

Type of the Paper (Original paper)

Dégradation du Xyloglucane par les souches de *Paenibacillus polymyxa* isolées de la rhizosphère du blé dur sur des sols Algériens

Souad Athmani-Guemouri*, Lamia Lounaci, Reda Djebbar, Rabah Athmani

Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes, Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène, Bab Ezzouar, Alger, Algérie.

* Corresponding author: squemouri_dz66@yahoo.fr

Téléphone : +21321247913. Fax : +21321247217

Received: 27/04/2014/ Revised: 11-06-2014/ Accepted: 22-06-2014

Résumé : Les espèces du genre *Paenibacillus* secrètent une variété d'enzymes extracellulaires parmi lesquelles figurent plusieurs types de β glucanases.

Nous avons réalisé un test de dégradation du xyloglucane sur 29 souches isolées par immunopiegeage et identifiées à *P. polymyxa* par le système API50CHB. Ces souches ont été groupées en séries qui correspondent aux échantillons de sols à partir desquels elles avaient été isolées. Des souches de références et des souches type *E. coli* ont été intégrées lors de cette étude pour comparer leur activité à celles des souches isolées des sols d'Algérie.

Les résultats de cette recherche montrent que toutes les souches de *P. polymyxa* sont capables de dégrader le xyloglucane, alors que les souches des espèces testées n'ont pas cette activité. Ces résultats semblent suggérer que cette propriété est partagée par tous les *P. polymyxa* et qu'elle n'est pas liée au sol d'origine de nos souches ni à l'ancienneté de culture du blé de ces sols. Nous avons également montré que la xyloglucanase fait partie du pool d'enzymes inductibles qui ne sont normalement présentes qu'à l'état de traces dans les bactéries, et dont la synthèse est amplifiée considérablement en présence de leur substrat.

Mots clés : *Paenibacillus polymyxa*, xyloglucane, xyloglucanase.

I- Introduction

La rhizosphère est un «réacteur» multi agents d'une grande complexité, dont l'équilibre est régi par une multitude de mécanismes fortement corrélés les uns aux autres.

Dans cet environnement complexe, les interactions entre les micro-organismes et les plantes sont variées. De nombreuses bactéries commensales se multiplient sans que leur influence sur le développement des végétaux soit bien définie. Certains micro-organismes (*Fusarium*, *Pythium*, *Verticillium*) ont une action pathogène qui conduit à une réduction plus ou moins marquée du développement des plantes. Il existe aussi des bactéries qui ont une activité antagoniste de ces mycètes pathogènes et entraînent donc une amélioration de la santé de la plante.

L'utilisation de ces bactéries en agriculture peut être envisagée dans un objectif de lutte biologique contre les mycètes pathogènes du sol. En effet, les maladies fongiques sont

classiquement contrôlées par les fongicides, mais ceux-ci ne sont pas toujours efficaces contre les pathologies d'origine tellurique comme les fusarioses de pourriture et vasculaires, les verticillioses, le piétin échaudage. De plus, ils peuvent être néfastes pour l'environnement.

La prise de conscience de la nécessité de préserver l'environnement en limitant les pollutions chimiques oriente les stratégies de lutte contre les maladies et les ravageurs vers l'emploi de moyens biologiques pour substituer les moyens chimiques.

Deux grandes approches sont envisagées : l'une est la démarche classique d'amélioration des plantes pour sélectionner des caractères intrinsèques de résistance. Ce principe de sélection de variétés plus performantes est connu depuis longtemps et se faisait jusqu'à maintenant en effectuant des croisements entre espèces voisines ou écotypes. Avec le développement des techniques de biologie moléculaire, il est devenu possible aussi de transformer génétiquement les plantes en leur introduisant des gènes dont la fonction est connue. Ces plantes « transgéniques » possèdent un gène supplémentaire dans leur patrimoine génétique permettant de résister à un pathogène.

Jack et al. (1992) [1] ont montré que la même plante transformée par une chitinase bactérienne s'est montrée résistante à *Rhizoctonia solani*. En introduisant dans le tabac un gène de chitinase de tabac, Vierheilig et al. (1993) [2] ont obtenu un résultat similaire. Toutefois la chitinase ne confère pas de résistance à tous les mycètes. Ainsi, ce tabac n'était pas résistant à *Cercospora nicotianae* [3]. Les auteurs ont tiré la conclusion que la chitinase seule n'agit pas sur ce mycète et qu'elle serait plus active en présence de β -1,3-xyloglucanase.

L'autre voie possible consiste à utiliser des micro-organismes naturellement antagonistes d'agents pathogènes qui, dispersés dans le sol ou apportés par enrobage ou encapsulation de semences, peuvent constituer une solution à la fois élégante et respectueuse de l'environnement. C'est un changement fondamental de la philosophie de la lutte contre les agents phytopathogènes. Une telle conception de la protection des végétaux pourrait satisfaire à la fois les exigences économiques, toxicologiques et écologiques.

L'espèce *P. polymyxa* est parmi les micro-organismes naturellement antagonistes des agents phytopathogènes. En effet, plusieurs travaux montrent une activité antagoniste contre les champignons pathogènes suivants : *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* [4], *Penicillium hirsutum* [5], *Fusarium* [6, 7, 8, 9,10], *Pythium* [11, 12, 13], *Phytophthora palmivora* [14, 15, 16], *Aspergillus niger* [17], *Botrytis cinerea* [18] ainsi que contre plusieurs bactéries Gram positives et Gram négatives [19, 20, 21].

Compte tenu de ce qui précède, il nous a semblé opportun de procéder à la sélection des souches xyloglucanases positives sur un milieu nutritif contenant comme seule source de carbone et d'énergie du xyloglucane, et ce parmi 29 souches de *P. polymyxa*. Ce choix est guidé par le fait que les travaux réalisés jusqu'à présent concernent l'attaque d'autres hydrates de carbone comme la chitine, l'amygdaline et le mélibiose, alors qu'une faible attention s'est portée sur la dégradation de ce substrat. Pourtant le pouvoir de dégradation de ce polymère pourrait conférer aux souches bactériennes une action antagoniste contre certains mycètes phytopathogènes. De plus, la sélection des souches ayant une activité xyloglucanasique pourrait présenter un intérêt pratique si l'on se réfère à l'augmentation du pouvoir de défense de certaines plantes ayant reçu le gène de la xyloglucanase bactérienne contre des mycètes phytopathogènes. En outre, nous avons étudié l'effet de l'âge de la culture en blé et de l'origine des souches sur le pouvoir de dégradation de ce polymère. Pour finir, nous avons déterminé à quelle phase de la croissance bactérienne cette enzyme est synthétisée et à quelle catégorie elle appartient (enzyme constitutive ou inductible).

II. Matériel et Méthodes

II.1. Souches bactériennes

II.1.1. Souches de références et de collections

Les souches *Rhizobium gallicum* R602^T, *Sinorhizobium meliloti* 1021, *Rhizobium* sp. YAS34, *Pseudomonas brassicacearum* NFM421, et *E. coli* EDCM367 obtenues des collections du LEMIR (CNRS, France) ont été utilisées lors de cette étude. Elles ont permis de comparer leur activité à celles des souches de *P. polymyxa* isolées d'Algérie pour le test de dégradation du xyloglucane.

II.1.2. Souches isolées de la rhizosphère du blé dur dans des sols Algériens

Les vingt neuf (29) souches de *P. polymyxa* utilisées dans ce travail, consacré à la recherche d'une activité xyloglucanasique, ont été isolées précédemment des sols algériens par une méthode immuno-enzymatique *immuno-piégeage*, utilisant comme piège les anticorps spécifiques de la bactérie à isoler [22]. Ces souches proviennent de différents sols cultivés avec du blé dur (*Triticum durum*, cv. Waha) plus précisément du sol rhizosphérique (Tab. 1). Les souches avaient été identifiées et leur diversité recherchée à l'aide des différentes méthodes Analytical Profile Index(API), Restriction Fragment Length Polymorphism(RFLP) et séquençage du gène de l'ARNr 16S [23].

II.2. Dégradation du xyloglucane

Dans le cadre de la recherche d'une activité xyloglucanasique, la réaction étudiée est l'assimilation. Elle se traduit par une croissance de la souche bactérienne quand le xyloglucane (Megazyme Sydney, Australia) est utilisé comme seule source de carbone et d'énergie.

Pour faciliter la lecture et la fiabilité du test, nous avons utilisé un produit qui est le polymère lié au bleu brillant de Remazol (brillant blue R). La croissance est repérée facilement grâce à l'apparition d'une couleur bleue très intense au niveau de la colonie. En effet, le colorant qui, lorsque la bactérie dégrade le xyloglucane est libéré, diffuse dans la gélose et donne une couleur bleue très caractéristique.

II.2.1. Activité xyloglucanase des souches de *P. polymyxa*

Le test a été réalisé en microplaques de 12 puits contenant chacun un volume de 200 µl de milieu RCV agar additionné de xyloglucane (Solution II 50 mL/L, Tampon phosphate 15 mL/L, Extrait de levure 0,1 mL/L, Agar 15 g/L, Xyloglucane 1 g/L, Eau distillée qsp 1000 mL).

Chaque souche pure est cultivée en milieu liquide TSB/10 (TSB 3 g/L, Eau distillée qsp 1000mL) pendant 24 h à 30°C et atteint environ 10⁸ bactéries/mL. Des dilutions 10⁻³ et 10⁻⁵ dans l'eau physiologique stérile 8,5 ‰ KCl sont réalisées. Des volumes de 10 µl de la culture dense et des deux dilutions sont ensuite déposés sur le milieu RCV-xyloglucane dans les puits de plaque afin de tester des niveaux d'inoculum d'environ 10⁶, 10³ et 10 cellules par puits.

Les microplaques sont incubées à 30° C. Une lecture visuelle des plaques est faite au bout de 24 et 48 h.

Tableau 1 : Souches de *Paenibacillus polymyxa*, origine, âge de culture en blé dur et groupe Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR) [22, 24].

Souches	Origine	Age de culture en blé dur (ans)	Groupe ERIC-PCR
SGT4	Tiaret	>100	1
SGT9			1
SGT12			2
SGT38			1
SGK2	Tiaret	>100	1
SGK12			5
SGK20			4
SGK28			4
SGK35			5
SGK37			6
SGD1	IDGC (Institut de développement des grandes cultures)	70	10
SGD4			11
SGD7			10
SGD8			9
SGD12			13
SGD13			12
SGD17			11
SGD18			9
SGZ1	Hamiz	26	15
SGZ5			16
SGZ8			17
SGZ10			14
SGZ11			15
SGZ12			18
SGH1	Hamiz	5	19
SGH2			20
SGH3			21
SGH4			22
SGH5			23

II.2.2. Production de xyloglucanase au cours de la croissance de *P. polymyxa* SGK2

II.2.2.1. Courbe de croissance de *P. polymyxa* SGK2

Afin de déterminer à quelle phase de la croissance bactérienne l'enzyme est produite, nous avons jugé utile de tracer la courbe de croissance de la souche SGK2. Pour cela, 30 mL de milieu Luria Bertani "LB" (Tryptone 10g/L, Extrait de levure 5 g/l, NaCl 5 g/L, Eau distillée qsp 1000 mL) sontensemencés avec la souche et incubées à 30°C. Des prélèvements de 2 mL sont effectués à différents moments de la croissance (Tab. 2) et sont centrifugés à 10.000 trs/mn pendant 10 min. Après centrifugation des cultures, les culots cellulaires sont lavés avec 2 mL d'eau ultra pure stérile.

La densité optique est lue à une longueur d'onde de 600 nm au spectrophotomètre.

Tableau 2: Les différents prélèvements effectués pour la réalisation de la courbe de croissance de la souche SGK2.

Prélèvement	Age de la culture
1 ^{er}	5 h
2 ^{ème}	23 h 30
3 ^{ème}	25 h
4 ^{ème}	26 h 30
5 ^{ème}	28 h
6 ^{ème}	29 h 30
7 ^{ème}	47 h 15
8 ^{ème}	49 h
9 ^{ème}	50 h 30
10 ^{ème}	52 h
11 ^{ème}	53 h 30
12 ^{ème}	71 h 15
13 ^{ème}	75 h 15

II.2.2.2. Phase de production de la xyloglucanase

Une fois la courbe de croissance tracée, nous avons procédé à la détermination de la phase de production de l'enzyme.

Pour cela, 10 µl de la culture bactérienne (et de ses dilutions 10^{-3} et 10^{-5}) âgée de 18, 20, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 50 et 52 h sont inoculés dans les puits de la plaque contenant le RCV-xyloglucane. Trois répétitions sont réalisées. Une lecture visuelle de la galerie est faite au bout de 24 et 48 h.

Une centrifugation de la culture bactérienne de la SGK2 dans du LB et réalisée afin de récupérer et tester le surnageant sur un milieu gélosé contenant du xyloglucane comme seule source de carbone et d'énergie.

- Les étapes réalisées sont les suivantes :

- La souche SGK2 estensemencée dans le milieu LB puis incubée à 30° C.
- Après 31 h de croissance, un volume de 1 mL est prélevé et est centrifugé à 13 000 trs/mn pendant un temps de 15 min puis le surnageant est filtré en utilisant un filtre de 0,45 µm de diamètre.
- 10 µl du surnageant filtré sont inoculés dans un puits de la plaque contenant le milieu RCV-xyloglucane ; trois répétitions sont réalisées.
- La microplaque est incubée à 30° C. Une lecture visuelle est faite au bout de 24 h et 48 h.

III. Résultats et Discussion

III.1. Activité xyloglucanase des souches de *P. polymyxa*

Les enzymes peuvent être divisées en deux catégories selon leur localisation *in vivo* : les endo-enzymes, sont synthétisées et utilisées entièrement à l'intérieur de la cellule ; les exo-enzymes, sont des enzymes extracellulaires qui diffusent dans les milieux de culture et qui ont pour mission de « découper » les grosses molécules de nutriments, incapables de pénétrer directement dans la cellule, comme le xyloglucane.

Nous avons réalisé un test de dégradation du xyloglucane sur vingt-neuf souches de *P. polymyxa* isolées de la rhizosphère du blé dur dans des sols algériens (Fig. 1).

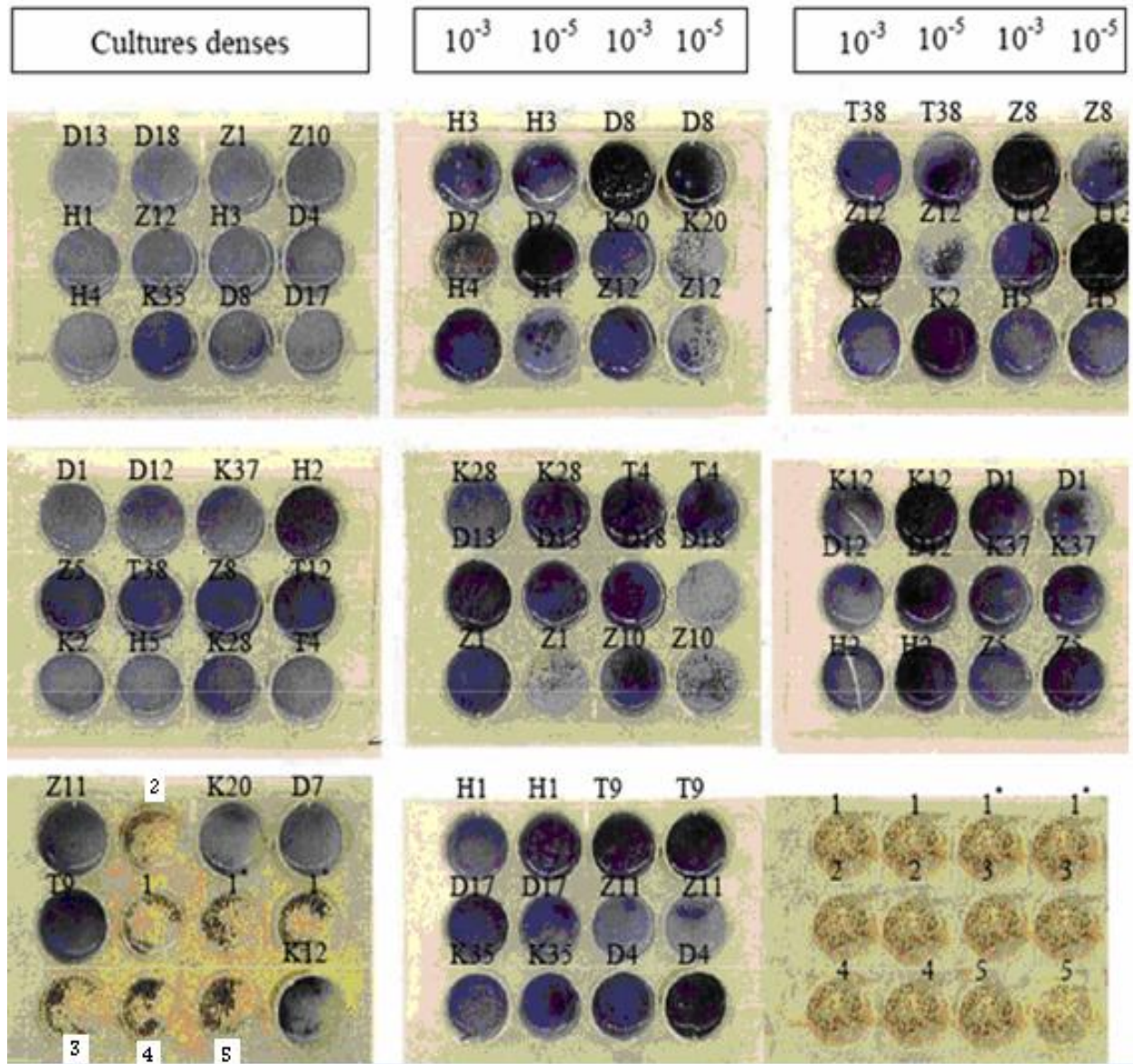


Figure 1: Dégradation du xyloglucane par 29 souches de *P. polymyxa*. L'incubation a lieu à 30° C pendant 48 h en microplaques. 1* : Répétition ; 1 : *E. coli* EDCM367 ; 2 : *R. gallicum* R602^T ; 3 : *P. brassicacearum* NFM421 ; 4 : *Sinorhizobium meliloti* 1021 ; 5 : *Rhizobium* sp. YAS34.

La dégradation du xyloglucane par les souches de *P. polymyxa* en microplaques se traduit par l'apparition d'une couleur bleue. Il convient de noter que plus la dégradation du polymère est importante, plus l'intensité de la couleur augmente (Fig. 1).

Les résultats, synthétisés dans le Tableau 3, montrent que toutes les souches de *P. polymyxa* sont capables de dégrader le xyloglucane, alors que les souches des espèces testées n'ont pas cette activité (Fig. 1). Les trois concentrations de *P. polymyxa* ont montré cette activité, la culture dense ainsi que ses deux dilutions 10⁻³ et 10⁻⁵.

Tableau 3: Dégradation du xyloglucane par les 29 souches de *P. polymyxa* après incubation à 30°C pendant 48 heures.

Souches	Culture dense	Dilution10 ⁻³	Dilution10 ⁻⁵
SGT4, SGT9, SGT12, SGT38, SGK2, SGK12, SGK20, SGK28, SGK35, SGK37, SGD1, SGD4, SGD7, SGD8, SGD12, SGD13, SGD17, SGD18, SGZ1, SGZ5, SGZ8, SGZ10, SGZ11, SGZ12, SGH1, SGH2, SGH3, SGH4, SGH5	+	+	+
<i>E. coli</i> EDCM 367, <i>R. gallicum</i> R602 [†] , <i>S. meliloti</i> 1021 <i>Rhizobium</i> sp. YAS34, <i>P. brassicacearum</i> NFM421	-	-	-

†: Souche capable de dégrader le xyloglucane.

-: Souche incapable de dégrader le xyloglucane.

Ces résultats semblent suggérer que cette propriété est partagée par tous les *P. polymyxa* et qu'elle n'est pas reliée au sol d'origine de nos souches, ni à l'ancienneté de culture du blé de ces sols.

III.2. Production de la xyloglucanase au cours de la croissance de la souche SGK2

III.2.1. Courbe de croissance

Chez les micro-organismes, la croissance représente l'augmentation du nombre des cellules ou plus exactement de la concentration cellulaire.

La courbe de croissance de *P. polymyxa* SGK2 cultivée en milieu liquide LB représentée par la densité optique en fonction du temps peut-être classiquement découpée en cinq phases (Fig. 2).

A- Phase d'accélération : elle correspond au démarrage de la croissance. La vitesse de croissance augmente d'abord lentement puis plus rapidement.

B- Phase logarithmique ou exponentielle de la croissance. Les bactéries se multiplient sans entrave, le taux de croissance est maximal et constant, le temps de génération est minimal. Le taux de croissance est sous la dépendance des conditions environnementales comme la température, le pH, la nature et la concentration des aliments.

C- Phase de ralentissement : elle correspond au point d'inflexion sur la courbe de croissance qui indique une diminution de la croissance. Elle est due à l'épuisement du milieu de culture du fait de la disparition de un ou plusieurs composés nécessaires à la croissance, de l'accumulation de métabolites inhibiteurs et de l'évolution défavorable de l'environnement physique (pH).

D- Phase stationnaire : le milieu devient de moins en moins favorable à la croissance. Le nombre des cellules viables reste constant. Il peut correspondre à un équilibre entre le nombre de cellules provenant de la division et le nombre de cellules qui disparaissent par lyse. Il peut aussi traduire la persistance des *P. polymyxa* vivants en l'absence de tout développement (formation des spores). Cette phase est caractérisée par une diminution ou une annulation du taux de croissance. On peut l'attribuer à un certain nombre de causes au premier rang desquelles s'inscrirait l'épuisement de l'aliment ou l'accumulation de déchets toxiques ou l'évolution défavorable de l'environnement physique (pH).

E- Phase de décroissance ou de déclin : la mortalité des bactéries domine et devient de plus en plus importante. Cette mortalité cellulaire s'accompagne de deux phénomènes :

- Lyse des bactéries : il s'agit de la destruction des corps bactériens morts par des éléments que les cellules libèrent elles-mêmes au moment de leur mort.
- Le phénomène d'involution : les cellules se déforment pour aboutir à des éléments non-viables de morphologie anormale.

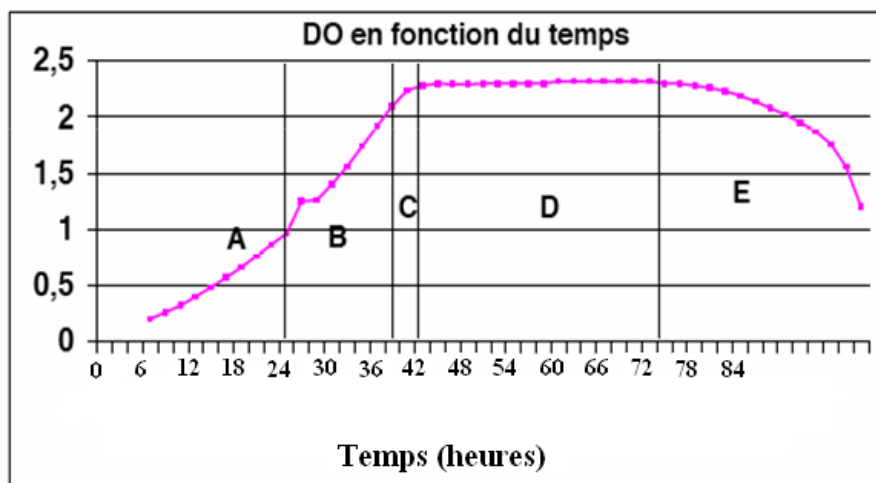


Figure 2 : Courbe de croissance de la souche SGK2. **A** : phase d'accélération ; **B** : phase logarithmique ; **C** : phase de ralentissement ; **D** : phase stationnaire ; **E** : phase de déclin.

III.2.2. Phase de production de xyloglucanase et induction de l'activité

L'activité xyloglucanase de la souche SGK2 a été testée pendant les différentes phases de croissance décrites.

Après 48 h d'incubation de la microplaque une dégradation est observée pour tous les traitements (tab. 4), comme dans l'expérience précédente.

Tableau 4 : Temps d'incubation nécessaire à la souche SGK2 à 30° C pour montrer une activité xyloglucanase.

Age (heures)	Phase de croissance	Culture dense	Dilution 10 ⁻³	Dilution 10 ⁻⁵
18	Accélération	48 h	48 h	48 h
20				
24	Exponentielle	48 h	48 h	48 h
26				
27				
28	Ralentissement	48 h	48 h	48 h
29				
30				
31				
50	Stationnaire	48 h	48 h	48 h
52				

Il semble donc, que quelque soit le stade de croissance, des cellules inoculées aux puits contenant le xyloglucane il faut un certain temps d'adaptation à SGK2 pour produire l'activité xyloglucanase qui semble avoir donc une activité inductible.

L'absence de couleur bleue dans les cupules inoculées avec le surnageant filtré d'une culture bactérienne de 31 h dans le milieu Luria Bertani (LB), confirme que la xyloglucanase

de *P. polymyxa* est une enzyme inductible, sa synthèse ne peut se faire qu'en présence de xyloglucane. Cette synthèse semble dépendre surtout du temps de contact avec le substrat et non pas du stade de croissance de la bactérie. Elle fait donc partie du pool d'enzymes adaptatives ou inductibles qui ne sont normalement présentes qu'à l'état de traces dans les bactéries, et dont la synthèse est amplifiée considérablement en présence de leur substrat. D'après Leclerc et *al.* [25], les enzymes inductibles ne sont synthétisées qu'en cas de besoin, ce qui est une source d'économie pour la cellule.

III.3. Intérêt des bactéries capables de dégrader le xyloglucane

Dans ce travail, nous nous sommes interrogés sur le rôle que pourrait jouer une bactérie capable de dégrader le xyloglucane, car beaucoup de questions sont en suspens. Nous tentons ici de présenter quelques propriétés que pourrait avoir une bactérie xyloglucanase positive.

III.3.1. Elicitation de la défense de la plante

L'initiation d'une réaction de défense par une plante nécessite la perception de molécules « signal » qui appartiennent à l'organisme envahisseur ou qui sont produites par les parois de la plante que l'organisme envahisseur a franchi. Ces signaux moléculaires sont globalement appelés « éliciteurs ». Le terme éliciteur a été employé pour la première fois en 1972 par Keen et *al.* [26] et, aujourd'hui, décrit une molécule produite par un agent phytopathogène ou par l'agresseur, qui induit chez la plante le déclenchement de mécanismes de défense avec production de molécules spécifiques. Ces éliciteurs sont de nature chimique variée et ils ont la capacité d'activer les réponses de défenses de nombreuses plantes [27] à des concentrations allant du nano au micromolaire. Donc lorsqu'un stress, comme les molécules issues de la dégradation par *P. polymyxa* de la paroi de certains mycètes phytopathogènes contenant le xyloglucane, a été détecté par des senseurs, la plante peut développer, de façon coordonnée, des réactions de défense pour restreindre la diffusion et la croissance du pathogène qui se trouve dans le sol afin de le détruire.

De nombreux micro-organismes pathogènes savent contourner les systèmes de défense de la plante. La maladie se développe lorsque le micro-organisme potentiellement pathogène contourne les défenses passives de la plante, évite l'élicitation de la réponse de défense ou en inhibe l'induction par la sécrétion de toxines métaboliques ou de facteurs nécrotiques. Si on dispose de bactéries capables de dégrader le xyloglucane, on peut, par les techniques de biologie moléculaire, améliorer l'efficacité du système de défense de la plante par activation et maintien en latence du système de défense et ce avant l'attaque d'éventuels pathogènes. Une telle résistance est possible, en insérant le gène bactérien de la xyloglucanase. Ceci permet à la plante d'être dans un état défensif latent et de réagir plus rapidement aux futures attaques de pathogènes. En effet, Degraeve [28] en cultivant un colza transgénique exprimant constitutivement un gène de chitinase de haricot, et son témoin non-transformé, a pu constater que la plante transgénique exprime, dans ses racines, une activité chitinolytique significativement supérieure à celle observée dans les racines de la plante témoin. Cette nouvelle voie offre un mécanisme naturel de contrôle biologique des pathogènes des plantes.

III.3.2. Dégradation de débris végétaux, source de nutriments

L'architecture des cellules végétales est un assemblage complexe de polysaccharides de structure (la cellulose) et d'une matrice (les pectines et les hémicelluloses). Les souches de *P. polymyxa* produisent des enzymes cellulases [29]. Parmi ces enzymes, la xyloglucanase qui est certainement importante pour les micro-organismes telluriques quand on sait que le xyloglucane peut représenter 20 % du poids sec de la paroi primaire des végétaux.

La dégradation des débris végétaux par la xyloglucanase de *P. polymyxa* pourrait conduire à la libération de composés de faibles poids moléculaires. Ces derniers pourraient servir de nutriments à la microflore tellurique.

III.3.3. Effet sur la croissance racinaire

Les xyloglucanes sont connus pour leur rôle important dans la structuration de la paroi. Mc Cann *et al.* [30] ont montré que les xyloglucanes lient les bobines de cellulose entre elles. La dégradation du xyloglucane, polysaccharide hémicellulosique structural de la paroi primaire des cellules végétales vivantes, est importante dans le cycle de croissance végétale. En effet, cette dégradation permet l'élongation de la cellulose mise en jeu lors de la croissance racinaire d'où l'importance pour la plante d'avoir des bactéries possédant une activité xyloglucanasique dans la rhizosphère.

III.3.4. Lien avec la colonisation bactérienne des racines

Bekri [31] a montré que grâce à des enzymes produites par la bactérie (dont la pectinase) qui peuvent digérer certains composants de la paroi des cellules végétales, la bactérie peut coloniser les racines rendant l'interaction métaboliquement productive *in situ*. En utilisant une protéine fluorescente verte (GFP) liée à *P. polymyxa*, Timmusk [15] a montré que les racines d'*Arabidopsis thaliana* peuvent être colonisées par cette même espèce bactérienne. Il a constaté que cette dernière pénètre dans les tissus des racines et est abondamment présente dans l'espace intercellulaire.

Les résultats trouvés par ces deux chercheurs nous laissent penser que l'aptitude à dégrader le xyloglucane par les 29 souches de *P. polymyxa* testées pourrait avoir un intérêt *in situ*, car grâce à la xyloglucanase, la paroi des cellules végétales peut être digérée et *P. polymyxa* peut coloniser les racines rendant ainsi l'interaction métaboliquement productive *in situ*. La capacité de ces souches à fixer l'azote [23] ainsi que la production de certaines hormones végétales [15], qui amplifient le développement des racines et améliore ainsi la prise d'eau et d'éléments minéraux, rendent l'interaction potentiellement bénéfique entre les bactéries et la plante.

III.3.5. Autres applications

En plus des propriétés agronomiques que pourrait avoir une bactérie productrice de xyloglucanase, cette enzyme bactérienne pourrait être utilisée en industrie de fabrication des textiles [32]. Donc, l'ensemble de ces points démontre l'importance d'avoir des souches possédant le gène codant pour une xyloglucanase.

IV. Conclusion et perspectives

Le sol renferme un nombre très élevé de bactéries qui appartiennent à une multitude d'espèces. Parmi elles, les bactéries du genre *Bacillus sensu lato* ont longtemps été considérées comme des organismes particulièrement adaptés à un mode de vie saprophytique car elles sont connues pour leur cortège d'exo-enzymes et leur capacité à sporuler et donc à résister aux stress de la rizosphère.

Des travaux publiés au cours des dernières décennies ont montré qu'un certain nombre d'espèces, et en particulier celles du genre *Paenibacillus*, sont performantes dans leur interaction avec les plantes. L'une d'elle, *P. polymyxa*, a été maintes fois isolée de la rhizosphère du blé ainsi que d'autres plantes, ce qui montre qu'elle est compétitive pour cet environnement. Cette espèce bactérienne présente en effet un potentiel important d'activités qui peuvent participer à l'établissement d'une interaction bénéfique avec le blé au niveau de la rhizosphère et certaines souches sont déjà utilisées en inoculation pour améliorer la croissance et la santé des plantes.

Nous nous sommes proposés de déterminer la présence d'une activité xyloglucanasique chez vingt neuf souches de *P. polymyxa* isolées de différents sols algériens. Le test de dégradation du xyloglucane a été réalisé sur un milieu de culture contenant comme seule source de carbone et d'énergie ce polymère.

La dégradation de ce substrat par les vingt neuf souches de *P. polymyxa* testées n'a pas permis de déduire un effet quelconque de l'âge ou de l'origine des souches sur la sélection de *P. polymyxa* ayant une activité xyloglucanase positive. Cette activité xyloglucanasique est inductible.

Les fortes activités de dégradation du xyloglucane par les souches de *P. polymyxa* isolées des sols algériens peuvent être reliées à leur activité d'antibiose vis-à-vis des mycètes pathogènes et à leur vie saprophytique dans le sol.

Les perspectives à envisager seraient l'exploitation des souches de *P. polymyxa* testées, comme agents de lutte biologique pour une agriculture durable. Deux approches sont envisagées :

- l'une consiste à améliorer les plantes pour leur conférer intrinsèquement les moyens de résister, en leur introduisant par transformation génétique, un gène bactérien de xyloglucanase,
- l'autre voie possible est d'utiliser les souches naturellement antagonistes d'agents pathogènes, soit par aspersion dans le sol ou apportées par enrobage ou encapsulation des semences.

V. Références bibliographiques:

- [1] Jack, G.; Logemann, S.; Wolf, G.; Oppenheim, A.; Chet, I.; Schell, J.; Logemann, J.; Expression of bacterial chitinase leads to improved resistance of transgenic tobacco plants against fungal infection. *Bioproc.* 1 (1992)1-9.
- [2] Vierheilig, H.; Alt, M.; Neuhaus, J.M.; Boller, J.; Wiemken, A. Colonization of transgenic *Nicotiana sylvestris* plants, expressing different forms of *Nicotiana tabacum* chitinase, by the root pathogen *Rhizoctonia solani* and by mycorrhizal symbiont *Glomus mosseae*. *Mol.Plant-Microbe Interact.* 6 (1993) 261-264.
- [3] Neuhaus, J.M.; Ahl-Goy, P.; Hinz, U.; Flores, S.; Meins, F. High-level expression of a tobacco chitinase gene in *Nicotiana sylvestris*. Susceptibility of transgenic plants to *Cercospora nicotianae* infection. *Plant Mol.Biol.* 16 (1991) 141-151.
- [4] Mavingui, P.; Laguerre, G.; Berge, O.; Heulin, T. Genetic and phenotypic diversity of *Bacillus polymyxa* in soil and in the wheat rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (1992)1894-1903.
- [5] Smid, E.J.; Beek, J.A.M.; Gorris L.G.M. Biological control of *Paenibacillus hirsutum* by antagonistic soil bacteria. In Fokkema N.J., Koihl J., Elad Y. (eds) Biological control of foliar and Post- harvest diseases vol.16 (1993) IOBC/WPRS Bulletin, Wageningen, The Netherlands, pp190-193.
- [6] Nielsen, P.; Sorensen, J. Multi-target and medium-independent fungal antagonism by hydrolytic enzymes in *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus pumilus* strains from barley rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* 22 (1997)183-192.
- [7] Dijksterhuis, J.; Sanders, M.; Gorris, K.G.M.; Smid E.J. Antibiosis play a role in the context of direct interaction during antagonism of *Paenibacillus polymyxa* towards *Fusarium oxysporum*. *J. Appl. Microbiol.* 86 (1999)13-21.
- [8] Beatty, P.H.; Jensen, S.E. *Paenibacillus polymyxa* produces Fusaricidin-type antifungal antibiotic active against *Leptosphaeria maculans*, the causative agent of blackleg disease of Canola. *Can. J. Microbiol.* 48:2 (2002)159-169.

- [9] He, J.; Boland, G.J.; Zhou, T. Concurrent selection for microbial suppression of *Fusarium graminearum*, Fusarium head blight and deoxynivalenol in wheat. *J. Appl. Microbiol.* 106 (2009)1805–1817.
- [10] Kharbanda, P., Développement et evolution du *Paenibacillus polymyxa* PKB1 comme biofongicide pour les concombres et les poivrons de serre. Agriculture et Agroalimentaire. Canada, BPI (2011) 6-90.
- [11] Walker, R.; Powell, A.A.; Seddon, B. *Bacillus* isolates from the spermosphere of peas and dwarf French beans with antifungal activity *Botrytis cinerea* and *Pythium* species. *J. Appl. Microbiol.* 84 (1998) 791-801.
- [12] Barkley, S.; Yang, J.; Kharbanda, P.D. La diversification de récolte. Projets de recherche / service de transfert de technologie (2001).
- [13] Yang, J.; Kharbanda, P.D.; Mirza, M. Evaluation of *Paenibacillus polymyxa* PKB1 for biocontrol of *Pythium* disease of cucumber in hydroponic system. *Acta Horticulturae* (2002)635 59-66.
- [14] Timmusk, S.; Wagner E.G.H. The plant-growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression: a possible connection between biotic and abiotic stress responses. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1:2 (1999) 951-959.
- [15] Timmusk S., Mechanism of Action of the Plant Growth Promoting Bacterium *Paenibacillus polymyxa*. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the faculty of Science and Technology, Uppsala, *Acta Universitatis Upsaliensis* 908 (2003) 40pp.
- [16] Lee, S.H., Cho J.E., Park, S.H., Balaraju, K., Park, J.W., Lee S.W. and Park, K. Un fusaricine antibiotique: un depsipeptide cyclique de *Paenibacillus polymyxa* E681 induit une résistance systémique contre Mildiou de poivron rouge. *J. Microbiol.* 41(2013) 49-58.
- [17] Haggag, M.W. Colonization of exopolysaccharide producing *Paenibacillus polymyxa* on peanut roots for enhancing resistance against crown rot disease. *Afr. J. Biotech.* 6:13 (2007) 1568-1577.
- [18] Helbig, J. Biological control of *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. in strawberry by *Paenibacillus polymyxa* (Isolate 18191). *J. Phytopathol.* 149 (2001) 265-273.
- [19] Choi, S.K.; Park, S.Y.; Kim, R., Kim, S-B., Lee, C-H.; Kim, J.F.; Park S.H. Identification of a polymyxine synthetase gene cluster of *Paenibacillus polymyxa* and heterologous expression of the gene in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 191 (2009) 3350-3358.
- [20] Naghmouchi, K., Hammani, R., Fliss I., Teather, R., Baah, J. and Drider, D. Colistin B among inhibitory substances of *Paenibacillus polymyxa* JB 05-01-1. *Arc Microbiol.*, 194(5) (2012)363-70.
- [21] Niu, B., Vater J., Ruechert C., Blom J., Lehmann M., Ru J.J., Chen X.H., Wang Q., and Borriss R. Polymyxin P is the active principal in suppressing phytopathogenic *Erwinia* spp. by the biocontrol rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* M.1. *BMC Microbiol* (2013) 13-137.
- [22] Guemouri, S. Isolement et caractérisation des souches de *Bacillus polymyxa* isolées de différents sols algériens, Thèse. Magister. U.S.T.H.B., Alger (1992) 111.
- [23] Athmani-Guemouri S. Adaptation des populations de *Paenibacillus polymyxa* aux racines de blé dur cultivé sur des sols algériens. Thèse Doctorat, USTHB, Alger (2006) 189.

- [24] Guemouri-Athmani, S.; Berge, O.; Bourrain, M.; Mavingui, P.; Thiéry, J.M.; Bhatnagar, T.; Heulin, T. Diversity of *Paenibacillus polymyxa* populations in the rhizosphere of wheat (*Triticum durum*) in Algerian Soils. *Eur. J. Soil Biol.* 36 (2000)149-159.
- [25] Leclerc, H.; Izard, D.; Husson, MO.; Wattre, P.; Jakubczak, E. Microbiologie générale 2ème édition – deuxième tirage (1983).
- [26] Keen, N.T.; Patridge, J.E.; Zaki, A. Pathogen-produced elicitor of a chemical defense mechanism in soy bean monogenetically resistant to *Phytophthora megasperma* var. soj. *Phytopathol.* 62 (1972) 768.
- [27] Radman, R.; Saez, T.; Bucke, C.; Keshavarz T. Elicitation of plants and microbial cell systems. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 37 (2003) 91-102.
- [28] Degraeve, S. Les peuplements et populations de bactéries associées aux racines de colza transformé par l'introduction d'un gène de chitinase. Thèse Doctorat, Nancy (1994) 176.
- [29] Forgarty, W.M.; Griffin, P.J. Physicochemical properties of native zinc and manganese prepared metalloprotease of *Bacillus polymyxa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 25 (1973) 229-238.
- [30] Mc Cann, M.C.; Wells, B.; Roberts, K. Direct visualization of cross- links in the primary plant cell wall. *J. Cell. Sci.* 96 (1990) 323-334.
- [31] Bekri A. Genetic Analysis of Pectinolytic and cellulolytic activities of *Azospirillum irakense* KBC1. Ph.D. thesis. Leuven, Belgium: K.U. Leuven (1998).
- [32] Yuan, S.; Wu, Y.; Cosgrove, J.D. A fungal Endoglucanase with plant cell wall extension activity. *Plant physiol.* 127 (2001) 324-333.

Please cite this Article as:

Athmani-Guemouri S., Lounaci L., Djebbar R., Athmani R., Dégradation du Xyloglucane par les souches de *Paenibacillus polymyxa* isolées de la rhizosphère du blé dur sur des sols Algériens, ***Algerian J. Nat. Products*, 2:2 (2014) 43-55**

www.ajnp.webs.com
www.univ-bejaia.dz/ajnp

Online ISSN: 2353-0391

Editor in chief: Prof. Kamel BELHAMEL