

Molécules bioactives synthétisées par *P. fluorescens* CHA0. Effet de sel et d'osmoprotecteurs naturels

ARIF FOUZIA et GHOUL MOSTEFA

Laboratoire d'écologie microbienne, Département de Microbiologie, Faculté SNV, Université Sétif 1, Sétif 19000, ALGERIE .

E_mail: ariffouzia2003@hotmail.com

INTRODUCTION

Les *Pseudomonas* fluorescents occupent une place primordiale en agriculture. Ces espèces stimulent la croissance des plantes et les protègent contre les microorganismes pathogènes. Cette efficacité repose sur la synthèse de métabolites particuliers (sidérophores, antibiotiques, phytohormones) et sur l'amélioration de l'alimentation minérale de la plante en phosphore. La souche *P. fluorescens* CHA0, isolée pour la première fois de la rhizosphère du tabac a fait l'objet de plusieurs études vue son importance. Sous l'effet de contraintes osmotiques, cette bactérie accumule des osmoprotecteurs (O.P) telles la glycine bêtaïne (G.B) et la proline

OBJECTIF

L'objectif de ce projet est la sélection d'une souche bactérienne synthétisant des molécules bioactives, halotolérante et répondant positivement à l'apport d'osmoprotecteurs naturels. Elle servira à inoculer des graines de blé en vue d'en améliorer la croissance et donc le rendement dans des sols affectés par la salinité.

MATERIEL ET METHODES

Production de cyanure d'hydrogène (HCN)

Elle est évaluée selon la méthode de Lorck (1948) sur gélose nutritive additionnée de glycine

Production de sidérophores

L'étude qualitative de la production de sidérophores a été réalisée sur l'agar au chromazurol S (CAS) selon la méthode de Shwyn et Neilands (1987).

Production d'acide indole acétique

La production AIA a été mise en évidence en utilisant le réactif de Salkowsky. L'absorbance étant mesurée à 530 nm.

Activité antifongique

Le pouvoir inhibiteur de 2 champignons: *Fusarium oxysporium* et *Alternaria alternata* est testé par la méthode de diffusion en puits sur milieu gélosé (Mehmood et al., 1999). Il est exprimé en pourcentages d'inhibition,

Détection des O. P naturels

L'halophyte choisie comme source de molécules osmoprotectrices naturelles est *Atriplex coriacea*. En réponse au stress osmotique, elle élabore une quantité importante de glycine bêtaïne (G.B) comme soluté compatible.

3g de l'halophyte sont additionnés à 10 ml d'eau distillée, puis sont centrifugées (5000 U/min, 20 min). Le surnageant subit l'action de chloroforme et la phase liquide obtenue est centrifugé de nouveau. Le surnageant est alors utilisé pour la CCM. En vue de la détection de la G.B, la migration est réalisée dans le système de développement Isopropanol- eau (3 : 1). Les plaques sont révélées par pulvérisation du réactif de Dragendorff.

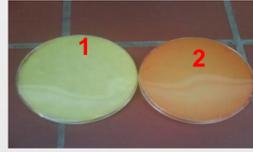
Effet de sel et/ou d'O. P sur la souche

Le milieu minimum GMM additionné de concentrations croissantes de NaCl est inoculé à l'aide de la suspension bactérienne. Après incubation (25°C, agitation, 7 jours), les D.O sont lues à 600 nm. Dans une seconde étape, la souche subit l'effet des concentrations : 0,8; 0,9 et 1M en présence et en absence de G.B synthétique et naturelle contenue dans l'extrait aqueux de l'halophyte.

RESULTATS

Fig. 1: Production d'HCN

1: HCN -
2: HCN +



➤ *P. fluorescens* CHA0 élabore du HCN, impliqué dans l'élimination de divers pathogènes

➤ La souche testée produit des sidérophores. Une fois émis dans le milieu, ils chélatent le fer (Fe⁺⁺⁺). Il ne peut être, par conséquent, utilisé par certains champignons.



Fig. 2: Production de sidérophores .

➤ L'analyse qualitative démontre une production d'AIA par *P. fluorescens* CHA0. La quantité produite atteint 88,37 µg/ml. Cette phytohormone contribue largement au développement racinaire.

➤ L'effet antagoniste à l'encontre de *Alternaria alternata* est établi ; le pourcentage d'inhibition variant de 28,75 à 37%. La croissance de *Fusarium oxysporium* est également inhibée . Cette capacité est sûrement due à la synthèse d'antibiotiques.

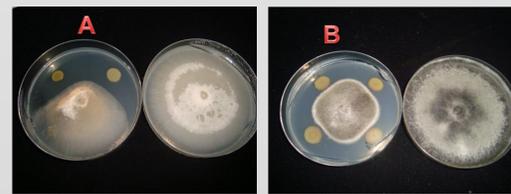
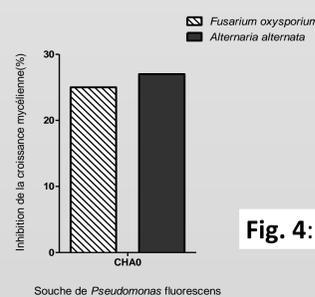


Fig.3: Antibiose contre *Fusarium oxysporium* (A) et *Alternaria alternata* (B)

Fig. 4: Pourcentage d'inhibition des 2 champignons testés

➤ La présence chez *Atriplex coriacea* de composés Dragendorff- positifs (G.B) est confirmée par CCM

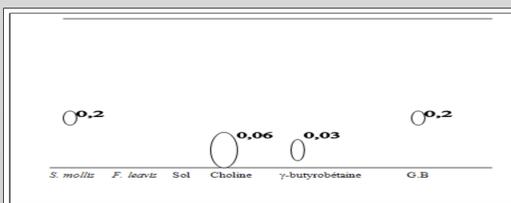


Fig.5 : CCM (gel de silice-isopropanol/eau 3 :1) de substances Dragendorff-positives

➤ La croissance de la souche est stimulée à des salinités de 0,1 et 0,3 M. Une certaine teneur en ions Na⁺ est sûrement nécessaire pour une croissance bactérienne dans le sol. A 0,8 M l'inhibition se manifeste. Elle est nette avec 1 et 1,2 M.

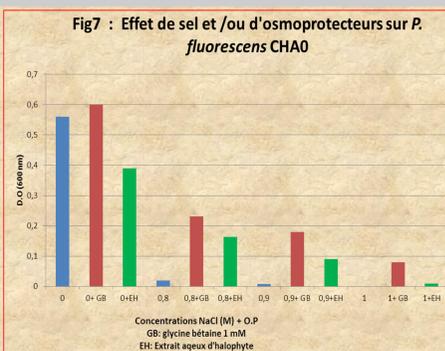


Fig7 : Effet de sel et/ou d'osmoprotecteurs sur *P. fluorescens* CHA0

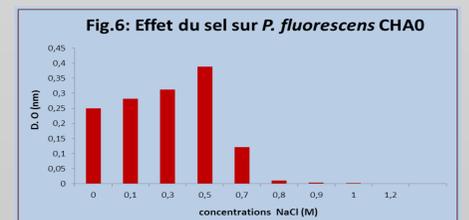


Fig.6: Effet du sel sur *P. fluorescens* CHA0

➤ En présence de NaCl 0,8 et 0,9 M, la G.B et l'extrait aqueux de l'halophyte apportent une osmoprotection considérable aux cellules stressées.

➤ La cellule bactérienne préfère la G.B du fait de sa compatibilité avec les fonctions métaboliques ou de son transport qui exige moins d'énergie que la biosynthèse.

➤ La G.B, soit synthétique ou présente dans l'extrait de l'halophyte, atténue mais ne peut rétablir complètement la croissance

CONCLUSION

In vitro, La souche *P. fluorescens* CHA0 est capable de synthétiser un grand nombre de molécules bioactives. Vue son halotolérance non négligeable et la réponse positive qu'elle manifeste vis-à-vis d'un apport exogène d'osmoprotecteurs (synthétiques ou naturels), elle fournit une base pour une nouvelle approche d'une préparation réussie d'un biofertilisant des graines de blé (ou autres) dans les sols salins.

REFERENCES

- Chaiharn, M., S. Chunhaleuchanon, A.Kozo et S. Lumyong. 2008. Screening of rhizobacteria for their plant growth promoting activities. KMITL Sci. Tech. J. 8 :18-23
- Karnwal, A. 2009. Production of indole acetic acid by fluorescent *Pseudomonas* in the presence of L- tryptophan and rice root exudates. Journal of plant pathology. 91 : 61- 63.
- L.N. Csonka, 1989. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. Microbiol. Rev. 53: 121-147