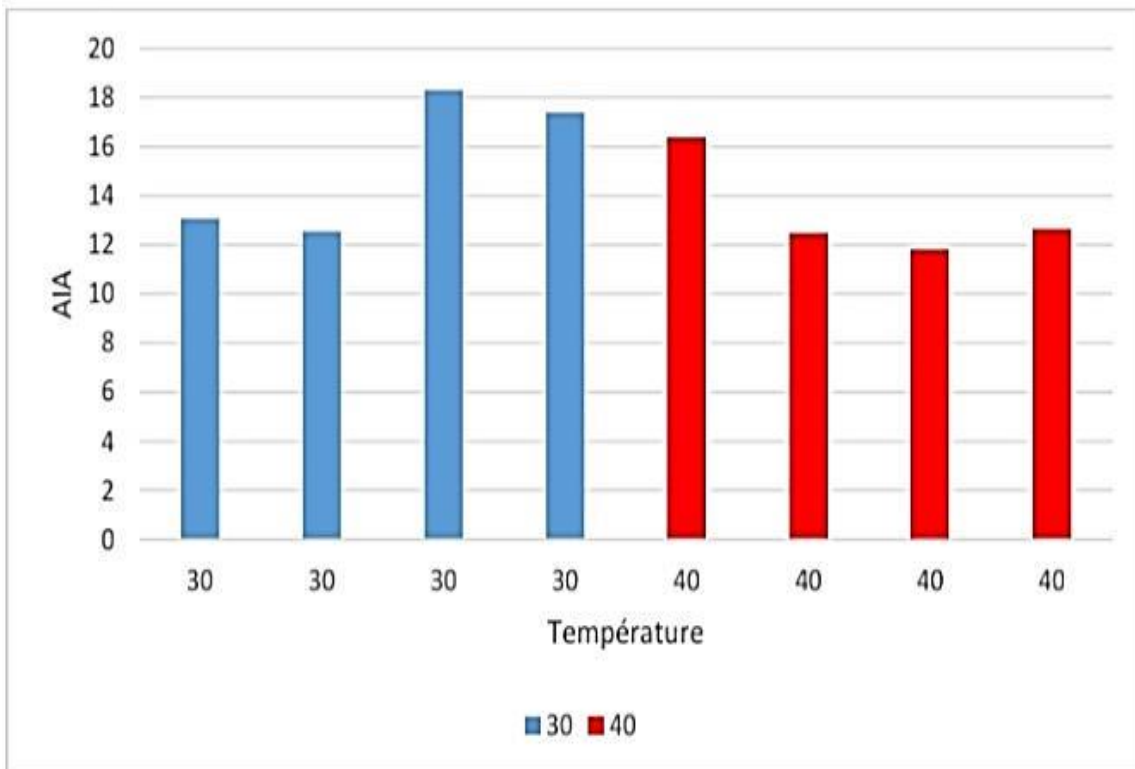
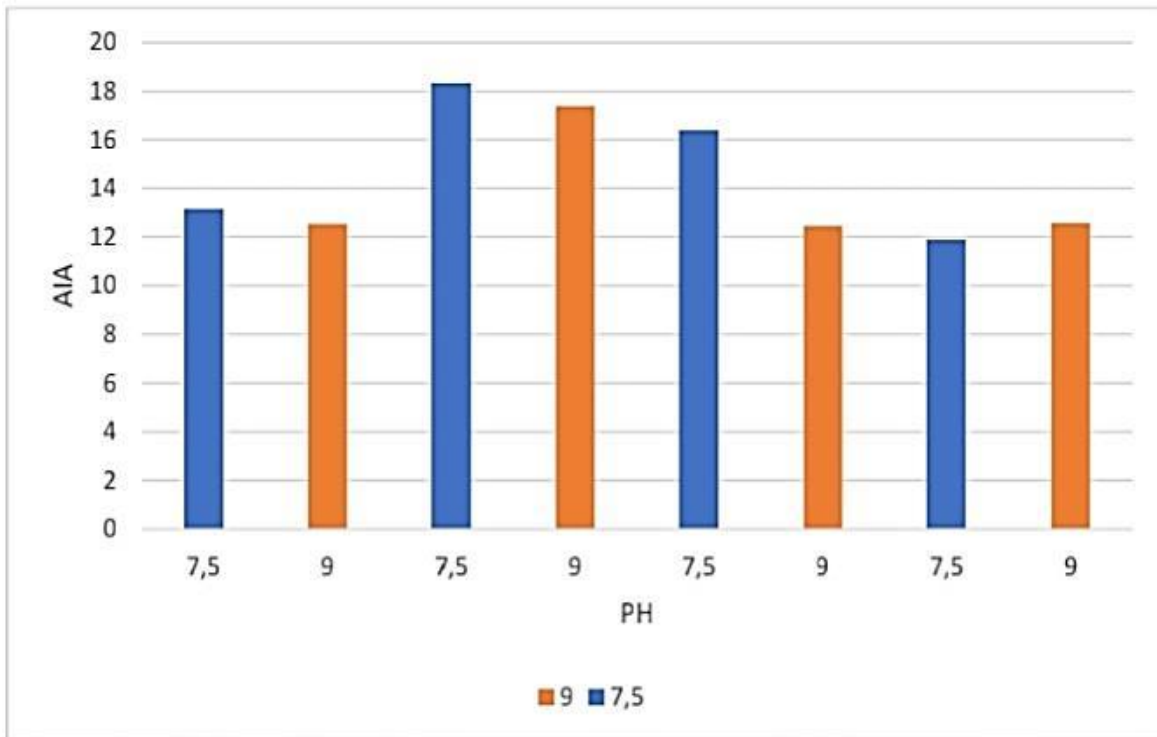


Figure 20 : l'effet de la température et du pH sur la production de l'AIA

## Résultats et Discussion

Après 4 et 8 jours d'incubation ; les résultats montrent que la quantité de l'AIA la plus élevée est pour le pH 7,5 et la meilleure température d'incubation est 30°C

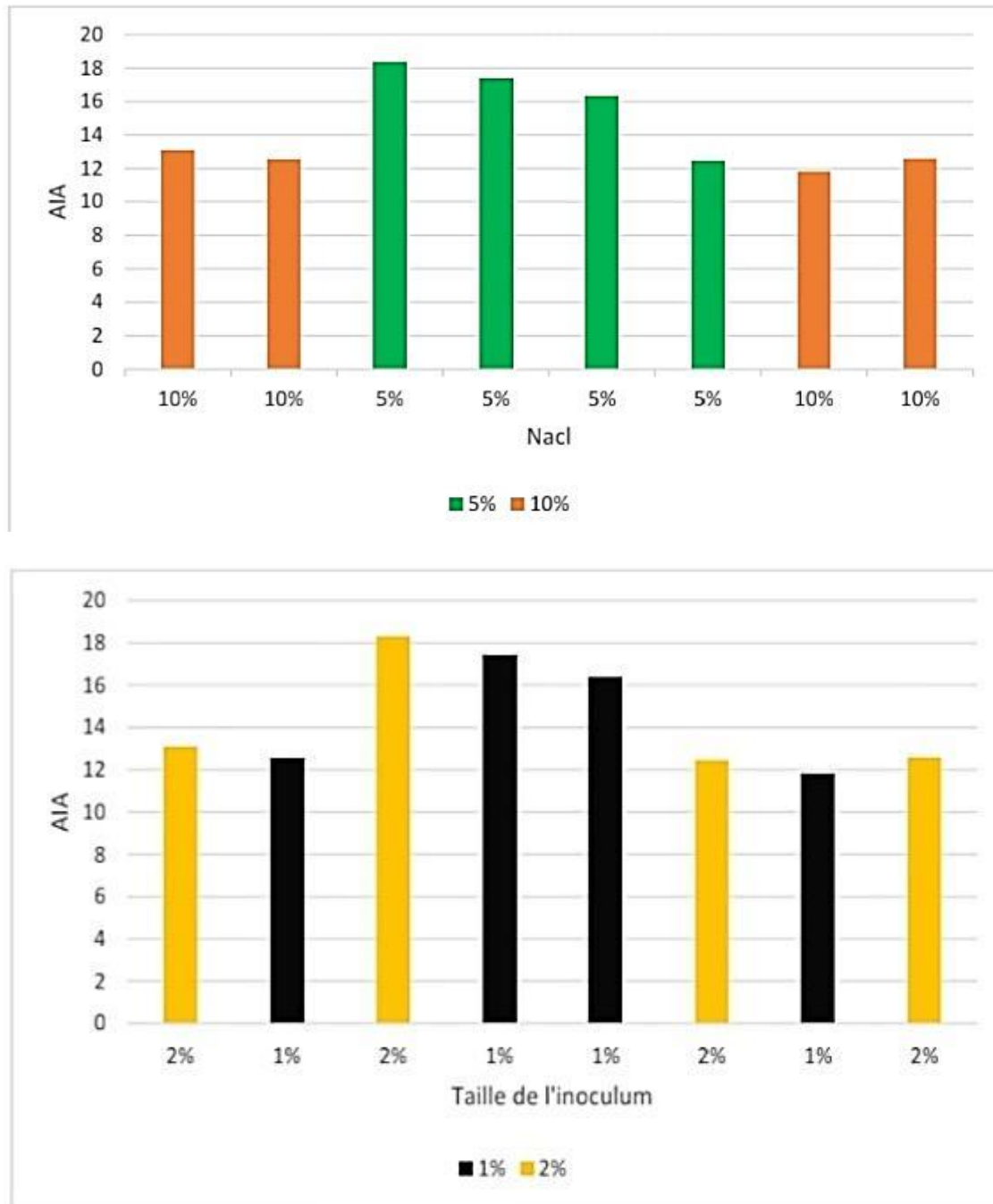


Figure 21: l'effet du NaCl et de la taille d'inoculum sur la production de l'AIA

La quantité de l'AIA la plus élevée a été observée avec 2% d'inoculum. Pour l'effet du NaCl ; les résultats montrent que la meilleure concentration de NaCl est égal à 5%



# Conclusion

### Conclusion

La souche *Streptomycesxantholiticus* est une bactérie filamenteuse ; mésophile et non pathogène appartenant à la famille des Streptomycetacea. Cette bactérie est principalement retrouvée dans les couches superficielles des sols.

Le but de notre travail c'est l'étude des caractères morphologique de la souche *Streptomycesxantholiticus* sur différent milieux de culture ; rechercher sa capacité à produire l'acide indole acétique ; et la détermination des effets des différents paramètres physicochimique sur la production de cette phytohormone

L'étude de l'aspect macroscopique de la souche *Streptomycesxantholiticus* nous a permis de déterminer les caractères cultureux ; la croissance de cette souche sur le milieu ISP5 donne des colonies d'une couleur blanche ; de 1 à 2 mm de diamètre ; de surface sèche ; et de relief plat

Nous avons recherché la production des pigments mélanoides sur le milieu ISP7 ; les résultats montrent l'absence des pigments diffusibles

L'étude microscopique de cette souche par la technique des lamelles nous a permis d'observer le mycélium aérien et le mycélium de substrat sur les différents milieux de cultures. Les résultats montrent la présence de mycélium aérien ainsi que le mycélium de substrat sur les quatre milieux que nous avons utilisés ; mais le bon développement du mycélium de substrat a été observé sur le milieu ISP5

La souche *Streptomycesxantholiticus* est testée aussi pour sa capacité à produire de l'auxine. La production et le dosage réalisé par une réaction colorimétrique de Salkowski qui nous a permis de caractériser la présence de l'acide indole acétique. Nous avons préparés des milieux de cultures avec des différentes concentrations de NaCl ; et différentes valeurs de pH ; nous avons inoculés à différentes tailles d'inoculum ; les cultures ont été incubées à des températures variables (40 °C et 30 °C) ; et la recherche de l'auxine a été après 4 et 8 jours

Les paramètres étudiés ont présentés un effet remarquable sur la production de l'AIA ; la quantité de l'AIA la plus élevée a été observée avec 2 % d'inoculum ; pour l'effet du NaCl ; les résultats montrent qu'après 4 jours la meilleure concentration est égale à 5% pour obtenir une production importante de l'AIA. Pour l'effet de pH ; la quantité de l'AIA la plus élevée est pour la valeur 7,5 ; et la meilleure température d'incubation pour obtenir une production importante est à 30°C ; par contre à 40°C la quantité est faible

Après 4 jours d'incubation ; nous avons une production maximal dans le milieu M3 et M4 ; le deuxième dosage après 8 jours montre que la production de l'AIA est maximal dans le milieu 3 ; par contre dans le milieu M6 et M7 la production est minimum

Cette étude préliminaire a montré la capacité des actinomycètes appartenant aux genres *Streptomyces* à produire l'AIA.



# Références

Références

- Lan L Pepper ; Charles Gerba et Terry Gentry. (2014).** Environmental Microbiology (troisième édition). Lan poivre, Charles Gerba, Terry Gentry. Les états unis d'Amérique. p : 76-78
- Boukahili A ; Chachoua H et Hammane M. (2020).** Caractéristiques des actinomycètes et de certains de leurs métabolites bioactifs (ATB et enzymes). Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master : Microbiologie Appliquée. Algerie : Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, p 2
- En Singer ; J. C ; Normand P ; Burdeur J.P ;et Yallop C. A. (1993).** Physiology of some actinomycètes genera ; Research in microbiology ; 144(8) ; 657-660
- Mohammadipanah F et Dehghani M. (2017).** Classification et taxonomie des Actinobactéries . Biology and Biotechnology of Actinobactéria. Springer, Cham. (22 juin 2017)
- [http:// doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1\\_4](http://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1_4)
- Oulmi L. (2014)** Etude des infections causées par les actinomycètes aérobie autres que les mycobactéries dans la région de Constantine. Thèse : Biochimie et Microbiologie Appliquées. Université Constantine 1. P : 203
- Boudjal F. (2012).** Taxonomie et Antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractéristique des composés bioactifs sécrétés par *Actinoallocteihus* sp. Thèse de doctorat à l'école National supérieur Agronomique d'El Harrache Alger ; Algérie
- Law jodi woan F ; Letchumanan V ; Loh Teng-Hern Tan ; Hooi-Leng Ser, Bey-Hing Goh et Learn-Han Lee. (2020).** The Extremophilic Actinobacteria : from Microbes to medecine (en ligne). Antibiotics (Basel). 8 jun 2021 ; 10 (6) :682
- [http:// doi. Org/10.36877/ PMID : 3201133 ; PMCID : PMC8230038](http://doi.Org/10.36877/ PMID : 3201133 ; PMCID : PMC8230038)
- Britanica (2021).** Les rédacteurs de l'encyclopédie. Actinomycètes (en ligne). 10 juin 2021
- [http:// www. Britanica. Com/ science/ actinomycete ; consulté 10 juin 2021](http://www.Britanica.Com/ science/ actinomycete ; consulté 10 juin 2021)
- Larpent J.P. (2000),** Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Classification des actinobactéries. Tec & Doc Edition, lavoisier.France. Le 13 novembre 2000
- AL Zarban S.S ; AL.Musllam A.A ; Abbas I. Stackebrandt E.K et roppenstedt R.M. (2002).** Saccharomonosporhalophilap.nov, a nouvel halophilicactinomycete isolated form marsh soil in Kuwait. Int J SyS Ev Microbiol 52 :555-558
- Goodfellow M et Williams S.T. (1983).** Ecology of actinomycetes Ann Rew Microbial 37 :189-216
- Luciano Paolozzi et Jean- Claude Liébart (2015).** (dir), Microbiologie, Dunod, P. 375-376
- Silvey J.K.G et Roach A.N. (1975).** the taste and odor producing aquatic actinomycetes . Crist.Rev Environ.control.5.233-273
- Loucif K. (2011).** Recherche de substances antimicrobiennes à partir d'une collection des souches d'actinomycetes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives

## Références

- Valan Arasu M, Duraipandiyan M, Agastian P et Ignacimuthu S. (2009).** In vitro antimicrobial activity of *Streptomyces spp.* ERI-3 isolated from western ghats rock soil (India) Activité antimicrobienne in vitro de *Streptomyces sp* ERI-3 isolé du sol rocheux du ghats occidentale. Journal de Mycologie médicale.19.22-28
- Brédy J. (2005).** Bioactive Microbial Metabolites, The journal of Antibiotics 58 (1). 1-26
- Sujatha P ; Bapi R et Ramana T. (2005).** Studies on a new marine Streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Microbiological Research . 160, 119-126
- Goodfellow M ; Kampfer P ; Busse HJ ; Trujillo ME ; Ludwig W ; Suzuki K et Withman WB. (2012).** Phylum XXVI ; Actinobacteria In : Bergey's Manual of systematic Bacteriology-37,189-216
- El-Tarabily K.A et Sivasithamparam ; K. (2006).** Non-Streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. Soil biology and Biochemistry. 38 (7), 1505-1520
- Hirsh C.F et Christensen D. L. (1983).** Novel method for selective isolation of actinomycetes. Applied and environmental microbiology. 46 (4), 925-929
- Kim S.B ; Seong C.N ; Jean S.J ; Bae K.S et Goodfellow M. (2004).** Taxonomic study of neurotolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil and description of *Streptomyces yeochonensis* sp.nov . Int. J. Syst. Evol-Microbiol. vol 54, 211-214
- Delaunay S; Rondays E et Germain P. (2003).** Production d'antibiotique par biotechnologie ; Tech de l'ingé. , J6008, 1-12
- Barakate M ;Ouhdouch Y ; Oufdou K.H et Bealieu C. (2002).** Characterization of rhizospheric soil Streptomyces from Moroccan habitats, and their antimicrobial activities. World J. Microbiol. Biotechnol. 18, 49-54
- El-Mehalawy A. (2004).** Influence of Maize Root colonization by the Rhizosphere Actinomycetes and Yeast. Fungi on plant Growth and on the Biological control of late with Disease. International journal of agriculture and biology. Vol 6. N° : 4. PP.599-605
- Ahmed F ; Ahmed I et Khan M.S. (2005).** Indole acetic acid production by the indigenous isolates of Azotobacter and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan . Turk.J. Biol. 29, 29-34

- Matsukawa F ; Nakagawa Y ; Limura Y et Hayakawa M. (2007).** Stimulatory effect of indole 3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. *Actinomycetol.* 21, 32-39
- Aboulam, S(2005).** Recherche d'une méthode d'analyse de la fonction des usines de tri-compostage des déchets ménagers. Fiabilité des bilans matière. Mémoire de fin cycle en vue de l'obtention du doctorant en polytechnique. Tunis: Ecole nationale supérieure Agronomique de Toulouse, p 123.
- ANRED (1999).** Le tri-compostage d'ordures ménagères. Cahier technique, 27, 85p.
- Aubert C (1998).** Le compostage des fumiers de volailles. Recueil des Interventions du 15 décembre 1998. Paris. ACTA/ADEME/Ministère de l'Agriculture et de la Pêche: 45-55.
- Barje F (2010).** Biotransformation du mélange des déchets d huileries d olive –ordures ménagères : approche physico-chimique, suivi biochimique, bilan humique et qualité agronomique. Thèse de 3eme cycle, université cadi ayyad, faculté des sciences semlalia, Marrakech.
- Barrington S, choiniere M et trigui ET W Knight (2003).** Compost convective airflow under passive aeration.
- Beffa T, Blanc M, Marilley L, Lyon P et Aragno M (1995).** Taxonomic and metabolic microbial diversity during composting, in: M. de Bertoldi, P. Sequi, B. LemmesT. Papi (Eds.), the Science of Composting. Blackies Academic and Professional, Glasgow, Scotland, pp. 149-161.
- Ben ayed L.et A. Hassan (2005).** caractérisation des paramètres physico-chimiques et microbiologiques au cours d'un cycle de compostage d'ordure ménagères. *Revue francophone d'écologie industrielle.* 40(N°4),p 1-16.
- Chevalier D (1990).** Le broyage compostage des déchets végétaux des collectivités. *L'eau, l'industrie, les nuisances,* 137:52-54.
- De Bertoldi M, Vallini G and Pera A. (1983).** The biology of componsing: A review. *Waste Management & Research,* 1:157-76.
- Deloraine A, Hedreville et Larthus C (2002)** .étude bibliographique sur évaluation des risqué lies aux bio-aérosols génères par le compostage des déchets, Angers, France, Ademe &carpes, P163.
- Denys S, leclery (2002).** Le courrier de l'environnement de l'INRA ; p:125-134.
- Dix N, Webster J (1995).** *Fungal Ecology,* Chapman & Hall Eds, pp. 549, Cambridge. DGCL-DEA, 1991. Direction Générale des Collectivités Locales- Direction de l'Eau et de l'Assainissement, Maroc - Principes et pratiques pour la gestion rationnelle des déchets solides municipaux – Document réalisé pour le Ministère de l'Intérieur Marocain avec le soutien de l'Agence Américaine pour le Développement International (USAID), 1991, 82p.
- Fourti O, Jedidi N et Hessen A ( 2013).** Physico-chemical aspects during the composting of municipal solid wastes and sewage sludge in a semi-industrial composting plant. *Afr. J. Microbiol. RES.* 7. p 1055-1068.



## Références

- Franco C (2003).** stabilisation de la matière organique à la cour de compostage de déchet urbains: influence de la nature de déchet et de porcidé de compostage-recherche d'indicat patinent; thèse de doctorat. Paris: institues nationale organique, p 289.
- Gajalakshmi SA et Abbasi S (2008).** Solid Waste Management by Composting: State of the Art. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 38, 311-400.
- Giloux P (1995).** Les finalités du compostage. T.S.M. N°2, p. 111-115
- Godden B (1986).** Etude du processus de compostage du fumier de bovin. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques, Université Libre de Bruxelles. Laboratoire de microbiologie.
- [Http://ethesis. Imp- Toulouse.fr/archives/0000156/](http://ethesis. Imp- Toulouse.fr/archives/0000156/) de Bertoldi M., G. Villain, A .pera 1983 .the biology of composting: a review. Waste Management ans research, 1: 157-176.
- Haruta S, Nakayama T, Nakamura K, Hemmi H, Ishii M, Igarashi Yet Nishino T (2005).** Microbial diversity in biodegradation and reutilization processes of garbage. Journal of Bioscience and Bioengineering 99, 1-11.
- Leclerc B (2001).** Guide des matières organiques. Éditions guide technique de L'ITAB.
- Mustin M (1987).** Le compost : gestion de matière organique. François Dubusc, Paris. P:975.
- Ryckeboer J, Margaret J, vaes k , klamer S, de clercq D., coosemans J et Insam H (2003).** Survey of bacteria and fungi occurring composting and self -heating processes .Ann. Of microbiology. 53
- Sierra J, Desfontaines L, L'oranger-Merciris G et Boval M (2013).** Composting and vermin composting of cattle manure and green wastes -under tropical conditions: carbon and nutriment balances and end production qualité. Soil Des. 51. p142-151.
- Soudi B (2001).** Compostage des déchets ménagers et valorisation du compost. Cas des petites et moyennes communes au Maroc. p 102.
- Tiquia SM (2005).** Microbiological parameters as indicators of compost maturity. Journal of Applied Microbiology. 99, p 816 - 828.
- Tuomela M, Vikman M, Hatakka A et Itavaara M (2000).** Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. Bioresource Technology 72, 169-183.
- Yulipriyant H (2001).** Emission d'effluents gazeux lors du compostage de substrats organiques en relation avec l'activité microbologique (nitrification/dénitrification). Université de Rennes, Rennes, pp. 210.



# **Annexes**

**Annexes****Le Milieu ISP5 en g/l**

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

**Le Milieu DSMZ 65 en g/l**

Glucose.....	4g
Extrait de levure.....	4g
Extrait de malt.....	10g
CaCO <sub>3</sub> .....	2g
Agar.....	12g
pH.....	7.2
Eau distillée.....	1000ml

**Le Milieu Isp7 en g/l**

Glycerol.....	15g
L-asparagine.....	1g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0.5g
Nacl.....	0.5g
FeSo <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O.....	0.01g
Agar.....	20g
pH.....	7.2
Eau distillée.....	1000ml

**Le Milieu Glucose asparagines en g/l**

Glucose.....	10g
L-asparagine.....	10g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0.5g
Agar.....	15g
pH.....	6.2
Eau distillée.....	1000ml

**Le Réactif de Salkowski**

FeCl <sub>3</sub> .....	4.06g
Acide perchlorique.....	75ml
Eau distillée.....	75ml

**La Solution saline pour l'ISP5**

Fe SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O.....	0.1ml
Mn Cl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O.....	0.1ml
Zn SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O.....	0.1ml
Eau distillée.....	100ml

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

**Filière :** Ecologie et Environnement

**Spécialité :** Ecologie Microbienne.....

### Titre

**Production de l'AIA par une souche actinobactérienne appartenant à l'espèce *Streptomyces xantholiticus***

### Résumé

Les actinomycètes sont un group de bactérie à Gram positive, la majorité d'entre elles se trouve dans le sol où elles jouent un rôle d'une importance capitale. Elles ont la capacité de dégrader les polymères comme la cellulose et la chitine. Les actinomycètes peuvent favoriser la croissance des plantes par la production de promoteurs de croissance tels que l'auxine AIA. Ce dernier est considéré comme la phytohormone majeure responsable du contrôle de la croissance et du développement chez les plantes. Dans notre étude pratique, nous avons testés la capacité d'une souche appartenant à l'espèce *Streptomycesxantholiticus* à produire l'auxine dans un milieu liquide en faisant varier des paramètres physicochimique (concentration en NaCl et pH, la taille de l'inoculum ainsi que la durée et la température d'incubation). La production et le dosage de l'auxine ont été étudiés par la méthode colorimétrique basée sur la réaction de Salkowski en se référant aux propriétés chimiques de l'AIA. Les résultats montrent que cette souche peut produire l'auxine dans des conditions bien définis. L'examen macro et microscopique de la souche confirme l'appartenance de la souche à l'espèce *Streptomycesxantholiticus*. La technique des lamelles nous a permis d'observer la structure du mycélium aérien et du mycélium de substrat sur les différents milieux de cultures utilisés.

**Mot clés :** Actinomycète, *Streptomycesxantholiticus*, Auxine, Acide Indole Acétique

### Membre du jury :

**Président du jury :** KITOUNI M. (prof-UFM Constantine)

**Rapporteur :** OULMI Lamia (MCB-UFM Constantine)

**Examineur :** ALLATOU R (Prof – UFM Constantine)

**Présentée par :** BOUTELDJA Ouiem  
Khantoul Sawsan

**Année universitaire :** 2020-2021  
**Date de soutenance :** 30/09/2021