

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1

Université Blida 1



كلية العلوم الطبيعية و الحياة

Faculté de sciences de la nature et de la vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire

En vue L'obtention du Diplôme de Master en biologie

Option : Microbiologie

Thème

**Caractérisation biochimique et physiologique des bactéries
rhizosphériques du palmier dattier**

Soutenu le : 11/09/2022

Présenté par :

- Kessoum Manel

- Otsmane Amel

- Tchitcha sarah

Devant le jury composé de :

Mme SAIDI F.	Professeur	USDB1	Présidente
Mme LOUNACI L.	M.C.B	USDB1	Examinatrice
Mme TAFIFET L.	M.C.B	USDB1	Promotrice

Année universitaire 2021 /2022

Remerciements

Avant tout on remercie dieu tout puissant de nous avoir donné le privilège, la chance d'étudier et de nous avoir donné force, courage, et patience pour accomplir ce travail.

Sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.

*Un remerciement spécial pour notre promotrice **Mme TAFIFET Lamia** qui nous a beaucoup aidé et retenue le long de la rédaction de ce mémoire et qui nous a orienté avec ses conseils et surtout merci pour sa patience. Merci pour votre gentillesse, vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, soyez rassurée de notre profonde gratitude et notre respectueuse considération vos qualités scientifiques resteront à jamais pour nous l'exemple.*

*On remercie chaleureusement les jurys **Mme SAIDI F** et **Mme LOUNACI L** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire On la remercie pour sa compréhension. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.*

*Je ne pourrai qu'exprimer un infini remerciement plein de gratitude, à tous les membres du laboratoire surtout à chef de laboratoire **Mme Selma** et notre enseignante **Mme AIT SAADI Nacera** qui ont participé à la réalisation de ce travail. J'exprime ma profonde reconnaissance qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance*

On remercie également de tous nos cœurs tous les enseignants qui ont contribué à notre apprentissage depuis notre jeune âge à ce jour, et on leur adresse nos sentiments respectueusement reconnaissant surtout le savoir qu'ils nous ont prodigués.

Enfin on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou loin à l'aboutissement de ce modeste travail.

Encore une fois de plus merci.

Dédicaces

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu de m'avoir donné le courage et la patience afin de réaliser ce modeste travail

Que je dédie à :

*A **mes chers parents** pour leur soutien, leur aide, et leur sacrifice et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer. Qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance, ma gratitude et tout mon amour.*

*A mes frères et ma sœur : **Mohamed et Ikram et Abdelkader** à qui je souhaite beaucoup de réussite et de bonheur*

A toute ma famille

*A mes chères cousines : **Sara, Nacera, Selma, Hanane** A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite*

*A Mes trinôme **Amel et Sarah**, pour son soutien, sa patience*

*A tous mes meilleur(e)s amis (es) : **Widad , Imane ,Habiba , Ibtissem , Bessma** En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de réussite, bonheur, santé et de prospérité.*

Manel

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

*A l'être le plus chère de ma vie **ma mère**, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite et qui n'a jamais cessée de formuler des prières pour mon égard.*

*A **mon père**, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'accordé*

*A **mon chère frère Ahmed**, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

*A mes chères copines «**Imene ,Besma ,Ibtissem, Habiba et Manar** » pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

*A Mes trinôme **Manel et Sarah**, pour son soutien, sa patience*

A tous ceux dont l'amitié sincère mes agréable

A toute ma famille du plus grand au plus petit

A tous nos professeurs qui nous enseigner et a tous ceux qui nous sont chers.

Amel

Dédicaces

Mes dédicaces vont d'abord et avant tous à mes chers parents

*A toi mon père **Youcef**, Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es.*

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

*Pour toi Maman **Farah**, car tu es partie. toi qui as fait de moi ce que je suis, qui m'a toujours soutenu.*

Tu m'as donné la tendresse et le courage pour réussir . Je t'offre ce modeste travail pour te remercie et soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir malgré J'aurais vraiment voulu que tu sois avec moi pour compléter ma joie , (que dieu l'accueil dans son vaste paradis).

*A mes chères sœurs **Nawel, Mimi, Chiamaa** et la petite **Ritadje***

*Et mes frères **Outhmane** et **Hamza** dont le soutien indéfectible à mon égard, à constituer pour moi une source de motivation supplémentaire .*

*A mes cousines **MIMI, Nihad, Amira** et **Aicha** je vous souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.*

*A mes meilleures amies **Ibtissam, Imene, habiba** et **Besma** qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussites.*

*A mes trinôme **Amel** et **Manel** qui ont sacrifiés et ont donnés tous son possible pour la réalisation de ce travail, durant lequel j'ai partagé des moments très agréables, à qui je souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussites.*

A mes chères tantes, merci pour votre soutien et encouragements et l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

A tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Sarah

Résumé

L'objectif de cette étude est l'isolement et la caractérisation biochimique, physiologique et enzymatique des bactéries non fluorescentes à partir de sol rhizosphérique de cultivars de palmier dattier dans la région de Taghit. L'isolement par la méthode de suspensions-dilutions a permis d'obtenir différents caractères morphologiques, parmi lesquels, 30 isolats bactériens non fluorescents ont été sélectionnés par le test de fluorescence sur le milieu de culture King B.

La caractérisation phénotypique et biochimique des isolats a montré une variété des souches isolées. Les résultats obtenus nous ont orientés vers 8 genres différents. Parmi ces souches on a 26% souches qui représentent le genre *Azotobacter*, 10% souches qui appartiennent au genre *Agrobacterium*, 10% souches qui appartiennent au genre *Chromobacterium* et 10% souches sont des *Rhizobia*, 27% souches appartenant au genre *Bacillus* et 7% souches qui représentent le genre *Azospirillum*, 7% souches de *Burkholderia* et 3% souche qui appartiennent à l'espèce *Arthrobacter cumminsii*. L'évaluation du potentiel PGPR des bactéries a montré que plusieurs souches sont capables de produire l'acide indole acétique, et HCN, l'ammoniac et la solubilisation du phosphate. Les 30 isolats ont la capacité de formation de biofilm significatif qualitativement et quantitativement par la méthode des eppendorfs après 20 h d'incubation la lecture de la densité optique (DO) de la phase du biofilm chez les bactéries identifiées probablement en tant qu'espèces *Bacillus sp.*, *Chromobacterium sp.* hyper productrice du biofilm à DO 2.5. Toutefois, les bactéries *Agrobacterium sp.* et *Azotobacter sp.* se sont révélées faiblement productrices du biofilm à DO 0.5.

Le test de l'antagonisme *in vitro* de 16 souches parmi la collection présentant la plus forte production de biofilm a été réalisée sur deux souches pathogènes : une clinique humaine *Escherichia coli* et l'autre phytopathogène *Agrobacterium tumefaciens* C58. Les résultats ont montré que 5 souches ont une forte activité antagoniste qui sont *Bacillus*, *Azotobacter sp.* et *Chromobacterium* présentant contre les bactéries pathogènes avec des diamètres des zones d'inhibition importants qui varient entre 2 mm. En revanche, les bactéries *Burkholderia sp.*, *Rhizobia sp.*, *Agrobacterium sp.* ne présentent aucun effet antibactérien.

Mots clés : PGPR, bactéries, caractérisation, biofilm, antagonisme, HCN

Abstract

The objective of this study is the isolation and biochemical, physiological and enzymatic characterization of non-fluorescent bacteria from rhizospheric soil of date palm cultivars in the Taghit region. Isolation by the suspension-dilution method made it possible to obtain various morphological characters, among which, 30 non-fluorescent bacterial isolates were selected by the fluorescence test on King B culture medium.

The phenotypic and biochemical characterization of the isolates showed a variety of strains isolated. The results obtained directed us towards 8 different taxonomic groups. Among these strains we have 26% strains which represent the genus *Azotobacter*, 10% strains which belong to the genus *Agrobacterium*, 10% strains which belong to the genus *Chromobacterium* and 10% strains are *Rhizobia*, 27% strains belonging to the genus *Bacillus* and 7% strains which represent the genus *Azospirillum*, 7% strains of *Burkholderia* and 3% strain which belong to the species *Arthrobacter cumminsii* (*Rhizobium Pseudomonas Bacillus* etc.). Evaluation of the PGPR potential of bacteria showed that several strains are capable of producing indole acetic acid, and HCN, ammonia and phosphate solubilization.

The 30 isolates have the capacity for the formation of qualitatively and quantitatively significant biofilm by the method of eppendorfs after 20 h of incubation the reading of the optical density (OD) of the phase of the biofilm in the bacteria identified probably as *Bacillus* sp, *Chromobacterium* sp hyper-producing biofilm at OD 2.5. However, *Agrobacterium* sp. and *Azotobacter* sp proved to be producers of biofilm at OD 0.5.

The in vitro antagonism test of 16 strains among the collection with the highest biofilm production was carried out on two pathogenic strains: one clinical *Escherichia coli* and the other phytopathogenic *Agrobacterium tumefaciens* C58. The results showed strong antagonistic activity of *Bacillus* sp, *Azotobacter* sp. and *Chromobacterium violaceum* presenting against pathogenic bacteria with large inhibition zone diameters that vary between 2 mm. In contrast, the bacteria *Burkholderia* sp, *Rhizobia* sp. , *Agrobacterium* sp. show no antibacterial effect.

Key words: PGPR, bacteria, characterization, biofilm, antagonism, HCN

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو العزل والتوصيف الكيمياء الحيوي والفسولوجي والإيزيمي للبكتيريا غير الفلورية جعل العزل بواسطة طريقة التخفيف المطلق من الممكن. من تربية الجذور لأصناف نخيل النمر في منطقة ناغيت عزلة بكتيرية غير فلورية عن طريق اختبار 30 الحصول على سمات شكلية مختلفة ، من بينها ، تم اختيار King التائق على وسط مزرعة

النتائج التي تم . أظهر التوصيف المطهري والكيميائي الحيوي للعزلات مجموعة متنوعة من السلالات المعزولة *Azotobacter* / سلالات تمثل جنس 26 أجناس مختلفة ، من بين هذه السلالات 8 الحصول عليها وجهتنا نحو *Chromobacterium* / سلالات تنتمي إلى جنس 10 ، *Agrobacterium* / سلالات تنتمي إلى جنس 10 ، *Bacillus* / سلالات تنتمي إلى جنس 27 ، *Rhizobia* / سلالات 10 و *Arthrobacter* / سلالة تنتمي إلى نوع 3 و *Burkholderia* / سلالات من 7 و *Azospirillum cuminsii*. للبكتيريا أن العديد من السلالات قادرة على إنتاج حمض الأستينيك PGPR أظهر تقييم إمكانات . وتمنع العزلات الثلاثين بالقدرة على تكوين هلام حيوي مهم . ، الأمونيا والذويان الفوسفات HCN الإندول ، و لمرحلة العشاء (OD) ساعة من الحضانه ، وفراة الكثافة الصوتية 20 نوعًا وكميًا بطريقة إيبينورف بعد فرط إنتاج *Chromobacterium* sp. ، *Bacillus* sp. الحيوي في البكتيريا ربما تم تحديدها على أنها أنواع كانا منتجين ضعيفين للبيوفيلم . *Azotobacte* و *Agrobacterium* sp. ومع ذلك ، فإن DO 2.5 بيوفيلم عند OD 0.5.

سلالة من بين المجموعة التي تحتوي على أعلى إنتاج للهلام الحيوي 16 تم إجراء اختبار العشاء في المختبر ل واحدة سريرية للإشريكية القولونية البشرية والأخرى الممرضة للنباتات الأروباكتريا :على سلالتين ممرضتين و *Azotobacter* sp. و *Bacillus* سلالات لها نشاط مضاد قوي وهي 5 أظهرت النتائج أن C58 الورمية مم 2 ضد البكتيريا المسببة للأمراض ذات أقطار منطقة التثبيت الكبيرة التي تتراوح بين *Chromobacterium* لا تظهر أي تأثير . *Agrobacterium* sp. ، *Burkholderia* . *Rhizobia* sp. ، من ناحية أخرى ، البكتيريا مضاد للجراثيم

الكلمات المفتاحية : HCN، البكتيريا ، التوصيف ، هلام الحيوي ، PGPR

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Codes des échantillons étudiées	23
2	Observations macroscopiques de souches isolées	38
3	Résultats des souches à gram positif et à gram négatif	40
4	Résultats de test KOH	41
5	Résultats de test oxydase	42
6	Résultats de test nitrate réductase	43
7	Résultats de test mannitol mobilité	44
8	Résultats de test du citrate du simmons	46
9	Résultat de test indole	47
10	Résultats de test du gélatine	48
11	Résultats de test d'oxydation	49
12	Résultats de test AIA	52
13	Résultats de test HCN	53
14	Résultats de test d'ammoniac	54
15	Résultats de test de phosphate	55
16	Résultat de toutes les tests et identification des souches	56

Liste des figures

N°	TITRE	Page
1	Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère	05
2	Interactions entre plantes et bactéries coopératives dans la rhizosphère	07
3	Activité microbiologique de la rhizosphère	08
4	Diagramme schématisé montrent les effets directs et indirects des PGPR sur la croissance des plantes	17
5	Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un Biofilm	20
6	La préparation des dilutions	24
7	Photos représentent les étapes de coloration de GRAM	27
8	Protocole de test nitrate réductase	32
9	Photos représentent les étapes de méthode de formation de biofilm	35
10	Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode de stries croisées	37
11	Les différents caractères des souches isolées	39
12	Résultats de test KOH	40
13	Résultat positif pour le test catalase	41
14	Résultat pour le test oxydase	42
15	Résultats de nitrate réductase après addition de Zinc	43
16	Résultat pour le test Mannitol mobilité	45
17	Résultat pour le test Citrate de Simmons	46
18	Résultat de test d'indole	47
19	Résultat de test gélatine	48
20	Résultat de test de fermentation et d'oxydation de glucose	50
21	Résultat de test sucrose	51
22	Résultat de test AIA	52
23	Résultats de test HCN	53
24	Résultat de Production d'ammoniac	54
25	Halo de transparence autour de la colonie	55
26	Résultat de formation de biofilm	56
27	Résultat d'ANTAGONISME IN VITRO	59
28	Formation de zone d'inhibition par différents souches	60
29	Activité antibactérienne des isolats	61
30	Les appareils	Annexe 3

Liste des Abréviations

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria. (Bactéries promotrices de la Croissance des Plantes).

AIA : Acide indole-acétique

N₂ : Nitrogène

K : Potassium

Fe³⁺ : Fer ferrique

HCN: Cyanure d'hydrogène

ISR : résistance systémique induite

EPS : Exopolysaccharides

DO: Densité optique

MEVAG : Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides

LB : Lauria Bertani

KB : King B

UV : Ultraviolet

KOH : L'hydroxyde de potassium

LPGA : Levure Peptone. Glucose Agar.

NR : Nitrate réductase

PVK: Pikovskaya.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I	- Palmier dattier.....	3
I.1.	Exigences écologiques du palmier dattier.....	3
I.2.	Importance économique dans le monde et en Algérie.....	3
II	- Le sol Rhizosphérique du palmier dattier.....	4
II.1	Le sol.....	4
II.2	La structure de sol.....	4
II.3	La rhizosphère.....	4
II.1.1.	La microflore rhizosphérique.....	6
III	- Les Rhizobactéries.....	8
III.1.	Les Rhizobactéries stimulatrices de la croissance végétale.....	9
III.2.	Diversité des rhizobacteries.....	9
III.2.1	Les bactéries fluorescentes.....	9
III.2.2	Les bactéries non fluorescentes.....	10
III.3.	Modes d'action des PGPR.....	11
III.3.1.	Les effets directs.....	11
III.3.2.	Effets indirects.....	14
IV	- Formation des biofilms par les PGPR.....	18
IV.1.	Les étapes du développement de biofilm.....	18

V.	L'utilisation des Rhizobacteries.....	20
V.1.	Dans l'agriculture.....	20
V.2.	Dans le domaine de l'industrie fine.....	22
V.3.	Dans le domaine médical et pharmaceutique.....	22

Chapitre II : Matériel et méthode

I-	Echantillonnage.....	23
II -	Isolement des bactéries du sol rhizosphérique.....	24
II .1.	Préparation des dilutions.....	24
II.2.	Mise en culture.....	24
III-	Purification des souches bactériennes.....	25
IV-	Conservation des souches bactériennes.....	25
V-	Caractérisation des souches.....	25
V.1.	Caractères cultureux et morphologique.....	26
V.1.1.	Aspect des colonies.....	26
V.1.2	Coloration de gram.....	26
V.1.3	Test de KOH.....	27
V.2.	Caractère biochimique.....	28
V.2.1.	Test de catalase.....	28
V.2.2.	Test d'oxydase.....	28
V.2.3.	Recherche de la production d'indole.....	28
V.2.4.	Recherche de la gélatinase.....	29
V.2.5.	Citrate de Simmons.....	29
V.2.6.	Mannitol-Mobilité nitraté.....	30
V.2.7.	Test d'oxydation et fermentation du glucose.....	32
V.2.9.	Production d'Acide Indole Acétique (AIA).....	33
V.2.10.	Test de Phosphate.....	33
V.2.11.	Production de cyanure d'hydrogène (HCN).....	34
V.2.12.	Production d'ammoniac (NH ₃).....	34
V.2.13.	Formation de biofilm.....	35
V.2.14.	Antagonisme in vitro	36

Chapitre III : Résultats et discussions

I-	Résultats Identification des souches isolées.....	37
I.1	Résultats d'Examens macroscopique.....	37
I.2	Résultats d'Examen microscopique.....	39
I.2.1	Résultats du test KOH.....	40
II-	Résultats Tests biochimiques	41
II.1	Résultats de test de catalase.....	41
II.2	Résultats de test d'oxydase.....	41
II.4	Résultats de Recherche de nitrate réductase.....	42
II.5	Résultats de test Mannitol Mobilité.....	44
II.6	Résultats de test du citrate de Simmons	46
II.7	Résultats de test d'indole.....	47
II.8	Résultats de test de gélatine.....	48
II.9	Résultats de test de fermentation et d'oxydation de glucose.....	49
II.10	Résultats de test de sucrose.....	51
III-	Résultats des tests enzymatiques.....	52
III.1	Résultats de test d'Acide Indole Acétique (AIA).....	52
III.2	Résultats de cyanure d'hydrogène (HCN).....	53
III.3	Résultats de production d'ammoniac (NH ₃).....	54
III.4	Résultats de test de phosphate.....	55
III.5	Identification des isolats.....	56
III.6	Résultats de Formation de biofilm.....	56
III.7	Résultats d'Antagonisme.....	59
	Discussions.....	63
	Conclusion et perspectives.....	66
	Références bibliographiques.....	68
	Annexes	

Introduction

Introduction

Le sol est un réservoir important de microorganismes, il renferme une microflore complexe et variée qui joue des rôles essentiels pour l'écosystème tellurique et les organismes pluri cellulaires qui y vivent.

La rhizosphère est la région du sol située sous les racines des plantes dont la plupart des plantes sont en effet en interaction directe avec le sol tout au long de leur existence, de la graine jusqu'aux débris végétaux, dont elles dépendent pour leur alimentation en eau, leur nutrition minérale et leur ancrage.

Le sol de la zone saharienne d'Algérie est riche en plusieurs éléments pour la croissance des plantes et la totalité de Sahara algérien est composée de palmier dattier qui joue également un rôle important dans l'économie locale et nationale, considéré comme source de devises pour le pays (**Grégoire Freschet. 2018**).

Ces plantes bénéficient des effets directs et/ou indirects des microorganismes en particulier ceux de la flore rhizosphérique. D'autre part, une flore bactérienne rhizosphérique fluorescente et non fluorescente hétérogène influence favorablement la croissance des plantes, et connue sous l'acronyme PGPR : plant growth promoting rhizobacteria stimulatrices de la croissance des plantes.

En effet, les PGPR interviennent sur la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes. Les PGPR appartiennent à plusieurs genres différents : *Azotobacter* , *Arthrobacter cumminsii* , *Bacillus subtilis*, *Chromobacterium violaceum* (**Abd El-mageed et al.,2022**). Ces bactéries jouent un rôle très important dans différents secteurs comme le domaine industriel dont les enzymes produites par *Bacillus* représentent 50 % des enzymes sur le marché, parmi lesquelles l'amylase, la protéase et la glucanase sont utilisées dans différents procédés industriels. En agriculture, ces microorganismes permettent de lutter contre de nombreux ravageurs et maladies de cultures comme les larves de lépidoptères et de coléoptères (**Ghadamgahi et al., 2022**).

Dans le domaine médicale et pharmaceutique, les Actinomycètes ont la capacité de produire divers types de métabolites secondaires ; à savoir : des antibiotiques, des substances antitumorales, des métabolites nutritionnels (**Ghadamgahi et al., 2022**).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail consiste à l'isolement et la caractérisation des bactéries rhizosphériques non fluorescentes à partir de 4 cultivars du palmier dattier de la

région Taghit située dans la wilaya de Béchar. ces bactéries qui ont le pouvoir de coloniser la rhizosphère et leurs effets bénéfiques sont liés à leur position stratégique à l'interface sol-racine

Nous allons réaliser dans cette recherche

- L'isolement des bactéries à partir de sol rhizosphérique de palmier dattier
- Purification des souches bactériennes
- L'identification préliminaire des souches bactériennes basée sur des caractères morphologiques et biochimiques.
- La formation de biofilm des souches isolées.
- Essai de biocontrôle *in vitro* d'une collection des souches isolées à l'égard de 2 bactéries pathogènes *Agrobacterium tumefaciens* et *Escherichia coli*.

Chapitre I
Synthèse
bibliographique

I/_ Palmier dattier

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) est l'une des plus importantes cultures fruitières des Régions arides et désertiques du Moyen-Orient, du sud d'Asie et de l'Afrique du Nord (**Ghazi et Sahraoui, 2005**). Cette plante est une composante essentielle de l'écosystème oasien, grâce à sa remarquable adaptation aux conditions climatiques, les multiples utilisations de ses produits et la haute valeur nutritive de ses fruits, et sa morphologie qui favorisent d'autres cultures sous-jacentes (**Bousdira et al., 2003 ; Bakkayee, 2006**).

Le palmier dattier est une plante monocotylédone dioïque avec des pieds femelles (Nakhla) et des pieds mâles (Dokkar à croissance apicale dominante, de la famille des Arecaceae (Palmae) (**Sedra, 2003**).

I.1.Exigences écologiques du palmier dattier

Le palmier dattier est une plante arborescente connue pour son adaptation aux conditions climatiques très sévères des régions sèches et chaudes. Le palmier dattier est une espèce thermophile exigeant un climat chaud, sec et ensoleillé. C'est un arbre qui s'adapte à tous les sols sensible à l'humidité pendant la période de pollinisation et au cours de la maturation (**Ben abbes, 2011**).

I.2. Importance économique dans le monde et en Algérie

La production mondiale de dattes avoisine 100 millions de tonnes générant ainsi chaque année des millions de dollars US pour les pays producteurs (**FAOSTAT.2020**).

En Algérie, la superficie occupée par la culture de palmier dattier couvre 160 000 ha qui Représentent actuellement plus de 18 millions de palmier, avec une production annuelle moyenne des dattes de plus 500 000 tonnes. En 2018 ; la production de dattes représente 109470 tonnes avec plus de 30 000 tonnes pour l'exportation. Les surfaces de palmeraies diffèrent d'une wilaya à une autre. La superficie importante concerne les wilayas de Biskra et d'El-oued atteignant toutes les deux 53,533ha (**FAOSTAT.2020**).

II /_ Le sol Rhizosphérique du palmier dattier

II.1. Le sol

Le sol est l'environnement où cohabitent les racines des végétaux, les animaux et les microorganismes. C'est un assemblage complexe de substances minérales et organiques, de gaz et d'eau, à l'intérieur duquel se déroulent simultanément des phénomènes de dégradation et de synthèse. A cause de son hétérogénéité, il abrite des populations de microorganismes, à des particularités biologiques et biochimiques très variées. L'activité de ces populations est influencée par divers facteurs : la température, le pH, la profondeur du sol, l'humidité et la présence des substances organiques et inorganiques (**Ameur, 2014**).

II.1.1. La structure de sol

La structure de sol peut être définie comme le regroupement de particules primaires du sol en de larges unités de composés d'origine, de taille et de forme différentes (**Bouras., 2014**).

En effet, la structure du sol présente une importance considérable sur son fonctionnement. D'une part, elle détermine la pénétration des racines dans le sol, d'autre part, elle agit sur les déplacements d'eau, d'éléments nutritifs de la masse du sol vers les racines (**Lavelle et Pain, 2001**).

II.2. La rhizosphère :

La rhizosphère est un écosystème complexe composé d'une zone étroite autour de la racine de la plante (**Zhang et al.,2015**). Cette zone est plus riche en nutriments par rapport au sol nu en raison de l'accumulation d'une variété des exsudats racinaires. La plante libère des exsudats racinaires constitués de substances organiques carbonées et azotées comme les polysaccharides, les acides organiques et les protéines (**Ahmed et al.,2019**). Ces exsudats favorisent le développement de la microflore pathogène ou non et fournissent une source d'énergie et de nutriments aux bactéries telluriques (**Gray et Smith, 2005**).

La zone rhizosphérique peut être divisée en trois zones distinctes qui sont : l'endorhizosphère (l'intérieur de la racine), le rhizoplan (surface racinaire) et l'ectorhizosphère ou le sol rhizosphérique (sol lié à la racine par opposition au sol distant) (**Figure 1**) .

A/ L'endorhizosphère

Certains microorganismes vivent au contact direct de la racine, voire même pénètrent dans les tissus rhizodermiques et corticaux, sans pour autant être parasites ou prédatrices dont l'interface entre la racine et la microflore s'étend à l'intérieur de la racine (David et McNear, 2013).

B/Le rhizoplan et l'ectorhizosphère

Le rhizoplan est la zone de la surface des racines où les micro-organismes se fixent en utilisant des structures de surface telles que les flagelles, les fimbriae ou les polysaccharides de la surface cellulaire (Mwajita et al., 2013).

L'ectorhizosphère représente la zone extérieure qui se trouve directement après le rhizoplan.(David et McNear, 2013).

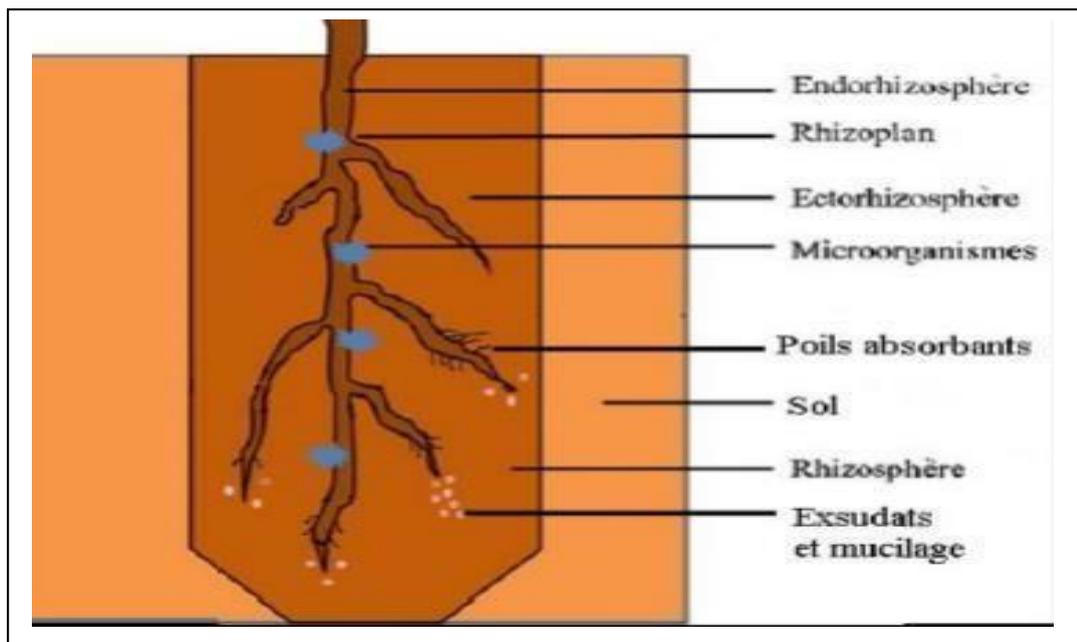


Figure 01 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère (Seshadri et al., 2015).

II.2.1. La microflore rhizosphérique

La rhizosphère est un milieu dynamique et structuré. Elle abrite une multitude de microorganismes interagissant de diverses façons avec la plante et qui sont structurés en communautés complexes dans lesquelles diverses interactions entre les microorganismes eux-mêmes existent (Wardle et al., 2004). C'est également un environnement caractérisé par un volume très élevé de substances racinaires favorisant une grande population microbienne (Miransari, 2011).

La microflore est composée de bactéries, des champignons, des protozoaires des virus, . La distribution des micro-organismes du sol est dépendue des facteurs nutritionnels et des facteurs physicochimiques. Les champignons et les bactéries sont les plus abondants (Bahadur et al.,2017).

II 2.2. Les interactions entre les microorganismes

Les interactions entre les microorganismes, les racines des plantes et le sol sont nombreuses et très intenses. Ces interactions sont catalysées par les exsudats racinaires qui favorisent certains groupes de microorganismes aux dépens d'autres au sein de la communauté microbienne. (Ghitri, 2018).

A/ Compétition :

La compétition se déclenche entre les bactéries pour les éléments nutritifs lorsqu'il y a une consommation simultanée du même composé par plusieurs microorganismes. Pour être un compétiteur efficace, un agent antagoniste doit être capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration sur les organes de la plante (Jijakli, 2003). Les bactérie *Pseudomonas* spp. sont capables d'établir une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère et de produire une large gamme de métabolites antimicrobiens (Panpatte et al ., 2016).

B/ Parasitisme :

Le parasitisme est l'attaque directe d'un microorganisme par un autre dans un but nutritionnel dont un des protagonistes (le parasite) tire profit (en se nourrissant, en s'abritant ou en se reproduisant) aux dépens d'un hôte. La rhizosphère qui héberge une large variété de populations microbiennes, constitue un milieu favorable pour l'apparition du parasitisme (Barroca, 2005). Plusieurs bactéries pathogènes chez les plantes (*Agrobacterium* spp., *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas* spp., *Ralstonia solanacearum*), et surtout les

champignons, les oomycètes et les virus qui provoquent le plus de dégâts et des maladies chez les plantes (Patrick, 2011).

C/ Antagonisme :

Le terme d'antagonisme désigne une inhibition ou une action défavorable d'un organisme sur la virulence d'agents phytopathogènes se conservant dans le sol ou bien vis-à-vis d'un autre à l'intérieur d'une population microbienne mixte. L'antagonisme généralement se manifeste soit par une compétition, un hyper parasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose (Djellout et al., 2019). Les espèces du genre *Pseudomonas* et *Bacillus*, ces microorganismes ont un effet antagonisme avec les agents phytopathogènes (Oulebsir-Mohandkaci et al., 2019).

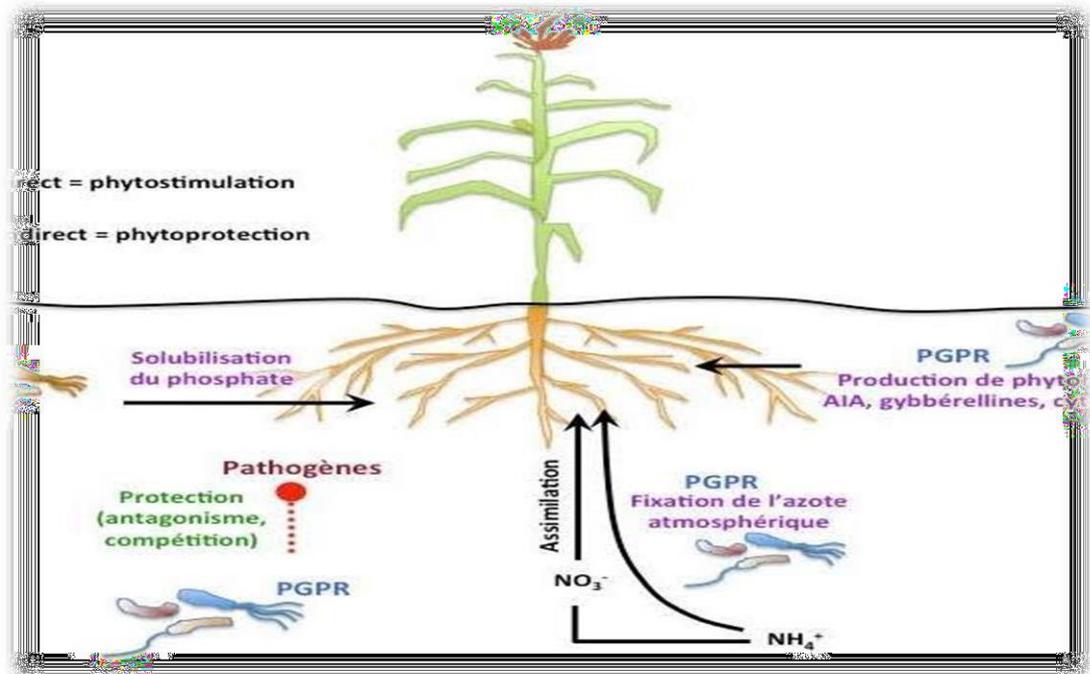


Figure02 : Interactions entre plantes et bactéries coopératives dans la rhizosphère (Khan et al., 2009)

III .Les Rhizobactéries

Les bactéries rhizosphériques sont parmi les organismes qui vivent et se développent en quantité dans les régions immédiates autour des racines. Sans pénétrer dans la plante, la communauté bactérienne de la rhizosphère est considérée parmi les réservoirs de microorganismes présents dans le sol (**Bahadur et al.,2017**).

Les bactéries majoritaires généralement retrouvées dans la rhizosphère appartiennent aux genres *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* et *Serratia* (**Gray et Smith, 2005**). Parmi ces bactéries, entre 2 et 5% sont qualifiées de rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes PGPR (**Antoun et Kloepper,2001**).

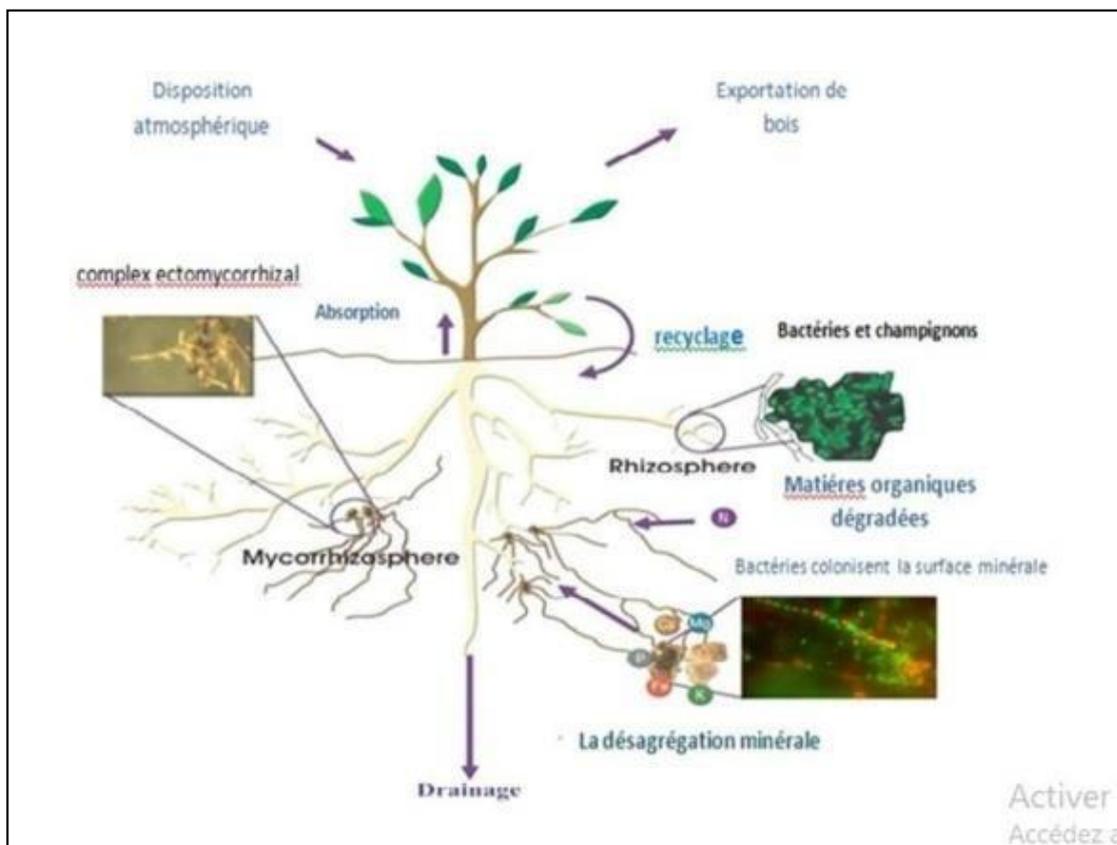


Figure 03: Activité microbiologique de la rhizosphère (**Vittorio et Christoph, 2016**)

III .1.Les Rhizobacteries stimulatrices de la croissance végétale

Les PGPR «Plant Growth-Promoting-Rhizobacteria» ou rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ont été définies pour la première fois par Kloepper et Schroth (1978) comme étant les bactéries qui colonisent le sol tout en améliorant leurs croissances (**Dorjey, et al., 2017**). Ces bactéries sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance (voie directe) et/ou par voie indirecte en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes.

Les PGPR les plus fréquemment identifiées sont *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas* (**Ahemad and Kibret 2014**).

III .2.Diversité des rhizobacteries

Les rhizobactéries sont divisées en 2 groupes, le premier groupe représente les bactéries fluorescentes comme *Pseudomonas fluorescens* et le deuxième groupe est composé de bactéries non fluorescentes : *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus...etc*.

III .2.1 Les bactéries fluorescentes

Les bactéries fluorescentes sont des espèces à Gram négatif. la fluorescence est due à la production d'un pigment appelé pyoverdine .Parmi les bactéries fluorescentes :*Pseudomonas fluorescens*.

III.1.1 Les *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif typique de 0,5 à 1 µm de diamètre sur 1,5 à 5 µm de long, chimio-hétérotrophes, mobiles grâce à leur flagelle polaire (**Chaker, 2012**). Ce sont des bactéries ubiquistes particulièrement abondantes dans les sols, les eaux, et souvent pathogènes des animaux et des végétaux (**Haas et Keel, 2003**). Les différentes espèces de *Pseudomonas* sont divisées en cinq groupes selon leur ARNr, les *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas syningae* et *Pseudomonas auerofaciens* (**Hofte et Altier, 2010**).

Les espèces saprophytes de *Pseudomonas spp. fluoerescents* qui regroupent les *P.chlororaphsis* ; *P.fluorescens* et *P.putida* sont catalase positive, mésophile chimio-organotrophe puisqu'elles peuvent croître dans un milieu minéral ne contenant qu'une seule source de carbone.(**Hofte et Altier, 2010**).

III.2.2 Les bactéries non fluorescentes

Dans la rhizosphère, il existe plusieurs bactéries non fluorescentes telles que les genres *Bacillus*, *Azotobacter*, *Agrobacterium*...etc. Les bactéries *Bacillus* et *Azotobacteres* sont les plus abondantes (Ahemad and Kibret ., 2014).

III.2.2.1 Le genre *Bacillus*

Les *Bacillus* sont des cellules à Gram positif en forme de bâtonnet droit ou légèrement recourbé que l'on retrouve seul ou en pair, parfois en chaîne et occasionnellement en long filament (Barak.2021). Le genre *Bacillus* pourrait être intéressant à utiliser comme PGPR. Ce genre bactérien appartient à la famille des Bacillaceae de l'ordre des Bacillales dans l'embranchement des Firmicutes.

Les *Bacillus* sont des bactéries ubiquitaires retrouvés dans divers environnements tels que les plantes et sols les événements hydrothermaux, les environnements extrêmes, l'eau de mer, etc (Dergham et al .,2021). Cette distribution dans divers environnements démontre la grande capacité métabolique des *Bacillus*. Il est possible d'isoler plusieurs espèces de *Bacillus* à partir d'échantillons de sols. Les espèces retrouvées en abondances dans les échantillons de sols sont *B. subtilis* et *B. cereus* (Lubkowska et al.,2020).

Le genre *Bacillus* contient en moyenne 4973 ± 923 gènes. L'espèce *B. eoaquilensis* représente le plus petit génome (3.35 Mb) répertorié tandis que les espèces *B.cereus* contiennent les plus grands génomes ($5\ 716 \pm 354$ gènes) parmi les différentes espèces de *Bacillus* (Yuan.,2020).

La majorité des espèces de *Bacillus* sont non pathogènes, mais il existe des souches pathogènes soit pour les insectes, les animaux ou les humains comme *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* et *Bacillus thuringiensis* (Stlow., 2021)

III.2.2.2 Les Agrobactéries

Le genre *Agrobacterium*, ainsi que l'espèce *Rhizobium rhizogenes*, appartiennent à la famille des Rhizobiaceae, des Alphaprotéobactéries. Ces espèces sont parfois définies comme des *Rhizobium* qui ne fixent pas l'azote mais produisent d'autres types d'hypertrophies).

Cependant, la plupart des agrobactéries sont des bactéries saprophytes du sol, ni pathogènes, ni symbiotiques (**Vigouroux, 2013**).

Les agrobactéries sont des bâtonnets à Gram négatif de $0,6 - 1,0 \mu\text{m} \times 1,5 - 3,0 \mu\text{m}$ ne formant pas de spores et sont mobiles grâce à des flagelles (de 1 à 6) péritriches. Elles sont chimioorganotrophes aérobies. Sur un milieu contenant des sucres elles produisent beaucoup d'exopolysaccharides (polymères extracellulaires), les colonies ont un aspect très muqueux. Elles produisent de la catalase et généralement aussi de l'uréase et de l'oxidase (**Portier, 2004**).

III.3. Modes d'action des PGPR

Les PGPR interviennent sur la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes, de manière directe par la fixation d'azote atmosphérique, l'apport de nutriments non disponibles, (phosphore et autres nutriments minéraux), la production de régulateurs de croissance végétale (auxines, cytokinines et gibbérellines) et la répression de la synthèse d'éthylène. Ces microorganismes peuvent intervenir indirectement via la production d'antibiotiques, compétition (pour les éléments nutritifs, l'oxygène et l'espace), l'activation de la résistance systémique induite (ISR) (**Moenne- Loccoz et al., 2019**).

III.3.1. Les effets direct

Les mécanismes directs sont ceux qui se produisent à l'intérieur de la plante et affectent directement leur métabolisme. Les bactéries PGPR facilitent la croissance des plantes directement en aidant à l'acquisition des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels) ou par modulation des niveaux d'hormone végétales (**Munees et Mulugeta, 2014**).

a/ Fixation d'azote :

L'azote est un aliment essentiel bien connu pour la croissance et le développement des plantes. Bien qu'il y ait environ 78% de N_2 dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance (**Pujic et Normand, 2009**).

Le N_2 atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique de N_2 par les bactéries en utilisant un système enzymatique complexe appelé

nitrogénase (Weyens et al., 2010). Les bactéries fixatrices de l'azote ont la capacité de récupérer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes qui sont symbiotiques et non symbiotiques.

La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre une bactérie et la plante. Quelques bactéries fixatrices d'azote sont libres dans la rhizosphère comme *Achromobacter*, *Acetobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Rhodopseudomonas* et *Xanthobacter* (Tilak et al., 2005).

B/ Solubilisation des phosphates

Après l'azote, le phosphore est l'élément le plus limitant pour les plantes (Ramos Solano et al., 2008 ; Keneni et al., 2010). Il joue un rôle pratiquement important dans tous les processus métaboliques majeurs dans les plantes, y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse macromoléculaire et la respiration (Khanet al., 2010). Les plantes absorbent le phosphate uniquement sous deux formes solubles : les ions monobasique (H_2PO_4^-) et basique (HPO_4^{2-}) (Gupta et al., 2015).

La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du phosphate insoluble en phosphate soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles, ces microorganismes produisent des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélatent les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (Taktek, 2015).

Parmi les rhizobactéries qui ont la capacité de solubiliser le phosphate sont *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus* spp. *Bradyrhizobium* spp. *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas putida* et *Rhizobium* spp. (Oteino et al., 2015).

C/ Solubilisation du potassium

C'est le troisième nutriment majeur important pour les plantes. Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (Parmar et Sindhu, 2013).

Sans potassium adéquat, les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles. (**Kumar et Dubey, 2012**). Les microorganismes des sols jouent un rôle clé dans le cycle potassium naturel. Les bactéries solubilisant le K, sont *Pseudomonas spp.*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus edaphicu*, *burkholderia spp.* (**Liu et al., 2012**)

D/ Production de sidérophores

Le fer est un élément capital aussi bien pour les bactéries que les champignons et les plantes. Il est abondant dans le sol et se présente sous forme d'oxydes de fer (Fe³⁺) ,mais il demeure souvent un facteur limitant pour la croissance des bactéries et des plantes. La plupart des microorganismes ont développé un mécanisme spécifique afin de l'assimiler via la production de sidérophores (**Compant et al., 2005**).

Ces sidérophores sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire, compris entre 200 et 2000 daltons, dont le rôle est de solubiliser, de chélater et d'extraire le fer ferrique de nombreux complexes minéraux ou organiques et de le rendre ainsi accessible aux microorganismes (**Meziane et al., 2005**). Les plantes peuvent utiliser divers siderophores bactériens de la rhizosphère comme sources de fer, les bactéries productrices de sidérophores appartiennent aux genres *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces* (**Kuffner et al., 2008**).

E / Production des phytohormones

Les hormones végétales sont des messagers chimiques affectant la capacité de la plante à réagir à son environnement. Sans compter qu'elles jouent un rôle important dans la réponse de la plante aux stress biotiques et abiotiques (**Spaepen et al., 2007**). De nombreuses phytohormones sont produites par les PGPR (**Wong et al., 2015; Kang et al., 2016**)

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes en produisant des phytohormones telles que les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène. Ces hormones peuvent affecter la prolifération cellulaire dans l'architecture racinaire par la surproduction de racines latérales et de racines avec un accroissement subséquent de l'apport d'éléments nutritifs et d'eau (**Olenska et al., 2020**).

E-1/Acide indole acétique (AIA)

L'acide indole acétique représente l'une des hormones végétales les plus importantes du groupe des auxines, quantitativement le plus produit par les PGPR. Il fonctionne comme une molécule de signal important dans la régulation du développement des plantes, agissant sur l'organogenèse, les réponses trophiques, les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes (**Ryu et Patten, 2008**).

L'AIA bactériennes augmentant la surface et la longueur de la racine et fournit ainsi à la plante un meilleur accès aux nutriments du sol. La production d'AIA a été détectée chez plus de 80 % des bactéries en provenance de la rhizosphère. Les bactéries capables de produire de l'AIA appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* et *Bacillus* (**Yuan et al., 2011**)

E -2/Cytokinines et gibbérellines

Les cytokinines jouent un rôle-clé dans un grand nombre de processus physiologiques tels que la division cellulaire des plantes, l'interruption de la quiescence des bourgeons dormants, l'activation de la germination des graines, la promotion de la ramification, la croissance des racines, l'accumulation de la chlorophylle, l'expansion des feuilles et le retard de la sénescence (**Osugi et Sakakibara, 2015**).

Cependant, l'effet des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes sur la croissance des plantes est stimulant tandis que l'effet des cytokinines des agents pathogènes est inhibiteur (**Glick et al., 2007**). Le gène codant pour l'enzyme responsable de la synthèse des cytokinines a été initialement caractérisée chez *Agrobacterium* (**Ivanova et al., 2001**).

Les bactéries *Azospirillum brasilense* et *Rhizobium* ont la capacité de synthétiser des substances de gibbérellines, ainsi que les différents genres bactériens qui peuplent le système racinaire de la plante, y compris *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Agrobacterium*, *Clostridium*, *Burkholderia*, et *Xanthomonas* (**Mitter et al., 2002 ;Tsakelova et al., 2006 ;Joo et al., 2009**).

III.3.2. Effets indirects

Les mécanismes indirects sont, en général, ceux qui se produisent à l'extérieur de la plante. Les bactéries assure un milieu sain pour la croissance de la plante, ce qui assure une bonne croissance des plantes par l'élimination des agents phytopathogènes à travers la

compétition pour l'espace et les nutriments, la synthèse d'enzymes hydrolytiques, l'inhibition des enzymes ou des toxines produites par les pathogènes, et l'induction des mécanismes de résistance de la plante (Prasad et al., 2021).

A / Productions des métabolites antimicrobiens

La production d'antibiotiques est considérée comme l'un des mécanismes de bio contrôle les plus puissants et les plus étudiés chez les PGPR. (Shilev, 2013). L'oligomycine A, la kanosamine, la zwittermicine et la xanthobacine sont produites par les bactéries *Bacillus spp.*, *Streptomyces spp.* et *Stenotrophomonas spp.* (Mabood et al., 2014).

Les bactéries solubilisant le phosphate telles que les bactéries à Gram négatif, *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa* et *Chromobacterium violaceum* sécrètent également des antibiotiques et assurent la protection des plantes contre les pathogènes transmis par le sol (Taurian et al., 2010 ; Vassilev et al., 2006).

D'autre part, les souches de *Pseudomonas* produisent une variété de métabolites antifongiques puissants, comme l'acide cyanhydrique (HCN), la viscosamide, la pyolutéorine, le 2,4- diacetylphloroglucinol (DAPG), la pyrrolnitrine, les phénazines, les butyrolactones les tensines et les tropolones (de Souza et al., 2003 ; Haas et Defago 2005).

B/Induction d'un système de résistance :

Les plantes ont la capacité d'acquérir un état de résistance systémique induite (ISR) contre des agents pathogènes après inoculation de bactéries bénéfiques.

Certaines rhizobactéries peuvent ainsi déclencher la résistance systémique induite. De nombreux composants bactériens tels que les lipopolysaccharides (LPS), sidérophores, lipopeptides cycliques, peuvent induire une résistance systémique des plantes (Gupta et al., 2015 ; Shameer et Prasad., 2017). Parmi les bactéries qui ont la capacité de déclencher la résistance systémique induite sont : *Paenibacillus alvei*, *Acinetobacter lwoffii*, *Curtobacterium sp Oxidans*, *Arthrobacter* et *Actinobacteria endophytiques* (Conn et al., 2008).

L'ISR peut être induite par des microorganismes variés comme *Bacillus pumilus*, ou entérobactéries comme *Serratia marcescens* ou *Pantoea agglomerans*.

C / Compétition pour l'espace et les nutriments

Les rhizobactéries à croissance rapide peuvent éliminer les pathogènes fongiques par une compétition pour le carbone et les sources d'énergie (**Rehman et al., 2020**). Les PGPR doivent 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 renforçant le potentiel colonisateur d'une souche sont la mobilité (**Jofre et al., 2004**), le chimiotactisme et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines en tant que sources de carbone et d'azote (**Matthew et Nels, 2015**).

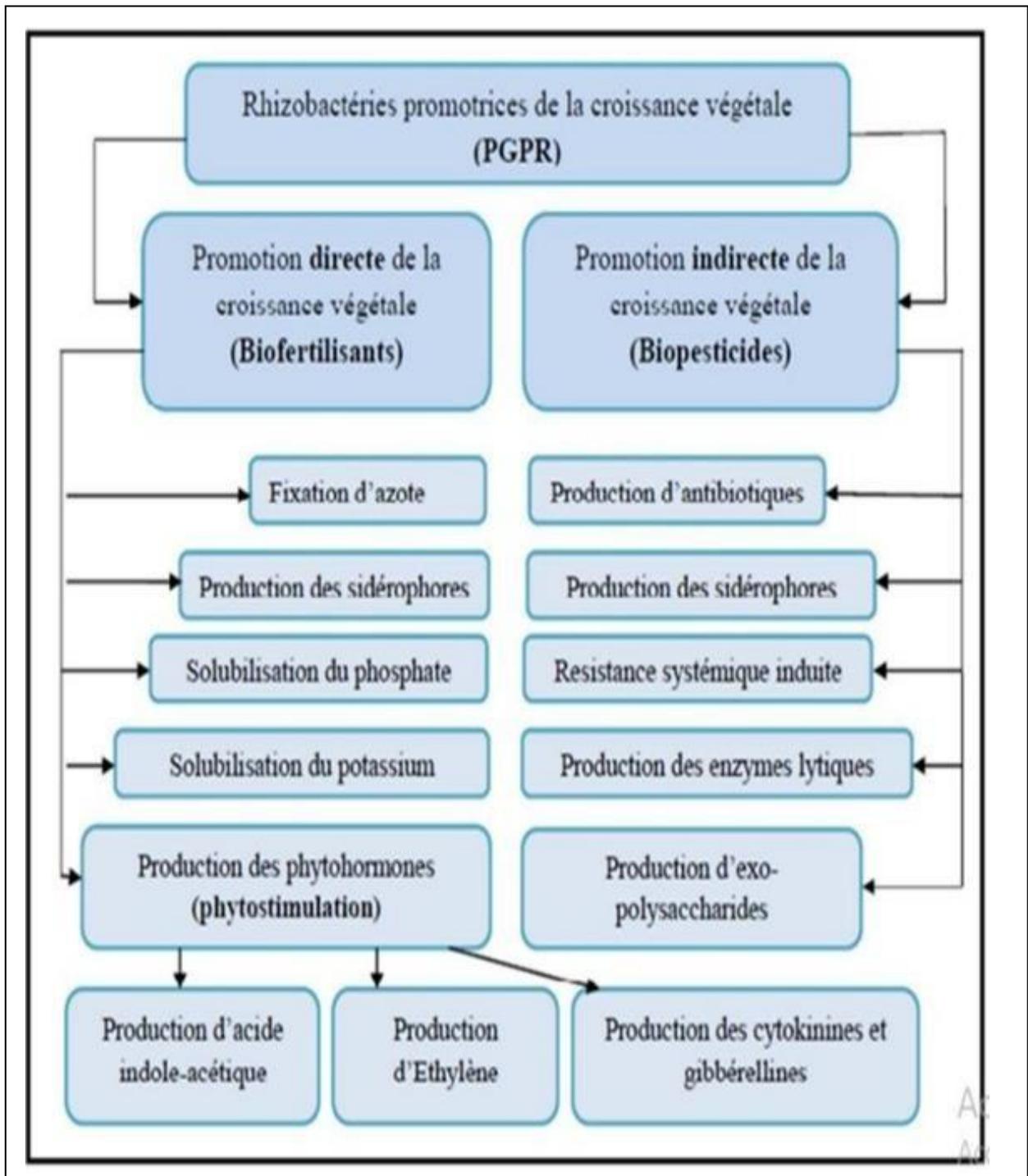


Figure 04: Diagramme schématisé montrant les effets directs et indirects des PGPR sur la croissance des plantes (Gupta, Parihar et al., 2015).

II. Formation de biofilm par les PGPR

Le biofilm bactérien est un ensemble de microorganismes, soit de la même espèce, soit d'espèce différentes, qui vivent en symbiose et forment une communauté. Il constitue un ensemble de cellules isolées et de micro colonies de cellules filles, associés entre elles et/ou au surfaces enfermées dans une matrice auto-produite de substances polymères extracellulaires (EPS) (AYE, 2015).

La production de biofilm par PGPR reflète leur pouvoir de colonisation du système racinaire et est considéré comme une activité PGPR importante comme les *Bacillus* (Prescott, 2003).

Les bactéries du biofilm sont reliées par une matrice extracellulaire, qui a pour fonction de protéger les bactéries de l'environnement extérieur et d'adhérer le biofilm à la surface. La composition de la matrice varie selon l'espèce bactérienne et les conditions de croissance (Yannick et al. 2016). La matrice peut être aussi composée de protéines, d'acides nucléiques, d'agents tensioactifs, de lipides, de glycolipides, de cations et de la cellulose (AYE, 2015).

II.1. Les étapes du développement de biofilm

La formation d'un biofilm passe par plusieurs étapes : l'adhésion réversible, l'adhésion irréversible, la formation des micro-colonies, la maturation et la dispersion.

1. Adhésion Initial réversible

Cette étape est influencée par des conditions environnementales impliquant le pH, la température, la concentration en oxygène et en nutriments (Emily, 2015).

2. Attachement Irréversible

La fixation à la surface solide devient irréversible en raison de la production d'exopolysaccharides par les bactéries et surtout grâce à des structures d'adhérence variables selon les espèces bactériennes comme les fimbriae et les flagelles (Van Houdt et Michiels, 2010).

3. Formation des Micro colonie

Les bactéries se multiplient lentement et continuent de produire des exopolysaccharides. Elles s'agrègent entre elles et forment des microcolonies, qui sont protégées par la matrice exopolysaccharidiques (**Emily, 2015**).

4. Formation des Macro colonie

Lorsque les bactéries se fixent solidement au support, elles vont accélérer leur division cellulaire pour développer le biofilm et donner son architecture. Cette augmentation de la masse va être accompagnée d'une production intense d'EPS qui vont interagir avec des molécules organiques et inorganiques du milieu environnant pour former la matrice extracellulaire (**Othmani, 2014**).

5. Détachement

Lorsque le biofilm est important, les cellules bactériennes commencent à se détacher du biofilm, ces cellules bactériennes reprenant leur mode de croissance planctonique ou créant leur propre biofilm (**Emily, 2015**).

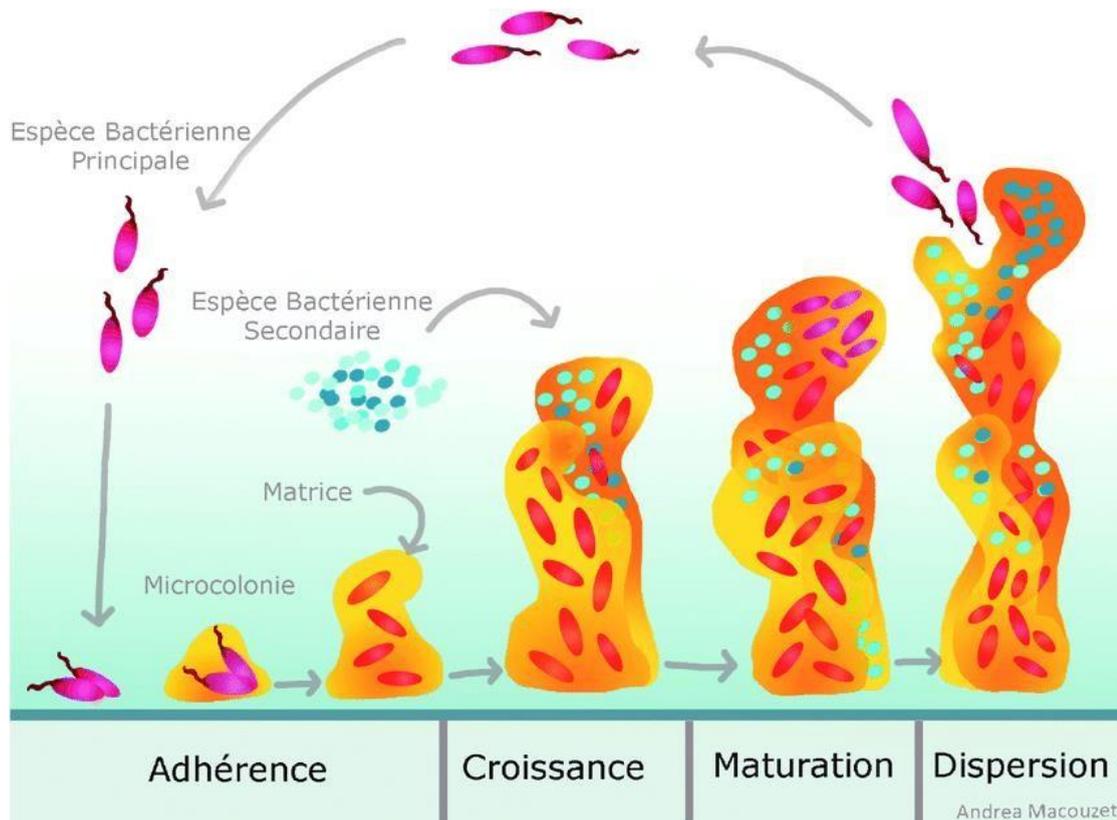


Figure05 : représentation schématique des différentes étapes de formation d'un Biofilm(Yannik et al.,2016).

III. L'utilisation des Rhizobacteries

III.1. Dans l'agriculture

L'utilisation de PGPR est un moyen potentiel de réduire l'impact négatif sur l'environnement résultant de l'utilisation continue d'engrais chimiques, de pesticides et des ravageurs. Les PGPR offrent des applications intéressantes en agriculture comme la biofertilisation et la lutte biologique par les biopesticides ainsi que des applications en phytoremediation et d'autres applications environnementales telles que l'amélioration des reboisement des sols stériles ou chimiquement pollués (Aloo et al., 2019).

V.1.1. Biofertilisation

Les bactéries colonisent la rhizosphère ou l'intérieur de la plante et améliorent la croissance par l'augmentation de la disponibilité des nutriments principaux pour la plante hôte, par la fixation biologique de l'azote et l'utilisation des formes insolubles de

Phosphore (**Riaz et al., 2021**). Actuellement, diverses formulations commerciales de PGPR sont en vente. Les formulations bactériologiques de *Rhizobium spp.* et *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.* sont disponibles dans plusieurs pays afin et de diminuer la fertilisation azotée des cultures et de favoriser la nodulation des légumineuses (**Sammauria et Kumawat.,2018**).

V.1.2. Biostimulation

Les biostimulateurs sont des microorganismes qui ont la capacité de produire ou de changer la concentration des régulateurs de la croissance, la production des phytohormones et la réduction de la concentration de l'éthylène à l'intérieur de la plante comme *Pseudomonads* fluorescentes. La bactérie peut améliorer la croissance des plantes grâce à la production de sidérophores qui fixent efficacement le fer de l'environnement et le rendent indisponible pour d'autres composantes de la microflore du sol (**Timothy et al.,2021**).

V.1.3. Biopesticide ou agent de biocontrôle

Plusieurs microorganismes ont la capacité de la stimulation de la croissance d'une plante par la production des antibiotiques et des métabolites antifongiques, la production des enzymes qui dégradent les membranes des cellules fongiques et ISR (**Riaz et al., 2021**). Parmi les bactéries rhizosphériques, le genre *Bacillus* est l'un des microorganismes les plus connues et les plus utilisées dans le domaine de la lutte biologiques contre plusieurs insectes ravageurs de culture et agents phytopathogènes (**Djellout et al.,2019**). Cependant l'espèce *Bacillus thuringiensis*, dont la principale caractéristique est de synthétiser, pendant la sporulation, une inclusion cristalline composée de protéines ayant des propriétés insecticides (**Maksimov et Khairullin, 2016**).

Ainsi, les actinobactéries jouent un rôle multifonctionnel dans les systèmes de production agricole. Les principales fonctions comprennent la production des composés et de métabolites favorisant la croissance, y compris des antibiotiques, qui permettent aux plantes hôtes de résister à des conditions de stress biotiques et abiotiques. Par conséquent, les actinobactéries sont souvent utilisées comme agents de lutte biologique contre de terribles agents pathogènes des plantes (**Hao Wang et al.,2021**).

V.1.4. Bioremédiation (dégradent les polluants organiques)

La biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement. Les microorganismes en sont responsables, en particulier les bactéries. Parmi les bactéries aérobies reconnues pour leur pouvoir de dégradation, nous pouvons citer celles appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Bacillus*. Elles peuvent dégrader les pesticides, les hydrocarbures, les alcanes et les composés polyaromatiques (**Chadli .,2015**).

III.2. Dans le domaine de l'industrie fine

Les bactéries rhizosphériques comme certaines souches de *Bacillus* (*B. licheniformis*, *B. halodurans*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* et *B. clausii*) sont utilisées au niveau industriel. Il est estimé que les enzymes produites par *Bacillus* représentent 50 % des enzymes sur le marché, les différentes enzymes (amylase, protéase, glucanase, etc.) produites par les *Bacillus* sont utilisées dans différents procédés industriels. Ces composés sont retrouvés dans les détergents (protéase alcaline), pour la cuisson (amylase) et les boissons (amylase, glucanase) (**Hao Wang et al.,2021**).

III.3. Dans le domaine médical et pharmaceutique

Parmi les 22 500 composés biologiquement actifs d'origine microbienne, 45% sont produits par des actinomycètes, 38% par des champignons et 17% par des bactéries unicellulaires (**Rahman et al., 2011**). Les actinomycètes ont la capacité de produire divers types de métabolites secondaires ; à savoir : des antibiotiques, des substances antitumorales, des métabolites nutritionnels (**Kafilzadeh et Dehdari, 2015**). En effet, les espèces *Streptomyces spp.* constituent la ressource de 75% des antibiotiques commercialement et médicalement utiles (**Rahman et al., 2011**). En effet, l'espèce *Bacillus thuringiensis*, en santé humaine, il permet de contrôler efficacement les populations de plusieurs diptères vecteurs de maladies (**Rabbee et al., 2019**).

Chapitre II

MATERIEL ET METHODES

Ce travail a été réalisé au laboratoire phytobactériologie de l'Université Blida 1 Du mois d'Avril au Juillet 2022. Il porte sur la caractérisation de la flore bactérienne d'un sol rhizosphérique aride dans la région de Taghit.

I- Echantillonnage

Quartés Échantillons du sol rhizosphériques ont été prélevés au moins d'Avril à partir de différents cultivars de palmier dattier situé à Taghit(**tableau1**), située à 93 km au sud-est de Béchar.

La région de Taghit s'articule autour d'une palmeraie longue de plus de 20 km .Elle est connue par son climat désertique. La température diurne est chaude à très chaude, alors qu'elle peut aussi être froide la nuit. La pluie n'est pas fréquente. La température moyenne annuelle pour la Taghit est de 27°C degrés et il y tombe 78 mm de pluie chaque année. Les sols sont plutôt des terres agricoles où les conditions d'évolution sont liées à la présence d'humidité en relation avec la circulation des eaux sous le sable.(**Oubadi et al .,2020**).

Tableau 1 : Codes des échantillons étudiés.

Code	Région Taghit	
	Cultivar	Age
TB	Biskra	02 ans
TF	Feggous	10 ans
TC	Cherka	20 ans
TR	Rass el hmar	15ans

II - Isolement des bactéries du sol rhizosphérique.

A une profondeur de 45 cm où se trouve la zone la plus riche en racine ,trois prélèvements de chaque cultivas ont été réalisés et mis dans des sac en papier stérile

II.1. Préparation des dilutions

Les échantillons de chaque région sont mélanger et homogénéiser dans un récipient stérile. A l'aide d'une micropipette de 1000µL une série des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-5}) a été préparée pour chaque échantillon en prélevant 10g de chaque sol et le plaçant dans 90ml d'eau distillée stérile dans des flacons stériles pour obtenir des solutions mères.

Une dilution de 10^{-1} puis de chaque dilution la même opération est répété jusqu'à obtention de la dilution 10^{-5} , les flacons qui contient les solutions mères ont été agités par le vortex pendant 20 a 30 min.



Figure 06 : la préparation des dilutions

II.2. Mise en culture

Un volume de 0,5 ml des dilutions 10^{-2} et 10^{-4} est ensemencé en surface sur milieu LB (Bertani, 1951) et King B (King et al., 1954) à l'aide d'un râtelier stérile (2 répétitions ont été réalisées). Les boîtes de Pétri portant les informations nécessaires (dilution, type du milieu de culture, origine de souches, la date) ont été incubées à 28°C pendant 48-72 h.

III. Purification des souches bactériennes

La purification est une étape très importante. Après le premier ensemencement sur boîte de Pétri, différentes colonies sont obtenues. Chaque colonie d'aspect différent est ensemencée sur les milieux LB et KB pour éliminer les bactéries fluorescentes. Les boîtes ensemencées sont incubées 24h-48h à 28°C. La purification des souches se fait par des repiquages successifs par la méthode d'épuisement en milieu solide LB jusqu'à l'obtention au sein d'une boîte de Pétri de colonies identiques par l'aspect, la couleur et le diamètre.

• Différentiation entre les bactéries fluorescentes et non fluorescentes sur milieu KB

L'utilisation de la lampe UV permet de différencier entre les bactéries fluorescentes et non fluorescentes. La lampe ultraviolette est une ampoule fluorescente qui envoie des rayons ultraviolets. La fluorescence apparaît sur les bactéries qui produisent un pigment appelé pyoverdine chez les bactéries *Pseudomonas fluorescens*. Cette bactérie reflète une couleur jaune-vert ou bleu-vert vraiment froide lorsqu'elle est placée sous une lumière UV (Adela et al., 2015). Les bactéries non fluorescentes ne montrent aucune fluorescence. Dans cette étape, seules les souches non fluorescentes ont été retenues dans la présente étude.

IV. Conservation des souches bactériennes

Les souches pures isolées sont conservées dans des tubes contenant un milieu LB incliné (Les souches sont ensemencées sur la pente des tubes par la méthode des stries), puis incubées à 28°C pendant 24- 48 heures. Les tubes dans lesquels il y a eu une croissance sont conservés à 4°C jusqu'à utilisation ultérieure.

V. Caractérisation des souches

L'identification préliminaire des souches bactériennes a été basée sur la détermination des caractères morphologiques par coloration de Gram et les caractères macroscopiques des colonies et biochimiques par plusieurs tests comme : test de catalase, test oxydase, test de mannitol mobilité nitrate, test de citrate de Simmons.

V.1. Caractères culturels et morphologiques

V.1.1. Aspect des colonies

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé de la durée et la température de l'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées.

L'étude macroscopique a été réalisée en tenant compte des caractères suivants :

La forme des colonies (rondes, irrégulières) et leur taille par la mesure du diamètre : pinctiformes ou non pinctiformes. Leurs couleurs. L'élévation des colonies (convexe, concave, plate), L'opacité : opaque, translucide ou transparente et leurs surface (lisse, rugueuse, sèche)(Denis et al., 2007).

V.1.2 Coloration de Gram

La coloration de Gram est la coloration de base de la bactériologie. C'est une coloration double qui permet de différencier les bactéries d'après leur forme et leur disposition, leur affinité pour les colorants liées à la structure de la paroi.

Une colonie bien isolée est prélevée à l'aide d'une anse de platine, et déposée sur une lame propre comprenant une goutte d'eau distillée stérile réalisant un frottis.. Le frottis est fixé par la flamme du bec Bunsen sur le dos de la lame en verre. Après le refroidissement, la lame est recouverte par le violet de gentiane pendant une minute (première coloration), puis rincée à l'eau distillée, puis la lame est plongée dans Lugol pendant une minute (Mordantage). Elle est ensuite rincée à l'eau distillée. Ensuite, le frottis est soumis à une contre coloration à la fuchsine, la solution de Fuchsine recouvre la lame durant une minute et par la suite rincée la lame à l'eau distillée. Après un rinçage, le frottis est séché puis examiné, consécutivement, à l'objectif 40X et à immersion 100 X (Singleton, 2005)

V.1.3 Test de KOH

Le test de l'hydroxyde de potassium 'KOH' peut être utilisé comme test de confirmation pour la coloration de Gram. La formation d'une chaîne (ADN) dans 3% de KOH indique que l'isolat est un organisme Gram négatif (Les parois cellulaires à Gram négatif sont décomposées par KOH à 3% et libèrent à leur tour un matériau chromosomique viscoïde qui fait que la suspension devient épaisse et filandreuse.

Une goutte de 3% KOH sur une lame microscopique, Ensuite transférer une quantité généreuse de bactéries (cultivées pendant 24-48 h) à la goutte de KOH Remuer soigneusement.(**Bourgault et al.,1988**) .

La solution de bactéries à Gram négatif sera visqueuse et formera une chaîne mucoïde dans les 30 secondes, la solution de bactéries a gram positif ya pas de formation d'un filament visqueux.

V.2 Caractères biochimiques

V.2.1. Test catalase

La catalase est une enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



Sur une lame propre une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes est déposée et émulsionnée un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulle traduit la décomposition de dioxygène. Le test catalase est positif et s'il n'y a pas de bulles : le test catalase est négatif (**Soltani, 2017**).

V.2.2. Test oxydase

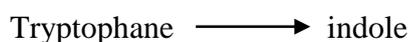
L'oxydase est une enzyme qui catalyse la fixation d'hydrogène et des électrons sur une molécule d'oxygène. Le cytochrome oxydase présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes, et intervenant à la fin de la chaîne d'oxydoréduction (**Denis et al., 2007**).

Sur un papier Whatman une suspension épaisse de bactéries à partir d'une culture jeune est déposée sur gélose puis une goutte d'Oxydase est ajoutée (Le chlorhydrate ou le N-diméthyl paraphénylène diamine 1% est utilisé comme réactif).

L'apparition d'une couleur violette indique une réaction positive et l'absence de la couleur violette indique que la bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite Oxydase négative.

V.2.3. Recherche de la production d'indole

Certaines bactéries dégradent le tryptophane en indole grâce à une tryptophanase



La recherche d'indole est effectuée sur milieu riche en tryptophane. L'indole produit est révélé par le réactif de Kovacs. Environ 3 gouttes du réactif de Kovacs sont ajoutées à un tube contenant le milieu indole après l'avoirensemencé et incubé à 28°C pendant 24 h. le tube est agité, ensuite laissant le réactif remonter en surface. (**Meziani, 2012**).

L'apparition d'un anneau rouge en surface indique une réaction positive, et l'apparition d'un anneau brunâtre indique une réaction négative.

V.2.4. Recherche de la gélatinase

La gélatine peut être incorporée dans un milieu de culture afin de mettre en évidence sa dégradation par certaines bactéries possédant une gélatinase. Cette enzyme hydrolyse le collagène en acides aminés ou peptides (**Joffin et Lyeral, 2006**).

Une quantité importante de la souche bactérienne à tester estensemencée dans un tube contenant 5ml de le milieu incliné de gélatine, puis incubé à 28°C pendant 7 jours . Après incubation, les tubes sont mis directement à 4 °C pendant 30 min et la lecture se fait juste après. Si la gélatine demeure liquide, la souche bactérienne est gélatinase positive (+), Si la gélatine devient solide, donc la souche bactérienne est gélatinase négative (-).(**Joffin et Lyeral, 2006**).

V.2.5. Test de citrate de Simmons

Ce milieu est un exemple de milieu synthétique dont la composition, qui est complexe, est connue exactement tant qualitativement que quantitativement.

Dans ce milieu, le citrate est l'unique source de carbone. L'utilisation de ce substrat, pour la plupart des bactéries pouvant le cataboliser, est une utilisation aérobie, et se traduira par une alcalinisation du milieu. (**Bey, 2009**). L'équation de l'oxydation par respiration aérobie du citrate est :



L'ensemencement se fait à partir d'une culture jeune sur la pente par une strie longitudinale à l'aide d'une anse.

Le bouchon n'est pas visé à fond, afin de permettre les échanges gazeux (en particulier élimination du dioxyde de carbone). Les tubes sont incubés dans l'étuve 24h à 28°C.

Le virage de l'indicateur de pH au bleu en cas d'alcalinisation du milieu et la souche est citrate positive. En absence d'alcalinisation du milieu ne présentent pas de culture. La souche est citrate négative (**Bey, 2009**).

V.2.6. Mannitol-Mobilité nitraté

Ce milieu permet l'étude de la fermentation du mannitol et la mobilité de la souche et la recherche de du nitrate réductase.

V.2.6.1. Mannitol-mobilité

Le milieu est ensemencé à l'aide d'un fil de platine ou une pipette Pasteur à bout fermée et incubé à 27°C pendant 24 h). La lecture de l'utilisation du mannitol est possible grâce à la présence d'un indicateur de pH, le rouge de phénol. L'utilisation du mannitol acidifie le milieu qui peut ainsi être révélé par le virage de l'indicateur de pH à sa teinte acide (jaune) (**Sayad, 2008**).

Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement.

V.2.6.2. Nitrate réductase

La présence de nitrate de potassium permet aussi la recherche du nitrate réductase grâce à ce milieu. Certaines bactéries ont la capacité de réduire le nitrate en nitrite selon la réaction suivante :



Tandis que d'autres peuvent poursuivre cette réaction jusqu'au stade d'azote gazeux :



La première et la dernière réaction sont respectivement catalysées par la nitrate et la nitrite réductase (**Delarras, 2007**). La mise en évidence du nitrate réductase se base sur la recherche des nitrites formés en fin de réaction en utilisant les réactifs NR1 et NR2.

Après l'ensemencement et l'incubation des tubes pendant 24 heures à 27°C, 2 gouttes du réactif NR1 et 2 gouttes du réactif NR2 sont ajoutées, puis les tubes sont agités par le vortex.

L'apparition d'une couleur rouge indique la présence d'une nitrate réductase donc la souche sera dite nitrate réductase positive (NR+). La couleur du milieu ne change pas, dans ce cas une petite quantité de poudre de zinc est ajoutée (réducteur de nitrates). Le changement de milieu vers le rose ou rouge, indique la présence des nitrates dans le milieu, ce qui signifie que ces composés n'ont pas été réduits par la bactérie ; cette souche est nitrateréductase négative (NR-). Si le milieu reste incolore, donc il ne reste plus de nitrate dans le milieu ; dans ce cas la bactérie les a réduits au-delà du stade nitrite atteignant le stade azotegazeux. (**Boulekroune, 2008**).

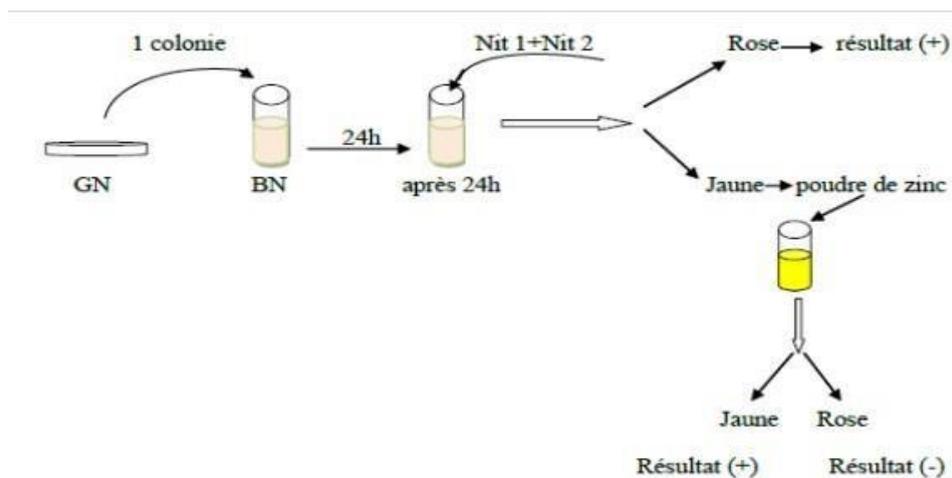


Figure 08: protocole de test nitrate réductase (**Boulekrone, 2008**).

V.2.7. Test d'oxydation et fermentation du glucose

Le milieu Hugh et Leifson appartient aux milieux MEVAG (milieux d'études de la voie d'attaque des glucides), contenant un indicateur de pH et permettant de déterminer la voie métabolique des bactéries (la voie oxydative ou fermentaire).

Deux tubes à essai contenant environ 5 ml de milieu de culture, 0,5 ml de glucose est additionnée avant l'ensemencement du milieu par une culture jeune (24 h-48 heures) par pique centrale à l'aide d'une anse en platine en forme d'aiguille.

Pour la voie fermentative, les tubes sont d'une couche d'huile de vaseline stérile environ 1cm d'épaisseur en vue de créer les condition d'anaérobiose, et les bouchons sont serrés. Et pour la voie oxydation les bouchons ne sont pas serrés.

La lecture du résultat consiste à observer le virage de la couleur du milieu. Le virage de la couleur du milieu vers le jaune dans le tube avec l'huile de vaseline indique que les bactéries sont fermentatifs. Les bactéries oxydatives montrent un changement de la couleur du milieu au jaune dans le tube sans l'huile de vaseline. Cependant, les bactéries oxydatives fermentatives donnent un virage au jaune des deux tubes avec ou sans l'huile de vaseline respectivement (**Denis et al., 2007**).

V.2.8. Test de Levane sucrase

Le test levane permet de vérifier la polymérisation du fructose en polyfructose par la bactérie.

Sur milieu levane en boîte l'ensemencement de la bactérie est réalisé 24 heures après, à l'aide d'une anse de platine stérile, en réalisant des stries sur le milieu. Les boîtes ainsi ensemencées sont maintenues pendant 48 h à 28°C.

La réaction positive se traduit par la présence des stries partiellement saillante et luisante (vue du dessus) avec la présence d'une zone opaque et luisante en marge de la strie (vue de dessous). Tandis que la réaction négative se traduit par des stries prostrées.

VI. Les tests enzymatiques

VI.1 Production d'Acide Indole Acétique (AIA)

La production d'auxines a été testée sur gélose LB (Lauria broth) auquel est ajouté 1 g/l de L-tryptophane. Le milieu a été recouvert de disques de papier Whatman puis incubées à 28°C pendant 48 h. Le papier a été, ensuite, imprégné de réactif de Salkowski (2% de FeCl_3 à 0.5M dans 35% d'acide perchlorique).

L'apparition d'une couleur rose rouge, après 30 minutes de réaction indique la production d'AIA, (Naik et Sakthivel, 2006).

VI.2 Test de solubilisation du phosphate

La capacité des souches bactériennes à solubiliser le phosphate a été testée sur le milieu de Pikovskaya solide (PVK) contenant du $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ comme seule source de phosphate, Après incubation des bactéries à 27°C pendant 7 jours, le diamètre du halo de clarification autour des colonies a été déterminé selon la méthode de Babana.

La présence d'un halo indique la production de substances dissolvant le phosphore (**Rathaur et al., 2013**).

VI .3 Production de cyanure d'hydrogène (HCN)

La production d'HCN par les souches bactériennes a été testée sur milieu solide Contient de la glycine (4.4 g/l).

Le papier Whatman stérile a été imprégné d'une solution de picrate de sodium (5% d'acide picrique et de 2% de carbonate de sodium) puis déposé à l'intérieur de couverture des boîtes de Pétri contenant la culture bactérienne. Ces dernières sont scellées au parafilm et gardées en position inverse dans l'étuve à 28°C/4.jours. les boîtes sont vérifiées quotidiennement afin d'identifier les souches HCN positive.

L'apparition d'une couleur orange à rouge traduit la production d'HCN par la bactérie productrice (**Abbas-Zadeh et al., 2010**).

VI .4 Production d'ammoniac (NH₃)

La production de NH₃ a été testée sur une eau peptonée. La suspension bactérienne de 10 ml a été incubée à 28°C/ pendant 48h.

L'accumulation de l'ammoniac a été détectée par l'addition de 1 ml de réactif de Nessler dans chaque culture bactérienne.

Le résultat positif se traduit par l'apparition d'une couleur jaune ou marron (**Kavitha et al., 2013**).

VI.5 Test de la formation de biofilm

C'est un test qualitatif et quantitatif. Ce test a été réalisé dans des eppendorfs transparents de 1,5 ml. Un volume de 10 μ l de suspension bactérienne est successivement inoculé dans 0,5 ml d'un milieu LB liquide (2 répétitions pour chaque souche). La préparation des suspensions bactériennes a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre dont la densité optique de chaque suspension est mesurée entre 0,27nm et 0,33nm à une longueur d'onde de 620 nm.

L'incubation a lieu à une température de 27°C. Pendant 20h. Après un temps de réaction de 20h, un volume de 1 ml de la solution de cristal violet (0,4 %) est ajoutée aux tubes après élimination du milieu initial. Le cristal violet est éliminé après 15 minutes et les eppendorfs sont rincés 3 fois à l'EDS. L'examen est positif s'il y a une visualisation d'un anneau sur la paroi de l'eppendorf. La lecture consiste à solubiliser les biofilms colorés après ajout de 1 ml d'éthanol et à mesurer leur densité optique (DO) par la lecture de l'absorbance, se fait à une longueur d'onde de 620 nm pour quantifier le biofilm obtenu, un témoin est préparé avec l'éthanol et utilisé comme standard lors de la lecture au spectrophotomètre. (Lattab, 2018).



Figure 09 : la méthode de formation de biofilm

VI.6 Antagonisme *in vitro*

L'activité antibactérienne des isolats bactériens a été mise en évidence par la méthode de stries croisées sur milieu LPGA. 16 souches ont été sélectionnées (qui sont hyper et fortement productrices de biofilm) et ensemencées en un seul trait à la surface du milieu puis incubées à 28°C pendant 48h. Une culture jeune des bactéries pathogènes pour l'Homme *Escherichia coli* qui cause une infection urinaire et pour les plantes la souche *Agrobacterium tumefaciens* qui cause la tumeur du collet des arbres fruitiers ont été ensemencé perpendiculairement aux stries longitudinales, Les boîtes ont été incubées à 37°C en fonction de la température de croissances des germes cibles pendant 24h à 48h (Boubetra et al.,2013).

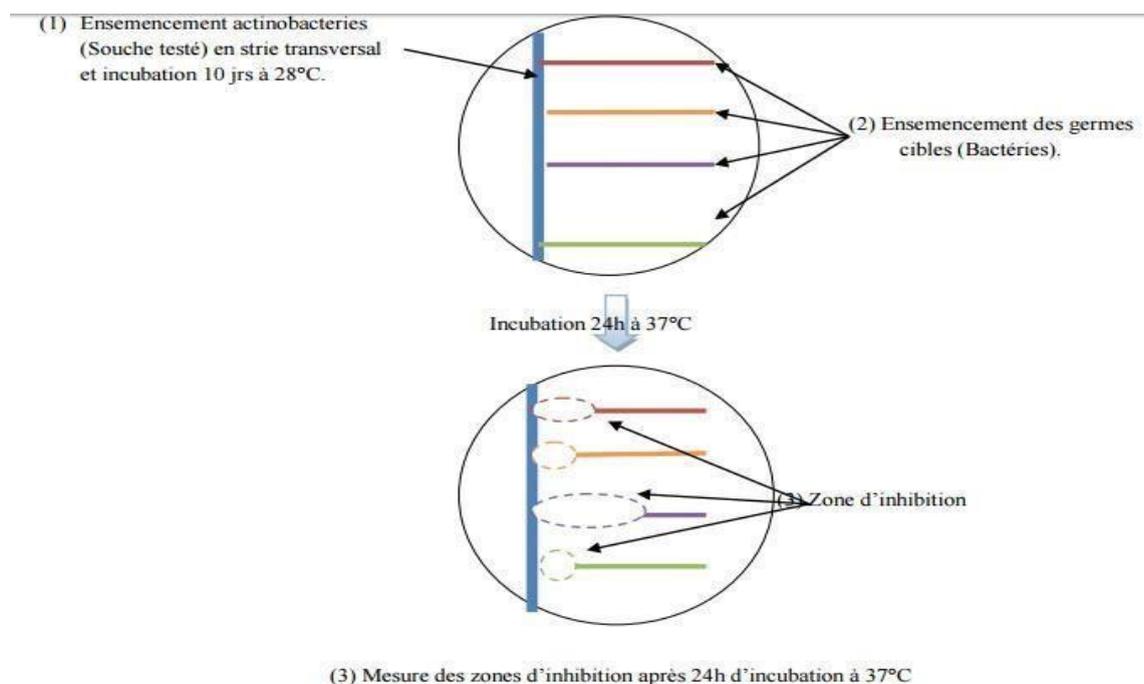


Figure 10 : Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode de stries croisées (Boubetra et al.,2013).

Chapitre III

Résultats et Discussion

I. Résultats d'identification des souches isolées

I.1 Résultats d'examen macroscopique

Quatre Échantillons sol rhizosphérique de palmier dattier ont fait objet d'isolement. Après l'isolement une collection de souches ont été obtenues par la méthode des dilutions. L'examen macroscopique des cultures est le premier examen de la culture après l'isolement. L'étude macroscopique a permis de sélectionner 30 isolats non fluorescents distincts par différentes caractéristiques : la forme (20 colonies qui ont une forme circulaire et 10 colonies qui une forme irrégulière) et la couleur (15 colonies qui ont la couleur blanches et 15 colonies qui ont la couleur jaunâtre) (**Tableau2**)

Tableau 2 : observations macroscopiques de souches isolées.

Région	codes	Taille	couleur	forme	Elévation	contour	surface	Consistance
TR	TR5	Moyenne	Blanche	Circulaire	Bouclé	Irrégulière	Rugueuse	Crème
	TR7	Petite	Jaunatre	Circulaire	Convexe	Régulière	Lisse	Crème
	TR6	Moyenne	Blanche	Irrégulière	Plate	Irrégulière	Lisse	Crème
	TR3	Petite	Jaunatre	Circulaire	Convexe	Ondulé	Rugueuse	Sèche
	TR4	Grosse	Blanche	Irrégulière	Plate	Ondulé	Lisse	Muqueuse
	TR2	Petite	Jaunatre	Irrégulière	Bombé	Régulière	Lisse	Crème
	TR1	Moyenne	Jaunatre	Circulaire	Plate	Régulière	Lisse	Muqueuse
TF	TF4	Petite	Blanche	Circulaire	Plate	Régulière	Rugueuse	Sèche
	TF6	Moyenne	Blanche	Circulaire	Plate	Régulière	Lisse	Muqueuse
	TF10	Petite	Blanche	Circulaire	Bombé	Régulière	Lisse	Sèche
	TF8	Grosse	Blanche	Irrégulière	Convexe	Irrégulière	Rugueuse	Sèche
	TF9	Petite	Jaunatre	Circulaire	Convexe	Régulière	Lisse	Muqueuse
	TF5	Grosse	Blanche	Irrégulière	Plate	Ondulé	Lisse	Muqueuse
TC	TC1	Grosse	Blanche	Irrégulière	Plate	Filamenteuse	Rugueuse	Muqueuse
	TC4	Moyenne	Jaunatre	Circulaire	Plate	Ondulé	Lisse	Muqueuse
	TC10	Moyenne	Blanche	Circulaire	Plate	Régulière	Lisse	Crème
	TC3	Moyenne	Blanche	Circulaire	Plate	Régulière	Lisse	Crème
	TC9	Petite	Jaunatre	Circulaire	Convexe	Régulière	Lisse	Muqueuse
	TC5	Petite	Jaunatre	Circulaire	Convexe	Régulière	Lisse	Crème
	TC13	Petite	Blanche	Circulaire	Plate	Régulière	Lisse	Sèche
	TC11	Moyenne	Jaunatre	Irrégulière	Convexe	Lobé	Rugueuse	Sèche
	TC7	Petite	Jaunatre	Irrégulière	Plate	Ondulé	Lisse	Muqueuse
	TC6	Grosse	Blanche	Irrégulière	Plate	Ondulé	Lisse	Crème
	TC8	Petite	Blanche	Circulaire	Plate	Régulière	Lisse	Muqueuse
	TC12	Petite	Jaunatre	Circulaire	Convexe	Régulière	Lisse	Crème
TB	TB1	Petite	Blanche	Circulaire	Plate	Régulière	Lisse	Sèche
	TB2	Moyenne	Jaunatre	Circulaire	Plate	Ondulé	Lisse	Crème
	TB3	Petite	Jaunatre	Circulaire	Plate	Régulière	Lisse	Muqueuse
	TB4	Petite	Jaunatre	Circulaire	Plate	Régulière	Lisse	Muqueuse

I.2 Résultats d'examen microscopique

L'observation microscopique a été réalisée après la coloration de Gram montrant une variété de types bactériens. Ces colonies présentent différentes formes: bacille, coccobacille ou Cocci. Elles sont assemblées en différents arrangements soit en paire, en amas, en chainettes ou même isolées. Les colonies présentent aussi une paroi à Gram positif ou à Gram négatif. Parmi les 30 isolats, 17 bactéries se sont révélées à Gram négatif et 13 bactéries à Gram positif . (Figure 12)

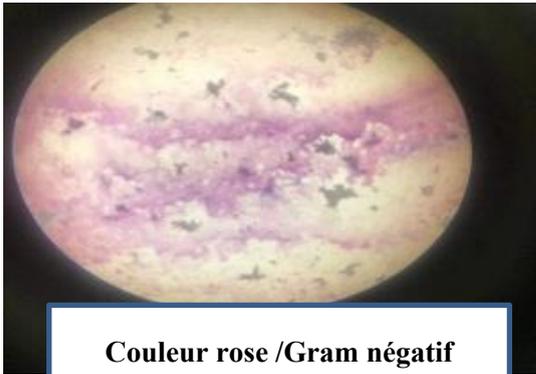
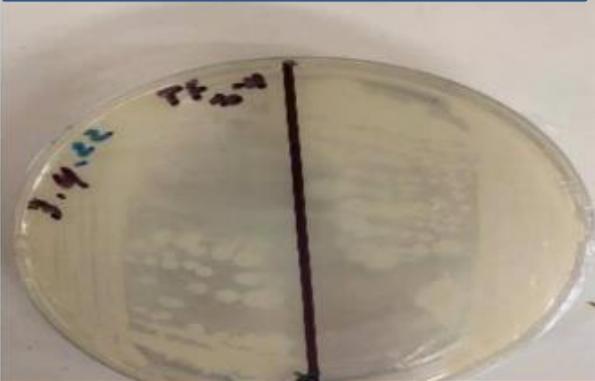
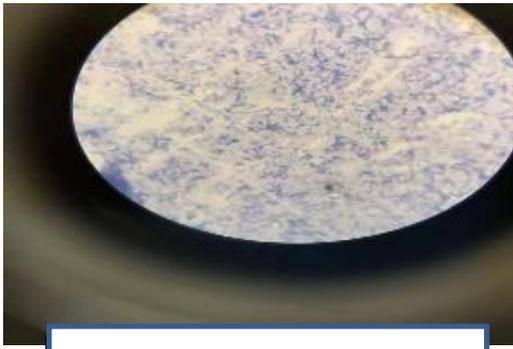
Observation macroscopique	Observation microscopique
 <p data-bbox="225 1263 810 1346">TB3 : forme Circulaire /Couleur blanche</p>	 <p data-bbox="895 1205 1353 1294">Couleur rose /Gram négatif</p>
 <p data-bbox="213 1733 815 1816">TF10 : forme Circulaire/couleur blanche</p>	 <p data-bbox="895 1756 1337 1839">Couleur violet /Gram positif</p>

Figure 12 : les différents caractères des souches isolées.

Tableau 3 : Résultats des souches à gram positif et à gram négatif

Gram+	Gram-
TC9,TC12,TC5,TB3,TB1,TF10,TF3,TF6,TR5,TF9 TB2,TR2,TR1	TR6, TF8 , TR7, TC1,TB4,TR4 TC6 ;TC11 TF5, TC10,TC8,TC4,TR3,TC13,TC7,TF4 TC3

I.2.1 Résultats de test KOH

Le résultat KOH positif montre que le mélange devient visqueux et la formation d'un filament lorsque l'anse est levée, ce qui signifie que la bactérie est à Gram –.

Tandis que le résultat KOH négatif est révélé par l'absence de filament : bactérie est à Gram positif. a partir de 30 isolats , 16 souches sont à à Gram positif et 14 bactéries à à Gram négatif . (Tableau 4.

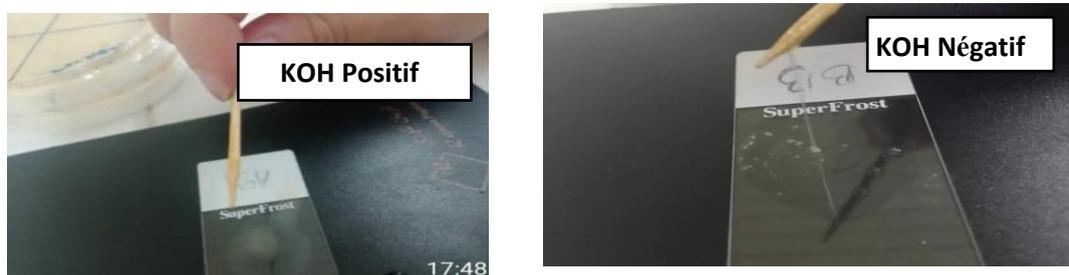
**Figure 13 : Résultats de test KOH**

Tableau 4 : Résultats de test KOH

KOH-	KOH+
TC9 ,TC12,TC5,TB3,TB1,TF10,TF3,TF6 TR5,TF9,TB2 ,TR2,TR1	TR6,TF8,TR7,TC1,TB4,TR4,TC6,TC11 TF5 ,TC10,TC8,TC4,TR3,TC13,TC7 ,TF4 TC3

II. Résultats des tests biochimiques

II. 1 Résultats de test de catalase

L'apparition des bulles de gaz après l'addition de H₂O₂, révèle une réaction positive. Dans cette étude, tous les isolats sont catalases positive indiquant qu'elles possèdent la catalase et qu'elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles. (Tableau 16)

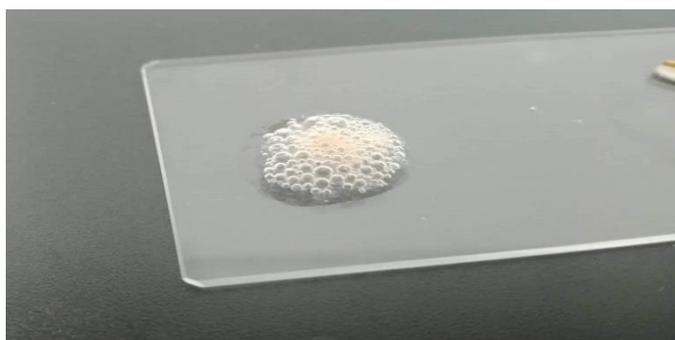


Figure14 : Résultat positif pour le test catalase.

II.2 Résultats de test d'oxydase

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout les bacilles à Gram négatif. l'oxydase est un test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bacteries à Gram négatif qui produisent cette enzyme

A partir de 30 isolats,17 souches se sont montrées à oxydase positif indiquant l'apparition d'une couleur rouge violacée au bout de 10 secondes. Toutefois, 13 bactéries à oxydase négatif présentant une réaction est tardive entre 10 et 60 secondes (Tableau 5)

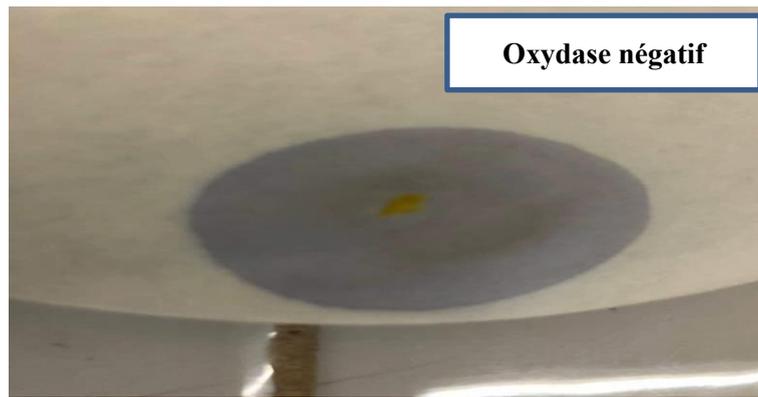


Figure15 : Résultat pour le test oxydase

Tableau 5 : Résultats de test oxydase

Oxydase+	Oxydase-
TR6,TF8,TR7,TC1,TB4,TR4,TC6,TC11,TF5,TC12,TC5,TB3,TB1,TF10,TF6,TC9,TF3	TC10,TC8 ,TC4,TR3,TC13,TC7,TF4,TC3,TR5TF9,TB2,TR2,TR1

II.3 Résultats de test de recherche de nitrate réductase

Ce milieu permet l'étude de la fermentation du mannitol et la mobilité des souches et la recherche de du nitrate réductase alors Le milieu devient rouge c'est la Présence de nitrate. la bactérie possède un nitrate réductase (NR+) et quand il reste inchangé dans ce cas-là on ajoute la poudre de zinc qui joue le même rôle que le nitrate réductase vis-à-vis des nitrates , si il Ya Pas de coloration : les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrates. La bactérie possède cette enzyme, résultats (NR+). (**Tableau 6**)

Tableau 6 : Résultats de test nitrate réductase

NR positif	NR négatif
TR6, TR7, TC11, TC9, TC1, TC12, TR3, TB2 TB4, TC13, TR4, TF5, TF9, TC5, TC8 TC7, TC6, TR1, TF8, TB1, TF10, TC10,	TR5, TC4, TR2, TC3, TF3, TF4, TF6, TB3



Figure16 : Résultats de nitrate réductase après addition de Zinc

II .4 Résultats de test Mannitol Mobilité

Ce test est utilisé pour les bactéries fermentatives. Il permet de mettre en évidence deux caractères : l'utilisation du mannitol et la mobilité. Parmi de 30 isolats, 25 colonies se sont révélées à mannitol positif montrant un changement de couleur du milieu vers le jaune. Cependant, 5 souches sont à mannitol négatif dont le milieu reste rouge. Pour La mobilité, elle se traduit par l'envahissement de la gélose molle. (**Tableau 7**)

Tableau 7 : Résultats de test mannitol

Mannitol mobilité +	Mannitol mobilité-
TR6,TR7,TR5 ,TC9,TC10,TC4,TC1,TC12 TC3,TR3,TB2,TB4,TF3,TC13,TB1 ;TF10 TF8,TR4,TF9,TC5, TC6,TB3,TC8,TC7,TF4	TC11, TR2,TF6 , TF5 , TR1

II .5 Résultats de test du citrate de Simmons

La gélose citrate de Simmons est un milieu de culture utilisé pour la différenciation des bactéries à Gram-négatif sur la base de l'utilisation du citrate.

Les résultats ont montré qu'à partir de 30 isolats, nous avons obtenu 18 souches a citrate positif se traduits par le virage de l'indicateur de pH au bleu et 12 souches a citrate négatif dont le milieu reste vert. (Tableau 8)

Tableau 8 : Résultats de test du citrate du Simmons

Citrate de Simmons +	Citrate de Simmons -
TR6,TR5,TC9,TC4,TC1,TC3,TB4,TC13 TB1,TF10,TR4,TF5,TF9,TC5,TC8,TB3 TF4,TF8	TR7,TC11,TC10,TC12,TR2,TR3,TB2,TF3 TF6,TC7,TC6,TR1



Figure18 : Résultat pour le test Citrate de Simmons

II .6 Résultats de test d'indole

Le test d'indole est effectué pour rechercher la capacité d'un organisme à dégrader le tryptophane et produire de l'indole, Après 24 h d'incubation et l'ajout du réactif de Kovacs au milieu, 27 souches ont montré un résultat positif par l'observation d'un anneau rouge en surface. Tandis que 3 souches à indole négatif présentant un anneau brunâtre ainsi que le témoin non inoculé. (Tableau 9).

Tableau 9 : Résultat de test indole

Indole positif	Indole négatif
TR6,TR7 ,TC11,TR5,TC9,TC10,TC4,TC1 TC12,TR2,TR3,TB2 ,TB4,TB1,TF10 ,TF6 TF5,TF9,TC5,TF8,TR4,TC6,TB3,TF10,TC8,TC7 TF4,TR2	TF3, TC13, TC3



Figure 19 : Résultat de test d'indole

II .7 Résultats de test de gélatine

La gélatine peut être incorporée dans un milieu de culture afin de mettre en évidence sa dégradation par certaines bactéries possédant une gélatinase. Après 7 jours d'incubation, la gélatine a demeuré liquide chez 5 souches qui sont à gélatinase positive (+). En revanche, 25 souches sont à gélatine négatif dont la gélatine reste solide comme le témoin non inoculé (Tableau 10)

Tableau 10 : Résultats de test de la gélatine

Gélatine positif	Gélatine négatif
TR6,TC3,TR3,TB1,TC8	TR7,TC11,TR5,TC9,TC10 ,TC4,TC1,TC12 TR2,TB2,TB4,TF3,TC13,TF10,TF6,TR4 TF5,TF9,TC5,TC7,TC6,TB3,TF4,TR1,TF8

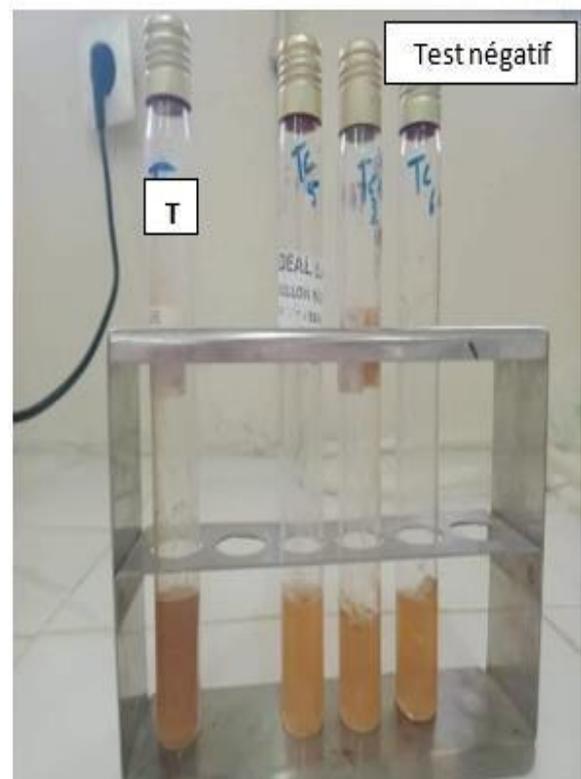
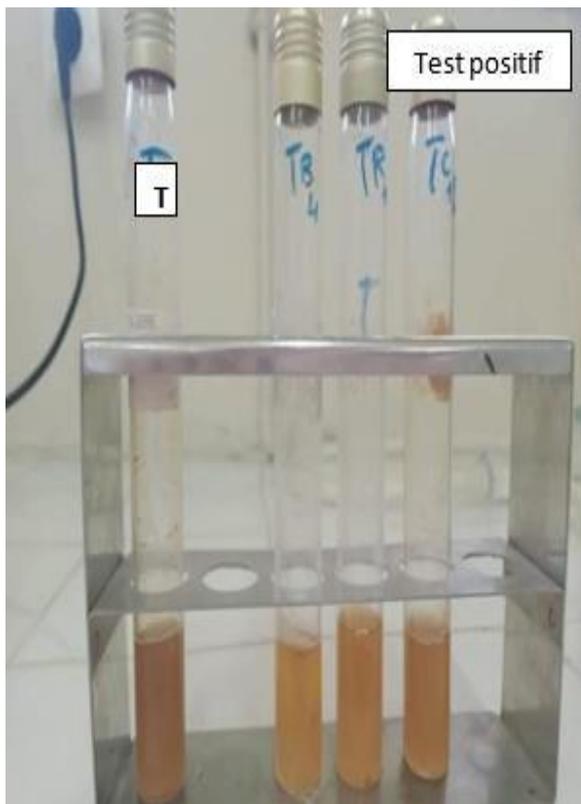


Figure 20 : Résultat de test gélatine

II .8 Résultats de test fermentation et d'oxydation de glucose

Après 24 h d'incubation, 18 souches sont à oxydation positive dont le milieu devient jaune et 12 souches à oxydation négative sans virage de milieu et pour fermentation on ajoutant vaseline alors les bactéries fermentatives sont positif (toutes les souches à fermentation positif) ,Les bactéries oxydatives dans le milieu deviennent jaune donc oxydation positif. Alors à partir de 30 isolats on a obtenu (**tableau 11**).

Tableau 11 : Résultats de test d'oxydation

Oxydation positif	Oxydation négatif
TR6,TF8,TR7,TC1,TB4,TR4,TC9,TC12,TC5 TB3,TB1 ,TF10,TF3,TC8 ,TC13,TC7,TR5 TR1	TC6,TC11,TF5 ,TF6,TC10,TC4,TR3,TF4 TC3,TF9,TB2,TR2

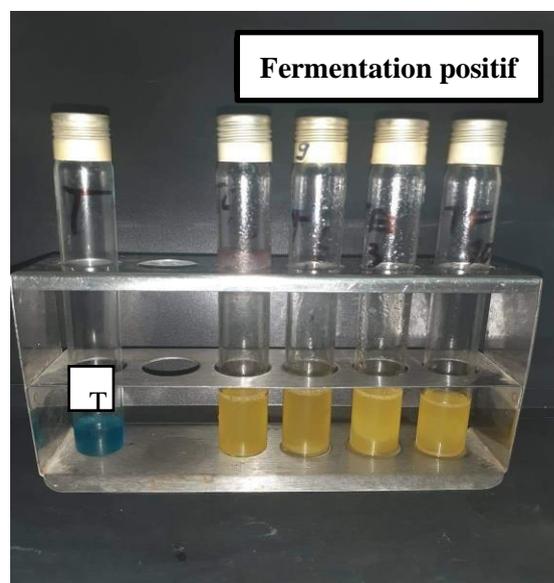
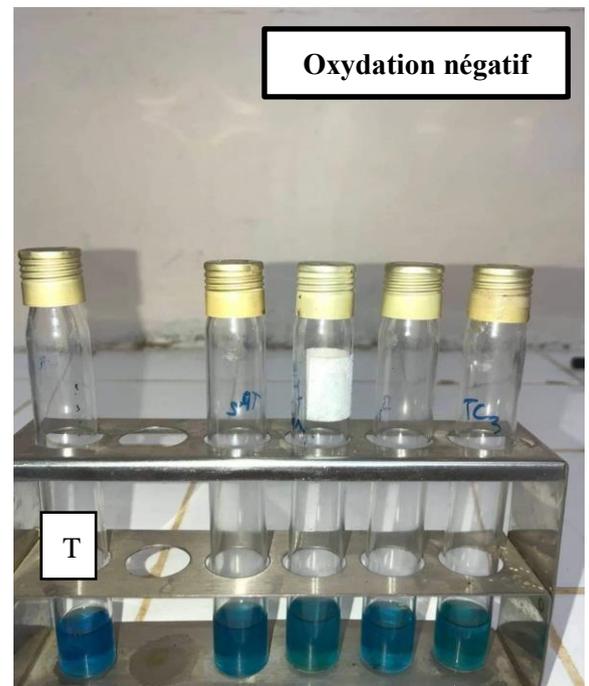
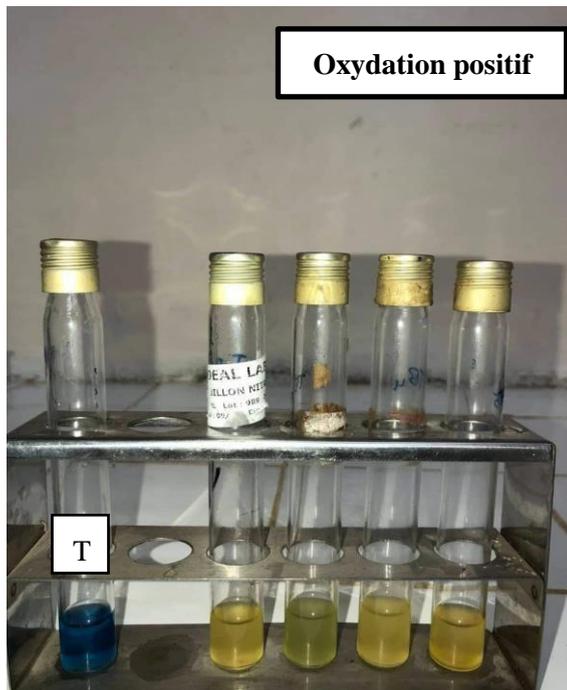


Figure 21 : Résultat de test de fermentation et d'oxydation de glucose

II .9 Résultats de test de levane sucrase

Le test levane nous permet de vérifier la polymérisation du fructose en polyfructose par la bactérie. La lecture des résultats a montré que parmi la collection étudiée, 8 souches sont à levane positif , une culture partiellement saillante et lisse. En revanche, 22 souches à levane négatif dont les stries sont prostrées (**tableau16**)

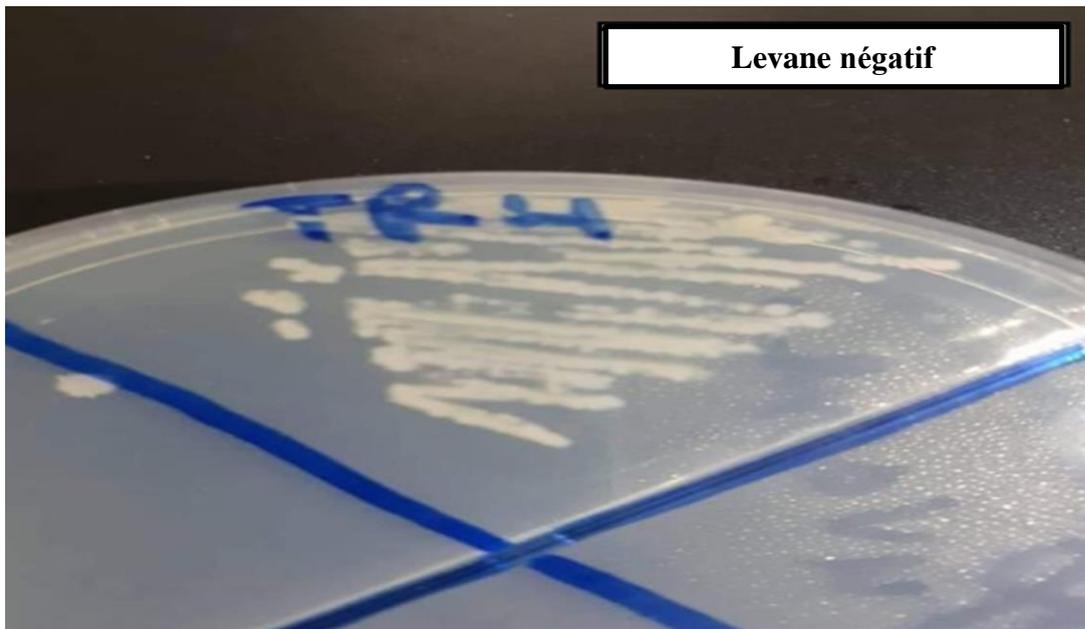


Figure 22 : Résultat de test levane sucrase

II. Résultats des tests enzymatiques

III.1 Résultats de test d'Acide Indole Acétique (AIA)

Les résultats montrent l'apparition d'une couleur rose rouge chez 14 souches indiquant une réaction positive et une production d'AIA. Alors que 16 souches sont à AIA négatif (Naik et Sakthivel, 2006) (tableau 12)

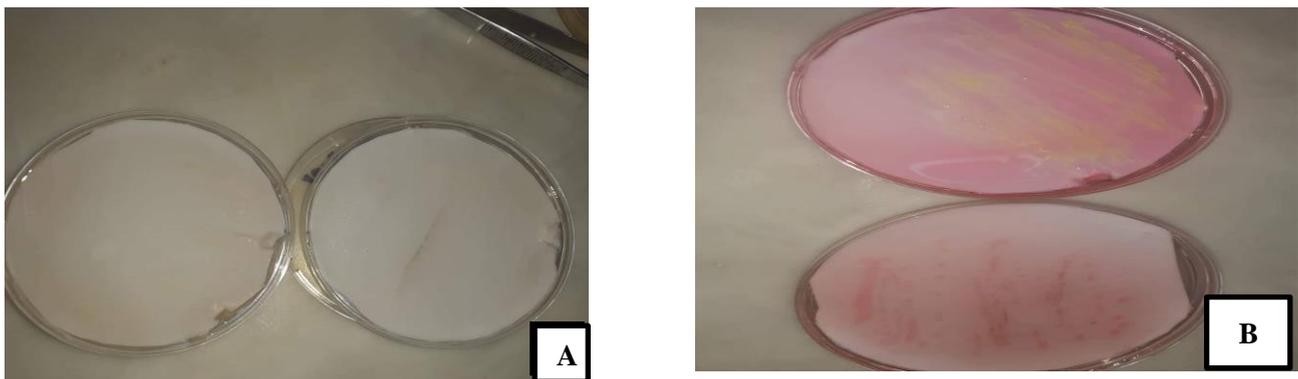


Figure 23 : Résultat de test AIA

A : AIA négatif **B** : AIA positif

Tableau 12 : Résultats de test AIA

AIA positif	AIA négatif
TR6,TC11,TC9,TC10,TC4,TR2,TF3,TB1 TR4,TF5,TF9,TC8,TF4,TR1	TR7,TR5,TC1,TC12,TC3,TR3,TB2,TB4 TC13,TF10,TF6,TF8,TC5,TC7,TC6 ;TB3

III.2 Résultats de Production de cyanure d'hydrogène (HCN)

La production d'HCN par les souches bactériennes a été testée sur milieu solide contenant de la glycine. Après 4 jours, les résultats montrent l'apparition d'une couleur orange à rouge indiquant la production d'HCN par 9 souches bactériennes testées. Toutefois, nous avons obtenu 21 souches à HCN négatif (**Tableau 13**)

Tableau 13 : Résultats de test HCN

HCN positif	HCN négatif
TR6,TF8,TR4,TC9,TB3,TB1,TC8,TR5 TR1	TR7,TC1 ,TB4,TC6,TC11,TF5,TC12,TC5 TF10,TF3,TF6,TC10,TC4,TR3,TC13,TC7 TF4,TC3,TF9,TB2,TR2

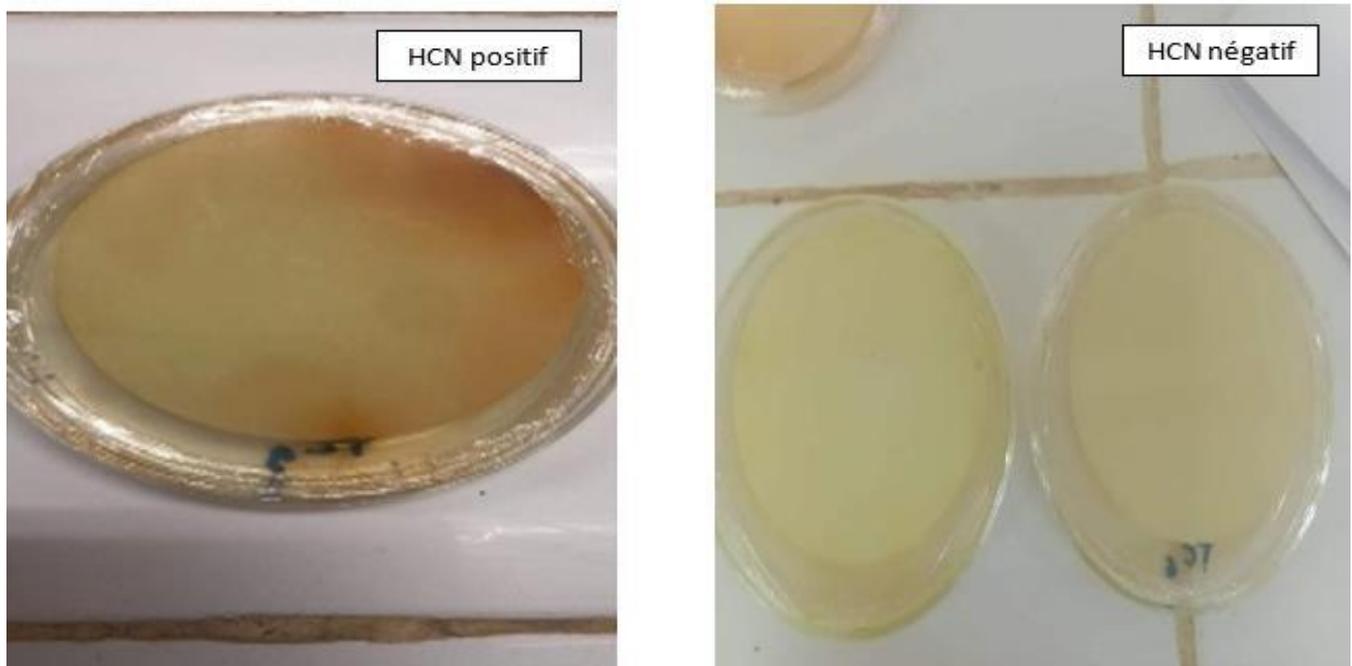


Figure 24 : Résultats de test HCN

III.3 Résultats de Production d'ammoniac (NH₃)

Après 48h, 28 souches ont donné une réaction positive par la formation d'un anneau jaune ou marron indiquant la production d'ammoniac alors que 2 souches ont montré une réaction négative par l'absence d'anneau. (**Tableau 14**)

Tableau 14 : Résultats de test d'ammoniac

Test positif	Test négatif
TR6,TF8,TR7,TC1,TB4,TR4,TC6,TC11 TF5,TC9,TC12,TC5,TB3,TB1,TF10,TF6 TC10,TC8,TC4,TR3,TC13,TC7,TF4,TR5 TB2,TR2,TR1, TF9	TF3, TC3

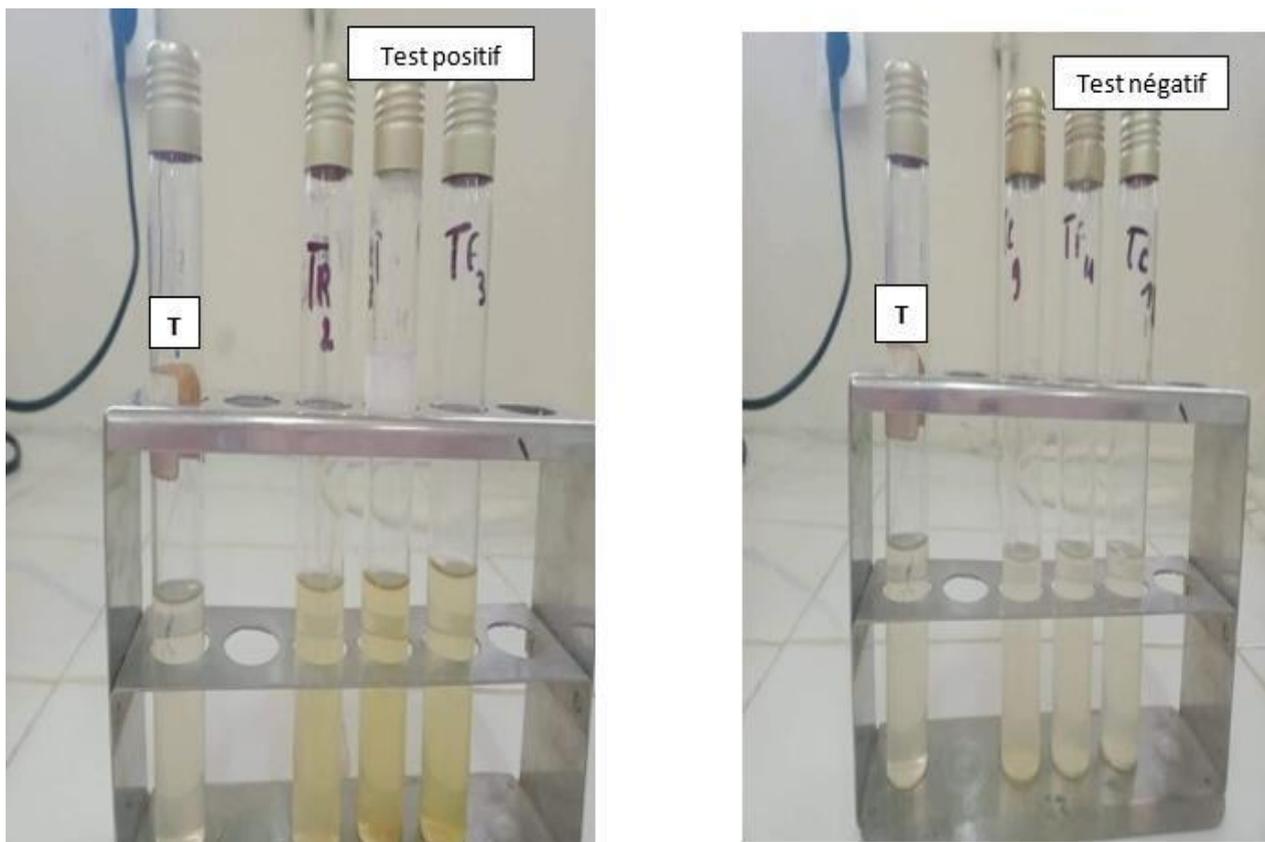


Figure 25 : Résultat de Production d'ammoniac

III.4 Résultats de test de solubilisation de phosphate

La capacité de la souche bactérienne à solubiliser le phosphate a été testée sur le milieu de Pikovskaya. Après 7 jours d'incubation, la présence d'un halo clair autour de la culture a été observé chez 20 souches indiquant une réaction positive par la production de substances dissolvant le phosphore. Toutefois, 10 souches sont à phosphate négatif ne montrant aucun halo . (Tableau 15)

Tableau 15 : Résultats de test de phosphate

Phosphate positif	Phosphate négatif
TR6,TF8,TR7,TB4,TR4,TC11,TF5,TC9 TC12,TC5,TB1,TF10,TF3,TF6,TC10,TR3 TC13,TC3,TR5,TF9,TB2	TC1,TC6,TB3,TC8,TC4,TC7,TF4,TR2 ;TR1



Figure 26 : Halo de transparence autour de la colonie

Tableau 16 : Résultat des tests et identification des souches

les codes	Catalase	Oxydase	KOH	Levane	Manitole	Mobilité	Nitrate	Indole	fermentation	Oxydation	AIA	HCN	Gélatine	Ammoniac	Citrate de simmons	Phosphate	Les espèces probables	Référence
TR6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Azotobacter</i> sp.	Yusminah et al., (2019).
TF8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	<i>Azotobacter</i> sp	Yusminah et al., (2019).
TR7	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Azotobacter</i> sp	Yusminah et al., (2019).
TC1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	<i>Agrobacterium</i> sp	Tsugama., (2019).
TB4	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Azotobacter</i> sp	Yusminah et al., (2019).
TR4	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	<i>Azotobacter</i> sp	Yusminah et al., (2019).
TC6	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	<i>Chromobacterium</i> sp	Parajul et al. (2016)
TC11	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>Azotobacter</i> sp	Yusminah et al., (2019).
TF5	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	<i>Azotobacter</i> sp	Yusminah et al., (2019).
TC9	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	<i>Azotobacter</i> sp	Yusminah et al., (2019).
TC12	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Rhizobia</i> sp	
TC5	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Agrobacterium</i> sp	Tsugama., (2019).
TB3	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	<i>Rhizobia</i> sp	
TB1	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp	Marpaung et al., (2021)
TF10	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Agrobacterium</i> sp	Tsugama., (2019).
TF3	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	<i>Arthrobacter</i> sp	Divya kall., (2021).
TF6	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp	Marpaung et al., (2021)
TC10	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	<i>Azospirillum</i> sp	Fabricio Cassán et al., (2020).
TC8	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Azospirillum</i> sp	Fabricio Cassán et al., (2020).
TC4	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	<i>Bacillus</i> sp	Marpaung et al., (2021)
TR3	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	<i>Rhizobia</i> sp	Marpaung et al.(2021).
TC13	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	<i>Burkholderia</i> sp	Alaa hani al-charrakhet al. (2014).
TC7	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	<i>Chromobacterium</i> sp	Parajul et al. (2016)
TF4	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	<i>Chromobacterium</i> sp	Parajul et al. (2016)
TC3	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	<i>Burkholderia</i> sp	Alaa hani al-charrakhet al. (2014).
TR5	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp	Marpaung et al., (2021)
TF9	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp	Marpaung et al., (2021)
TB2	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp	Marpaung et al., (2021)
TR2	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	<i>Bacillus</i> sp	Marpaung et al., (2021)
TR1	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	<i>Bacillus</i> sp	Marpaung et al., (2021)

III.4 Identification des isolats

Les rhizobactéries, sont capables de coloniser l'intérieur ou l'extérieur des racines de nombreuses espèces des plantes. A travers les tests de caractérisations réalisées, les résultats obtenus ont permis d'identifier 8 genres. Parmi ces souches on a 26% souches qui représentent le genre *Azotobacter*, 10% souches qui appartiennent au genre *Agrobacterium*, 10% souches qui appartient au genre *Chromobacterium* et 10% souches sont des *Rhizobia*, 27% souches appartenant au genre *Bacillus* et 7% souches qui représentent le genre *Azospirillum*, 7% souches de *Burkholderia* et 3% souche qui appartient à l'espèce *Arthrobacter cumminsii*. (Tableau 16)

III.5 Résultats de la formation de biofilm

La formation de biofilm dans les eppendorfs par la technique du cristal violet, est révélée qualitativement et quantitativement. Après 20h d'incubation, les biofilms formés par toutes les souches étudiées montrant l'adhésion des bactéries sont colorés avec du Cristal Violet (CV) à 0,4%. La coloration observée à l'œil nu sur les parois des eppendorfs est proportionnelle à la masse du biofilm formé.

D'autre part, en fonction de la lecture des densités optiques (DO) de la phase biofilm, les Bactéries sont classées selon **Bellifa, (2014)** comme suit : non formatrices du biofilm, formation modérée, Fortement formatrice du biofilm.

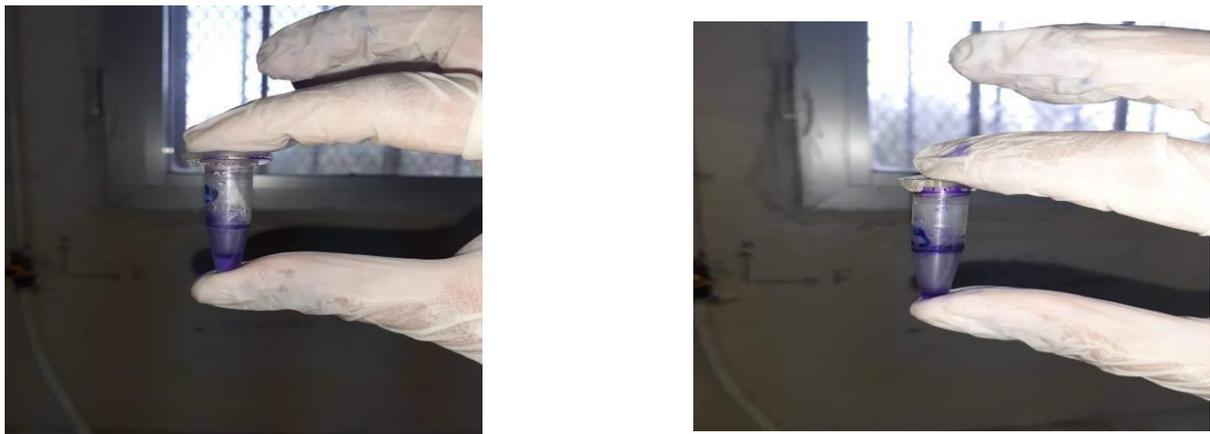


Figure 27 : Résultat de formation de biofilm

D'après (D'Auger et al., 2009) une DO de 0,5 est la valeur seuil d'estimation du potentiel de formation du biofilm. Si on considère cette échelle, chez les rhizobacteries, il est possible de distinguer 4 classes :

Classe 1 : DO 0,5 : Faiblement productrice du biofilm.

Classe 2 : DO 0,5 & DO 1,5 : Moyennement productrice du biofilm.

Classe 3 : DO 1,5 & DO 2,5 : Fortement productrice de biofilm.

Classe 4 : DO 2,5 : Hyper productrice (**Figure28**)

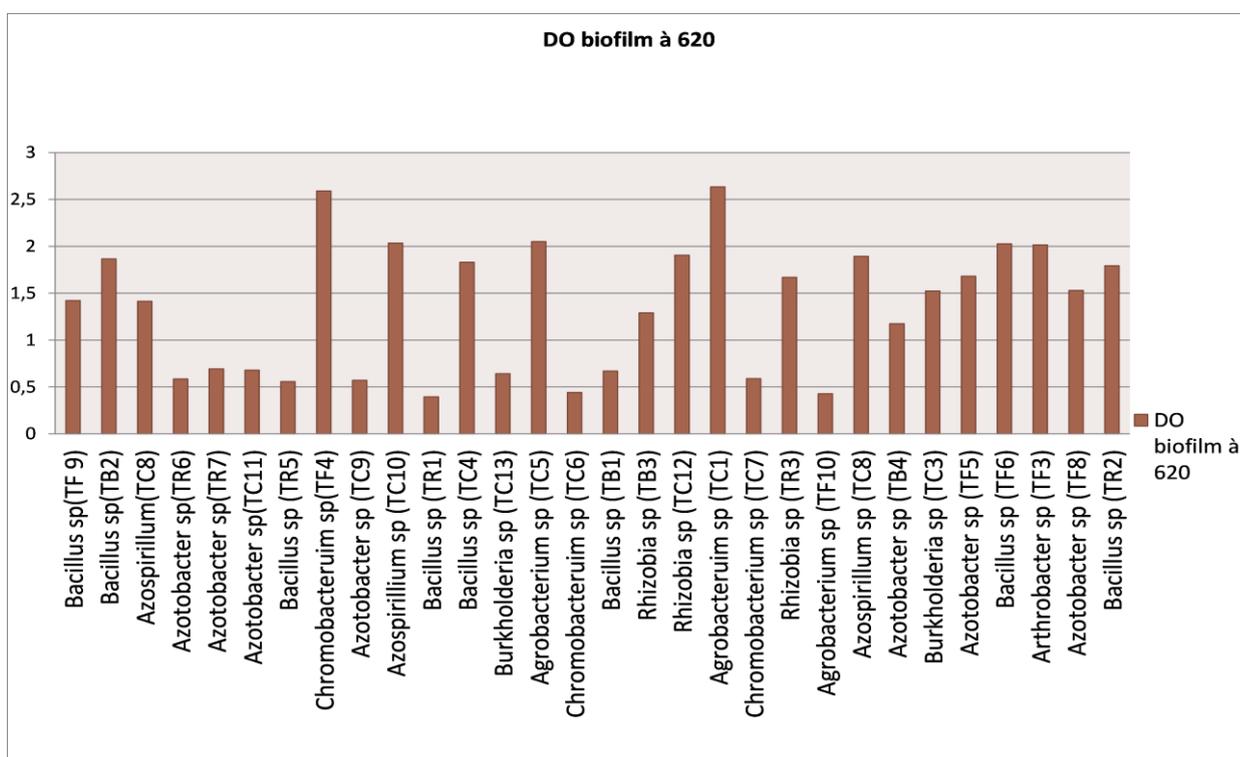


Figure 28 : Formation de biofilm par des différentes souches

L'estimation du taux de formation de biofilm par les souches sur le milieu LB est obtenue par la mesure de la DO à 620 dont le seuil est 0.5.

D'après notre résultats, tous les 30 isolats ont la capacité de formation de biofilm avec une variété des classes des souches, Selon **Auger (2009)**, nous pouvons classer les souches :

Les souches faiblement productrices du biofilm : **TC1 , TC6 , TF10** qui appartient au genres *Agrobacterium , Azotobacter* .

Les souches moyennement productrices du biofilm : **TR6 ,TR7,TC 11,TR5**

,**TC9,TC13,TB1,TC7,TC8,TB3,TB4** qui appartient au genres *Azotobacter , Bacillus s, Burkholderia*

Les souches fortement productrices du biofilm : **TB2, TC3,TC4, TC5, TC10, TC12, TF3, TF5,TF6, TF8,TR2,TR3** qui appartient au genres *Bacillus, Burkholderia, Rhizobia , Azospirillum , Arthrobacter*.

Les souches hyper productrices du biofilm : **TF4 , TC4** qui appartient au genres *Bacillus subtilis , Chromobacterium violaceum* .

D'après nos résultats obtenus à l'issue de l'observation visuelle des eppendorf et celle de la mesure de DO , les souches *Bacillus subtilis , Rhizobia sp. , Azospirillum sp., Arthrobacter cumminsii* qui sont considérées comme de bonnes formatrices de biofilm à une densité optique de 2 par rapport au reste des souches *Burkholderia cepacian , Azotobacter* qui ont été soit des formatrices modérée à à une densité optique de 1.5 ou de faibles formatrices comme les souches *Agrobacterium sp. Azotobacter sp.* à une densité optique de DO 0.5.

III.6 Résultats d'antagonisme *in vitro*

L'activité antibactérienne des isolats bactériens a été mise en évidence par la méthode de stries croisées sur le milieu LPGA . Après 24 h, la lecture des résultats s'effectue en mesurant la distance ou la zone d'inhibition claire entre les bordures de la souche cible et la souche rhizobactérienne. Le résultat est positif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur de 2mm (Tabak et Bensoltane, 2012).

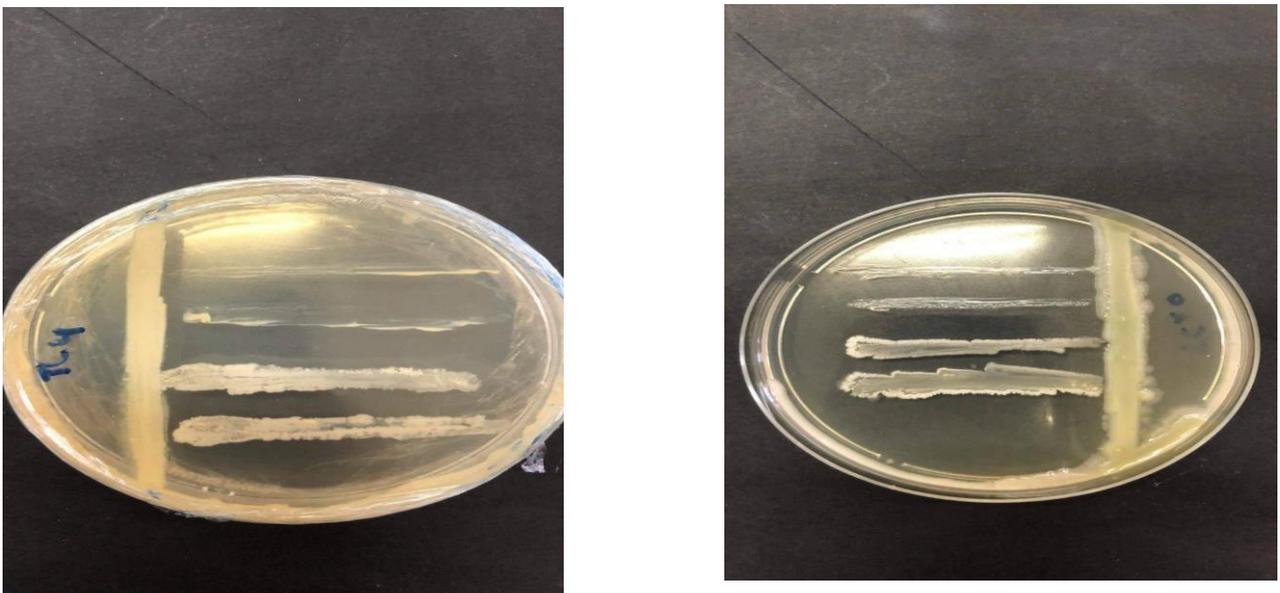


Figure 29 : Résultat d'antagonisme *in vitro*

L'application de l'analyse statistique par le logiciel PRISME, nous a permis d'analyser la variance de l'activité antagoniste des souches testées. Selon l'analyse statistique ANOVA, nous remarquons que l'effet antagoniste entre les souches isolées et les deux souches pathogènes est significatif ($P= 0.0001$) (**Figure 31**)

Les isolats (TC4 , TF8 , TF3 , TF6 , TF4) qui appartient au genres probables Bacillus subtilis, Azotobacter , Arthrobacter , Chromobacterium violaceum présentent une forte activité antagoniste contre les bactéries pathogènes E. coli et Agrobacterium tumefaciens avec les diamètres des zones d'inhibition supérieur de 2mm,

Les isolates (TC10 , TF5 , TC8 , TC1 , TC12 , TB2 , TR2) qui appartient au genres probable Azospirillum , Azotobacter , Agrobacterium , Rhizobia , Bacillus subtilis présente un effet antibactérienne moyen contre les bactéries pathogènes avec les diamètres des zones d'inhibitionn 2.8.

Aucun effet remarquable n'a été enregistré pour Les isolas (TF9, TC3 , TR3 , TC5) qui appartient au genres probable Baccilus subtilis , Burkholderia cepacian , Rhizobia , Agrobacterium tumefaciens (**figure 30**) .

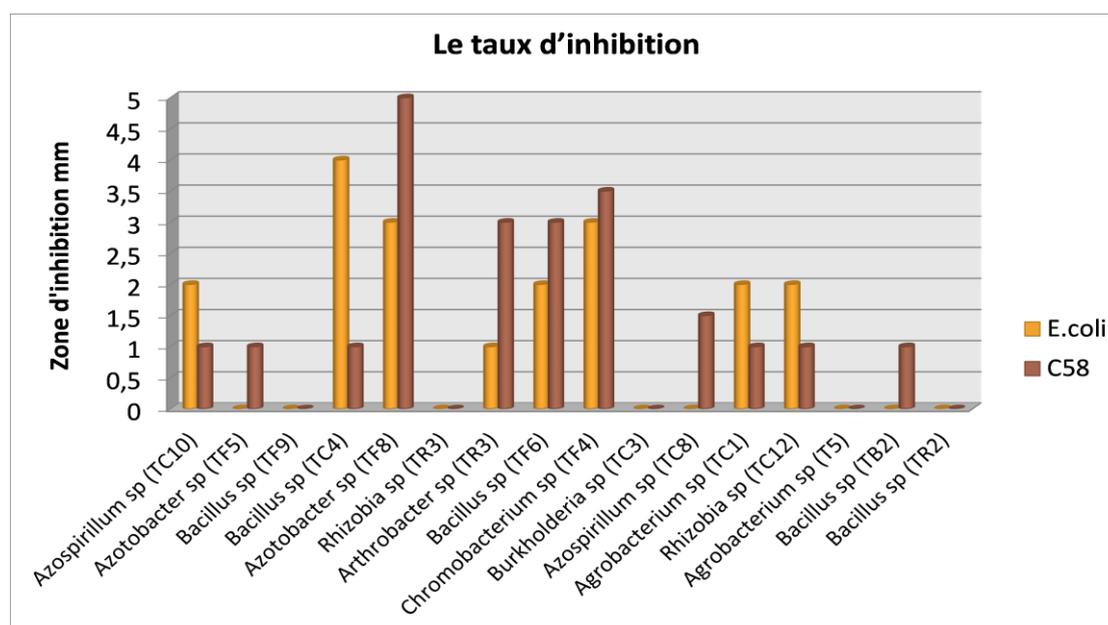


Figure 30 : Formation de zone d'inhibition par différentes souches

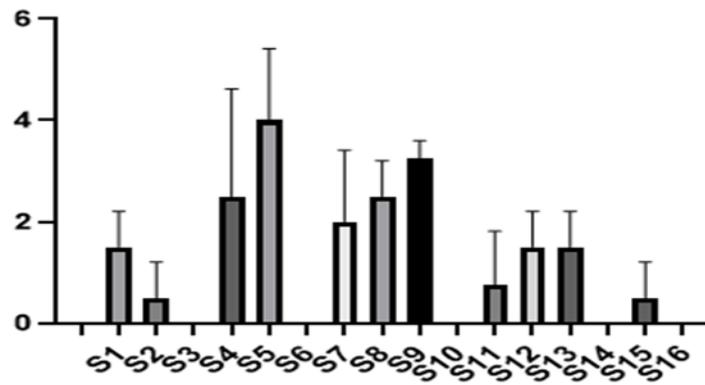


Figure 31 : Activité antibactérienne des isolats

S1 =TC10, S2 =TF5 , S3 =TF9 , S4 =TC4 , S5 =TF8 , S6 = TR3 , S7 = TF3 , S8 =TF6 , S9 = TF4 ,S10 =TC3 , S11 =TC8 , S12 = TC1 , S13=TC12 , S14 =TC5 , S15 =TB2 , S16= TR2

Discussion

DISCUSSIONS

L'objectif de ce présent travail était l'isolement et caractérisation des bactéries rhizosphériques non fluorescents. La caractérisation phénotypique, l'observation macroscopique, microscopique et l'identification biochimique des souches isolées à partir de tableau d'identification, ces tests ne sont pas suffisants pour prétendre une identification définitive et formelle (**Anne Marie et al.2018**)

Selon **Fabricio Cassáne et al ., (2020)**, l'identification de plusieurs espèces bactériennes dans la rhizosphère dans leur recherche ont été qualifiées comme étant des PGPR, notamment des bactéries appartenant aux genres *Bacillus*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Sinorhizobium et Mesorhizobium*. Les genres obtenus dans la présente étude sont similaires à ceux identifiés par ces chercheurs.

L'étude de **Marpaung et al., (2021)** a montré des résultats comparables à notre travail sur l'identification de la souche rhizosphérique (**TB1**) qui appartient au genre *Bacillus* présentant des colonies blanches à Gram positif, catalase positif , indole négatif , immobile , forme bacille et nitrate positif.

Les souches bactériennes isolées dans cette étude **TC1 , TF10 , TC5 , TB3** ; ont montré des colonies blanches à Gram négatif en forme de bâtonnet , mobile , aérobic , catalase positive qui appartient au genre *Agrobacterium* . Des résultats similaires ont été rapportés par **Tsugama., (2019)**.

Les souches **TC8 et TC10** présentent des colonies blanches à Gram négatif , microaérophiles, non fermentaires et fixatrices de l'azote , nitrate positif , indole positif ; appartiennent au genre *Azospirillum*. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Fabricio Cassán et al., (2020)**.

Les rhizobactéries étudiées **TR7 , TB4 , TF8 , TR4 , TR6 , TF5** ; ont montré des colonies blanches à Gram négatif ovoïdes , aérobic stricte , catalase positif. Ces souches appartiennent au genre *Azotobacter* dont des résultats similaires ont été rapportés par **Yusminah et al ., (2019)**.

Les souches **TR5 , TF9 , TB2 , TR1**) ont montré des colonies blanches à Gram positif, anaérobic , catalase positive , mobile , oxydase négative qui appartient à l'espèce probable . *Bacillus sp* ces résultats sont en comparables à ceux obtenus par **Marpaung et al., (2021)**

Les espèces bactériennes **TC6 , TC7 , TF4** ont montré des colonies blanches à Gram négatif , catalase positive , de forme cocobacille , anaérobie appartiennent au genre *Chromobacterium sp.* Des résultats similaires ont été rapportés par **Parajul et al. (2016)**

La souche (**TF3**) a montré des colonies blanches à Gram positif , forme bâtonnet indole négatif , nitrate positif , aérobie qui appartient au genre *Arthrobacter.* ces résultats sont comparables à ceux rapportés par **Divya kall., (2021).**

Les souches (**TC13 , TC3**) présentent des colonies blanches à Gram négatif , mobile , aérobie , oxydation positif , catalase positif , indole négatif qui appartient au genre *Burkholderia* Des résultats similaires ont été rapportés par **Alaa hani al-charrakhet al. (2014).**

Les colonies de la souche **TC9** sont blanches à Gram positif , mobile , catalase positif , oxydase positif , indole positif , nitrate positif ; appartient au genre *Azotobacter.* L'étude de **Prameswari kasa et al. (2015)** à obtenu des résultats comparables.

Les résultats obtenus ont montré que les souches isolées **TR3 , TC12 , TB3 , TR5 , TF9 , TB2 , TR1 , TB1** qui appartiennent aux genres *Bacillus* et *Rhizobia* sont capable de solubiliser le phosphate. Ces résultats concordent avec ceux de **Marpaung et al.(2021).**

Selon (**Spaepen et al.,2011**), L'acide indole acétique des PGPR initie la formation latérale et adventive des racines, affecte l'extension et la différenciation des cellules végétales et stimule la résistance aux conditions stressantes. les souches permis la production d'AIA sont (**TR6 , TC11 , TC9 , TC10 , TC4 , TR2 , TF3 , TB1 , TR4 , TF5 , TF9 , TC8 , TF4 , TR1**), sont rapportées sur la production de l'acide indole acétique appartiennent aux genres *Bacillus* et *Azotobacter.*

Dans d'autres cas plus rare, la présence de métaux peut empêcher la formation de biofilm sans agir sur la viabilité de l'organisme La présence de métaux peut également entraîner un changement au niveau de la structure et de la maturation du biofilm. La croissance dans un biofilm induit une tolérance plus importante dans le temps. Les mécanismes mis en place sont (i) la séquestration et l'immobilisation des métaux à l'intérieur du biofilm, (ii) l'induction de gènes spécifiques au biofilm ainsi que des changements métaboliques et (iii) la formation de cellules persistantes (**Koehler et al., 2015**)

L'antagonisme *in vitro* été mis en évidence par les stries croisées de 16 isolats sélectionnés selon leur performance et la forte production de biofilm vis-à-vis de 2 bactéries

pathogènes *E.coli* et *Agrobacterium tumefaciens*. Les 12 isolats TC10 , TF5 , TC4 , TF8 , TF3 , TF6 , TF4, TC8 , TC1 , TC5 , TB2) qui appartiennent aux genres *Bacillus*, *Azotobacter* , *Arthrobacter*, *Chromobacterium violaceum* , *Agrobacterium*, *Rhizobia* et *Azospirillum* présentent une activité antibactérienne très variables contre les bactéries pathogènes *E. coli* et *Agrobacterium tumefaciens* avec les diamètres des zones d'inhibition supérieur de 2mm.

Toutefois, aucun des 4 isolats (TF9, TC3 , TR3 , TC5) des genres probables *Bacillus*, *Burkholderia*, *Rhizobia* , *Agrobacterium* n'a présenté d'activité vis-à-vis les bactéries

Selon **Djellout et al.(2019)**, qui ont obtenu des résultats comparables, expliquèrent que l'absence d'activité antibactérienne ou antifongique ne signifie pas forcément que la substance est absente ou pas assez active, mais cela peut être dû à une mauvaise diffusion de celle-ci, dans le milieu, car n'étant pas polaire ou bien constituée de composés non polaires.

En effet, **Essalmani (2022)**, explique que les variations des zones d'inhibition sont dues au fait qu'une souche bactérienne peut produire plusieurs molécules antimicrobiennes (différents spectres d'action) dont la nature dépend de la composition du milieu de culture.

En outre, les résultats de ce travail montrent aussi que l'activité antimicrobienne des isolats testés dépend de la méthode utilisée des stries croisées.

Les métabolites secondaires microbiens sont des produits moléculaires. Ils comprennent les antibiotiques, les agents antitumoraux, les médicaments hypocholestérolémiantes et autres. Ils ont des structures inhabituelles et se forment généralement au cours de la phase de croissance tardive des micro-organismes producteurs. Sa synthèse peut être grandement influencée par la manipulation du type et de la concentration des nutriments qui composent les milieux de culture. Parmi ces nutriments, l'effet des sources de carbone a fait l'objet d'études continues tant pour l'industrie que pour les groupes de recherche. Différents mécanismes ont été décrits chez les bactéries et les champignons pour expliquer les effets négatifs des catabolites de carbone sur la production de métabolites secondaires. **(Bhim Pratap et all .2019)**

Conclusion

Conclusion et perspectives

Ce travail avait pour objectif d'isoler et d'identifier des rhizobactéries à partir de sol de palmier dattier dans 4 régions de Béchar ainsi que d'évaluer leurs effets bénéfiques et leurs activités PGPR permettant de les utiliser dans différents domaines biotechnologiques et microbiologiques.

Un total de 30 souches bactériennes non fluorescentes ont été obtenues par la méthode de suspensions- dilutions. Les souches bactériennes isolées ont été soumises à une identification préliminaire par des examens macroscopiques et microscopiques et quelques tests biochimiques et physiologiques.

L'identification phénotypique des souches bactériennes a permis de démontrer qu'il existait une diversité entre les bactéries dans les 4 régions présentant des caractères macromorphologiques différents des colonies bactériennes.

L'identification biochimique confirme l'existence d'une diversité au sein de ces populations bactériennes observée par les résultats de tests de la catalase l'oxydase, indole, levane sucrase... D'autre part, la mise en évidence de quelques modes d'actions des PGPR a révélé 90% des souches capables de produire l'ammoniac, 40 % ont la capacité de produire de acide indole acétique, 26,66 % des souches peuvent produire l'acide cyanure d'hydrogène (HCN) et 33,33% peuvent solubiliser le phosphate. Ces molécules influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance.

D'après nos résultats, nous constatons une variété des souches appartiennent aux genres différents : 8 isolats des 30 appartenant au genre *Bacillus* (TB1,TF6,TC4,TR2,TR5,TF9,TB2,TR1),et 8 souches appartenant au genre *Azotobacter* (TC11,TR6,TF5,TR7,TB4,TF8,TR4,TC9), et 3 souches du genre *Agrobacterium* (TC1,TF10,TC5),et 2 souches sont des *Azospirillum* (TC10,TC8),3 isolats sont des *Chromobacterium* (TC6,TC7,TF4),1 souche appartenant au genre *Arthrobacterium* (TF3), et 2 qui appartient au genre *Burkholderia* (TC13,TC3) et 3 souches appartenant au genre *Rhizobia* (TB3,TR3,TC12).

Toutes ces souches bactériennes isolées ont la capacité de formation de biofilm avec des valeurs différentes, les résultats obtenus montrent que 3 isolats parmi les 30 souches sont hyper productrices de biofilm, 12 souches sont fortement productrices du biofilm et 12 souches moyennement productrices du biofilm alors que 3 souches sont

Après le test de formation de biofilm, les bactéries hyper et fortement productrices de biofilm ont été sélectionnées pour le test d'Antagonisme à l'égard de 2 bactéries pathogènes *Agrobacterium tumefaciens* et *E. coli* pour voir si elles ont un effet antimicrobien. Les résultats de ce test montrent que 8 souches ont l'effet antagoniste qui sont les *Bacillus*, *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Rhizobium* et *Azospirillum*.

Au terme de ce travail qui ouvre plusieurs perspectives de recherche, il serait intéressant d'approfondir les investigations sur les souches les plus performantes après leur identification afin de :

- Faire le test de Pathogénicité sur tabac pour éliminer les pathogènes.
- Compléter l'identification des souches jusqu'au niveau de l'espèce par les caractéristiques moléculaires (PCR – Séquençage d'ADN).
- Déterminer leurs mécanismes d'actions indirectes (compétition, production des sidérophores, Antibiose ; Production de composés volatiles...) ou directes (production des phytohormones assimilation et solubilisation des sels minéraux, induction de la résistance systémiques), impliqués dans leur potentiel stimulateur de la croissance végétale.
- Production d'autres phytohormones comme les gibbérellines et les cytokinines.
- Quantifier l'activité enzymatique des bactéries rhizosphériques.

***Références
bibliographiques***

Références bibliographiques

- Abbas-Zadeh, P., Saleh-Rastin, N., Asadi-Rahmani, H., Khavazi, K., Soltani, A., Shoary-Nejati, R. & Miransari, M. (2010). Plant growth promoting activities of fluorescent pseudomonads. *Acta Physiologiae Plantarum* 32(2) : 281-288.
- Anne Marie Koua ABE1, Justine Bomo ASSANVO.2018. Caractérisation phénotypique de 52 souches des Bacillus isolées à partir de racines fraîches de manioc cultivées en Côte d'Ivoire
- Abd El-Mageed, T.A., Abd El-Mageed, S.A., El-Saadony, M.T. et al. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Improve Growth, Morph-Physiological Responses, Water Productivity, and Yield of Rice Plants Under Full and Deficit Drip Irrigation. *Rice* 15, 16 (2022)
- Abdelmalek A., lezzar A. 2016. Les bactéries du groupe Klebsiella, entérobacter-, Serratia responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques. Mémoire de master, université des frères mentouri, ALgérie, p32.
- Adela M. Luján, Pedro Gómez et Angus Buckling, « Siderophore cooperation of the bacterium *Pseudomonas fluorescens* in soil », *Biology Letters*, vol. 11, 1^{er} février 2015, p. 20140934
- Ahemad, M., and Kibret, M., (2014). "Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective." *Journal of King Saud University Science* N°26(1) P 1-20.
- Ahmed, T., Shahid, M., Noman., Hussain, S., Khan, MA, Zubair, M., et al. (2019). Les rhizobactéries favorisant la croissance des plante en tant qu'outils biologiques pour la gestions des elements nutritifs et la durabilite des sols, dans *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability*, eds A. Kumar et VS Meena (Singapour :springer), p95-110.
- Alaa H. AL-Charrakh, Hasanain F. AL-Dahash et awad K. AL-Khafaji. (2014). Caractérisation de Burkholderia cepacia isolée à partir d'échantillons cliniques, à Hilla City, en Irak. 20-43.
- Alcaraz.LD. (2010) , Comprendre les relations évolutives et les traits majeurs de Bacillus par leurs spores dans la nature 79–99
- Aloo, BN, Makumba, BA et Mbega, ER (2019). Le potentiel des rhizobactéries Bacilli pour la production agricole durable et la durabilité environnementale. *Microbiol.* p219, 26–39.

Références bibliographiques

- Ameer, H. (2014). Effet d'osmoprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de *Streptomyces* et de plantes d'intérêt agricole sur sol salé ou aride. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Faculté des Sciences de la nature et de la vie. Thèse de doctorat
- Antoun, H., Klopper, J., 2001. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), in: Encyclopedia of Genetics. p. 49
- Armelle Vigouroux (2013). Etude structurale de protéines périplasmiques d'*Agrobacterium tumefaciens* impliquées dans la virulence chez les plantes. Biochimie, Biologie Moléculaire. 2013. fahal-01375857f
- Auger, S., Ramarao, N., Faille, C., Fouet, A., Aymerich, S., & Gohar, M. (2009). Biofilm formation and cell surface properties among pathogenic and nonpathogenic strains of the *Bacillus cereus* group. Applied and environmental microbiology, 75(20), 6616- 6618.
- Aye A.M. Mise en évidence du système de communication Quorum Sensing impliquant les AHLs chez des bactéries marines isolées de la Méditerranée. [Thèse de Doctorat : Microbiologie/Biochimie]. Toulon : Université de Toulon, 2015 ; 245p
- Bhim Pratap Singh, Mostafa E. Rateb. 2019. Métabolites Secondaires Microbiens : Développements Récents et Défis Technologiques
- Bertani, G. (1951). Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 62:293-300
- Bahadur, I., Maurya, B.R., Meena, V.S., Saha, M., Kumae, A. et Aeron, A. (2017). Dynamique de libération minérale du phosphate tricalcique et des déchets de muscovite par des rhizobactéries solubilisant les minéraux isolées de la plaine indo-gangetique de l'Inde. Geomicrobiol. p34, 454-466.
- Bakkay S., 2006. Lexique phoenicicole en arabe et en mozabite. CWANA, HCA et RAB98/G31. P14-16, 24-25, 31
- Barroca, M., 2005. Hétérogénéité des relations parasites-oiseaux : importance écologique et rôle évolutif. (phdthesis). Université de Bourgogne.
- Basu, A.; Prasad, P.; Das, S.N.; Kalam, S.; Sayyed, R.Z.; Reddy, M.S.; El Enshasy, H. 2021. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. Sustainability 2021, 13, 1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>.

Références bibliographiques

- Bellifa, 2014. Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen thèse doctorant.
- Ben abbes, F. (2011). Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera L.* ». Thèse de magister génie des procédés pharmaceutiques, Université Ferhat Abbas Setif, 67p.
- Bergey DP. Bergey's Taxonomic Outline. Bergey's Manual of systematic bacteriology, second edition. http://141.150.157/bergey_soutline/tankyoutankyou.htm. Biocontrol agents. Antonie van Leeuwenhoek. 2001; 81:537-547.
- Bey. (2009). Etude de l'interaction antagoniste entre *Lactobacillus sp.* Et quelques souches d'entérobactéries. Mémoire de magister option : Microbiologie Alimentaire. Page 96.
- Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk HP., Sabaou N. (2013b). *Saccharothrix saharensis sp. Nov.*, a novel actinomycete isolated from Algerian Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 3744-3749.
- Bouguedoura N, Bennaceur M, Babahani S, et Benziouche S E, 2015. Date Palm Status and Perspective in Algeria. Chap in Date Palm Genetic Resources and Utilization, Volume 1: Africa and the Americas. Éd Springer. Pp :125-168
- Boulkroune H., (2008). Contribution à l'étude biologique du pouvoir auto-épurateur de l'eau cas du marais d'El-Kennar. Mémoire de Magister. Université de Jijel. 119p
- Bouras D (2014). Ecological And Environmental State of the North-western Algerian coast. *Jornal Odf Scientific Reasearch And Reports* 3(11) :1507-1517, 2014.
- Bourgault, A.M., Lamothe, F., Evaluation of the KOH test and the antibiotic disk test in routine clinical anaerobic bacteriology. *J. Clin. Microbiol.* 26, (1988), 2144-2146
- Bousdira K., Tirichine A. et Ben Khalifa A., 2003. Le palmier dattier et les savoir-faire locaux : une centaine d'usages multiples. Journées d'étude sur l'importance de la biomasse dans le développement durable des régions sahariennes. Adrar, 26 Janvier 2003

Références bibliographiques

- Chadli Aicha .(2015).Isolement et caractérisation de bactéries biodégradantes d'hydrocarbure a partir du lixiviat du centre d'enfouissement technique d'AIN TEMOUCHENT.these de doctorat p-19.
- Chaker H. 2012. Regulation de l'adaptation de la bacterie *Pseudomonas aeruginosa* a son hote : implication des metabolites du tryptophane.
- Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Clément, et E. Ait Barka. 2005. Use of plant growthpromoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 4951-4959
- Conn, V., Walker, A., Franco, C., (2008). Endophytic Actinobacteria induce defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant Microbe Inter.*N° 21 P 208–218.
- DAVID H, McNear Jr. The rhizosphere, roots, soil and everything in between. *Nature education knowledge*, 2013, 4, 13.
- D. Tsugama, H.S. Yoon, K. Fujino, S. Liu et T. Takano, 2019. "La protéine phosphatase 2A régule l'accumulation nucléaire de la protéine VIP1 d'*Arabidopsis* bZIP sous un stress hypo-osmotique", *Journal of Experimental Botany*, vol. 70, non. 21, p. 6101–6112.
- Djellout et al.2019. Évaluation du Potentiel Des Souches Antagonistes De *Bacillus* spp. Et De *Pseudomonas* spp. Dans Le Contrôle D'Agrobactereuim spp. Pathogènes Impliqués Dans La Maladie De La Galle Du Collet *Revue Agrobiologia*
- De Souza, J. T., M. De Boer, P. DeWaard, T.A. Van Beek, et J.M. Raaijmakers. 2003. Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 7161-7172
- Delarras C ,(2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques.* Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476 p
- Denis F., Ploy M. C., Martine C., Bingen E., Quentin R. 2007. *Bactériologie médicale : techniques usuelles.* Paris, Elsevier Masson SAS, 640p.

Références bibliographiques

- Djellout H., Mekheldi D., Belkacem KK., Raio A et Krimi Z. Evaluation de potentiel de souche antagoniste de *Bacillus* spp. et de *Pseudomonas* spp. Dans le contrôle d'*Agrobacterium* spp. Pathogène impliqué dans la maladie de galle de collet. *Revue Agrobiologia*. 2019 ; 9(1): 1267-1283.
- Dorjey, S., et al., (2017). "Plant Growth Promoting Rhizobacteria *Pseudomonas*: A Review." *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* N°6(7) P 1335-1344.
 - Emily claudia ricci,(2015).investingating the role of *Pseudomonas* sp. And *Bacillus* sp .biofilms as plant growth promoting inoculants.McGill university,motereal.Quebec.Canada
- Freschet. G.T.(2018). *Ecologies comparatives des organismes des communautés et des écosystèmes, .Interactions plantes-sols, écologie racinaire, biodiversité, dégradation des matières organiques, fonctions des écosystèmes*
- Ghadamgahi, F.; Tarighi, S.; Taheri, P.; Saripella, G.V.; Anzalone, A.; Kalyandurg, P.B.; Catara, V.; Ortiz, R.; Vetukuri, R.R. Plant GrowthPromoting Activity of *Pseudomonas aeruginosa* FG106 and Its Ability to Act as a Biocontrol Agent against Potato, Tomato and Taro Pathogens. *Biology* 2022, 11, 140.
- Ghazi, F., Sahraoui, S., (2005). Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes: Tantbouchet etHamraia. Mémoire d'ingénieur, Institute National d'Agronomie. Alger, 81p.
- Ghitri I. Caractérisation du potentiel PGP de la flore *Bacillus cereus* isolée du sol. (Master dissertation, Université de Tlemcen). 2018.
- Glick BR, Todorovic B, Czarny J, Cheng Z, Duan J, et al,2007. Promotionof plant growth bybacterial ACC deaminase. *Crit Rev Plant Sci* 26: 227-242.
- Gray, E., and Smith, D., (2005). . Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.* 37, 395–412
- Gupta, G., Parihar, S., (2015). "Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture." *J Microb Biochem Technol* N° 7(2) P 096-102.
- Haas, D., and C. Keel. 2003. Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annu Rev Phytopathol* 41:117-153.

Références bibliographiques

- Hayat Essalmani.2022. Etude in vitro de l'activité antagoniste de quelques microorganismes à l'encontre de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *Cryptogamie Mycologie* 23(2):221-234
- Haas, D., et Défago, G. 2005. Lutte biologique contre les agents pathogènes du sol par des pseudomonades fluorescentes. *Nat Rev Microbiol*; 3 : 307–319.
- Hamdache, R. Azarken, A. Lamarti, J. Aleu, I. G. Collado. Comparative genome analysis of *Bacillus* spp. and its relationship with bioactive nonribosomal peptide production. *Phytochemistry Reviews* 2013, 12 (4) , 685-716.
- Hugh, R., Leifson,E.1953.The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria.*J Bacteriol.*Jul;66(1):24-26.
- Hans-Jürgen Busse. (2015) Examen de la taxonomie du genre *Arthrobacter*, correction du genre *Arthrobacter* sensu lato, proposition de reclassification d'espèces sélectionnées du genre *Arthrobacter* 11-13.
- Hennine.Y et Serièr.H. (2017).Isolement et caractérisation des bactéries lactiques dans le smen traditionnel algérien. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master. Spécialité : Analyses Biologiques et Biochimiques. Page31.
- Höfte M et Altier N. (2010). Fluorescent pseudomonas as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. *Research in Microbiology*.161: 464-471.
- Ivanova EG, Doroninaet NV, Trotsenko YA. (2001). Aerobic methylobacteria are capable of synthesizing auxins. *Microbial*. 70: 392-397.
- Joseph Louis .B.Gay-Lussac.1811. École polytechnique Université de Paris École des Ponts ParisTec
- Jijakly M.H. (2003). La lutte biologique en phytopathologie, In : *Phytopathology*. Lepoivre P. (Eds). De Boeck, Bruxelles
- Jofre, E., A. Lagares et G. Mori (2004). Disruption of d'TDP-rhamnose biosynthesis modifies lipopolysaccharide core, exopolysaccharide production, and root colonization in *Azospirillum brasilense*. *FEMS Microbiol. Lett.* 231(2):267-275.
- Joo, GJ., SM. Kang, M. Hamayun, Na. CI. Kim, DH. Shin et IJ. Lee (2009). *Burkholderia* sp. kCTC 11096BP as a newly isolated gibberellin producing bacterium.*J Microbiol.*47:167– 171

Références bibliographiques

- Kafilzadeh, F., Faranak, D. (2015). Amylase activity of aquatic actinomycetes isolated from the sediments of mangrove forests in south of Iran. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 41 (2), 197-20
- Kang, S.-M., Waqas, M., Hamayun, M., Asaf, S., Khan, A. L., Kim, A.-Y., et al. (201). gibberellins and indole-3-acetic acid producing rhizospheric bacterium *Leifsonia xyli* SE134 mitigates the adverse effects of copper-mediated stress on tomato. *J. Plant Int.* 12, 373–380. doi: 10.1080/17429145.2017.1370142
- Kasa.P, H Modugapalem et K Battini.(2015) Isolement, criblage et caractérisation moléculaire des isolats de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes d'Azotobacter et de Trichoderma et leurs activités bénéfiques 3-45-50.
- King ED, Ward MK, Raney DE, 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 44, 301–7
- Koechler, S., Farasin, J., Cleiss-Arnold, J., Arsène-Ploetze, F., 2015. Toxic metal resistance in biofilms : diversity of microbial responses and their evolution. *Res. Microbiol.* 166, 764–773
- Kavitha T, Nelson R et Josephin JS. (2013). Screening of rhizobacteria for plant growth promoting traits and antifungal activity against charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. *Int J Pharm Bio Sci.* 4 (4) : 177 – 186.
- Keneni, A., F. Assefa, et P.C. Prabu. 2010. Isolation of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of faba bean of Ethiopia and their abilities on solubilization insoluble phosphates *J. Agr. Sci. Tech.* 12: 79-89
- Khan MS, Zaidi A, Ahemad M, Oves M, Wani PA ,2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - current perspective. *Arch Agron Soil Sci* 56:73-98
- Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M., 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environ. Chem. Lett.* 7, 1–19.
- Kuffner M, Puschenreiter M, Wieshammer G, Gorfer M, Sessitsch A ,2008. Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. *Plant Soil* 304: 35-44
- Kumar, P., Dubey, R., (2012). Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biocontrol of Phytopathogens and Yield Enhancement of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Curr. Perspect. Appl.*

Références bibliographiques

Microbiol.N° 1 P 6–38.

- Kafilzadeh, F., Faranak, D. (2015). Amylase activity of aquatic actinomycetes isolated from the sediments of mangrove forests in south of Iran. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 41 (2), 197-20
- Lavelle, P., & Spain, A. V. (2001). *Soil ecology*. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, the Netherlands): 654 p.pain, 2001).
- Liu, DF, Lian, B. et Dong, HL (2012). Isolement de *Paenibacillus* sp et évaluation de son potentiel d'amélioration de l'altération minérale. *Géomicrobiol. J.* 29, 413–4
- Mood, F., Zhou, X. and Smith, D. L. 2014. Microbial signaling and plant growth promotion. *Can. J. Plant Sci.* **94**: 1051–1063.
- Maksimov IV., Khairullin RM. (2016).The role of *Bacillus* bacterium in formation of plant defense: Mechanism and reaction. *The Handbook of Microbial Bioresources*; Gupta, VK, Sharma, GD, Tuohy, MG, Gaur, R., Eds. 2016; 56-80.
- Marpaung and D N Susilowati 2021 IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 810 012041.
- Matthew F. B. (2015). Buried Treasure: Evolutionary Perspectives on Microbial Iron Piracy. *A Cellpress journal*, 31 (11), 627-636.
- Meziani.M. (2012). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas*. Mémoire présenté Pour l'obtention du Diplôme de Magistère. Université Mentouri CONSTANTINE. Page68.
- Mitter, N., Srivastava, S., Renu, A., Sarbhoy, A., et Agarwal, D., (2002). Characterization of Gibberellin producing strains of *Fusarium moniliforme* based on DNA polymorphism. *Mycopathologia* N° 153 P 187–193.
- Moenne-Loccoz, Y , Agathe MINI , Rohan RICHARD , Jordan VALENTE , Claire PRIGENT-COMBARET , Jacques LE GOUIS. 2019. INTERACTIONS RACINES x RHIZOBACTERIES ET LEUR VARIABILITE GENETIQUE CHEZ LE BLE . *Le Sélectionneur Français* 2019 -70.p 88-89.
- Munees Ahemad, Mulugeta Kibret , 2013 .Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, *Journal of King Saud University – Science*, January Volume 26, Issue 1, Page 1–20

Références bibliographiques

- Mwajita M.R., Murage H., Tani A., Kahangi E.M., 2013. -Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters, Kenya Agricultural Research Institute,8.1-9.
- Naik, R.P., Sakthivel, N. (2006). Functional characterization of a novel hydrocarbonoclastic *Pseudomonas* sp. strain PUP6 with plant-growth-promoting traits and antifungal potential. *Res Microbiol* 157(6): 538-546.
- othmani A,(2014). Médiation chimique entre l'algue brune méditerranéenne *Taonia atomaria* et la communauté bactérienne associée à sa surface. [Thèse de doctorat : Ecologie Chimique Marine]. Toulon : Université de Toulon, 2014 ; 273p.
- Olenska, E., Małek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., and Vangronsveld, J. (2020). Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: a methodical review. *Sci. Total Environ.* 743:140682.
- Osugi, A., and Sakakibara, H. (2015). Q&A: how do plants respond to cytokinins and what is their importance? *BMC Biol.* 13:120. doi: 10.1186/s12915-015-0214-5
- Oubadi Miloud , Hamou Ahmed,Faci Mohammed , Farhi Yacine .2020. Impact des canicules Sur les contraintes environnementales dans la région de Béchar.
- Oulebsir-Mohandkaci.H, F. Tihar-Benzina, C. Ait Belkacem, A.N. Belgrade(2019).Recherche de molécules bioactives d'intérêt à partir d'une collection de souches bactériennes rhizosphériques et étude de leur effet antifongique. Laboratoire de valorisation et conservation des ressources biologiques, Faculté des Sciences, Université M'hamed Bougara, Boumerdes, BP35000, Algérie p,1458
- Panpatte DG, Jhala YK, Shelat HN, Vyas RV. *Pseudomonas fluorescens* : un agent de biocontrôle prometteur et un pgpr pour une agriculture durable. Dans : Singh DP, Singh HB,Prabha R, éditeurs. Inoculants microbiens dans la productivité agricole durable : Vol. 1 : perspectives de recherche. New Delhi : Springer Inde ; 2016. p. 257–70.
- Parajuli , Anjeela Bhetwal et Sumitra Ghimire.(2016) Bactériémie causée par un agent pathogène rare - *Chromobacterium violaceum* : Un rapport de cas de Nepa 9:441-446
- Parmar, P., Sindhu, S., (2013). Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *J. Microbiol. Res.* N° 3 P 25– 31.

Références bibliographiques

- Patrick Etievant., 2011. -La bactérie et son hôte. 8ème éd. département Alimentation humaine. Dijon. France.
- Pérez-García . (2010) PEPS as ground states: Degeneracy and topology *Bioresourcetechnology* , 2706-2714
- Portier(2004). Sélection d'écotypes bactériens pathogènes et non-pathogènes par la plante en relation avec la différenciation en espèces génomiques chez *Agrobacterium* spp
.DIPLÔME DE DOCTORAT. L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD – LYON 1
- Prescott L ,M.Harley J,P. Klein D .A.,2003.*Microbiology*.De Boeck Supérieur Bruxelles p1164.
- Pujic, P., et P. Normand. 2009. La symbiose racinaire entre la bactérie *Frankia* et les plantes actinorhiziennes. *Biofutur*. 298: 26-29
- Rabbee, M., Ali, Md., Choi, J., Hwang, B., Jeong, S., & Baek, K. (2019). *Bacillus velezensis* : A Valuable Member of Bioactive Molecules within Plant Microbiomes. *Molecules*, 24(6), p,1046
- ROLAND F., BOURBON D.1978. techniques de recherche d'enzymes utiles au diagnostic de bactéries
- Rahman, M. A., Islam, M. Z., & Islam, M. A. U. (2011). Antibacterial Activities of Actinomycetes isolates Collected from Soils of Rajshahi, Bangladesh. *Biotechnology Research International*, e857925. <https://doi.org/10.4061/2011/857925>
- Rahman, M. S., Ano, T. & Shoda, M. 2007. Biofilm fermentation of iturin A by a recombinant strain of *Bacillus subtilis* 168. *Journal of Biotechnology*, 127, 503-507.
- Ramos Solano, B., J. Barriuso Maicas, M.T. Pereyra de la Iglesia, J. Domenech, et F. J. Gutiérrez Mañero. 2008 b. Systemic disease protection elicited by plant growth promoting rhizobacteria strains: relationship between metabolic responses, systemic disease protection, and biotic elicitors. *Phytopathology*. 98: 451-457
- Rathaur, P., Raja, W., Ramteke, P.W. & John, S.A. (2012). Effect of UV-B tolerant plant growth promoting rhizobacteria PGPR on seed germination and growth of *Withania somnifera*. *Adv. Appl. Sci. Res.* 3(3): 1399-1404.
- Riaz, U., Murtaza, G., Anum, W., Samreen, T., Sarfraz, M. & Nazir, M. Z. 2021. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as biofertilizers and biopesticides. *Microbiota and Biofertilizers*, 4, 181-196.
- Ryu, R., et Patten, C., (2008). Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3- pyruvate

Références bibliographiques

decarboxylase is regulated by 4 TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Am. Soc. Microbiol.* N° 19 P 1-35.

• Sammauria ,S.and S. Kumawat(2018).Legume Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPRs): Role in Soil Sustainability. Division of Agronomy, Rajasthan Agricultural Research Institute,SKN Agriculture University, Durgapura-Jaipur, Rajasthan, India,

• Sayad L., (2008). Qualité physicochimique et bactériologie des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (wilaya de Taraf). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 125 p.

• Schleifer, M . (2009) : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 'Université duQuébec818–819

• Sedra M H. 2003. Le Palmier Dattier base de la mise en valeur des oasis au Maroc - Techniques phoénicoles et Création d'oasis- INRA-Editions: Division de l'Information et de la Communication. Rabat-Instituts Maroc. pp : 265

• Seshadri,B., Bolan, N.S. & Naidu, R. (2015). Rhizosphere-induced heavy metal (loid) transformation in relation to bioavailability and remediation, Centre for Environmental Risk Assessment and Remediation, University of South Australia, *M Journal of Soil ScienceandPlant Nutrition* 15(2): 524-548.

• Shameer,S · T. N. V. K. V. Prasad (2017).Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses p7.

• Shilev S ,2013. Soil Rhizobacteria Regulating the Uptake of Nutrients and Undesirable Elements by Plants. Chappitre5 plant microbe symbiosis fundamentals and advance naveenkumararora editor

• Singleton P. (2005). *Bactériologie: Pour la médecine, la biologie et les biotechnologies*.6 ème édition. Dunod- Paris, p.480-490.

• Soltani.K. (2017). Caractérisation et activités biologiques de substances naturelles, cas de la propolis.Mémoire Pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences. Option : Génie des procédés pharmaceutiques. UNIVERSITE FERHAT ABBAS – SETIF-1.page4

• Spaepen, S., Vanderleyden, J., et Remans, R., (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signalling. *FEMS Microbiol.* N° 31 (4) P 425-448.

Références bibliographiques

- Tabak S., Bensoltane A. (2012). L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis à vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales, *Nature & Technologie* 6 :71-79. 123.
- Taktek, S., (2015). Dissolution biologique des phosphates : interaction bactéries – mycorhizes. Thèse de doctorat. Université de Lavale, Québec, Canada.
- Taurian, T., Anzuay, M. S., Angelini, J. G., Tonelli, M. L., Luduena, L., Pena, D., et al. (2010). Phosphate-solubilizing peanut associated bacteria : screening for plant growth-promoting activities. *Plant and soil*, 329(1-2), 421-431.
- Tilak, K.V.B.R., N. Ranganayaki, K.K. Pal, R. De, A.K. Saxena, C.S. Nautiyal, Shilpi Mittal, A.K. Tripathi, et B.N. Johri. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Curr. Sci.* 89: 136-150
- Timothy L.Haskett., Andrzej Tkacz, Philip S. Poole (2021), Ingénierie des rhizobactéries pour une agriculture durable
- Tsakelova, EA., SY. Klimova, TA. Cherdyntseva, AI. Netrusov (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Appl. Biochem. Microbiol.*42:117–126
- Van Houdt R, Michiels CW. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *J Appl Microbiol.* 2010;109:1117–1131
- Vassilev, N., Vassileva, M., Nikolaeva, I. (2006). Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Applied microbiology and biotechnology*, 71(2), 137-144.
- Vittorio, V., Christoph, K., (2016). Signaling in the Rhizosphere. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants>. trends in plant science.
- Wang, H.; Liu, R.; You, M.P.; Barbetti, M.J.; Chen, Y(2021). Pathogen Biocontrol Using Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPR): Role of Bacterial Diversity. *Microorganisms* 2021, 9, 1988.p7.

Références bibliographiques

- Wardle, D., Bardgett, A., Klironomos, R., Setälä, J., van der Putten, D., et Wall, D., (2004) Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304 P.
- Weyens, N., S. Monchy, J. Vangronsveld, S. Taghavi, et D. Vander Lelie. 2010. Plant-Microbe Partnerships, p. 254-2564 . In K.N. Timmis (ed.), *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. Tilak, K.V.B.R., N. Ranganayaki, K.K. Pal, R. De, A.K. Saxena, C.S. Nautiyal, Shilpi Mittal, A.K. Tripathi, et B.N. Johri. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Curr. Sci.* 89: 136-150
- Wong, W., Tan, S., Ge, L., Chen, X., and Yong, J. (2015). “The importance of phytohormones and microbes in biofertilizers,” in *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, ed D. Maheshwari (Cham: Springer), 105–158
- Yannick D.N. Tremblay, Skander Hathroubi, Mario Jacques. (2016). *Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique*.
- Yanxia Zhang, Carolien Ruyter-Spira, and Harro J Bouwmeester, 2015 *Engineering the plant rhizosphere*, science direct. p 1.
- Yusminah Hala and Alimuddin Ali 2019. *J. Phys.: Conf. Ser.* 1244 012019
- Yuan, C-L., Mou, C-X., Wu, W.-L. and Guo, Y-B. (2011) Effect of different fertilization treatments on indole-3-acetic acid producing bacteria in soil. *J Soils Sediments* 11: 322-329.
- Zahir, Z. A, M. Arshad, et W.T. Frankenberger, Jr. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria : application and perspectives in agriculture. *Adv. Agro.* 81: 97-198
- Zehdi-Azouzi S, Cherif E, Moussouni S, Gros-Balthazard M, Abbas Naqvi S, Ludeña B, Castillo K, Chabrillange N, Bouguedoura N, Bennaceur M. (2015). Genetic structure of the date palm (*Phoenix dactylifera*) in the Old World reveals a strong differentiation between eastern and western populations. *Annals of Botany*, Volume 116, Issue 1, July 2015, Pages 101–112,

Annexes

Annexe 1 : composition des milieux de culture

Milieu LB (Bertani.,1951)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone... 10,0g
- Extrait de levures..... 5,0g
- Nacl..... 10,0g
- Agar... 17,0g

Milieu LB liquide

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone... 10,0g
- Extrait de levures 5,0g
- Nacl..... 10,0g

Milieu KING B(King B et all.1970)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone..... 20,0g
- Glycérol 10,0g
- Hydrogénophosphate de potassium..... 1,5g
- Sulfate de magnésium..... 1,5g
- Agar..... 15,0g

Milieu HCN(Joseph Louis.1811)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone de soja 5,0g
- Hydrolyse... 15,0g
- Agar..... 15,0g
- Nacl..... 5,0g
- Glycine... 4,4g

Milieu AIA (Gogala.1970)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone... 10,0g
- Extrait de levures..... 5,0g

- Nacl..... 10,0g
- Agar..... 17,0g
- L-tryptophane... 0,40L
- SDS.....0,06%

Milieu Pikovskaia (Pikovskaia 1948)

Pour 1 litre de milieu :

Solubilisation de phosphates

- Sucrose... 10,0g
- Ca₃(PO₄)₂..... 5,0g
- MgC₁₂,6H₂O 5,0g
- KCL... 0,2g
- MgSO₄,7H₂O 0,25g
- (NH₄)₂SO₄..... 0,1g
- Bleu de bomophénol 0,25g

Milieu levane(Hildebrand et al.,1988)

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait de levure 2,0g
- Bactopeptone..... 5,0g
- Nacl.....5,0g
- Saccharose..... 50g
- Agar... 15g
- Eau distillée 1000ml

Milieu gélatine (Ielliot et stead,1987)

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait de levure 3,0g
- Peptone... 5,0g
- Gélatine... 120g
- Eau distillée 1000ml

Milieu citrate de simmons

Pour 1 litre de milieu :

- Citrate de sodium..... 1,0 g
- Bleu de bromothymol 0,08 g

- Chlorure de sodium... 5,0 g
- Sulfate de magnésium... 0,2 g
- Hydrogénophosphate de potassium... 1,0 g

Milieu mannitol mobilité

Pour 1 litre de milieu :

- hydrolysats tryptiques de caséin... 10,0 g
- mannitol 7,5 g
- rouge de phénol 0,04 g
- nitrate de potassium..... 1,0 g
- agar..... 3,5 g

Milieu MEVAG (Hugh, R et al.1953)

Pour 1 litre de milieu :

- Base nutritive avec peu de peptones 2,0g
- Bleu de bromothymol..... 0,03g
- NaCl..... 5,0g
- K₂HPO₄..... 0,3g
- Agar..... 2,5g

Milieu Urée Indole (ROLAND F et al.1978)

Pour 1 litre de milieu :

- L-Tryptophane... 3,0g
- KH₂PO₄..... 1,0g
- K₂HPO₄..... 1,0g
- Chlorure de sodium... 5,0g
- Urée 20,0g
- Alcool à 95° 10ml
- Rouge de phénol..... 0,05g

Milieu LPGA (Lelliott et Stead.,1987)

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait de levure 5,0g
- Peptone... 5,0g
- Glucose... 10,0g
- Agar..... 15,0g

L'eau peptonée

- Peptone10,0g
- Chlorure de sodium... ..5,0g

Annexe 2 : Les appareils



Autoclave



Etuves



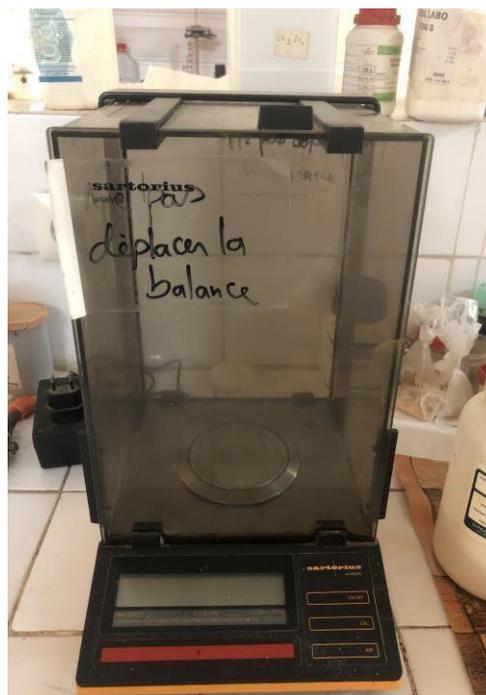
Agitateur



Fours



Microscopes



Balances



La lampe UV



Spectrophotomètre

Annexe 3 : Matériel non biologique

- ❖ Bec bunsen.
- ❖ Anse de platine.
- ❖ Micropipette.
- ❖ Pipette pasteur.
- ❖ Boite de Petri.
- ❖ Tube à essai.
- ❖ Pince.
- ❖ Bécher.
- ❖ lame et lamelle en verre.
- ❖ Portoire.