

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université SAAD DAHLEB - Blida 1**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la vie**  
**Département de Biotechnologie et agroécologie**  
**Mémoire de fin d'étude**  
**En vue de L'obtention du Diplôme de Master 2**  
**Option : Biotechnologie Microbienne**

## **Thème**

# **Etude de l'activité antagoniste des *Pseudomonas* spp. Fluorescents Isolées de la rhizosphère du palmier dattier**

**Réalisé par : Khali Hiba**

**Oukouchih Asma**

**Date de soutenance : 18 /07/2022**

**Devant les membres de jury :**

<b>M<sup>me</sup> Mekhaldi D.</b>	<b>Docteur</b>	<b>UB1</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup> M<sup>ed</sup> Mahmoud F.</b>	<b>MCA</b>	<b>UB1</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> Ait Saadi N.</b>	<b>MCB</b>	<b>UB1</b>	<b>Promotrice</b>

**Promotion 2021-2022**

## **Remerciement**

*Nous tenons tout d'abord à remercier sincèrement notre promotrice Mme Ait Saadi pour avoir bien voulu diriger ce travail en nous faisant part de ses connaissances, ses remarques et ses conseils.*

*Nous n'oublions pas de remercier les membres du jury, Med mahmoud et Mme Mekhaldi qui ont accepté d'examiner ce travail.*

*Nos sincères remerciements à tous ceux et celles que nous avons rencontré et qui nous ont aidé durant nos 5 ans d'études universitaires.*

**Merci**

## **Dédicace**

C'est grâce à **Dieu** le tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté pour achever ce modeste Travail que je dédie :

A mes très chers parents « **Hamza et Djamila** » pour leurs encouragements, pour leur soutien, leurs prières tout au long de mes études avec beaucoup d'amour.

À mes très chères sœurs : **Hadjer et Yasmine.**

A mon cher Frère : **Riyad.**

A ma grand-mère et à ma deuxième maman : **Zoulikha**, mon grand-père que son âme repose en paix et que j'aimerais bien.

À toute la famille **Khali** : **oncles et tantes, cousins et cousines.**

A ma meilleure amie d'enfance : **Amina.**

À ma chère binôme et sœur **Asma** et à toutes sa famille, avec qui j'ai partagé les meilleurs moments, qui m'a beaucoup aidé, à qui je dis bon Courage et bonne continuation.

À tous **mes enseignants** et à toute la promotion de Master 2 Microbienne 2021/2022.

**A tous ceux que j'aime.**

**A tous ceux qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin**

**Hiba**

## **Dédicace**

*Je dédie ce modeste travail : A Dieu, tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail :*

***A mes Parents** qui ont tout fait pour moi, pour m'avoir soutenue tout au long de mes études, pour leurs encouragements, conseils, soutiens et leurs sacrifices.*

***A ma très chère sœur : Lina***

***A mon petit frère : Omar***

***Mes grand mères, mon grand père** que son âme repose en paix et que j'aimerais bien qu'il soit présent à ma soutenance, mes oncles, **mes cousins, mes cousines, ainsi que toute ma famille.***

*Ma chère **binôme** Hiba, ma douce soeur qui a eu la patience de me supporter durant ce mémoire, et qui m'a soutenu et encouragé pendant tous les moments difficiles, je te souhaite plein de succès dans ta future carrière et bonne chance.*

***A mes amis** et à toutes les personnes que j'aime...*

*A tous ceux qui m'ont apporté de l'aide de près ou de loin.*

**ASMA**

## Résumé

### Étude de l'activité antagoniste des *Pseudomonas* spp. Fluorescents isolées de la rhizosphère du palmier dattier

Le présent travail porte sur l'isolement, l'identification et l'étude de l'activité antagoniste des *Pseudomonas* spp fluorescents formatrice des biofilms. Les isollements ont été réalisés à partir de sol rhizosphérique de 4 variétés différentes de palmier dattier issus de la région de taghit wilaya de Béchar, qui est considéré comme un milieu extrême riche en microorganisme à des fins biotechnologiques. 15 souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents ont été sélectionnées sur 40 selon la clé d'identification de bossis. D'après les résultats d'identification (macroscopiques, microscopiques, biochimique), les souches ont été affiliées à l'espèce *Pseudomonas putida* ou au groupe intermédiaire de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. Les souches retenues ont été testées in vitro pour leur activité antagoniste vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* avec deux formats spéciaux F.sp. *albedinis* et f.sp. *lycopersicisi* par la technique de confrontation directe. Toutes les souches ont montré une inhibition de la croissance mycélienne. Les souches TC1 et TB3 ont montré une inhibition importante de la croissance mycélienne avec un pourcentage d'inhibition de 78% et 80% respectivement. Les souches ayant montré une activité antagoniste ont été testées pour leur capacité de production des biofilms par la méthode de culture sur rouge congo (RCA) et par coloration par cristal violet. 50% des souches ont montré une capacité de formation des biofilms avec la méthode (RCA) et 90% avec la méthode de cristal violet. TC1 est la souche la plus formatrice de biofilm avec une densité optique de 2.5 DO.

**Mots clés :** *Pseudomonas* spp. Fluorescents, palmier dattier, activité antagoniste, PGPR, *fusarium oxysporum*, biofilm

## Abstract

### Study of the antagonistic activity of *Pseudomonas* spp. fluorescents isolated from the rhizosphere of the date palm

Our study focuses on the isolation, identification of the antagonistic activity of biofilm-forming fluorescent *Pseudomonas* spp. the samples were collected from rhizospheric soil of four different varieties of date palms from the Taghit region, which is considered to be an extreme and abundant environment for microorganisms of biotechnological asset. 15 of *Pseudomonas* spp. fluorescents were selected from the 40 isolates after an identification process. According to the identification results (macroscopic, microscopic, biochemical), the strains were affiliated to the species *Pseudomonas putida* and intermediate *P.putida* and *P.fluorecens* groupe The strains were tested in vitro for their antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* with two special forms f.sp. *albedinis* and f.sp. *lycopersici* by the direct confrontation technique. All strains showed inhibition of mycelial growth. The TC1 and TB3 strains showed significant inhibition of mycelial growth with an inhibition percentage of 78% and 80% respectively. The strains that showed antagonistic activity were tested for their ability to produce biofilms by the congo red agar method (RCA) and by crystal violet assay. 50% of the strains showed an ability to form biofilm with the (RCA) method and 90% with the crystal violet method. TC1 is the most biofilm-forming strain with an optical density of 2.5 OD.

**Key words:** *Pseudomonas* spp. fluorescents, date palms, antagonistic activity PGPR, *fusarium oxysporum*, biofilm

## المخلص

تركز دراستنا على عزل وتحديد وتوثيق النشاط المضاد وكذلك القدرة على تكوين البيو فيلم للبكتيريا

*Pseudomonas spp. Fluorescentes* . تم جمع العينات من تربة جذور نباتية من 4 أنواع مختلفة من نخيل التمر من منطقة تاغيت، والتي تعتبر بيئة قاسية وغنية بالكائنات الحية الدقيقة ذات الاستعمالات البيوتكنولوجية. تم اختيار 15 سلالة *Pseudomonas spp. fluorescents*. من أصل 40 سلالة بعد عملية التعرف والتصنيف. وبحسب نتائج التعريف (العياي، المجهرى، البيو كيميائي) كانت السلالات تابعة لنوع *P. putida/groupe intermédiaire P. putida-P. fluorescens*

تم اختبار السلالات في المختبر لنشاطها في تثبيط نمو الفطر *Fusarium oxysporum* بنوعين خاصين *f.sp.albedinis* و *f.sp.lycopersici* بتقنية المواجهة المباشرة. أظهرت جميع السلالات قدرة على تثبيط نمو الفطرين. أظهرت السلالات TC1 و TB3 تثبيطا كبيرا لنمو الفطريات بنسبة % 78 و % 80 على التوالي. تم اختبار السلالات التي أظهرت نشاطا مضادا على قدرتها على إنتاج البيو فيلم (biofilm) بتقنية (RCA) و (Crystal violet) أظهرت 50 % من السلالات قدرة على تكوين البيوفيلم بتقنية (RCA) و % 90 ب تقنية (Crystal violet). TC هي السلالة الاكثر تكويناً للبيو فيلم بكثافة بصرية تبلغ 2.5 DO.

كلمات مفتاحية: *Pseudomonas spp. Fluorescentes*، نخيل التمر، نشاط مضاد، biofilm, PGPR,

*Fusarium, oxysporum*

## Liste des abréviations

**ADH** : Arginine dihydrolase

**AHL** : Acylhomosérines lactones

**AHLs** : Acyl-homosérines lactones

**AIA** : Acide indole acétique

**AND** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : L'acide ribonucléique

**ARNr** : L'ARN ribosomique

**BHIB** : Bouillon de cœur de cerveau

**CV** : Cristal violet

**DAPG** : 2,4- diacetylphloroglucinol

**DOT** : Densité optique de témoin

**DPG**: Les antifongique 2, 4-diacetylphloroglucinol

**DRB**: Deleterious rhizobacteria

**EPS**: Substances polymériques extracellulaires

**Foa**: *Fusarium oxysporum. albidinis*

**Fol**: *Fusarium oxysporum. lycopersici.*

**G+C:** Guanine + cytosine (coefficient de Chargaff)

**gyrB :** Sous-unité  $\beta$  de l'ADN gyrase

**HCN:** Cyanure d'hydrogène

**IMA-MycoBank:** International Mycological Association

**ISR :** Résistance systémique induite

**LPS :** Les lipopolysaccharides

**PCA :** La phénazine-1- acide carboxylique

**PGPR:** Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

**Pvds :** Un groupe de Sidérophores Pyoverdines

**QS:** Quorum Sensing.

**RCA:** Gélose de rouge Congo

**recA :** Recombinase A

**UV:** ultraviolet

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1</b> : Caractères clés de 3 espèces fluorescents de <i>Pseudomonas</i> .	16
<b>Tableau 2</b> : Les pigments de <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents.	17
<b>Tableau 3</b> : liste de certain produit commercialisé à base de <i>Pseudomonas Fluorescens</i> ....	21
<b>Tableau 4</b> : Caractéristique des échantillons du sol .....	22
<b>Tableau 5</b> : Quelque caractéristique d'identification des souches <i>Pseudomonas</i> spp fluorescentes isolées .....	34
<b>Tableau 6</b> : résultats de DO du test de la formation du biofilm par la méthode de CV .....	41
<b>Tableau 7</b> : Quelques caractéristiques morphologiques des souches <i>Pseudomonas</i> spp. Isolées .....	54
<b>Tableau 8</b> : Les résultats de test de l'Activité antagoniste des souches vis-vis le Foa et Fol ..	55
<b>Tableau 9</b> : Calcule des écarts type des zones d'inhibition des souches.....	56
<b>Annexe 1</b> : Le matériel utilisé au laboratoire.....	50
<b>Annexe 2</b> : Composition des milieux de culture.....	53
<b>Annexe 3</b> : Tableaux des résultats .....	54

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Figuration schématique du palmier dattier .....	5
<b>Figure 2</b> : Mécanismes d'action des bactéries PGPR. ....	12
<b>Figure 3</b> : Préparation des dilutions décimales.....	23
<b>Figure 4</b> : Étalement par des billes en verre .....	23
<b>Figure 5</b> : Clé dichotomique de .....	24
<b>Figure 6</b> : Méthode de confrontation directe en boîte de Pétri entre les souches bactériennes de <i>Pseudomonas</i> Spp. Fluorescents et l'agent phytopathogène.....	28
<b>Figure 7</b> : La fréquence de souches fluorescentes et non fluorescentes isolées.....	30
<b>Figure 8</b> : La fluorescence des isolats bactériens sous UV (350nm) .....	31
<b>Figure 9</b> : La fréquence des souches Gram – et Gram +.....	31
<b>Figure 10</b> : La formation d'un filament mucoïde confirmant le Gram négatif par le test de KOH .....	32
<b>Figure 11</b> : Résultats des tests d'oxydase et de catalase. <b>A</b> : L'oxydase ; <b>b</b> : catalase .....	32
<b>Figure 12</b> : Résultat des tests arginine et gélatine <b>A</b> : test de l'arginine ; <b>B</b> : test de gelatinase .....	33
<b>Figure 13</b> : Histogramme qui représente les taux d'inhibition des souches bactérienne dans le milieu King B vis-vis les champignons Foa et Fol .....	36
<b>Figure 14</b> : photos du test d'antagonisme de quelques souches avec les témoins correspondants sur le milieu KB .....	37
<b>Figure 15</b> : histogramme qui représente les taux d'inhibition des souches bactérienne dans le milieu PDA vis- à_ vis les champignons Foa et Fol .....	38
<b>Figure 16</b> : photos du test d'antagonisme de quelques souches avec les témoins correspondants sur le milieu PDA.....	39
<b>Figure 17</b> : Résultats positifs de test rouge congo.....	40
<b>Figure 18</b> : Résultats négatifs de test rouge congo.....	40
<b>Figure 19</b> : Histogramme représente la densité optique des souches productrices du biofilm	42
<b>Figure 20</b> : Photos des différentes épaisseurs des anneaux de biofilm.....	42

# Sommaire

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

<b>I.1 Définition .....</b>	<b>3</b>
<b>I.2 Taxonomie .....</b>	<b>3</b>
<b>I.3 Description morphologique du palmier dattier .....</b>	<b>3</b>
<b>I.3.1 Le système végétatif Le tronc.....</b>	<b>3</b>
<b>I.3.2 L'appareil reproducteur Les inflorescences ou les spathes.....</b>	<b>4</b>
<b>I.4 Origine et répartition géographique .....</b>	<b>5</b>
<b>I.4.1 Origine.....</b>	<b>5</b>
<b>I.4.2 Répartition géographique.....</b>	<b>6</b>
<b>I.4.2.1 Dans le monde .....</b>	<b>6</b>
<b>I.4.2.2 En Algérie.....</b>	<b>6</b>
<b>I.5 Importance écologique, sociale et économique du palmier dattier .....</b>	<b>6</b>
<b>I.6 Les exigences écologiques.....</b>	<b>7</b>
<b>I.7 Les contraintes de la culture du palmier .....</b>	<b>8</b>
<b>I.7.1 Les contraintes abiotiques .....</b>	<b>8</b>
<b>I.7.2 Contraintes biotiques .....</b>	<b>8</b>
<b>I.7.2.1 Le Bayoud .....</b>	<b>8</b>
<b>I.8 Traitements .....</b>	<b>9</b>
<b>I.8.1 Traitements cultural .....</b>	<b>9</b>
<b>I.8.2 Traitements chimique .....</b>	<b>9</b>
<b>I.8.3 Traitement biologique.....</b>	<b>10</b>
<b>II.1 La Rhizosphère.....</b>	<b>11</b>
<b>II.2 Les Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR).....</b>	<b>11</b>
<b>II.3 Mode d'action des PGPR.....</b>	<b>11</b>
<b>II.3.1 Mode d'action direct .....</b>	<b>12</b>
<b>II.3.1.1 Solubilisation du phosphate .....</b>	<b>12</b>

II.3.1.2 Production d'Acide indole acétique (AIA) .....	13
II.3.2 Mode d'action Indirect.....	13
II.3.2.1 Compétition .....	13
II.3.2.2 Le parasitisme .....	13
II.3.2.3 L'antibiose .....	14
II.3.2.4 Production du cyanure d'hydrogène (HCN) .....	14
II.3.2.5 Résistance systémique induite (ISR) .....	14
III.1 Les Pseudomonas .....	15
III.2 Évolution de la classification du genre Pseudomonas .....	15
III.3 Les Pseudomonas spp. Fluorescents .....	16
III.3.1 Production des Sidérophores .....	18
III.3.1.1 Pyoverdine (pseudobactine) .....	18
III.3.2 Interaction Pseudomonas spp. Fluorescentes -pathogène.....	18
III.3.3 Interaction Pseudomonas spp. Fluorescents -plante.....	19
III.3.4 Formation des biofilms par Pseudomonas spp. Fluorescentes .....	19
III.4 Effets bénéfiques .....	20
III.4.1 L'utilisation des Pseudomonas spp fluorescentes comme biopesticides .....	20
III.4.2 Utilisation des Pseudomonas spp. fluorescentes comme biofertilisants.....	21
III.4.3 Utilisation des Pseudomonas dans le biocontrôle des maladies.....	21

## Chapitre II : Matériel et Méthodes

I.Matériel.....	22
I.1 Matériel non biologique.....	22
I.2 Matériel biologique .....	22
I.2.1 Le sol.....	22
I.2.2 Souches fongiques.....	22
II.Méthodes .....	23
II.1. Isolement et purification des souches de Pseudomonas spp. Fluorescents à partir	

du sol .....	23
<b>II.2 Purification des souches .....</b>	<b>24</b>
<b>II. 3 Conservation des souches.....</b>	<b>24</b>
<b>II.4 Identification des souches .....</b>	<b>24</b>
<b>II.4.1 Production du pigment fluorescent .....</b>	<b>25</b>
<b>II.4.2 Étude morphologique .....</b>	<b>25</b>
<b>II.4.3 Caractérisation physiologique et biochimique .....</b>	<b>25</b>
<b>A) Coloration de Gram .....</b>	<b>25</b>
<b>B) Recherche de l'oxydase.....</b>	<b>25</b>
<b>C) Recherche de la catalase .....</b>	<b>26</b>
<b>D) Recherche de gélatinase .....</b>	<b>26</b>
<b>E) Recherche de l'arginine dihydrolase ADH .....</b>	<b>26</b>
<b>II.5 Test d'activité antagoniste in vitro des Pseudomonas spp. Fluorescents .....</b>	<b>27</b>
<b>II.5.1 Purification des souches fongiques.....</b>	<b>27</b>
<b>II.5.2 Activité antagoniste.....</b>	<b>27</b>
<b>II.6 Les méthodes de détection de formation des biofilms par Pseudomonas spp. Fluorescentes.....</b>	<b>28</b>
<b>II.6.1 La détection des biofilms par culture sur gélose de rouge Congo agar (RCA)28</b>	
<b>II.6.2. La détection des biofilms par coloration au cristal violet (Cv).....</b>	<b>29</b>
<b>III.1 Résultats de l'isolement et l'identification.....</b>	<b>30</b>
<b>III.1.1 Fréquence des souches isolées à partir du sol .....</b>	<b>30</b>
<b>III.1.2 Identification des souches de Pseudomonas spp. Fluorescents .....</b>	<b>30</b>
<b>III.1.2.1 Identification macromorphologique.....</b>	<b>30</b>
<b>III.1.2.1.1 Caractéristiques morphologiques.....</b>	<b>30</b>
<b>III.1.2.1.2 Test de la Fluorescence.....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.2.2 Identification biochimique des souches isolées.....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.2.2.1 Coloration de Gram.....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.2.2.2 Test de Oxydase .....</b>	<b>32</b>

III.1.2.2.3 Test de Catalase .....	32
III.1.2.2.4 Test d'Hydrolyse de l'arginine ADH et Recherche de la gélatinase....	32
III.2 Résultats de la sélection des souches de Pseudomonas spp. Fluorescentes	
antagonistes .....	35
III.3 Résultats des tests de formation de biofilm .....	39
III.3.1 Méthode de rouge Congo (RCA).....	39
III.3.2 Méthode de cristal violet (CV) .....	40
III.2 Discussion .....	43
Conclusion générale .....	48
Annexes.....	50
Référence bibliographique	

# *Introduction*

Le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une plante d'importance socio- économique majeure en Algérie avec 18 millions palmiers-dattier. L'Algérie figure parmi les grands pays à fort potentiel phoenicicole (**Merzia, 2014**).

Dans le Sahara algérien, le palmier dattier représente un pivot central autour duquel s'articule la vie dans les oasis, et constitue une source de vie non négligeable. Il donne une large gamme de produit en premier lieu les dattes qui constituent une source de revenu très appréciable pour les familles du sud algérien avec 9 % des exportations agricoles (**Bouguedoura et al., 2010**), le palmier dattier est exploité aussi par la population saharienne en plusieurs activités notamment la construction d'habitation, l'artisanat et comme paravent dans la lutte contre l'ensablement.

Cependant, depuis le 19<sup>e</sup> siècle les zones phoenicicole de l'ouest algérien ont subi une perte importante à trois millions d'arbres à cause d'une maladie vasculaire le bayoud (**Djerbi et al., 1982**) causée par le champignon tellurique *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis*. C'est une maladie vasculaire dont les formes végétatives du pathogène induisent un flétrissement généralisé.

L'éradication de cette maladie exige une surveillance constante des palmiers indemnes pour la détection des foyers primaires de la maladie ainsi que la mise au point et le maintien d'un dispositif permettant l'éradication précoce de ces foyers (**khelafi, 2012**).

Diverses stratégies sont mises en évidence pour faire face aux maladies de palmier dattier (traitements culturaux, traitements chimiques). Cependant, les traitements biologiques par l'intervention des microorganismes semblent une meilleure méthode alternative. La lutte biologique par introduction des microorganismes antagonistes s'avère une voie très prometteuse dans le contrôle de plusieurs maladies de plantes d'origine tellurique (**Boudyach, 2004 ; Amkraz et al., 2010**).

Parmi les agents exploités en lutte biologique, les rhizobactéries, ont été reconnues comme des agents potentiels de biocontrôle (**Bloemberg et al., 2001**). Ces microorganismes occupent la rhizosphère et vivent en interaction avec la plante et influencent sa croissance, notamment les rhizobactéries stimulatrice de la croissance végétal désignée sous le terme PGPR de l'anglais «plant growth promoting rhizobacteria» ces dernière ont la faculté de prévoir la croissance des plantes et leur confère la résistance aux agents phytopathogènes par le phénomène d'antagonisme (**Kridi, 2011**).

Parmi ces PGPR, les *Pseudomonas* spp. Fluorescents font l'objet d'une attention particulière. Leur utilisation dans l'agriculture en tant que biofertilisants offre un bon rendement, même dans des conditions sévères (Ali et al., 2009; Ritika et al., 2014). Elles sont connues comme promotrices de la nutrition et la croissance des plantes par la solubilisation des minéraux, comme le phosphore ou par la production des Sidérophores. Les racines dont les biofilms de *Pseudomonas* spp. Fluorescents sont attachés contribuent d'une façon significative à la fertilité du sol. Elles peuvent modifier la morphologie et la physiologie racinaire par la production de régulateurs de croissance comme les auxines. Les *Pseudomonas* spp. Fluorescentes peuvent également augmenter le niveau de résistance des plantes aux maladies diverses, grâce à leur activité antagoniste vis-à-vis des pathogènes différents (Ongena et al., 2000 ; Van der Heijden et al., 2009).

L'objectif de notre travail consiste à effectuer une identification des souches *Pseudomonas* spp. Fluorescents isoler de la rhizosphère de quatre variétés différentes de palmier dattier de la région de Taghit, de tester leur activité antagoniste et leur capacité de formation de biofilm.

*Recherche*  
*Bibliographique*

## I.1 Définition

Le *Phoenix dactylifera* ou le palmier dattier, tire son nom de Phoenix, nom du dattier chez les Grecs de l'antiquité, considéré chez eux comme l'arbre des phéniciens et dactylifera vient du latin dactylus dérivant du grecs daktulos, signifiant doigt, en raison de la forme du fruit (**Peyron, 2000**). Une autre origine du nom de Phoenix fait allusion à un oiseau mythique égyptien, le phénix, qui renaît de ses cendres après l'incendie, comme se régénère le palmier après le passage d'un feu (**Ouennoughi et al., 2005**).

## I.2 Taxonomie

Selon **Uhl et Dransfield (1987)** ; **Meliani et al., (2016)**, le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une plante angiosperme monocotylédone de la famille des Arecaceae. Le genre *Phoenix* comprend 14 espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales (**Barrow, 1998** ; **Henderson, 2009**). *Phoenix dactylifera* L. est classé comme suit :

<b>Groupe :</b>	Spadiciflores
<b>Ordre :</b>	Palmales
<b>Famille :</b>	Arecaceae
<b>Sous – famille :</b>	Coryphoïdaea
<b>Tribu :</b>	Phœniceae
<b>Genre :</b>	Phoenix
<b>Espèce :</b>	dactylifera L.

## I.3 Description morphologique du palmier dattier

### I.3.1 Le système végétatif Le tronc

Le tronc du palmier dattier ou « stipe » est cylindrique, parfois lignifié de couleur brune à ramification monopodiale, il peut atteindre 30-40m de long (**Ben abdallah, 1990**). Il garde durant toute son existence le même diamètre (**Ben Chennouf, 1978**).

### Les Palmes : (Feuilles)

Les palmes (Djérid) sont des feuilles composées, pennées issues du bourgeon terminal. Selon **Toutain (1979)**, les palmes mesurent de 2 à 6 m de longueur et vivent entre 3 et 7 ans.

---

Le palmier dattier produit au cours de sa vie trois types de feuilles (**Bouguedoura, 1979,1982**) : Les feuilles jeunes (feuilles juvéniles), Les feuilles semi juvéniles, Les feuilles adultes.

#### **Le système racinaire :**

Le système racinaire du palmier dattier est à disposition fasciculée très développé, les racines se ramifient peu au niveau de plateau racinaire ou on les appelle Le « bulbe », il est volumineux et émerge en partie au-dessus du niveau du sol. Selon **Munier (1973)**, le système racinaire présente quatre zones d'enracinement : Les racines respiratoires, racines de nutrition, racines d'absorption.

#### **I.3.2 L'appareil reproducteur Les inflorescences ou les spathes**

Le palmier dattier est une espèce dioïque, donc on a deux sexe : des pieds mâles (*Dokar*) de forme allongée donnant du pollen et des pieds femelles (*Nakhla*) qui sont plus courte et plus renflée et qui produisant les fruits après fécondation, sont portées par des palmiers différents (**Munier, 1973**). Les inflorescences (spadices) sont caractérisées par une forme de grappes d'épis, elles sont de couleur vert-jaunâtre (**Sedra, 2003**).

#### **La datte (Fruit) :**

Le fruit est une baie contenant une graine en les appelés aussi noyau, dont le mésocarpe charnu est protégé par un fin péricarpe. De forme généralement ovoïde, oblongue ou sphérique, et aussi variant selon les cultivars et par conséquent couleur variable selon les variétés (**Munier, 1973**).

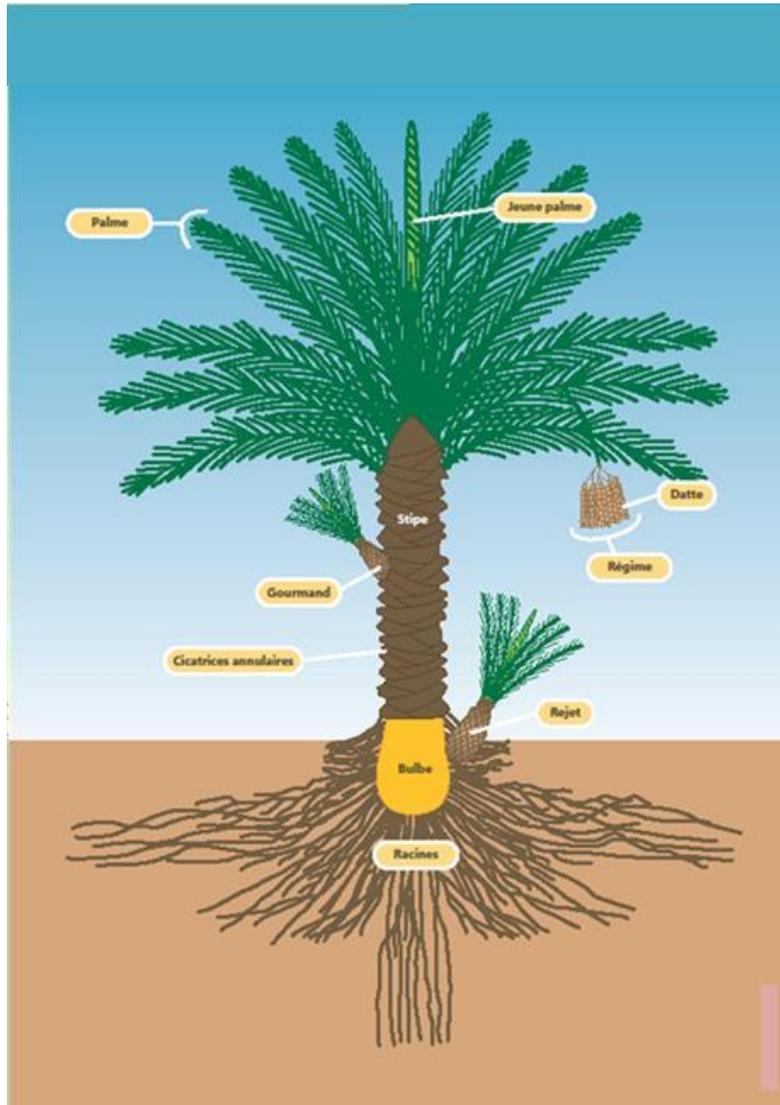


Figure 1 : Figuration schématique du palmier dattier (relais-sciences.org, 2012)

## I.4 Origine et répartition géographique

### I.4.1 Origine

Selon certains auteurs (Zohary et Spiegel-roy, 1975 ; Zohary et Hopf, 1988), (Pintaud et al., 2010). L'ancêtre du palmier cultivé est une espèce sauvage, ceci en raison de la stabilité des formes des organes floraux de la plante dans toutes les régions du monde. Il semble avoir été cultivé pour la première fois dans les zones arides et semi arides chaudes de l'ancien monde situé entre l'Euphrate et le Nil vers 4500 avant J.C (Munier, 1973).

## I.4.2 Répartition géographique

### I.4.2.1 Dans le monde

Le dattier est une espèce xérophile et ne peut fleurir et fructifier normalement que dans les déserts chauds (Amorsi, 1975). D'après Meraneh (2010), l'aire de répartition du Palmier Dattier couvre les cinq continents. L'aire d'extension la plus favorable est comprise entre 24 et 34° de latitude Nord (pays du Nord-Africain, Irak, Iran, Arabie Saoudite.) (Chelli, 1996). Le nombre total de palmiers dattiers dans le monde est plus de 100 millions, distribués sur 30 pays qui produisent entre 2,5 et 4 millions de tonnes de dattes par an (Zaid et al., 2002).

### I.4.2.2 En Algérie

L'origine du Palmier Dattier en Algérie, vient de la « péninsule arabique » ; à travers les commerçants qui ont propagé du Palmier autour de la Méditerranée. Le patrimoine phoenicicole algérien s'étale sur une superficie de plus de 147 900 ha (Merzia, 2014). Depuis la frontière Tuniso-Libyenne Est jusqu'à la frontière Marocaine Ouest. Qui compte plus de dix-huit millions de palmiers pour une production estimée à 11.8 millions quintaux (Le ministère de l'Agriculture et du Développement rural, 2021). L'Algérie occupe le premier rang de point de vue qualité grâce à la variété Deglet Nour (Zenkhrri, 1988). Avec un nombre de cultivars à 1000, en Algérie (Benkhalifa ,2007).

## I.5 Importance écologique, sociale et économique du palmier dattier

Le palmier dattier constitue la structure de base de l'agronomie des oasis en créant un microclimat qui offre les conditions nécessaires pour le bon développement des cultures sous-jacentes (cultures maraîchères, céréales et arbres fruitiers), et ce, en atténuant leur ensoleillement, en maintenant un certain degré d'humidité et en les protégeant du vent (Meliani et al., 2016).

La datte occupe une place particulière dans le régime alimentaire des habitants de l'oasis. Elle est consommée directement ou transformée en sous-produits (pâte, farine, confiture, vinaigre, jus, miel et autres...) (Tajini et al., 2020).

L'existence d'un marché international de la datte permet à un bon nombre de pays en développement producteurs de dattes, d'obtenir des devises et de contribuer de façon significative au maintien de leurs équilibres commerciaux (Greiner, 1998).

## I.6 Les exigences écologiques

Les exigences expliquent la répartition géographique de cette espèce fruitière (**Girard, 1962**).

### La température :

D'après **Munier (1973)**, le palmier dattier est une espèce thermophile dont le degré de végétation est 10 °C. Il est cultivé dans les régions arides et semi-arides du globe ; ces régions sont caractérisées par des étés chauds et longs, une pluviosité faible ou nulle et un degré hygrométrique faible (**Djerbi, 1992**). Selon **Toutain (1977)**, les besoins en chaleur pour la fructification sont variables selon les variétés, entre 37°C et 50°C.

### La lumière :

L'action de la lumière favorise la photosynthèse et la maturation des dattes (**CALCAT, 1961**). Il faut éviter les densités trop fortes qui favorisent l'émission des rejets plutôt que la maturation des dattes (**Douadi, 1996**). Selon **Munier (1973)**, le palmier dattier est une espèce héliophile, il est cultivé dans les régions à forte luminosité.

### L'humidité de l'air :

D'après **Chevalier (1952)**, les dattes de la variété Deglet Nour récoltées dans le Sud-est de l'Algérie où l'humidité relative de l'air est faible (Biskra 40,7 % et Touggourt 43,5 %) ont une meilleure qualité des dattes de la variété Deglet Nour des côtés tunisiens où l'humidité est plus élevée.

### L'eau :

La période des grands besoins en eau du palmier se situe de la nouaison à la formation du noyau du fruit (**Lakhdari, 1980**).

### Le sol :

Le palmier dattier est très accommodant sur la nature du sol (**Calcat, 1961**), il vit dans les sols les plus variés, depuis des sables presque purs, jusqu'à des sols à fortes teneurs en argile (**Munier, 1973**). Mais ce sont les sols perméables qui lui conviennent le mieux et qui produisent les meilleures dattes (**Grisvard et al., 1964**). Selon **Munier (1973)**, de bonnes croissances et productions ne peuvent être obtenues que si le sol permet la pénétration de l'eau à une profondeur de 2 à 2m 50.

## I.7 Les contraintes de la culture du palmier

### I.7.1 Les contraintes abiotiques

Vu la fragilité et l'agressivité du milieu où il se trouve, le palmier dattier est confronté à plusieurs contraintes abiotiques parmi lesquelles :

#### La sécheresse :

Selon **Haddouch (1998)**, la sécheresse prolongée durant les années 80 au Maroc a entraîné le dessèchement partiel de plus de 500.000 palmiers et le niveau de production a varié entre 12.000 tonnes en année extrêmement sèche (1984) et 120.000 tonnes en année particulièrement humide.

#### La salinité :

Malgré sa forte résistance à la salinité, marquée par une croissance sur des sols contenant 3% de sels solubles, le palmier dattier ne se développe plus à des concentrations d'environ 6% en sels solubles (**Arar, 1975**). D'autres contraintes sont liées à la commercialisation, au stockage/conservation et à la transformation (**Dakhia et al., 2013**).

### I.7.2 Contraintes biotiques

Le palmier dattier est menacé par plusieurs ravageurs et maladies telles que la fusariose vasculaire appelée localement Bayoud (**Ait Kettout et Rahmania, 2010**).

#### I.7.2.1 Le Bayoud

Bayoud dérivant du mot arabe « abyadh » (blanc) et son nom latin *albedinis*, tiré du latin « *albus* » qui veut également dire blanc. C'est la maladie cryptogamique la plus grave du palmier dattier causée par un champignon ascomycète imparfait vivant dans le sol appelé *Fusarium oxysporum* forme spéciale *albidinis* (**Ait Kettout et Rahmania, 2010**) identifié et dénommé au Maroc par **Malençon (1934)**, **Bouguedoura, (1991)**. L'épidémie a commencé en Algérie en 1898 à Beni Ounif à partir des oasis frontalières marocaines (**Dubost, 1972**).

D'après **Tirichine (2003)**, plus de trois millions d'arbres ont été détruits en Algérie à cause du Bayoud, où sont concentrées les plus grandes palmeraies algériennes avec principalement la variété Deglet-Nour (**Idder, 1992**). La dégradation des palmeraies due au Bayoud, est catastrophique, non seulement par les pertes des meilleures variétés de renommées mondial, (**Djerbi, 1988**). Mais il y a deux variétés commercialisées qui ont pratiquement disparu.

## ✚ Symptômes

Le premier symptôme externe de la maladie s'observe sur une palme de la couronne moyenne ; cette palme prend un aspect plombé et se dessèche selon un processus très particulier. En effet, les Folioles ou les épines situées d'un côté de cette palme se dessèchent progressivement du bas vers le sommet, et se replient vers le rachis. Ce dessèchement gagne ensuite les Folioles du côté opposé, progressant cette fois de haut en bas, et toute la palme finit par se dessécher complètement et prend une couleur blanchâtre. Le côté dorsal du rachis est marqué d'une strie brune longitudinale, qui avance de la base vers l'apex de la fronde, et qui correspond au passage du mycélium dans les faisceaux vasculaires du rachis. Ensuite, la feuille va prendre une forme arquée, similaire à une feuille vivante, et pend le long du tronc (**Djerbi, 1988**).

## I.8 Traitements

L'Ensemble des moyens de lutte utilisés contre les fusarioses vasculaires ne fait que ralentir la progression de la maladie (**Alabouvette et Lemanceau, 1983**). Le contrôle du pathogène se réalise principalement par la combinaison de plusieurs techniques, y compris les pratiques agricoles, l'application de produits chimiques et l'utilisation de variétés résistantes et la lutte biologique (**Kavanagh, 2005**).

### I.8.1 Traitements cultural

Il est reconnu que certaines pratiques culturales peuvent modifier la résistance des plantes où les placer dans des conditions où L'agent pathogène est moins actif mais les conditions climatiques et les facteurs nécessaires pour le palmier sont les mêmes conditions et facteurs qui aident le champignon à la croissance. Ainsi, l'utilisation de méthodes agricoles pour contrôler la maladie ou réduire sa gravité n'est pas faisable (**Bulit et al., 1967**) affirment que l'irrigation a un effet direct clair sur le développement de la maladie.

### I.8.2 Traitements chimique

Plusieurs fongicides ont été utilisés pour lutter contre *Fop* : comme le bénomyl, carbendazime, prochloraze, fludioxonil et azoxystrobine, Captaphol (**Amini et Sidovich, 2010**). Ce sont des produits efficaces mais présentent des inconvénients comme la pollution de l'environnement, et la résistance de pathogène en cas d'utilisation abusive (**Ryo et al., 2005**).

### I.8.3 Traitement biologique

La lutte biologique par l'intervention des microorganismes qui semblent une meilleure méthode alternative proposée pour assurer une protection phytosanitaire performante, et l'amélioration de rendement agricole par la réduction ou suppression des espèces considérées comme nuisibles (des pathogènes) (**Choudhary et al., 2009**).

Différentes bactéries et champignons rhizosphériques sont considérés comme un moyen efficace dans l'inhibition du développement de cet agent pathogène (**Mujeebur et Sahahana, 2002**), et cette inhibition considérée comme un mécanisme indirect de favoriser de la croissance des plantes (**Trivedi et al., 2008**). Les rhizobactéries du groupe *Pseudomonas* spp. Fluorescents ont été largement utilisés dans le biocontrôle des pathologies vis-à-vis des trachémycoses provoquées par *Fusarium oxysporum*. Plusieurs souches de ce groupe bactérien ont été expérimentées avec succès contre de nombreuses formes spéciales de ce pathogène.

Selon **Benchabane et al., (2011)** La bactérisation du sol avec les souches de *Pseudomonas* après infestation de celui-ci, par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* ou F. o f .sp. *lini*, a permis de mettre en évidence une diminution significative de la réceptivité du sol aux pathogènes.

## II.1 La Rhizosphère

La rhizosphère est définie aujourd'hui comme étant le lieu d'interaction entre le sol, la plante et les microorganismes. Cette zone d'interaction s'étend de quelques micromètres à plus de 2 mm en dehors de la surface racinaire (**Kennedy et Luna., 2004**). La microflore rhizosphérique comprend différents types de micro-organismes, comme les champignons, les bactéries et les archées. Certains de ces microorganismes sont pathogènes, y compris les champignons phytopathogènes, les oomycètes, les bactéries et les pathogènes (**Lemanceu et Blouin., 2018**). D'autres sont bénéfiques et jouent un rôle dans la stimulation et la croissance des plantes, ces microorganismes sont désignés "PGPM" « plant growth promoting microbes ». Les PGPM englobe les PGPF « plant growth promoting fungi, » les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » et sont classés en trois groupes selon leur effet bénéfique comme : biofertilisant, biostimulant et agent de bio contrôle. L'influence de la rhizosphère sur les communautés microbiennes associées aux racines contribue à réguler les associations symbiotiques et bénéfiques entre les microorganismes des plantes et du sol (**Martinez et Viveros., 2010**).

## II.2 Les Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) ont été définies pour la première fois par **Kloepper et Schroth, (1978)**. Ce sont les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes. Les PGPR sont retrouvés à la surface des racines ou encore en association avec les racines (**Hayet et al., 2010**). Elles sont généralement des souches très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs, tout au long du cycle de développement de la plante via une multitude de mécanismes (**Kloepper, 1993 ; Vacheron et al., 2013**).

Plusieurs souches bactériennes ont été identifiées comme étant PGPR, notamment des bactéries appartenant aux genres *Bacillus*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium*. Parmi ceux-ci, les bactéries appartenant au genre *Bacillus* et *Pseudomonas* spp. sont prédominantes (**Dutta et al., 2010 ; Aparna et al., 2021**).

## II.3 Mode d'action des PGPR

Les modes d'action des PGPR sont regroupés traditionnellement en direct et indirects. Les mécanismes directs sont ceux agissant à l'intérieur des plantes et affectent directement leur nutrition, leur métabolisme et leur développement, tandis que les mécanismes indirects, en

général, sont ceux qui se produisent en dehors des plantes et touchent surtout tout ce qui est en relation avec le biocontrôle (Silini, 2013). (Voir figure 2)

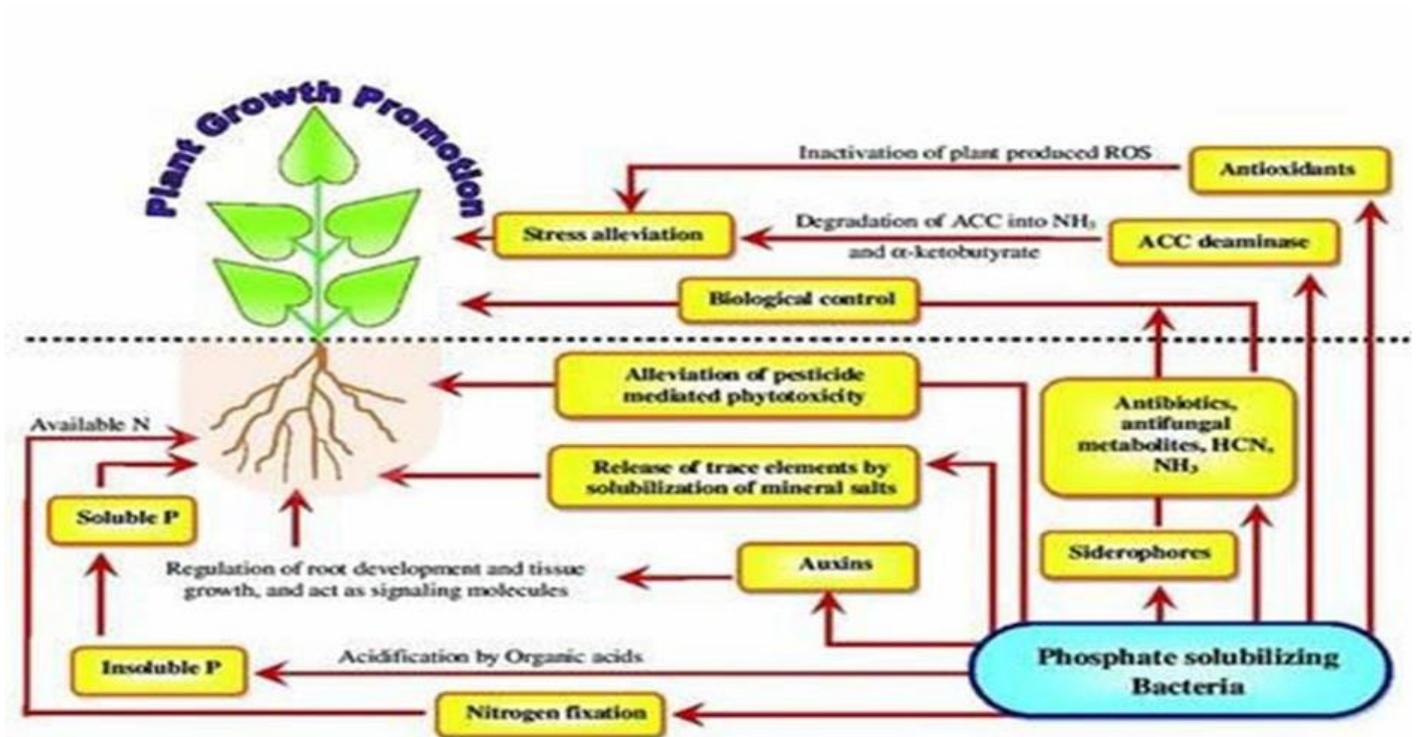


Figure 2 : Mécanismes d'action des bactéries PGPR (Domergue, 2017).

### II.3.1 Mode d'action direct

Les PGPR participent à augmenter la disponibilité des nutriments et des phytohormones dans la rhizosphère, ceci stimule directement le développement et la croissance de la plante. Parmi les mécanismes impliqués directement par les PGPR, la solubilisation de phosphate, synthèse de Sidérophores et la sécrétion d'hormones (auxines, gibbérellines, cytokinines).

**II.3.1.1 Solubilisation du phosphate :** Le phosphore (P) est l'un des principaux nutriments essentiels qui limitent la croissance et le rendement des plantes (Fitriyanti *et al.*, 2017 ; Lee *et al.*, 2019 ; Bhattacharjya *et al.*, 2019). Plusieurs micro-organismes agissent comme agent solubilisant du phosphate et convertissent le phosphore insoluble ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) en forme soluble ( $\text{HPO}_4^{-2}$  et  $\text{H}_2\text{PO}_4$ ) par la production des acides, les réactions d'échange, l'acidification, la chélation et la formation de substances polymères (Pandey *et al.*, 2018 ; Suleman *et al.*, 2018).

**II.3.1.2 Production d'Acide indole acétique (AIA) :** L'AIA est la principale hormone de classe des auxines biologiquement active pour la croissance végétative. Il est formé selon plusieurs voies de biosynthèse soit en impliquant le tryptophane ou non. Il est impliqué dans le contrôle de la croissance des fruits, de la dominance apicale, de l'élongation des tiges et de nombreux processus et quantitativement le plus produit par les PGPR (**O'Gara et al., 2008**). Il fonctionne comme une molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes (**Ryu et Patten, 2008**).

### **II.3.2 Mode d'action Indirect**

Les microorganismes, principalement les bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante par des mécanismes indirects, en particulier l'antagonisme. L'antagonisme a été mis en évidence par **Kloepper et al., (1980)**. L'antagonisme peut résulter d'un ou de plusieurs mécanismes en fonction de l'antagoniste impliqué, en faisant intervenir divers métabolites, qui peuvent agir par des actions de compétition et/ou de parasitisme et/ou d'antibiose. (**Whipps, 2001 ; Bhattacharyya, 2012**).

**II.3.2.1 Compétition :** En plus du fait que les PGPR soient compétitives aux autres populations microbiennes rhizosphériques, elles sont capables de coloniser le maximum d'espace dans la rhizosphère et d'exploiter ses ressources nutritionnelles et ainsi, participer à la réduction des phytopathogènes telluriques (**Lucy et al., 2004**). Les PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (**Haas et Defago, 2005**). Les propriétés qui renforcent la colonisation racinaire sont la mobilité (présence d'un flagelle), le chimiotactisme, les lipopolysaccharides (LPS), la capacité de synthétiser des vitamines et des macromolécules et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines (**Lugtenberg et Kamilova, 2009**).

**II.3.2.2 Le parasitisme :** Ce mécanisme consiste en une interaction directe entre deux microorganismes auxquels les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre (**Helluy et Holmes, 2005**). Il implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganismes antagoniste. L'agent antagoniste utilisera des enzymes lytiques telles que les glucanases, les chitinases et les lysozymes pour dégrader les parois de l'agent pathogène (**Corbaz, 1990 ; Beneduzi et al., 2012**).

**II.3.2.3 L'antibiose :** L'antibiose est définie comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (Cook et Baker, 1974 ; Sharma et al., 2013). Il consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (Raaijmakers et al., 1997 ; Caravaca et al., 2015). La capacité des rhizobactéries à produire des métabolites contribuant à l'antibiose a fait l'objet de nombreuses études consacrées à la recherche sur les PGPR (Maksimov et al., 2011).

**II.3.2.4 Production du cyanure d'hydrogène (HCN) :** Le cyanure d'hydrogène (HCN) est un métabolite secondaire qui fait partie des cyanides. Il peut être produit directement de la glycine ou des glycosides cyanogènes (Bakker et Schippers, 1987 ; Sagar et al., 2018). La production d'HCN au niveau de l'adaptation à la rhizosphère peut être avantageuse pour acquérir des nutriments (Ziadi et al., 2017). La production de HCN, été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas fluorescens* (Askeland et Moeisson, 1983 ; Shaikh et al., 2015), l'HCN joue un rôle important dans la limitation de développement de pathogènes telluriques (O'Sullivan et O' Gara, 1992o;Lanteigne et al., 2012).

**II.3.2.5 Résistance systémique induite (ISR) :** Certaines bactéries de la rhizosphère (PGPR, rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes) exercent un effet bénéfique sur la croissance des plantes en stimulant des mécanismes de défense inductibles chez l'hôte, rendant celle-ci moins susceptible vis -à- vis d'une infection ultérieure par un agent pathogène. Ce phénomène est appelé « résistance systémique induite » (ISR). La résistance systémique induite n'est pas spécifique contre un pathogène particulier, mais elle aide la plante à contrôler de nombreuses maladies (Kamal et al., 2014).

### III.1 Les *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* a été décrit en 1894 (Migula, 1894), Les *Pseudomonas* (du grec: pseudos, « faux » et mona, « unité ») englobe des bactéries ubiquitaires, isolées de l'eau (eaux douces, eaux saumâtres, eaux de mer), du sol, des poussières en suspension dans l'air et des végétaux (Palleroni, 2010 ; Peix et al., 2018). Sont parmi les bactéries les plus importantes dans la rhizosphère (Zhuang et al., 2021).

Ces bactéries ont été caractérisées phénotypiquement, en se basant sur plusieurs caractéristiques : la morphologie, la pigmentation, la réaction aux colorants et les exigences nutritionnelles (Jonhson et Palleroni, 1989 ; Palleroni, 1993).

D'une façon générale les *Pseudomonas* peuvent être défini comme suit : Ce sont des bacilles droits et fins, Gram négative d'une taille moyenne de 0.2 à 0.5 um (Palleroni, 1984 ; Gilardi et al., 2020), sont mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires, rarement immobiles, aucune spore n'est produite. (Panpatte et al., 2016).

La plupart des *Pseudomonas* se cultivent à 30 °C et se caractérisent par une croissance lente à 4 °C (Eyquem et al., 2000). La culture peut se faire sur un milieu usuel non enrichie, elles sont capables d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés et d'énergie (Rossignol, 2007). Les espèces de *Pseudomonas* sont des bactéries chimio-organotrophes avec un métabolisme strictement respiratoire, qui utilisent l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons en aérobiose. Elles sont oxydase positive, pour certaines espèces elles réduisent le nitrate en anaérobiose avec synthèse d'une nitrate-réductase. (Avril et al., 2000 ; Moradali, 2017). L'arginine représente une source d'azote intéressante pour les *Pseudomonas* dans les milieux riches en matière organique. La voie de l'arginine deiminase est une voie caractéristique des *Pseudomonas* spp. Fluorescents (Thornley, 1960). Elle fonctionne seulement en absence d'O<sub>2</sub> et sous conditions non dénitrifiantes. Il existe quatre voies distinctes d'assimilation de l'arginine chez *P. putida* et au moins trois d'entre elles existent chez les autres espèces de *Pseudomonas* spp. Fluorescents (Haas et al., 1990).

### III.2 Évolution de la classification du genre *Pseudomonas*

L'étude de la composition en bases du génome et la recherche d'homologies de séquences génomiques par hybridations ADN-ADN et ADN-ARN, ainsi que le séquençage de marqueurs taxonomiques tel l'ADN codant et l'ARNr 16S ont mené à une évolution de taxonomie des *Pseudomonas* et des genres apparentés (Anzai et al., 2000 ; Rajwar, 2016).

D'après Palleroni et al., (1984), le genre *Pseudomonas* est génétiquement hétérogène avec l'existence de cinq groupes d'ARN distincts. Le genre *Pseudomonas* sensu stricto correspond

au groupe d'ARN I et comprend actuellement plus d'une centaine d'espèces différentes. Les autres espèces *Pseudomonas* sensu lato (groupes ARN II à V) ont été reclassées dans d'autres genres (**Chiesa et al., 2014**). Cette réorganisation a permis une distinction marquée entre le genre *Pseudomonas* et d'autres genres apparentés. (**Kersters et al., 1996**).

Le genre *Pseudomonas* sensu stricto est divisé en deux groupes : les *Pseudomonas* spp. Fluorescents (par exemple *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida* ou *P. syringae*) et les *Pseudomonas* spp. Non-fluorescents (par exemple *P. alcaligenes*, *P. fragi* ou *P. stutzeri*) (**Palleroni, 1984**).

La classification des *Pseudomonas* spp. Fluorescents reste toujours controversée, surtout dans le cas des espèces présentant des biotypes ayant des caractéristiques taxonomiques intermédiaires entre diverses espèces connues. Outre les formes intermédiaires, *Pseudomonas Putida* et *Pseudomonas fluorescens* se subdivisent respectivement en deux à cinq biovars distincts (**Palleroni, 1986 ; Bossis et al., 2000 ; seaton et al., 2014**).

### III.3 Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents

Les espèces saprophytes de *Pseudomonas* spp. Fluorescents qui regroupent les *P.chlororaphis* ; *P.fluorescens* et *P.putida* (**Latour et Lemanceau, 1997**), sont catalase positive, oxydase positive (Tableau1) mésophile chimio-organotrophe puisqu'elles peuvent croître dans un milieu minéral ne contenant qu'une seule source de carbone.

**Tableau 1** : Caractères clés de 3 espèces fluorescents de *Pseudomonas* (**Palleroni, 2010**).

Caractère	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. fluorescens</i>
% G+C	67	60-63	59-61
Nombre de flagelles	1	>1	>1
PHB comme matière de réserve	-	-	-
Pigments fluorescents	+	+	+
Phénazine	+	-	-
Caroténoïdes	-	-	-
Dénitrification	+	-	V
Oxydase	+	+	+
Arginine dihydrolase	-	V	+

<i>Croissance à 4°C</i>	-	V	+
<i>Croissance à 41°C</i>	+	-	-
<i>Utilisation de l'H<sub>2</sub>/ CO<sub>2</sub></i>	-	-	-
<i>Hydrolyse de l'amidon</i>	-	-	-
<i>Liquéfaction de la gélatine</i>	+	-	+
<i>D- fructose</i>	-	-	-
<i>Glucose</i>	+	+	+
<i>Tréhalose</i>	-	-	+
<i>Cellobiose</i>	-	-	-
<i>Lactate</i>	+	+	+

Les pigments de *Pseudomonas* sont très importants dans le diagnostic pour cela leur recherche doit être effectué dans des milieux qui favorisent la synthèse de ces pigments. Les milieux les plus utilisés sont les milieux King qui favorisent la production des Sidérophores, ces derniers sont des pigments solubles dans l'eau et fluorescents sous l'irradiation d'UV (Leong, 1986). (Tableau 2).

**Tableau 2 :** Les pigments de *Pseudomonas* spp. Fluorescents (Weller et cook., 1983).

<i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents	La couleur de pigmentation
<i>P.Alcaligenes</i>	Jaune orangé
<i>P.chlororaphis</i> subsp. <i>Aureofaciens</i>	Orange
<i>P.chlororaphis</i> subsp. <i>Chlororaphis</i>	Verte
<i>P.corrugata</i>	Jaune orangé
<i>P.flavescens</i>	Jaune
<i>P.fluorescens</i> biovar IV	Bleu
<i>P.mendocina</i>	Jaune orangé
<i>P.oryzihabitans</i>	Jaune orangé
<i>P.luteola</i>	Jaune orangé

### III.3.1 Production des Sidérophores

#### III.3.1.1 Pyoverdine (pseudobactine)

Les pyoverdines sont une classe hétérogène de sidérophores fluorescents qui définissent les *Pseudomonas* fluorescentes et sont considérés comme les sidérophores primaires de ces bactéries, plus de 70 pyoverdines différentes ont été décrites. Les pvds, de couleur verte-jaune fluorescente, sont synthétisées et secrétées dans le milieu extracellulaire par les *Pseudomonas* fluorescents dans les conditions de carence en fer. Elles sont solubles dans l'eau avec une affinité pour le fer  $10^{32}$  M<sup>-1</sup> (Rehm, 2008). La structure des Pvds varie d'une espèce à l'autre et même entre les souches de la même espèce. Les différentes souches de *P. aeruginosa* produisent trois types de Pvds de structures différentes : PvdI, PvdII et PvdIII (Meyer et al., 2000; Brüser et al., 2018).

Cette variabilité structurale constitue un outil de différenciation et de taxonomie au sein du genre *Pseudomonas* : le sidérotypage.

#### III.3.2 Interaction *Pseudomonas* spp. Fluorescentes -pathogène

Les interactions microbiennes sont conditionnées par la nature et l'intensité de la compétition entre micro-organismes (Lockwood, 1981 ; Alabouvette, 1983). Cette compétition peut s'instaurer pour l'espace et pour les nutriments. Les *Pseudomonas* fluorescents antagonistes participent à ces 2 types de compétition.

L'utilisation des antagonistes microbiens contre les parasites de plantes dans les productions agricoles a été proposée comme solution alternative aux pesticides chimiques (Fernando et al., 2005 ; Lemanceau, 2017).

*P. fluorescens* et *P. putida* exercent un effet inhibiteur vis-à-vis des champignons et des bactéries telluriques. Ces rhizobactéries ont présenté une forte colonisation des racines de plusieurs plantes (Kloepper et al., 1980 ; Saritha et al., 2015). Cet effet inhibiteur est dû à une multitude de mécanismes : la compétition, la production des Sidérophores et des métabolites antagonistes.

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents participent en 2 types de compétition : la compétition sur l'espace et la compétition trophique. Elles seraient capables d'exclure les DRB (deleterious rhizobacteria) de certaines niches écologiques où la production d'exsudats racinaires est importante (Suslow, 1982 ; Kennedy et al., 2019). L'inoculation des *Pseudomonas* réduirait l'installation de DRB à ces emplacements (Lemanceau, 1992 ; Capdevilla et al., 2004).

Les *Pseudomonas* fluorescents participent aussi à la compétition trophique et, en particulier, sur la compétition pour le fer, par l'acquisition du fer qui repose sur la synthèse de Sidérophores

(Neilands, 1973 ; Leong, 1986 ; Khan et al., 2014). Une fois que les sidérophores sont émis dans le milieu, ils chélatent le fer ( $Fe^{3+}$ ). Les *Pseudomonas* fluorescents sont donc plus aptes à mobiliser le fer que les phytopathogènes (Lemanceau, 1988 ; Kandoliya et al., 2013). La croissance de ces phytopathogènes en présence de *Pseudomonas* fluorescents serait réduite du fait de la carence en fer.

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents ont un grand potentiel antibiotique contre des agents pathogènes tels que *Gaeumannomyces graminis* et *Fusarium oxysporum* (Beneduzi et al., 2012). Ce potentiel est dû à la synthèse de Plusieurs antibiotiques tels que le 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), le cyanure d'hydrogène, l'oomycine A, la phénazine, pyolutéorine, la pyocyanine, la pyrrolnitrine, la tropolone ou encore des lipopeptides cycliques (viscosinamide, tensine, amphisine...)(Keel et al.,1992; Raaijmakers et al., 2002).

### III.3.3 Interaction *Pseudomonas* spp. Fluorescents -plante

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescentes, considérées comme PGPR non symbiotiques, ont été largement étudiées et expérimentées, surtout par rapport à leurs performances dans la phytostimulation de la croissance de nombreuses plantes, la synthèse des phytohormones et la solubilisation des phosphates (Ouserir et al., 2018).

De nombreux travaux font état d'une stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après bactérisation avec des *Pseudomonas* spp. Fluorescentes dans des conditions expérimentales variées (Lemanceau, 2017).

Certaines souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescentes stimulent la nodulation des légumineuses (Grimes et Mount, 1987 ; Sindhu et al., 2014).

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescentes améliore l'alimentation des plantes par la solubilisation du phosphate et la production de phytohormone (Cattelan et al., 1999). Bharucha et al., 2013 ont rapporté le rôle de l'AIA produit par *P. putida* chez la plante hôte dans le développement de son système racinaire qui joue un rôle dans l'amélioration du rendement du colza.

### III.3.4 Formation des biofilms par *Pseudomonas* spp. Fluorescentes

Un biofilm est une communauté de micro-organismes assez complexe, adhéree à une surface et encapsulée dans une matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS) produite par les membres de cette communauté. et se développe sur des interfaces solides ou liquides variées, que l'on rencontre par exemple dans l'environnement : sur les racines des plantes. (Costerton et al., 1987 ; Moormeier, 2017). Les biofilms racinaires peuvent directement améliorer la croissance des plantes dans un certain nombre de moyens, y compris la fourniture de nutriments

à la plante et la stimulation de la production des phytohormones. Le biofilm de *P. fluorescens* a pu améliorer la croissance des plantes de blé (*Triticum aestivum*) en augmentant la production d'AIA, la solubilisation des phosphates et production des sidérophores. De plus, les semences de blé traitées avec l'inoculant biofilm ont montré une augmentation de la longueur des racines et des pousses (Mohd, 2014).

Il a été démontré que le biofilm de *P. fluorescens* protège avec succès les racines de blé des phytopathogènes *Rhizoctonia solani* et *Geaumannomyces graninis* responsables de la fonte des semis, en sécrétant des composés antimicrobiens comme le 2,4-diacétylphloroglucinol, l'acide cyanhydrique et les sidérophores (Wei et al., 2006).

Au sein de ces biofilms, les bactéries échangent de l'information par voie chimique, un mécanisme nommé quorum-sensing (Fuqua et al., 1994 ; Venturi et al., 2015). Dans ce système, la communication repose sur la synthèse et la diffusion, de bactérie à bactérie, de petites molécules appelées acylhomosérines lactones (AHL). Le système LuxI/R chez les *Pseudomonas* spp. Fluorescentes utilisant généralement ces molécules comme molécule signal, produites par une synthèse (I) et reconnues par un régulateur (R). A faible densité cellulaire, la synthèse est également faiblement exprimée. Les AHLs vont s'accumuler dans le milieu extracellulaire au cours de la croissance et lorsque leur concentration atteint un seuil, vont interagir avec leur récepteur spécifique. La formation du complexe récepteur/AHL entraîne la modulation de l'expression des gènes cibles dont le gène de la synthèse, d'où le nom d'autoinducteurs donné aux AHLs. Cette boucle d'auto-induction conduit à l'activation du système chez les bactéries voisines, expliquant la notion de réponse coordonnée de l'ensemble de la population (Khalilzadeh, 2009).

### III.4 Effets bénéfiques

#### III.4.1 L'utilisation des *Pseudomonas* spp fluorescentes comme biopesticides

La lutte antiparasitaire par les biosagents microbiens a reçu beaucoup d'attention après la découverte de toxines insecticides provenant de micro-organismes comme *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Il a été signalé que *P. fluorescens* présentait une activité insecticide envers plusieurs ravageurs tels que les pucerons (Hashimoto, 2002), les coccinelles phytophages (Otsu et al., 2004) et les termites (Devi et Kothamasi, 2009). Les *P. fluorescens* ont été aussi efficaces contre la mouche des fruits, *Drosophila melanogaster*.

### III.4.2 Utilisation des *Pseudomonas spp. fluorescentes* comme biofertilisants

Certaines souches de PGPR ont été exploitées à une échelle commerciale comme des inocula destinés à l'application en agriculture en tant que biofertilisants. *Pseudomonas fluorescens* est la première PGPR à avoir fait l'objet de formulation à base de talc et à être utilisée comme un biofertilisateur sur la semence de la pomme de terre dans l'objectif de promouvoir la croissance (Kloepper et Schroth, 1981 ; Pathak et al., 2017). En général, les souches de *Pseudomonas fluorescens* offrent le plus de potentialités d'utilisation comme biofertilisants et agent de biocontrôle (Dubeikovsky et al., 1993 ; Pathak et al., 2017). (Tableau 3).

### III.4.3 Utilisation des *Pseudomonas* dans le biocontrôle des maladies

L'application de *P. fluorescens* a inhibé les agents pathogènes du sol dans plusieurs cultures annuelles comme le coton, la pomme de terre, le tabac, le lin, concombre, tournesol, blé et riz (Ganesan et Gnanamanickam, 1987 ; Swati et al., 2015) et dans les légumineuses comme le pois chiche, le pois cajan (pois d'angole) (Jayashree et al., 2000; David et al., 2018). (Tableau 3).

**Tableau 3 :** liste de certain produit commercialisé à base de *Pseudomonas Fluorescens* (Pratiksha et al., 2022; Sankari et al., 2019)

Type de produit	Nom de Produit	Souche de <i>Pseudomonas</i>	Pays fabricant
Agent biocontrôle	Monas	<i>P. fluorescens</i>	Inde
Agent biocontrôle	Gmax Phytton	<i>P. fluorescens</i>	Inde
biofertilisant	Fosforina	<i>P. fluorescens</i>	Cuba
biofertilisant	Bio Gold	<i>P. fluorescens</i>	Sri Lanka

# *Matériel et méthode*

## I. Matériel

Le travail effectué consiste à étudier l'activité antagoniste des *Pseudomonas* spp. Fluorescentes isolées de la rhizosphère du palmier dattier, au niveau du laboratoire de phytobactériologie de l'université Saad Dahlab Blida durant une période allant du mois de mars au mois de juin 2022.

### I.1 Matériel non biologique

Le matériel non biologique représenté par, les verreries, l'appareillage (**Annexe 1**) et les milieux de culture en (**Annexe 2**).

### I.2 Matériel biologique

#### I.2.1 Le sol

Le sol utilisé provient de la rhizosphère de quatre cultivars de palmier dattiers (tableau 4) de la région Taghit situé au Sud-Est de la wilaya de Béchar. Les échantillons sont prélevés de manière aseptique de la couche sous-jacente (rhizoplan) à une profondeur de (10 -15 cm), puis mélangés pour générer un échantillon de sol représentatif. Celui-ci est apporté au laboratoire, séché à l'air libre, et tamisé à l'aide d'un tamis de 2 mm.

**Tableau 4 :** Caractéristique des échantillons du sol

Région Taghit		
Cultivare	âge	Abréviation
Biskra	02 ans	TB
Feggous	10 ans	TF
Cherka	20 ans	TC
Ras el hmar	25 ans	TR

#### I.2.2 Souches fongiques

Pour évaluer l'activité antagoniste des souches bactériennes, nous avons utilisé deux formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (*Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*). Ces souches fongiques appartiennent à la collection du laboratoire de Mycologie (Département de Biotechnologie l'Université Blida1).

## II.Méthodes

### II.1. Isolement et purification des souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents à partir du sol

10g du sol a été introduit dans 90 ml d'eau distillée stérile. La dilution de  $10^{-1}$  est ainsi obtenue et soumise à une agitation continue pendant dix minutes. Par la suite, une série de dilutions décimales a été réalisée à l'aide d'une micropipette de 1000 $\mu$ l jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-5}$  (**Figure 3**).



**Figure 3 :** Préparation des dilutions décimales. (Original,2022)

500  $\mu$ l de chaque dilution a été étalée sur milieu King B avec des billes en verre stériles (**figure 4**). Les boîtes de Pétri portant les inscriptions requises (dilution, date) ont été incubées à 25° C pendant 24 à 48 heures. Après l'incubation, les colonies d'aspect variable et fluorescentes sous UV (365 nm) ont fait l'objet d'un repiquage sur milieu King B (**King et al., 1954**) et un numéro de code leur a été attribué.



**Figure 4 :** Étalement par des billes en verre (original,2022)

**II.2 Purification des souches**

La pureté des souches fluorescentes a été vérifiée sur milieu King B. Par la réalisation de plusieurs repiquages successifs afin d’obtenir des souches pures.

**II. 3 Conservation des souches**

Les cultures fluorescentes pures de *Pseudomonas spp.* Sont conservées à 4°C dans du milieu KB sur des tubes inclinés.

**II.4 Identification des souches**

L’identification des souches *Pseudomonas spp.* Fluorescentes a été réalisée selon la clé dichotomique proposée par **Bossis (1995) (figure 5).**

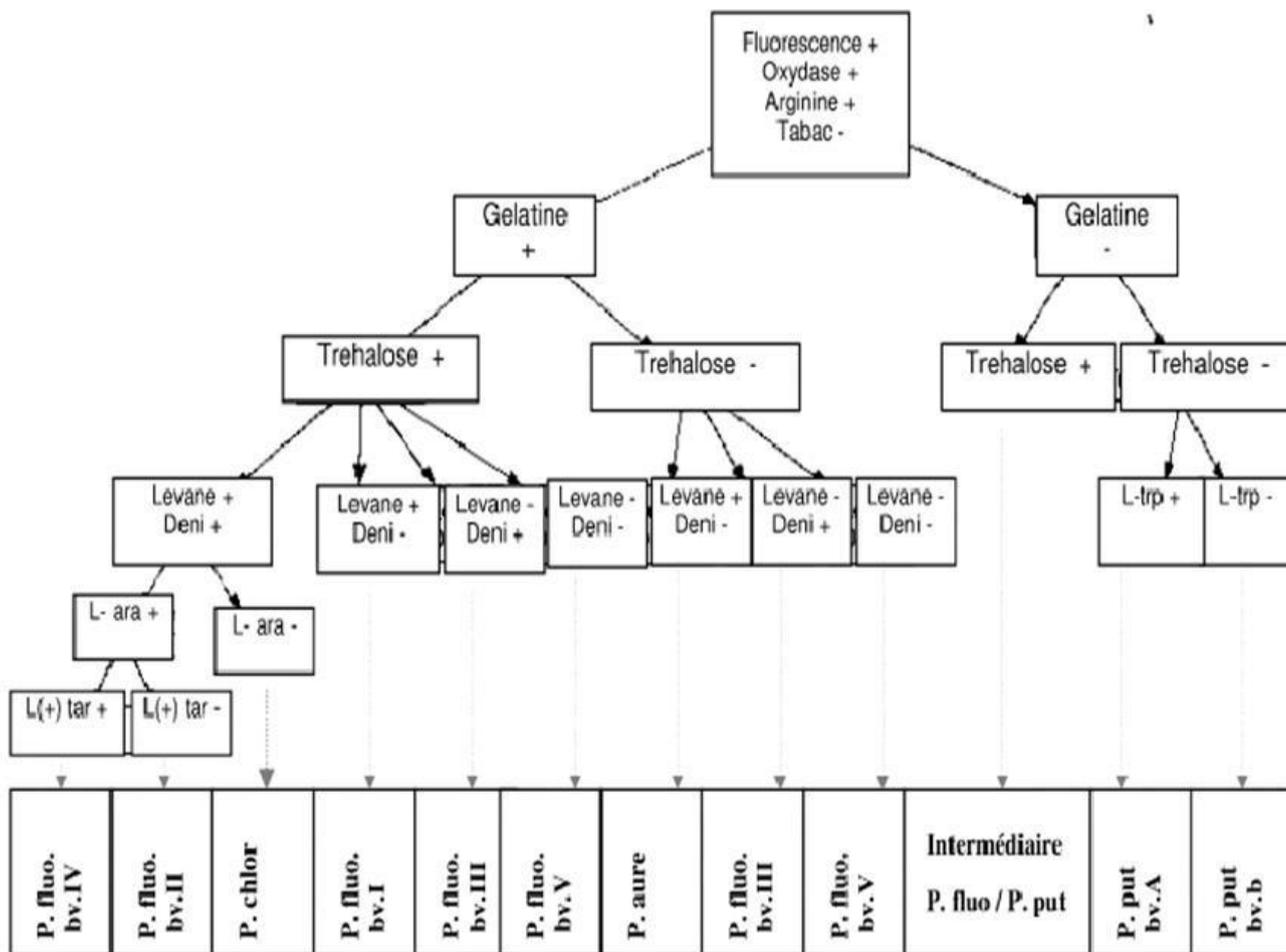


Figure 5 : Clé dichotomique de Bossis (1995)

### II.4.1 Production du pigment fluorescent

Sur milieu KBensemencé avec des cultures pures, la génération de pigment fluorescent diffusible a été examinée. La fluorescence a été révélée sous lumière UV (350 - 400 nm) après 24 à 96 heures d'incubation à 26° C.

### II.4.2 Étude morphologique

L'examen macroscopique consiste à étudier à l'œil nu l'aspect, la taille, la forme et la couleur, le diamètre et la pigmentation des colonies.

### II.4.3 Caractérisation physiologique et biochimique

Les tests biochimiques suivants ont été effectués : coloration de Gram, oxydase, catalase, recherche de la gélatinase et de l'arginine dihydrolase (ADH).

#### A) Coloration de Gram

C'est la technique de coloration des micro-organismes la plus utilisée dans l'étude et la classification des bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Cette technique a été mise au point par **Hans Christian Gram** en **1884**. La coloration de Gram est un test essentiel dans la microbiologie. Elle permet de différencier les bactéries selon leur forme et leurs tailles.

Les bactéries sont étalées sur une lame, elles sont fixées à la chaleur, puis elles sont colorées successivement avec une solution de violet de gentiane ou de cristal violet et traitée avec lugol ; La préparation est ensuite traitée avec un solvant organique, tel qu'un alcool. Les Gram-positives sont résistantes à la décoloration due à l'alcool. Tandis que les Gram-négatives, changent rapidement de couleur. Après le solvant, la contre coloration est effectuée avec un colorant rouge, tel que la fuchsine. Les bactéries Gram-positives sont violettes, tandis que les bactéries Gram-négatives, sont roses.

#### ✚ Test de KOH

Une autre méthode, décrite par **Suslow et al., (1982)**, a été utilisée et consiste à déposer sur une lame deux à trois gouttes d'une solution de KOH (3 %) et on dépose une crème bactérienne de 24h. La réponse positive corrélative au Gram négatif se traduit par l'obtention d'un filet visqueux qui est généré par la lyse et la mort des cellules avec de l'ADN cellulaire libre.

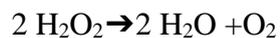
#### B) Recherche de l'oxydase

Il consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie à oxyder un réactif (NN-diméthyl - paraphylène +). Le test est réalisé par mise en contact d'une crème bactérienne jeune de 24h avec un du papier filtre imbibé du réactif à l'aide d'une pipette Pasteur (instrument n'oxydant

pas le réactif). Le cytochrome oxydase se manifeste par l'apparition d'une coloration violette après 10 secondes. La réponse est positive, tardive lorsqu'elle apparaît en retard (10 à 60 secondes) ; après ce temps la réponse est négative. Il permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N-diméthyl paraphénylène diamine (**Hildebrand et al., 1988**).

### C) Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme de haut poids moléculaire présente dans toutes les bactéries aérobies, qui leur permet de survivre en présence d'oxygène. En plus de la chaîne respiratoire des cytochromes, il existe en effet chez les aérobies une chaîne accessoire courte, fixant l'hydrogène sur l'oxygène en aboutissant à de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) selon la réaction :



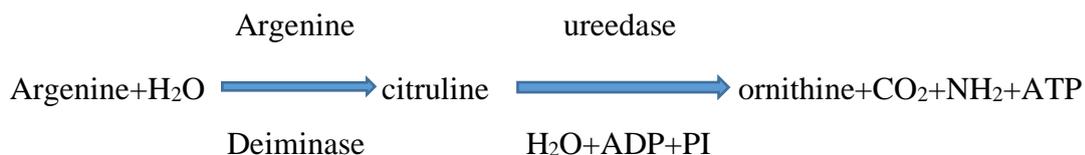
L'enzyme est étudiée simplement en exposant une colonie à quelques gouttes de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 10 V. Une émission importante de gaz confirme la présence d'une catalase. La catalase est présente chez les *Pseudomonas*.

### D) Recherche de gélatinase

Les acides aminés sont libérés à la suite de la dégradation de la gélatine par une enzyme extracellulaire. Le milieu passe à l'état liquide suite à cette réaction (**Gardan et Luisetti, 1981**). Une crème bactérienne jeune de 24 heures estensemencée par piqûre centrale dans des tubes à essai contenant le milieu gélatineux, puis les tubes à essai sont mis en culture à 25° C pendant 7 à 15 jours. Après l'incubation, les tubes d'inoculation et les témoins non inoculés sont déposés au traduit par la liquéfaction du milieu.

### E) Recherche de l'arginine dihydrolase ADH

Le système arginine dihydrolase catalyse l'hydrolyse de l'arginine en ornithine,  $\text{NH}_3$ , et  $\text{CO}_2$ , avec un gain d'ATP :



L'arginine dihydrolase (ADH) est une enzyme qui permet la libération de l'ammoniac et de citruline à partir de l'arginine et elle n'est active qu'en anaérobiose et en milieu acide.

L'hydrolyse de l'arginine a été testée dans des tubes du milieu moeller (ADH), qui ne renferment qu'une seule source de carbone, le glucose. Les tubes inoculés ont été recouverts par une couche d'huile de vaseline et incubés à 25° C pendant 5 jours. La réaction positive est révélée par une alcalinisation du milieu qui devient violet dû à la dégradation de l'arginine aboutissant à la formation d'ammoniaque.

## II.5 Test d'activité antagoniste *in vitro* des *Pseudomonas* spp. Fluorescents

### II.5.1 Purification des souches fongiques

La vérification de la pureté des souches fongiques a été réalisée par transplantation successive des disques de champignons fongiques âgés de 7 jours sur le milieu PDA (Jusqu'à ce que les souches pures soient produites) (Johnston et Booth, 1983), ensuite incubées à 30° C pendant 7 jours, Les souches purifiées ont été conservées à 4°C.

### II.5.2 Activité antagoniste

Le but du test d'antagonisme *in vitro* est de confirmer et d'estimer les activités antagonistes des microorganismes sélectionnés contre deux champignons phytopathogènes. Les activités ont été testées sur deux milieux nutritifs différents :

- A) Le milieu KB, plus favorable au développement des *Pseudomonas*.
- B) Le milieu PDA, plus favorable au développement des champignons.

L'évaluation de l'action inhibitrice (phénomène d'antagonisme) a été testée selon la méthode de confrontation directe (**Figure 6**) en boîte Pétri décrite par Vincent et al., (1991). Cette méthode consiste à ensemencer les souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescentes âgée de 24 heures sous forme d'une ligne sur une distance de 1.5 cm à partir des deux bords d'une boîte Pétri contenant le milieu de culture. Après 24h d'incubation à 25° C, un disque de 0.5 cm de diamètre de chaque champignon phytopathogène FOA (*fusarium oxysporum albedinis*) et FOL (*fusarium oxysporum lycopersici*) est prélevé puis déposé à l'aide d'une pipette pasteur stérile au centre de la boîte, sur les milieux (PDA, KB). 2 répétitions ont été effectuées pour chaque interaction.

L'activité antagoniste est indiquée par la réduction de croissance des colonies mycélienne des champignons FOA et FOL en présence des souches *Pseudomonas* spp. Fluorescents par rapport aux croissances mycéliennes des témoins.

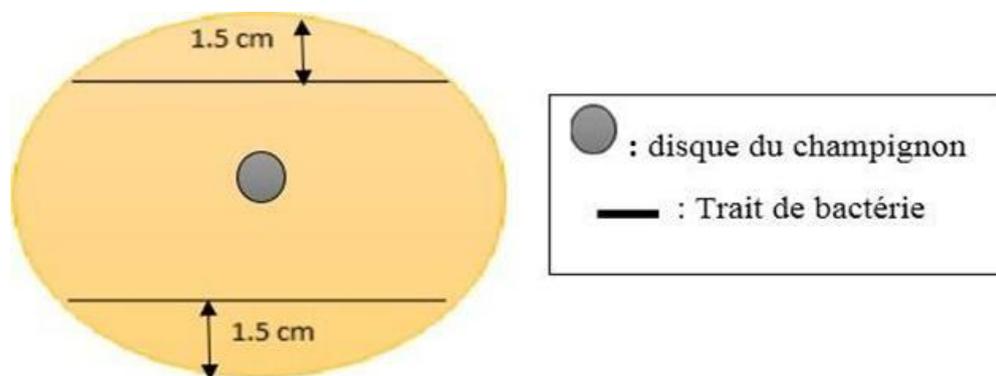
Les témoins sont représentés par des cultures cryptogamiques pures inoculées sur les deux milieux (King B, PDA). L'incubation des boîtes est faite à 25°C pendant 7 jours.

L'activité antagoniste est indiquée aussi par le calcul de taux d'inhibition.

L'évaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne des champignons pathogènes est estimée selon la formule suivante (Wang et al., 2002) :

$$(I\%) \text{ Inhibition} = (R \text{ témoin} - R \text{ test}) / R \text{ témoin} \times 100$$

**R témoin** : distance radiale maximale de croissance du champignon. **R test** : distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste. **À partir de 20% on peut parler d'inhibition.**



**Figure 6** : Méthode de confrontation directe en boîte de Pétri entre les souches bactériennes de *Pseudomonas* Spp. Fluorescents et l'agent phytopathogène.

## II.6 Les méthodes de détection de formation des biofilms par *Pseudomonas* spp. Fluorescentes

Les souches ayant montré une activité antagoniste ont été sélectionnées pour le test de mise en évidence de leur capacité à former des biofilms. Deux méthodes ont été réalisées :

- ❖ La méthode de culture sur gélose de rouge Congo (RCA).
- ❖ La méthode de coloration par crystal violet (CV).

### II.6.1 La détection des biofilms par culture sur gélose de rouge Congo agar (RCA)

Selon Freeman et al., (1989), la méthode de culture sur milieu rouge Congo est sensible, rapide, elle permet d'avoir des colonies viables sur le milieu et elle est très convenable pour la détection des souches productrices de slime.

Cette technique consiste à utiliser un milieu solide fabriqué à partir de bouillon du cœur cervelle (BHIB) qui a été mélangé avec du Rouge Congo et 5% du saccharose. Sur le milieu RCA, le colorant Rouge Congo réagit directement avec certains polysaccharides bactériens.

Le résultat positif a été indiqué par des colonies noires avec une consistance cristalline sèche. Les souches non productrices de slime généralement restent rouges. Les souches de phénotype variable donnent des colonies rouges à centre noir ou des colonies noires à centre rouge.

Elles ont été considérées comme des souches productrices de Slime (Touati et al., 2007).

### II.6.2. La détection des biofilms par coloration au cristal violet (Cv)

C'est une technique qui permet l'évaluation qualitative et quantitative de la formation de biofilm, décrite par **Christensen et al. (1982)** et **Stepanović (2007)**, cette technique est réalisée sur des Eppendorfs, ces derniers contiennent le milieu LB et sont inoculés avec des souches bactériennes (2 répétitions pour chaque souche), puis incubés à 27° C pendant 20 h. Le milieu de culture ainsi que les bactéries planctoniques sont ensuite éliminés par rinçage et la formation du biofilm bactérien est révélée par coloration au cristal violet (0.4%). Le test est positif s'il y a une visualisation d'un anneau sur la paroi de l'eppendorf (**Mathur et al., 2006 ; Bellifa, 2014**). La lecture de l'absorbance sur le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm est faite pour quantifier le biofilm obtenu.

#### Lecture :

La classification des résultats obtenus présentés sur la base du DO du témoin (**hola et ruzicka, 2011**). Les souches ont été classées comme suit :

$DO \leq DO_t$  (témoin) : non formatrice du biofilm

$DO_t \times 2 \leq DO \leq DO_t \times 4$  : modérée

$DO_t \times 4 \leq DO$  : fortement formatrice du biofilm

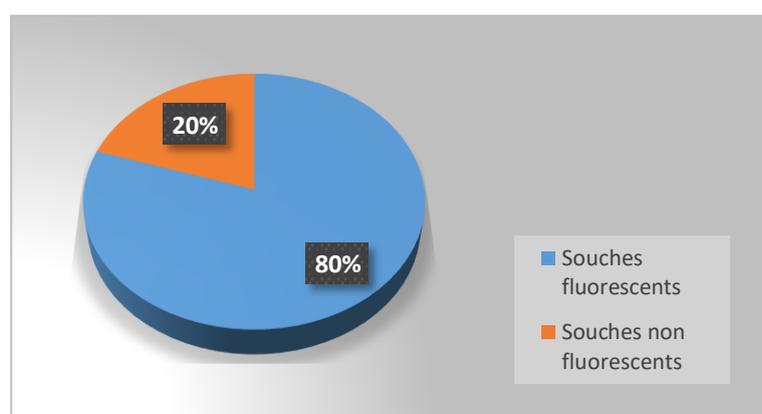
# *Résultats et discussion*

Au cours de cette étude, nous avons analysé 4 échantillons du sol saharien au niveau de laboratoire de phytobactériologie sur une période de quatre mois. Après l'isolement, et l'identification des souches ainsi que la réalisation du test d'antagonisme et le test de biofilm nous avons obtenu les résultats ci-après.

### III.1 Résultats de l'isolement et l'identification

#### III.1.1 Fréquence des souches isolées à partir du sol

L'isolement des bactéries à partir du sol saharien nous a permis d'isoler 40 souches de l'échantillon initial, dont 32 (80%) souches sur 40 sont des souches fluorescentes (**figure 7**), le reste est représenté par des souches non fluorescentes.



**Figure 7** : La fréquence de souches fluorescentes et non fluorescentes isolées

#### III.1.2 Identification des souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents

L'identification des souches isolées a été réalisée essentiellement selon la clef de **Bossis (1995)**.

##### III.1.2.1 Identification macromorphologique

###### III.1.2.1.1 Caractéristiques morphologiques

Après la purification, les souches bactériennes ont montré des caractères culturels très rapprochés sur le milieu KB. D'une manière générale, les colonies présentent un contour régulier, la coloration est souvent crème et parfois beige. Pour toutes les souches, l'aspect des colonies est lisse, leur élévation est convexe et le diamètre varie de 0.5 à 4 mm, et cela, en fonction de l'âge de la culture. Les résultats de la caractérisation physiologique sont représentés dans le (**tableau 7**).

### III.1.2.1.2 Test de la Fluorescence

Le test de la fluorescence réalisé sur les 32 isolats a révélé la présence d'un pigment fluorescent traduisant par une couleur jaune verdâtre sous la lampe UV (350 nm) (**Figure 8**), dont l'intensité de la fluorescence varie d'une souche à une autre. Nous avons constaté que la fluorescence varie non seulement en fonction des souches, mais aussi selon l'âge de la culture.

La coloration et l'intensité du pigment émis varie du vert-jaune au jaune-brun. Ces mêmes observations ont été signalées par **Digat et Gardan (1978)**.

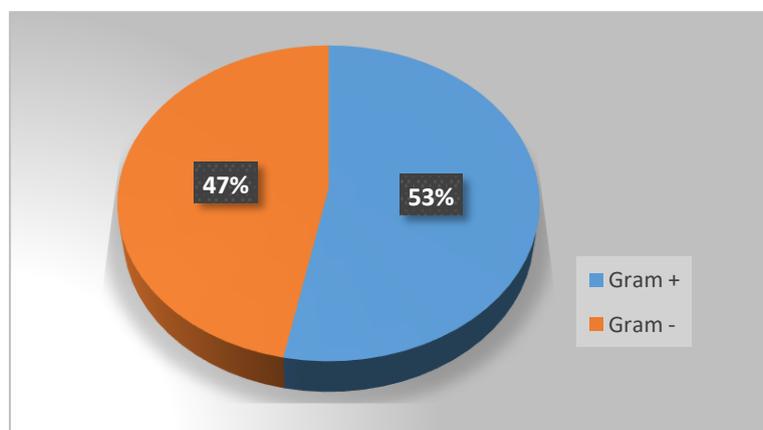


**Figure 8** : La fluorescence des isolats bactériens sous UV (350nm)

### III.1.2.2 Identification biochimique des souches isolées

#### III.1.2.2.1 Coloration de Gram

La coloration de Gram a révélé que 15 sur 32 isolats soit 47 % sont des bacilles à Gram négatif (**Figure 9**). Ce constat est vérifié par le test de potasse indicateur de Gram. L'augmentation de la viscosité du KOH et la formation d'un filament mucoïde confirment que ces bactéries sont à Gram négatif (**Tableau 5**) et (**Figure 10**).



**Figure 9** : La fréquence des souches Gram – et Gram +



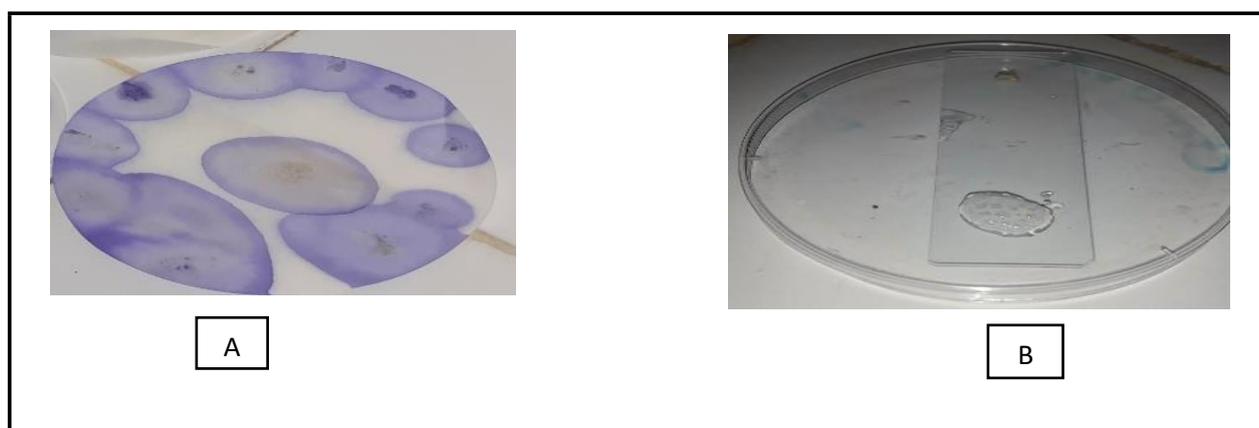
**Figure 10** : La formation d'un filament mucoide confirmant le Gram négatif par le test de KOH

#### III.1.2.2.2 Test d'Oxydase

D'après les résultats, toutes les souches sont oxydase +, 100% des souches ont été retenues pour le test de catalase (**Tableau 5**) et (**Figure 11**).

#### III.1.2.2.3 Test de Catalase

D'après les résultats, toutes les souches (100%) sont catalase positif (**Tableau 5**) et (**Figure 11**).

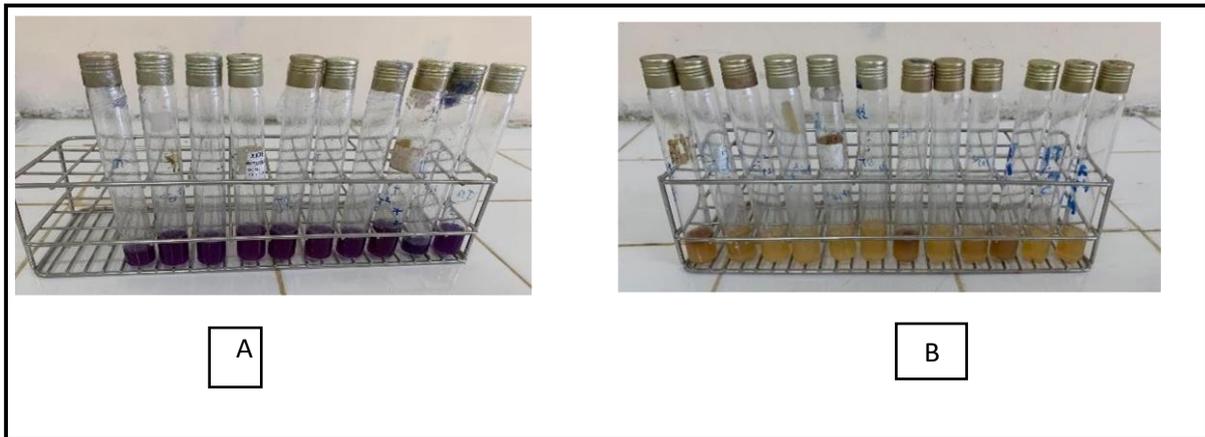


**Figure 11** : Résultats des tests d'oxydase et de catalase. **A** : L'oxydase ; **b** : catalase

#### III.1.2.2.4 Tests d'Hydrolyse de l'arginine ADH et Recherche de la gélatinase

D'après les résultats (**Figure 12** et **Tableau 5**), nous constatons que :

- La dégradation de l'arginine a été notée chez toutes les souches testées (100%). Le résultat positif se traduit par l'apparition d'une coloration violette suite à l'alcalinisation du milieu.
- L'absence de la production de la gélatinase a été révélée chez toutes les souches (100%) se traduisant par la solidification du milieu.



**Figure 12 :** Résultat des tests arginine et gélatine. **A :** test de l'arginine ; **B :** test de gelatinase

**Tableau 5 :** Quelques caractéristiques d'identification des souches *Pseudomonas* spp fluorescentes isolées

Souche	Fluorescence	Gram	KOH	résistance au tabac	catalase	oxydase	argénine	gélatine	Identification des souches
TB 3(2)	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TB 7(2)	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TB1(1)	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TB 33	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TB 41	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TB12	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> -/ groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TC 12	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TB 71	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TB 72	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TR81	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P. putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TF1	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TF6 1	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.Putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TB2	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TF6	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>
TB8	Jaune-vert	-	-	-	+	+	+	-	<i>P.putida</i> / groupe intermédiaire <i>P.putida-P.fluorecens</i>

Les méthodes de caractérisation ont permis une identification préliminaire des isolats issus du biotope étudié (rhizosphère de quatre variétés de palmier dattier). La sélection initiale a permis de constituer une collection de 32 isolats fluorescents. Les tests de l'oxydase et de l'arginine-dihydrolase, considérés comme des tests déterminatifs dans l'identification des *Pseudomonas spp.* Fluorescentes (Bossis, 1995), ont été pratiqués sur les 15 souches de gram.

- L'étude des cytochromes respiratoires a permis de distinguer *P. aeruginosa* des autres espèces saprophytes ayant une cytochrome C oxydase (Stanier et al., 1966) et de la plupart des espèces phytopathogènes dépourvues de cette enzyme (Lelliot et al., 1966 ; Sands et al., 1967 ; Palleroni, 1984).

Les résultats ont permis de retenir 15 souches [oxydase (+), arginine (+) et tabac (-)], apparentées à des *Pseudomonas spp.* Fluorescentes saprophytes, soit un taux de 37,5 % du total des souches isolées.

Les caractères physiologiques et biochimiques des isolats bactériens, selon les réactions obtenues dans les tests discriminatifs proposés par Bossis (1995) [Arginine (+), gélatine (-)] ont permis de regrouper toutes les souches *Pseudomonas spp.* fluorescents (100%) en : *Pseudomonas putida* ou au sein du groupe intermédiaire entre *P. putida* et *P. fluorescens* (Tableau 5).

### III.2 Résultats de la sélection des souches de *Pseudomonas spp.* Fluorescentes antagonistes

Parmi les 15 souches pré-identifiées, dix souches de *Pseudomonas spp.* Fluorescentes (représentatif de chaque échantillon du sol) ont été testées pour leur capacité à inhiber la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa) et *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) sur deux milieux (KB et PDA). Cette inhibition se traduit par la réduction du diamètre des colonies de *Fusarium* par rapport au témoin. La lecture des résultats de l'activité antifongique :

- **Milieu King :**

Sur le milieu King, huit souches exercent une activité antagoniste vis-à-vis le champignon Foa et neuf souches vis-à-vis le Fol. Le résultat se voit clairement sur les boîtes de Pétri lors de la comparaison avec le témoin. Ces souches sont considérées inhibitrices avec un taux d'inhibition >20%. Les résultats obtenus sur le milieu King B sont illustrés, sur les (Figures 13 et 14) et (Tableau 8 et 9).

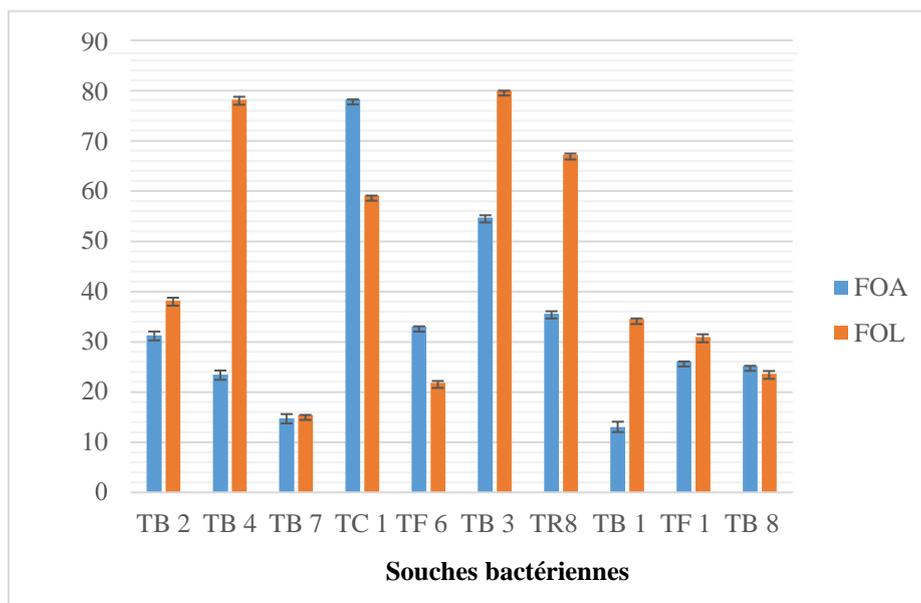


Figure 13 : Histogramme qui représente les taux d’inhibition des souches bactérienne dans le milieu King B vis-vis les champignons Foa et Fol

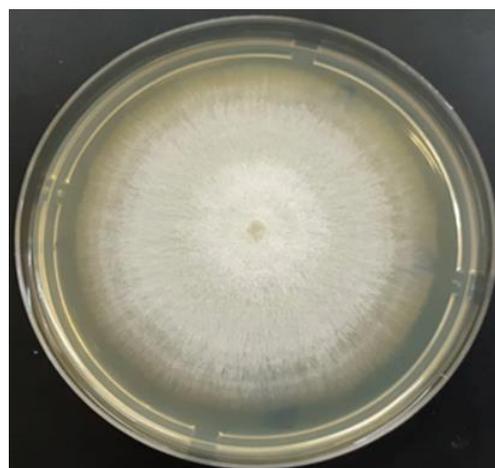
La lecture de la (figure 13) nous indique que le taux d’inhibition est variable et important pour les souches vis-à-vis des deux champignons dans le milieu King B.

Les résultats montrent une forte activité antifongique chez les souches TB 3, TC1 avec des taux d’inhibition de 55% et 78% vis-à- vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et 80%, 59% vis-à- vis *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

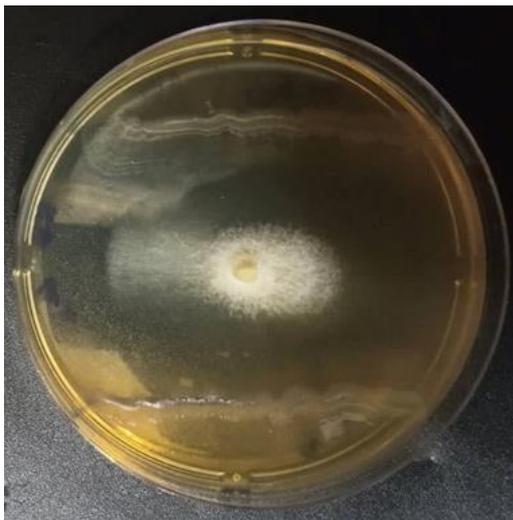
Pour la souche (TB7) aucun effet sur la croissance des souches fongiques *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* a été indiqué.



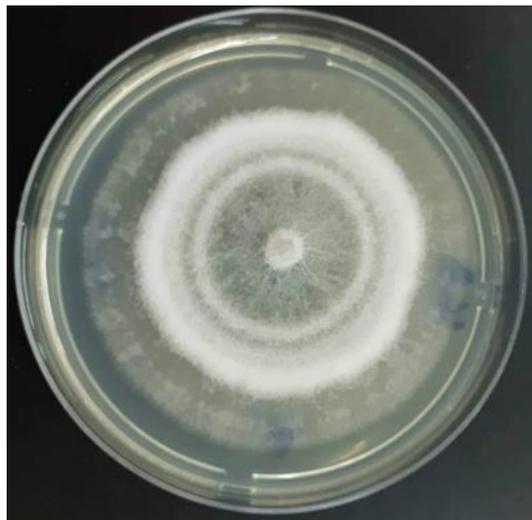
Activité antagoniste de la souche TB 3 contre Foa



Témoin Foa



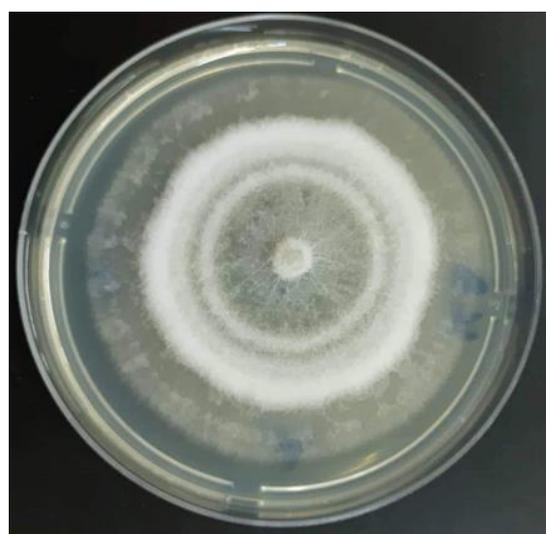
Activité antagoniste de la Souche TB 3 contre  
FOL



Témoin FOL



Activité antagoniste de la souche TC contre FOL



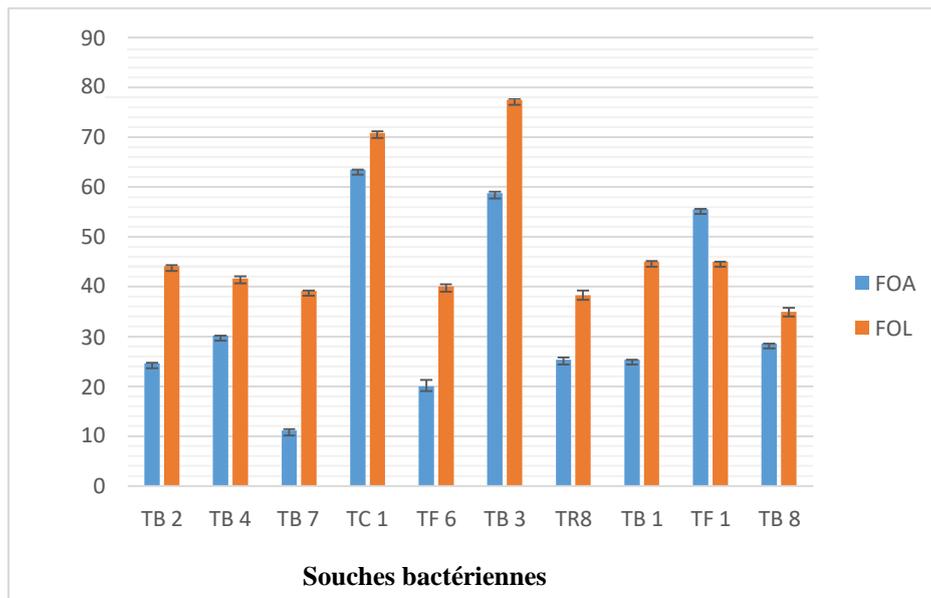
Témoin FOL

**Figure 14** : photos du test d'antagonisme de quelques souches avec les témoins correspondants sur le milieu KB

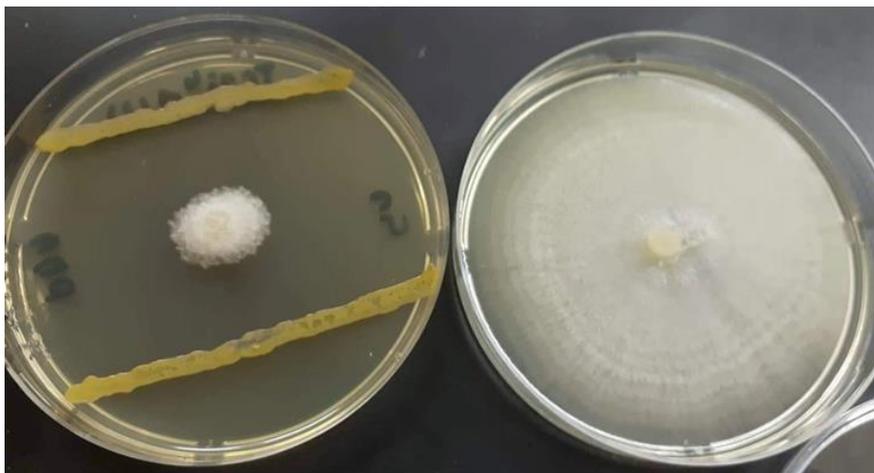
- **Milieu PDA :**

Selon les (Figure 15 et 16) et (Tableau 8 et tableau 9) qui représentent les résultats de l'effet antagoniste exercé par les souches bactériennes, nous remarquons que :

- + Toutes les souches ont montré un pouvoir antifongique vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* sur le milieu PDA avec un taux d'inhibition  $>20\%$  donner le meilleur taux d'inhibition et le faible taux avec les souches.
- + TB7 est la seule souche qui n'a pas exercé un pouvoir antifongique vis-à-vis le champignon *fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* avec un taux d'inhibition de  $11\% < 20\%$



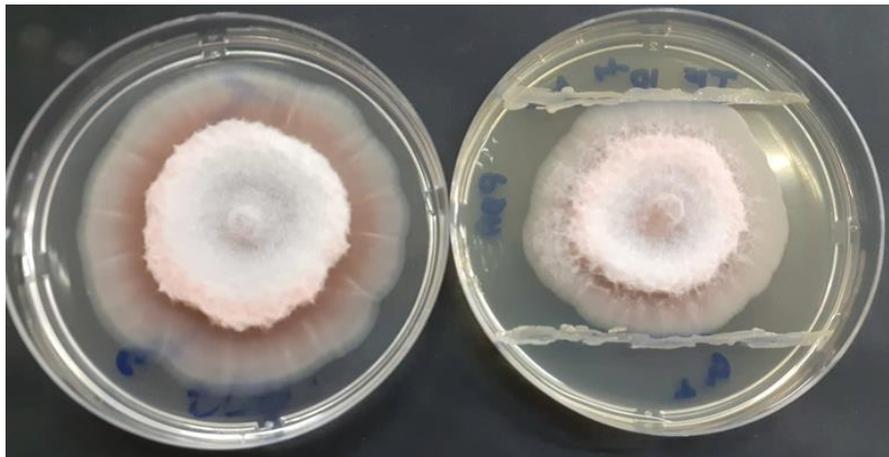
**Figure 15 :** histogramme qui représente les taux d’inhibition des souches bactérienne dans le milieu PDA vis à vis les champignons FOA et FOL



Activité antagoniste de la Souche TC contre FOA



Activité antagoniste de la Souche TC contre FOL



Activité antagoniste de la Souche TF1 contre FOL

**Figure 16 :** photos du test d'antagonisme de quelques souches avec les témoins correspondants sur le milieu PDA

### III.3 Résultats des tests de formation de biofilm

Les tests de formation du biofilm ont été réalisés sur les mêmes souches qui ont fait l'objet de l'activité antagoniste.

#### III.3.1 Méthode de rouge Congo (RCA)

Les souches qui ont montré une activité antagoniste ont été testées pour leur habilité de production de slime sur milieu RCA. Selon **Freeman et al., (1989)**. Un résultat positif est indiqué par des colonies noires avec une consistance cristalline sèche. Les souches non productrices de slime généralement restent rouges.

Après l'incubation de 24h à 27°C, les souches TB8, TB2, TC1, TB7, TR8 ont révéler une couleur de colonie noir sur le milieu (RCA) alors que les souches TB4, TF6, TB3, TB1, TF1 ont révéler une couleur de colonie rouge sur le milieu (RCA). D'après les résultats obtenus illustrés sur **les (figures 17 et 18)**. 50% des souches testées sont formatrices de biofilm.



Figure 17 : Résultats positifs de test rouge congo



Figure 18 : Résultats négatifs de test rouge congo

### III.3.2 Méthode de cristal violet (CV)

Les souches ont été testées pour leur capacité de produire du biofilm in vitro. Ceci par la méthode de coloration au cristal violet. Après 24 heures d'incubation à une température de 27°C, la formation des biofilms a été observée à l'œil nu sur les eppendorfs. La densité optique a ensuite été mesurée par un spectrophotomètre et exprimée en DO à 620 nm. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence la capacité de neuf souches isolées de *Pseudomonas* spp. Fluorescentes à former des biofilms.

Selon les travaux de (Stepanović et al., 2000., 2007). Les souches comptent tenu de leur pouvoir adhérent, ont été classées en quatre catégories : non adhérentes, faiblement adhérentes, modérément adhérente et hautement adhérente.

$DO \leq \text{Dot}$  (témoin) : non formatrice du biofilm

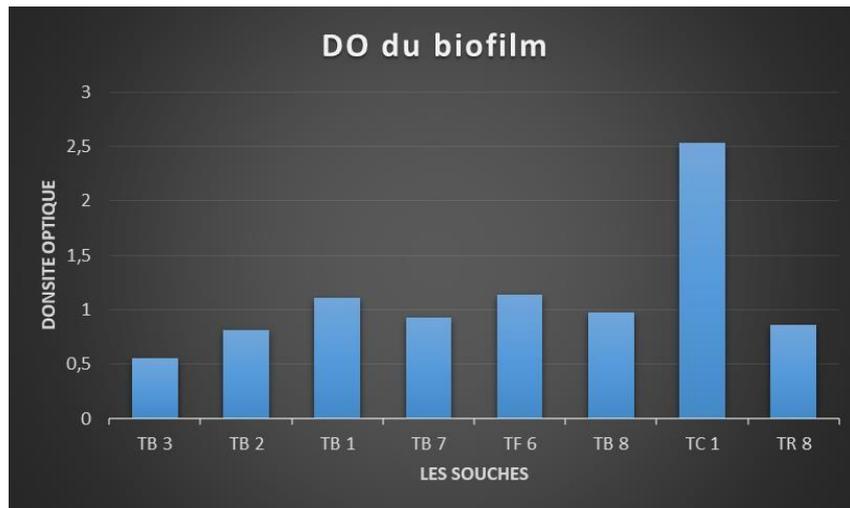
$DO_{t \times 2} \leq DO \leq DO_{t \times 4}$  : modérée

$DO_{t \times 4} \leq DO$  : fortement formatrice du biofilm

✚ Les résultats de mesure de densité optique sont représentés dans le (Tableau 6).

**Tableau 6:** résultats de DO du test de la formation du biofilm par la méthode de CV

Les souches	DO des souches (témoin)	DO du biofilm	Production du biofilm
<b>TB 4</b>	0,27	0.67	modérée
<b>TF 1</b>	0,3	0.67	non formatrice
<b>TB 3</b>	0,29	0,555	modérée
<b>TB 2</b>	0,3	0,814	modérée
<b>TB 1</b>	0,33	1,1075	modérée
<b>TB 7</b>	0,3	0,9285	modérée
<b>TF 6</b>	0,27	1,142	fortement Formatrice
<b>TB 8</b>	0,28	0,972	modérée
<b>TC 1</b>	0,29	2,533	fortement Formatrice
<b>TR 8</b>	0,31	0,857	modérée



**Figure 19** : Histogramme représente la densité optique des souches productrices du biofilm

À partir du (**Tableau 6 et figure 19**), nous déduisons que 90% des souches sont formatrices de biofilm. Les souches TB4 TB3, TB2, TB1, TB7, TB8, TR8 sont des souches modérément productrices, seuls les deux souches TF6, TC1 sont fortement formatrices avec une meilleure densité optique de 2.5 enregistrée par la souche TC1 [ $\text{Dot} (0.29) \times 4 \leq \text{DO TC1}$ ]. La souche TF1 s'est montrée non formatrice. La TC1 est la souche la plus formatrice de biofilm.

On observe que les résultats de détection de biofilm des deux méthodes culturales sur (RCA) et cristal violet sont significativement différentes.



**Figure 20** : Photos des différentes épaisseurs des anneaux de biofilm

### III.2 Discussion

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescentes présentent un intérêt scientifique et se caractérisent par une diversité phénotypique et génétique en relation avec leur impact positif sur le fonctionnement de la rhizosphère, en exerçant des actions directes et/ou indirectes sur le développement de la plante (**Benchabane et al., 2000 ; Digat et al.,1987 ; Keel et al., 1996 ; Kloepper et al.,1981**). Ces rhizobactéries représentent un modèle d'étude pour la compréhension des interactions rhizosphériques avec les plantes (**Digat et al., 1987 ; Jaques et al.,1994 ; Latour et Lemanceau, 1997, ; Lugtenberg et al., 2001**).

Les isolements effectués ont permis d'isoler 32 souches dont 10 sont des *Pseudomonas* spp. Fluorescents, cette densité est probablement due aux différents facteurs qui influencent la croissance et la survie des microorganismes. La diversité microbienne dans différents biotopes dépend de plusieurs facteurs : la salinité, la solubilité de l'oxygène, la température, le ph, du potentiel hydrique et la disponibilité des éléments nutritifs (**Cacciari et al., 2003**). la présence des souches *Pseudomonas* spp. Fluorescents dans le biotope étudié (sol saharien) qui est considéré comme un milieu extrême est due à leur caractère ubiquitaire et pouvoir d'adaptation (**Bossis et al., 2000 ; Moll et al.,2008 ; Anderson et al.,2018**). La distribution des populations de *Pseudomonas* spp. Fluorescents telluriques est influencée par la plante et le sol (**Achouak et al., 2000 ; Delorme et al.,2002**).

L'identification et la classification des souches obtenue a été réalisée selon différents critères phénotypiques (morphologie, production des pigments, et coloration de gram, test oxydase et catalase). L'étude macroscopique réalisée sur milieu King B a permis d'observer des colonies de forme circulaire, opaque à semi translucide de couleur beige et une taille qui varier entre 0.2-0.5 cm. La pigmentation produite par ces souches est d'une couleur jaune verdâtre.

D'après nos résultats les souches sont gram-, catalase +, oxydase +. Nos résultats concordent avec ceux de (**Latour et Lemanceau, 1997**). Les espèces saprophytes de *Pseudomonas* spp. Fluorescents sont catalase positive, mésophile chimio-organotrophes puisqu'elles peuvent croître dans un milieu minéral ne contenant qu'une seule source de carbone. Les souches obtenues sont arginine + et gélatine - donc elles sont probablement *Pseudomonas putida* ou appartiennent au groupe intermédiaire entre *P. fluorescens* et *P.putida*, **selon (Bossis et coll., 2000 ; Chapalain et coll., 2008 ; Palleroni, 2005 ; Stanier et coll., 1966)** .*P. putida* se distingue de *P. fluorescens* par son incapacité à liquéfier la gélatine.

Le genre *Pseudomonas* est l'un des genres bactériens les plus diversifiés et sa taxonomie a subi de nombreux changements. Des études antérieures ont donné lieu à la division du groupe

*P. fluorescens* en cinq biovars (de I à V, synonymes des biotypes A, B, C, F et G) en fonction de caractéristiques phénotypiques tels que les essais métaboliques, la composition de l'acide gras et les profils des protéines (**Palleroni, 2005**).

La grande hétérogénéité phénotypique entre les souches de *P. putida* a donné lieu à la subdivision de l'espèce en deux grands biovars (ou biotypes), A et B (**Palleroni, 2005**). Toutefois, des études récentes de ribotypage semblent indiquer que la subdivision interne de l'espèce devrait être revue (**Palleroni, 2005 ; Mulet et coll., 2013**) ont conclu que la différenciation selon les biovars est obsolète, mais que les caractéristiques phénotypiques qui lui sont associées peuvent encore s'avérer utiles pour distinguer les souches.

Pour compléter l'identification phénotypique des méthodes phénotypiques avancées ainsi que des méthodes génotypiques fondées sur la séquence, la composition et la structure des acides nucléiques ainsi que l'expression des protéines sont utilisées.

La technologie phénotypique avancée de biologie GEN III est utilisée pour l'identification des bactéries, et fournit des informations précieuses sur les propriétés des souches et l'identification au niveau de l'espèce.

Les méthodes génétique tel que le séquençage avec l'ARN 16S et l'analyse par spectrométrie de masse MALDI-TOF du protéome bactérien entier peut être utilisée pour l'identification rapide des *Pseudomonas* fluorescents (**Anderson et al., 2012**). Parmi les autres méthodes qui peuvent être utiles pour l'identification et la classification des espèces de *Pseudomonas*, mentionnons l'analyse phylogénétique avec la séquence des gènes *gyrB* et *rpoD* (**Yamamoto et coll., 2000**), les biopuces d'oligonucléotides à haute densité. (**Elomari et al., 1997 ; Ballerstedt et al., 2007**).

L'activité antagoniste est testé sur 10 souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescentes vis-à-vis de deux champignons *Fusarium oxysporum* f. sp *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* sur deux milieu de culture KB et PDA. Les résultats ont révélé que la majorité des souches ont un pouvoir antagoniste vis-a vis le *foa* et vis-à-vis le *fol* sur les deux milieux.

Ces résultats témoignent de l'effet bénéfique des *Pseudomonas* spp. Fluorescentes en tant qu'agent de biocontrôle contre les phytopathogènes telluriques (**Becher et Cook, 1988 ; Lemanceau, 1992**).

Une forte activité antagoniste est exercée par les souches TC1, TB3 à l'encontre des deux champignons sur le milieu King B est probablement due à la production des sidérophores.

La production en quantités importantes de ces molécules chélatrices permet aux *Pseudomonas spp.* Fluorescentes de s'approprier tout le fer nécessaire à leur croissance et de le rendre inaccessible aux autres microorganismes (**Viswanathan et Samiyappan, 2004**). Le fer est un facteur limitant pour le développement des microorganismes et leurs activités biologiques (**Loper et Buyer, 1991**). Les différences d'intensité du pouvoir inhibiteur de nos souches pourraient être liées à la nature et la quantité des substances sécrétées. (**Mishagi et al., 1982**), on établi une corrélation entre la quantité des pigments fluorescents et le pouvoir antagoniste des *Pseudomonas*.

D'autres part, le même essai sur le milieu PDA révèle la présence des zones d'inhibitions autour du pathogène fongique FOA et FOL. Ce résultat peut être expliqué par la présence des métabolites secondaires à effet antifongique synthétisés par les souches ayant manifesté une action inhibitrice contre le pathogène. Ceci pourrait suggérer la présence chez une même souche de nombreux métabolites variables selon le milieu de culture utilisé. Le milieu PDA utilisé dans l'expérience de confrontation directe est riche en nutriments, la compétition peut être exclue comme le mode d'action de ces isolats (**Landa et al., 1997**). Dans l'ensemble les souches les plus actives sur milieu PDA sont TC1, TB3, TF1. leurs activités antagonistes peuvent être corrélées avec leur métabolisme, notamment leurs métabolites secondaires notamment les antifongique 2,4-diacetylphloroglucinol (DPG) (**Haas et al., 1991 ; Keel et al., 1992**), pyoluteorine (**Maurhofer et al., 1994**), Pyrrolnitrin (**Rosales et al., 1995 ; Ligon et al., 2000**), l'oomycine A (**James et Gutterson, 1986 ; Howie et Suslow, 1991**), l'acide cyanidrique et d'autres enzymes de dégradations de parois cellulaire chez les champignons (protéases, chitinases, cellulases, et pectinases).(**Toua et al.,2013**).

Le slime est définie comme la substance polymérique extracellulaire, également connue sous le nom d'exo-polysaccharides (EPS) (**Chaieb et al., 2005**). Le slime est composé de macromolécules, glycoprotéines, polysaccharides et de peptidoglycanes, la structure chimique exacte n'est pas bien définie (**Sakarya et al., 2004**).

Le Rouge Congo interagit directement avec certains polysaccharides bactériens formant un slime et donnant des colonies noires, contrairement aux colonies non productrices qui restent rouges (**Rewatkar et Wadher, 2013 ; Kara Terki, 2014**).

D'après les résultats obtenus, 5 souches sont formatrices La lecture des résultats a été réalisée selon **Freeman et al., (1989)** et **Touati et al., (2007)**. Un résultat positif a été indiqué par des colonies noires avec une consistance cristalline sèche. Les souches non productrices de slime généralement restent rouges (**Freeman et al., 1989**). Les souches de phénotype variable donnent des colonies rouges à centre noir ou des colonies noires à centre rouge.

Elles ont été considérées comme des souches productrices de Slime (**Touati et al., 2007**).

Plusieurs auteurs signalent que la méthode de rouge Congo agar semble être moins efficace pour détecter la formation de biofilm *in vitro* (**Hassan et al., 2011 ; Rûzicha et al., 2004 ; Taj et al., 2012**).

La méthode de quantification des biofilms par coloration au cristal violet est parmi les méthodes indirectes d'estimation de la production de biofilm sur différents types de substrats (**Djordjevic et al., 2002**). La coloration absorbée est directement corrélée à la densité du biofilm formé, et sa solubilisation permet une quantification de celui-ci (**Musk et al., 2005**).

La méthode de coloration par cristal violet est plus fiable pour quantifier un biofilm *in vitro* que la méthode de RCA (**Hou et al., 2012**).

L'observation visuelle des eppendorfer montre que la formation du biofilm se caractérise par la présence d'un anneau à l'interface air –liquide, L'intensité de l'anneau formé est variable d'une souche à l'autre.

D'après nos résultats obtenus à l'issue de l'observation visuelle des eppendorfs et celle de la mesure de densité optique par le spectrophotomètre à 620 DO et selon **Stepanovic et al., (2000)**, nous avons constaté que 9 souches sont formatrices de biofilm.

Les souches TC 1 et TF6 sont fortement formatrices de biofilm par rapport aux souches (TB1, TB2, TB3, TB4, TB7, TB8, TR8) qui sont modérément formatrices et TF1 qui est non formatrice.

L'analyse des résultats montre que la méthode de quantification des biofilms par coloration au CV a permis de mettre évidence une formation de biofilm variable chez l'ensemble de souches étudiées en comparaison avec la méthode de RCA qui a permis de détecter la formation de biofilms chez seulement 5 souches. Ces résultats sont semblables à ceux rapportés par plusieurs travaux traitant les biofilms tels que l'étude de **Filloux et Vallet (2003)**.

Dans la rhizosphère les biofilms jouent un rôle clé dans les interactions plantes-bactéries et bactéries-bactéries et déclenche l'expression de propriétés bénéfiques pour les plantes. (**Ali et al., 2017 ; Besset-Manzoni et al., 2018**). La production d'exopolysaccharides dans les biofilms par les *Pseudomonas* fluorescentes devrait conférer une protection contre les conditions non favorables et aider à la colonisation bactérienne des racines. De plus, les exopolysaccharides ont des caractéristiques de rétention d'eau et d'adhérence et jouent un rôle important dans la stabilisation des agrégats du sol et la régulation des nutriments et du flux d'eau à travers les racines des plantes. (**Velmourougane et al., 2017**).

---

Selon **Rieusset et al.,(2020)** une grande diversité de métabolites secondaires de *Pseudomonas* fluorescentes était produite dans les biofilms certains des principaux composés impliqués dans les interactions biotiques bactériennes comme les AHL ou les phénazines étaient fortement renforcés. la biosynthèse des métabolites secondaires dans le biofilm influencera les interactions biotiques des *Pseudomonas* spp. Fluorescents avec leur plante hôte et avec d'autres microorganismes de la rhizosphère. Et permet d'améliorer l'activité de biocontrôle et de biostimulation des bactéries.

L'utilisation des *Pseudomonas* fluorescentes comme un agent de biocontrôle constitue un énorme potentiel mais les essais en plein champ rencontrent des difficultés. Ces difficultés concernent surtout l'aspect formulation et méthodes d'applications, ce qui complique leur commercialisation.

*Conclusion et  
perspective*

Les pays sahariens, en particulier les pays du Maghreb, où la culture de palmier occupe une place économique importante, sont confrontés à une récurrence des maladies, notamment la fusariose de palmier dattier causées par l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp *albedinis*.

Le contrôle biologique des maladies dues à des pathogènes du sol, par l'introduction des microorganismes bénéfiques dans la rhizosphère, a été proposé comme une alternative à l'utilisation des substances chimiques. Certaines bactéries associées aux plantes, particulièrement les *Pseudomonas* spp. Fluorescentes, sont connues depuis longtemps pour leur aptitude à réduire l'incidence des maladies telluriques.

Les isollements réalisés à partir d'un échantillon de sol rhizosphérique de 4 variétés différentes de palmier dattier issues de la région de Taghit nous a permis d'obtenir 40 souches dont 32 sont fluorescentes. La caractérisation (morphologique, microscopique et biochimique), a permis d'identifier 15 souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes en se basant sur les clés de Bosis (**Bosis et al, 1995**) on a constaté que les 15 souches appartiennent au groupe des *Pseudomonas putida* ou groupe intermédiaire *P. putida-P. fluorescences*.

Dans la deuxième partie de notre travail, relative à la mise en évidence de confrontations directes entre les phytopathogènes (Foa et Fol) et les dix souches (sélectionnées) sur deux milieux de culture (PDA, KB) Les résultats du test d'antagonisme in vitro, ont montrés des effets antagonistes de tous les souches testées. Ces dernières sont considérées inhibitrices des agents fongiques *Fusarium oxysporum albedinis*, *Fusarium oxysporum lycopersici*. Les bactéries antagonistes montrent une variabilité du taux d'inhibition vis-à-vis du champignon pathogène En enregistrant des taux d'inhibition supérieur ou égale à 20 %. Nos résultats révèlent que la souche TC possède le pouvoir inhibiteur le plus élevé contre le champignon phytopathogènes *Fusarium oxysporum albedinis* dans les deux milieux avec un taux d'inhibition de 78% sur milieu KB et 63% sur milieu PDA et un taux d'inhibition de 80% sur milieu KB et 77% sur PDA, pour la souche TB3 contre *Fusarium oxysporum lycopersici*. À travers les résultats obtenus, on a observé une variabilité de l'activité antagoniste des souches testées dans les deux milieux ce qui suggère une diversité dans les mécanismes impliqués dans le contrôle biologique.

La dernière partie de notre travail était le test du biofilm des souches *Pseudomonas* spp. Fluorescentes par deux méthodes différentes, pour tester la capacité des *Pseudomonas* à vivre en communauté bactérienne.

Les résultats des deux méthodes ont été significativement différents, la méthode (RCA) a révélé que 50% des souches sont formatrices de biofilm tandis que la méthode de coloration au cristal violet et le dosage par spectrophotométrie a montré que 90% des souches sont formatrices avec des densités optiques variables.

Cependant, à l'issue de notre travail, il est nécessaire d'effectuer une identification phénotypique plus sophistiquée via la galerie api20NE et BIOLOG GEN III et génotypique par des méthodes moléculaires tel que la PCR, western blot ou séquençage de l'ARN16S.

Il est nécessaire d'étudier et d'identifier d'autres métabolites secondaires produits par les *Pseudomonas* spp. Fluorescentes afin de mettre en évidence tous les effets bénéfiques qui les confèrent aux plantes. Il est préférable d'augmenter le nombre des souches afin de comparer le pouvoir inhibiteur de différentes souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes.

Il est souhaitable d'étudier la relation entre le pouvoir antagoniste des *Pseudomonas* spp. fluorescentes et leur capacité de produire le biofilm et aussi la différence entre la sécrétion des métabolites secondaires en forme planctonique et en biofilm.

# *Annexes*

**Annexe 1 : Le matériel utilisé au laboratoire**

Nom de l'appareil	Photo (originale)	Nom de l'appareil	Photo (originale)
<b>Etuve</b>		<b>Réfrigérateur</b>	
<b>Autoclave (AESCU LAP)</b>		<b>Spectrophotomètre</b>	

<p><b>Lampe Ultraviolet</b></p>		<p><b>vortex</b></p>	
<p><b>balance</b></p>		<p><b>Bec benzène</b></p>	

<b>Petit matériel et consommable</b>	
-Anse en platine	-Papier aluminium
-Boîte Pétri en plastique 90 mm	-Para-film
-Spatule	-Papier whatman
-Entonnoirs en verre	- Pincés
-Éprouvettes graduées 1000 ml	-Pipettes Pasteur
-Erlenmeyers 100 ml et 250 ml	-Seringue en verre
-Flacons 250,400, 1000 ml	- Seringue en plastique
-Eppendorfs 1,5 ml et 2 ml	-Portoir
	-Tubes à essai 20 ml
	-Règle graduée

<b>Colorants</b>	<b>Les produits chimiques utilisés</b>
-Fuchsine -Cristal violet -Rouge Congo -Bleu de bromocrésol	-Éthanol (70%) -Lugol

**Annexe 2:** Composition des milieux de culture

Autoclavage 20 minutes à 120°C.

<p><b>Milieu king B</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone: 20g.</li> <li>- Glycerol:15ml m</li> <li>- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1.5g.</li> <li>-MgSo<sub>4</sub>: 1.5g.</li> <li>-Agar: 15g.</li> <li>-Eau distillée 1L</li> <li>-PH=7.2</li> </ul>	<p><b>Milieu PDA</b> (Potato Dextrose Agar)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Pomme de terre 200g.</li> <li>- Dextrose 20g</li> <li>-Agar 15</li> <li>-Eau distillée 1000ml</li> <li>-PH=7,</li> </ul>
<p><b>Milieu arginine dihydrolase</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Argenine : 5 g</li> <li>-Extrait de levure : 3g</li> <li>-Nacl : 5g</li> <li>-Glucose : 1g</li> <li>-Pourpre de bromocrésol : 0.04g</li> <li>-PH= 7</li> </ul>	<p><b>Milieu Gélatine</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Gélatine : 120g</li> <li>-Extrait de levure : 3 g</li> <li>-Peptone : 5g</li> <li>-Eau distillée: 1L</li> <li>-Ph 7,2</li> </ul>
<p><b>Milieu LB</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Bacto tryptone : 10 g</li> <li>-Extrait de levure : 5g</li> <li>-Na Cl : 5 g</li> <li>-Agar : 20 g</li> <li>-Eau distillé : 1000 ml</li> <li>-PH=7</li> </ul>	<p><b>Milieu rouge Congo (RCA)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-BHI (brain heart infusion) :37g</li> <li>-Saccharose:50 g</li> <li>-Agar:10g</li> <li>-Rouge Congo : 0.8g</li> <li>-Eau distillé : 1000ml</li> <li>-PH= 7.4</li> </ul>

## Annexe 3 : Tableaux des résultats

Tableau 7: Quelques caractéristiques morphologiques des souches *Pseudomonas* spp. Isolées

Les souches	Taille	Aspect	Forme	Bord	Opacité	Pigment
TB7(1)/TB7(2)	0.2	Lisse	Circulaire	Régulière	Opaque	Jaune vert
TB1(1) /TB1(2)	0.2	Lisse	Circulaire	Régulière	Non opaque	Jaune vert
TR8	0.5	Lisse	Circulaire	Non régulière	Opaque	Jaune vert
TF6(1)/TF6(2)	0.2	Lisse	Circulaire	Régulière	Opaque	Jaune vert
TB8(1)/TB8(2)	0.2	Lisse	Circulaire	Régulière	Non opaque	Jaune vert
TB3	0.4	Lisse	Circulaire	Régulière	Non opaque	Jaune vert
TB2(1)/TB2(2)	0.2	Lisse	Circulaire	Régulière	Non opaque	Jaune vert
TC4	0.4	Lisse	Circulaire	Non régulière	Opaque	Jaune vert
TB 4	0.3	Lisse	Circulaire	Régulière	Non opaque	Jaune vert
TF1	0.2	Lisse	Circulaire	Régulière	Opaque	Jaune vert
TC1	0.3	Lisse	Circulaire	Non régulière	Opaque	Jaune vert
TC 3	0.3	Lisse	Punctiforme	Ondulée	Opaque	Jaune vert
TC 2	0.3	Lisse	Punctiforme	Ondulée	Opaque	Jaune vert
TR5	0.4	Lisse	Circulaire	Ondulée	Opaque	Jaune vert
TF6(3)	0.2	Lisse	Circulaire	Ondulée	Opaque	Jaune vert

**Tableau 8:** Les résultats de test de l'Activité antagoniste des souches vis-vis le Foa et Fol  
Dans deux milieux (King B) et (PDA)

		Activité antifongiques							
milieu	King B				Milieu PDA				
souche	Diamètre FOA en cm	Taux d'inhibition % FOA	Diamètre FOL en cm	Taux d' inhibition % FOL	Diamètre FOA en cm	Taux d' inhibition % FOA	Diamètre FOL en cm	Taux d Taux d' inhibition % FOL	
TB 2	4,4	31,30	1,15	38,18	4,4	24,60	3,5	44,16	
TB 4	3,7	23,47	1,8	78,18 1	4,7	30,15	3,7	41,66	
TB 7	5	14,78	3,6	15,45	4,7	11,11	3,3	39,16	
TC 1	4,3	78,26	4,2	59,09	4,5	63,49	3,9	70,83	
TF 6	2,6	33,04	1,1	21,81	2,6	20	1,35	40	
TB 3	4,9	54,78	4,65	80	5,6	58,73	3,65	77,5	
TR8	1,25	35,65	2,25	67,27	2,3	25,39	1,75	38,33	
TB 1	3,85	13,04	4,3	34,54	5,05	25,39	3,6	45	
TF 1	4,25	26,08	3,8	30,90	2,8	55,55	3,3	45	
TB 8	3,95	25,21	3,4	23,63	4,75	28,57	3,25	35	

**Tableau 9** : Calcule des écarts type des zones d'inhibition des souches

Les souches	Écart type FOA /KB	Écart type FOL/KB	Écart type FOA/PDA	Écart type FOL/PDA
TB 2	0,78	0,6	0,14	0,14
TB 4(1)	0,85	0,6	0	0,42
TB 7(1)	0,85	0	0,28	0,07
TC 1(2)	0	0	0	0,35
TF 6(1)	0,07	0,4	1,27	0,49
TB 3(3)	0,42	0	0,35	0,21
TR8(1)	0,42	0,2	0,42	0,85
TB 1	1,06	0,1	0	0,14
TF 1	0	0,6	0,07	0
TB 8	0	0,56	0	0,71

*Références  
bibliographique*

- Achouak, W., Sutra, L., Heulin, T., Meyer, J. M., Fromin, N., Degraeve, S., ... & Gardan, L. (2000).** Pseudomonas brassicacearum sp. nov. and Pseudomonas thivervalensis sp. nov., two root-associated bacteria isolated from Brassica napus and Arabidopsis thaliana. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(1), 9-18.
- Ahmed B, Zaidi A, Khan MS, Rizvi A, Saif S, Shahid M.** Perspectives of plant growth promoting rhizobacteria in growth enhancement and sustainable production of tomato. *Microbial strategies for vegetable production*: Springer; 2017. p. 125–49.
- Alabouvette C (1983).** La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires. Rôle de la compétition nutritive entre microorganismes. Thèse dr es sci nat, univ Nancy, 158 p.
- Alabouvette, C., Lemanceau, P. and Steinberg, C. 1993.** Recent advances in the biological control of Fusarium Wilt. *pestic. Sci.* 37 : 365-373.
- Al-Ali, A., Deravel, J., Krier, F., Béchet, M., Ongena, M., & Jacques, P. (2018).** Biofilm formation is determinant in tomato rhizosphere colonization by Bacillus velezensis FZB42. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(30), 29910-29920.
- Ali, S. Z., Sandhya, V., Grover, M., Kishore, N., Rao, L. V., & Venkateswarlu, B. (2009).** Pseudomonas sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. *Biology and Fertility of Soils*, 46(1), 45-55.
- Amkraz, N., Boudyach, E. H., Boubaker, H., Bouizgarne, B., & Ait Ben Aoumar, A. (2010).** Screening for fluorescent pseudomonades, isolated from the rhizosphere of tomato, for antagonistic activity toward Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(6), 1059-1065.
- Anderson, J. A., Staley, J., Challender, M., & Heuton, J. (2018).** Safety of Pseudomonas chlororaphis as a gene source for genetically modified crops. *Transgenic research*, 27(1), 103-113.
- Anzai, Y., Kim, H., Park, J.Y., Wakabayashi, H., and Oyaizu, H. (2000).** Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *Int J Syst Evol Microbiol* 50 Pt 4: 1563-1589.
- Aparna, A., Srinikethan, G., & Smitha, H. (2012).** Production and characterization of biosurfactant produced by a novel Pseudomonas sp. 2B. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 95, 23-29.
- Arar A., (1975).** Soils, irrigation and drainage of the date palm. 3<sup>rd</sup> FAO Tech. Conf. on Imp. Date Production Processing and marketing, Paper n°. A.3.
- Askeland, R. A. and Morrison, S. M., (1983).** Cyanide production by Pseudomonas fluorescens and Pseudomonas aeruginosa. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 1802-1807.

- Avril, J. M., Dabernat, H., et Monteil, D. H. (2000).** Bactériologie clinique. 3<sup>ème</sup> Ed. Ed Ellepses. Paris. 602 P.
- Bakker A.W. and Schippers, B. (1987).** Microbial Cyanide Production in the Rhizosphere in Relation to Potato Yield Reduction and Pseudomonas SPP-Mediated Plant Growth-Stimulation. *Soil Biology and Biochemistry*, 19, 451-457.
- Becher, G., Knize, M. G., Nes, I. F., & Felton, J. S. (1988).** Isolation and identification of mutagens from a fried Norwegian meat product. *Carcinogenesis*, 9(2), 247-253.
- Ben Abdallah A. (1990).** La phoeniciculture. Options méditerranéennes, Sér. A/N°11,105-120.
- Ben Chennouf A.(1978).** le palmier dattier.Station expérimentale de AinBenNaoui.Biskra.
- Benchabane, M., Bakour, R., Toua, D., & Boutekrabt, A. (2000).** Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate. *EPPO Bulletin*, 30(2), 243-246.
- Benchabane, M., Toua, D., & Bensaid, F. (2011).** Action des *Pseudomonas* spp.Fluorescents dans la modulation · de la réceptivité du sol à *Fusarium oxysporum*. *Agrobiologia*, 01(02), 34-36.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, 35, 1044-1051.
- Benkhalifa A., 2007.** Les ressources génétiques phoenicicole. Atelier National sur le Palmier Dattier et Bayoud : préservation et valorisation. INRAA. Alger.
- Beset-Manzoni, Y., Rieusset, L., Joly, P., Comte, G., & Prigent-Combaret, C. (2018).** Exploiting rhizosphere microbial cooperation for developing sustainable agriculture strategies. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(30), 29953-29970.
- Bharucha, U., Patel, K., & Trivedi, U. B. (2013).** Optimization of indole acetic acid production by *Pseudomonas putida* UB1 and its effect as plant growth-promoting rhizobacteria on mustard (*Brassica nigra*). *Agricultural research*, 2(3), 215-221.
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327-1350.
- Bigat, B., & Bulit, J. (1967).** *L'emploi du Greffage pour combattre le Fletrissement bactérien de la Tomate aux Antilles françaises* (No. 2031-2017-4755).
- Boronin, A.M., (1993).** Growth promotion of black current soft wood cuttings by recombinant strain *Pseudomonas fluorescens* BSP53a synthesizing an increased amount of indole-3-acetic acid. *Soil biology and soil biochemistry* 25, 1277-1281.

- Bossis, E. (1995).** *Les Pseudomonas fluorescents de la rhizosphère: étude taxonomique et effets sur la croissance de la tomate et du maïs, de la germination à la levée* (Doctoral dissertation, Nantes).
- Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L., (2000).** The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie* .20: 51-63.
- Boudyach, E. H., Fatmi, M., Boubaker, H., Aoumar, A. A. B., & Akhayat, O. (2004).** Effectiveness of fluorescent *pseudomonads* strains HF 22 and HF 142 to control bacterial canker of tomato. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 2(3), 115-120.
- Bouguedoura N., 1979 -** Contribution à la connaissance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Etude des productions axillaires. Thèse de 3<sup>ème</sup> cycle, Université des Sciences et de la Technologie d'Alger, Alger, 64 p.
- Bouguedoura N., 1982 -** Development and distribution of axillary buds in (*Phoenix dactylifera* L.). The first symposium on the date palm, King Faisal University. Al Hassa, Saudi Arabia. 23-25 Mars.
- Bouguedoura N., 1991 -** Connaissance de la morphogenèse du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Etude *in situ* et *in vitro* du développement morphogénétique des appareils végétatifs et reproducteurs. Thèse de doctorat d'état, USTHB, Alger.201p.
- Bouguedoura, N., Bennaceur, M., Babahani, S., & Benziouche, S. E. (2015).** Date palm status and perspective in Algeria. In *Date palm genetic resources and utilization* (pp. 125- 168). Springer, Dordrecht.
- Bounaga N. et Djerbi M., 1990 –** Pathologie du palmier dattier. Options méditerranéennes. Sér. A. N° 11, Pp 127 – 132.
- Calcat, A. (1961).** Cours d'agriculture saharienne Phoeniculture Ministère d'Etat-Sahara-Départements et Territoire d'Outre-Mer.
- Cattelan, A. J., Hartel, P. G., & Fuhrmann, J. J. (1999).** Screening for plant growth–promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal*, 63(6), 1670-1680.
- Chabane, D., Bouguedoura, N., & Assani, A. (2010, March).** Importance of protoplast culture in the genetic improvement of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). In *IV International Date Palm Conference 882* (pp. 185-192).
- Chelli A., (1996).** Etude bioécologique de la cochenille blanche du palmier dattier *Parlatoria blanchardi* Targ (Hom. Diaspididae) à Biskra et ses ennemis naturels. *Mémoire Ing. INA. El-Harrach, 101p.*

- Chapalain, A., Rossignol, G., Lesouhaitier, O., Merieau, A., Gruffaz, C., Guerillon, J., ... & Feuilloley, M. G. J. (2008).** Comparative study of 7 fluorescent pseudomonad clinical isolates. *Canadian journal of microbiology*, 54(1), 19-27.
- Chiesa F, Lomonaco S, Nucera D, Garoglio D, Dalmasso A, Civera T.** Distribution of *Pseudomonas* Species in a Dairy Plant Affected by Occasional Blue Discoloration. *Ital J Food Saf.* 2014 Dec 10;3(4):1722.
- Christensen, G. D., Simpson, W. A., Bisno, A. L., & Beachey, E. H. (1982).** Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infection and immunity*, 37(1), 318-326.
- Corbaz R. (1990).** Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. 1ère édition. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.
- Corke, A. (1975).** Biological Control of Plant Pathogens. By Kenneth F. Baker and R. James Cook. San Francisco: Freeman (1974), pp. 433,. *Experimental Agriculture*, 11(2), 159-159.
- Costerton, J W, Cheng, K J, Geesey, G G, Ladd, T I, Nickel, J C, Dasgupta, M, & Marrie, T J. (1987).** Bacterial Biofilms in Nature and Disease. *Annual Review of Microbiology*, 41(1), 435–464.
- David, B. V., Chandrasehar, G., & Selvam, P. N. (2018).** *Pseudomonas fluorescens*: a plant-growth-promoting rhizobacterium (PGPR) with potential role in biocontrol of pests of crops. In *Crop improvement through microbial biotechnology* (pp. 221-243). Elsevier.
- Delorme, S., Lemanceau, P., Christen, R., Corberand, T., Meyer, J. M., & Gardan, L. (2002).** *Pseudomonas lini* sp. nov., a novel species from bulk and rhizospheric soils. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(2), 513-523.
- Devi KK, Kothamasi D (2009).** *Pseudomonas fluorescens* CHA0 can kill subterranean termite *Odontotermes obesus* by inhibiting cytochrome c oxidase of the termite respiratory chain. *FEMS Microbiol Lett* 300:195–200.
- Digat, B., & Gardan, L. (1987).** Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *P. putida* 1. *EPPO Bulletin*, 17(4), 559-568.
- Digat, B. (1992).** La bactérisation des substrats en horticulture et maraîchage. *Der Gartenbau*, (20), p-821
- Djerbi, M. (1982).** Bayoud disease in North Africa [date palms, fungus disease]: history, distribution, diagnosis and control. *Date palm journal*.
- Djerbi, M., A. El-Ghorfi, and Ammari El-Idrissi.(1985).** "Etude du comportement du henné *Lawsonia inermis* et de la luzerne *Medicago sativa* et quelques espèces de palmacées vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal du bayoudh." *Annales de l'Institute*

*National de la Recherche Agronomique de Tunisie*. 58.1 : 1-11.

**Djerbi M.**, 1988 – Les maladies du palmier dattier. Ed. FAO. Rome, 127 p.

**Djebri M.**, 1992 : *Précis de phoeniciculture* F.A.O. Rome, 191 p.

**Djordjevic, D., Wiedmann, M., & McLandsborough, L. A. (2002)**. Microtiter plate assay for assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation. *Applied and environmental microbiology*, 68(6), 2950-2958.

**Domergue, Odile. (2017)**. Diversité fonctionnelle des rhizobia associés à la féverole en agro-écosystème Sud de France.

**Douadi A.**, 1996 : Evaluation de la variabilité intra et inter cultivars du palmier dattier dans les régions de Ouargla, Oued Righ et Souf. Mémoire d'ing. agr., INFS/AS. Ouargla, 99 p.

Dubeikovskiy, A.N., Mordukhova, E.A., Kochethov, V.V., Polikarpova, F.Y.,

**Dubost D.**, 1972 : Le Bayoud en Algérie - Histoire et pronostics *Revue de la recherche agronomique* n°01, I.N.R.A.A. pp. 33- 39.

**Dutta S., Podile AR. (2010)**. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): the bugs to debug the root zone. *Crit. Rev. Microbiol.* 36: 232-244.

**Ellis, R. J., T. M., Timms, W and Bailey, M. J. (2000)**. Identification of conserved traits in fluorescent *Pseudomonads* with antifungal activity. *Environ. Microbiol.* 2:274- 28.

**Elomari, M., Coroler, L., Verhille, S., Izard, D., & Leclerc, H. (1997)**. *Pseudomonas monteillii* sp. nov., isolated from clinical specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(3), 846-852.

**Euzéby, J.P. (2008)**. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. URL <http://www.bacterio.cict.fr/>

**Filloux, A., & Vallet, I. (2003)**. Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne Biofilm : positioning and organisation of bacterial communities. *Medecine/Sciences*, 19, 77-83.

**Freeman, D. J., Falkiner, F. R., & Keane, C. T. (1989)**. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of clinical pathology*, 42(8), 872-874.

**Ganesan P, Gnanamanickam SS (1987)**. Biological control of *Sclerotium rolfsii* Sacc. in peanut by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol Biochem* 19:35–39.

**Gardan, L. and Luisetti, G. 1981**. Methods for the isolation and identification of phytopathogenic bacteria. Pathologie. INRA. Anger 32P.

**Gilardi, G. L. (2020)**. Identification of *Pseudomonas* and related bacteria. In *Glucose nonfermenting gram-negative bacteria in clinical microbiology* (pp. 15-44). CRC press.

**Girard, 1962** : *Note sur le palmier dattier*. C.F.P.A. de Touggourt, 133 p.

- Greiner D., 1998.** Le marché de la datte, produit de rente des oasis : enjeux, diversité, tensions. Numéro spécial oasis. Sécheresse. 9 (2), 155 – 162.
- Grisvard P., Chaudun V., Chouard P. et Guillaumin.** Le bon jardinier, Encyclopédie Horticole. La maison rustique, paris, (1964), No6, p1410.
- Haas D, Galimand M, Gamper M, Zimmermann A (1990).** Arginine network of *Pseudomonas aeruginosa*: Specific and global controls. In : *Pseudomonas Biotransformations, Pathogenesis, and Evolving Biotechnology* (S Silver, AM Chakrabarty, B Iglewski, S Kaplan, eds), Am Soc Microbiol, Washington, DC, 303-313.
- Haas, G. R., & McPhail, J. D. (1991).** Systematics and distributions of Dolly Varden (*Salvelinus malma*) and bull trout (*Salvelinus confluentus*) in North America. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(11), 2191-2211.
- Haas D., et Défago G., (1992).** Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0- importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 5: 4-13.
- Haas, D., et G. Defago. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 307-319.
- Hashimoto Y (2002).** Study of the bacteria pathogenic for aphids, isolation of bacteria and identification of insecticidal compound. *Rep Hokkaido Prefect Agric Exp Sta* 102:1–48
- Hassan, A., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A., & Iqbal, M. (2011).** Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Brazilian journal of infectious diseases*, 15, 305-311.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, L (2010).** Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann. Microbiol* 60: 579-598
- Hildebrand, DC., Schroth, MN., Sands, DC. 1988.** Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria. Pp.60-81. In: *Pseudomonas* (NWSchaad, ed). *The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.*
- Helluy, Simone & Holmes, J. (2005).** Parasitic manipulation: Further considerations. *Behavioural processes*. 68. 205-10. 10.1016/j.beproc.2004.08.011.
- Hola, V., & Ruzicka, F. (2011).** The formation of poly-microbial biofilms on urinary catheters. *Urinary tract infections. InTech*, 153-72.
- Hopkins WG. (2003).** physiologie végétale. Traduction de la 2 edition américaine par SERGE R .Ed de Boeck.pp. 309-362.
- Hou, W., Sun, X., Wang, Z., & Zhang, Y. (2012).** Biofilm-forming capacity of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* from ocular

infections. *Investigative ophthalmology & visual science*, 53(9), 5624-5631.

**Howie, W. J., & Suslow, T. V. (1991).** Role of antibiotic biosynthesis in the inhibition of *Pythium ultimum* in the cotton spermosphere and rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens*. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 4, 393-399.

**Idder M. A., 1992:** Aperçu bioécologique sur *Parlatoria blanchardi* Targ.1905 (Homoptera-Diaspidinae) en palmeraies à Ouargla et utilisation de son ennemi *Pharoscymnus semiglobosus* Karsh. (Coleoptera-Coccinellidae) dans le cadre d'unessai de lutte biologique. Thèse de magister Sc. agro., Inst. nat. agro., El- Harrach,102 p.

**James Jr, D. W., & Gutterson, N. I. (1986).** Multiple antibiotics produced by *Pseudomonas fluorescens* HV37a and their differential regulation by glucose. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(5), 1183-1189.

**Jayashree K, Shanmugam V, Raguchander T, Ramanathan A, Samiyappan R (2000).** Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* (Pf-1) against black gram. *J Biol Ctrl* 14(2):55–61 **john M. Whipps**, Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere, *Journal of Experimental Botany*, Volume 52, Issue suppl\_1, March 2001, Pages 487–511.

**Johnston A. & Booth C. (1983).** Plant Pathologist's Pocketbook. 2nd Ed. Kew, Commonwealth Mycological Institute. 120p.

**Kamal, R., Gusain, Y. S., & Kumar, V. (2014).** Interaction and symbiosis of AM fungi, actinomycetes and plant growth promoting rhizobacteria with plants: strategies for the improvement of plants health and defense system. *Int J Curr Microbial Appl Sci*, 3(7), 564-585.

**Kandoliya, U. K., & Vakharia, D. N. (2013).** Antagonistic effect of *Pseudomonas fluorescens* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* causing wilt in chickpea. *Legume Res*, 36(6), 569-575.

**Kavanagh K., 2005.** *Fungi : Biology and applications*. John Wiley and Sons, England, 267p.

**Keel, C., Weller, D. M., Natsch, A., Défago, G., Cook, R. J., & Thomashow, L. (1996).** Conservation of the 2, 4-diacetylphloroglucinol biosynthesis locus among fluorescent *Pseudomonas* strains from diverse geographic locations. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(2), 552-563.

**Kennedy A.C. et de Luna L.Z. (2004).** Rhizospher. In: D. Hillel, C. Rosenzweig, D. Powlson, K. Scow, M. Singer, D. Sparks (eds.), *Encyclopedia of soil in the environment*. Vol 03. Columbia University, USA. pp 399-409.

**Kennedy, A. C. (2019).** Deleterious rhizobacteria and weed biocontrol. In *Ecological interactions and biological control* (pp. 164-177). CRC Press.

**Kerstens, I., Huys, G., Van Duffel, H., Vancanneyt, M., Kersters, K., and Verstraete, W. (1996).** Survival potential of *Aeromonas hydrophila* in freshwaters and nutrient-poor waters in

comparison with other bacteria. *J Appl Bacteriol* 80: 266-276.

**Khalilzadeh, P. (2009).** *Formation de Biofilm à Pseudomonas aeruginosa: évaluation d'inhibiteurs potentiels du quorum sensing* (Doctoral dissertation, Toulouse 3).

**khelafi hafida (2012)** progression in vitro de 7 cultures de palmier dattier(*phoenix dactilyfera L*)thèse d'obtention de diplôme de magistère école national supérieur d'agronomie

**King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954).** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 44(2), 301-307.

**Kloepper J. W. et Schroth M. N., 1978.** Plant Growth Promoting Rhizobacteria on radishes, In: Proceedings of the 4th international conference on plant pathogenic bacteria. *Angers, France*, pp. 879-882.

**Kloepper J. W., Schroth M. N. et Miller T. D.,1980.** Effects of rhizosphere colonization by Plant Growth Promoting Rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology*, 70: 1078-1082

**KloepperJW., 1992.** Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In: FB Metting Jr, ed, *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker Inc., New York, pp 255-274.

**KloepperJW., Litshitz R. et Zablutowicz R.M., 1989.** Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7:39-43.

**Knowles R (1982).** Denitrification. *Microbiol Rev* 46, 43-70

**Kridi bilal. (2011).** rôle des (PGPR) «PLANT GROUTH PROMOTING RHIZOBACTERIA» dans la croissance végétal et la lutte contre les phanérogame parasites [thèse de magistère] ;ecole national superieur de l'agronomie el harrach (ensi)

**LAKHDARI, F. (1980).** Influence de l'Irrigation goutte à goutte et par rigole sur l'évolution de la salinité dans le sol, le rendement et la qualité des dattes «Deglet-Nour». *Mémoire d'ing. agr., Inst. nat. agro., El-Harrach*.

**Landa, B. B., Hervás, A., Bettiol, W., & Jiménez-Díaz, R. M. (1997).** Antagonistic activity of Bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Ciceris*. *Phytoparasitica*, 25(4), 305-318.

**Lanteigne, C., Gadkar, V. J., Wallon, T., Novinscak, A., & Fillion, M. (2012).** Production of DAPG and HCN by *Pseudomonas* sp. LBUM300 contributes to the biological control of bacterial canker of tomato. *Phytopathology*, 102(10), 967-973.

**Laville, J., Voisard, C., Keel, C., Maurhofer, M., Defago, G., & Haas, D. (1992).** Global control in *Pseudomonas fluorescens* mediating antibiotic synthesis and suppression of black root rot of tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(5), 1562-1566.

- Lelliott R. A., Billing E., Hayward A. C. (1966).** A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic *Pseudomonas*. *J. Appl. Bacteriol.* 29: 470–489
- Lemanceau P, Alabouvette C, Couteaudier Y (1988).** Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XIV. Modification du niveau de réceptivité d'un sol résistant et d'un sol sensible aux fusarioses vasculaires en réponse à des apports de fer et de glucose. *Agronomie* 8, 155-162.
- Lemanceau, P. (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents. *Agronomie*, 12(6), 413-437.
- Lemanceau, P., Barret, M., Mazurier, S., Mondy, S., Pivato, B., Fort, T., & Vacher, C. (2017).** Plant communication with associated microbiota in the spermosphere, rhizosphere and phyllosphere. In *Advances in botanical research* (Vol. 82, pp. 101-133). Academic Press.
- Lemanceau, P., & Blouin, M. (2018).** *Les sols au coeur de la zone critique 6: Écologie* (Vol. 6). ISTE Group.
- Leong J (1986).** Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 24, 187-208
- Ligon, L. A., & Steward, O. (2000).** Role of microtubules and actin filaments in the movement of mitochondria in the axons and dendrites of cultured hippocampal neurons. *Journal of Comparative Neurology*, 427(3), 351-361.
- Lockwood JL (1981).** Exploitation competition. In: *The fungal community. Its organisation and role in the ecosystem* (DT Wicklow, GC Carrol, eds) M Dekker, Inc, 833 p
- Loper, J. E., & Buyer, J. S. (1991).** Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 4(1), 5-13.
- Loper, J. E., Hassan, K. A., Mavrodi, D. V., Davis, E. W., Lim, C. K., Shaffer, B. T., ... & Paulsen, I. T. (2012).** Comparative genomics of plant-associated *Pseudomonas* spp.: insights into diversity and inheritance of traits involved in multitrophic interactions. *PLoS genetics*, 8(7), e1002784.
- Lucy, M., Peed, E., Glick, B.R., (2004).** Applications of free living plant growthpromoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86,1---25
- Lugtenberg, B. J., Dekkers, L., & Bloemberg, G. V. (2001).** Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annual review of phytopathology*, 39(1), 461-490.
- Lugtenberg, B., et F. Kamilova. (2009).** Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63: 541-56
- Malençon G., 1934 -** La question du bayoud au Maroc. *Ann. Crypt. Exot., Paris*, 7(2),1-41.

- Mandal, L., & Kotasthane, A. S. (2014).** Isolation and assessment of plant growth promoting activity of siderophore producing *Pseudomonas fluorescens* in crops. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 7(1), 63-67.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G. M. L. M., & Mora, M. L. (2010).** Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(3), 293-319.
- Maurhofer, M., Hase, C., Meuwly, P., Metraux, J. P., & Defago, G. (1994).** Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production. *Phytopathology (USA)*.
- Meliani, S., Bouguedoura, N., & Bennaceur, M. (2016).** Études morphologique et histologique du développement de l'ovaire chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)/Morphological and histological studies of the development of the ovary in the date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 18(3), 682.
- Meraneh Daher, A. (2010).** *Détermination du sexe chez le palmier dattier: Approches histologiques et moléculaires* (Doctoral dissertation, Montpellier 2).
- Merzaia, Aicha. (2014).** Dix sept wilayas productrices de datte, une richesse inépuisable pour l'Algérie. *Le Monde des Dattes*. N° 1. 14-15.
- Meyer, (2000).** Pyoverdines: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of fluorescent *Pseudomonas* species. *Arch Microbiol*, 174: 135- 142.
- Mishagi, I. J. (1982).** The role of pathogen produced cell-wall degrading enzymes in infection and damage. *Physiology and Biochemistry of Plant Pathogen Interactions*. Plenum Press, New York and London.
- Mohd, A. (2014).** *novel strain of Pseudomonas fluorescens WSI Forms biofilm on root surface and enhances growth of wheat plant*.
- Moll, H., Johnsson, A., Schäfer, M., Pedersen, K., Budzikiewicz, H., & Bernhard, G. (2008).** Curium (III) complexation with pyoverdins secreted by a groundwater strain of *Pseudomonas fluorescens*. *Biometals*, 21(2), 219-2
- Mulet, X., Cabot, G., Ocampo-Sosa, A. A., Domínguez, M. A., Zamorano, L., Juan, C., ... & Oliver, A. (2013).** Biological markers of *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(11), 5527-5535.
- Munier, P. (1973).** The date palm. *Techniques Agricoles et Productions Tropicales*, (24).
- Musk, D. J., Banko, D. A., & Hergenrother, P. J. (2005).** Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry & biology*, 12(7), 789-796.

- Neilands JB (1973).** Microbial iron transport compounds (siderochromes). In: Inorganic biochemistry (GL Eichorn) Elsevier, Amsterdam, 167-202
- Nijkamp, K., Westerhof, R. G., Ballerstedt, H., De Bont, J. A., & Wery, J. (2007).** Optimization of the solvent-tolerant *Pseudomonas putida* S12 as host for the production of p-coumarate from glucose. *Applied microbiology and biotechnology*, 74(3), 617-624.
- Ongena, S., & Smith, D. C. (2000).** What determines the number of bank relationships? Cross-country evidence. *Journal of Financial intermediation*, 9(1), 26-56.
- O'sullivant, D.J. And O'gara, F., (1992).** Traits of Fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in Suppression of Plant Root Pathogens, *Microbiological Reviews*, Vol. 56, No. 4 : 662-676
- Otsu, Y., Matsuda, Y., Mori, H., Ueki, H., Nakajima, T., Fujiwara, K., ... & Toyoda, H. (2004).** Stable phylloplane colonization by entomopathogenic bacterium *Pseudomonas fluorescens* KPM-018P and biological control of phytophagous ladybird beetles *Epilachna vigintioctopunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Biocontrol Science and Technology*, 14(5), 427-439.
- Ouennoughi M. et Dubost D. (2005).** Le voyage forcé des dattiers en Nouvelle- Calédonie, *sécheresse*, vol, 16, N°4.
- Ouserir, S., Chennaoui, N., & Benchabane, M. (2018).** Bacterisation effects by *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizobium fabae* on nodulation stimulation and growth of bean (*Vicia faba* L. var. Hista). *AgroBiologia*, 8(1), 775-785.
- Palleroni NJ (1984).** Gram-negative aerobic rods and cocci: family I Pseudomonadaceae. In : *Bergey's Manual of Bacteriology* (NR Krieg, JG Holt, eds), William & Wilkins, Baltimore, 1, 141-199.
- Palleroni, N, (1986).** *Pseudomonas* bergey's of systematic Bacteriology. Krieg, N.R. and Hot.G.(editors) Baltimore: the Williams Co : 141-199.
- Palleroni, N.J., Johnson, J. L. (1989).** Deoxyribonucleic acid similarities among *Pseudomonas* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 39(3), 230-235.
- Palleroni, N. J. (1993).** *Pseudomonas* classification. *Antonie van Leeuwenhoek*, 64(3), 231-251.
- Palleroni, A., Hauser, M., & Marler, P. (2005).** Do responses of galliform birds vary adaptively with predator size?. *Animal Cognition*, 8(3), 200-210.
- Palleroni, N. J., & Moore, D. P. E. (2010).** 12 Microbiology of Hydrocarbon-Degrading *Pseudomonas*.

- Pandey Deepak and Chayanika putatunda.(2018).** Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of potato plant . International Journal of Current Microbiology and Applied Science ;7(1) :968.
- Panpatte, D. G., Jhala, Y. K., Shelat, H. N., & Vyas, R. V. (2016).** *Pseudomonas fluorescens*: a promising biocontrol agent and PGPR for sustainable agriculture. In *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity* (pp. 257-270). Springer, New Delhi.
- Pathak, D. V., Kumar, M., & Rani, K. (2017).** Biofertilizer application in horticultural crops. In *Microorganisms for Green Revolution* (pp. 215-227). Springer, Singapore.
- Pathak, D., Lone, R., & Koul, K. K. (2017).** Arbuscular Mycorrhizal fungi (AMF) and plant growth-promoting Rhizobacteria (PGPR) Association in Potato (*Solanum tuberosum* L.): A brief Review. *Probiotics and plant health*, 401-420.
- Peix, A., Ramírez-Bahena, M. H., & Velázquez, E. (2018).** The current status on the taxonomy of *Pseudomonas* revisited: an update. *Infection, Genetics and Evolution*, 57, 106-116.
- Peyron G.,** 2000 – Cultiver le palmier dattier. Guide illustré de formation. Ed. La librairie du Cirad Montpellier, France, 109p.
- Pintaud J.C; Zehdi S; Couvreur T; Barrow S; Henderson S; Aberlenc-Bertossi F; Pratiksha Singh, Rajesh Kumar Singh, Yan Zhou, Jing Wang, Yu Jiang, Naikun Shen, Yibing Wang, Lifang Yang & Mingguo Jiang (2022).** Unlocking the strength of plant growth promoting *Pseudomonas* in improving crop productivity in normal and challenging environments: a review, *Journal of Plant Interactions*, 17:1, 220-238.
- Raaijmakers, J. M., Weller, D. M., & Thomashow, L. S. (1997).** Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. in natural environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(3), 881-887.
- Raaijmakers J.M., Vlami M., et De Souza J.T., (2002).** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81 : 537- 547.
- Rajwar, A., & Sahgal, M. (2016).** Phylogenetic relationships of fluorescent pseudomonads deduced from the sequence analysis of 16S rRNA, *Pseudomonas*-specific and *rpoD* genes. *3 Biotech*, 6(1), 1-10.
- Raupach, G.S., Kloepper, J.W., (1998).** Mixtures of plant growth promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* **88**, 1158-1164
- Rehm Bernd H.A., (2008).** *Pseudomonas*. Model Organism, Pathogen, Cell Factory. Edited by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. P: 144.

- Rewatkar, A. R., & Wadher, B. J. (2013).** *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilm formation Methods. *J Pharm Biol Sci*, 8(5), 36-40.
- Rieusset, L., Rey, M., Muller, D., Vacheron, J., Gerin, F., Dubost, A., ... & Prigent-Combaret, C. (2020).** Secondary metabolites from plant-associated *Pseudomonas* are overproduced in biofilm. *Microbial biotechnology*, 13(5), 1562-1580.
- Ringel, M. T., & Brüser, T. (2018).** The biosynthesis of pyoverdines. *Microbial cell*, 5(10), 424.
- Ritika, B., & Utpal, D. (2014).** Biofertilizer, a way towards organic agriculture: A review. *African Journal of Microbiology Research*, 8(24), 2332-2343.
- Rosales, A. M., Thomashow, L., Cook, R. J., & Mew, T. W. (1995).** Isolation and identification of antifungal metabolites produced by rice-associated antagonistic *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 85(9), 1028-1032.
- Rossignol, G. (2007).** Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de *Pseudomonas fluorescens*: activité hémolytique et variation phénotypique (Doctoral dissertation, Université de Rouen).
- Ryo I, Kentaro S, Hideo Na, Han-Young, L, Takayuki M, Isamu, Y, Tohru, T, and Tsutomu, A. (2005),** "Foliar Spray of Validamycin A or Validoxylamine A Controls Tomato Fusarium Wilt", biochemistry and cell biology. Vol. 95, No. 10, 1209-1216p. Sac synder and H.N, Hans", PP728 Soilborne Plant Pathogen Class Project, Spring.
- Ryu, R. J., & Patten, C. L. (2008).** Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Journal of bacteriology*, 190(21), 7200-7208.
- Sagar, A., Dhusiya, K., Shukla, P. K., Singh, A., Lawrence, R., & Ramteke, P. W. (2018).** Comparative analysis of production of hydrogen cyanide (HCN) with production of siderophore (SD) and phosphate solubilization (PS) activity in plant growth promoting bacteria (PGPB). *Vegetos*, 31(2), 130-135.
- Salamone J.D, Correa M, Mingote S.M, Weber S.M. (2005).** Beyond the reward hypothesis: alternative functions of nucleus accumbens dopamine. *Current Opinion in Pharmacology*. ;5:34–41.
- Sands, D. C., Gleason, F. H., & Hildebrand, D. C. (1967).** Cytochromes of *Pseudomonas syringae*. *Journal of Bacteriology*, 94(5), 1785-1786.
- Saritha, B., Panneerselvam, P., & Ganeshamurthy, A. N. (2015).** Antagonistic potential of mycorrhiza associated *Pseudomonas putida* against soil borne fungal pathogens. *Plant Archives*, 15(2), 763-768.

- Sedra My H. 2003.** Le Bayoud du Palmier dattier en Afrique du Nord. FAO. Tunis. 125p.
- Seaton, S. C., & Silby, M. W. (2014).** Genetics and functional genomics of the *Pseudomonas fluorescens* Group. In *Genomics of Plant-Associated Bacteria* (pp. 99-125). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Shaikh, S. S., & Sayyed, R. Z. (2015).** Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their formulation in biocontrol of plant diseases. In *Plant microbes symbiosis: Applied facets* (pp. 337-351). Springer, New Delhi.
- Sharma, A., Diwevidi, V. D., Singh, S., Pawar, K. K., Jerman, M., Singh, L. B., ... & Srivastawav, D. (2013).** Biological control and its important in agriculture. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*, 4(3), 175-180.
- Silini, A., 2012.** *Effets des molécules osmoprotectrices sur la survie et l'activité des azotobacters et sur la croissance du blé dur en milieu salin.* Doctorat en science microbiologique. Ferhat abbas sétif.
- Sindhu, S. S., Phour, M., Choudhary, S. R., & Chaudhary, D. (2014).** Phosphorus cycling: prospects of using rhizosphere microorganisms for improving phosphorus nutrition of plants. In *Geomicrobiology and biogeochemistry* (pp. 199-237). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Souza, R. de, Ambrosini, A. et Passaglia, L.M.P., (2015).** Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. In : Genetics and Molecular Biology. 2015. Vol. 38, p. 401 – 419.
- Stanier, R. Y., Palleroni, N. J. & Doudoroff, M. (1966).** The aerobic pseudomonads: a taxonomic study. *J Gen Microbiol* 43, 159–271.
- Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., & Švabić-Vlahović, M. (2000).** A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of microbiological methods*, 40(2), 175-179.
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G. D., Djukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. (2007).** Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *Apmis*, 115(8), 891-899.
- Suleman Sumera Yasmin , Maria Rasul, Mahreen Yahya, Babar Manzoor Atta, Muhammad Sajjad Mirza.(2018).** Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat, *Plos One* ;13(9) :10-11.
- Suslow, T. V., M. N. Schroth and M. Isaka. 1982.** Application of rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathology*, 72:917- 918.

- Swati, R. T., & Preeti, T. (2015).** In vitro antagonistic activity of *Pseudomonas* spp. against *Rhizoctonia solani*. *African Journal of Microbiology Research*, 9(25), 1622-1628.
- Taj, Y., Essa, F., Aziz, F., & Kazmi, S. U. (2012).** Study on biofilm-forming properties of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 6(05), 403-409.
- Tajini F., Bouali Y. et Ouerghi A.,** Etude de la qualité nutritionnelle de fruit de Phoenix dactylifera L. : mesure des paramètres biochimiques, *Revue Nature et Technologie*, 12 (2) (2020) : 39-49. <https://www.asjp.cerist.dz/en/Articles/47>.
- Terki, I. K., Hassaine, H., Bellifa, S., M'hammedi, I., Lachachi, M., & Didi, W. (2014).** O-01: Détection des gènes ica A et ica D et production de biofilm par les staphylocoques isolées de cathéter urinaire au centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Algérie). *Médecine et Maladies Infectieuses*, 44(6), 78.
- Thornley MJ (1960).** The differentiation of *Pseudomonas* from other gram-negative bacteria on the basis of arginine metabolism. *J Appl Bacteriol* 23, 37-52.
- Tirichine M., 2003.** Etude relative à l'élaboration de directives phytosanitaires pour le déplacement du germoplasme certifié du palmier dattier. Magreb Date Palm Project (RAB98/G31). 37 p.
- Toutain G., 1977 -** Le palmier dattier, culture et production. *AL Awamia* . 25(4): 23- 151.
- Toutain G., 1979 -** Eléments d'Agronomie saharienne. INRA ed, 273p.
- Uhl N. W. et Dransfield J., 1987.** Genera Palmarum: A classification of Palms based on the Work of Harold E. Moore, Jr. Allen Press, 610 p.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Validov, S., Kamilova, F., Qi, S., Stephan, D., Wang, J. J., Makarova, N., & Lugtenberg, B. (2007).** Selection of bacteria able to control *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in stonewool substrate. *Journal of applied microbiology*, 102(2), 461-471.
- Validov, S., Mavrodi, O., La Fuente, L. D., Boronin, A., Weller, D., Thomashow, L., & Mavrodi, D. (2005).** Antagonistic activity among 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. *FEMS microbiology letters*, 242(2), 249-256.
- Van Der Heijden, M. G., & Horton, T. R. (2009).** Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. *Journal of ecology*, 97(6), 1139-1150.
- Van Loon, L.C. (2007).** Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 243-254.

- Velmourougane, K., Prasanna, R., & Saxena, A. K. (2017).** Agriculturally important microbial biofilms: present status and future prospects. *Journal of basic microbiology*, 57(7), 548-573.
- Venturi, V., & Ahmer, B. M. (2015).** LuxR solos are becoming major players in cell–cell communication in bacteria. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5, 89.
- Vincent M.N., Harrison L.A., Brackin J.M., Kovacevich P.A., Mukerji P. and Weller D.M. (1991).** Genetic analysis of the antifungal activity of a soil borne *Pseudomonas aureofaciens* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 2928–2934.
- Viswanathan, R., & Samiyappan, R. (2004).** Production of secondary metabolites by strains of *Pseudomonas* spp. antagonistic to *Colletotrichum falcatum* causing red rot disease in sugarcane. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 39(1-3), 29-38.
- Wang, S.L., Hsiao, W.J., Chang, W.T. 2002.** Purification and characterization of an antimicrobial chitinase extracellularly produced by *Monascus purpureus* CCR31499 in a shrimp and crab shell powder medium. *J. Agric. Food. Chem.*, 50, pp.2249-2255.
- Wei, H.-L. and L.-Q. Zhang, (2006).** *Quorum-sensing system influences root colonization and biological control ability in Pseudomonas fluorescens 2P24.* *Antonie van Leeuwenhoek.* 89(2): p. 267-280..
- Weller, D. M., & Cook, R. J. (1983).** Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology*, 73(3), 463-469.
- Weller DM, Raaijmakers JM, Gardener BBM, Thomashow LS (2002).** Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 40:309–348.
- WERTH E. 1933.** Zur Kultur der dattel palme und die frageihrer. *Herkunft. Ber.Deutsch. Bot. Ger.* 51:10.
- Whipps, J. M. (2001).** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of experimental Botany*, 52(suppl\_1), 487-511.
- Wood WA (1955).** Pathways of carbohydrate degradation in *Pseudomonas fluorescens*. *Bacteriol Rev* 19, 222-233.
- Yamamoto, S., Kasai, H., Arnold, D. L., Jackson, R. W., Vivian, A., & Harayama, S. (2000).** Phylogeny of the genus *Pseudomonas*: intrageneric structure reconstructed from the nucleotide sequences of *gyrB* and *rpoD* genes The GenBank accession numbers for the sequences determined in this work are: *gyrB*, D37926, D37297, D86005–D86019 and AB039381–AB039492; *rpoD*, D86020–D86036 and AB039493–AB039624. *Microbiology*, 146(10), 2385-2394.

**Zaid A., De Wet P. F., Djerbi M. et Oihabi A., 2002.** Date palm cultivation, Chapter XII: Diseases and pests of date palm. FAO, Plant Production and Protection Papers, 156Rev.1. Rome, 110p.

**Zhuang, L., Li, Y., Wang, Z., Yu, Y., Zhang, N., Yang, C., ... & Wang, Q. (2021).** Synthetic community with six *Pseudomonas* strains screened from garlic rhizosphere microbiome promotes plant growth. *Microbial biotechnology*, 14(2), 488-502.

**Zohary D., SPIEGEL ROR P. 1975.** Beginning of fruit growing in the old world. *Sciences*, 187: 319 – 32.

**Zohary D., HOPF N. 1988.** Fruits trees and nuts in domestication of plants in the old world. *Oxford Soc. Publications*. 146 – 149.