

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE de BLIDA-1-

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DE MASTER DANS LE DOMAINE SNV

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

Option : MICROBIOLOGIE

Thème :

**Recherche et identification préliminaire de la flore
bactérienne de la rhizosphère de *Phoenix dactylifera* au
Sahara algérien**

Réalisé par :

Date de soutenance : 11/09/2022

M^{lle} : MESSNADI FATIMA ZOHRA

M^{lle} : DJOUBRI SABRINA

Devant le Jury :

Mme BOUDJEMA. N

MCA

USDB1

Présidente

Mme LOUNACI. L

MAA

USDB1

Examinatrice

Mme TAFIFET. L

MAA

USDB1

Promotrice

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

Nous tenons à remercier tout d'abord notre Bon Dieu ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour mener à terme ce travail. Au moment de terminer ce manuscrit, une évidence apparaît : beaucoup de gens ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce travail nous tenons à les en remercier. Nos sincères gratitudes à Mme « Tafifet Lamia » pour son encadrement, son orientation, ses conseils et la disponibilité qu'elle nous a témoignée pour nous permettre de bien mener ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent à « Boudjama. N » qui a accepté de présider le jury de soutenance, qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance. Nos remerciements s'étendent également à Mme « Lounaci. L » pour nous avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier Mme « Salma » pour ses conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire, ainsi que pour sa patience, sa gentillesse, et son esprit responsable au tout long de cette étude.

Sans oublier de remercier nos chers parents qui ont contribué à l'avancement de toute belle chose dans nos vies et qui nous ont beaucoup soutenus. Nos remerciements vont également à tous ceux et celles qui de près ou de loin nous ont apporté l'aide et l'encouragement

SABRINA ET FATJMA ZOHRA

Dédicaces

Je dédie ce travail : A celle qui attend mon retour a chaque jour A ma mère : Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence. La source de tendresse aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner. A mon père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être et qui m'a toujours encouragée et donné envie d'aller plus loin. A tous mes amis de la promotion de l'année 2022, A toute la promotion microbiologie fondamentale et appliquée chacun par son nom en particulier.

Mesnadi Fatima Zohra

Dédicaces

A mes très chers parents pour leur : amour, sacrifice, patiences, soutien moral et matériel depuis mon enfance jusqu'à ce jour. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure une bonne santé et longue vie. A mon cher frère unique Yacine pour ses conseils, aides et encouragements. A mes chères sœurs : Meriem, Abla, Imen, et Rachida pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral, Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. A mon binôme « Fatima Zohra » ma fidèle partenaire, merci de partager cette merveilleuse aventure avec moi, Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. A mes chères amies en particulier ma chère Amel, Amira, Amina, Yousra, Mounira et Chaima, en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. A tous mes enseignants qui m'ont éclairé sur ce chemin du savoir. A tous qui ont attendu l'achèvement de ce mémoire et qui ont prié 'Dieu' pour plus de réussites.

Djouabri Sabrina

Résumé

Les bactéries rhizosphériques sont parmi les organismes qui vivent et se développent en quantité dans les régions autour des racines; elles ont un effet actif sur la croissance du végétal, et sont qualifiées de **PGPR** (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). Ces bactéries sont utilisées dans divers applications biotechnologiques, y compris industrielles, aspects pharmaceutiques, agricoles et environnementaux.

Ce travail a pour objectifs d'isoler et d'identifier les bactéries rhizosphériques non fluorescentes à partir de quatre échantillons de sol de la rhizosphère du palmier dattier au niveau de la région de Kenadsa située à la wilaya de Béchar.

Une collection de 30 isolats ont été sélectionnés après l'isolement réalisé par la méthode des suspensions-dilutions. L'éventuelle non fluorescence a été révélée en éclairant la boîte de du milieu King B contenant la culture bactérienne de chaque isolat avec la lampe à UV.

Ces souches ont fait objet d'une caractérisation biochimique comme la coloration de Gram, oxydase, catalase et l'indole et une évaluation de l'activité PGPR par des tests enzymatiques comme la recherche de l'amylase et la pectinase ainsi que la sensibilité aux antibiotiques vancomycine, ryfamycine et boldo Florine. La coloration de Gram a permis de distinguer 26 souches à Gram positif et 4 souches à Gram négatif.

Cette recherche nous a permis de constater une diversité des bactéries révélée par les résultats des différents tests étudiés. Ces souches appartenant aux différents genres probables à savoir : une dominance de genre *Bacillus* 12 souches, 5 souches de *Arthrobacter*, 4 souches de *Chromobacterium*, 1 souches de *Klebsiella*, 2 souches du genre *Azospirillum* et *Azotobacter*, 4 souches de *Micrococcus*.

Les résultats obtenus dévoilent que les souches *Arthrobacter* spp., *Micrococcus*, *Bacillus* spp., *Klebsiella* spp. Et *Azospirillum* spp. Ont la capacité de produire l'amylase. De plus, nous avons constaté aussi l'activité pectinolytique chez la majorité des souches des genres : *Arthrobacter*, *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Azotobacter* et *Azospirillum* dont les genres ayant la meilleure aptitude enzymatique sont *Arthrobacter*, *Bacillus* et *Azospirillum*.

Enfin, ce travail a révélé l'aptitude des souches *Chromobacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp., *Azospirillum* spp., *Arthrobacter* spp. de résister aux antibiotiques vancomycine et boldo Florine, Ces bactéries possèdent une sensibilité vers la rifamycine sauf le genre *Bacillus* spp. Qui résiste aux 3 antibiotiques. Ces rhizobactéries sont exploitables pour des perspectives biotechnologiques diverses.

Mots clés : Rhizosphère, bactéries rhizosphériques (PGPR), palmier dattier, bactéries non fluorescentes.

Summary

Rhizospheric bacteria are among the organisms that live and develop in quantity in the regions around the roots; they have an active effect on the growth of the plant, and are qualified as PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). These bacteria are used in various biotechnological applications, including industrial, pharmaceutical, agricultural and environmental aspects.

The objectives of this work are to isolate and identify non-fluorescent rhizospheric bacteria from four soil samples from the date palm rhizosphere in the Kenadsa region located in the Bécher wilaya. A collection of 30 isolates were selected after the isolation carried out by the suspension-dilution method. The possible non-fluorescence was revealed by illuminating the box of King B medium containing the bacterial culture of each isolate with the UV lamp. These strains were subjected to biochemical characterization such as Gram, oxidase, catalase and indole staining and an evaluation of PGPR activity by enzymatic tests such as the search for amylase and pectinase as well as sensitivity to the antibiotics vancomycin, rifamycin and bold Florine, Gram staining made it possible to distinguish 26 Gram-positive strains and 4 Gram-negative strains.

This research allowed us to observe a diversity of bacteria revealed by the results of the various tests studied. These strains belonging to the various probable genera namely: a dominance of the genus *Bacillus* 12 strains, 5 strains of *Arthrobacter*, 4 strains of *Chromobacterium*, 4 strains of *Micrococcus* 2 strains of the genus *Azospirillum* and *Azotobacter* and 1 strain of *klebsiella*.

The results obtained reveal that the strains *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Klebsiella* and *Azospirillum* have the ability to produce amylase. In addition, we also found pectinolytic activity in the majority of strains of the genera: *Arthrobacter*, *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Azotobacter* and *Azospirillum*, the genera with the best enzymatic ability of which are *Arthrobacter*, *Bacillus* and *Azospirillum*.

Finally, this work revealed the ability of *Chromobacterium* strains., *Micrococcus*., *Bacillus*, *Azospirillum*., *Arthrobacter* and *Azotobacter*. To resist the antibiotics vancomycin and bold Florine, these bacteria have a sensitivity towards rifamycin except the genus *Bacillus* which resists the 3 antibiotics. These rhizobacteria can be exploited for various biotechnological perspectives.

Key words

Rhizosphere, rhizosphericbacteria (PGPR), date palm, non-fluorescent bacteria.

ملخص

تعد البكتيريا العنقودية من بين الكائنات الحية التي تعيش وتتطور بكميات في المناطق المحيطة بالجذور، ولها تأثير نشط على نمو النبات، وهي مؤهلة باسم PGPR (البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات). تُستخدم هذه البكتيريا في مختلف تطبيقات التكنولوجيا الحيوية بما في ذلك الجوانب الصناعية والصيدلانية والزراعية والبيئية.

يهدف هذا العمل إلى عزل وتحديد بكتيريا العنقودية غير الفلورية من أربع عينات من التربة من جذور نخيل التمر في منطقة فنادسه الواقعة في ولاية بشار. تم اختيار مجموعة من 30 عزلة بعد إجراء العزل بطريقة التعليق-التخفيف. تم الكشف عن عدم التألق المحتمل من خلال إضاءة صندوق وسط King B الذي يحتوي على الثقافة البكتيرية لكل عزلة بمصباح UV. تعرضت هذه السلالات لتوصيف كيميائي حيوي مثل تلطيخ الجرام والأوكسيديز

الكتلاز والإندول وتقييم نشاط PGPR عن طريق الاختبارات الأنزيمية مثل البحث عن الأميلاز والبكتيناز وكذلك الحساسية للمضادات الحيوية vancomycin و rifamycin و boldo Florine. من الممكن التمييز بين 26 سلالة موجبة الجرام و4 سلالات سلبية الجرام. سمح لنا هذا البحث بملاحظة مجموعة متنوعة من البكتيريا التي كشفت عنها نتائج الاختبارات المختلفة التي تمت دراستها. تنتمي هذه السلالات إلى مختلف الأجناس المحتملة وهي: هيمنة جنس *Bacillus* 12 سلالات، و5 سلالات من بكتيريا *Arthrobacter*، و4 سلالات من بكتيريا *Chromobacterium*، و4 سلالات من *Micrococcus*، سلالتين من جنس *Azospirillum* و *Azotobacter* و سلالة من *Klebsiella*

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن سلالات *Arthrobacter* و *Micrococcus* و *Bacillus* و *Klebsiella* و *Azotobacter* و *Azospirillum* لديها القدرة على إنتاج الأميليز. بالإضافة إلى ذلك، وجدنا أيضاً نشاط تحلل البكتين في غالبية سلالات الأجناس: *Arthrobacter* و *Chromobacterium* و *Micrococcus* و *Bacillus* و *Azotobacter* و *Azospirillum*، وهي الأجناس التي تتمتع بأفضل قدرة إنزيمية منها بكتيريا المفصليات والبكتيريا أخيراً، كشف هذا العمل عن قدرة سلالات *Arthrobacter*، *Chromobacterium*، *Micrococcus*، *Bacillus*، *Azospirillum*، *Arthrobacter*. لمقاومة المضادات الحيوية vancomycin و boldo Florine. هذه البكتيريا لها حساسية تجاه rifamycin باستثناء جنس *Bacillus* الذي يقاوم المضادات الحيوية الثلاثة. يمكن استغلال هذه البكتيريا الجذرية في وجهات نظر التكنولوجيا الحيوية المختلفة.

الكلمات المفتاحية

بكتيريا العنقودية (PGPR)، نخيل التمر، بكتيريا المشعة.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des Abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Introduction générale

Chapitre I : synthèse bibliographique

1. Palmier Dattier.....	3
1.1. Généralités.....	3
1.2. Production des dattes et répartition géographique du palmier dattier.....	3
1.2.1. Dans le monde	4
1.2.2. En Algérie.....	4
02. Rhizosphère.....	7
2.1. Définition.....	7
2.2. Structure de la Rhizosphère	7
2.2.1. Rhizoplan	7
2.2.2. L'endorhizosphère	7
2.2.3. L'ectorhizosphère	7
2.3. Microflores rhizosphérique.....	8
2.4. Rhizobactéries	9
2.5. Bactéries promotrices de la croissance des plantes PGPR	9
2.5.1. Des exemples sur PGPR.....	10
A. <i>Bacillus</i> spp.....	10
B. <i>Rhizobium</i> spp.....	11
2.6. Modes d'action des PGPR	11

2.6.1. Effets directs des PGPR sur les plantes	12
2.6.1.1. Fixation de l'azote.....	12
2.6.1.2. Solubilisation de phosphate.....	13
2.6.1.3. Production des sidérophores.....	13
2.6.1.4. Production des phytohormones	13
a. Auxine.....	14
b. Cytokinine.....	14
c. Gibbérellines.....	14
2.6.2. Effets indirects des PGPR sur les plantes	15
2.6.2.1. Production des antibiotiques	15
2.6.2.2. Production des enzymes lytiques	15
A. Cellulase.....	16
B. Chitinase	16
2.6.2.3. Résistance systémiques induite.....	16
2.6.2.4. Production des composés organiques volatils	17
2.6.2.5. Formation de biofilm	17
2.7. Intérêts des PGPR	18
2.7.1. Intérêts médicaux	18
2.7.2. Intérêts en agriculture	18
2.7.2.1. Biostimulation.....	18
2.7.2.2. Biocontrôle.....	19
2.7.2.3. Bioremédiation	20
2.7.3. Intérêts industriels	20

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Echantillonnage.....	21
2. Localisation de la zone d'étude	21
3. Aperçu climatique et géologique.....	22
4. Isolement et identification des rhizobactéries	22
4.1. Isolement des rhizobactéries	22
4.2. Purification et conservation des isolats.....	23
4.3. Caractérisation des isolats	23
3.4.1. Examen macroscopique	23
4.3.2. Test de fluorescence sur King B	24
4.3.3. Coloration de Gram	24
4.3.4. Test de confirmation KOH.....	25
4.4. Identification biochimique	25
4.4.1. Etude des enzymes respiratoires	25
4.4.1.1. Recherche de catalase	25
4.4.1.2. Test d'oxydase	26
4.4.1.3. Recherche de nitrate réductase	26
4.4.1.4. Test mannitol mobilité	26
4.4.1.5. Test d'utilisation de citrate.....	27
4.4.1.6. Production d'indole	27
4.4.1.7. Recherche de gélatine.....	27
4.4.1.8. Teste levane sucrase	28
4.4.1.9. Test de mise en évidence du métabolisme oxydatif /fermentatif du glucose	28
4.4.1.10. Teste de fermentation des sucres en milieu TSI (Lactose, Saccharose, Glucose, H₂S)	29
4.4.2. L'évaluation de l'activité PGPR.....	29

4.4.2.1. Activité amylolytique	29
4.4.2.2. Activité pectinolytique.....	29
4.4.2.3. Sensibilité ou résistance aux antibiotiques	30

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Caractérisation des bactéries par approche phénotypique.....	32
2. Résultats de coloration de Gram et le test de KOH.....	35
3. Les tests des biochimiques.....	35
3.1. Résultats de test oxydase.....	35
3.2. Résultats de test catalase.....	36
3.3. Résultats de test de mannitol mobilité.....	37
3.4. Résultats de l'utilisation de citrate	38
3.5. Résultats de test levane sucrase	39
3.6. Résultats de test de la production d'indole	40
3.7. Résultats de test de liquifaction gélatine.....	41
3.8. Résultats de test nitrate réductase	41
3.9. Résultats de test oxydation/fermentation (Hugh et Liefson)	42
3.10. Résultats de test Triple Sugar Iron. Agar (TSI).....	43
4. Les résultats de l'activité PGPR (tests enzymatiques).....	46
4.1. Résultats de test activité amylolytique	46
4.2. Résultats de test d'activité pectinolytique	47
5. Sensibilités aux antibiotiques.....	51
Discussion.....	55
Conclusion générale.....	59
Références bibliographiques.....	62
Annexes.....	79

Liste des tableaux :

❖ Tableau 01 : Taxonomie de <i>Phoenix Dactylifera</i>	3
❖ Tableau 02 : Le rendement de palmier-dattier en Algérie.....	5
❖ Tableau 03 : Quelques espèces des PGPR avec leurs effets.....	10
❖ Tableau 04 : Codes des échantillons étudiés.....	21
❖ Tableau 05 : Caractères morphologiques des micro-organismes rhizosphériques....	33
❖ Tableau 06 : Les résultats de coloration de Gram et le test KOH.....	35
❖ Tableau 07 : Les résultats de test oxydase.....	36
❖ Tableau 08 : Les résultats de test mannitol mobilité.....	37
❖ Tableau 09 : Les résultats de test de citrate.....	38
❖ Tableau 10 : Les résultats de test levane sucrase.....	39
❖ Tableau 11 : Les résultats de test d'indole.....	40
❖ Tableau 12 : Les résultats de test nitrate réductase.....	41
❖ Tableau 13 : Les résultats de test d'oxydation.....	42
❖ Tableau 14 : Les résultats de test de fermentation.....	42
❖ Tableau 15 : Les résultats de test Triple Suger Iron. Agar (TSI).....	45
❖ Tableau 16 : Les résultats de test d'amylase.....	46
❖ Tableau 17 : Les résultats de test d'activité pectinolytique.....	47
❖ Tableau 18 : Les résultats des tests biochimiques et physiologiques.....	49
❖ Tableau 19 : Résultats de sensibilité de certaines souches au Vancomycine à des différentes concentrations 25%, 50%, 100%.....	51
❖ Tableau 20 : Résultats de sensibilité de certaines souches au Rifamycine à des différentes concentrations 25%, 50%, 100.....	52
❖ Tableau 21 : Résultats de sensibilité de certaines souches au boldo Florine à des différentes concentrations 50%, 100%.....	53

Liste des figures

❖ Figure 01 : Extension géographique du palmier dattier dans le monde au fil des siècles.....	4
❖ Figure 02 : Carte de l'Algérie indiquant les différentes zones de culture de palmier dattier.....	6
❖ Figure 03 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère.....	7
❖ Figure 04 : Situation géographique de la localisation de la région de kenedsa.....	22
❖ Figure 05 : Aspect macroscopiques des isolats A, B, C, D, E, D.....	34
❖ Figures 06 : Résultats de test KOH.....	35
❖ Figures 07 : Résultats de test oxydase.....	36
❖ Figures 08 : Résultats du test catalase.....	37
❖ Figures 09 : Résultats de test mannitol mobilité.....	38
❖ Figures 10 : Résultats de test citrate.....	39
❖ Figures 11 : Résultats de test de levane.....	39
❖ Figures 12 : Résultats de test indole.....	40
❖ Figures 13 : Résultats de test gélatinase.....	41
❖ Figure 14 : Résultats de test Hugh et Liefson.....	43
❖ Figures 15 : Résultats de TSI.....	44
❖ Figures 16 : Résultats de l' amylase.....	46
❖ Figure 17 : Résultats de pectinase.....	47
❖ Figure 18 : Diagrammes des pourcentages des genres obtenus après la caractérisation.....	48
❖ Figure 19 : Histogramme de sensibilité de certaines souches au Vancomycine à des différentes concentrations 25%, 50%, 100%.....	51
❖ Figure 20 : Histogramme de sensibilité de certaines souches au Rifamycine à des différentes concentrations 25%, 50%, 100%.....	52
❖ Figure 21 : Histogramme de sensibilité de certaines souches au BD à des différentes concentrations 50%, 100%.....	53
❖ Figure 22 : Résultats de test sensibilité aux antibiotiques.....	54

Liste des abréviations

- ❖ **PGPR** : (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes.
- ❖ **KOH** : **Hydroxyde** de potassium
- ❖ **AIA** : L'acide indole acétique.
- ❖ **ISR** : Résistance systémique induite.
- ❖ **N** : L'azote biologique.
- ❖ **COVs** : Composés organiques volatils
- ❖ **EPS** : Polysaccharides extracellulaires.
- ❖ **UV** : Ultra-violet.
- ❖ **TSI** : Triple Sugar Iron. Agar.
- ❖ **ATB** : Antibiotique.
- ❖ **MH** : Muller Hinton.
- ❖ **KB** : King B.

Introduction générale

Les sols sont les milieux naturels qui hébergent la plus grande densité et la plus grande diversité microbienne connues, et une faune d'une grande richesse.

La gestion durable des sols vise à préserver ce patrimoine essentiel pour l'humanité qui n'est pas renouvelable à l'échelle de temps. Cette gestion des systèmes agro écologiques qui visent à mieux valoriser la biodiversité et les interactions biotiques afin de réduire l'utilisation d'intrants de synthèse et préserver les ressources (eau, sol, biodiversité) (**Jean et al., 2017**).

La croissance aérienne de la plante dépend fortement du système racinaire. La rhizosphère est la zone d'échanges continue entre les racines des plantes et les communautés microbiennes du sol. Les plantes, à travers les exsudats racinaires, attirent les micro-organismes de la rhizosphère pour coloniser la surface racinaire et les tissus internes (**Divya Kalra., 2021**).

Ces micro-organismes connus sous le nom des rhizo bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) grâce à plusieurs mécanismes directs et indirects, notamment la fixation biologique de l'azote, la solubilisation des nutriments et le contrôle des maladies chez différentes cultures notamment le palmier dattier. Le palmier dattier est une plante d'intérêt écologique, économique et social majeur pour de nombreux pays de vastes territoires arides. En effet, le développement de la culture du palmier dattier en Algérie contribue durablement contre l'insécurité alimentaire dans ces régions où la désertification bat son plein (**Mohammed Mesnoua et al., 2022**).

Les PGPR comprennent des membres des genres *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium* et *Enterobacter* (**Sadaf Kalam et al., 2021**). Les souches appartenant au genre *Bacillus* ont été dominantes dans les études menées par différents chercheurs à travers le monde (**Aannizet et al., 2015**).

De nombreux PGPR, en produisant des phytohormones, des composés organiques volatils et des métabolites secondaires, jouent un rôle important en influençant l'architecture et la croissance des racines (**Abha Sharma., 2021**).

La plupart des enzymes utilisées actuellement sont d'origine microbienne et présentent des intérêts importants dans l'amélioration de certains procédés de fabrications tels que l'industrie du textile, la papeterie, la dépollution, l'industrie alimentaire, etc.

Les bactéries rhizosphériques représentent l'un des groupes producteurs de ces enzymes d'intérêt (**NaidjiMériem et al., 2020**). Plusieurs études, ont démontré la capacité des bactéries rhizosphériques à produire des enzymes extracellulaires (**Alouache et Chouder, 2019**). Parmi

les bactéries amylolytiques *Bacillus* spp. Sont largement utilisées pour la production d'alpha amylase thermostable afin de répondre aux besoins industriels comme les espèces *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis* (Suriya et al., 2016).

Les pectinases jouent un rôle important dans de nombreux processus physiologiques tels que la maturation des fruits (Flores-Gallegos et al., 2019). Parmi les genres produisant ces enzymes : *Frankia*, *Azorhizobium*, *Paenibacillus* et *Brevibacillus* (PoojaBhadrecha et al., 2020). De même, les souches *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, et *Bacillus licheniformis* sont des productrices de l'enzyme pectinase (Ben Abdallah et al., 2018).

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail dont l'objectif principal consiste à :

- Isoler et purifier des bactéries non fluorescentes à partir du sol rhizosphérique de 4 variétés du palmier dattier dans la région de kenadsa située dans la wilaya de Bechar.
- Identifier les souches par l'étude macroscopique et des tests biochimiques et physiologiques (catalase oxydase Nitrate réductase, oxydo-fermentation ...).
- Evaluer les activités enzymatiques des souches isolées et la sensibilité aux antibiotiques.

CHAPITRE I :
Synthèse
bibliographique

1. Palmier Dattier

1.1. Généralités

Le palmier dattier a été nommé *Phoenix Dactylifera* par Linné en 1734. Le genre *Phoenix* dérive de Phoenix, nom du dattier chez les grecs de l'antiquité, qui le considéraient comme l'arbre des phéniciens : *dactylifera* vient du latin Dactylus dérivant des grecs dactylos, signifiant le doigt, en raison de la forme du fruit (Munier, 1973).

Le palmier dattier est une espèce monocotylédone, formant une famille unique des Arecaceae qui comporte environ 2800 espèces réparties en 226 genres (Rival, 2010).

Le genre *phœnix* comporte au moins douze espèces, dont la plus connue est *phœnix dactylifera* dont les fruits des dattes font l'objet d'un commerce intérieur et extérieur important (tableau I) (Espiard., 2002).

Tableau 01 : Taxonomie de *Phoenix Dactylifera*.

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Arecales
Famille	Areceae anciennement appelée palmaceae
Genre	<i>Phoenix</i>
Espèce	<i>Phoenix dactylifera</i> (Chevalier., 1952)

1.2. Production des dattes et répartition géographique du palmier dattier

Le palmier dattier 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 où les conditions agroécologiques sont favorables à son développement. Au cours des trois derniers siècles, les dattes ont également été introduites dans de nouvelles zones de production en Australie, en Inde, en Pakistan, en Afrique en Amérique (Chao et Krueger, 2007). Le dattier est cultivé depuis au moins 5000 ans (Zohary et Hopf, 2000), les fruits constituent la principale source de revenus et l'aliment de base des populations locales et jouent un rôle important de l'économie, la société et l'environnement de ces pays producteurs de dattes.

1.2.1. Dans le monde

Le palmier est parmi les espèces les plus anciennes dans les régions sahariennes dans le monde entier, sa culture présente dans l'Afrique Méditerranéenne et au Moyen orient, Amérique du Nord et du Sud, l'Asie et même l'Europe (Espagne) (**Matallah., 2004**).

La production mondiale de dattes est estimée entre 7 millions de tonnes par année, cela place la datte au 5eme rangé des fruits les plus produits dans les région arides et semi arides (**Planet-scope.,2012**). Les principaux pays producteurs localisé dans les régions arides de nord de l'Afrique (Egypte, Algérie, Libye, Maroc, Tunisie, Soudan) et de Sud-ouest de L'Asie (Arabie Saoudite, Pakistan, Emirats Arabes Unis, Oman et Jordanie) (**Benlarbi, 2019**). (**Figure 01**).

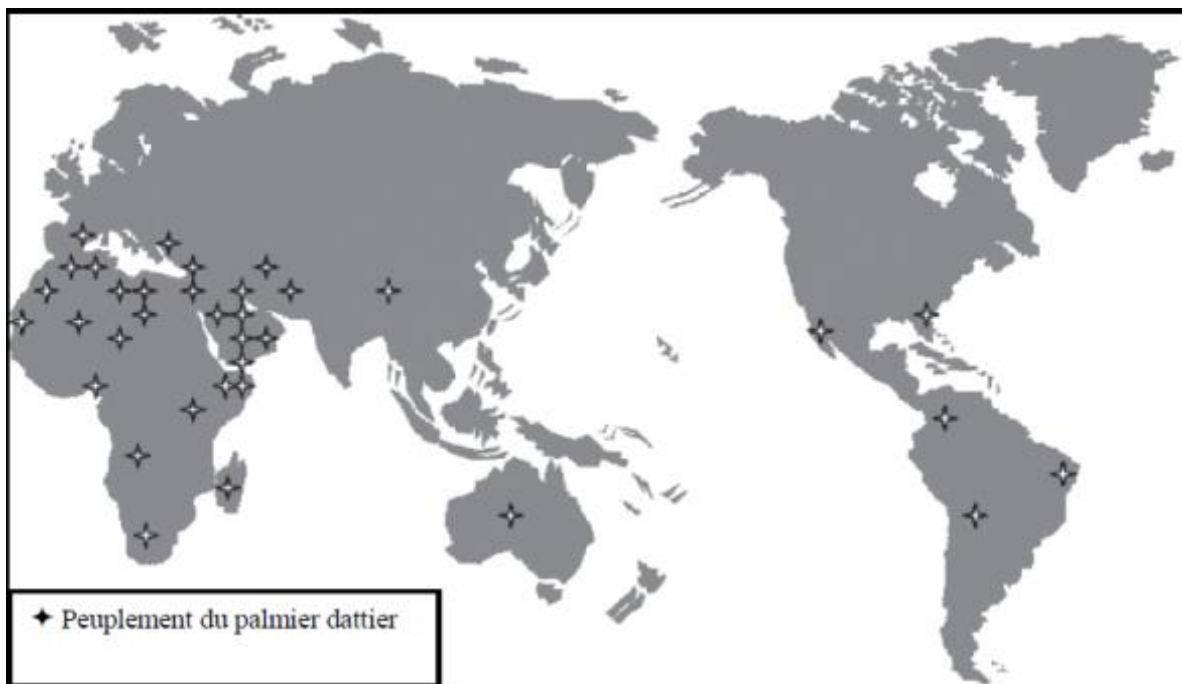


Figure 01 : Répartition géographique du palmier dattier dans le monde.
(**Elhadrami I et Elhadrami A, 2009**).

1.2.2. En Algérie

L'Algérie est l'un des producteurs les plus importants des dattes, avec une diversité et une abondance. L'Algérie est classé le 4ème producteur mondiale avec 12.5% de la production mondiale en 2019 selon les régions et les variétés.

La diversité génétique du palmier dattier est très importante, la variété la plus cultivée est deglet-Nour (datte fine) avec une excellente qualité. Mais il existe d'autres variétés comme Ghars (datte molle) ou dégela Beida (datte sèche) (**Algérie presse service 2018**).

La superficie globale des palmiers-dattiers s'élève à 167 663 ha en 2017, alors que les palmiers productifs sont estimés à 15.7 millions à 18.53 millions (**Tableau 02**).

Actuellement, la culture des palmiers dattiers dans les oasis occupe les régions situées dans le Sud des montagnes de l'Atlas saharien. Elle se délimite entre la frontière marocaine, à l'ouest, jusqu'à la frontière est tuniso-libyenne. Du Nord au Sud de l'Algérie, elle s'étend des contreforts du Sud de l'Atlas saharien à Reggana l'Ouest, Tamanrasset au centre et Djanet à l'Est (**figure 02**) (**Bougedoura et al., 2015**).

Tableau 02 : Le rendement de palmier-dattier en Algérie (**Algérie presse service 2018**).

Les variétés	Le rendement
Deglet Nour	86.3 Qt/h
Deglet beida et les dattes sèches	51.6 Qt/h
El Ghars et les dattes moelles	58.2 Qt/h

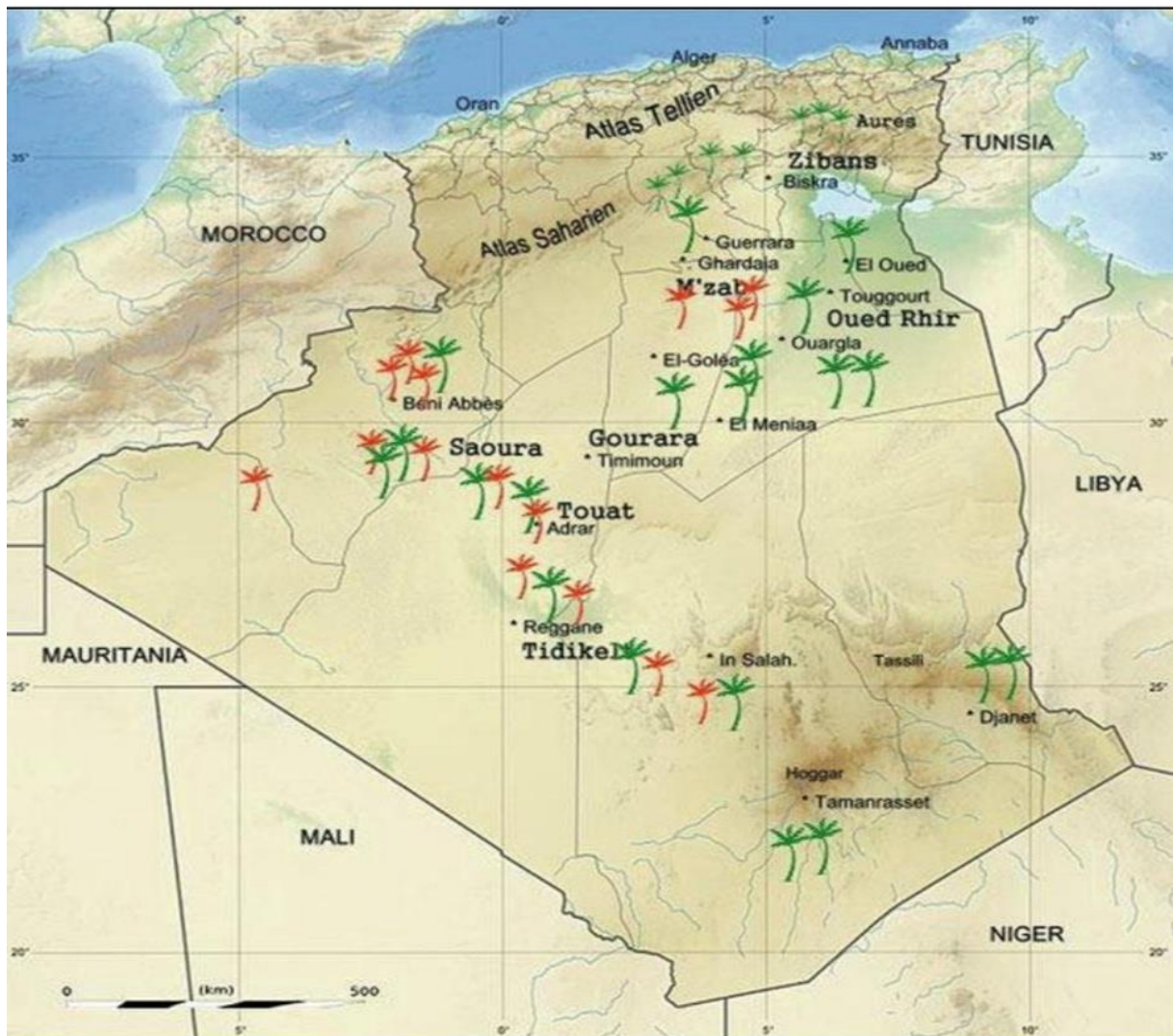


Figure 02 : carte de l'Algérie indiquant les différentes zones de culture de palmier dattier (Bouguedoura et al., 2015) ● : zones infectées par bayoud ● : zones non infectées.

02. Rhizosphère

2.1. Définition

Le terme rhizosphère a été utilisé pour la première fois en 1904 par Lorenz Hiltner (**Anton et al, 2008**), bactériologistes spécialistes en microbiologie de sol et professeur d'agronomie au collège technique de Munich (**Lombi et al.,2001**). Ce chercheur a défini la rhizosphère comme étant la région du sol située sous les racines des plantes soumise à leur influence directe. C'est un lieu d'intenses échanges entre le végétal et le substrat minéral (**Marie line Faure, 2018**). Du fait de sa richesse en éléments nutritifs, la rhizosphère contient 10 à 100 fois plus de micro-organismes par gramme de sol que le sol non rhizosphérique (**Severine Lopez, 2018**). Ainsi, cette région est considérée comme un système complexe, hétérogène, dynamique et interactif, qui dépasse la simple notion d'interface entre le monde végétal et le monde minéral. La rhizosphère est la partie du sol caractérisée par divers processus physiques, chimiques et biologiques (**Michel et al.,2005**).

2.2. Structure de la Rhizosphère

La rhizosphère est divisée en trois grandes composantes qui interagissent ensemble : le rhizoplan, l'endorhizosphère, l'ectorhizosphère (**Barea et al., 2005**).

2.2.1. Rhizoplan : est considéré comme le lien entre la racine et le sol, c'est la surface de la racine composée de mycélium et de colonies bactériennes fortement adhérentes (**Maougal, 2014**).

2.2.2. L'endorhizosphère : C'est le site de la pénétration des champignons et des bactéries dans les cellules parenchyme du cortex végétal, sa sécrétion est utilisée sans provoquer la mort cellulaire (**Maougal., 2014**).

2.2.3. L'ectorhizosphère : représente le sol associé aux racines des plantes (**Maougal., 2014**). (**Figure 03**).

La rhizosphère est une niche écologique abritant de nombreux micro-organismes qui jouent un rôle significatif sur la santé des plantes (**Geoffroy Villejoubert., 2016**).

Ces microorganismes sont structurés en communautés complexes au sein desquelles diverses interactions microbiennes existent (**Lepinay, 2013**).

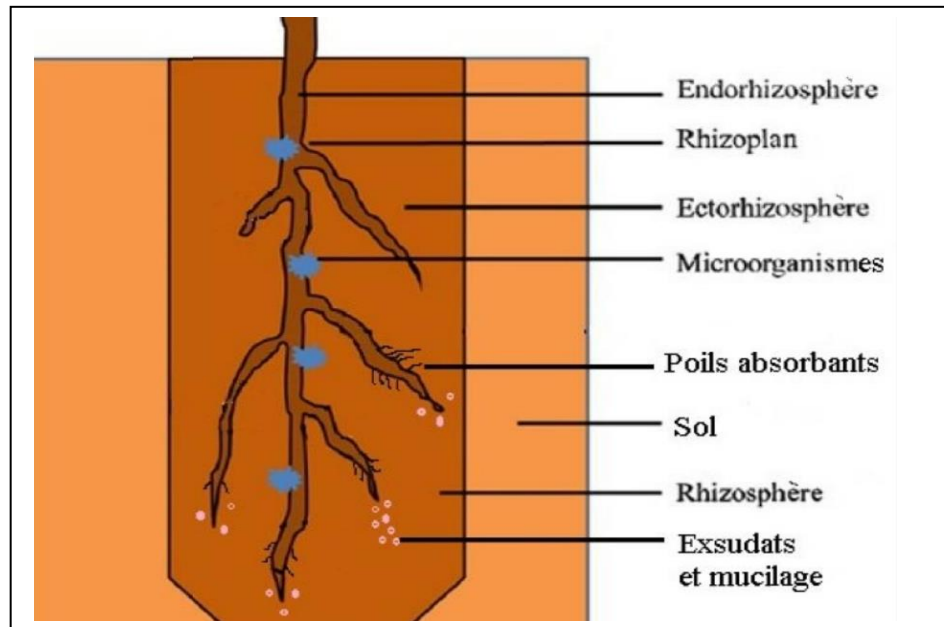


Figure 03 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère (Seshadri et al., 2015).

2.3. Microfiores rhizosphériques :

Les communautés microbiennes de la rhizosphère sont constituées de micro-organismes telluriques. Au cours de la croissance des racines des plantes, la zone d'élongation située à l'extrémité des racines est légèrement colonisée par les micro-organismes du sol. La densité microbienne augmente rapidement avec l'augmentation des exsudats racinaires (Hartmann et al., 2009). Les exsudats regroupent les composés qui diffusent passivement du cytosol vers la solution du sol (Nguyen, 2007). Il est estimé que 5% à 20% de tout le carbone fixé par photosynthèse est finalement transféré à la rhizosphère sous forme des produits chimiques (Steeghs, 2004). Les exsudats racinaires contiennent des ions libérés proton (H^+), les acides organiques, l'oxygène et l'eau, mais ils sont principalement constitués de composés à base de carbone. Ces composés organiques peuvent souvent être séparés en deux classes : les composés de faible poids moléculaire et les composés de poids moléculaire élevé (Badri et Vivanco., 2009). La composition et la densité des micro-organismes diffèrent d'une plante à une autre dans le même sol (Marschner et al., 2001).

Dans la rhizosphère, les bactéries sont les micro-organismes les plus nombreux comme *Azotobacter* et *Bacillus*. Leur densité peut atteindre 10^9 par gramme de sol, puis Les atteindre 10^8 unités par gramme de sol (Bodoharisoa et al., 2007). Les actinomycètes saprophytes de sol sont ubiquitaires et présentent une diversité métabolique. Ils sont à l'origine d'environ 75%

d'antibiotiques naturels connus dans le monde (Zerizer et al., 2006). La densité des champignons est estimée de 8000 – 10⁶unités par gramme de sol dont les genres les plus fréquentes sont *Fusarium*, *Penicillium* (Vassilev et al., 2006). Les micro-organismes les plus abondants dans les premiers centimètres de sol sont les Rhizobactéries généralement compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs (Peter et al.,2015).

2.4. Les Rhizobactéries

Les bactéries du sol diffèrent d'une plante à autre, qualitativement et quantitativement, les racines des plantes sont capables d'attirer les micro-organismes bénéfiques comme *Azotobacter*, *Agrobacterium* et *Magnetospirillum* spp.

Les tissus de la racine peuvent leurs servir d'habitat comme les mycorhizes et des nodosités fixatrices d'azote, ainsi, certaines bactéries rhizosphériques vivent au contact direct avec les racines et pénètrent dans les tissus rhizodermiques et corticaux (Gbatet et al., 2010).

Les exsudats racinaires influencent sélectivement la croissance des bactéries qui colonisent la rhizosphère en modifiant la chimie du sol avoisinant les racines servant comme substrats de croissance sélective pour le micro-organisme de sol. Ces espèces, à leur tour, influencent la composition et la quantité des différents composants d'exsudats racinaires par leurs effets sur le métabolisme cellulaire, et la nutrition des plantes (Yang et Crowley, 2000).

A partir de cette particularité, les communautés microbiennes rhizosphériques peuvent varier dans la structure et la composition des espèces dans différentes parties de système racinaire. Cette variation dépend aussi selon les types de sol, les espèces végétales, l'état nutritionnel, l'âge, la présence d'un stress ou d'une maladie (Reddy et al., 2014). Ces rhizobactéries favorisent la croissance des plantes, connues sous le nom PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) (Zahir et al., 2004).

2.5. Bactéries promotrices de la croissance des plantes PGPR

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) sont des bactéries bénéfiques qui colonisent efficacement la rhizosphère, elles exercent sur les plantes divers effets influençant leur croissance(Orozco Mosqueda et al., 2021).Dans la rhizosphère, ces bactéries peuvent se retrouver aux niveaux intra ou extra cellulaire (Gray et Smith., 2005).Elles

sont généralement très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs (Tableau03)(Peter et al., 2015).

Tableau 03 : quelques espèces des PGPR avec leurs effets (Ahmed et Khan., 2011).

L'espèce	Effets PGPR
<i>Bacillus subtilis</i>	Activité antifongique
<i>Rhizobium</i> spp.	Sidérophores, AIA
<i>Azospirillum amazonense</i>	Solubilisation de phosphate, résistance aux antibiotiques
<i>Klebsiella oxytoca</i>	AIA, solubilisation de phosphate

2.5.1. Des exemples sur PGPR

A. *Bacillus* spp.

Le genre *Bacillus* englobe des bactéries à Gram positif, les cultures âgées peuvent apparaître à Gram négatif. Les *Bacillus* sont des bâtonnets droits à extrémité carrée ou arrondie ; de taille variable de 0.5-2.5 x 1.2-10 μ . Leur GC% est de 32 à 69. Ils forment des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables. Le plus souvent mobiles, à flagelles péritriches. Les espèces de ce genre sont aérobies, parfois facultatifs, et catalase positive, (Prescott et al., 2003). Ces microorganismes sont des chimioorganotrophes métaboliquement dépendantes des composés organiques en tant que sources de carbone et d'énergie (Todar, 2003). En raison de leur grande omniprésence dans la nature et la génétique et la diversité métabolique menant à la production des sidérophores ; ils sécrètent des enzymes hydrolytiques telles que les chitinases, glucanase, protéase et lipases qui peuvent lyser les cellules fongiques ; stimulent le système de la défense systémique (ISR) chez l'hôte et produisent des substances volatiles. Plusieurs souches représentent le genre *Bacillus* : *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. pasteurii*, *B. cereus* et *B. sphaericus*. Ces bactéries provoquent des réductions significatives de l'intensité et la gravité de diverses maladies sur une diversité d'hôtes (Choudhary et Johri, 2008).

Certaines espèces de genre *Bacillus* sont des diazotrophes, notamment *B. subtilis*, isolée à partir des rhizosphères de diverses plantes à des concentrations supérieures à 10^7 bactéries par gramme de sol rhizosphérique (Antoun et Prevost., 2005).

B. *Rhizobium* spp.

Les *rhizobiums* sont des bactéries à Gram négatif, strictement aérobies, possèdent une forme de bâtonnets de 0,6 à 0,9 µm de largeur et de 1,2 à 3 µm de longueur et non sporulants. Phylogénétiquement, ils appartiennent à la subdivision d'Alpha- Proteobacteria. Ce sont des bactéries mobiles grâce à un flagelle polaire ou subpolaire ou 2 à 6 flagelles péritriches (**Aouadj et Saidi Sief, 2015**). Les rhizobiums vivant dans les régions arides et semi-arides, ont la capacité de résister aux différentes conditions de stress existantes dans ces régions.

Afin de tolérer des hautes températures, des hautes concentrations de sel, le manque d'eau, ces *Rhizobium* ont développé des stratégies qui font d'eux des bons candidats pour être utilisés en symbiose avec les acacias ou avec d'autres plantes capables de résister à ces conditions extrêmes afin de rétablir le couvert végétal et lutter contre la désertification dans ces régions (**Sakrouhi, 2017**). Ainsi, les *Rhizobium* ont été traditionnellement assignés aux groupes taxonomiques sur la base des spécificités de l'hôte. Cette classification comportait un seul genre, le genre *Rhizobium* avec six espèces qui sont : *R. leguminosarum*, *R. meliloti*, *R. trifolii*, *R. phaseoli*, *R. lupiniand* et *R. japonicum*. Actuellement la taxonomie bactérienne moderne se base sur plusieurs techniques moléculaires. Chacune puisant l'information à des niveaux cellulaires différents (surtout ADNr 16S comme marqueur taxonomique, les protéines totales, les acides gras, ...). Ainsi, la famille des Rhizobiacées inclut 6 genres qui sont *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium*, *Azorhizobium* et *Bradyrhizobium* connus collectivement sous le nom de *Rhizobia* (**Abdeddaim, 2017**).

Les PGPR affectent directement ou indirectement la croissance des plantes. Les mécanismes directement implique la sécrétion d'hormones ou en favorisant l'absorption des nutriments. Indirectement, les PGPR vont aider la croissance des plantes par la sécrétion des antibiotiques (**Glik et al., 2007**).

2.6. Modes d'action des PGPR

Les mécanismes des PGPR sont traditionnellement divisés en mécanismes directs et mécanismes indirects. Les mécanismes indirects se produisent à l'extérieur de plante par la sécrétion des antibiotiques et les mécanismes directs sont ceux qui se produisent à l'intérieur de la plante impliquant la sécrétion d'hormones (auxines, cytokines, etc.), ou en favorisant l'absorption des nutriments comme la fixation d'azote, la solubilisation de phosphate ou de potassium, et la synthèse des sidérophores (**Glik et al., 2007 ; Goswami et al., 2016**).

Le mode d'action et le mécanisme des PGPR diffèrent selon le type de plante hôte. En outre certains autres facteurs affectant généralement le rôle des PGPR, à savoir les facteurs biologiques tel que le génotype de la plante, le stade de développement et les facteurs abiotiques (**Basu et al., 2021**).

2.6.1. Effets directs des PGPR sur les plantes :

Les mécanismes directs des PGPR incluent les effets qui affectent l'équilibre des régulateurs de croissance des plantes, conduisant à une amélioration de la capacité d'adaptation (**Goswami et al., 2016**).

2.6.1.1. Fixation de l'azote

Plus de 80% de N₂ se trouve dans l'atmosphère sous forme de gaz inerte qui n'est pas disponible pour les plantes. Pour fournir ce nutriment important aux plantes, les engrais azotés sont souvent appliqués pendant la production végétale. Des recherches récentes indiquent que moins de la moitié de l'azote appliquée est effectivement absorbée par les plantes tandis que le reste est perdu par lessivage ayant pour résultat la pollution de l'environnement. Ces problèmes peuvent être résolus de manière adéquate en exploitant l'azote biologique (N) (**Aloo et al., 2018**).

La fixation biologique de l'azote est le processus par lequel le N₂ atmosphérique est réduit en ammoniac qui peut être absorbé par les plantes. Les bactéries de genre *Bacillus* et autres bactéries rhizosphériques telles que *Azospirillum*, *Azotobacter* et *Paenibacillus* sont des fixateurs de N₂ dans la rhizosphère des plantes. Dans une étude réalisée par (**Ding et al., 2005**), enquêtant sur N₂-fixant des souches de rhizosphères végétales dans la région de Pékin, la présence de gènes *nif* chez *Bacillus* a été signalée. Etude plus anciennes font également état de la capacité de fixation de N₂ de *Bacillus* spp. La fixation d'azote est un trait important des PGPRs car il fournit directement du N₂ à la plante, et les rhizobactéries fixatrices de N₂ sont commercialisées comme biofertilisants depuis 20 ans (**Aloo et al., 2018**).

Parmi les bactéries fixatrices d'azote, les espèces d'*Azospirillum*, isolées à partir des rhizosphères de plusieurs céréales à travers le monde principalement dans des régions tropicales et tempérées sont utilisées depuis les années 1970. Cette bactérie initialement sélectionnée par sa capacité fixatrice de l'azote atmosphérique représente un bon candidat PGPR (**Aloo et al., 2018**).

2.6.1.2. Solubilisation de phosphate

Le phosphore est le deuxième nutriment le plus important pour les plantes. Les micro-organismes aident les plantes en utilisant et en transformant différentes formes de phosphore organique présent dans le sol. Sous une forme inorganique facilement absorbée par les plantes, ces micro-organismes sécrètent différents types d'acides organiques qui éliminent les cations Ca^{2+} puis libèrent le phosphate de divers composés phosphatés présents dans le sol, abaissant ainsi le pH dans la rhizosphère, qui est l'une des caractéristiques de leurs sécrétions.

Parmi les bactéries qui solubilisent le phosphate : *Rhizobium meliloti*, *Mesorhizobium mediterraneum*, *Bradyrhizobium* spp., *B. japonicum*, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., et *Erwinia* spp. (Singh., 2018).

2.6.1.3. Production des sidérophores

Le fer est l'un des macroéléments indispensables à toutes les cellules vivantes, sa disponibilité est limitée. Cependant la forme dominante de fer dans le sol présente sous forme de fer ferrique (Fe^{3+}), ayant une très faible solubilité. Les bactéries rhizosphériques absorbent l'azote atmosphérique en association symbiotique avec les plantes via l'enzyme nitrogénase contenant du fer. Ces micro-organismes ont établi des stratégies d'acquérir et d'assimiler le fer, en sécrétant des chélateurs de fer appelés sidérophores. Les sidérophores chélates le fer en le transformant en forme soluble.

(Sridevi et Mallaiiah.,2008), ont étudié 26 souches de *Rhizobium* isolées à partir des nodules racinaires pour leur capacité à produire des sidérophores. Ils ont constaté que neuf souches possèdent la capacité de produire des sidérophores type catéchol.

Les bactéries productrices de sidérophores appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Azotobacter* et *Bacillus* (Singh, 2021).

2.6.1.4. Production des phytohormones

Les hormones végétales sont des molécules produites naturellement par les plantes et ont pour effet de stimuler ou inhiber la croissance des plantes, Les hormones végétales coordonnent les activités métabolique associées à la croissance des micro-organismes dans différents tissus végétaux. Les modifications au niveau des organes, des cellules et des molécules de systèmes racinaires et des tissus végétaux sont déclenchées par les micro-organismes bénéfiques et nuisibles de la rhizosphère, par le biais de modifications des équilibres phytohormonaux. De

nombreux PGPR présents dans la rhizosphère sécrètent hormones absorbées par les racines des plantes ou contrôlent l'équilibre hormonal des plantes, ce qui régule la croissance des racines et des parties aériennes des plantes au stress. A cet égard, les hormones impliquées comprennent principalement l'auxine et la cytokinine, une petite quantité de gibbérelline (**Grover et al., 2020**).

a. Auxine

L'auxine est un élément essentiel à la croissance des plantes. Les auxines sont responsables de la division, de l'extension et de la différenciation des cellules et des tissus végétaux et augmentent le taux de formation du xylème et des racines. Les PGPR stimulent la croissance des racines principalement en raison de leur potentiel à sécréter l'acide indole acétique (AIA) comme les espèces *Bacillus* spp., *Rhizobium* spp., *Paenibacillus illinosensis* et *Pseudomonas extremaustralis* (**Grover et al., 2020**).

En fait, 80% de la flore rhizosphérique est capable de produire comme *Bacillus* et *Paenibacillus*. L'AIA est généralement produit sous forme de métabolites secondaires par les PGPR en utilisant les substrats riches produits par les racines des plantes (**Bouali, 2017**).

b. Cytokinine

Les cytokinines régulent la division et la différenciation du méristème racinaire, et présentent un effet inhibiteur sur la croissance des racines. Ce type des phytohormones peut également réguler les fonctions des racines comme l'absorption des protéines et le transport des éléments nutritifs. Divers PGPR produisent des cytokinines, qui provoquent une augmentation de la synthèse des exsudats racinaires par les plantes, augmentant ainsi l'interaction entre les plantes et les PGPR. Parmi ces bactéries : *Bacillus amyloliquefaciens* et *Bacillus subtilis* (**Grover et al., 2020**).

c. Gibbérellines

La gibbérelline est une phytohormone connue pour son rôle dans l'allongement des racines primaires qui induisent l'élongation de la tige ainsi que la croissance des racines. Les PGPR produisent ce type des phytohormones afin de favoriser la croissance des racines, augmentent ainsi la vigueur des semis, et donne un meilleur rendement alimentaire. Les bactéries qui produisent la gibbérelline sont *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp. et *Achromobacter xylosoxidans* (**Grover et al., 2020**).

2.6.2. Effets indirects des PGPR sur les plantes

Les PGPR ont une méthode prometteuse, durable et respectueuse de l'environnement qui peut indirectement atteindre une fertilité des sols et une croissance des plantes durables. Cette méthode a inspiré un large éventail d'exploitations des rhizobactéries qui permet de réduire le besoin de produits agrochimiques, en améliorant la fertilité des sols grâce aux divers mécanismes via la production d'antibiotiques, d'enzymes hydrolytiques (**Gupta et al., 2015**).

2.6.2.1. Production des antibiotiques

L'antibiotique est défini comme une communauté hétérogène de composés organiques complexe de faibles poids moléculaires qui nuisent à la production au métabolisme de divers micro-organismes. Dans des études *in vitro* et *in situ*, le développement des agents pathogènes ont été éliminé efficacement à l'aide d'antibiotiques (**Hamid et al., 2021**). Dans la gestion des maladies des plantes, les PGPR jouent un rôle essentiel dans la production des antibiotiques, ce système est appelé inhibition ou suppression des microorganismes pathogènes. Les PGPR tels que les espèces de *Bacillus* et les *Pseudomonas* fluorescents provoquent la destruction des agents pathogènes, par la production de métabolites inhibiteurs et antagonistes dans leur mécanisme de défense. Ces micro-organismes spécifiques peuvent produire une gamme des produits antibiotiques par exemple, *Bacillus* spp produisent les Bacilomycines, Iturines A et Kanosamines et La fengycine et la zwittermicine sont antifongiques et *Pseudomonas* spp. Libèrent les Phenazines, Oomycines et Pyocyanines (**Hamid et al., 2021**).

2.6.2.2. Production des enzymes lytiques

Les enzymes sont des mécanismes utilisés par les bactéries de la rhizosphère pour stimuler la croissance des plantes. Ces bactéries produisent certains enzymes tels que : la cellulase, chitinase, amylase et pectinase, les lipases, les phosphatases, les protéases, etc (**Joshi et al., 2012**).

Ces enzymes manifestent une activité hyper-parasitaire, pour attaquer les agents pathogènes en excréant les hydrolases de la paroi cellulaire. Grâce à l'activité de ces enzymes, les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes joue un rôle très important dans la promotion de la croissance des plantes, en particulier pour les protéger des stress biotiques et abiotiques en supprimant les champignons pathogènes, notamment *Botrytis cinerea*, *Sclerotiumrol fsii*, *Fusarium oxysporum* et *Rhizoctoniasolani* (**Hayat et al., 2010 ; Nadeem et al., 2013**).

A. Cellulase

La cellulose est l'un des principaux polysaccharides qui composent les parois cellulaires des plantes, plusieurs bactéries et champignons peuvent produire la cellulase, la production cet enzyme bactérienne est constitutive tandis que la production de cellulase fongique est inductible. La cellulases divise en trois types : l'endoglucanase, l'exoglucanase et la glucosidase (**Kumar et Dolby, 2012**). La Production de ces enzymes présente une activité hyper-parasitaire qui attaque les agents pathogènes en sécrétant des hydrolases de la paroi cellulaire. Grâce à cette activité enzymatique, Les PGPR favorisent la croissance des plantes, notamment en les protégeant des stress biotiques et abiotiques ; et inhibant les champignons pathogènes, y compris *Botrytis cinerea*, *Sclerotium* spp., *Fusarium oxysporum* et *Phytophthora* spp. (**Gupta et al., 2015**).

B. Chitinase

La chitinase est une enzyme protectrice contre les agents pathogènes fongiques. En plus de sa capacité à attaquer directement la paroi cellulaire chez les champignons, la chitinase libère également de l'Oligo--N-acétylglucosamine qui agit comme un inducteur activant les réponses liées à la défense dans les cellules végétales. Par conséquent, les préparations à base de chitinase offrent une voie potentielle pour les à gents phytopathogènes (**Kumar et Dubey, 2012**). Cette enzyme est synthétisée par *Bacillus* spp. Et *Bacillus thuringiensis* (**Shaikh et Sayyed., 2015**).

2.6.2.3. Résistance systémiques induite

Lors du phénomène appelé « résistance systémique induite » (ISR), des rhizobactéries non pathogènes peuvent conférer à la plante la protection contre les attaques ultérieures par un agent phyto pathogène via la stimulation de mécanismes de défense systémique. Cette « immunité » s'initie suite à la perception par la plante de molécules dites « élicitrices » produites par les micro-organismes. Ce phénomène fait appel à la reconnaissance par l'hôte d'éliciteurs produits par l'agent inducteur. L'émission d'un signal nécessaire à la propagation systémiques induit l'expression de mécanismes de défense stricts qui permettent de limiter la pénétration du pathogène dans les tissus de la plante. Ainsi, la transmission de signal émis suite à la perception de l'agent infectieux repose sur différentes voies dans lesquelles l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène qui jouent un rôle essentiel (**Glazebrook et al., 2003**).

Les bactéries les plus connus par ce phénomène sont les *Enterobacteriaceae*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (Jourdan et al., 2009). De nombreux composants bactériens induisent une résistance systémique induite, tels que les lipopolysaccharides (LPS), les flagelles, les sidérophores, les lipopeptides cycliques, le 2,4-diacétylphloroglucinol, les homosérines lactones et les substances volatiles comme l'acétoïne et le 2, 3-butanediol (Naznin et al., 2012).

2.6.2.4. Production des composés organiques volatils

Les composés organiques volatils naturels COVs sont des métabolites secondaires principalement émis par les plantes, les insectes et les micro-organismes. Toutes les sources naturelles représentent près de 90% de l'émission totale de COVs (Potard, 2017).

Les rhizobactéries peuvent produire des COVs comme les terpenoïdes, les phénylpropanoïdes et les dérivés des acides gras permettant l'inhibition de la croissance des agents pathogènes des plantes du sol tels que les champignons. (Piechulla et Pott., 2003). Certaines substances présentes dans les plantes comme *Arabidopsis* peuvent stimuler la croissance et induire une résistance systémique. Ainsi, d'autres substances telles que le 2,3-butanediol et l'acétoïne sécrétées par les PGPR permettent l'amélioration de la croissance des plantes en induisant une résistance aux maladies (Ryu, et al., 2004).

2.6.2.5. Formation de biofilm

Les biofilms sont des communautés microbiennes uni ou multi adhérentes aux surfaces biotiques ou abiotiques et en contact direct l'une avec l'autre, enfermée dans une matrice autoproduite de substances polysaccharides extra cellulaires (EPS) (Ramey et al., 2004). La production de biofilm par PGPR reflète leur pouvoir de colonisation, du système racinaire et considérée comme une activité PGPR importante (Prescott., 2003).

La fonction principale des biofilms rhizobactériens est la protection contre des conditions écologiques imprévisibles et indésirables, ainsi qu'ils permettent d'éviter les attaques d'agents pathogènes et de coloniser les racines des plantes. Par conséquent, les biofilms PGPR agissent de manière significative dans l'agriculture durable (Musher et mohd. 2020).

2.7. Intérêts des PGPR

2.7.1. Intérêts médicaux

Les PGPR réduisent les maladies d'origine tellurique, c'est ainsi que plusieurs souches de *Pseudomonas* et *Bacillus* ont été sélectionnées pour leur pouvoir antagoniste à l'égard d'une large gamme des maladies bactériennes, virales et fongiques chez l'homme (**Ramamoorthy et al., 2001**).

Ces micro-organismes synthétisent des enzymes bactériennes utilisées dans l'industrie pharmaceutique et médicale, elles développent des agents thérapeutiques et médicaux comme les collagénases provenant de la bactérie *Clostridium* sp. Ou des subtilisines associées aux antibiotiques pour traiter les brûlures, les plaies et des ulcères dermiques (**Belmessikh, 2011**).

Les espèces PGPR et particulièrement les *Paenibacillus*, produisent des composés qui peuvent être utilisés en médecine, en pharmacie et en dentisterie. Leur exo-polysaccharides possède des caractéristiques antioxydantes et antitumorales, tandis que les enzymes mutanases peuvent réduire la carie dentaire. La Production des polymyxines B et E par les PGPR sont utilisées dans les onguents, tels que les crèmes antibiotiques néosporine et polysporine pour le traitement et la prévention des infections cutanées topiques. Ainsi, les fusaricidines sont des lipopeptides non ribosomiques utilisées pour le traitement des infections bactériennes à Gram négatif (**Grady et al., 2016**).

2.7.2. Intérêts en agriculture :

2.7.2.1. Biostimulation

Un biostimulant est « un matériel qui contient une ou des substances et micro-organismes dont la fonction est de stimuler les processus naturels pour améliorer l'absorption et l'efficacité des nutriments, la tolérance aux stress abiotiques, et la qualité des cultures, indépendamment du contenu en nutriments du biostimulant » (**Hérault, 2015**).

Les bactéries contenues dans ces produits sont appelées PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). La croissance de la plante peut notamment être améliorée directement grâce à la synthèse de phytohormones par les micro-organismes, telles que l'auxine (**Faessel et al., 2014**). Ces phytohormones stimulent la rhizogénèse, ce qui conduit à un volume de sol exploré plus important et donc à une meilleure absorption des nutriments du sol.

La nutrition est aussi rendue plus efficace par la présence de bactéries et champignons agissant de manière indirecte, en rendant disponibles les nutriments essentiels à la plante autour de la rhizosphère. Les bactéries qui peuvent coexister sont : les bactéries fixatrices d'azote atmosphérique N₂ (comme les *Rhizobium*), les bactéries et champignons qui solubilisent le Phosphore ou le Potassium, ou encore les mycorhizes qui établissent une symbiose avec la plante en prolongeant son système racinaire (**Richardson et al., 2009**).

2.7.2.2. Biocontrôle

Le biocontrôle consiste à diminuer les adventices (bioherbicides) dans une culture ou de réduire la compétition entre les espèces bactériennes par l'utilisation des micro-organismes vivants. C'est une méthode de lutte biologique spécifique, moins coûteuses, bénéfiques pour l'équilibre des systèmes agricoles et son application sur les cultures, sous forme de bioherbicides (**Ash., 2010**).

Les biopesticides constituent une bonne alternative des pesticides chimiques qui provoquent la pollution de l'environnement et la résistance des agents pathogènes. Cependant, cette innovation devrait être capable d'estimer le risque des métabolites sur l'environnement, la santé humaine et animale (**Vurro et Gressel., 2008**).

Un biopesticide est défini comme un produit qui contient un micro-organisme ou de ses produits naturels capables d'améliorer la croissance des plantes par le contrôle et la lutte contre les agents phytopathogènes principalement par la production des antibiotiques et des métabolites antifongiques (**Thakore., 2006**).

A L'heure actuelle, *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus sphaericus* ont les espèces les plus utilisées en lutte contre les ravageurs (**Kouassi, 2001**). Les premières applications de *Bacillus thuringiensis* dans l'environnement datent de 1933. Il a été utilisé dès les années 1950 dans les forêts, les champs et les vignobles. Jusqu'au milieu des années 1970, sa principale application était la lutte contre les lépidoptères défoliateurs dans les forêts et certains papillons parasites des grandes cultures, de maïs notamment (**Bounoua, 2008**). De plus, (**Chaves-Lopez et al., 2015**) ont signalé que les souches *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* et *Bacillus cereus* sont les meilleurs producteurs des substances volatiles antifongiques.

2.7.2.3. Bioremédiation

Les PGPR participent dans l'amélioration de la qualité de sol et l'eau une capacité à éliminer les éléments toxiques (**Bakker et al., 2007**). L'étude de (**Subashchandrabose et al., 2011**) a montré que les cyanobactéries sont responsables à la transformation ou la dégradation des polluants organiques et les métaux lourds les rendant inactifs pour tolérer leur absorption. Ils jouent un rôle important sur la qualité de l'eau avec le traitement des eaux usées (**Subashchandrabose et al., 2011**).

Dans ce rôle de dépollution, la densité microbienne est nécessaire (**Dension et Kiers 2004**). Ces bactéries permettent l'amélioration du domaine biotechnologique par la production commerciale de métabolites microbiens destinés à la purification des milieux contaminés (**Subashchandrabose et al., 2011**). Certaines bactéries qui interviennent dans la bioremédiation des métaux lourds sont les azospirille et à la dégradation de l'huile, *Bacillus subtilus* (**Muratova et al., 2005**).

2.7.3. Intérêts industriels :

Les enzymes synthétisés par les PGPR (protéases) contiennent plusieurs propriétés requises pour leur application industrielle. Elles représentent 40% des enzymes du marché mondial (**Belmessikh., 2011**). Ces enzymes sont globalement utilisées comme additifs dans les détergents, dans la transformation des produits alimentaires et le caillage du lait pour la production du fromage (**Hupé., 2008**).

Ainsi les enzymes microbiennes présentent également un intérêt dans l'agro-alimentaire par la production des sucreries dans la préparation des sirops sucrés à base d'amidon (**Maktouf.,2013**). Elles ont un rôle dans l'industrie du textile pour le désencollage des tissus et dans le domaine de la tannerie et la papeterie et des détergents (**Malhotra et al.,2002**).

Les enzymes lipolytiques bactériennes développent des saveurs dans les fromages, transforment ou produisent des huiles et des détergents et en industrie du textile (modification de fibres synthétiques...) (**Amélie., 2010**).

CHAPITRE II :
Matériel et
Méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire phyto-bactériologie de l'université Saad D'Ahleb Blida 1, à partir de Avril jusqu'au mois de Juillet 2022.

01. Echantillonnage

Les échantillons ont été prélevés à partir du sol rhizosphérique de quatre variétés de palmeraies situées dans la région de kenadesa dans la wilaya de Béchar. Un total de 4 échantillons a été réalisé à une profondeur de 45cm où se trouve la zone la plus riche en racines. Trois prélèvements de chaque cultivars ont été réalisés et mis dans des sacs en papier stériles (**tableau04**).

Tableau 04 : Codes des échantillons étudiés de la région de kenadsa.

Cultivar	Age	Codes
Hmira	20ans	KH
Tinaser	20ans	KT
Feggous	19ans	KF
Hamriva	35ans	KM

02. Localisation de la zone d'étude

L'ensemble des prélèvements ont été réalisés à partir de la rhizosphère des sols prélevés à différentes cultures dans les régions de kenadsa wilaya de Béchar.

Kenadsa, est une oasis du sud-ouest algérien, elle est située à 18 km du chef-lieu de la wilaya de Béchar. Elle est bordée au nord par la première barga, au sud par chebk, amennouna, région de l'oued messouar à l'ouest et région de Béchar à l'est.

Kenadsa est une daïra de superficie de 5040 km², avec une population de 14350. Cette daïra est limitée à la daïra du nord l'Ahmar, la ville de Béchar à l'est, la ville de Meridja à l'ouest et la ville et au sud par le commun d'abadela (**figure 04**) (**Banmoussa, et al.,2015**).

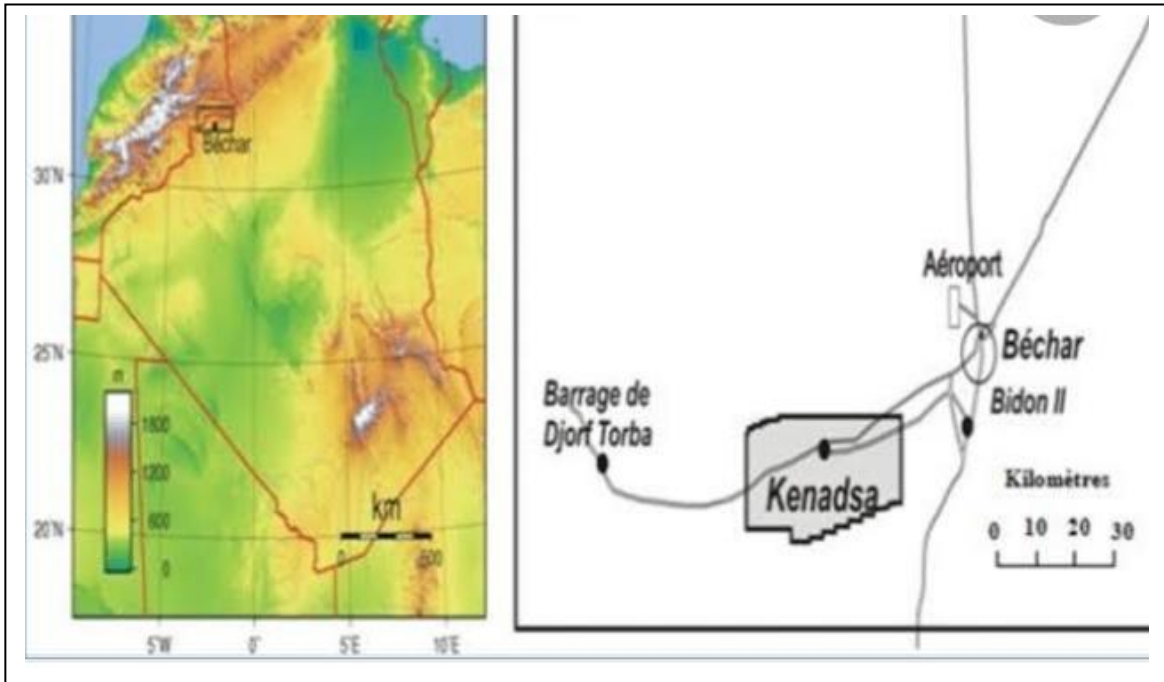


Figure 04 : Situation géographique de la localisation de la région de kenadsa (banmoussa, et al., 2015).

3. Aperçu climatique et géologique

Le climat qui prévaut à kenadsa est un climat de type désertique caractérisé par la rareté des précipitations (les précipitations moyennes sont de 45 mm/an), la température moyenne annuelle est de 20,5°C et l'humidité de l'air est faible, bien que la palmeraie favorise la création de microclimats (Boualem., 2015).

D'un point de vue géologique, cette oasis est bâtie sur un sol carbonifère, le nord est dominé par des strates crétacées. Les terres sont disposées de manière monoclinique, séparées par des différences angulaires. Il s'agit d'une forte série de barres grès interrompu par des couches de marne et d'argile (Cherif., 2015).

4. Isolement et identification des rhizobactéries

4.1. Isolement des rhizobactéries

Le sol a été pesé pour la préparation d'une solution mère qui contient 10g de chaque sol dans 90ml d'eau distillé stérile. Après une agitation verticale par le vortex, puis une agitation

Chapitre II : Matériel et méthodes

horizontale durant 20 à 30 min, des dilutions décimales de 10^{-1} jusqu'à 10^{-5} elles ont été effectuées. Un ensemencement en surface d'un volume 0,5 ml des dilutions 10^{-3} , 10^{-5} prélevé à l'aide d'une micropipette sur le milieu King B (**King et al.,1954**) et le milieu LB (**Gardan et luistti.,1981**) en utilisant un râteau stérile. L'opération a été répétée deux fois suivie d'une incubation des boîtes ensemencées à 27°C pendant 4 jours (**Daur et al.,2018**).

4.2. Purification et conservation des isolats

Dans le but d'obtention des souches isolées, chaque colonie apparaissant différente phénotypiquement sur les milieux d'isolement est purifiée par des repiquages successifs en utilisant la méthode des stries par épuisement est une méthode simple qui consiste à déposer l'inoculum à l'aide d'une anse sur la surface de la gélose. La méthode de conservation des isolats purs consiste à repiquer les souches sur gélose en tubes inclinés, les tubes sont ensuite incubés 24h, puis stockés à 4°C pour favoriser leur viabilité.

4.3. Caractérisation des isolats

La caractérisation des isolats bactériens est réalisée par des examens macroscopiques et des examens microscopiques et par les études des caractères biochimiques et physiologiques.

4.3.1. Examen macroscopique

L'observation macroscopique des cultures bactériennes est le premier examen effectué après l'isolement. Elle consiste à observer directement, à l'œil nu, l'aspect morphologique des colonies obtenues sur milieu King B après 24 à 48 h d'incubation en tenant compte les critères suivants (**Joffin et Leyral, 2006**) :

La taille : Représente le diamètre de la colonie mesuré à l'aide d'une règle graduée pour la grande colonie. Il est possible aussi d'utiliser le microscope au grossissement le plus faible pour mesurer la taille des petites colonies en utilisant les micromètres oculaires.

Le relief : Plane, élevée, convexe, bossue, etc.

Le bord : Régulier, ondulé, lobe, boucle, filamenteux.

L'aspect : Poudreux, granuleux, duveteux, etc.

La consistance : Molle, élastique, cartonneuse, etc.

L'opacité : Les colonies sont soit opaques et ne laissent pas passer la lumière, translucides en laissant passer la lumière mais on ne voit pas les formes au travers, comme le verre ou transparentes (laissant passer et voir les formes au travers) et la couleur des colonies (**Ripert., 2013**).

4.3.2. Test de fluorescence sur King B

Le test de fluorescence a été effectué sur le milieu King B, une colonie âgée de 24 à 48 h a été prélevée puis ensemencée en stries sur la boîte de Pétri, les boîtes ont été incubées environ 48 h à 27°C. L'éventuelle fluorescence a été révélée en éclairant la boîte avec la lampe à UV dans une pièce noire (**Schaad et al., 2001**). Le test est positif s'il y a l'apparition de fluorescence ce qui signifie la production des pigments la pyoverdine par les bactéries qui est un pigment diffusible de couleur jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau et insoluble dans le chloroforme. Le test est négatif en l'absence de fluorescence (**Tourkya et al., 2009**).

Dans la présente étude, seuls les isolats non fluorescents ont été retenus pour les tests ultérieurs.

4.3.3. Coloration de Gram

La coloration de Gram est basée sur la différence de perméabilité des bactéries à l'alcool (**Beraud., 2001**). Elle permet de distinguer la morphologie des bactéries et de les classer en deux grands groupes, les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, la coloration différentielle est réalisée selon les étapes suivantes.

Sur un frottis fixé à la chaleur, la lame a été recouverte par le violet de gentiane après une minute, la lame est rincée à l'eau distillée stérile puis recouverte de Lugol pendant une minute. Une décoloration à l'alcool est ensuite réalisée, la décoloration est stoppée par un nouveau lavage à l'eau. La lame est recouverte ensuite de fuschine diluée pendant 1 minute puis lavée à l'eau et séchée entre deux feuilles de papier filtre stériles. La lame est ensuite examinée à l'immersion. Les bactéries à Gram positif doivent apparaître colorées en violet et les bactéries à Gram négatif en rose (**Lanotte et al., 2016**).

4.3.4. Test KOH

C'est un test indicateur et confirmatif du Gram basé sur le dépôt d'une goutte d'une solution aqueuse de KOH à 3% sur une lame. Une émulsion de la culture bactérienne âgée de 24 h à 48h a été réalisée avec la solution KOH par une cure dent. La bactérie est à Gram négatif s'il y a une formation d'un filament en soulevant le cure dent. La bactérie est à Gram positif en l'absence de filament (**Suslow et al., 1982**).

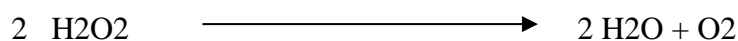
4.4. Identification biochimique

Les tests biochimiques sont indispensables à l'identification des bactéries. Ils reposent principalement sur la recherche d'enzymes responsables du métabolisme bactérien.

4.4.1. Etude des enzymes respiratoires

4.4.1.1. Recherche de catalase

La catalase est une enzyme antioxydante présente chez les bactéries aérobies et dans les cellules des plantes et des animaux. Le peroxyde d'hydrogène engendré comme sous-produit du métabolisme est un agent oxydant puissant et nocif qui doit être éliminé. La catalase assure cette fonction d'élimination en convertissant le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire ; selon l'équation :



Sur une lame et à l'aide d'une pipette pasteur, la colonie bactérienne pure a été déposée dans laquelle on ajoute de l'eau oxygénée à 10V.

La formation de bulles engendrée par la production d'oxygène (O₂), due à l'activité de la catalase, indique une réaction positive. L'absence des bulles indiquent une réaction négative (**Guiraud, 2003**).

4.4.1.2. Test d'oxydase

La recherche de l'oxydase présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries à coloration à Gram négatif. Le test de l'oxydase consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder le réactif N-diméthyle-paraphylène diamine 1% en un dérivé rose violacée. Le test est réalisé par mise en contact d'une culture bactérienne jeune de 24h sur un papier buvard stérile imbibé de la solution, La réponse positive indique la présence de cytochrome oxydase qui se manifeste par l'apparition d'une coloration violette après 10 à 60 secondes. Au-delà de 60 secondes la réponse est négative (**Klement et al.,1990**).

4.4.1.3. Recherche de nitrate réductase

Certaines bactéries peuvent utiliser les glucides en anaérobie en présence d'un accepteur d'hydrogène qui peut être l'ion NO. Elles possèdent alors une enzyme spécifique : la nitrate réductase qui catalyse la réduction de nitrate en nitrite et éventuelles en azote.

La recherche de cette enzyme se fait selon les étapes suivantes : un tube de bouillon nitrate constitué de bouillon nutritif supplémenté de 1.5% de nitrate de potassium, estensemencé par les isolats étudiés, les tubes sont incubésà27C° pendant 24 à 48h. après incubation, 3gouttes du réactif sulfanilique = acide acétique (nitrate01) et 3 gouttes du réactif alpha-naphtylamine + acide acétique (nitrite02) sont ajoutés aux tubes (**French et al., 2007**).

Une coloration rouge indique la présence deNO₂ donc les bactéries est nitrate réductase positive. En absence de coloration, une poudre de zinc est ajoutée, la coloration rouge signifie que la poudre de zinc a réduit les nitrates en nitrites et la bactérie est nitrate réductase négative. En cas d'absence de coloration la bactérie est nitrate réductase positive.

4.4.1.4. Test mannitol mobilité

Le milieu mannitol est utilisé lors de l'identification biochimique des entérobactéries et des coliformes, leur principe repose sur l'aptitude des entérobactéries sa fermenter le mannitol. Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant du mannitol, et du rouge de phénol comme indicateur de pH (**Denis et al .2007**).

Chapitre II : Matériel et méthodes

Le milieu est ensemencé par piqûre centrale jusqu'au fond des tubes à l'aide d'une anse de platine. L'incubation se fait à 27°C pendant 24h à 48h. L'acidification du milieu indique l'utilisation de mannitol se traduisant par le virage de l'indicateur coloré du rouge en jaune.

Le caractère mobile est défini par la présence des troubles envahissant toute la largeur de la gélose de part et d'autre de la piqure centrale, par contre si la bactérie est immobile, ne se développe que le long de la piqûre centrale (**Denis et al., 2007**).

4.4.1.5. Test d'utilisation de citrate

Le milieu au citrate de Simmons contient du citrate de sodium déterminant si la bactérie peut utiliser le citrate comme seule source de carbone (**Denis et al., 2007**). Les isolats étudiés sont ensemencés sur milieu incliné par des stries serrées à l'aide d'une anse de platine et incubés à 27°C pendant 24 à 48h. L'utilisation du citrate se traduit par une croissance de la culture sur la gélose et le plus souvent associés avec une libération d'ammoniaque à partir des sels d'ammonium, ce qui se traduit par un virage du bleu de bromothymol de vert au bleu. Le test est négatif en absence de culture (**Guiraud., 2003**).

4.4.1.6. Production d'indole

Le milieu indole permet de mettre en évidence la présence d'uréase et du tryptophanase.

Une colonie bactérienne prélevée à l'anse a été ensemencée sur le milieu indole. Puis incubé pendant 24h à 27°C. Environ 3 gouttes du réactif Kovacs sont ajoutées aux tubes sans agitation de milieu. L'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'indole, se traduisant par l'hydrolyse de tryptophane- Si l'anneau reste orangé, la réaction est négative (**Freney et al.,1992**).

4.4.1.7. Recherche de la gélatine

Le test d'hydrolyse de la gélatine est utilisé pour détecter la capacité des bactéries à produire la gélatinase qui liquéfie la gélatine. Ce test a été réalisé par l'ensemencement de la souche sur le milieu à base de gélatine incubée à 27°C pendant 7 jours. Après incubation, les tubes sont mis à 4°C pendant 30 min. Le test est positif lorsque le milieu devient liquide

indiquant la liquéfaction de la gélatine par la bactérie. Le test est négatif si le milieu reste gélosé (de Vos et *al.*, 2009).

4.4.1.8. Test levane sucrase

Le test levane sucrase permet de vérifier la polymérisation du fructose en polyfructose par la bactérie. Les bactéries âgées de 24 à 48h ont étéensemencées sur le milieu levane en boîtes de Pétri. Après 48h à 27C°, le développement de culture bactérienne muqueuse abondante et brillante riche en polysaccharide est un résultat positif indiquant une activité levane sucrase. En l'absence de ces caractéristiques, le test est négatif (Schaad et *al.*, 2001).

4.4.1.9. Test de mise en évidence du métabolisme oxydatif /fermentatif du glucose

Le test oxydo-fermentaire est utilisé pour déterminer si les bactéries métabolisent les glucides par oxydation, par fermentation, ou sont non saccharolytique et n'ont donc aucune capacité à utiliser l'hydrate de carbone dans le milieu (Anne Hanson.,2008).

Deux tubes à essai contenant 5 ml de milieu Hugh et Leifson ont étéensemencés par une culture jeune, par piqure centrale à l'aide d'une anse en platine en forme d'aiguille.

L'un des deux tubes a été recouvert d'une couche d'huile de vaseline stérile, c'est le tube révélant la fermentation, l'autre tube démontrant l'oxydation est maintenu à bouchon dévissés. Les tubes ont été incubés pendant 24h à 27C°.

La lecture du résultat consiste à observer le virage de la couleur du milieu, trois catégories de bactéries sont distinguées :

Les bactéries fermentatives donnent une acidification rapide et égale dans les deux milieux qui devient jaune.

Les bactéries oxydatives révèlent dans les deux tubes. La couleur vire au jaune dans le milieu en présence d'oxygène (milieu ouvert), ainsi dans le milieu couvert la couleur reste verte.

Les bactéries inactives indiquent une alcalinisation plus ou moins forte en surface, la couleur du milieu vire au bleu en présence dioxygène (Hugh et Leifson,1953).

4.4.1.10. Test de fermentation des sucres en milieu TSI (Lactose, Saccharose, Glucose, H₂S)

La gélose TSI (Triple Sugar Iron agar) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène (H₂S) (Leulmi., 2015).

Ce test consiste à ensemencer en stries de la pente de la gélose puis par piqure centrale du culot. La lecture se fait après 24h d'incubation à 27°C.

Le virage du culot au jaune est exprimé par la fermentation du glucose avec ou sans formation des bulles de gaz, la fermentation du saccharose et / ou du lactose se traduit par le virage de la pente au jaune, le noircissement du milieu indique la production de H₂S (Guiraud., 2003).

4.4.2. L'évaluation de l'activité PGPR

4.4.2.1. Activité amylolytique

La détection de la production de l'amylase par la capacité à dégrader l'amidon, se fait en utilisant de la gélose nutritive additionnée de 0.2% d'amidon soluble, les souches bactériennes ont été inoculées au centre des boîtes de Pétri, après une incubation de 48 h à 27°C, la révélation se fait par une inondation de la boîte de Pétri par une solution d'iode (Gopinath et al., 2017). La présence d'une zone claire autour des colonies indique la capacité d'hydrolyse de l'amidon (Izyan et al. 2020).

4.4.2.2. Activité pectinolytique

La pectine forme un groupe unique, complexe et hétérogène de différentes enzymes agissant spécifiquement sur les substrats pectinolytiques, notamment les polymères de pectine (Martinez-Trujillo et al., 2011). Ces dernières représentent le polysaccharide majeur de la paroi cellulaire (Tatianadacosta et Flevo., 2005).

Le milieu pectine-agar a été utilisé pour détecter la production de pectate lyase. Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 3 à 7 jours puis inondées avec une solution aqueuse de Lugol.

Ce réactif précipite la pectine intacte dans le milieu. L'apparition d'une zone claire de la colonie se traduit par l'hydrolyse de pectine. (Hankin et Anagnostakis., 1975).

4.4.2.3. Sensibilité ou résistance aux antibiotiques

La résistance est une adaptation des bactéries aux agents antimicrobiens. Une souche est dite résistance lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. La résistance bactérienne aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise.

Cette méthode consiste à tester la résistance ou la sensibilité à la vancomycine, rifamycine, boldoflorineaux concentrations différentes 25 – 50 et 100 ug/ml sur milieu MH liquide et solide.

La technique est réalisée en 4 étapes: (Courvallin et Leclercp, 2012).

a) Le premier jour

-A l'aide d'une anse stérile une culture bactérienne pure et jeune est prélevée puis - inoculée dans 5ml d'un bouillon nutritif. Les tubes (BI) sont incubés pendant 24h à 27°C.

b) Deuxième jour

-Ensemencement de 0.1 ml de la suspension bactérienne (BI) dans 25 ml de Muller-Hinton liquide, c'est le bouillon ensemencé (BE).

Préparation des solutions d'antibiotiques

-Les disques des antibiotiques ont été découpés aux concentrations désirées à l'aide d'un bistouri stérile, les répétitions sont réalisées à l'aide d'une pince stérile dans chaque tube.

-un volume de 2ml du (BE) est ajouté dans les tubes contenant les antibiotiques à des concentrations différents, suivi d'une incubation pendant 24 h à 27°C après une agitation des tubes.

c) Troisième jour

-Le bouillon qui contient les disques d'antibiotiques à des concentrations différentes à été prélevé puisensemencé au niveau des trois stries de 5 cm tracé en parallèle et au verso (correspondant aux concentrations d'ATB) sur les boites de MH.

d) Quatrième jour

-Les résultats sont traduits par le dénombrement des colonies sur les stries déjàensemencées par le bouillon contenant les disques d'antibiotiques.

CHAPITRE III :
*Résultats et
discussion*

01. Caractérisation des bactéries par approche phénotypique

L'identification bactérienne est une étape essentielle pour confirmer l'espèce et orienter sa classification. L'identification macroscopique et microscopique des bactéries reposent dans un premier temps sur des tests d'orientation simple comme l'aspect des colonies, type de Gram, qui sont suivis par les tests biochimiques réalisés.

Les caractéristiques morphologiques des isolats bactériens rhizosphériques du palmier dattier sont très variées selon les différents aspects: forme, élévation, bords, taille, surface, couleur, opacité et consistance de colonies.

Les souches isolées représentent différents morphotypes avec une couleur blanche ou beige. Les isolats produisent des colonies à des formes différentes : irrégulières, punctiformes, circulaires, ou filamenteuses, avec un contour convexe, lisse, ou ondulé et une consistance sèche ou crémeuse, de transparent à opaque (**figure05**).

Des observations microscopiques ont été effectuées pour étudier certains caractères des isolats tels que la coloration de gram et la forme de cellule. L'isolement bactérien à partir du sol rhizosphérique sur le milieu KB et l'utilisation de la lumière UV a permis de sélectionner 30 isolats non fluorescents.

La forme de la cellule était pour la majorité de forme bacille de grande et petite taille (**Tableau 05**).

Chapitre III : Résultats et Discussion

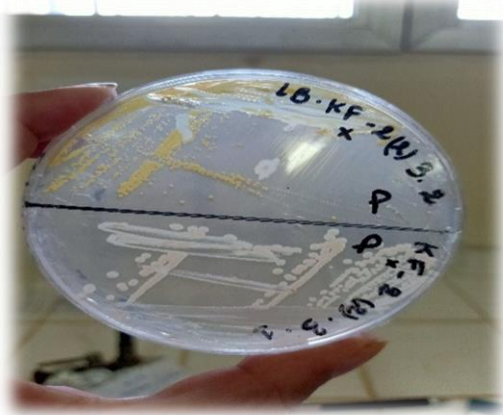
Tableau 05 : Caractères morphologiques des bactéries rhizosphériques.

La variété	Codes	Forme	Elévation	Bord	Taille	Surface	Couleur	Opacité	Consistance
KF	S1	Rhizoïde	Bossue	Ondule	2mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Sèche
KF	S2	Irrégulière	Convexe	Lobé	2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KT	S3	Punctiforme	Convexe	Régulier	2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KF	S4	Punctiforme	Plane	Ondulé	1mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KF	S5	Irrégulière	Bossue	Boucler	2mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Sèche
KF	S6	Punctiforme	Elevée	Régulier	1mm	Plat	Beige	Opaque	Crème
KF	S7	Rhizoïde	Bossue	Lobé	1.5mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Sèche
KF	S8	Irrégulière	Bossue	Ondule	1.2mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Sèche
KM	S9	Irrégulière	Bossue	Régulier	3mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Séché
KT	S10	Irrégulière	Convexe	Ondule	3mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KT	S11	Circulaire	Convexe	Lobé	2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KH	S12	Punctiforme	Convexe	Dentelé	1.2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KH	S13	Punctiforme	Convexe	Lobé	3mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KM	S14	Punctiforme	Convexe	Régulier	1mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KM	S15	Punctiforme	Elevé	Régulier	1mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KM	S16	Punctiforme	Convexe	Lobé	1.4mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KM	S17	Punctiforme	Elevé	Régulier	1.5mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KF	S18	Filamenteuse	Plan	Filamenteuse	2mm	Rugueuse	Beige	Opaque	Sèche
KF	S19	Punctiforme	Plan	Ondulé	2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KF	S20	Irrégulière	Elevé	Régulier	2,3mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KH	S21	Irrégulière	Bossue	Régulier	2mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Sèche
KH	S22	Irrégulière	Bossue	Régulier	1,2mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Sèche
KT	S23	Circulaire	Bossue	Ondulé	3mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Sèche
KM	S24	Filamenteuse	Bossue	Ondulé	3mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Sèche
KT	S25	Circulaire	Convexe	Ondulé	2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KT	S26	Irrégulière	Convexe	Ondulé	2mm	Rugueuse	Blanche	Opaque	Crème
KM	S27	Punctiforme	Bombé	Ondulé	2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KM	S28	Irrégulière	Convexe	Lobé	2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KM	S29	Circulaire	Convexe	Lobé	2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème
KM	S30	Punctiforme	Convexe	Ondulé	2mm	Lisse	Beige	Opaque	Crème

K : Kenadsa ; KT : Tinaser ; KH : Hmira ; KF : Feggous ; KM : Hamriya.



A



B



C



D



E



F

Figure 05 : Aspect macroscopiques des isolats A, B, C, D, E, F.

Chapitre III : Résultats et Discussion

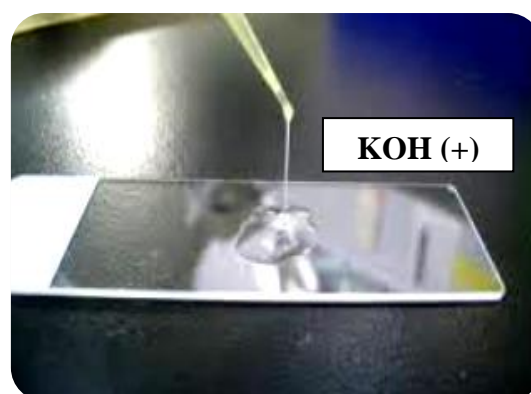
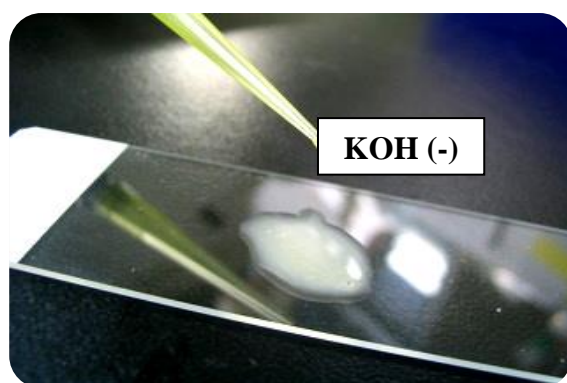
02. Résultats de coloration de Gram et le test de KOH

Le but de ce test est de distinguer entre les bactéries Gram+ et bactéries Gram-.

Les résultats représentent 4 souches à Gram négatif de couleur rose et 26 souches à Gram positif de couleur violet après la réalisation de coloration de Gram (**tableau 06**). Les résultats de test KOH confirment que les 26 souches sont à Gram (+) par la formation d'un filament lorsque on élève l'anse et 4 souches à Gram (-) se traduisant par l'absence de filament (**figures 06**).

Tableau 06 : Résultats de coloration de Gram et le test KOH.

Gram (+)	Gram (-)
S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S19, S20, S22, S23, S25, S26, S27, S28, S29, S30.	S11, S12, S21, S24.



Figures 06 : Résultats de test KOH.

03. Les tests des biochimiques

3.1. Résultats de test oxydase

Le test d'oxydase utilisée pour la recherche de l'enzyme cytochrome oxydase.

A partir de 30 isolats testés, nous avons obtenu 8 souches oxydase positives se traduit par l'apparition d'une couleur rouge violacée au bout de 10 secondes d'ajout du réactif N,

Chapitre III : Résultats et Discussion

Ndiméthylène diamine (**figures 07**), Cependant, pour les 22 souches les colonies restent incolores en indiquant une activité oxydase négative (**tableau 07**).

Tableau 07 : Résultats de test oxydase.

Oxydase négative	Oxydase positive
S2, S4, S6, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S19, S20, S21, S22, S23, S24, S25, S27, S29, S30.	S1, S3, S5, S7, S8, S9, S26, S28.



Figures 07: Résultats de test oxydase.

3.2. Résultats de test catalase

Les résultats du test de catalase montrent que 30 bactéries ont réagi positivement avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par l'apparition des bulles après quelques secondes de l'ajout de l'eau oxygénée ce qui indique la présence de l'enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Cependant aucune souche n'est catalase négative (**figures 08**).



Figures 08 : Résultats du test catalase.

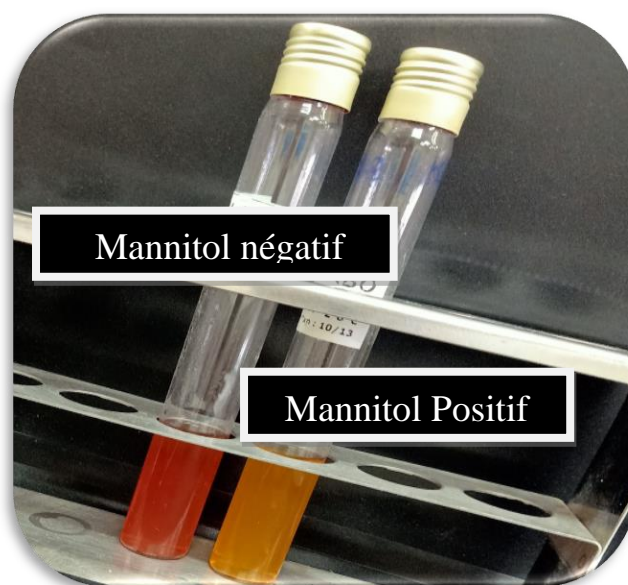
3.3. Résultats de test de mannitol mobilité

Les résultats obtenus sur la totalité de 30 souches, montrent que 29 souches présentent une acidification du milieu après 48h d'incubation, d'où le virage du rouge de phénol au jaune. Ces 29 souches utilisent le mannitol, par contre une souche S8 est mannitol négatif dont le milieu reste rouge similaire au témoin (**figure09**).

Concernant la mobilité, les bactéries mobiles sont diffusées à partir de la ligne verticale d'ensemencement en créant des troubles, ce qui a été observé pour les 23 souches. En revanche, 07 souches se sont uniquement développées le long de stries d'ensemencement elles sont immobiles (**tableau 09**).

Tableau 08 : Résultats de test mannitol-mobilité

Mannitol négative	Mannitol positive	Mobilité négative	Mobilité positive
S8.	S1, S2, S3, S4,S5,S6,S7 S9, S10, S11, S12,S13 S14, S15, S16, S17,S18 S19,S20,S21,S22,S23, S24, S25,S26,S27,S28 S29,S30	S5, S7, S12, S21, S23, S26, S28.	S1, S2, S3, S4, S6, S8, S9, S10, S11, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S19, S20, S22, S24, S25, S27, S29, S30.



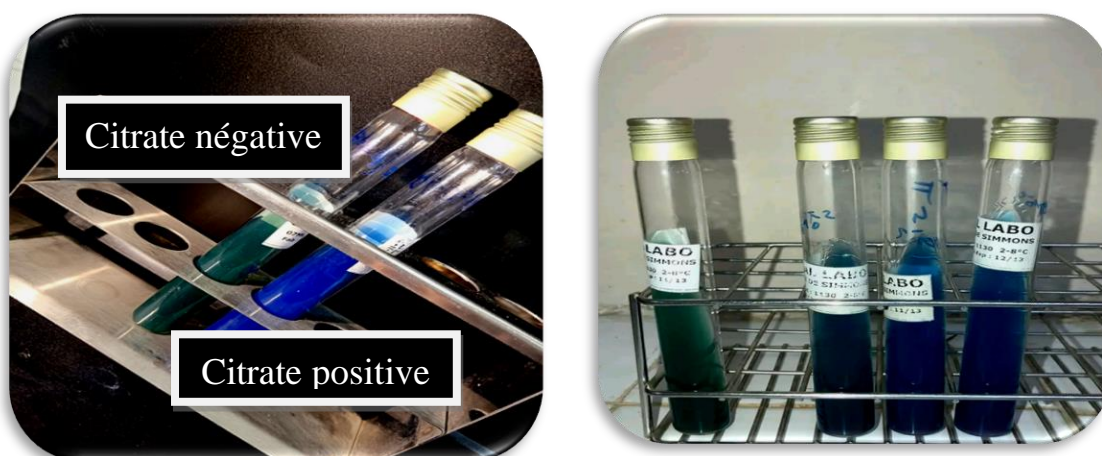
Figures 09: Résultats de test mannitol mobilité.

3.4. Résultats de l'utilisation de citrate

La croissance des bactéries et l'alcalinisation du milieu indiquent l'utilisation de citrate comme une seule source de carbone qui se traduit par le virage de couleur du vert en bleu (**figure 10**). Ce résultat a été constaté sur 26 souches après 48h d'incubation, par contre 4 souches sont dépourvues de citrate perméase et par conséquent elles sont incapables d'utiliser le citrate comme une seule source de carbone, le milieu reste vert (**tableau 09**).

Tableau 09 : Résultats de test de citrate.

Citrate négative	Citrate positive
S7, S15, S16, S21.	S1,S2,S3,S4,S5,S6,S8,S9,S10,S11S,S12,S13, S14,S15,S17,S18,S19,S20,S22,S23,S24,S25, S26, S27, S28, S29, S30.



Figures 10: Résultats de test citrate.

3.5. Résultats detest levane sucrose

Après 24h d’incubationdes 30 souches bactériennes sur le milieu levane en boîtes de Pétri,17 cultures présententune activité levane sucrose positive parle développement des colonies muqueuses abondantes et brillantes (**figure 11**), tandis que 13 isolats dépourvusde l’activité levane sucrose(**tableau10**).

Tableau 10 : Résultats de test levane sucrose.

Levane sucrose négative	Levane sucrose positive
S2, S4, S5, S6, S7, S9, S10, S13,S14,S20, S24, S28, S30.	S1,S3, S8,S11,S12, S15,S16,S17,S18,S19, S21,S22,S23,S25, S26, S27, S29.



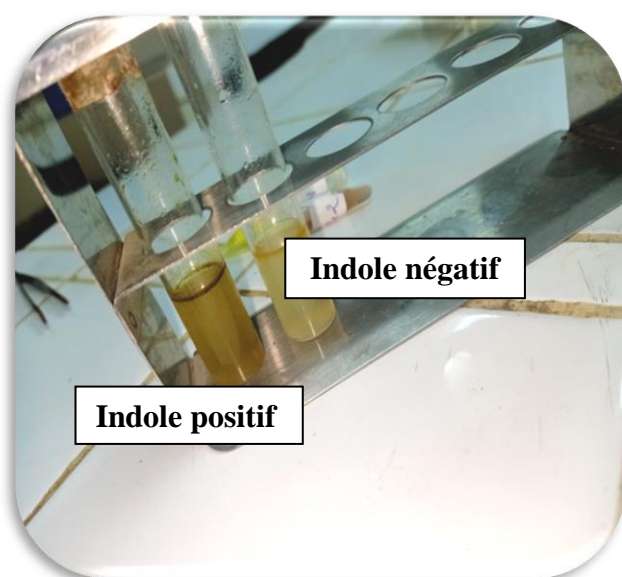
Figures 11: Résultats de test de levane.

3.6. Résultats de test de la production d'indole

Après 48h d'incubation dans le milieu indole et l'addition de 3 gouttes de réactif Kovacs et la lecture sans agiter le milieu, les résultats ont montré l'apparition d'un anneau rouge (**figure 12**) pour les 10 souches. Cette réaction signifie que les bactéries sont capables de produire l'indole et hydrolyser le tryptophane, ces bactéries sont indoles (+). Toutefois, pour les 20 souches l'anneau reste jaune ce qui indique que les bactéries sont incapables de produire l'indole sont à indole négatif (**tableau 11**).

Tableau 11 : Résultats de test d'indole.

Indole négatif	Indole positif
S1, S2, S3, S4, S5, S6, S8, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S20, S22, S23, S24.	S7, S9, S19, S21, S25, S26, S27 S28, S29, S30.



Figures 12: Résultats de test indole.

3.7. Résultats de test de liquifaction gélatine

La gélatine peut être incorporée dans milieu de culture afin de mettre en évidence sa dégradation par certaines souches testées possédant la gélatinase. Après 7 jours d'incubation des souche sur le milieu gélatine, les souches ont été placées directement dans le réfrigérateur à 4°C pendant 30min. Les résultats de l'ensemencement des différentes souches sur un milieu gélatine montrent que toutes les souches testées sont incapables de dégrader la gélatine et le milieu ne devient pas liquide comme le témoin indiquant l'absence de l'enzyme de gélatinase (figure13).



Figures 13: Résultats de test gélaténase.

3.8. Résultats de test nitrate réductase

D'après les résultats obtenus pour les 30 souches étudiées dans le milieu bouillon nitraté, qui permet de mettre en évidence la présence d'une enzyme du métabolisme énergétique: la nitrate réductase, les 4 souches testées sont des bactéries dites nitrate réductase négatives après l'ajout de la poudre de zinc (**tableau 12**). La coloration rouge signifie que la poudre de zinc a réduit les nitrates en nitrites. L'absence de coloration chez 26 bactéries indique qu'elles sont nitrate réductase positives.

Tableau 12 : Résultats de test nitrate réductase.

Nitrate réductase negative	Nitrate réductase positive
S7, S15, S19, S21.	S1, S2, S3, S4, S5,S6,S8,S9,S10,S11, S12, S13,S14,S16,S17,S18,S20, S22, S23,S24, S25, S26, S27, S28, S29,S30.

3.9. Résultats de test oxydation/fermentation (Hugh et Liefson)

Les résultats obtenus après 24h d'incubation montrent que 19 souches sont des bactéries oxydatives par la respiration en utilisant la source principale d'énergie est la respiration. L'oxygène moléculaire, ultime accepteur d'électron. L'acidification de milieu conduit au virage du milieu au jaune (**figure 14**) en présence d'oxygène par contre dans les 11 souches. Le milieu reste vert, ce sont des bactéries qui n'utilisent pas le glucose en présence d'O₂ (**Tableau 13**).

Tableau 13 : Résultats de test d'oxydation.

Résultats d'oxydation négative	Résultats d'oxydation positive
S5, S8, S12, S17, S19, S25, S26, S27, S28, S29, S30	S1, S2, S3, S4, S6, S7, S9, S10, S11, S13, S14, S15, S16, S18, S20, S21, S22, S23, S24.

Concernant le test de fermentation les résultats ont montré que 24 souches testées isolés sont des bactéries fermentatives : la fermentation c'est la voie d'attaque du glucose utilisé comme source d'énergie en absence de dioxygène qui se traduit par une acidification du milieu révélée par le virage du bleu de bromothymol à sa teinte acide (jaune). Cependant, les 6 souches ne possèdent aucun pouvoir de fermentation par absence de virage de milieu (**Tableau 14**).

Tableau 14 : Résultats de test de fermentation.

Résultats de fermentation negative	Résultats de fermentation positive
S1, S3, S12, S14, S16, S17.	S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S15, S16, S17, S18, S20, S21, S22, S23, S24, S25, S26, S27, S28, S29, S30.

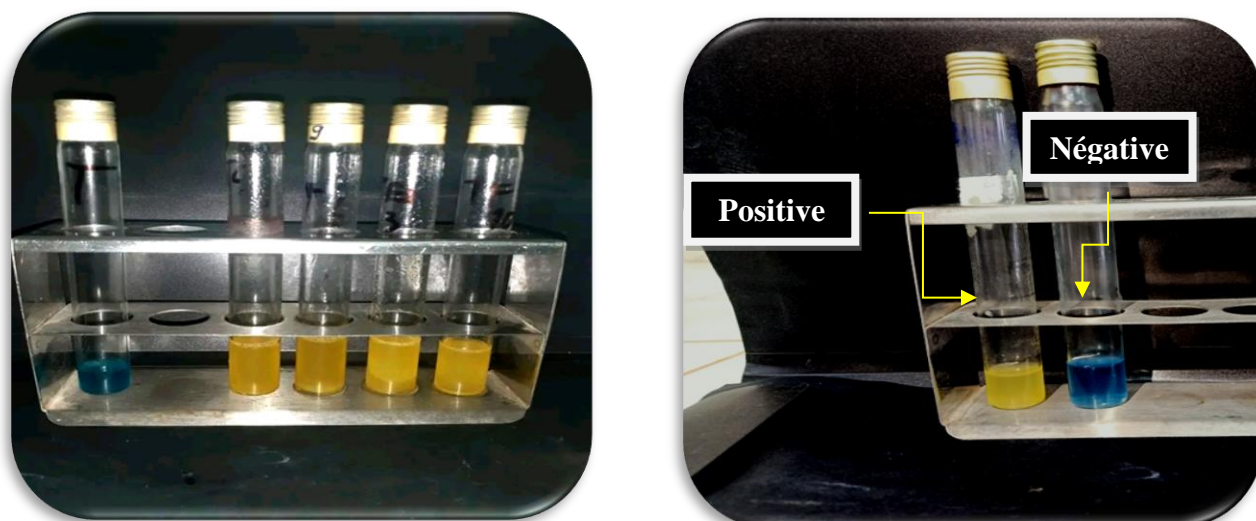


Figure 14 : Résultats de test Hugh et Liefson.

3.10. Résultats de test Triple Sugar Iron.

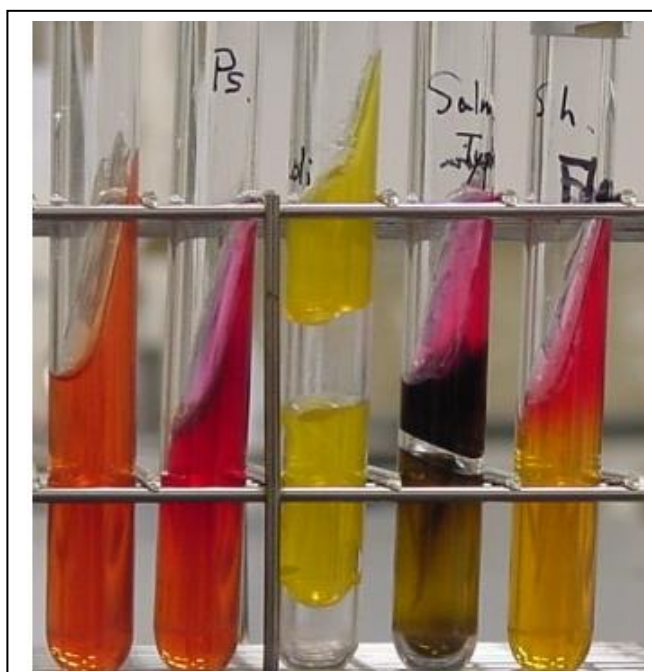
Le **Triple Sugar Iron** est un milieu basé sur la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose et sur la production de Gaz et d'H₂S. Il permet de voir si la bactérie est capable de réduire le sulfate.

Après incubation de 24h les résultats montrent que parmi les 30 souches testées 28 souches sont à glucose positif se traduit par acidification dans le culot qui donne une coloration jaune dans le culot, et nous avons obtenu 2 souches à glucose négatif se traduisent par le culot qui reste rouge (**figure 15**).

Concernant les résultats de lactose et de saccharose les résultats ont révélé 20 souches lactose/ saccharose positif se traduit par une acidification dans le culot et dans la pente et nous avons remarqué le virage de couleur de milieu de rouge de phénol au jaune. Cependant 10 souches restées ne présentent aucun virage de couleur de la pente et le culot.

Les résultats de H₂S pour les 30 souches testées ont montré trois souches H₂S positif se traduit par la présence d'une couleur noire au fond de tube (noircissement), et 27 souches H₂S négatif se traduit par l'absence de noircissement (**figure 15**).

Finalement, le gaz (CO₂/ O₂) nous avons obtenu une souche S1 produisant le gaz se traduisant par un décollement de gélose, tandis que 29 souches ne produisent pas de gaz (**tableau 15**).



Figures (15) : Résultats de TSI.

Tableau 15: Résultats de test Triple Sugar Iron. Agar (TSI).

	Saccharose	Lactose	Glucose	H ₂ S	Gaz
S1	+	+	+	+	+
S2	-	-	+	-	-
S3	+	+	+	-	-
S4	+	+	+	-	-
S5	-	-	+	-	-
S6	-	-	+	-	-
S7	-	-	+	-	-
S8	-	-	-	-	-
S9	+	+	+	-	-
S10	+	+	+	-	-
S11	-	-	+	-	-
S12	+	+	+	-	-
S13	+	+	+	-	-
S14	+	+	+	-	-
S15	+	+	+	-	-
S16	-	-	+	-	-
S17	-	-	+	-	-
S18	-	-	+	-	-
S19	+	+	+	-	-
S20	-	-	-	+	-
S21	+	+	+	-	-
S22	+	+	+	-	-
S23	-	-	+	+	-
S24	+	+	+	-	-
S25	+	+	+	-	-
S26	+	+	+	-	-
S27	+	+	+	-	-
S28	+	+	+	-	-
S29	+	+	+	-	-
S30	+	+	+	-	-

4. Résultats de l'activité PGPR (tests enzymatiques)

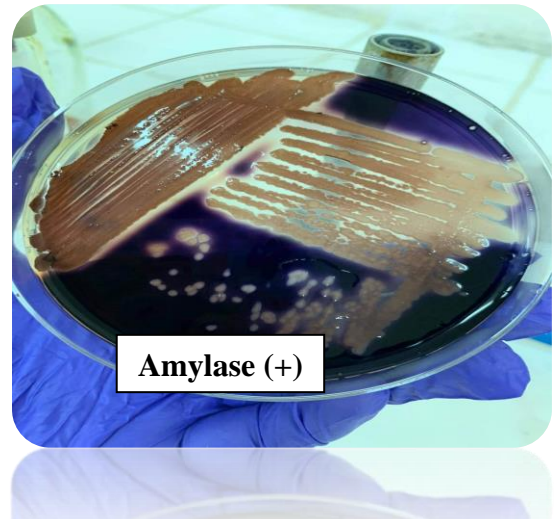
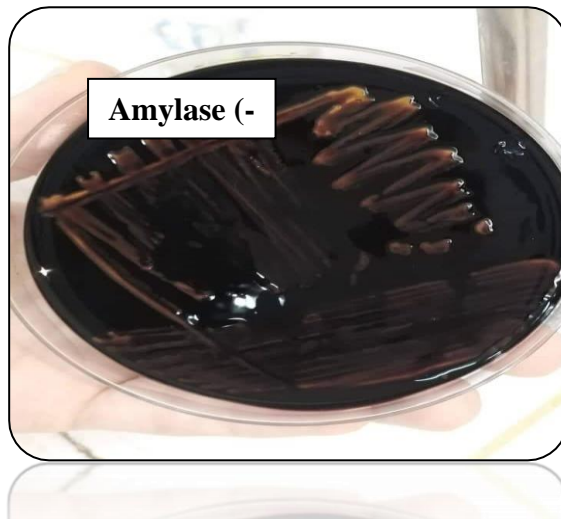
4.1. Résultats de test activité amylolytique

Les résultats obtenus après l'ensemencement des différents isolats montrent que 17 souches sont productrices d'amylase exocellulaire induisant une activité amylolytique par l'hydrolyse de l'amidon (+) (figure 16).

Cependant, 13 isolats ne sont pas des producteurs d'amylase et n'ont pas dégradé l'amidon présent dans le milieu (tableau 16).

Tableau 16 : Résultats de test d'amylase.

Amylase négative	Amylase positive
S2, S4, S5, S6, S7, S9, S10, S13, S14, S20, S24, S28, S30.	S1, S3, S8, S11, S16, S12, S15, S17, S18, S19, S21, S22, S23, S25, S26, S27, S29.



Figures 16: Résultats de l' amylase.

4.2. Résultats de test d'activitépectinolytique

Les résultats obtenus après l'encencement des différents isolats sur milieu pectine-agar pendant 24h ont permis la mise en évidence de l'activitépectinolytique, confirmée par l'apparition d'une zone claire autour de la colonie productrice, dont le diamètre est variable. Les résultats permettent de considérer 15 isolats comme producteurs de pectinase. La production de pectinase est apparue après l'ajout de lugol (**figure 17**). En revanche 15 souches montrent l'absence de la zone claire ce qui signifie ces bactéries sont pectinases (-) (**tableau 17**).

Tableau 17 : Résultats de test d'activité pectinolytique.

Péctinase négative	Péctinase positive
S1, S5, S7, S8, S9, S13, S14, S18, S19, S21, S22, S23, S25, S26, S28, S30.	S2, S3, S4, S6, S10, S11, S12, S15, S16, S17, S20, S24, S27, S29.

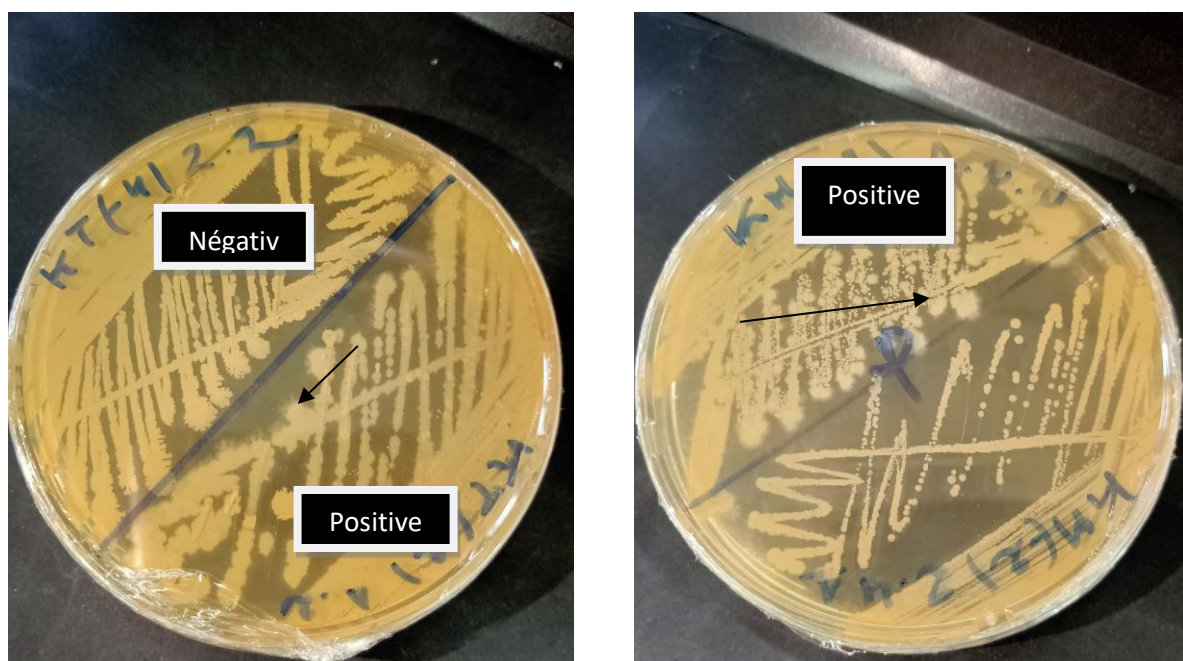


Figure 17 : Résultats de pectinase.

Les résultats de l'étude physiologique et biochimique concernent la production de catalase, oxydase, gélatinase, indole, manitole, acide organique, citrate, la réduction de nitrates en nitrite, le types respiratoire, la mobilité, ainsi que l'activité enzymatique qui nous a permis de constater une particularité de production d'une gamme très diversifiée en enzymes chez les souche isolées. Tous ces résultats sont résumer dans le (tableau 21) pour les 30 souches testées.

Les résultats étaient très variables d'une région à une autres et aussi au sein de la même région, et même d'une souche a une autres ce qui confirme la biodiversité de notre rhizosphère et leur richesse par déffirentes genres. Nous avons obtenu 12 souches de genre *Bacillus* (40%) et c'est le genre le plus dominant, puis *Arthrobacter* avec cinq souches (17%), quatre souches pour les deux genres *Chromobacterium* et *Micrococcus* (13%), deux souches pour *Azospirillum*, et *Azotobacter* (7%), et finalement une seule souche pour *Klebsiella* (3%) (figure 18).

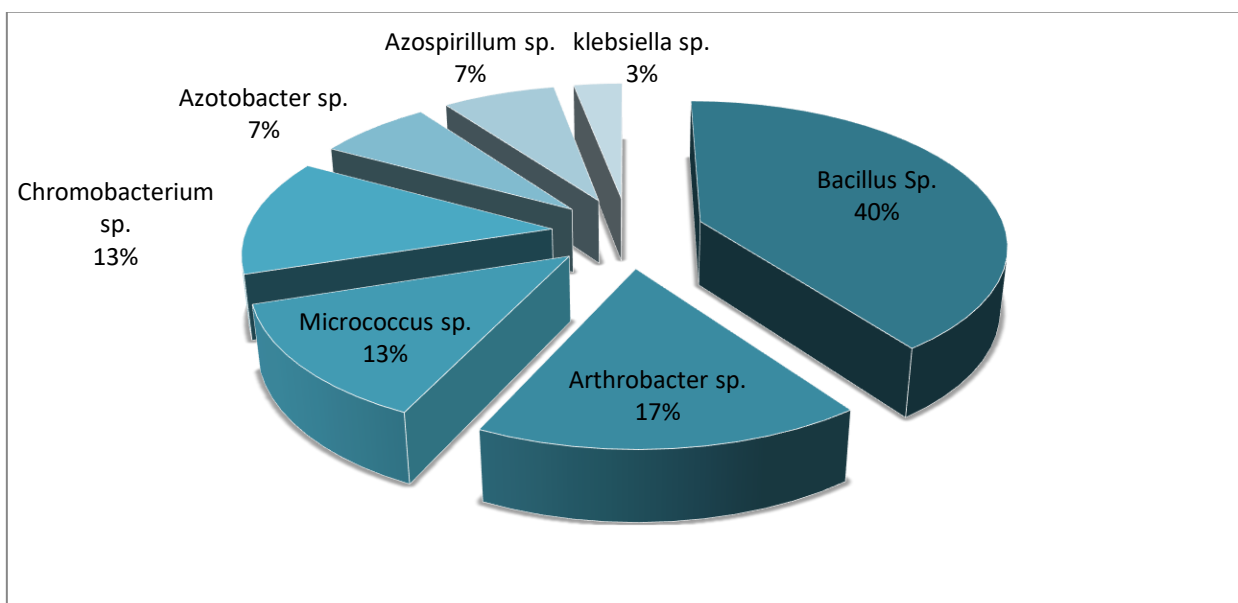


Figure 18 : Diagramme des pourcentages des genres obtenus après la caractérisation des souches.

En confrontant les premiers résultats morphologiques aux principaux caractères biochimiques des isolats que nous avons obtenu, une identification préliminaire est obtenue (tableau 18).

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau 18: résultats des tests biochimiques et physiologiques.

	KOH	Catalase	Oxydase	Fermentation	Trouble	Indole	Oxydation	Mannitol	Mobilité	Nitrate réductase	A, organique	Leva- ne	Citrate de Simmons	Géla- tine	Péctin- ase	Amylase	Les espèces	Références
S1	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	Arthrobacter	Naserlotfie <i>et al.</i> ,2022
S2	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	Chromobacterium	Soars <i>et al.</i> , 2019
S3	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	Arthrobacter	Naserlotfie <i>et al.</i> ,2022
S4	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	Chromobacterium	Soars <i>et al.</i> , 2019
S5	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	Micrococcus	Andriani <i>et al.</i> ,2017
S6	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S7	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	Micrococcus	Andriani <i>et al.</i> ,2017
S8	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S9	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S10	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	Chromobacterium	Soars <i>et al.</i> , 2019
S11	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	Azotobacter	Sumbul <i>et al.</i> ,2020
S12	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	Azospirillum	Pereira <i>et al.</i> , 2020
S13	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S14	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	Arthrobacter	Naserlotfie <i>et al.</i> ,2022
S15	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S16	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	Arthrobacter	Naserlotfie <i>et al.</i> ,2022
S17	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	Arthrobacter	Naserlotfie <i>et al.</i> ,2022
S18	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	Azotobacter	Sumbul <i>et al.</i> ,2020
S19	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S20	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S21	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	Klebsiella	Denis <i>et al.</i> ,2016
S22	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S23	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	Chromobacterium	Soars <i>et al.</i> , 2019
S24	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	Azospirillum	Pereira <i>et al.</i> , 2020
S25	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S26	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	Micrococcus	Andriani <i>et al.</i> ,2017
S27	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S28	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	Micrococcus	Andriani <i>et al.</i> ,2017
S29	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020
S30	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	Bacillus	Meddaseseyidalietal.,2020

5. Sensibilités aux antibiotiques

Dans cette étude nous avons mis en évidence de la sensibilité de 10 souches sélectionnés parmi la collection ayant une bonne activité enzymatique sur trois types d'antibiotiques vancomycine, rifamycine, boldo Florine à différentes concentrations.

D'après l'observation des colonies au niveau des trois concentrations à partir de 25% jusqu'à 100%, les résultats ont montré la sensibilité des bactéries appartenant aux trois genres à la rifamycine à savoir *Chromobacter*, *Arthrobacter* et 1 souche *Bacillus* se traduit par une croissance dans les concentrations 25%, et 50% puis une diminution du nombre de colonies jusqu'à l'absence de croissance ou la concentration de rifamycine est de 100% par contre trois genres étaient résistants 2 souches *Bacillus*, *Azospirillum*, *Micrococcus*, en effet de l'observation des colonies au niveau des trois concentrations à partir de 25% jusqu'à 100%.

En effet, les trois isolats sont résistants aux vancomycine et boldo Florine à des différentes concentrations se traduisant par une bonne croissance similaire au témoin au niveau des boîtes de Pétri. Ces colonies sont condensées et apparaissent comme un crème dans les traits qui représentent les concentrations 25%, 50%, 100% (**figure 22**).

Le genre *Chromobacterium* (S23) représente une meilleure résistance à la vancomycine à 25% avec une croissance abondante des colonies 158 colonies puis le genre *Micrococcus* (S26) qui s'accroît à 25%, 50%, 100% avec des nombres de colonies respectifs 80, 36, 30 colonies.

Les souches (S02), (S26), (S25), (S12) appartenant aux genres respectifs *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Klebsiella* ont une résistance approchée, les souches *Bacillus* (S13) (S22) (S30) et *Arthrobacter* (S16) possèdent une faible résistance. Ces résultats révèlent que la souche *Chromobacterium* (S04) l'espèce la plus sensible à la vancomycine avec l'obtention d'un faible nombre de colonies 32 sur la boîte à 25% et l'absence de la prolifération bactérienne à une forte dose 50%, 100%.

Concernant le boldo Florine les résultats montrent que le genre *Chromobacterium* est le plus résistant avec une large croissance bactérienne, les genres *Bacillus*, *Micrococcus*, *Klebsiella*, *Arthrobacter* possèdent des résultats similaires à 50%, 100%.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau19 : résultats de sensibilité de certaines 10 souches au Vancomycine à des différentes concentrations 25%, 50%, 100%.

Espèce	25%	50%	100%	souches
<i>Chromobacterium sp.</i>	64 colonies	1 colonie	0 colonies	S02
<i>Chromobacterium sp.</i>	32 colonies	1 colonie	0 colonies	S04
<i>Micrococcus sp.</i>	80 colonies	36 colonies	30 colonies	S26
<i>Bacillus sp.</i>	70 colonies	66 colonies	5 colonies	S25
<i>Bacillus sp.</i>	40 colonies	38 colonies	1 colonie	S13
<i>Bacillus sp.</i>	52 colonies	47 colonies	0 colonies	S22
<i>Chromobacterium sp.</i>	158 colonies	2 colonies	0 colonies	S23
<i>Klebsiella sp.</i>	60 colonies	59 colonies	59 colonies	S12
<i>Arthrobacter sp.</i>	52 colonies	5 colonies	0 colonies	S16
<i>Bacillus sp.</i>	43 colonies	20 colonies	1 colonie	S30

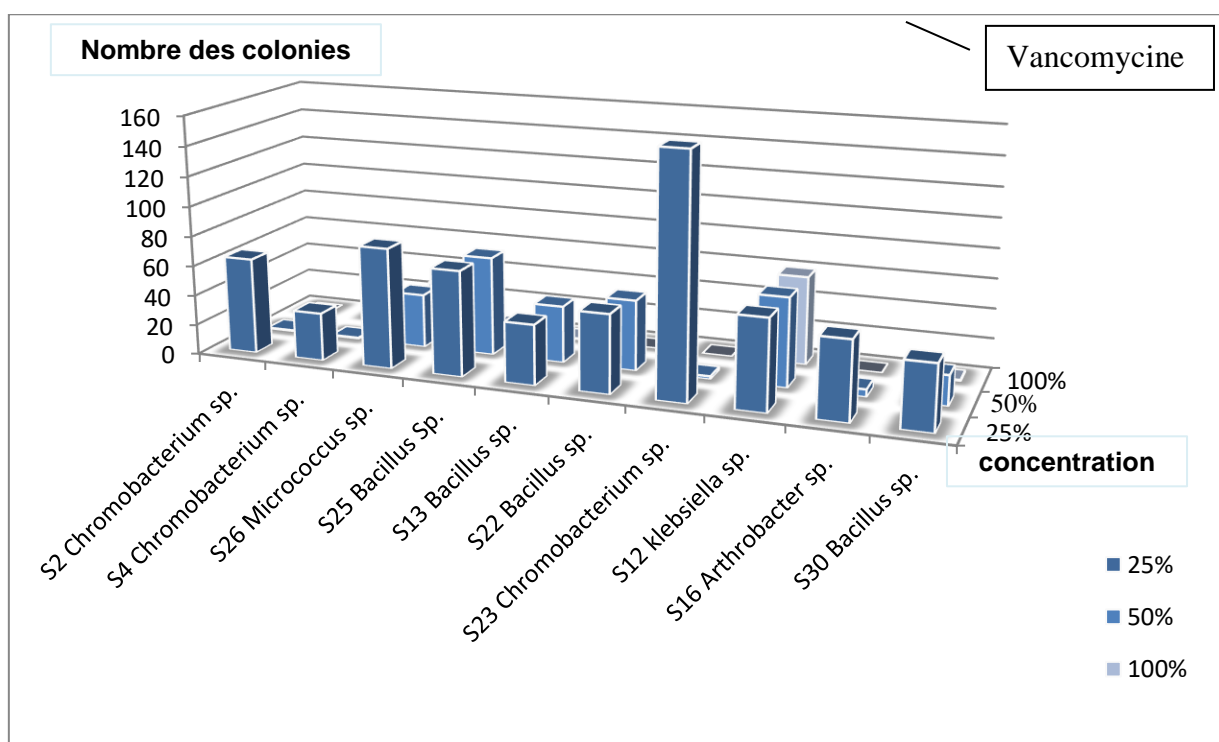


Figure 19 : Histogramme de sensibilité de 10 souches au Vancomycine à des différentes concentrations 25%, 50%, 100%.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau 20: résultats de sensibilité de certaines 10 souches au Rifamycine à des différentes concentrations 25%, 50%, 100.

Espèce	25%	50%	100%	Souches
<i>Chromobacterium sp.</i>	99 colonies	88 colonies	80 colonies	S02
<i>Chromobacterium sp.</i>	88 colonies	84 colonies	160 colonies	S04
<i>Micrococcus sp.</i>	190 colonies	184 colonies	89 colonies	S26
<i>Bacillus sp.</i>	91 colonies	90 colonies	26 colonies	S25
<i>Bacillus sp.</i>	154 colonies	63 colonies	57 colonies	S13
<i>Bacillus sp.</i>	160 colonies	120 colonies	2 colonies	S22
<i>Chromobacterium sp.</i>	89 colonies	100 colonies	110 colonies	S23
<i>Klebsiella sp.</i>	120 colonies	118 colonies	110 colonies	S12
<i>Arthrobacter sp.</i>	99 colonies	91 colonies	89 colonies	S16
<i>Bacillus sp.</i>	197 colonies	180 colonies	174 colonies	S30

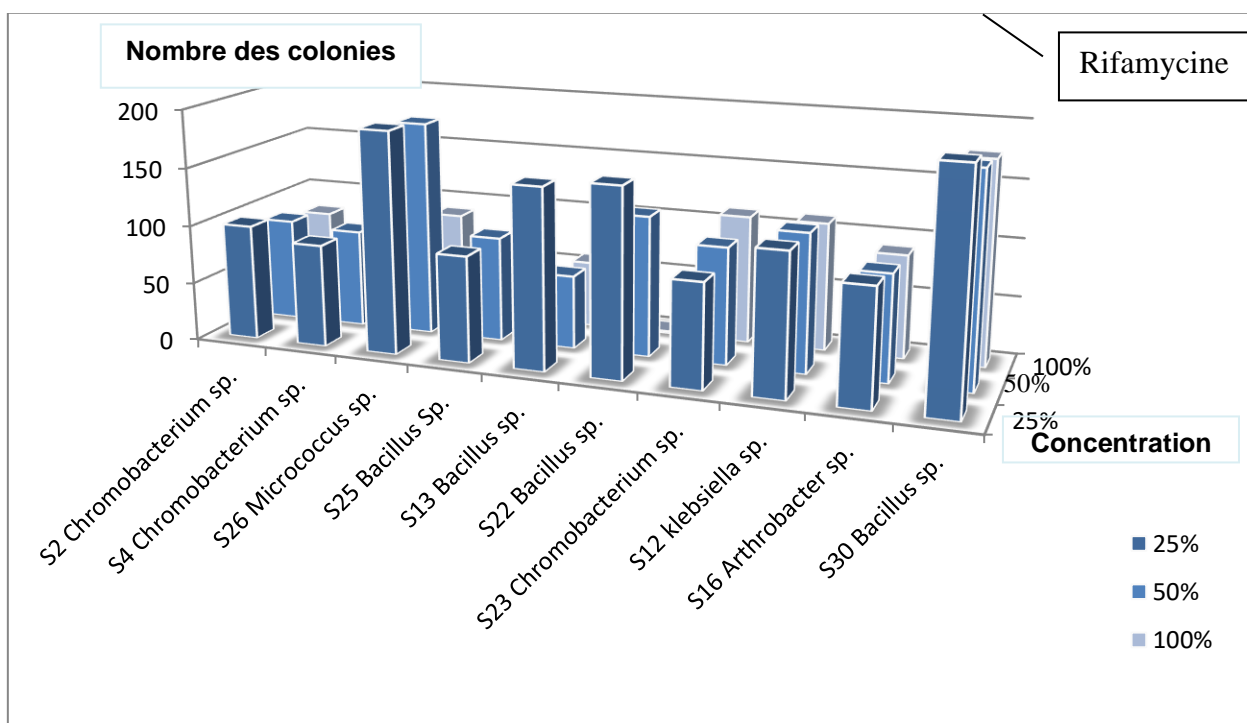


Figure 20 : Histogramme de sensibilité de 10 souches au Rifamycine à des différentes concentrations 25%, 50%, 100%.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau 21 : Résultats de sensibilité de certaines 10 souches au BD à des différentes concentrations 50%, 100%.

Espèce	50%	100%	Souches
<i>Chromobacterium sp.</i>	200 colonies	120 colonies	S02
<i>Chromobacterium sp.</i>	150 colonies	150 colonies	S04
<i>Micrococcus sp.</i>	127 colonies	120 colonies	S26
<i>Bacillus sp.</i>	108 colonies	100 colonies	S25
<i>Bacillus sp.</i>	112 colonies	90 colonies	S13
<i>Bacillus sp.</i>	116 colonies	101 colonies	S22
<i>Chromobacterium sp.</i>	190 colonies	189 colonies	S23
<i>Klebsiella sp.</i>	119 colonies	115 colonies	S12
<i>Arthrobacter sp.</i>	139 colonies	120 colonies	S16
<i>Bacillus sp.</i>	141 colonies	132 colonies	S30

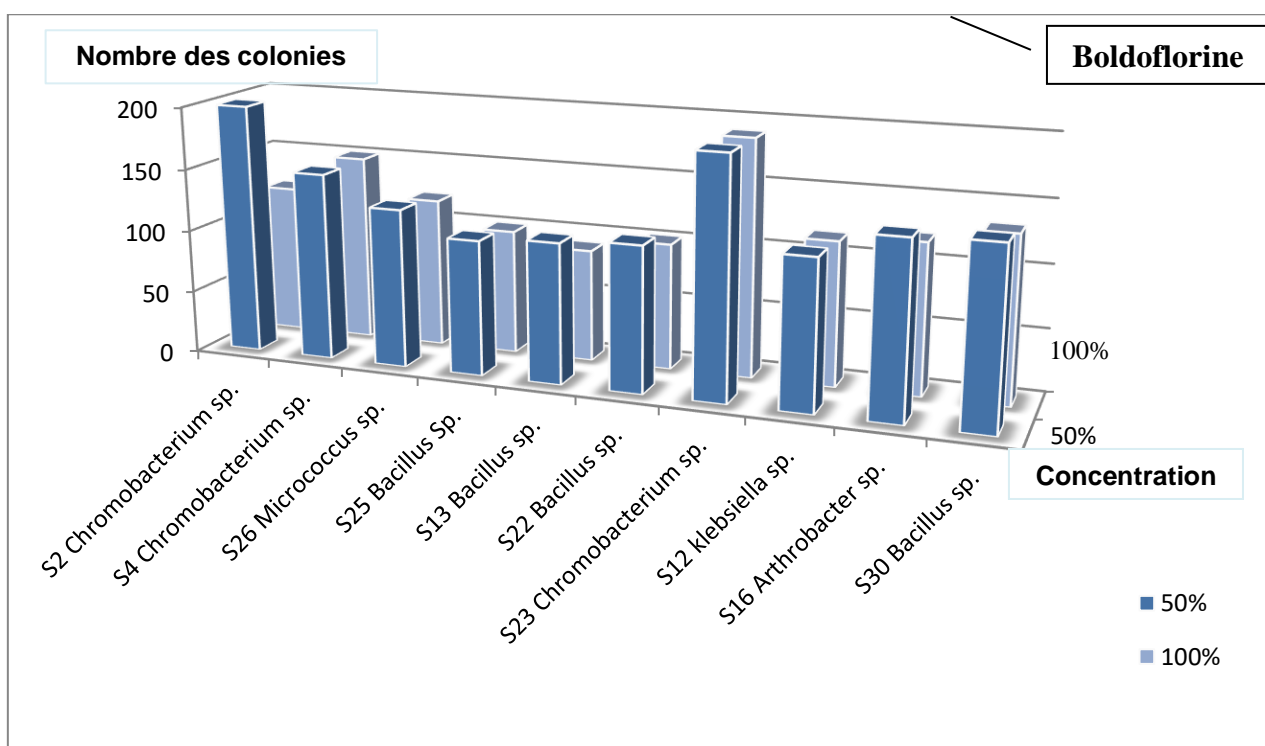


Figure 21 : Histogramme de sensibilité de certaines 10 souches au BD à des différentes concentrations 50%, 100%.

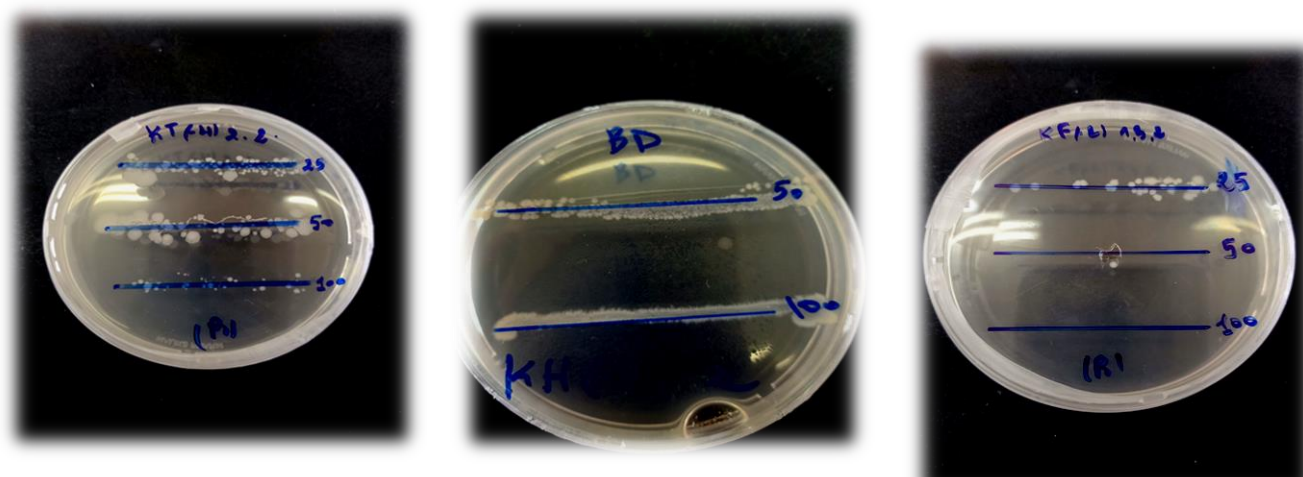


Figure 22 : Résultats de test sensibilité aux antibiotiques.

Discussion

Les PGPR forment un groupe important des bactéries bénéfiques colonisant les racines qui vivent dans la rhizosphère des plantes et le sol. Ces bactéries présentent des interactions synergiques et antagonistes avec la microflore du sol et s'engagent dans un éventail d'activités importantes des plantes, en facilitant la tolérance aux stress biotiques et abiotiques et soutiennent la nutrition des plantes hôtes (**Basu et al., 2021**).

D'une manière générale, cette étude avait comme objectifs d'isoler et de caractériser les bactéries rhizosphériques non fluorescentes à partir de 4 cultivars de palmier dattier de la région de kenadsa située à Béchar par des techniques classiques de microbiologie et de biochimie. Par la suite, nous avons évalué les activités enzymatiques, l'activité PRGR des souches obtenues. D'après les résultats, nous avons pu identifier 30 souches bactériennes non fluorescentes.

Cette étude a révélé diverses souches lors de l'isolement et de la caractérisation. D'après les résultats, nous avons pu identifier 30 souches bactériennes non fluorescentes ces souches représentent probablement de nombreuses espèces bactériennes dans la rhizosphère qui ont été qualifiées comme étant PGPR, Notamment des bactéries appartenant aux 7 Genres probables *Bacillus*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Chromobacterium* et *Klebsiella*. Nous avons obtenu 12 souches de genre *Bacillus*, 2 souches pour les deux genres *Azotobacter* et *Azospirillum*, 5 souches de genre *Arthrobacter*, et 4 souches pour les deux genres *Micrococcus* et *chromobacterium*, une seule souche de genre *Klebsiella*. Des résultats semblables des genres obtenus ont été obtenus par (**Mohanty et al., 2021**).

En effet, parmi les souches obtenues, les 5 bactéries suivantes : **S1, S3, S14, S16, S17** appartiennent au genre *Arthrobacter* de la famille des *Micrococcaceae*. La morphologie des cellules est variable selon les conditions de culture (bâtonnets à coccoïde), sont des bactéries à Gram positif, catalase (+), oxydase (-) nitrate réductase (-), n'utilisent pas le citrate comme une seule source de carbone et ne produisent pas l'indole. Nos résultats sont semblables aux résultats de (**Naserlotfie et al., 2022**).

Les résultats des tests réalisés des 4 souches **S5, S7, S26, S28** ont montré des colonies bombées. La morphologie des cellules est coccoïde avec une surface lisse, sont des bactéries à Gram positif, catalase positive, oxydase positif et immobile. Ces souches appartiennent au genre *Micrococcus*, nos résultats sont semblables aux résultats décrits par (**Andriani et al., 2017**).

Les résultats permettent de considérer ces souches : **S2, S4, S10, S23** comme *Chromobacterium* ces bactéries sont à Gram (+), catalase (+), oxydase, indole, et citrate (-), ces résultats sont similitude au celle de (**Soars et al., 2019**).

Chapitre III : Résultats et Discussion

Les 12 souches **S6, S8, S9, S13, S15, S19, S20, S22, S25, S27, S29, S30** ont montré des colonies, lisses, plates, fréquemment circulaires, avec des bords irréguliers, de couleur crème ou blanc ou jaunâtre de forme bâtonnet, à Gram positif, aérobies ou anaérobies facultative, catalase positif, lactose positif, glucose positif, saccharose positif, nitrate réductase positif, pectinase positif, amylase positif ces bactéries appartiennent à l'espèce *Bacillus spp.* Des résultats comparables ont été décrits par (Meddaseseyyidali *et al.*, 2020).

Les 2 souches suivantes **S12 et S24** ont montré des colonies blanches à Gram négatif, catalase positive, citrate positive, glucose positive, nitrate réductase positive, fermentation négative ; appartiennent au genre *Azospirillum*. Nos résultats obtenus sont en concordance avec ceux de (Pereira *et al.*, 2020).

D'autre part, les 2 souches **S11, S18** ont montré des colonies à Gram négatif, catalase positif, citrate positif, aérobie, mobile. Elles appartiennent l'espèce *Azotobacter spp.* Ces résultats sont comparables à ceux décrits par (Sumbul *et al.*, 2020).

La souche **S21** appartenant à l'espèce *Klebsiella sp.* Selon (Denis *et al.*, 2016) qui a révélé que cette espèce Gram négative utilise le citrate, produit l'indole et capable de fermenter le saccharose. Ces résultats sont en concordance avec notre étude.

Dans cette étude, nous avons exploré les activités enzymatiques des souches **S6, S8, S9, S13, S15, S19, S20, S22, S25, S26, S27, S29** appartenant au genre *Bacillus*, en détectant leurs capacités à produire l'amylase et la pectinase confirmée par l'apparition d'une zone claire autour de la colonie productrice, suggérant que ces souches pourraient produire ces enzymes avec des activités élevées. Nos résultats sont similaires à ceux de (Zheng *et al.*, 2021).

Les 2 souches suivantes **S11, S18** appartenant au genre *Azotobacter* et la souche **S21** appartenant à l'espèce *Klebsiella sp* ont été testées pour leur capacité à produire des enzymes hydrolytiques pectinase. Les résultats montrent que les souches testées sont capables de synthétiser la pectinase similaires à ceux de (Hataf AA Alsalmim, 2019) dans le but d'améliorer la croissance des plantes.

Les souches **S5, S7, S26, S28** appartenant au genre *Micrococcus* sont des bacilles producteurs d'amylase ont été identifiés sur la base des tests biochimique ces résultats sont comparables à ceux décrits par (Musinkelel *et al.*, 2016).

Les 5 bactéries suivantes : **S1, S3, S14, S16, S17** appartiennent au genre *Arthrobacter* sont capable d'hydrolyse le pectine et l'amidon. Ces résultats sont en concordance avec l'étude (RamyaKrishan *et al.*, 2016).

D'après les résultats obtenues de la sensibilité des genres suivants *Bacillus, Micrococcus, Klebsiella, Chromobacterium, Arthrobacter* à la vancomycine, rifamycine et boldo Florine, nous avons constaté que la vancomycine détruit progressivement les genres *Bacillus* (S22), *Chromobacterium* (S23) et *Arthrobacter* (S16), une ou aucune colonies est présente à la

Chapitre III : Résultats et Discussion

concentration 100% tandis que *Klebsiella*(S12) résiste à la vancomycine avec 59 colonies présente à la concentration 100%.

Concernant la rifamycine est un antibiotique moins efficace que la vancomycine mais les genres *Bacillus* (S22) et *Micrococcus*(S26) reste toujours sensible à cet antibiotique, avec le genre *Bacillus*(S22) c'est le plus sensible avec une étroite croissance bactérienne avec a nombre des colonies 2 à concentration 100%.

Dans notre étude nous avons remarqué qu'Azotobacter est une bactérie résistante à différents antibiotiques tel que vancomycine et rifamycine et nos résultats similaires à ceux de (Alka sagar et al.,2022).

En revanche, selon (Casfm Bonnet et al.,2019), les espèces *Bacillus Spp.* et *Micrococcus* sont toujours sensible à vancomycine et la rifamycine. Ces résultats sont en concordance avec notre étude.

L'espèce de *Klebsiella spp.* Devient de plus en plus résistantes aux antibiotiques, y compris vancomycine (Collingwood et al., 2020), ce qui correspond à résultats obtenus.

Les quatre principaux modes de résistance de *Klebsiella spp.* A la vancomycine sont l'imperméabilité, l'inactivation enzymatique, la modification de la cible de l'antibiotique et l'efflux actif. La cible des antibiotiques au niveau de la paroi bactérienne est un constituant indispensable à la bactérie : le peptidoglycane.

Conclusion

Conclusion

La rhizosphère est la région du sol directement formée et influencée par les racines et les micro-organismes associés. Cet environnement particulier comprend une microflore microbienne qui inclut autant des micro-organismes bénéfiques que pathogènes.

En effet, l'ensemble de ces bactéries PGPR bénéfiques regroupées sous le terme des rhizobactéries, joue un rôle important dans la croissance et l'amélioration des espèces végétales par divers effets directs et indirects.

Dans ce travail, nous avons étudié 30 souches bactériennes isolées de la rhizosphère du palmier dattier de la région de kenadsa à Bechar, en caractérisant leurs propriétés morphologiques (Gram, formes des bactéries, la taille surface et l'élévation ...), ensuite, une caractérisation biochimique a été réalisée par différents tests comme la catalase, oxydase, nitrate réductase, oxydo-fermentation. De plus, nous avons déterminé les bactéries qui présentent une capacité à dégrader des composés complexes comme la pectine, l'amidon, la gélatine et l'acide organique. Enfin, la détermination de la sensibilité aux antibiotiques de type vancomycine, rifamycine et boldoflorine a été réalisée *in vitro*.

La caractérisation macroscopique, biochimique et physiologique de cette flore bactérienne a permis de classer d'une manière préliminaire les isolats obtenus aux genres probables suivants :

Cinq souches du genre *Arthrobacter*, 2 souches *Azotobacter*., 2 souches d'*Azospirillum*, 4 souches *Chromobacterium*. Et 4 souches du genre *Micrococcus* une souche appartenant au genre *Klebsiella*, avec une dominance de genre *Bacillus* représenté par 12 souches.

D'après notre étude nous avons constaté une bonne activité pectinolytique chez la majorité des souches testées : *Arthrobacter*., *Chromobacterium*., *Micrococcus*., *Bacillus*., *Azotobacter*. Et *Azospirillum*. De plus, les souches étudiées des genres *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Klebsiella* et *Azospirillum* ont la capacité de produire l'amylase.

Selon les résultats des recherches précédentes, les rhizobactéries (PGPR) représentent une bonne source de différentes enzymes qui peuvent être utilisées dans divers domaines tels que l'industrie alimentaire humaine et animale, les détergents pour lessives, l'industrie des tanneries et l'industrie pharmaceutique, etc.

Conclusion

Notre travail à révéler l'aptitude de genre *Bacillus* de résister aux trois antibiotiques c'est le genre le plus performant. les bactéries des genres *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Azospirillum* et *Arthrobacter* ont pu également résister aux antibiotiques vancomycine et boldoflorine, ces bactéries possèdent une sensibilité vers la rifamycine sauf le genre *Bacillus*.

L'ensemble des tests effectués et les résultats obtenus montrent une grande importance à ces souches et ouvre plusieurs perspectives pour continuer ce travail.

Dans le but de progresser dans cette étude, il serait souhaitable dans les prochains travaux :

- De confirmer le non pathogénicité des souches endophytes par le test d'hypersensibilité sur le tabac.
- D'identifier ces souches par des méthodes de biologie moléculaire.
- D'élucider les mécanismes par lesquelles les PGPR stimule la croissance et protège les plantes.
- D'étudier la capacité de ces souches à améliorer la croissance des plantes dans des sols basiques. D'étudier l'effet des souches directement sur les plantes.
- D'étudier la capacité des souches à dégrader les pesticides et à développer la croissance des plantes dans des régions contaminées.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdeddaim A. 2017. Contribution à l'étude des caractères physiologiques des bactéries nodulant la légumineuse *Genistasaharae* Coss et Dur (Cas d'étude : la région de bouchagroun, wilaya de Biskra). Mémoire Master, Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Université Mohamed Khider Biskra, p. 10.
- Ahemad, M. & Khan, M.S. (2011). Insecticide-tolerant and plant growthpromoting *Bradyrhizobium* sp. (vigna) improves the growth and yield of greengram [*Vignaradiata* (L.) Wilczek] in insecticide-stressed soils. *Symbiosis* 54(1) : 17-27.
- Aisha , S., Ali Ansari, R., Rizvi.,R. Mahmood., I. Azotobacter: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. (2020).*Saudi J Biol Sci.*27(12) : 3634–3640.
- Algerie presse service, juillet 2018 une production de plus 10 millions de quitaux de dattes en 2017.
- Alka., S., R. Z. Sayyed., Pramod W. Ramteke., Wusirika, R., Peter, P., Sami Al Obaid., Mohammad J, A. (2022). Synergistic Effect of *Azotobacter nigricans* and Nitrogen Phosphorus Potassium Fertilizer on Agronomic and Yield traits of Maize (*Zeamays* L.).*Front Plant Sci.* 13: 952212.
- Aloo BN, Makumba BA, Mbega ER, The Potential of Bacilli
- Alouache Wafia et Chouder Wafa (2019). Activités enzymatiques des bactéries de la partie rhizosphérique de deux plantes médicinales (*Teucrium polium* et *Origanum vulgare*). Thèse de doctorat.
- Amélie C., 2010, Identification et caractérisation de nouvelles enzymes lipolytiques thermostables provenant d'une banque métagénomique. Mémoire de Magister. Université du Québec INRS-Institut Armand-Frappier. p.38.
- Anagnostakis, S. L., & Hankin, L. (1975). Use of selective media to detect enzyme production by microorganisms in food products. *Journal of milk and food technology*, vol. 38, no 10, p. 570-572.

- Anirban Basu Priyanka Prasad Subha Narayan Das Sadaf Kalam RZ Sayed Mme Reddy Hesham El Enshasy .,2021)Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) en tant que bioinoculants verts : développements récents, contraintes et perspectives
- Ann M. Mc Cartney, Medhat Mahmoud et al., 2021 An international virtual hackathon to build tools for the analysis of structural variants within species ranging from coronaviruses to vertebrates [version 2; peer review: 1 approved, 3 approved with reservations.
- Anne Hanson oxidative-Fermentative Test Protocol, Created: Monday, 08 September 2008 •
- Anton Hartmann, Michael Rothballer et Michael Schmid, (2008). « Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research », *Plant and Soil*, vol.312, no 1-2, November, p. 7.
- Antoun H. and Prevost D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. Z. A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. p 1–38.
- Antoun, H. & Prévost, D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: Siddiqui, Z.A. (Ed.), *PGPR: biocontrol and biofertilization*, Springer, Dordrecht 1-38.
- Aouadj R., Saidi Sief O. 2015. Isolement et caractérisation des bactéries nodulant la légumineuse fourragère *Hedysarum pallidum* Desf poussant dans la région de Djebel Boutaleb (Setif). Mémoire de Master, Ecologie Microbienne. Université des Frères Mentouri Constantine, p. 6, 16.
- Asefa Niguse., Yohannes Kassaye., Fertuna Shemsedin., Umer Ahmed.(2016). Amylase Producing Bacteria from *Ensete ventricosum* (Welw) Cheesman (Ensete) and Their Abilities to Hydrolyse Starch in a Locally Designed Bioreactor. *Biotechnology Journal International* 16(4):1-9.
- Ash, G.J., 2010. The science, art and business of successful bioherbicides. *Biological Control* 52, 230-240.
- Badri, D. V., and Vivanco, J. M. (2009). Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell Environment*, 32(6), 666-681. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01926>.
- Bakker, P.A.H.M., Raaijmakers, J.M., Bloemberg, G.V., Höfte, M., Lemanceau, P. & Cooke, M. (2007) Foreword. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 241-242.

- Barea, L.M; Pozo, M.J; Azcon, R; Azcon-Aguilar, C. (2005). Microbial cooperation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 56: 1761-1778.
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R., Reddy, M. & EL ENSHASY, 2021. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, 13, 1140.
- Belmessikh A., 2011, Optimisation de la production de la protéase neutre par *Aspergillus oryzae* sur milieu à base de déchets de tomates. Comparaison entre milieu solide et milieu liquide. Mémoire de Magister. Université Mentouri Constantine. Algérie.p.25.
- Ben ABDALLAH Rania Aydi, Jabnoun-Khiareddine Hayfa, NEFZI Ahlem, *et al* (2018). Evaluation of the growth-promoting potential of endophytic bacteria recovered from healthy tomato plants. *Journal of Horticulture*, vol. 5, no 2.
- Belarbi. L., 2019. Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum fspalbedinis* agent causal de la fusariose vasculaire du palmier dattier et moyens de lutte. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 175p.
- Benmoussa, Y., Rezzoug, C., Remini, B., Belhadj, M., 2015. Ressources et partage de l'eau dans l'oasis de Kenadsa (Sud-Ouest Algerien) ; approche historique et constat. *Cinq Continents 5 Volume 5 / Numéro 11 p. 81-92*
- Bodoharisoa O., Laingo I.R., Rakotoarimanana N. A., Ralisoa N., Randrianarison Z. M., Rasamimanana N., Rasolonjatovo M. A., Razafindrakoto C., Razafinimaro N. C. R., Razanakotonarivo T.O., 2007. Les microbes du sol. Exposé de Microbiologie. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Univ. Antananarivo, Madagascar. 63p.
- Bonnet, R., Pierrebru, J., Caron, F., Cattoir, F., Courvalin, P., Dubreuil, L., Jarlier, V., Gérard, L., Merens, A., Plesiat, P., Ploy, M, S., Soussy, C, J., Varon, E., Weber, F., comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. (2019).
- Bouali, W., 2017. Contribution à l'élaboration d'un soucier bactérien et caractérisation de la flore *Bacillus cereus* dans le Sud -Ouest Algérien. Thèse de doctorat en sciences. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen.
- Bouguedoura N, Bennaceur M, Babahani S, Benziouche SE. 2015. Date palm status and perspective in Algeria. In: Al-Khayri JM, Jain SM, Jhanson DV, eds. *Date Palm Genetic Resources and Utilization*. Volume 1 : Africa and the Americas. Germany :

- Springer, pp. 125–168.
- Bounoua M.D. (2008). Essais d'utilisation des *Pseudomonas* sp et *Bacillus* sp. Dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* sur tomate et *verticilliumdahliae* sur l'olivier. Thèse de Magister. Biotechnologie. Université d'Oran. Algérie.
 - Chao, C.T., Krueger, R.R. 2007. The Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.): Overview of Biology, Uses, and Cultivation. *HortScience* 42, 1077–1082.
 - Chaves- Lopez C., Serio A., Gianotti A., Sacchetti G., Ndagijimana M., Ciccarone C., Stellarini A., Corsetti A et Paparella A. (2015). Diversity of food-borne *Bacillus* volatile compounds and influence on fungal growth. *Journal of Applied Microbiology*. 199 : 487- 499.
 - Chevalier A., 1952. Recherches sur les Phoenix, africains R.B.A., mai – juin.
 - Choudhary D.K et Johri B.N. (2008). Interactions of *Bacillus* spp. and plants- with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*. 164 :493-513.
 - Colin Cameron, Pravin K. Trivedi Regression Analysis of Count Data second edition Cambridge University Press, 27 mai 2013 - 587 pages
 - Collingwood, A., Blostein ,F., M Seekatz,A, E Wobus ,C., J Woods,R., Foxman, B., A Bachman, M.(2020). Epidemiological and Microbiome Associations Between *Klebsiella pneumoniae* and Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Colonization in Intensive Care Unit Patients *Open Forum Infect Dis*. 7(1): ofaa012.
 - Courvalin, Patrice. Leclercq, Roland. Bingen, Edouard (1946-2012). *Antibiogramme* 2ème édition, 1 vol. (693 p.)
 - DAUR, Ihsanullah, SAAD, Maged M., EIDA, Abdul Aziz, et al (2018). Boosting alfalfa (*Medicago sativa* L.) production with rhizobacteria from various plants in Saudi Arabia. *Frontiers in microbiology*, vol. 9, p. 477.
 - De Vos, P ; Garrity, G. M ; Jones, D ; Krieg, N. R ; Ludwig, W ; Rainey, F.A ; Schleifer, K. H ; et Whitman, W. B, (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edition. Volume III, The firmicutes. Springer, New York, USA.
 - Debabeche K, 2015. Etude de l'effet de la densité de plantation et du ciselage au
 - Denis F., Ploy M. C., Martin C., Bingen E., Quentin R. 2007. *Bactériologie Médicale : Techniques Usuelles*. Edition Masson, 333 p.
 - Denison, R.F. & Kiers, E.T. (2004b) Why are most rhizobia beneficial to their plant hosts, rather than parasitic, *Microbes and Infection*, 6, 1235-1239.
 - EPPO (2004). Diagnostic protocols for regulated pests PM 7/20, *Erwinia amylovora* .

- EPPO Bull, vol.34, p.159-171.
- Espiard E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc.Lavoisier, Paris. P 147-155
 - Faessel L., Gomy C., Tostivint C., Dechanteloup A., Nassr N., Hipper C. Etude réalisée par BIO by Deloitte et Rittmo Agroenvironnement et commanditée par le Centre d'Études et de Prospective du Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt(MAAF). (2014) Rapport final : Produits de stimulation en agriculture visant à améliorer les fonctionnalités biologiques des sols et des plantes –Étude des connaissances disponibles et recommandations stratégiques. 155p.
 - Flores-Gallegos, Adriana C. et Nava-Reyna, Erika (2019). Plant growth- promoting microbial enzymes. In : Enzymes in food biotechnology. Academic Press. p. 521-534.
 - Gardan, L. Et Luisetti, G. (1981). Méthode d'isolement et identification des bactéries phytopathogènes. Station de Pathologie INRA. Angers, p32.
 - Geoffroy Villejoubert. (2016), Synthèse bibliographique : Conversation dans la rhizosphère –Dialogue moléculaire et diversité des interactions plantes –micro-organismes,université Paul Savatier, Toulouse.
 - Glazebrook J, W. Chen, B. Estes, H-S. Chang, C. Nawrath, J-P. Metraux, T. Zhu, F. Katagiri (2003). Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. Plant J. 31 : 217–228.
 - Glick, B.R., Z. Cheng, J. Czarny, et J. Duan (2007). Promotion offre plant growth by ACC deaminase producing soil bacteria. Eur. J. Plant Pathol. 119:329–339.
 - Gobat, J. M., Aragno, M. Matthey, W. (2010). Le sol vivant : bases de pédologie, biologie des sols 3ème édition, PPUR Presses polytechniques, 817 p.
 - Gopinath S. C. B., PeriasamyAnbu M. K., Arshad M. D., Then gavel L., Voon C. H., Hashim U., Chinni S. V., 2017, Biotechnological Processes in Microbial Amylase Production: a review, BioMed Research International, pages 9.
 - Goswami, D., Thakker, J. N. & Dhandhukia, P. C. 2016. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). Cogent Food Agriculture, 2, 1-19.
 - Grady EN, MacDonald J, Liu L, Richman A, Yuan ZC. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. Microcell Fact. 2016 Dec 1;15(1):203. doi: 10.1186/s12934-016-0603-7. PMID: 27905924; PMCID: PMC5134293.

- Gray and L.M. Smith (2005). Influence of land use on post metamorphic body size of playalake amphibians. *Journal of Wild life Management*. 69 :515-524.
- Grover, M., Bodhankar, S., Sharma, A., Sharma, P., Singh, J. & Nain, L. 2020. PGPR mediated alterations in root traits: way towards sustainable crop production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 287.
- Guiraud J.P. (2003). *Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie*, Paris :Dunod, série Agro-alimentaire, p : 136-433.
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K. & Singh, V. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Microbiology Biochemologie Technologie*, 7, 96-102.
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K. & Singh, V. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Microbiology Biochemologie Technologie*, 7, 96-102.
- Hakima Oulebsir-Mohandkaci, Farida Tihar-Benzina&Arezki Mohammedi Study of Some Biocontrol Bacterial Isolates and Evaluation of Their Antifungal and Insecticidal Effects, *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research* Volume 3, Issue 2 June 2019 ijjaar.penpublishing.net ISSN: 2602-4772 (Online)
- Hamid, S., Lone, R., Heba, R. 2021. Production d'antibiotiques à partir de PGPR et leur rôle dans le biocontrôle des plantes maladies. 441- 455p.
- Hartmann A., Schmid M., Tuinen D., Berg G., 2009. Plant-driven selection of microbes. *Plant Soil*, 321: 235-257.
- Hayat, R., S. Ali, U. Amara, I. Ahmed. (2010). Bactéries bénéfiques pour le sol et leur rôle dans la promotion de la croissance des plantes : un aperçu. *Ann Microbiol* 60 : 579-598.
- Hérault, B (2015). Produits de stimulation en agriculture visant à améliorer les fonctionnalités biologiques des sols et des plantes : état des lieux et perspectives. In : *Centred'études et de prospective, Analyse N° 79*, Avril 2015.
- Hugh, R. et Leifson, E. (1953) La signification taxonomique du métabolisme fermentatif par rapport au métabolisme oxydatif des glucides par diverses bactéries Gram négatives. *Tourillon de bactériologie*, 66, 24-26.
- Hupé J., 2008, *Enrichissement Et Recherche de certaines activités enzymatiques*

- produites par des bactéries aérobies thermophiles. Mémoire de Magister. Université du Québec INRS-Institut Armand Frappier. p.5.
- Hutaf A A, A. (2019). Assessment of *Azotobacter chroococcum*'s Ability to Produce Hydrolytic Enzymes and Enhance Growth of *Vicia faba*. Baghdad Science , 16(1) :0034.
 - Izyan, N. S., Azman, D. N., Mohd Saad, N. A., Sauid, S. M., & Hamzah, F., 2020, Effect of Tacca Starch Loading on Production of Amylolytic Enzymes from Ragi Tapai, Materials Science Forum, 987: 118-123.
 - Jean Miatekela Gestion durable de la biodiversité et promotion des agricultures de type écologique en milieu paysan en Martinique Volume 17 numéro 3 | décembre 2017
 - JOFFIN, J.N. et LERYAL, G (2006). Microbiologie Technique Tome 1” Dictionnaire des techniques”. Bordeaux, France, centre régional de documentation d'Aquitaine, p. 967- 971.
 - Joshi, M., R. Shrivastava, A.K. Sharma, A. Prakash (.2012). Criblage de vérités résistantes et de *Fusarium oxysporum* antagonistes pour la lutte biologique contre la fusariosedu piment. Plant PatholMicrobiol3 : 134.
 - Jourdan E, Henry G, Duby F, Dommes J, Barthelemy JP, Thonart P, Ongena M (2009) Perspectives dans les événements liés à la défense survenant dans les cellules végétales suite à la perception de type surfactine lipopeptide de *Bacillus subtilis*. Mol Plant Microbe Interact22 : 456–468.
 - Kouassi M. (2001). La lutte biologique : une alternative viable à l'utilisation des pesticides. Vertigo. 2 (2) : 4000-4101.
 - Kumar, P. & Dubey, R. 2012. Plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens and yield enhancement of *Phaseolus vulgaris*. Current Perspectives in Applied Microbiology, 1, 6-38.
 - La production dattière : cas de cultivars Deglet-Nour dans la région d'El-Hadjeb (wilaya de Biskra). Thèse du diplôme Magister en Science Agronomique. Université de Biskra.
 - Lamichhane J. R. and L. Varvaro Plant Pathology (2013) 62, 624–632 A new medium for the detection of fluorescent pigment production by pseudomonads Department of Science and Technology for Agriculture, Forestry, Nature and Energy (DAFNE), Tuscia University, San Camillo de Lellis, 01100 s.n.c., Viterbo, Italy

- Lanotte P, C, Isnard et al 2016 du prélèvement à la caractérisation des souches partie I technologie générale P18
- Lepinay C., (2013), Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale, Université de Bourgogne, p.263.
- Leulmi Z. (2015). Les proteus incriminé dans les infection communautaire et hospitalière : étude moléculaire de la résistance à l'antibiotique Thèse de doctorat. Universités Frère Mentouri Constantine .148P
- Li, Z., Shilian, H., Tom, H., Guohui Y., Dongliang, G., Zide, J., Jianguang, L. (2021). Biocontrol Using *Bacillus amyloliquefaciens* PP19 Against Litchi Downy Blight Caused by *Peronophythora litchii*. Microbe and Virus Interactions with Plants <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.619423>.
- Lombi. E, (2001). Trace Elements in the Rhizosphere. CRC Press. Cité dans Microbial Health of the Rhizosphere.
- Lotfi, N., Soleimani, A., Çakmakçı, R. et al. Caractérisation des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) chez le noyer de Perse associées à la tolérance au stress hydrique. Sci Rep 12, (2022).
- Lucas, c., p., carolina, b.p., larissa, v., c., thaisa, c.m., Rayssa F, d. S., Cristiane. D., C
- .Elisete, A. F. O., Alessandro, L. B.(2020). Corn Responsiveness to *Azospirillum*: Accessing the Effect of Root Exudates on the Bacterial Growth and Its Ability to Fix Nitrogen Plants (Basel), 9(7): 923.
- Maktouf S., 2013, Activités amylase et lichenase d'une nouvelle souche de *Bacillus* Production sur milieu solide et caractérisation. Thèse de Doctorat. Université De Toulouse.p.27.
- Malhotra R., Noorwez S. M., Satyanarayana T., 2002, Production and partial characterization of thermostable and calcium-independent alpha-amylase of an extreme thermophile *Bacillus thermo-oleovorans* NP54. Letters in Applied Microbiology, 31(5):378- 384
- Maougal, R. T. 2014. Contribution des phytases bactériennes à l'adaptation de *Phaseolus vulgaris* à la faible disponibilité de phosphore en sols méditerranéens. Thèse de doctorat en sciences, Université des frères mentouri Constantine 1. 264 p.

- Marie Line Faune. (2018). La rhizosphère : Point de départ d'un vaste Réseau de Communication, Ag ricultures & Territoires- Chambres d'agriculture des Pays de la Loire ;10 :1.
- Marschner P., Crowley D.E., Lieberei R., 2001. Arbuscular mycorrhizal infection changes the bacterial 16S rDNA community composition in the rhizosphere of maize. *Mycorrhiza*, 11: 297-302.
- Martínez Trujillo A., Arreguín Rangel L., García, Rivero M., & Aguilar Osorio G. (2011). Use of fruit residues for pectinase production by *Aspergillus flavipes* FP-500 and *Aspergillus terreus* FP-370. *Letters in applied microbiology*, 53(2), 202-209.
- Matallah M. (2004). Contribution à l'étude de la conservation des dates variété DegletNour : Isotherme d'adsorption et de désorption. Mémoire d'Ingéniera, INA. ElHarrach. Alger. 79 p.
- Meddas, S., Oulebsir-Mohandkaci, H., Hajouti, R., Reghmit, N., Houas, Y., Amirat, D., Naitbouda, L., Doumandji-Mitiche, B. (2020). Caractérisation des *Bacillus* pp. Isolées du sol d'olivier et étude de leurs potentialités de biocontrole contre la mouche de l'olive *dacusoleae*(gmel) à l'ord de l'algerie. *Revue agrobiologia* 10 (1) :1872-82.
- Mesnoui Mohammed . Zeguerrou Reguia . Tahar Chaouch
- Souad . CharaouiHafsa. Lahmadi Salwa. Tahirine Mohamed . Roumani Messaoud . 2022-07-03 Contrôle De La Contamination Des Vitroplants De Palmier Dattier (*phoenixDactylifera* L.) *Journal Algérien des Régions Arides* Volume 14, Numéro 2, Pages 82-87.
- Michel CG, Christian W, Jean-Claude R, Jacques B et Jean-Louis M. (2005). *Sols et environnement*. Ed, Dunod, paris, p : 881.
- *Microbiological Research* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.011>.
- Minakshi Grover ,Shrey Bodhankar, Abha Sharma, Pushpendra Sharma ,Jyoti Singh¹ etLataNaïn2021 Altérations médiées par les PGPR dans les traits racinaires : voie vers une production agricole durable.
- Munier P. (1973). *Le palmier dattier*. Ed. G-p. Maisonneuve et larose,
- Muratova AY, VO de Turkovskaïa, Antonyuk LP, Makarov OE, Pozdnyakova LI, Ignatov VV. Potentiel oléo-oxydant des rhizobactéries associatives du genre *Azospirille* . *Microbiologie* 2005 ;74 :210 – 5.
- Nadeem, S.M., M. Naveed, Z.A. Zahir, H.N. Asghar .(2013). *Interactions plantes-*

- microbes pour une agriculture durable : principes fondamentaux et avancées récentes. In : Arora NK (ed.) Symbiose microbienne végétale : principes de base et avancées. Springer, Inde, pp. 51- 103.
- NaidjiMériem, BenguedouadIlhem., 2020 Les bactéries rhizosphériques : Méthodes d'isolement, d'identification et d'étude de leurs activités enzymatiques.
 - NaidjiMériem, et BenguedouadIlhem (2020). Les bactéries rhizosphériques : Méthodes d'isolement, d'identification et d'étude de leurs activités enzymatiques. Thèse de doctorat.
 - Naznin, H.A., M. Kimura, M. Miyazawa, M. Hyakumachi .2012. Analyse des composés organiques volatils émis par les champignons, promoteurs de la croissance des plantes, *Phoma sp. GS8-3* pour les effets de promotion de la croissance sur le tabac. *Microbe Environ* 28 : 42 à 49 New York.
 - Nguyen, C. (2007). La libération de composés organiques par les racines (rhizodéposition) : modélisation et impact sur la biodisponibilité des éléments Minéraux pour les plantes. Ecole Doctorale Ressources, Produits, Procédés, Environnement, Nancy Mémoire de Titres & Travaux et Projet Scientifique en vue de l'obtention du diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches. 102.
 - Orozco-Mosqueda, M.d.C. ; Flores, A. ; Rojas-Sanchez, B. ; Urtis-Flores, C.A. ; MoralesCedeño, L.R. ; Valencia-Marin, M.F. ; Chávez-Avila, S. ; Rojas-Solis, D. ; Santoyo, G., (2021) - Plant-Growth Promoting Bacteria as Bioinoculants Attributes and Challenges for Sustainable Crop Improvement, *Agronomy*, MDPI, 11(1167) : p 1-2.
 - Peter H., Georges B. J., Raven K. A., Mason J. B., Losos S. R., 2015, *Biologies*, 9ème Ed. Américaine du Raven, p.1406.
 - Piechulla, B. & Pott, M. B. 2003. Plant scents—mediators of inter-and intraorganismic communication. *Planta*, 217, 687-689.
 - Planet scope -statistiques 2012. Production mondiale de dattes. <https://www.planetscope.com/fruits-legumes/1381-production-mondiale-de-dattes.html>.
 - Pooja Bhadrecha., Bala, M., Khasa, Y. P., Arshi, A., Singh, J., & Kumar, M. (2020). *Hippophaerhamnoides L.* rhizobacteria exhibit diversified cellulase and pectinase activities. *Physiology and molecular biology of plants*, vol. 26, no 5, p. 1075-1085.

- Potard, K. 2017. Les émissions de composés organiques volatiles (COVs) des sols dans les paysages agricoles : identification des sources et incidences sur la qualité de l'air. Thèse de doctorat en Biologie, Université de Rennes 1. 157 p.
- Prescott, L.M., Harley, J.P. and Klein, D.A. (2003). Microbiologie. Edition De boeck Ed. 2ième Edition française, 525-526PP.
- Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A., 2003, Microbiologie. De Boeck : Bruxelles.2ème édition. p.1164
- Ramamurthy, V., Viswanathan, R., Righthander, T., Parkas, V., Samiya pan, R.,2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants againstpests and diseases. Crop Protection 20, 1-11.
- Ramya, K., Ravikumar, M, R., Naoto, G, T., Hans-Jürgen, B. (2016). Arthrobacterpokkaliispnov, a Novel Plant Associated Actinobacterium with Plant Beneficial Properties, Isolated from Saline Tolerant Pokkali Rice, Kerala, India. PLoS ONE,11(3):e0150322.
- Reddy, M.S., Ila, R.I.&Faylon, P.S. (2014). Recent Advances in Biofertilizers and Biofungicides (PGPR) for Sustainable Agriculture, Cambridge Scholars Publishing. 540p
- Rhizobacteria for Sustainable Crop Production and Environmental Sustainability,
- Richardson A.E, Barea J.M., McNeill A.M. et Prigent-Combaret C. (2009). Acquisition of Phosphorus and Nitrogen in the rhizosphere and plant. Plant and Soil, 321 :305–339.
- Ripert Christian. (2013). Mycologie médicale. Edition Lavoisier. P : 327
- Rival A., 2010. Palmier à huile, palmier dattier : deux cultures stratégiques. Ecologie,315, PP.54-60.
- Sakrouhi I. 2017. Caractérisation Physiologique et Taxonomique du rhizobium Nodulant Acacia Isolés des Dunes de Merzouga et Etude Transcriptomique d'une Souche Modèle de la Collection. Thèse de Doctorat, Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohamed V Rabat, pp. 15-16.
- 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 Journalof Soil Science and Plant Nutrition 15(2): 524-548.

- Séverine Lopez. (2018). Déterminisme de la diversité bactérienne rhizosphérique des hyper accumulateurs de nickel, Biodiversité et Écologie, Thèse doctorat, Université de Lorraine,22.
- Shaikh, S., Sayyed, R.Z., 2015. Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Their Formulation in Biocontrol of Plant Diseases, in:Arora, N.K. (Ed.), Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets. Springer, India, pp. 37–351.
- Singh, I. 2018. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions. European Journal of Biological Research, 8, 191-213.
- Singh., Gera, R., Sharma, R., Maithani, D., Chandra, D., Bhat, MA., Kumar,R., Bhatt,P. 2021. Mechanism and application of Sesbania root-nodulating bacteria: an alternative for chemical fertilizers and sustainable development. Archives of Microbiology (2021), 203, 1259–1270.
- Soares R.L., N.B. Dias Neto, C.C. Guizelini, M.A. Araújo, C.R.B. Leal, T.B.M. Möck
- C.A.N. Ramos., 2019 Chromobacteriosis (*Chromobacterium violaceum*) in a calf from Brazil - case report.
- Sridevi M, Mallaiah KV (2008) Production of catechol-type of siderophores by Rhizobium strains from Sesbania sesban (L.) Merr. Asian J Bio Sci 3(1):187–194.
- Steeghs, M., Bais, H. P., de Gouw, J., Goldan, P., Kuster, W., Northway, M., Fall, R., & Vivanco, J. M. (2004). Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry as a New Tool for Real Time Analysis of Root-Secreted Volatile Organic Compounds in Arabidopsis. Plant Physiology, 135(1), 47-58. <https://doi.org/10.1104/pp.104.038703>
- Subashchandrabose, S.R., Ramakrishnan, B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K. & Naidu, R. (2011) Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: biotechnological potential. Biotechnology Advances, 29, 896-907.
- Suriya, J., Bharathiraja, S., Krishnan, M., Manivasagan, P., & Kim, S. K. (2016). Marine microbial amylases: properties and applications. Advances in food and nutrition research, 2016, vol. 79, p. 161-177.
- Tatiana da Costa RP. and Flevo F. (2005). Extraction and assay of pectic enzymes from Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft). Food Chem. 89, 85-92 p.
- Thakore, Y., 2006.The biopesticide market for global agricultural use. Industrial

- Biotechnology 2, 194-208.
- Todar, k. (2003). Online textbook. Emeritus, University of Wisconsin-Madison. Department of bacteriology. ([Http://www.textbookofbacteriology.net/](http://www.textbookofbacteriology.net/)).
 - Tourkya, B., Boubellouta, T., Dufour, E.&Leriche ,F.(2009). Fluorescence Spectroscopy as a promising tool for a polyphasic approach to Pseudomonad Taxonomy. *Curr. Microbiol* 58(8) : 39-46
 - Vassilev N., Vassileva M., Nikolaeva I., 2006. Simultaneous P solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Appl. Microbiol. Biotech.*, 71(2): 137–144.
 - Vurro, M., Gressel, J., (eds.) 2008. *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*. NATO Security through Science Series – A: Chemistry and Biology. Springer Publisher, Dordrecht, The Netherlands. 374 p.
 - Y. Ding, J. Wang, Y. Liu, S. Chen Isolement et identification de bacilles fixateurs d'azote à partir de rhizosphères végétales dans la région de Pékin. *J. Appl. Microbiol.*, 99 (2005), p. 1271.
 - Yang, C.H.& Crowley, D.E. (2000). Rhizosphere Microbial Community Structure in Relation to Root Location and Plant Iron Nutritional Status. *Appl Environ Microbiol* 66(1): 345-351.
 - Zahir ZA, Arshad M et Frankenberger WT. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Adv. Agron*, 81: 97-168.
 - Zerizer H., Oulmi L., Boughachiche F., Reghioua S., Boudemagh A., Kitouni M., Boulahrouf A., 2006. Identification d'une Actinomycétale productrice d'antibactériens, isolée de sols arides de la région de Biskra. *Sciences & Technologie*, 24 : 17-22.
 - Zohary D, Hopf M. 2000. *Domestication of plants in the Old World*. Oxford University Press. P : 316.

Annexes

Annexes

1. Composition de milieu urée- indole (Freney et al.,1992)

Peptone.....	20.0g
Nacl	5.0g
Eau distillé	1000 ml

Dans un flacon de 1l contient l'eau distillée ajouter les produit (peptone 20g/ NACL 5g) et agitée le tous ensuivent auto claver à une température 120C° pendant 20minutes, laisser refroidir suffisamment pour pouvoir couler dans les biotes.

2. Composition de milieu Hugh et Leifson (Hugh et Leifson.,1953)

Bacteriotryptophane.....	2.0g
Phosphate de potassium dibasique.....	0.3g
Chlorure de sodium.....	5.0g
Bleu de bromothymol.....	0.03g
D (+) -glucose.....	10.0g
Agar.....	3.0g
Eau distillé	1000 ml

Après autoclavage a une température 121C° pondant environ 20 minutes, le milieu es laisser refroidir suffisamment pour pouvoir les repartir en tubes.

3. Composition de milieu levane (Schaad, 1988)

Schaad, N.W., (1988). Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria, Bacterial. Commit. Amr. Phytopath. Soc. Minesot

Extrait de levure.....	2.0g
Bacteriopeptone.....	5.0g
Saccharose.....	50.0g
Chlorure de sodium.....	5.0g
Agar bactériologique.....	20.0g
Eau distillé	1000 ml

Annexes

Après autoclavage a une température 121C° pondant environ 20min, le milieu est laisse à refroidir suffisamment pour pouvoir le couler en biotes de pétri.

4. Composition de milieu d'acide organique Milieu M9 : (Trivedi et *al.*, 2013).

Na ₂ HPO ₄	6.0g
KH ₂ PO ₄	4.0g
MgSO ₄	2.0g
Kcl.....	0,1g
Agar.....	2.0g
Eau distillé	1000 ml

5. Composition de milieu de gélatine (Schaad, 1988)

Extrait de viande.....	3.0g
Peptone.....	5.0g
Gélatine	120.0g
Eau distillé	1000 ml

Après chauffage de milieu verser 5ml de dans chaque tube, ensuit mettre l'ensemble des tubes dans l'autoclave, puis laisser les tubes pour refroidir.

Les milieux de mannitol mobilité et citrate de Simmons et nitrate réductase sont déjà préparer.

6. Composition de milieu gélose nutritive

Extrait de viande	01g
Extrait de levure	02g
Peptone.....	05g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar.....	15g
Eau distillé	1000 ml

7. Composition de milieu gélose Muller – Hinton :(MUELLER J.H. and HINTON J. 1941.)

Peptone.....	03g
Hydrolysate caséine.....	17.5g
Agar.....	15g
Ca ²⁺	20-25g
Mg ²⁺	10-12.5g
Eau distillé	1000 ml

8. Composition de milieu d'activité amylolytique (Gupta R et al 2003)

Extrait de bœuf.....	3.0g
Peptone.....	5.0g
Amidon soluble.....	2.0g
Agar.....	15.0g
Eau distillé	1000 ml

9. Composition de milieu d'activité pectinolytique (Martinez-Trujilo et al, 2011).

Milieu pectine-agar PH=7

Pectine.....	5g
Extrait de levure.....	5g
Agar.....	20g
Eau distillé	1000 ml

Annexes

1. Matériels biologiques

Cette expérimentation consiste à travailler sur les isolats bactériens de la rhizosphère du palmier dattier

2. Matériels non biologiques

Verrerie et accessoires	Appareillage
<ul style="list-style-type: none">- Fioles- Tubes à essais stériles- Becher- Pince- Boîtes de pétri- Erlen Meyer- Les pipettes pasteurs- Micropipettes- Papier filtres- Lames et lamelles- Des paires des gants- Les billes en verre- Les seringues- Spatules- Un panier- Bavette- Bistouri	<ul style="list-style-type: none">- Etuve des stérilisations- Balance- Autoclave- Agitateur vortex- Bec benzène- La lampe UV- Ph mètre- Four pasteur- Réfrigérateur- Microscope