

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/282507132>

CARACTERISATION D'UNE SOUCHE D' ACTIONBACTERIE , DIETZIA SP., PRODUCTRICE DE METABOLITES D'INTERÊT AGRICOLE

Article · September 2015

CITATIONS

0

READS

896

5 authors, including:



K. Dahdah

المركز الوطني للأبحاث في البيوتكنولوجيا قسنطينة, الجزائر البيئة National center f...

2 PUBLICATIONS 0 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Rai Abdelwahab

Université de Bouira

11 PUBLICATIONS 43 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Leila Bensidhoum

Université de Béjaïa

12 PUBLICATIONS 100 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Michael Schmid

Helmholtz Zentrum München

116 PUBLICATIONS 6,022 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Caractérisation, traitement et valorisation des boues résiduelles des stations d'épuration des eaux usées en Algérie [View project](#)



enzymes [View project](#)

CARACTERISATION D'UNE SOUCHE D'ACTION BACTERIE, DIETZIA SP., PRODUCTRICE DE METABOLITES D'INTERÊT AGRICOLE

K. DAHDAH¹, A. RAI¹, LEILA BENSIDHOUM¹, M.SCHMID², A.HARTMANN² ET
E.NABTI¹

¹Laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelables. Equipe : Biomasse et Environnement. Université de Bejaia-Algérie ; ²Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health (GmbH), Research Unit Microbe-Plant Interactions, Ingolstaedter Landstrasse 1, D-85764 Neuherberg, Germany
Correspondant auteur : El hafid Nabti e.mail : elhnabti1977@yahoo.fr

RESUME

Ce travail porte sur la recherche des bactéries productrices de métabolites d'intérêt agricole. Dans cette optique, la souche bactérienne nommée J16, a été isolée à partir d'un sol agricole rhizosphérique de la wilaya de Bejaïa (Algérie) et a été identifiée comme *Dietzia* sp. (Actinobactérié). Cette souche a montré plusieurs activités d'intérêt agricoles, elle produit de l'ammoniac et hydrolyse la cellulose, l'amidon, la chitine et les tweens 20 et 80 contrairement à l'urée et la caséine. Sa croissance est faible sur le milieu Jensen dépourvu de toute source d'azote. Pour la résistance aux métaux lourds, cette souche pousse dans des concentrations allant jusqu'à 1,5mM pour le CoSo₄, K₂Cr₂O₂ et PbCl₂. Pour le CdSO₄ et le HgSo₄, la croissance de *Dietzia* sp. est inhibée en présence de faibles concentrations (0,5mM). Cet isolat solubilise le phosphate inorganique et produit des sidérophores. *Dietzia* sp. produit de l'acide indole acétique (AIA) avec un maximum de 39 µg/ml après 40 heures d'incubation, la quantité de l'AIA diminue en prolongeant le temps d'incubation (32,5 µg/ml après 120h d'incubation).

Mots-clés : *Dietzia*, métabolites d'intérêt agricole, solubilisation du phosphate, sidérophores, AIA (Acide indole acétique).

ABSTRACT

The aim of this work is to look for bacteria producing metabolites with agricultural impact. In this context, the bacterial strain named J16 was isolated from an agricultural rhizospheric soil (Bejaia-Algeria), it was identified as *Dietzia* sp. (Actinobacteria). This strain showed several activities of agricultural interest, it produces ammonia; hydrolyses cellulose, starch, chitin, tween 20 and 80. But, casein and urea are not hydrolyzed. The strain growth is very weak on Jensen's medium devoid of any nitrogen source. Concerning the resistance to heavy metals, this strain is resistant to concentrations up to 1.5 mM for CoSO₄, K₂Cr₂O₂ and PbCl₂. For CdSO₄ and HgSO₄, the growth of *Dietzia* sp. is inhibited by low concentrations (0.5 mM). This isolate solubilizes inorganic phosphate and produces siderophores. *Dietzia* sp. produces indole acetic acid (IAA) to a maximum of 39 g / ml after 40 hours of incubation, the amount of IAA (Indole acetic acid) decreases by extending the incubation time (32.5 micrograms/ml after 120 hours of incubation).

Key-words: *Dietzia*, metabolites of agricultural interest, phosphate solubilization, siderophores, IAA (Indole acetic acid).

INTRODUCTION

La diversité énergétique et métabolique qui caractérise le domaine des Eubactérie est très remarquable. Ces Microorganismes sont placés à la base de la pyramide écologique et impliqués dans la formation du sol. Ils jouent aussi un rôle crucial dans le recyclage de la matière organique (Lecointre & Le Guyader, 2006). Leurs métabolites secondaires présentent une source incontournable de composés divers, impliqués dans plusieurs domaines : industriel, médical et agricole (Donadio et al., 2002).

Actinobacteria est un phylum regroupant des bactéries gram-positifs avec une haute teneur en G+C (Ventura et al., 2007), dans lequel se trouve la famille des *Dietziaceae*,

une famille monogénérique, qui comporte un seul genre ; *Dietzia* (Ludwig *et al.*, 2012). Le genre *Dietzia* est proposé pour la première fois par Rainey *et al.*, en 1995, dont l'espèce type est *Dietzia maris*, avant, était classée dans le genre *Rhodococcus*, sous le nom de *Rhodococcus maris*.

Le genre *Dietzia* est largement distribués dans l'environnement (Koerner *et al.*, 2009), il a été isolé à partir de l'air, sol, sédiments lacustres, boue de la mer, tissus végétaux, peau et intestins de la carpe (Rainey *et al.*, 1995b). Egalement, certaines espèces ont été isolées à partir des cas cliniques, c'est le cas *D. maris* et *D. papillomatosus* (Koerner *et al.*, 2009). Quelques espèces de ce genre dégradent les polluants, en plus peuvent servir comme outil biotechnologique pour assurer une bonne qualité des produits alimentaires (Gharibzahedi *et al.*, 2013).

Comme l'impact négatif des systèmes agricoles sur l'environnement deviennent évident, la production durable des produits agricoles gagne un intérêt croissant (Wichem, 2007), de ce fait, la communauté scientifique est attirée par les pratiques agricoles durables (Kannapiran & Sri Ramkumar, 2011), parmi ces pratiques, c'est de favoriser la prolifération des micro-organismes bénéfiques qui stimulent la croissance des plantes (Hirsch *et al.*, 2013). Ces microorganismes peuvent avoir des fonctions d'ordre agricole et environnemental importantes, même pour ceux qui se trouve en faible proportion dans le sol (Beattie, 2007).

Dans ce contexte, cette étude est proposée dans le but d'envisager quelques métabolites d'intérêt agricole de notre souche. Cette étude s'inscrit dans le cadre de développement agricole durable.

MATERIEL ET METHODES

La souche nommée J16 a été isolée à partir d'un sol agricole rhizosphérique (Bejaïa, Algérie) (Nabti *et al.*, 2014).

Caractérisation morphologique des colonies

Les caractéristiques culturelles de la souche sont obtenues après réalisation d'une série de dilutions, puis à partir de chaque dilution 0,1ml sont ensemencés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Luria-Burtani agar (LB). L'incubation est réalisée à 30°C jusqu'à apparition des colonies (Naiman *et al.*, 2009).

Identification biochimique

Quelques tests biochimiques ont été réalisés à savoir : la catalase (Li *et al.*, 2009) ; la coloration de Gram (Cappuccino & Sherman, 1998) ; l'oxydase, Voges-Proskauer et Rouge de méthyle (Holding & Collee, 1971) ; la réduction de nitrate (Gordon & Mihm, 1957) ; production de H₂S (Küster & Williams, 1963) et production d'indole (Clarke & Cowan, 1952).

Identification moléculaire

L'ADN de haut poids moléculaire de l'isolat J16 est extrait en utilisant le kit FastDNA® SPIN pour sol (MB Biomedicals) selon le protocole du fabricant. Des fragments du gène codant pour l'ARNr-16S sont amplifiés par PCR en utilisant les amorces 616F (5' AGA GTT TGA TYM TGG CTC AG 3') et 630R (5' CAK AAA GGA GGT GAT CC 3') correspondant aux positions nucléotidiques 8-27 et 1528-1544 sur l'ADNr-16S d'*E. coli* (Juretschko *et al.*, 1998).

L'amplification est vérifiée sur électrophorèse sur gel d'agarose horizontale standard suivie d'une coloration au bromure d'éthidium standard. Les produits d'amplification ont été purifiés en utilisant le gel NucleoSpin® et la PCR Clean-up (Macherey und Nagel) selon le protocole du fabricant. Les produits de PCR purifiés ont été séquencés directement avec un séquenceur automatisé ABI-Prism-377 (Applied Biosystems, Darmstadt, Allemagne) en utilisant le kit de séquençage Big-Dye-Terminator (Applied Biosystems, Darmstadt, Allemagne).

Les séquences du gène codant pour l'ARNr-16S obtenu à partir des clones sont ajoutées à une base de données existante, contenant des séquences de gène de la petite sous-unité ARNr (SILVA, version 108) (Pruesse *et al.*, 2007) à l'aide d'un outil d'alignement rapide intégré dans le programme ARB (<http://www.arb-home.de>) (Ludwig *et al.*, 2004). Les séquences sont lues selon les chromatogrammes et les alignements sont ajustés manuellement par comparaison des positions homologues de séquences apparentées. Le calcul d'arbre est réalisé en appliquant les méthodes de maximum de vraisemblance, maximum de parcimonie, et voisin d'assemblage en utilisant des outils respectifs intégrés dans le programme ARB.

Métabolites d'intérêt agricole et résistance aux métaux lourds

Quelques métabolites d'intérêt agricole sont recherchés, à savoir l'uréase (Christensen, 1946), la cellulase (Carrim *et al.*, 2006), la protéase (Gordon *et al.*, 1974), l'amylase (Vinoth Raj, 2009), la chitinase (Kopečný *et al.*, 1996), les estérases (Rudek, 1978), la production d'ammoniaque (Laslo *et al.*, 2011).

La croissance sur milieu Jensen (Thompson, 1989) et la résistance aux métaux lourds (CoSO₄, HgSO₄, K₂Cr₂O₇, PbCl₂ et CdSO₄) (Hookoom & Puchooa, 2013) ont fait aussi testés.

Solubilisation de phosphate inorganique

La solubilisation de phosphate tricalcique est étudiée sur milieu Pikovskaya, composé en g/l, de : Glucose (10) ; Extrait de levure (0,5) ; Ca₃(PO₄)₂ (5) ; (NH₄)₂SO₄ (0,5) ; NaCl (0,2) ; MgSO₄.7H₂O (0,1) ; KCl (0,2) ; MnSO₄.H₂O (0,002) ; FeSO₄.7H₂O (0,002) et agar (15), (pH= 07). Le milieu est passé à l'autoclave, après refroidissement, il est réparti dans des boites de Pétri puisensemencé par la méthode des disques. L'incubation est effectuée à 28°C pendant 05 jours (Jang, 2006; Harrison *et al.*, 1972).

Production de sidérophores

L'agar-CAS est préparé à partir de quatre solutions stérilisées séparément avant de les mélanger. La solution de Fe-CAS (solution 1) est préparée en mélangeant 10 ml de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1 mM (dans HCl 10 mM) avec 50 ml d'une solution aqueuse de CAS (1,21 mg / ml). Le mélange résultant est ajouté lentement, sous agitation constante, à 40 ml d'une solution aqueuse d'HDTMA (1,82 mg/ml). Le mélange est ensuite autoclavé. La solution tampon (solution 2) est préparée en dissolvant 30,24 g de PIPES dans 750ml d'une solution saline contenant 0,3 g de KH_2PO_4 , 0,5 g de NaCl, et 1,0 g de NH_4Cl . Le pH est ajusté à 6,8 avec du KOH à 50%, et de l'eau distillée est ajoutée pour ramener le volume à 800 ml. La solution est autoclavée après avoir ajouté 15 g d'agar. La solution 3 contenant la composition suivante /70 ml d'eau distillée : 2 g de glucose ; 2 g de mannitol ; 493 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 11 mg de CaCl_2 ; 1,17 mg $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 1,4 mg H_3BO_3 ; 0,04 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 1,2 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ et 1,0 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. La solution 3 autoclavée, refroidie à 50°C puis additionnée de la solution tampon. 30 ml de cas-amino-acides 10% (p/v) (solution 4) stérilisés par filtration. La solution (1) est ajoutée en dernier lieu, avec une agitation suffisante (Alexander & Zuberer, 1991).

Production de l'acide indole acétique (AIA)

La production d'AIA est étudiée sur milieu LB (g/l) : tryptone (10); extraits de levure (5); NaCl (5); eau distillée (1000), (pH7,5) puis autoclavé. Le milieu est supplémenté avec de L-tryptophane stérilisé par filtration d'une façon à obtenir une concentration finale de 0,1%. Le milieu est réparti dans des tubes stériles (03 ml/tube). Après incubation à 28°C. 1ml est récupéré pour être centrifugé à 9 500xg/2min, le surnageant obtenu est mélangé avec le même volume de réactif de Salkowski (1 ml de FeCl_3 à 0,5 mol/L et 49 ml de HClO_4 à 35%). La quantification est effectuée à une longueur d'onde de 530 nm après 30s de l'ajout de réactif de Salkowski (Gumiere *et al.*, 2014). Une

courbe d'étalonnage de l'AIA est préparée pour estimer la quantité d'AIA produite.

RESULTATS ET DISCUSSION

Après 5 jours d'incubation sur LB, les colonies observées sont circulaires avec un diamètre compris entre 1 à 2 mm, d'une couleur orange et une bordure bien définie et homogène, convexe, sans diffusion de pigment dans le milieu, non visqueuse. L'isolat J16 est un Gram positif avec des cellules en forme cocci et bacille. La plupart des cellules présentent une division en serpentine et une forme V, ces deux aspects sont répons chez le genre *Dietzia*. La souche J16 est positive pour catalase, oxydase, nitrate réductase et production de H₂S, et elle est négative pour les tests VP, RM et la production d'indole. Dans le tableau I nous présentons quelques caractères phénotypiques et biochimiques de la souche J16 en comparaison avec d'autres espèces du genre *Dietzia*.

Identification moléculaire

Les séquences du gène d'ADNr-16S obtenues ont subi un alignement puis analysées phylogénétiquement par les méthodes de distance-matrices et de maximum de vraisemblance, menant à l'arbre phylogénétique présenté dans la Figure 2. La souche J16 appartient à la classe des actinobactéries. Elle présente des similitudes de 99,6% avec les souches : *Dietzia cinnamea* (NR_042390), *Dietzia cinnamea* (AJ920289) et *Dietzia* sp. E9_2, AF481211.

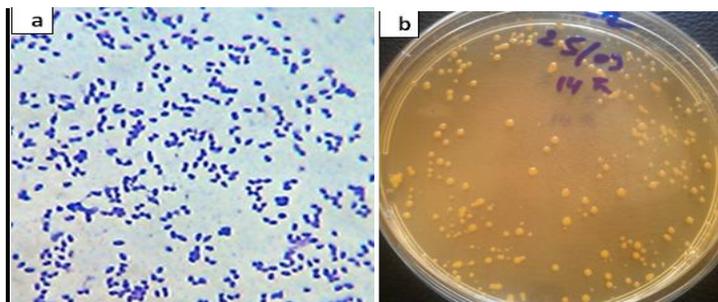


Figure 1 : (a) la souche J16 observée sous microscope photonique (OPTICA Axion 2000) après coloration de Gram, (b) Aspect des colonies J16.

Tableau I : Quelques caractères phénotypiques et biochimiques de la souche J16 en comparaison avec d'autres espèces du genre *Dietzia*.

| Espèces | Couleur des colonies | Hydrolyse de l'urée | Réduction de nitrate | Production de H ₂ S |
|---------|----------------------|---------------------|----------------------|--------------------------------|
| 0 | Orange | - | + | + |
| 1 | Orange foncé | ND | ND | ND |
| 2 | Orange foncé | - | ND | ND |
| 3 | Rose foncé | - | + | - |
| 4 | Orange rougeâtre | + | - | - |
| 5 | Rouge doux | + | - | + |
| 6 | Rose doux | + | - | + |
| 7 | rouge | - | + | + |
| 8 | Orange foncé | + | + | - |
| 9 | Jaune | + | + | ND |
| 10 | Orange-jaune | - | - | - |
| 11 | Orange | + | + | ND |

Souches: **0** : J16; **1** : *D. aurantiaca* JCM 17645^T; **2** : *D. aerolata* Sjl14a^T; **3** : *D. schimae* YIM 65001^T (Kämpfer et al, 2012); **4** : *D. cercidiphylli* YIM 65002^T; **5** : *D. psychralcaliphila* ILA-1^T; **6** : *D. natronolimnaea* CBS 107.95^T; **7** : *D. kunjamensis* K30-10^T; **8** : *D. maris* DSM 43672^T (Li et al., 2008); **9** : *D. cinnamea* IMMIB RIV-399^T (Yassin et al. 2006); **10** : *D. papillomatosis* N 1280^T (Jones et al., 2008); **11** : *D. lutea* (Li et al., 2009). +, Positive; -, négatif; ND: non déterminé.

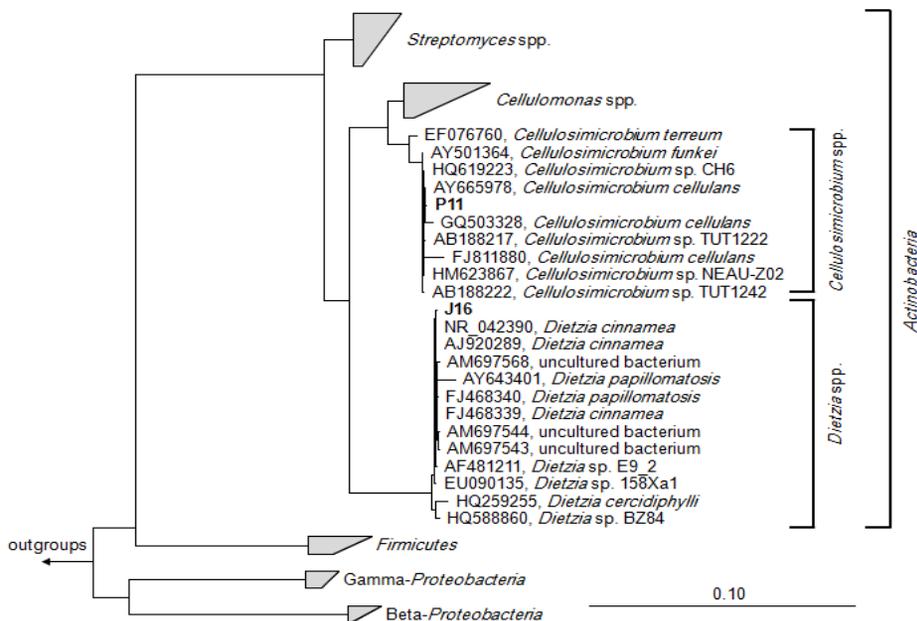


Figure 2 : Position phylogénique de l'isolat. Le Dendrogramme basé sur le calcul maximum de vraisemblance. La Barre indique 10% de divergence de séquence.

Métabolites d'intérêt agricole

La souche J16 s'est révélée productrice d'ammoniaque, elle hydrolyse la cellulose ; l'amidon ; la chitine et les tweens 20 et 80, par contre, elle est négative pour l'urée et la caséine. Cette souche montre une faible croissance sur milieu Jensen. Les microorganismes qui présentent plusieurs activités biologiques d'intérêt agricoles, pratiquement, peuvent faire l'objet bio-fertilisant, pour cela les essais enzymatiques jouent un rôle crucial dans le cadre de criblage microbien (Sicard & Reymond, 2006). Plusieurs enzymes extracellulaires peuvent exister dans le sol, parmi ces enzymes largement exploitées on peut citer : la cellulase, la chitinase, la phosphatase et la ligninase (Shi, 2011). Ces activités enzymatiques génèrent une source énergétique importante pour la microflore rhizosphérique. D'autres activités sont recherchées tels que la chélation de fer et principalement la production de l'AIA.

Résistance aux métaux lourds

Après 05 jours d'incubation, on note que la résistance de *Dietzia Sp.* diffère d'un métal lourd à un autre avec une résistance maximale de 1,5mM pour le CoSo4, K2Cr2O2 et PbCl2. Par contre, pour le CdSO4 et le HgSo4, la croissance de *Dietzia Sp.* est inhibée par la plus faible concentration (0,5mM) (tableau II).

Tableau II : Résistance de *Dietzia Sp.* aux différentes concentrations de métaux lourds.

| Concentration des métaux lourds (mM) | CoSo4 | HgSo4 | K2Cr2O2 | PbCl2 | CdSO4 |
|--------------------------------------|-------|-------|---------|-------|-------|
| 0,5 | + | - | + | + | - |
| 1 | + | - | + | + | - |
| 1,5 | + | - | + | + | - |
| 2 | - | - | - | - | - |
| 2,5 | - | - | - | - | - |
| 3 | - | - | - | - | - |

(+) Présence de croissance. (-) Absence de croissance.

Les cations de métaux lourds jouent un rôle important en tant que " oligo-éléments"

dans les réactions biochimiques (Nies, 1999). Ils sont stables et non dégradables, et par conséquent, ils ont tendance à s'accumuler dans le sol (Chopra *et al.*, 2009). Cependant, à des concentrations plus élevées, les ions métalliques forment des composés complexes non spécifiques dans la cellule, ce qui conduit à des effets de toxicité. Ainsi, la concentration intracellulaire d'ions de métaux lourds doit être étroitement contrôlée (Nies, 1999).

Les bactéries peuvent montrer des résistances remarquables pour, pratiquement, tous les ions métalliques qui se trouvent dans le sol (Ji & Silver, 1995). Ces métaux peuvent être rencontrés dans les sols agricoles à des concentrations élevées, par conséquent, la fraction vivante du sol peut être affectée. De ce fait, une bactérie d'intérêt agricole qui présente une résistance à ces éléments est avantageuse. La connaissance de la résistance bactérienne aux métaux, ainsi que leurs concentrations dans les sols agricoles présente une approche capitale dans la réussite de l'inoculation bactérienne *in vivo*.

Solubilisation de phosphate inorganique

La figure 3 montre une zone claire autour de la colonie de *Dietzia Sp.* due à la solubilisation de phosphate inorganique. Par ailleurs, le phosphore est connu comme l'un des minéraux nutritifs, le plus souvent, limitant la croissance des plantes (Vessey, 2003). Dans le sol il existe deux sortes de phosphate, le phosphate organique et inorganique, généralement sous des formes insolubles, ce qui réduit sa disponibilité pour les plantes (Rodriguez *et al.*, 2006). C'est la raison pour laquelle une bactérie qui présente un pouvoir de solubilisation de phosphate est importante. Plusieurs microorganismes solubilisent le phosphate, dont les deux espèces *Penicillium aurantiogriseum* et *Pseudomonas sp.* (PI18/89) présentent une capacité de solubilisation très élevée (Illmer & Schinner, 1995).

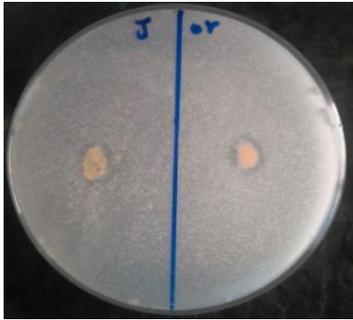


Figure 3 : Solubilisation du phosphate inorganique par *Dietzia Sp.*

Production des sidérophores

Le test de production de sidérophores s'est révélé positif après 4 jours d'incubation. Il se traduit par la présence d'un halo orange doré autour de la colonie (Figure 4).



Figure 4 : Production de sidérophores par *Dietzia Sp.* sur le milieu CA-S.

La détection des sidérophores est effectuée par la méthode CAS, ce test est devenu un outil universel pour l'analyse des sidérophores (Raaska *et al.*, 1993). La taille des halos oranges dorés qui apparait autour des colonies indique l'activité des sidérophores totale (Karuna Gokarn *et al.*, 2010) et la quantité de fer chassée. Ce test est basé sur l'échange compétitive de Fe^{3+} à partir d'un indicateur coloré, chrome azurol-S (CAS) (Raaska *et al.*, 1993).

La chélation de fer par les bactéries ou champignons est un caractère très recherché et présente un intérêt considérable en agriculture. Cette activité assure d'une part une

source de fer assimilable par la plante et d'autre part assure une compétition avec les agents phytopathogènes surtout les champignons, un caractère recherché dans le biocontrôle des agents phytopathogènes (Miethke & Marahiel, 2007).

Production de l'acide indole acétique (AIA)

Les résultats obtenus pour la production d'AIA sont illustrés dans la Figure 5.

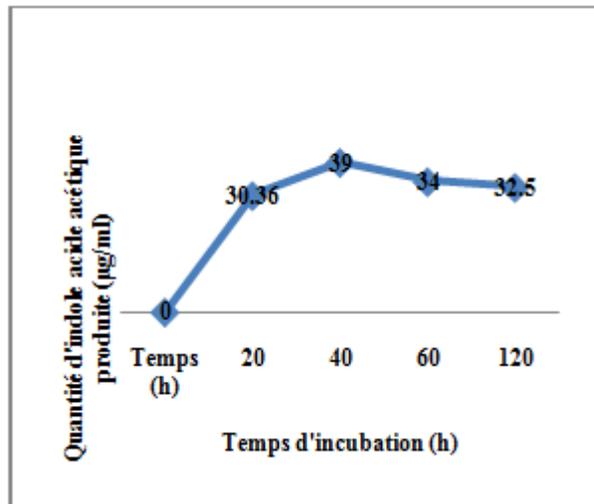


Figure 7 : Production de l'AIA par *Dietzia Sp.*

On note que la production d'AIA augmente en fonction du temps, après 40 heures la bactérie atteint une production maximale de 39 µg/ml, en augmentant la durée d'incubation (après 120 heures), la quantité d'AIA diminue jusqu'à 32,5µg/ml.

En plus du phototropisme, l'AIA est impliqué dans le contrôle de la croissance des fruits, de la dominance apicale, de l'élongation des tiges et de nombreux processus mettant en jeu la division et la différenciation cellulaires. L'AIA est connu pour déclencher les divisions du favoriser l'apparition des racines adventives sur les boutures tout en inhibant leur élongation (Karabaghli et al., 1997). Le tryptophane est le précurseur de biosynthèse d'AIA chez les plantes et les microorganismes (Patil et al., 2011). Au niveau de la rhizosphère, la production de l'AIA par les microorganismes est effectuée à partir des exsudats racinaires. Selon les

niveaux de production de l'AIA, on distingue deux groupes microbiens : les microorganismes produisant des quantités modérées et ceux qui produisent des quantités élevées tel que *Pseudomonas sp. As-17* (106 µg/ml) et *Bacillus sp. MiR-4* (92,7 µg/ml) (Ali *et al.*, 2009).

La réponse des plantes à l'AIA exogène peut avoir des effets bénéfiques ou des effets délétères (Lambrecht *et al.*, 2000), sachant que dans plusieurs expériences, l'apport de l'auxine à des concentrations supérieures à celles de la normale, montre que cet apport peut être considéré comme un stress (Hopkins, 2003 ; Liu *et al.*, 1982). Selon ces résultats on distingue des bactéries qui catabolisent l'AIA à partir d'une concentration donnée, c'est le cas de *Dietzia sp.*, et d'autres bactéries tel que *Pseudomonas putida* 1290 (Leveau & Lindow, 2005), alors que pour d'autres bactéries, le catabolisme de cette substance peut être absent et la surproduction peut avoir lieu dans la rhizosphère. La diminution de l'AIA dans le milieu après 60 heures d'incubation, peut être expliquée par la production d'une enzyme qui dégrade l'AIA. L'étude du métabolisme de l'AIA par les microorganismes destinés à la bio-fertilisation présente une démarche importante afin de savoir l'effet des microorganismes sur la disponibilité de l'AIA présent dans le sol et son implication dans la régulation de cette hormone dans le cas d'une surproduction par la microflore rhizosphérique. La sélection d'un bio-fertilisant avec une production modérée en AIA constitue un paramètre important pour assurer un état équilibré de la physiologie végétale.

CONCLUSION

Cette étude consiste à mettre en évidence quelques propriétés d'intérêt agricole de notre souche J16, identifiée phylo-génétiquement comme une actinobactérie (*Dietzia Sp.*). Selon les tests effectués *in vitro*, on constate que *Dietzia Sp.* produit la majorité des métabolites d'intérêt agricole recherchés, dont les plus importants sont la solubilisation de phosphate inorganique, la production de sidérophores et l'acide indole acétique (AIA). *Dietzia Sp.* catabolise l'AIA après une concentration donnée, cette capacité de dégrader l'AIA peut

constituer de notre souche un une actinobactérie ayant des caractères de stimulation de la croissance des plantes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alexander, D.B. and Zuberer, D.A. 1991.** Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biol Fertil Soils* 12:39-45.
- Ali, B., Sabri, A.N., Ljung, K. and Hasnain, S. 2009.** Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L. *Letters in Applied Microbiology* 48, 542–547.
- Beattie, G.A. 2007.** Plant-Associated bacteria: survey, molecular phylogeny, genomics and recent advances. In: Gnanamanickam S. S (ed), *Plant-Associated Bacteria*. Springer, pp. 1.
- Cappuccino, J.G. and Sherman, N. 1999.** Microbiology; a laboratory manual. 5th edition, by Addison Wesley Longman, 28p.
- Carrim, A.J.I., Barbosa, E.C. and Gonçalves Vieira, J.D. 2006.** Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 49: 353-359.
- Chopra, A.K., Pathak, C., and Prasad, G. 2009.** Scenario of heavy metal contamination in agricultural soil and its management. *Journal of Applied and Natural Science* 1, 1: 99-108.
- Christensen, W.B. 1946.** Urea decomposition as a means of differentiating *proteus* and paracolon cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella* types. 1681 Mardell Boulevard, San Antonio 1, Texas, 52, 459-466.
- Clarke, P.H. and Cowan, S.T. 1952.** Biochemical Methods for Bacteriology *J. gen. Microbiol.* 6, 187-197.
- Donadio, S., Monciardini, P., Alduina, R., Mazza, P., Chiocchini, C., Cavaletti, L., Sosio, M. and Puglia, A.M. 2002.** Microbial technologies for the discovery of novel bioactive metabolites. *Journal of Biotechnology*, 99: 187-198.
- Gharibzahedi, S.M.T., Razavi, S.H. and Mousavi, S.M. 2013.** Characterization of bacteria of the

genus *Dietzia*: an updated review. *Ann Microbiol.* DOI 10.1007/s13213-013-0603-3.

Gordon, R.E. and Smith, M.M. 1955. Proposed group of characters for the separation of *streptomyces* and *Nocardia*. *J. Bacteriol.* 69, 2:147-150.

Gordon, R.E. and Mihm, J.M. 1957. A comparative study of some strains received as nocardiae. Institute of Microbiology, Rutgers University, the State University of New Jersey, New Brunswick, New Jersey, 73, 15-27.

Gordon, R.E., Barnett, D.A., Handerhan, J.E. and Pang C.H-N. 1974. *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica*, and the *Nocardia* strain. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 24, 1: 54-63.

Gumiere, T., Ribeiro, C.M., Vasconcellos, R.L.F. and Cardoso, E.J.B.N. 2014. Indole-3-acetic acid producing root-associated bacteria on growth of Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*) and Slash Pine (*Pinus elliottii*). *Antonie van Leeuwenhoek*, 105:663–669.

Harrison, M.J., Pacha, R.E., and Morita, R.Y. 1972. Solubilization of inorganic phosphates by bacteria isolated from upper Klamath lake sediment. *Limnology and Oceanography*, 17, 1: 50-57.

Hirsch, P.R., Miller, A.J. and Dennis, P.G. 2013. Chapter 22: Do Root Exudates Exert More Influence on Rhizosphere Bacterial Community Structure Than Other Rhizodeposits? In: Frans J. de Bruijn, (ed), *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*, Volume 1, First Edition. John Wiley & Sons, Inc, pp. 236.

Hookoom, M. and Puchooa, D. 2013. Isolation and Identification of Heavy Metals Tolerant Bacteria from Industrial and Agricultural Areas in Mauritius. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*, 1, 3: 119-123.

Holding, A.J. and Collee, J.G. 1971. Chapter I: Routine biochemical tests. In: Norris, J.R., Ribbons, D.W. (eds), *Methods in microbiology*, volume 6A. Academic press INC. (London) LTD, pp. 25.

Hopkins, W.G. 2003. *Physiologie végétale*. 1^{ère} édition, De Boeck, pp. 329-330.

Illmer, P. and Schinner, F. 1995. Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms. *Soil Bkjl. Biohm*, 27, 3: 257-263.

Jang S.S., 2006. Section 4: Phosphate Solubilizers. In: FNCA Biofertilizer Project Group, 2006. *Biofertilizer Manual*, pp. 104.

Ji, G. and Silver, S. 1995. Bacterial resistance mechanisms for heavy metals of environmental concern. *Journal of Industrial Microbiology*, 14, 61-75.

Jones, A.L., Koerner, R.J., Natarajan, S., Perry, J.D. and Goodfellow, M. 2008. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58, 68–72.

Juretschko, S., Timmermann, G., Schmid, M., Schleifer, K.H., Pommerening-Röser, A., Koops, H.P., and Wagner, M. 1998. Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrospira*-like bacteria as dominant populations, *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 3042-3051.

Kämpfer, P., Langer, S., Martin, E., Jäckel, U. and Busse, H.-J. 2010. *Dietzia aerolata* sp. nov., isolated from the air of a duck barn, and emended description of the genus *Dietzia* Rainey et al. 1995. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 393–396.

Kämpfer, P., Falsen, E., Frischmann, A. and Busse, H.-J. 2012. *Dietzia aurantiaca* sp. nov., isolated from a human clinical specimen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 484–488.

Kannapiran, E. and Sri Ramkumar, V. 2011. Inoculation effect of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria to promote growth of black gram (*Phaseolus mungo* Roxb; Eng). *Annals of Biological Research*, 2, 5: 615-621.

Karabaghli, C., Sotta, B. et Gay G. 1997. Hormones fongiques, ectomycorhizes et rhizogénèse. Rev. For. Fr. XLIX -n° sp.

Karuna Gokarn, et al. 2010. Siderophores and Pathogenicity of Microorganisms. *J Biosci Tech*, 1, 3: 127- 134.

Koerner, R.J., Goodfellow, M. and Jones, A.L. 2009. The genus *Dietzia* : a new home for some known and emerging opportunist pathogens. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 55, 296–305.

Küster, E. and Williams, S.T. 1963. Production of hydrogen sulfide by *Streptomyces* and methods for its detection. *Applied Microbiologie*, 12, 1: 46-52.

- Lambrecht, M., Okon, Y., Broek, A.V. and Vanderleyden, J. 2000.** Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria–plant interactions. *Trends in microbiology*, 8, 7: 298-300.
- Lecointre, G. and Le Guyader, H. 2006.** The Tree of Life: A phylogenetic classification. By the President and Fellows of Harvard College.
- Leveau, J.H.J. and Lindow, S.E. 2005. Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290. *Applied and environment microbiology*, 71, 5: 2365–2371.
- Li, J., Zhao, G.-Z., Zhang, Y.-Q., Klenk, H.-P., Pukall, R., Qin, S., Xu, L.-H. and Li W.-J. 2008.** *Dietzia schimae* sp. nov. and *Dietzia cercidiphylli* sp. nov., from surface-sterilized plant tissues. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58, 2549–2554.
- Li J., Chen, C., Zhao, G.-Z., Klenk, H.-P., Pukall, R., Zhang, Y.-Q., Tang, S.-K., and Li, W.-J. 2009.** Description of *Dietzia lutea* sp. nov., isolated from a desert soil in Egypt. *Systematic and Applied Microbiology* 32, 118–123.
- Ludwig, W., Strunk, O., Westram, R., Richter, L., Meier, H., Yadhukumar, Buchner, A., Lai, T., Steppi, S., Jobb, G., Forster, W., Brettske, I., Gerber, S., Ginhart, A.W., Gross, O., Grumann, S., Hermann, S., Jost, R., König, A., Liss, T., Lussmann, R., May, M., Nonhoff, B., Reichel, B., Strehlow, R., Stamatakis, A., Stuckmann, N., Vilbig, A., Lenke, M., Ludwig, T., Bode, A., and Schleifer, K.H. 2004.** ARB: a software environment for sequence data. *Nucleic Acids Res.*, 32, 1363-1371.
- Liu, S.T., Perry, K.L., Schardl, C.L. and Kado, C.I. 1982.** *Agrobacterium* Ti plasmid indoleacetic acid gene is required for crown gall oncogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, USA 79, 2812-2816.
- Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E., Kampf, P. and Whitman, W. B. 2012.** Road map of the phylum *Actinobacteria*. In: Whitman, W.B., Parte A., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.-J., Trujillo M.E., Ludwig W., Suzuki K.-i. (eds), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, second edition, volume 5, the *Actinobacteria*, part A., Springer Science & Business Media pp. 06.
- Miethke, M. and Marahiel, M.A. 2007.** Siderophore-Based Iron Acquisition and

Pathogen Control. Microbiology and molecular biology reviews. 3: 413–451.

Elhafid Nabti , Leila Bensidhoum , Nacera Tabli , Djamila Dahel , Angelo Weiss , Michael Rothballer , Michael Schmid , Anton Hartmann 2014. Growth stimulation of barley and biocontrol effect on plant pathogenic fungi by a *Cellulosimicrobium* sp. strain isolated from salt-affected rhizosphere soil in northwestern Algeria. *European Journal of Soil Biology* 61:20-26.

Naiman A.D., Latrônico A., Garcia de Salamone I.E. 2009. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: impact on the production and culturable rhizosphere microflora, *Eur. J. Soil Biol.* 45: 44-51.

Nies D.H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. *Appl Microbiol Biotechnol.* 51: 730-750.

Patil, N.B., Gajbhiye, M., Ahiwale, S.S. , Gunjal, A.B., and Kapadnis, B.P. 2011. Optimization of Indole 3-acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L 1 isolated from Sugarcane. *International journal of environmental sciences*, 2, 1: 295-302.

Pridham, T.G. and Gottlieb, D. 1948. The utilization of carbon compounds by some *Actinomycetales* as an aid for species determination. *J. Bacteriol.* 56:107-114.

Pruesse, E., Quast, C., Knittel, K., Fuchs, B.M., Ludwig, M., Peplies, J., and Glöckner, F.O. 2007. SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB, *Nucleic Acids Res.*, 35, 7188-96.

Raaska, L., Viikari, L. and Mattila-Sandholm, T. 1993. Detection of siderophores in growing cultures of *Pseudomonas* spp. *Journal of Industrial Microbiology*, 11, 181-186.

Rainey, F.A., Klatte, S., Kroppenstedt, R.M. and Stackebrandt, E. 1995. *Dietzia*, a New Genus Including *Dietzia maris* comb. nov., Formerly *Rhodococcus maris*. *International journal of systematic bacteriology*, 32-36.

Rainey, Klatte, Kroppenstedt, and Stackebrandt, 1995b, 33^{VP} emend. Genus I. *Dietzia* Kämpfer, Langer, Martin, Jäckel and Busse 2010, 394^{VP}. In: Whitman, W.B., Parte, A., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M.E., Ludwig, W., Suzuki, K.-i. (eds). *Bergey's Manual of systematic*

Bacteriology, second edition: volume 5, The *Actinobacteria*, Part A, Springer Science & Business Media, pp. 301.

Rodriguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T. and Bashan, Y. 2006. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*, 287:15–21.

Shi, W. 2011. Chapter 3; Agricultural and ecological significance of soil enzymes: soil carbon sequestration and nutrient cycling. In: Shukla, G. and Varma, A. (eds), *Soil enzymology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 44.

Sicard, R. and Reymond, J-L. 2006. Introduction. In: Reymond, J-L. (ed), *Enzyme assays: High-throughput screening, genetic selection and fingerprinting*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany. pp. 7-9.

Sweetser, P.B. and Swartzfager, D.G. 1978. Indole-3-acetic Acid Levels of Plant Tissue as Determined by a New High Performance Liquid Chromatographic Method. *Plant Physiol.*, 61, 254-258.

Thompson, J.P. 1989. Counting viable *Azotobacter chroococcum* in verti sols. *Plant and Soil* 117:17-29.

Tsukamura, M. 1968. Relationship between the Growth Rate of Mycobacteria and their Ability to Utilize Organic Acids as the Sole Source of Carbone. *Japan. J. Microbiol.*, 12, 4 : 534-536.

Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G.F., Chater, K.F. and van Sinderen, D. 2007. Genomics of *Actinobacteria*: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 71, 3: 495.

Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*. 255: 571–586.

Wichem, F. 2007. *Estimating C and N rhizodeposition of peas and oats*. Kassel university pres GmbH, Kassel, pp. 01.

Yassin, A.F., Hupfer, H. and Schaal, K.P. 2006. *Dietzia cinnamea* sp. nov., a novel species isolated from a perianal swab of a patient with a bone marrow transplant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, 641–645.