

La détection précoce, une technique simple pour combattre les contaminations bactériennes en culture *in vitro* du palmier dattier¹

Fatmi M.¹ et Aaouine M.²

1 : Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Complexe Horticole d'Agadir Laboratoire de Phytobactériologie BP. 18/S, Agadir ;

2 : Laboratoire de Biotechnologie Végétale Appliquée, Domaine El Bassatine, Meknès.

Correspondance à : Fatmi M'barek: Fatmi@iavch.ac.ma

Résumé

Une technique simple, sensible et fiable pour la détection, dès l'introduction, des explants de palmier dattier contaminés par les bactéries a été développée. Dans cette méthode, nommée « détection précoce », les parties basales et/ou terminales sont prélevées au niveau de chaque explant et agitées séparément dans des tubes à essai contenant un milieu bactériologique stérile pendant 3 à 10 jours à la température ambiante. Ce milieu de culture (MNB) qui est une modification du milieu NBY, contient par litre : 2g de K_2HPO_4 ; 0,5g de KH_2PO_4 ; 0,25g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 2,5g d'extrait de levure ; 5g de Bactopeptone et 2,5g de Glucose.

*L'application de cette technique sur 116 explants stérilisés et avant leur transfert sur le milieu d'initiation, a révélé que 42,6%, 58,3% et 92,1% des explants appartenant respectivement aux cultivars Boufegous, Mejhoul et Bouzekri sont contaminés. Le suivi des explants, durant les phases d'initiation et de multiplication, a démontré l'efficacité de cette technique. Plus de 95% des cultures issues des explants révélés contaminés par la détection précoce, ont été aussi trouvés contaminés lors des phases d'initiation et de multiplication. En plus, le suivi des explants, sélectionnés non contaminés par la détection précoce, en culture *in vitro* sur une période d'environ 20 mois, a démontré que plus de 99% des cultures issues de ces explants n'ont pas montré de contamination.*

*Une caractérisation primaire de 123 souches bactériennes obtenues à partir des explants contaminés a révélé que 94,3% de ces souches sont classées dans deux grands groupes. Les bâtonnets Gram positif avec une fréquence d'isolement de 54,5% et les bâtonnets Gram négatif avec 39,8%. Les bactéries du premier groupe possèdent les caractéristiques du genre *Bacillus*. Par contre les bactéries du second groupe appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*.*

Mots-clés : Palmier dattier, culture *in vitro*, contamination bactérienne, détection précoce, explant, lutte.

1- Cette étude a été réalisée dans le cadre d'une convention établie entre la Direction des Domaines Agricole et l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II.

تفادي التلوث البكتيري لأنسجة النخيل في الزراعة النسيجية باستخدام تقنية الفحص المبكر

الفاطمي أ. وأعوين م.

ملخص

تم إحداث طريقة جديدة ذات فعالية كبيرة لفرز أنسجة النخيل الملوثة بالبكتيريا خلال المراحل الأولى من زراعة الأنسجة وتسمى هذه الطريقة بطريقة الفحص المبكر.

يعتمد الفحص المبكر على وضع الأجزاء العلوية والأجزاء السفلية المعقمة والجاهزة للزراعة من نباتات النخيل في أنابيب اختبار تحتوي على بيئة غذائية ملائمة لنمو البكتيريا، وتحضر هذه البيئة بإضافة العناصر التالية إلى لتر من الماء المقطر والمعقم، 2 غ K_2HPO_4 ، 0,5 غ KH_2PO_4 ، 0,25 غ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 2,5 غ *extrait de levure*، 5 غ Bactopeptone و2,5 غ من Glucose.

بعد وضع أجزاء نباتات النخيل (علوية أو سفلية) في أنابيب الإختبار (جزء في كل أنبوب) تحضن على درجة حرارة مناسبة لمدة 3 إلى 10 أيام.

بالطريقة السابقة تم اختبار 116 نسيج معقم من أصناف بوفكوس و المجهول وبوزكري وذلك قبل نقلها إلى بيئة الزراعة النسيجية الأولية، حيث تبين أن 42,6، 58,3، 92,1% من أنسجة الأصناف بوفكوس و المجهول وبوزكري على التوالي ملوثة بالبكتيريا.

من خلال المراقبة الدورية لأنسجة المدروسة خلال مرحلة التكاثر النسيجي أثبتت تقنية الفحص المبكر فعاليتها في فرز الأنسجة الملوثة بالبكتيريا من الأنسجة غير الملوثة. إذ تبين أن أكثر من 95% من الأنسجة التي ثبت أنها مصابة بالفحص المبكر كانت مصابة فعلاً خلال المراحل اللاحقة من الزراعة النسيجية، وأن أكثر من 99% من الأنسجة التي لم يظهر عليها أي تلوث بالفحص المبكر كانت غير مصابة وبقيت كذلك لمدة 20 شهر من الزراعة النسيجية.

وللتعرف على أنواع البكتيريا الملوثة لأنسجة النخيل تم عزل وتنقية 123 سلالة بكتيرية لمعرفة أصناف البكتيريا الملوثة وذلك من 72 نسيج ملوث 22% من بوفكوس، 13,8% من المجهول، 64,2% من بوزكري. وبعد دراسة تشخيصية لهذه السلالات تبين أن 94,3% من السلالات تنتمي إلى مجموعتين أساسيتين، المجموعة الأولى عصوية الشكل وموجبة الغرام وتشكل 54,5% من مجموع السلالات، والمجموعة الثانية عصوية الشكل وسالبة الغرام وبنسبة 39,8%.

نتائج الدراسات اللاحقة بينت أن المجموعة الأولى لها مواصفات الجنس *Bacillus* أما المجموعة الثانية فهي تنتمي إلى الفصيلة *Enterobacteriaceae*.

الكلمات المفتاح : النخيل، زراعة الأنسجة، التلوث البكتيري، الفحص المبكر، مقاومة.

The early detection, a sensitive and reliable method for bacterial contamination detection in date folm tissue culture

Abstract

A simple, sensitive and reliable method for the detection of contaminated explants of date palm at the introduction phase was developed. In this procedure, named "early detection", basal and/or apical portions of sterilized explants were placed in sterile tubes containing a bacterial growth broth medium and incubated at room temperature for three to ten days. This medium, which is a modification of NBY medium, contains per liter: 2g of K_2HPO_4 , 0,5g of KH_2PO_4 , 0,25g of $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 2,5g of Yeast extract, 5g of Bactopeptone, and 2,5g of Glucose.

The application of this method, on 116 sterilized explants before being transferred onto initiation medium showed that 42.6%, 58.3%, and 92.1% of explants belonging respectively to Boufegous, Mejhoul, and Bouzekri cultivars were contaminated. The survey of these explants and subcultures during in vitro initiation and multiplication showed the effectiveness of this method. More than 95% of the cultures and subcultures originating from explants, revealed contaminated by early detection, showed to be contaminated. In addition, a 20 month-survey of the cultures and subcultures originating from explants, selected clean by early detection, showed that more than 99% of these cultures were effectively non contaminated.

*Characterization of the bacterial strains obtained from the contaminated explants revealed that 94.3% of the strains belong to two major groups. Rod shaped Gram positive bacteria and rod shaped Gram negative bacteria representing respectively, 54.5 and 39.8% of the strains. Further characterization showed that the strains within the first group have the characteristics of the genus *Bacillus*, while, those of the second group belong to the family of *Enterobacteriaceae*.*

Key words : Date palm, tissue culture, bacterial contaminations, early detection, explants, control.

Introduction

La culture "*in vitro*" joue un rôle très important dans la multiplication des plantes. Cette technique permet la lutte contre plusieurs maladies des plantes à travers l'assainissement du matériel végétal des agents pathogènes transmissibles par les semences et les boutures. Cependant, la rentabilité de cette technologie reste très affectée par les contaminations microbiennes et en particulier celles d'origines bactériennes (Boxus et Terzi, 1987; Leifert *et al.*, 1989). Ces contaminations sont très souvent responsables de grandes pertes de vitroplants et par conséquent de l'augmentation du coût de production de ces derniers. Elles peuvent être soit externes ou superficielles, soit internes ou endophytes (Gunson et Spencer-Phillips, 1994, Benjama, 1994).

Les contaminations externes sont souvent éliminées par des lavages successifs, une bonne désinfection et une bonne rigueur hygiénique au niveau des différentes phases de la chaîne de production des vitroplants. Par contre, les contaminations internes sont dues aux bactéries endophytes et sont les plus redoutables et les plus dangereuses (Fisse *et al.*, 1987 ; Cassells *et al.*, 1988). Ces contamination sont au départ latentes, apparaissent très souvent après plusieurs cycles de multiplications et engendrent des pertes considérables pouvant atteindre dans certains cas plus de 50% (Boxus et Terzi, 1987).

La lutte contre ces contaminations (internes) est très difficile, d'une part, à cause de l'hétérogénéité de la répartition des contaminations à l'intérieur des explants, et d'autre part, à cause de la phytotoxicité et/ou l'inefficacité et du coût des produits chimiques utilisés tels que les antibiotiques (Young *et al.*, 1984; Cornu et Michel, 1987; Benjamaa *et al.*, 1996).

Pour surmonter les problèmes dus aux contaminations bactériennes d'origine endophytes, seuls les explants confirmés non contaminés doivent être utilisés pour la multiplication (Cassells, 1990 ; Peter *et al.*, 1991).

L'objectif de ce travail est la mise au point d'une technique simple, sensible, fiable et rapide (détection précoce) pour l'identification des explants de palmier dattier contaminés à l'introduction, puis leur écartement de la chaîne de multiplication.

Matériel et méthodes

Pour pouvoir déterminer l'effet de la détection précoce sur la sélection sanitaire des explants de palmier dattier dès l'introduction, le présent travail a été suivi durant toutes les phases de la production des vitroplants (prélèvement des rejets, préparation des cœurs, extraction des explants, introduction, initiation et multiplication *in vitro*).

1. Prélèvement des rejets de palmier dattier

Les rejets de palmier dattier ont été prélevés dans les palmeraies de Zagora et de Ouarzazate, situées au Sud du Maroc, le 04/06/1997 à partir de trois cultivars : Boufegous, Mejhoul et Bouzekri. Au total 13 rejets ont été sélectionnés dont 5 à partir de Boufegous, 4 à partir de Mejhoul et 4 à partir de Bouzekri. Les rejets ont été ramenés au Laboratoire de Biotechnologie Végétale Appliquée, des Domaines Agricoles El Bassatine, Meknès.

2. Préparation des cœurs de palmier dattier

Les rejets de palmier dattier ont été traités comme décrit dans la figure 1. Les cœurs préalablement lavés ont été traités d'abord sous vide dans une solution d'eau de Javel (12°) pure contenant 30 mg/l de bénomyl, puis flambés à l'alcool éthylique à 90% pour éliminer les contaminations externes.

3. Application de la détection précoce

Cette technique consiste à prendre une partie de la section terminale et une partie de la section basale de chaque explant juste avant son transfert sur le milieu d'initiation. La partie terminale a été mise en culture dans un tube contenant le milieu NBY modifié (MNBY) [contenant par litre : 2g K_2HPO_4 ; 0,5g KH_2PO_4 ; 0,25g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; ; 2,5g Extrait de levure; 5g Bactopectone; 2,5g Glucose] stérile en tube. La partie basale a été placée dans un autre tube contenant le même milieu et agitée pendant 60 heures, puis transférée sur le milieu d'initiation. Tous les explants ont été codés afin de suivre l'apparition et l'évolution des contaminations. Les explants ainsi que leurs descendants ont été suivis et ceux contaminés ont été notés afin de déterminer le taux de fiabilité de la détection précoce. Les tubes contaminés ont été ramenés au Laboratoire de Phytobactériologie (Complexe Horticole d'Agadir) pour une éventuelle caractérisation des souches bactériennes.

4. Evolution de l'état sanitaire des cultures issues des explants, sélectionnés contaminés et non contaminés par la détection précoce, en culture *in vitro*

Pour évaluer l'efficacité de la détection précoce, les explants ainsi que leurs descendants ont été suivis pendant la phase d'initiation et pendant plusieurs cycles de multiplication (du 06-06-1997 au 12-01-1999). Les générations ont été codées en fonction de leur origine primaire afin de suivre l'évolution et la traçabilité des contaminations. Ceci permettra de déterminer le taux de fiabilité de la détection précoce.

5. Caractérisation des souches bactériennes obtenues

A partir des explants révélés contaminés par la détection précoce à l'introduction, des isolements ont été réalisés sur le milieu MNBV décrit précédemment. Les bactéries obtenues ont été purifiées. Puis une première caractérisation sur la base de la coloration Gram et la forme cellulaire a été réalisée. Ensuite pour plus d'information, des tests tels que la fermentation du lactose et du glucose, la production de H₂S, la production de gaz, l'oxydation du glucose, la croissance anaérobie et la présence de spores ont été réalisées pour toutes les souches obtenues. La coloration Gram et les tests utilisés ont été réalisés conformément aux méthodes décrites par Schaad *et al*, 2001.

Résultats et discussion

1. Importance des contaminations bactériennes des explants à l'introduction

Le nombre des explants révélés contaminés par la méthode de « détection précoce » varie en fonction de l'origine de la partie analysée. Les résultats de l'analyse des parties terminales et des parties basales ont révélé que 62,1% des explants, toutes origines confondues, sont contaminés. Le pourcentage des explants contaminés était de 55,7 et 39,6%, respectivement pour les parties terminales et les parties basales, prises séparément. Par contre, 33,0% des explants se sont révélés contaminés simultanément dans les deux parties. Cette différence pourrait être expliquée par l'hétérogénéité de la distribution bactérienne dans les tissus végétaux. Ceci a été démontré par plusieurs auteurs (Fisse *et al*, 1987 ; Leifert *et al*, 1989).

La répartition des explants contaminés en fonction des rejets et des cultivars de palmier dattier est présentée dans le tableau 1. D'après ces données, tous les rejets ont présenté des contaminations bactériennes, mais l'importance de ces contaminations varie d'un rejet à un autre et d'un cultivar à un autre. Le pourcentage des explants, révélés contaminés par la détection précoce, varie de 30,8 à 50% avec une moyenne de 42,6%, de 33,3 à 80% avec une moyenne de 58,3% et de 75 à 100% avec une moyenne de 92,1%, respectivement pour les cultivars Boufegous, Mejhoul et Bouzekri. La détection précoce a permis de sélectionner 31 explants non contaminés parmi 54 dans le cas de Boufegous, 10 explants parmi 24 dans le cas du Mejhoul et 3 explants uniquement parmi 38 dans le cas de Bouzekri.

2. Evolution de l'état sanitaire des cultures issues des explants, révélés contaminés par la détection précoce, en culture *in vitro*

L'apparition des contaminations dans les explants en culture *in vitro* prend beaucoup de temps. En effet, 12 explants ont été révélés contaminés 1 mois après l'initiation; 3 autres après 2 mois et 7 explants après 3 mois. Parmi ces derniers, 21 ont été détectés par la détection précoce, soit une corrélation de 95,4%. Dans le cas de la détection précoce, les explants contaminés ont été détectés quelques jours à une semaine après la mise en culture, ce qui qualifie cette technique comme étant une technique précoce et fiable.

3. Evolution de l'état sanitaire des cultures issues des explants sélectionnés non contaminés par la détection précoce en culture *in vitro*

Pour pouvoir évaluer l'efficacité de la détection précoce, l'état sanitaire des cultures issues des explants, sélectionnés non contaminés par la détection précoce, a été suivi durant plusieurs repiquages durant les phases d'initiation et de multiplication *in vitro*. L'importance de ces contaminations a été déterminée dans le temps au laboratoire.

A partir des explants sélectionnés, révélés non contaminés par la détection précoce, à l'introduction (06-06-1997), le nombre des cultures repiquées a atteint 22.550 pour Boufegous, 271 pour Mejhoul et 1.588 pour Bouzekri. Ces nombres ont été obtenus après 13 repiquages et sur une période d'environ 20 mois de suivi (du 06-06-1997 au 12-01-1999). Durant cette période, le nombre des cultures contaminées a été déterminé. Ces résultats sont présentés dans le tableau 2.

D'après ces données, la réduction des contaminations bactériennes était très significative. Le nombre des cultures contaminées par les bactéries a atteint 34, 9 et 11 cultures respectivement pour Boufegous, Mejhoul et Bouzekri. Ceci donne des pourcentages respectifs de 0,15, 3,32, et 0,69%.

Durant cette étude, le pourcentage de contamination moyen, tous cultivars confondus, était de 0,22%, soit un pourcentage de confiance de 99,78%. Ceci démontre bien le rôle et l'efficacité de la technique de détection précoce pour l'élimination des explants contaminés dès l'introduction.

En effet, l'application de la détection précoce dans la chaîne de multiplication *in vitro* de palmier dattier s'impose pour faire face aux contaminations bactériennes et particulièrement celles d'origine endophyte.

4. Isolement et purification des souches bactériennes

Cent vingt trois souches bactériennes ont été purifiées à partir des 72 explants révélés contaminés à l'introduction. En fonction de leur origine, 22,0 % des souches sont originaires du cultivar Boufegous, 13,8 % du cultivar Mejhoul et 64,2 % du Cultivar Bouzekri (Tableau 3).

Les bactéries Gram positif sont les plus représentées. Leur fréquence d'isolement était de 59,4%. Par contre, celle des bactéries Gram négatif était de 40,65%.

5. Caractérisation des souches bactériennes

Une caractérisation primaire sur la base de la réaction à la coloration Gram et la forme cellulaire a permis de classer les bactéries obtenues en quatre groupes, les bâtonnets Gram positif, les bâtonnets Gram négatif, les Cocci Gram positif et les Cocci Gram négatif. Leurs fréquences d'isolement étaient respectivement de 54,5, 39,8, 4,9, et 0,8. Les bactéries bâtonnets Gram positif et bâtonnets Gram négatif représentent à elles seules 94,3% des souches (Tableau 4). Une étude des bactéries à l'intérieur des deux premiers groupes a révélé que les bactéries bâtonnets Gram positif possèdent les caractéristiques du genre *Bacillus*. Par contre les bactéries du deuxième groupe appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*.

6. Conclusion et recommandations

Les contaminations bactériennes et essentiellement celles d'origine endophytes constituent un handicap majeur à la culture *in vitro* du palmier dattier. Les résultats obtenus démontrent clairement l'intérêt de la détection précoce dans la révélation et l'élimination des explants contaminés dès l'introduction. Ceci se traduira certainement par une amélioration très significative de la rentabilité de l'unité de production des vitroplants. En effet, cette technique doit être intégrée dans la chaîne de production des vitroplants afin d'éviter ou de limiter au maximum l'apparition massive des contaminations bactériennes, des mesures simples et pratiques sont à préconiser :

1. Au moment de l'introduction :

- ◆ Prélever les parties terminales et basales à partir de chaque explant stérilisé juste avant son transfert sur le milieu d'initiation ;
- ◆ Placer les parties prélevées dans des tubes à essai stérile contenant un milieu liquide de culture très favorable au développement bactérien (MNBY, milieu décrit dans ce travail) ;
- ◆ Incuber à la température ambiante pendant une semaine, puis repérer les tubes contaminés ;
- ◆ Ecarter les tubes contenant les explants correspondants (portant même référence) de la chaîne de multiplication *in vitro*.

2. Au moment des repiquages :

- ◆ Au moment des repiquages des cultures, réaliser des stries sur un milieu de culture solide (MNBY) avec chaque explant juste avant son transfert sur le nouveau milieu de culture ;
- ◆ Incuber les boîtes à la température ambiante ;
- ◆ Eliminer les tubes contenant les explants pour lesquelles les boîtes ont montré des contaminations.

Références bibliographiques

- Benjamaa, A. ; Cherkaoui, B. et R. Samson, R., (1996). Effet de certains antibiotiques et antiseptiques sur le *Bacillus* contaminant les cultures *in vitro* de tissus de palmier dattier. *Al Awamia*, 93 : 53-61.
- Benjama, A., (1994). Isolation of non pathogenic bacterial contaminations of micropropagated date palm of and banana in Morocco. *Al Awamia*, 85: 89-96.
- Boxus, P., and Terzi, J.M. 1987. Big losses due to bacterial contaminations can be avoided in mass propagation scheme. *Acta Horticulturae*, 212: 91-93.
- Cassels A. C., (1990). Screening for pathogens and contaminating organisms in micropropagation. In : Duncun, J.M. et Terrance, C. (edt.) *Techniques for rapid detection and diagnosis in plant pathology*.
- Cassels, A.C., Harmey, M.A., Carney, B.F., Mc Carty, E., Mc Hugh, A., (1988). Problems posed by cultivable bacterial endophytes in the establishment of axenic cultures of *Pelargonium domesticum*: the use of *Xanthomonas pelargonium* specific ELISA, DNA probes and culture indexing in the screening of antibiotic treated donor plants. *Acta Horticulturae*, 225: 153-162.
- Cornu D., Michel M.F., (1987). Bacterial contaminants in shoot cultures of *Prunus avium* L. Choice and phytotoxicity of antibiotics. *Acta Horticulturae*, 212: 83-86.
- Fisse, C., Battle, A. and Pera, J. 1987. Endogenous bacteria elimination in ornamental explants. *Acta Horticulturae*, 212: 87-90.
- Gunson H. E. and Spencer-Phillips P.T.N., (1994). Latent infections: epiphytes and endophytes as contaminants of micropropagation plants. *Physiology, growth and development of plants in culture*. 379-396.
- Leifert, C., Waites, W. M. and Nicholas, J.R., (1989). Bacterial contaminants of micropropagated plant cultures. *Journal of applied bacteriology*, 67: 353-361.
- Peter, R. V.; Brooks, E. M.; Driver, J. A., (1991). A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture. *in vitro Cell. Dev. Biol.* 27P :42
- Schaad N. W., J. B. Jones, and W. Chun. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, 3rd Edition. APS Press.
- Young, P. M., Hutchins, A.S., Canfield, M. L., (1984). Use of antibiotics to control bacteria in shoot cultures of woody plants. *Plant Sci. Lett.*, 34 : 203-209.

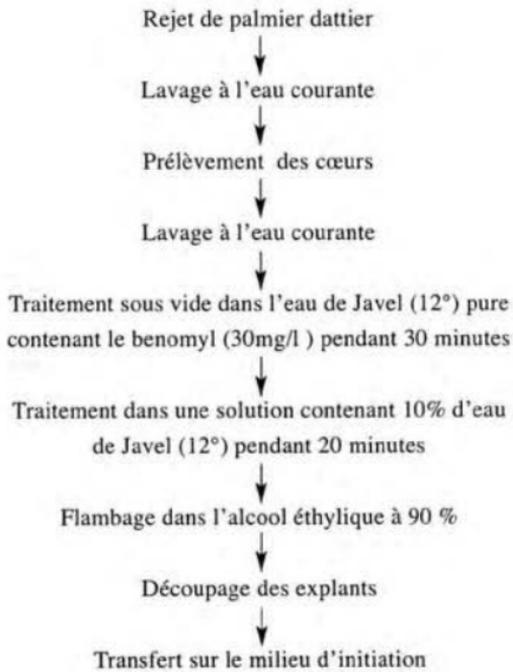


Figure 1 : Schéma de désinfection et d'obtention des explants de palmier dattier à l'introduction

Tableau 1. Importance et répartition des contaminations bactériennes, révélées par la détection précoce, en fonction des rejets et des cultivars de palmier dattier.

Cultivars	Rejets	Nombre des explants	Importance des contaminations bactériennes	
			Nombre	%
Boufegous	R1	11	5	45,4
	R2	09	4	44,4
	R3	10	5	50,0
	R4	13	4	30,8
	R5	11	5	45,4
	5	54	23	42,6
Mejhoul	R1	5	4	80,0
	R2	6	2	33,3
	R3	7	5	71,4
	R4	6	3	50,0
	4	24	14	58,3
Bouzekri	R1	12	9	75
	R2	4	4	100
	R3	13	13	100
	R4	9	9	100
	4	38	35	92,1

Date de mise en culture : 06-06-1997

Période de suivi des contaminations : du 09-06-1997 au 19 -06-1997

Tableau 2. Suivi de l'état sanitaire des cultures de palmier dattier issues des explants, révélés non contaminés par la détection précoce, au cours de leur multiplication

Date de repiquage	Nombre des cultures repiquées et des contaminations bactériennes en fonction du temps et par cultivar de palmier dattier					
	Boufegous		Mejhoul		Bouzekri	
	CR ^a	CB ^b	CR	CB	CR	CB
R1 : 01-09-97	79	0	34	0	6	0
R2 : 30-09-97	88	2	29	0	-	-
R3 : 04-11-97	81	0	34	3	-	-
R4 : 05-12-97	129	4	26	0	21	0
R5 : 09-01-98	107	0	33	6	15	11
R6 : 09-02-98	154	0	53	0	14	0
R7 : 19-03-98	437	0	47	0	18	0
R8 : 16-04-98	725	0	15	0	15	0
R9 : 20-05-98	1.515	0	-	-	35	0
R10 : 20-07-98	2.634	12	-	-	94	0
R11 : 15-09-98	5.055	4	-	-	178	0
R12 : 17-10-98	-	-	-	-	396	0
: 16-11-98	7.033	12	-	-	-	-
R13 : 20-11-98	4.513	0	-	-	-	-
: 12-01-99	-	-	-	-	796	0
Totaux	22.550	34	271	9	1.588	11

a : Nombre des cultures repiquées (CR) ;

b : Nombre des contaminations bactériennes (CB).

Tableau 3. Importance et répartition des souches bactériennes obtenues à partir des explants contaminés en fonction des cultivars de palmier dattier.

Cultivar de palmier dattier	Nombre d'explants contaminés	Nombre des souches bactériennes obtenues		Groupes des bactéries	
		Nombre	%	Gram(+)	Gram (-)
Boufegous	23	27	22,0	24	3
Mejhoul	14	17	13,8	6	11
Bouzekri	35	79	64,2	43	36
Total	72	123	100	73	50

Tableau 4. Répartition des souches bactériennes obtenues à partir des explants de palmier dattier à l'introduction en quatre principaux groupes

Groupes des bactéries	Nombre de souches par cultivar			Total	%
	Boufegous	Mejhoul	Bouzekri		
Bâtonnet Gram positif	22	6	39	67	54,5
Bâtonnet Gram négatif	3	10	36	49	39,8
Cocci Gram positif	2	0	4	6	4,9
Cocci Gram négatif	0	1	0	1	0,8