

## LES POLYSACCHARIDES BACTERIENS D'ORIGINE TELLURIQUE: INTERET AGRONOMIQUE

BOUKHELATA Nadia, KACI Yahia

Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes, Equipe « Biologie des Sols »,  
Faculté des Sciences Biologiques, USTHB, BP 32 EL Alia, Alger, Algérie

E-mail: [nanouboukhelata@yahoo.fr](mailto:nanouboukhelata@yahoo.fr) ; [yahiakaci@yahoo.fr](mailto:yahiakaci@yahoo.fr)

**Résumé.-** Ce travail a pour objectif, l'évaluation de la capacité de rétention d'eau (CRE) d'un sol argileux de la station agronomique « ITGC » d'Oued Smar mélangé avec un EPS produit par la souche bactérienne «Paenibacillus polymyxa CHL 0102», isolée de la rhizosphère du blé dur «Triticum durum». Le mélange « Sol-EPS » est homogénéisé, humidifié à 30% de la capacité au champ, puis soumis à une dessiccation à 105°C pour en déterminer la cinétique de perte en eau. Il apparaît que l'EPS produit par Paenibacillus polymyxa CHL 0102 procure au sol une amélioration de la rétention d'eau de 20%. L'ajout de cet EPS à 0,6% procure au sol de l'ITGC des propriétés physiques plus intéressantes (Capacité de Rétention d'Eau) qui seraient la résultante de deux effets additionnels: l'un direct, intrinsèque, lié à un effet que l'on appellera « effet éponge » du polysaccharide et un autre, beaucoup plus intense, qui serait lié à une réorganisation des éléments constitutifs du sol (agrégation), laissant apparaître un volume poral plus important et une structure plus stable.

**Mots clés:** Rhizosphère, Exopolysaccharides, Paenibacillus polymyxa, Agrégation, CRE.

### BACTERIAL POLYSACCHARIDES OF TELLURIC SOURCES: AGRONOMIC INTEREST

**Abstract.-** The aim of this work is to demonstrate the water retention capacity (WRC) of a clay soil « ITGC of Oued Smar » mixed with an EPS produced by the bacterial strain «Paenibacillus polymyxa CHL 0102», isolated from the rhizosphere of durum wheat «Triticum durum». The soil-EPS mixture is homogenized, humidified at a rate of 30% of the field capacity and then subjected to desiccation at 105 ° C in order to determine the kinetics of water loss. It appears that the EPS of Paenibacillus polymyxa CHL 0102 gives the soil an improvement in water retention of 20%. The addition of 0.6% EPS gives the ITGC soil more interesting physical properties (WRC), which would be the result of two additional effects: one inside effect of the polysaccharide, that we called « sponge effect » and the other much more intense, results in a reorganization of the constituent elements of the soil (aggregation), revealing a greater porosity and a more stable structure.

**Key words:** Rhizosphere, Triticum durum, exopolysaccharides, Paenibacillus polymyxa, soil aggregation, WRC.

### Introduction

Les polysaccharides sont des polymères glucidiques composés de chaînes droites ou ramifiées. La longueur de la chaîne, le nombre et le type d'unités latérales et la charge chimique de la molécule influent sur les propriétés fonctionnelles [1,2], comme la viscosité, la capacité de rétention d'eau et la réticulation. Ces macromolécules forment un groupe diversifié et peuvent être classés selon: leur origine (animal, végétal, fongique, algale ou bactérienne); leur nature (de réserve ou de structure); leur solubilité dans l'eau ou leur digestion dans le système gastro-intestinal humain [3]. Dans le sol, les exopolysaccharides (EPS) sont produits par des micro-organismes tels que les bactéries et les champignons. Les EPS sont localisés à l'extérieur des

cellules microbiennes, ils peuvent être étroitement associés à leur surface sous forme de capsule ou bien être excrétés dans le milieu environnant. Chaque espèce bactérienne est capable de synthétiser plusieurs EPS, mais un seul est en général exprimé pour une condition environnementale donnée. Un intérêt scientifique et industriel est porté aux EPS d'origine microbienne (produits en grande quantité, diversité structurale, produits à partir de ressources renouvelables, sont biodégradables et parfois biocompatibles, etc.). Ces polymères présentent de multiples propriétés fonctionnelles, liées à leur comportement en solution (épaissir, émulsionner, stabiliser et gonfler, etc.) [4-11]. Dans le domaine agronomique, les polysaccharides, au même titre que toute matière organique, jouent le rôle de ciment et concourent à la mise en place d'une meilleure cohésion du sol et une plus grande stabilité [12,13].

Ce travail représente une partie d'un projet qui s'inscrit dans un cadre plus général d'étude de l'amélioration de la capacité de rétention en eau (CRE) des sols, par l'utilisation d'EPS bactériens. La bactérie utilisée dans la présente étude est *Paenibacillus polymyxa* CHL 0102, isolée de la rhizosphère du blé dur (*Triticum durum* L.).

## 1.- Matériel et méthodes

### 1.1.- Sol

Le sol utilisé est un sol argileux, qui provient de la station agronomique ITGC de Oued Smar (Alger).

### 1.2.- Bactérie

La sélection des souches bactériennes est basée essentiellement sur l'aspect muqueux des EPS, l'élasticité, la transparence de la colonie ainsi que la quantité de polysaccharides produite. La souche bactérienne utilisée dans cette étude appartient à l'espèce *Paenibacillus polymyxa*, (souche CHL 0102).

### 1.3.- Production d'EPS

Elle est réalisée sur boîtes de Petri, contenant le milieu YESA (2% de saccharose). Les boîtes de Petri sont incubées pendant 7 jours à 30°C. L'EPS obtenu est ensuite collecté à l'aide d'une spatule stérile.

Il faut préciser que le terme EPS utilisé correspond au moût bactérien composé majoritairement de polysaccharides.

### 1.4.- Capacité de rétention d'eau de l'EPS-C

Le but de l'expérimentation est de déterminer le niveau d'hydratation de l'EPS-C. Pour cela, nous avons introduit 3g de ce polymère dans une thermobalance (Sartorius) à une température de 105°C, pour déterminer la cinétique de dessiccation.

### 1.5.- Capacité de rétention d'eau du Mélange EPS-C/Sol

Afin de se rapprocher le mieux des phénomènes naturels, nous avons jugé utile de voir l'effet direct des polysaccharides non purifiés sur l'agrégation du sol. L'EPS-C est bien mélangé

avec du sol sec de l'ITGC à raison de 0.6%. Ce mélange est ensuite humidifié avec de l'eau distillée (à 30% de la capacité au champ). Trois grammes du mélange sont introduits dans une thermobalance (Sartorius), pour déterminer la cinétique de perte en eau à une température de 105°C.

Il est à préciser que les différentes expériences menées durant ce travail ont été répétées 3 fois.

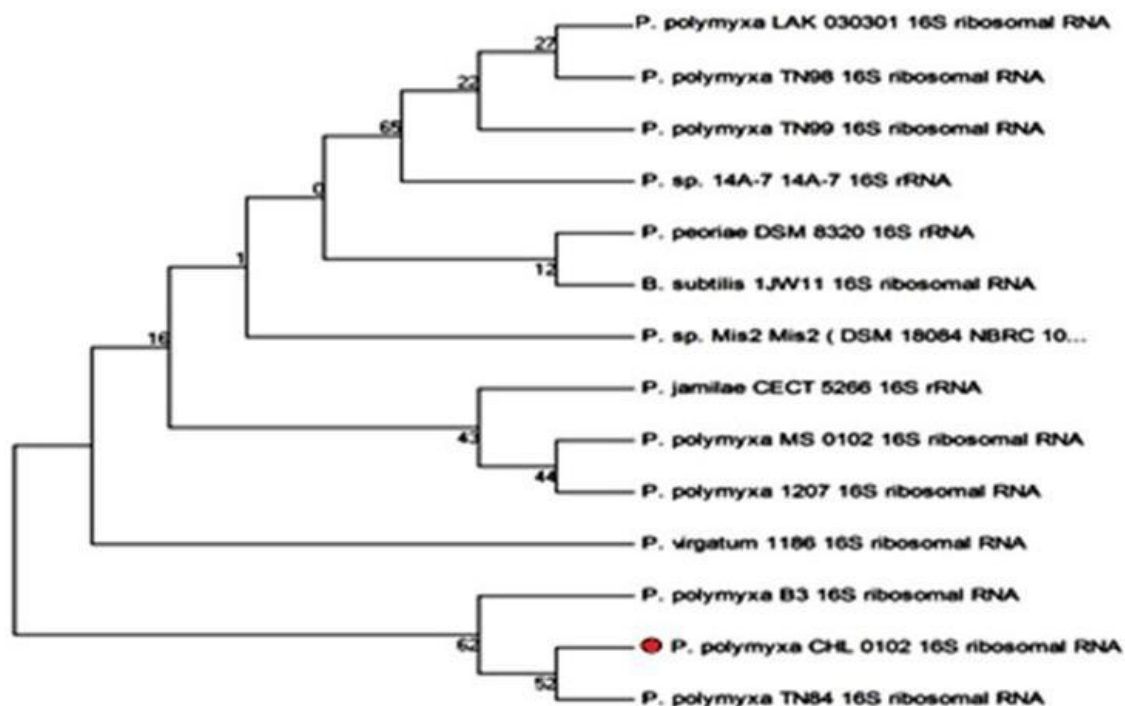
## 2.- Résultats et discussion

### 2.1.- Identification de la souche bactérienne CHL 0102

A partir des 73 isolats hyper producteurs d'EPS, nous avons retenu la souche bactérienne codifiée « CHL 0102 », provenant d'une région semi-aride « Chlef, Algérie ». La caractérisation phénotypique (tab. I.), suivie d'une identification moléculaire a confirmé son appartenance à l'espèce *Paenibacillus polymyxa*, avec un taux de similitude de 99% (fig. 1).

Caractères	CHL 0102
Aspect des colonies	Circulaires, opaque et brillantes
Pigmentation	Blanchâtres
Gram	+
Morphologie cellulaire	Bacille
Arrangement cellulaire	Isolés, en paires, et rarement en chaînes
Mobile	+
Catalase	+
Oxydase	-
Nitrate réductase	+
Dénitritification	-
Indole	-
Urée	-
ODC	+
LDC	-
ADH	-
Gélatinase	+
Amylase	+
Fermentation glucose	-
Fermentation du mannitol	+
Utilisation des Citrates	-

Tableau I.- Caractéristiques phénotypiques de la souche bactérienne CHL 0102.



**Figure 1.** Positionnement phylogénétique de la souche *Paenibacillus polymyxa* CHL 0102, par comparaison des séquences d'ADNr 16S aux autres souches génétiquement proches. Le dendrogramme est réalisé par la méthode de calcul Neighbour-Joining en utilisant le logiciel BioEdit [14].

## 2.2.- Production d'EPS

Le calcul du rendement de production de l'EPS-C montre que la souche *P. polymyxa* CHL 0102 produit des quantités importantes d'EPS estimées à 53.33 g de poids frais par litre de milieu de culture (fig. 2). L'étude du potentiel de production d'EPS des différentes souches isolées dans notre laboratoire, ont montré des rendements de production inférieurs à la souche sélectionnée « *P. polymyxa* CHL 0102 ». Par exemple, les souches de « *Paenibacillus* sp. KYEGB2 » et « *Rhizobium* sp. KYGT207 » étudiées par KACI *et al.* (2005) [12] dans les mêmes conditions expérimentales n'étaient capables de produire que 14.5 et 14.2 g de poids frais d'EPS par litre de milieu de culture, respectivement. La souche *P. polymyxa* CHL 0102 produit donc une quantité appréciable d'EPS estimée à plus de 3.5 fois plus que celles produites par les souches *Paenibacillus* sp. KYEGB2 ou *Rhizobium* sp. KYGT207.

Il est bien connu que les souches bactériennes soumises, surtout à des conditions de stress hydrique, montrent une augmentation de leur production d'EPS. La production d'EPS semblerait compenser la carence en eau [13]. Le travail de Roberson et Firestone [15] portait sur la culture de *Pseudomonas* sp. dans une matrice de sable, les cultures sous stress hydrique ont produit plus d'EPS et moins de protéine en comparaison à une culture de référence (haute teneur en eau).



**Figure 2.-** Collecte de l'EPS-C produit par la souche *P. polymyxa* CHL 0102.

### 2.3.- Cinétique de perte en eau de l'EPS-C

Il est important de noter que ce polymère n'a subi aucun traitement particulier (purification, séchage) avant son utilisation. Dans ces conditions, les EPS bactériens ne sont pas à leurs maxima de rétention d'eau, vu que l'eau disponible dans le milieu de culture constitue un facteur limitant (concentration élevée en sucre permettant une faible activité d'eau  $A_w$ ). Cette étude permet donc une évaluation de la rétention d'eau des EPS d'un point de vue purement comparatif. La Figure 3 représentant la cinétique de dessiccation de l'EPS-C montre la présence de 2 phases; l'une se caractérise par une évaporation rapide (faible nature des liaisons impliquées) et une autre plus lente qui se traduit par une légère réduction d'évaporation d'eau (les molécules d'eau fortement liées à l'EPS). D'autre part la comparaison des résultats de dessiccation de l'EPS-C par rapport au témoin (eau) montre qu'à  $T=19$  min, la perte en eau est égale à 100% pour le témoin, alors que pour l'EPS-C la perte en eau n'est que de 69 % pour le même temps (19 min). D'autre part, il apparaît que les valeurs de perte en eau observées sont comparables à celles relatées par d'autres chercheurs. Kaci et al. [16], ont rapporté que pendant la première phase de dessiccation, l'EPS KYEGB2 (produit par *Paenibacillus* sp.) a perdu 85%, alors que l'EPS-C n'a perdu que seulement 70%.

Selon la littérature, ce comportement est la résultante du caractère "intrinsèque" des EPS; la capacité de retenir plusieurs fois leur poids sec en eau [13].

### 2.4.- Cinétique de perte en eau du mélange « EPS-C/Sol »

L'analyse des cinétiques de dessiccation du sol d'ITGC, en présence ou non de l'EPS-C, montre que l'ensemble des courbes suivent la même allure. Nous avons constaté aussi qu'à  $T=13$  min le témoin (sol nu) perd 100% de son eau, tandis que le sol mélangé à l'EPS-C ne perd que 80% de son eau (Fig. 4). Ceci traduit un effet bénéfique de l'EPS-C sur la CRE, estimée à + 20%. Selon la littérature, les EPS bactériens jouent un rôle important dans la structuration du sol en lui conférant de nouvelles propriétés physiques et chimiques, permettant une meilleure rétention d'eau ainsi qu'une amélioration de la capacité d'échange cationique (élément fondamental dans la fertilité des sols) [12, 17].

Selon Alami et al. [18], l'amélioration de la capacité de rétention en eau (CRE) des sols par addition des EPS est la résultante de deux facteurs:

- la capacité intrinsèque des EPS pour la rétention d'eau.
- une réorganisation des éléments constitutifs du sol, entraînant une augmentation du volume poral.

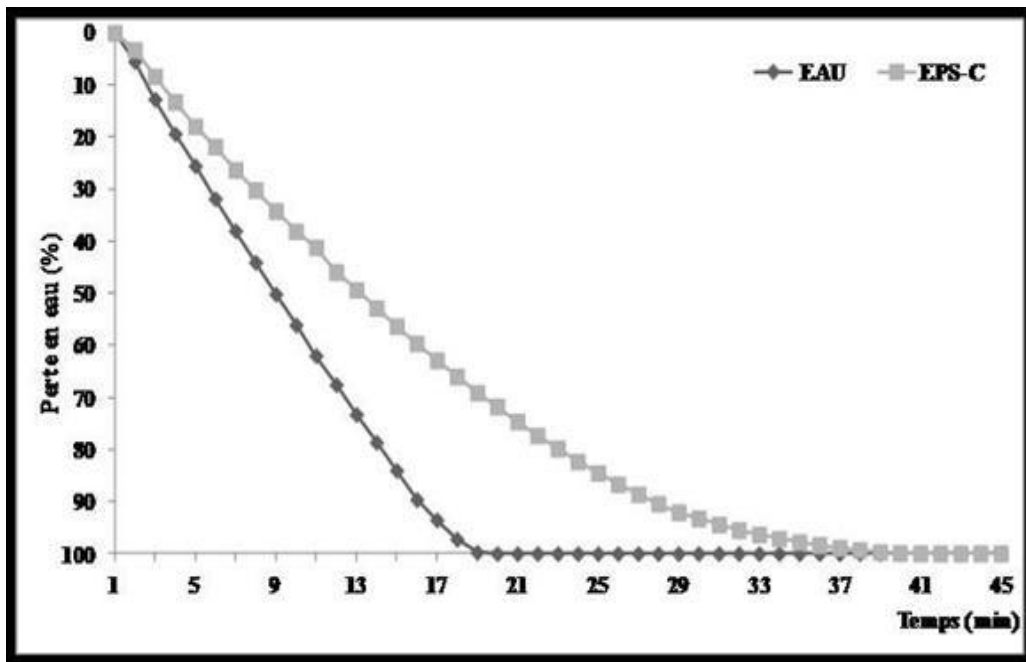


Figure 3.- Cinétiques de dessiccation de l'EPS-C à 105°C.

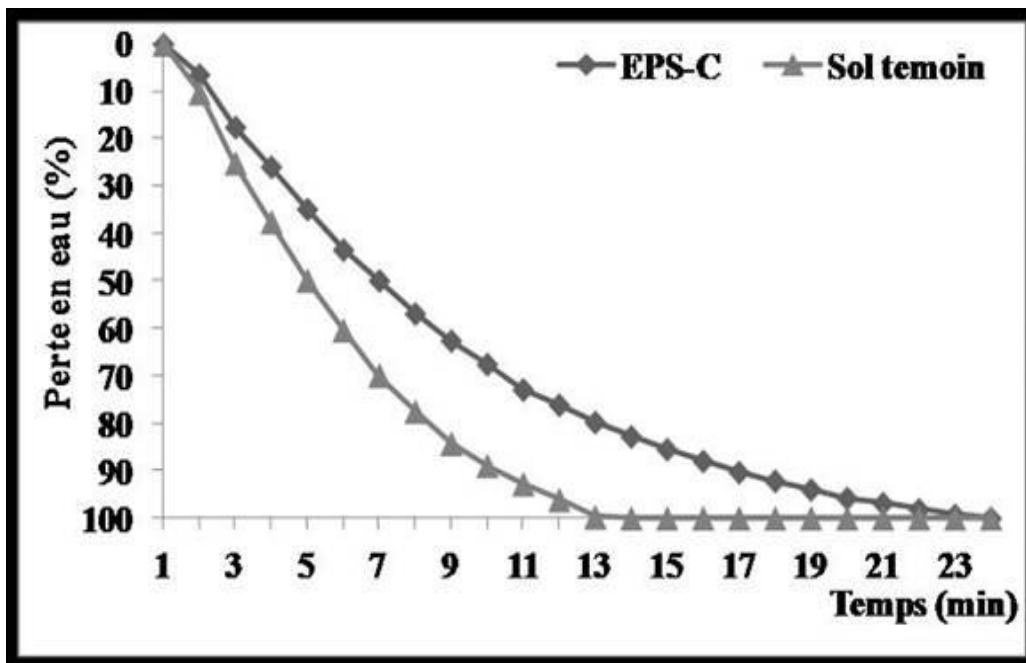


Figure 4.- Cinétiques de dessiccation du mélange de « l'EPS-C / sol d'ITGC » à 105°C.  
La teneur en EPS dans le sol est de 0,6% et le taux d'humidité est de 30%.

## Conclusion

L'étude phénotypique de la souche bactérienne CHL 0102, suivie d'une analyse moléculaire a révélé son appartenance à l'espèce *Paenibacillus polymyxa*. Au regard de l'importance de la quantité d'EPS produite par cette souche, celle-ci peut être considérée comme bactérie hyper-productrice de polyassacharides.

L'amélioration de la rétention d'eau du sol de l'ITGC (+20%), observée après l'ajout de l'EPS-C à faible concentration (0.6%) ne peut être seulement le résultat d'une simple rétention intrinsèque par les EPS. Nous pensons en effet qu'il s'agit plutôt d'une réorganisation structurale du sol en présence d'EPS, ce qui a pour conséquence un volume poral plus important.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que cet EPS à travers sa capacité de rétention d'eau pourrait représenter un bon candidat dans plusieurs domaines, notamment la cosmétologie et l'agronomie. En effet cela pourrait constituer une bonne alternative en réponse à des situations de déficit hydrique ou de dessiccation temporaire.

## Références

- [1].- Byrom D., 1987.- Polymer synthesis by micro-organisms: Technology and economics, Trends Biotechnol, vol. 5: 246-250.
- [2].- Johns M.R., Noor E., 1991.- Recovery and purification of polysaccharides from microbial broth, Aust. J. Biotechnol, vol. 5 (2): 73-77.
- [3].- Patterson C.A., 2008.- Polysaccharides (d'origine végétale): Pour la santé de l'intestin. Agriculture et Agroalimentaire Canada, 4p.
- [4].- Vandamme E.J., De Baets S., Steinbuechel A., 2002.- ed. Biopolymers, Volume 5: Polysaccharides I, Polysaccharides from Prokaryotes.
- [5].- Madden J.K., Dear I.C.M., Steer D.C., 1986.- Structural and Rheological Properties of the Extracellular Polysaccharides from *Bacillus polymyxa*. Carbohydr. Polym, vol. 6: 51-73.
- [6].- Mokaddem H., Sadaoui Z., Boukhelata N., Azouaou N., Kaci Y., 2009.- Removal of Cadmium from aqueous solution by polysaccharide produced from *Paenibacillus polymyxa*. J. of Hazard. Mater, vol. 172 (2-3): 1150-1155.
- [7].- Laroche C., Michaud P., 2010.- Comprehensive food fermentation biotechnology: microbial polysaccharides, VOL 2, Chapter 8, 54p.
- [8].- Raza W., Makeen K., Wang Y., Xu Y., Qirong S., 2011.- Optimization, purification, characterization and antioxidant activity of an extracellular polysaccharide produced by *Paenibacillus polymyxa* SQR-21. Bioresour. Technol, vol. 102: 6095-6103.
- [9].- Häbler T., Schieder D., Pfaller R., Faulstich M., Sieber V., 2012.- Enhanced fed-batch fermentation of 2,3-butanediol by *Paenibacillus polymyxa* DSM 365. Bioresour. Technol, vol. 124: 237-244.

- [10].- Rafigh S.M., Yazdi A.V., Vossoughi M., Safekordi A.A., Ardjmand M., 2014.- Optimization of culture medium and modeling of curdlan production from *Paenibacillus polymyxa* by RSM and ANN. Int. J. Biol. Macromol, vol. 70: 463-473.
- [11].- Liang T.W., Wu C.C., Cheng W.T., Chen Y.C., Wang C.L., Wang I.L., Wang S.L., 2014.- Exopolysaccharides and antimicrobial biosurfactants produced by *Paenibacillus macerans* TKU029. Appl. Biochem. Biotechnol, vol. 172: 933-950.
- [12].- Kaci Y., Heulin T., 2008.- Les polysaccharides bactériens: un moyen d'améliorer la capacité de rétention d'eau des sols. Revue des régions arides, vol. 3 (21): 1159-1166.
- [13].- Henao-Valencia L.J., 2008.- Etude des bases moléculaires de l'agrégation des sols par des exopolysaccharides bactériens. Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier, 196p.
- [14].- Hall T.A., 1999.- BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids Symp, Ser vol. 41: 95-98.
- [15].- Roberson E.B., Firestone M.K., 1992.- Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in a soil *Pseudomonas* sp. Applied and Environmental Microbiology, vol. 58 (4):1284-1291.
- [16].- Kaci Y., Heyraud A., Barakat M., Heulin T., 2005.- Isolation and identification of an EPS-producing *Rhizobium* strain from arid soil (Algeria): characterization of its EPS and the effect of inoculation on wheat rhizosphere soil structure. Res. Microbio, vol. 156: 522-531.
- [17].- Channey K., Swift R.S., 1986.- Studies on aggregate stability. II. The effect of humic substances on the stability of re- formed soil aggregates. J. Soil Sci, vol. 37: 337-343.
- [18].- Alami Y., Achouak W., Marol C., Heulin T., 2000.- Rhizosphere soil aggregation and plant-growth promotion of sunflower by an EPS-producing *Rhizobium* sp. Strain isolated from sunflowers roots. Appl. Environ. Microbiol, vol. 66: 3393-3398.