

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA 1**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**

Projet de fin d'études  
En vue de l'obtention du diplôme de Master 2

**Spécialité** : Biologie des Interactions Plantes-Microorganismes

**THEME**

**Effet de la bactérisation par *Pseudomonas* fluorescents  
lyophilisées sur la stimulation de la croissance de la tomate.**

**Présenté par**

M<sup>r</sup> IZRI Hamza

Devant le jury composé de :

M <sup>r</sup> BENCHABANE. M	Professeur	USDB1	président de jury
M <sup>me</sup> BENOUSAID. N	M.A.A	USDB1	Promotrice
M <sup>me</sup> TOUA. D	M.A.A	USDB1	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2016/2017.

## REMERCIEMENTS

Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la santé pour réaliser ce travail.

Suite à l'achèvement de ce modeste travail, je tiens tout particulièrement à remercier ma promotrice **Mme Benousaid N**, enseignante à l'université de Blida 1, qui m'a servi de modèle et qui a toujours honoré ses engagements, par son savoir, sa droiture et son sérieux, elle a su me communiquer une méthodologie et une rigueur de travail.

Je tiens à exprimer mon entière gratitude et mon profond respect à notre honorable chef d'option **Mr Benchabane M**, président du jury et professeur à l'université de Blida1, d'avoir accepté la direction de ce travail. Ses grandes qualités scientifiques et ses compétences ont contribué largement dans l'élaboration de ce manuscrit. Aussi que je tiens à le remercier pour sa patience et son dévouement pour accomplir mes objectifs qui m'ont été salutaires et j'espère qu'un jour je serai un professeur à son image.

Je remercie très sincèrement mon enseignante **Mme Benchabane D**, d'avoir bien voulu faire l'honneur d'examiner mon travail.

Je tiens également à rendre hommage à toute notre équipe de recherche, particulièrement à **Mme Fadil Djamil**a ingénieur du laboratoire de Mycologie, qui m'a énormément aidé par ses précieux conseils, pour ces encouragements et sa disponibilité durant toute l'expérimentation.

Je n'oublierai pas de citer ceux qui m'ont aidé à la réalisation de ma partie expérimentale au sein du laboratoire de cultures maraichères, **Pr Snoussi S-A** directeur du laboratoire et **Mme Soraia** ingénieure dans ce dernier et **Dr Zouaoui A** notre chef de département des Biotechnologies.

Enfin j'adresse mes sincères remerciements à tous les enseignants du département de biotechnologie qui ont contribué à notre formation, et plus particulièrement au **Pr Krimi Z** et au **Pr Belkahla A**.

*Merci.*

# Dédicace

**Je dédie ce travail à mes :**

**Chers parents que j'aime tant, sans eux je ne serai  
jamais arrivée là où j'en suis.**

**A mon unique sœur Noor et mes chers frères Noor-el-  
yakine et Moncef et a toute ma famille dont le soutien et  
les encouragements m'ont été salutaires.**

**A mes chers amis : Amine ,Hamza, Redouane, Youcef,  
Atika , Chourouk, Lylia, Laila, Nina**

**A tous les étudiants de ma promotion, en particulier  
Mohamed, Saliha, Rahma et Amine.**

**Ainsi qu'a tous ceux que j'aime.**

**I zri Hamza.**

## Résumé

L'objectif de notre travail a été orienté vers la mise en évidence de l'effet de la lyophilisation et la cryoprotection sur la stabilité et l'efficacité de trois souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (BB9, BB10 et F21) employées dans la stimulation de la croissance des plants de tomates tout en évaluant la biostimulation de la germination et les paramètres de croissance ainsi que le dosage de la chlorophylle.

Les résultats de l'effet de la biostimulation des souches (BB9, BB10 et F21) effectuées sur les plants de tomate sont mieux perceptibles par rapport aux témoins. Les gains obtenus durant l'évaluation de la promotion de la croissance végétale étudiés prouvent que les souches bactériennes fraîches et lyophilisées ont la capacité de stimuler la croissance des plantes mais à des taux différents.

A travers nos résultats sur les paramètres de croissance (poids frais de la partie aérienne, poids sec de la partie aérienne, poids frais de la partie racinaire, poids sec de la partie racinaire et la surface foliaire, des gains remarquables dépassent les 100% sont apparus sur les plants traités par des souches fraîches et lyophilisés avec cryoprotection que sur les plants traités avec des souches lyophilisés sans cryoprotection.

**Mots clés :** *Pseudomonas* spp. fluorescents, stimulation de la croissance, PGPR, lyophilisation, cryoprotecteurs .

## Abstract

The objective of our work was oriented towards the demonstration of the effect of lyophilisation and cryoprotection on the stability and efficacy of three strains of fluorescent *Pseudomonas* spp. (BB9, BB10 and F21) used in the stimulation of the growth of tomato plants while evaluating the biostimulation of germination and growth parameters as well as the chlorophyll assay.

The results of the biostimulation of the strains (BB9, BB10 and F21) carried out on the tomato plants are better perceptible compared to the controls. The gains made during the plant growth promotion evaluation studied demonstrate that fresh and lyophilized bacterial strains have the ability to stimulate plant growth but at different rates.

Through our results on growth parameters (fresh weight of the aerial part, dry weight of the aerial part, fresh weight of the root part, dry weight of the root part and the leaf area, remarkable gains exceeding 100% are appeared on the plants treated with fresh strains and lyophilized with cryoprotection only on the plants treated with freeze-dried strains without cryoprotection.

**Keywords:** *Pseudomonas* spp. fluorescent, growth stimulation, PGPR, lyophilization, cryoprotectors.

## المخلص

الهدف من عملنا كان موجهها من أجل إظهار تأثير عملية lyophilisation و cryoprotection على استقرار وفعالية ثلاث سلالات من *Pseudomonas spp. fluorescents* (BB9، BB10 و F21) على تحفيز نمو نبات الطماطم من خلال تقييم تحفيز الانتاش و مؤشرات النمو وكذلك تحديد كمية الكلوروفيل.

نتائج التحفيز الحيوي للسلالات (BB9، BB10 و F21) التي أجريت على النباتات الطماطم هي أفضل و ينظر إليها بالمقارنة مع الشاهد. أظهرت المكاسب التي تحققت خلال تقييم تعزيز نمو النبات المدروسة أن السلالات البكتيرية الطازجة والمجفدة بالتبريد لديها القدرة على تحفيز نمو النبات ولكن بمعدلات مختلفة.

من خلال نتائجنا على مؤشرات النمو (الوزن الطازج للجزء الجوي والوزن الجاف للجزء الجوي، الوزن الطازج للجزء السفلي، الوزن الجاف للجزء السفلي ومساحة الاوراق)، فإن المكاسب الملحوظة تتجاوز 100%. ظهرت على النباتات المعالجة مع سلالات طازجة و الخاضعة للتجميد و التجفيف لكن بالحماية. ومع ذلك فإن المكاسب الناتجة من تحفيز نمو النباتات المتعاملة مع السلالات المجمدة و المجففة دون حماية هي أقل أهمية من علاجات سلالات طازجة والخاضعة لعملية التجميد و التجفيف مع الحماية.

الكلمات المفتاحية : lyophilisation , *Pseudomonas spp. fluorescents* , تعزيز وتحفيز النمو النبات , cryoprotection.

# TABLE DES MATIERS

REMERCIEMENTS	
DEDICACE	
RESUME	
ABSTRACT	
الملخص	
TABLE DES MATIERS	
LISTE DES ABREVIATIONS	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION.....	01
<b>PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I. Les rhizobactéries phyto-stimulatrices de la croissance des plantes (PGPR).....	03
I.1. La vie dans le sol .....	03
I.2. La rhizosphère.....	03
I.3. Les PGPR «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria».....	04
I.3.1. Généralités sur les PGPR.....	04
I.3.2. Les caractéristiques d'un PGPR.....	05
I.3.3. Classification des PGPR.....	06
I.4. Les <i>Pseudomonas</i> .....	06
I.4.1. Généralités .....	06
I.4.2. Caractéristiques phénotypiques .....	07
I.4.3. Taxonomie.....	08
I.5. Les <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents.....	08
I.5.1. Effets bénéfiques des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents sur les plantes.....	09
I.5.1.1. Actions directes.....	10
a) Stimulation de la croissance.....	10
b) Résistance systémique induite ou ISR (Induced Systemic Resistance).....	10
c) Production d'acide 1- Aminocyclopropane -1- carboxylique désaminase (ACCd).....	11
I.5.1.2. Actions indirects.....	12
a) Antibiose.....	12
b) Compétition trophique.....	12
II. Formulation des <i>Pseudomonas</i> spp fluorescentes.....	13
II.1. La lyophilisation.....	14
II.1.1. Impactes de la lyophilisation.....	16
II.2. La cryoprotection.....	18
III. La Tomate.....	20
III.1. Généralités.....	20
III.2. Historique.....	20
III.3. Nomenclature et classification.....	21
III.3.1. Classification variétale de la tomate.....	21
a) Les variétés à port indéterminé.....	21
b) Les variétés à port déterminé.....	22
III.4. Description botanique du plant de la tomate.....	22
III.5. Importance nutritionnels du fruit de la tomate.....	23
III.6. Importance économique, superficies et production de la tomate.....	24
III.7. Exigences écologiques et climatiques de la plante.....	25
III.8. Cycle biologique de la tomate.....	26
<b>PARTIE II : MATERIEL ET METHODES</b>	
I. Matériel biologique.....	27
I.1. Souches bactériennes.....	27
I.2. Le sol.....	28
I.3. Matériel végétal.....	28
II. Méthodes.....	28
II.1. Purification des souches.....	28
II.2. Production de sidérophores.....	30
II.3. Désinfection et bactérisation des semences.....	30
II.3.1. Désinfection des semences.....	30
II.3.2. Préparation de la suspension bactérienne.....	31

II.3.3. Bactérisation des semences.....	33
II.4. Le sol.....	33
II.5. Lieu et conditions d'expérimentation.....	33
II.6. Evaluation de la promotion de croissance végétale.....	34
II.6.1. Taux de germination et Indice de la vigueur.....	34
II.6.1.1. Taux de germination.....	34
II.6.1.2. Indice de la vigueur.....	35
II.6.2. Suivie de la survie après mise en alvéoles.....	35
II.7. Préparation d'inoculum pour un rappel.....	35
II.7.1. Rappel de bactérisation.....	35
II.8. Dispositif expérimental.....	36
II.9. Paramètre de croissance.....	37
II.9.1. Hauteur des tiges.....	37
II.9.2. Nombre de feuilles.....	37
II.9.3. Surface foliaire.....	38
II.9.4. Diamètre des tiges.....	38
II.9.5. Longueur du système racinaire.....	38
II.9.6. la floraison.....	38
II.9.7. La phytomasse.....	38
II.9.7.1. Poids frais et poids sec de la partie aérienne.....	38
II.9.7.2. Poids frais et poids sec de la partie racinaire.....	39
II.10. Dosage de la chlorophylle.....	39
II.11. Colonisation rhizosphérique.....	39
II.12. Analyse statistique.....	40
<b>PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS</b>	
I. I. Resultats et interpretation .....	41
I.1. La détection des sidérophores.....	41
II. Evaluation de la biostimulation de la germination.....	42
II.1. Cinétique du taux de germination.....	42
II.2. Indice de vigueur.....	44
II.3. Suivie de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles.....	46
III. Evaluation des paramètres de croissance.....	48
III.1. Cinétique de croissance.....	48
III.2. Hauteur des tiges.....	49
III.3. Longueurs des racines.....	50
III.4. Nombre de feuilles.....	51
III.5. Diamètre des tiges.....	52
III.6. Surface foliaire.....	53
III.7. La phytomasse.....	55
III.7.1. Poids frais de la partie aérienne.....	55
III.7.2. Poids sec de la partie aérienne.....	56
III.7.3. Poids frais de la partie racinaire.....	57
III.7.4. Poids sec de la partie racinaire.....	58
III.8. La floraison.....	59
IV. Dosage de la chlorophylle.....	60
V. Colonisation rhizosphérique.....	63
VI. Discussion générale .....	64
<b>CONCLUSION</b> .....	72
<b>ANNEXE</b>	
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ADN**: Acide désoxyribonucléique.

**UV**: Un rayonnement Ultraviolet.

**NO<sub>3</sub>** : Ion Nitrate.

**Spp** : Espèces.

**IAA** : Acide Indole-3-Acétique.

**DAPG** : 2,4-Diacétylphloroglucinol.

**ACCd** : Acide 1- Aminocyclopropane -1- Carboxylique Désaminase.

**HCN** : Acide Cyanhydrique.

**PCA** : Acide Phénazine Carboxylique.

**PRN** : La Pyrrolnitrine.

**PLT** : La Pyoluteorine.

**Da** : Daltons.

**ROS** : Reactive Oxygen Species.

**CPAs** : Cryoprotecteurs.

**µg/g MF** : Microgramme par gramme de matière fraîche.

**CAS** : Chrome Azurol S.

**µmol / g** :Micromole par gramme.

**Sid** : Siderophores.

**Phos** : Phosphatase.

**Phz** : Phenazines.

**Cwe** : Enzymes de dégradations de parois cellulaires.

**Pro** : Protéase.

**Ch** : chitinase.

**Ce** : Cellulase.

**Pe** : Pectinase.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b> : représentation schématique de la rhizosphère.....	<b>04</b>
<b>Figure 02</b> : Les mécanismes d'action des rhizobactéries.....	<b>05</b>
<b>Figure 03</b> : Interactions entre les <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents, les microorganismes pathogènes et les cellules racinaire.....	<b>09</b>
<b>Figure 04</b> : réhydratations et purification des souches lyophilisées de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.....	<b>29</b>
<b>Figure 05</b> : purification des souches fraîche de <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents.....	<b>29</b>
<b>Figure 06</b> : purification successif des souches de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.....	<b>30</b>
<b>Figure 07</b> : désinfection des semences.....	<b>31</b>
<b>Figure 08</b> : préparation d'inoculum.....	<b>32</b>
<b>Figure 09</b> : bactérisation et mise en pré-germination des semences traitée.....	<b>33</b>
<b>Figure 10</b> : transplantations des plantules dans des alvéoles.....	<b>34</b>
<b>Figure 11</b> : Mensuration de la longueur des plantules.....	<b>35</b>
<b>Figure 12</b> : inoculation de la suspension bactérienne.....	<b>36</b>
<b>Figure 13</b> : Dispositif expérimental de l'essai de la promotion de la croissance végétale.....	<b>37</b>
<b>Figure 14</b> : colonisation rhizosphérique.....	<b>40</b>
<b>Figure 15</b> : Test CAS pour la détection des sidérophores.....	<b>41</b>
<b>Figure 16</b> : Evolution du taux de germination (%) des graines de la variété Saint Pierre.....	<b>42</b>
<b>Figure 17</b> : Evolution du taux de germination (%) des graines de la variété Marmande.....	<b>43</b>
<b>Figure 18</b> : Effet des traitements bactériens de la souche F21 sur la stimulation de la germination des graines de tomate de la variété Marmande.....	<b>44</b>
<b>Figure 19</b> : Valeur d'indice de vigueur des différents traitements.....	<b>45</b>
<b>Figure 20</b> : le suivie de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Saint pierre.....	<b>46</b>
<b>Figure 21</b> : Le suivie de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Marmande.....	<b>47</b>
<b>Figure 22</b> : Evolution de la hauteur des tiges des différents traitements en fonction des jours.....	<b>48</b>
<b>Figure 23</b> : hauteur des tiges des différents traitements lors des trois périodes.....	<b>49</b>
<b>Figure 24</b> : longueur du système racinaire des différents traitements lors des trois périodes.....	<b>50</b>
<b>Figure 25</b> : nombre de feuille par périodes appartenant aux différents traitements.....	<b>51</b>
<b>Figure 26</b> : diamètre des tiges des différents traitements lors des deux périodes.....	<b>52</b>
<b>Figure 27</b> : surface foliaire des différents traitements lors des deux périodes.....	<b>53</b>
<b>Figure 28</b> : effet des traitements bactériens de la souche BB10 sur la stimulation de la croissance des plants de tomates en première période.....	<b>54</b>
<b>Figure 29</b> : effet des traitements bactériens de la souche BB9 sur la stimulation de la croissance des plants de tomates en troisième période.....	<b>54</b>
<b>Figure 30</b> : poids frais de la partie aérienne en gramme des différents traitements.....	<b>55</b>
<b>Figure 31</b> : poids sec de la partie aérienne en gramme des différents traitements.....	<b>56</b>
<b>Figure 32</b> : poids frais de la partie racinaire en gramme des différents traitements.....	<b>57</b>
<b>Figure 33</b> : poids sec de la partie racinaire en gramme des différents traitements.....	<b>58</b>
<b>Figure 34</b> : évolution de la floraison des différents traitements.....	<b>59</b>
<b>Figure 35</b> : teneurs en pigments chlorophylliens par périodes.....	<b>60</b>
<b>Figure 36</b> : culture bactérienne d'un fragment racinaire.....	<b>63</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01</b> : Description botanique du plant de la tomate.....	<b>23</b>
<b>Tableau 02</b> : valeur nutritionnelle moyenne pour 100g de tomate.....	<b>24</b>
<b>Tableau 03</b> : Evolution des superficies et le rendement de tomates fraiches en Algérie de 2007 au 2014.....	<b>25</b>
<b>Tableau 04</b> : caractéristiques des souches promotrices de la croissance utilisées.....	<b>27</b>

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) est devenue un des légumes les plus importants du monde. Sa production enregistrée durant l'année 2014 a atteint 170 750 767 tonnes dans le monde entier et 1 065 609 tonnes en Algérie (FAOSTAT, 2017). La tomate est appréciée pour sa fraîcheur qu'elle soit crue ou cuite. Du fait de son niveau de consommation relativement élevé (Blancard et *al.*, 2009), la consommation des fruits de la tomate contribue à un régime sain et équilibré (Naika et *al.*, 2005).

La croissance et le rendement d'une plante sont déterminés par la disponibilité de certains nutriments minéraux spécifiques qui sont absolument essentiels pour l'achèvement de leur cycle de vie (Marshner, 1995). C'est pourquoi, l'application de ces nutriments essentiels en particulier l'azote, le phosphore et le potassium aux plantes sous forme d'engrais chimiques font une partie intégrante de l'agriculture intensive. Toutefois, ces modifications des sols ne sont pas seulement coûteuses, mais aussi considérés comme une source potentielle de pollution environnementale. En outre, il n'est peut-être pas possible d'étendre davantage le fardeau de l'utilisation d'engrais chimiques (Lucy et *al.*, 2004). Par contre, l'utilisation des méthodes technologiques microbiennes dans l'agriculture se développe actuellement assez rapidement avec l'identification de nouvelles souches bactériennes, qui sont plus efficaces pour promouvoir la croissance des plantes telle que les *Pseudomonas* spp. fluorescents. Cependant, l'utilisation de ces rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) offre un moyen attrayant de remplacer les engrais chimiques et les pesticides. (Kloepper et *al.*, 1980 ; Chen et *al.*, 1994; Bin et *al.*, 2000 ; Silva et *al.*, 2006 ; Shakilabanu et *al.*, 2012).

Au cours des dernières décennies les études sur la plupart de ces PGPR ont été signalées à plusieurs reprises, entraînent des augmentations significatives de la croissance et du rendement des cultures agronomiquement importantes en réponse à leur inoculation aux plantes (Kloepper et *al.*, 1980 ; Chen et *al.*, 1994; Bin et *al.*, 2000 ; Silva et *al.*, 2006 ; Shakilabanu et *al.*, 2012). Toutefois une formulation de bonne qualité devrait favoriser la survie des bactéries en préservant toute leur efficacité (Smith, 1992 ; Bashan et Gonzalez, 1999). A ce jour, des biofertilisants bactériens sont produits dans des formulations sèches, telles que les poudres

mouillables et les granules, ainsi que dans des concentrés liquides pour répondre à des besoins spécifiques du marché (Jackson, 2017).

Actuellement, Il existe plusieurs techniques de séchage des microorganismes appliquées à l'échelle industrielle à savoir l'atomisation (Coulibaly et *al.*, 2011), la fluidisation (Li et *al.*, 2004) et la lyophilisation (Coulibaly et *al.*, 2009). Dernièrement l'emploi d'une technique simple et économique de conservation des êtres microscopiques est nécessaire, la lyophilisation (la dessiccation après congélation) est employée à l'heure actuelle à peu près universellement (Hauduroy et Piguet, 1960) pour la production de cultures bactériennes concentrées avec pour avantage le stockage à température ambiante et la transport facile du matériau séché (Coulibaly et *al.*, 2009).

Cependant, cette technique de séchage entraîne des effets secondaires indésirables tels que des modifications de l'état physique des lipides membranaires, l'altération des protéines (Garait et *al.*, 2005 ; Nanasombat et Sriwong, 2007) et une oxydation de l'ADN (Mputu Kanyinda et *al.*, 2014) entraînant la perte de viabilité cellulaire pendant le processus ainsi que pendant le stockage ultérieur (Nanasombat et Sriwong, 2007). Par conséquent l'ajout d'un bon cryoprotecteur avant le processus de lyophilisation, doit fournir une protection biochimique aux cellules contre les dommages durant la congélation et le séchage (Berny and Hennebert, 1991) en préservant toute leur viabilité et efficacité (Dietrich et *al.*, 2016).

Dans ce sens, notre travail a été orienté vers la mise en évidence de l'effet de la lyophilisation et la cryoprotection sur la stabilité et l'efficacité de trois souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (BB9, BB10 et F21) employées dans la stimulation de la croissance des plants de tomates tout en évaluant la biostimulation de la germination et les paramètres de croissance ainsi que le dosage de la chlorophylle.

# **PARTIE I**

## **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. Les rhizobactéries phytostimulatrices de la croissance des plantes (PGPR).

### I.1. La vie dans le sol

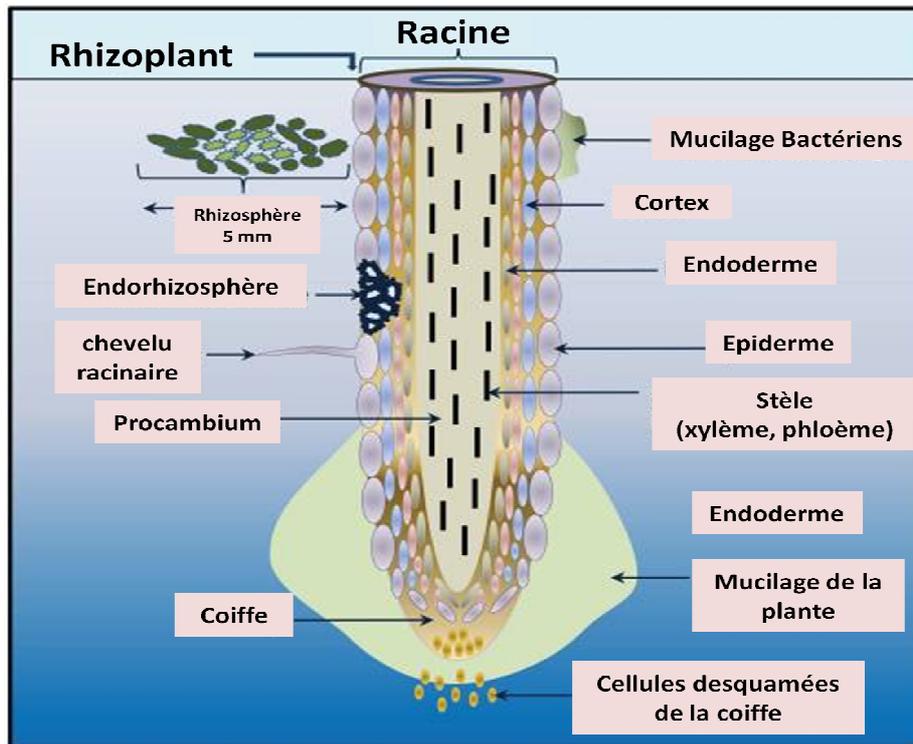
Les sols figurent parmi les habitats les plus diversifiés et renferment certains des assemblages les plus variés d'organismes vivants (FAO, 2007), comprenant la flore, la faune et les micro-organismes, remplissant des fonctions qui contribuent au développement, à la structure et à la productivité du sol (McCauley et *al.*, 2005).

L'un des points les plus fascinants de l'activité et de la diversité dans les sols est la rhizosphère, qui est une «zone bio-influencée» (Jones et Hinsinger, 2008). C'est-à-dire le volume de sol autour des racines qui est influencé par l'activité des racines végétales vivantes (Hiltner, 1904 ; Darrah, 1993 ; Hinsinger, 1998).

### I.2. La rhizosphère

Le terme rhizosphère (éthymologiquement rhiza : racine, sphair : ce qui entoure) a été proposé la première fois en 1904 par un chercheur allemand (Hiltner) (Hartmann et *al.*, 2008) pour décrire la zone de sol qui entoure la racine et qui est directement ou indirectement influencée par la racine (Lemanceau et Heulin, 1998). Les modifications apportées aux propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol de la rhizosphère ont une influence significative sur la croissance ultérieure et la santé des plantes (Richardson et *al.*, 2009).

Au sein de la rhizosphère, on distingue le rhizoplast, qui est l'épiderme de la racine et le cortex extérieur auquel adhèrent les particules de sol (Sylvia et *al.*, 2005 ; Singer et Munns 2006 ; Jossi, 2008) (**Figure 01**). Cette dernière modifie les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du sol rhizosphérique. Ces modifications déterminent «l'effet rhizosphérique». Cet effet résulte des prélèvements racinaires d'eau et d'éléments minéraux mais surtout de la libération de composés organiques. Le volume de sol soumis à l'effet rhizosphérique est déterminé par la zone de diffusion des molécules organiques solubles et des composés volatils libérés par la racine (Lemanceau et Heulin, 1998).



**Figure 01** : représentation schématique de la rhizosphère (Maier et *al.*, 2000).

La plante va donc libérer au sein de la rhizosphère divers éléments carbonés relativement riche en éléments nutritifs, en raison de la perte de jusqu'à 40% des photosynthétats à partir des racines (Lynch et Whipps, 1990), regroupés sous le terme de rhizodépôts. Ces derniers sont composés des exsudats racinaires (ou photosynthétats : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones, vitamines), de sécrétions de mucilage (sucres polymérisés, enzymes) et de cellules sénescents (cellules de la coiffe racinaire, cellules corticales et épidermiques) (Lynch et Whipps, 1990 ; Nguyen, 2003) (**Figure 01**).

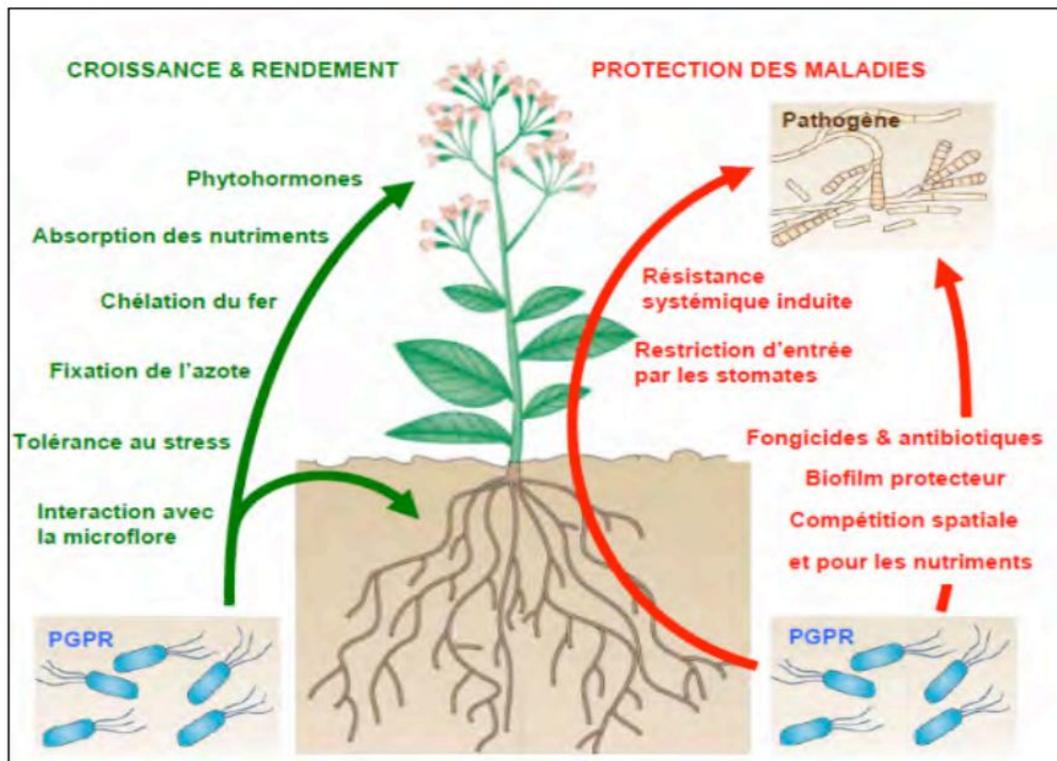
Par conséquent, la rhizosphère soutient des populations microbiennes importantes et actives capables d'exercer des effets neutres, nuisibles ou bénéfiques sur la croissance des plantes (Parvatha, 2014) tel que les PGPR «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria» (Andreoni et Zaccheo, 2010).

### I.3. Les PGPR «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria».

#### I.3.1. Généralités sur les PGPR

Le terme «PGPR» a d'abord été utilisé par Joseph Kloepper à la fin des années 1970 et est devenu couramment utilisé dans la littérature scientifique (Vessy

Kevin, 2003). Les PGPR «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria » (Kloepper et Schroth, 1978) sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, et qui ont un effet positif sur la plante. Pour ces effets, on les considère comme rhizobactéries promotrice de la croissance végétale (Dey et *al.*, 2004 ; Herman et *al.*, 2008 ; Microrsky, 2008). Ces bactéries présentent une très grande diversité dans leur mode de vie et leur association avec les végétaux. Elles peuvent induire la croissance des plantes par la promotion directe ou indirecte (Verma et *al.*, 2010) (**Figure 02**).



**Figure 02** : Les mécanismes d'action des rhizobactéries (Ramos et al., 2009).

### I.3.2. Les caractéristiques d'un PGPR

Les bactéries bénéfiques du sol, appelées bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) ont une haute compétence rhizosphérique, haute capacité saprophytique concurrentielle et améliorent la nutrition et la croissance de l'hôte. Elles visent à augmenter les niveaux de productivité des cultures, protègent les plantes de diverses formes de stress abiotique (tolérant à la dessiccation, à la chaleur, aux agents oxydants et aux rayonnements UV) et des maladies transmises par le sol (excellent et fiable lutte antiparasitaire). Elles possèdent un large spectre d'action, ne considèrent aucun danger pour l'environnement et peuvent être compatibles

avec d'autres rhizobactéries (Bowen et Rovira, 1999 ; Blom et *al.*, 2011 ; Schwachtje et *al.*, 2011).

### I.3.3. Classification des PGPR

Cependant, en fonction de leur degré d'association avec les cellules des racines végétales, les PGPR peuvent être classés en cellules extracellulaires des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (ePGPR) et des rhizobactéries intracellulaires favorisant la croissance des plantes (iPGPR). L'ePGPR peut exister dans la rhizosphère, sur le rhizoplan ou dans les espaces entre les cellules du cortex racinaire, tandis que l'iPGPR se trouve généralement dans les structures nodulaires spécialisées des cellules des racines (Parvatha, 2014).

L'iPGPR comprend les endophytes et les espèces de *Frankia*, qui peuvent tous deux fixer symbiotiquement le N<sub>2</sub> atmosphérique avec les plantes supérieures. Les endophytes comprennent un large éventail de genres de bactéries du sol tels que *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* et *Rhizobium* de la famille des *Rhizobiaceae* qui envahissent généralement les racines des plantes cultivées pour former des nodules et stimulent la croissance soit directement soit indirectement (Parvatha, 2014).

Concernant les ePGPR on retrouve les microorganismes non symbiotique appartenant aux genres bactériens tels que *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Serratia* et *Pseudomonas* (Gray et Smith, 2005). Ce dernier représente l'un des genres les plus étudiés et abondants du microbiome racinaire (Mendes et *al.*, 2011; Brown et *al.*, 2012 ; Bulgarelli et *al.*, 2012 ; Lundberg et *al.*, 2012 ; Sessitsch et *al.*, 2012).

## I.4. Les *Pseudomonas*

### I.4.1. Généralités

En 1894, le botaniste allemand Walter Migula proposa le genre *Pseudomonas* (Okubara et *al.*, 2010). Ce terme signifie « fausse unité » et provient du grec pseudo « faux » et monas « unité » (Mandell et *al.*, 2010) . Migula n'a jamais clarifié l'étymologie du terme et inclut dans le genre *Pseudomonas* des bactéries possédant

une ciliature monotriche ou multitriche dont l'espèce "*P. pyocyaneae*" (aujourd'hui *P. aeruginosa*) et la formation de spores qui se produit dans certaines espèces, mais elle est rare. (Tourkya, 2009 ; Mandell et al., 2010 ; Palleroni, 2010).

Certaines *Pseudomonas* sont pathogènes importants pour les plantes (Hofte et De Vos, 2006 ; Hofte et Altier, 2010), les animaux et même à l'être humain (Lyczak et al., 2000). D'autres présentent un fort potentiel en tant qu'agents de biocontrôle (Preston, 2004 ; Hofte et De Vos, 2006 ; Weller, 2007) ou à des fins de bioprotection des cultures et productions végétales (Mark et al., 2006, McSpadden Gardener, 2007).

#### **I.4.2. Caractéristiques phénotypiques**

Le groupe des *Pseudomonas* renferme des bacilles à Gram négatif, droits ou légèrement incurvés, de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 à 5,0 µm (ou plus) de longueur (Bergey's, 2005) .Ils forment un large groupe colonisant le sol, les plantes et l'eau (Allaire, 2005). Ces bactéries sont des Gram négatif, aérobie stricte (À l'exception de certaines souches capables d'utiliser les nitrates NO<sub>3</sub> comme accepteurs d'électrons) et non sporulantes. Elles sont mésophiles, chimioorganotrophes et possèdent un ou plusieurs flagelles polaires (Bossis et al., 2000).

Ces bactéries présentent un caractère psychrotrophe avec une température minimale de croissance voisine de 4°C et une température optimale de l'ordre de 28°C, tout en étant incapables de se multiplier à des températures supérieures à 35°C (la croissance de certaines souches à des températures voisines de 45 °C a cependant été observée). Dans leur grande majorité, elles sont incapables de pousser à un pH inférieur à 4,5 (Tourkya, 2009).

Quelques espèces de ce genre sont phytopathogènes et certaines peuvent causer des infections chez l'humain (Mavrodi et al. 2001). Plusieurs études ont souligné le haut degré de diversité au sein de *P.fluorescens*, ce qui a mené à la subdivision de cette espèce en différents biovars (Bossis et al. 2000).

### I.4.3. Taxonomie

*Pseudomonas* est l'un des genres bactériens les plus répandus dans le monde et différentes espèces ont été isolées à partir de niches écologiques très divers (Hofte et Altier, 2010). Depuis sa découverte, le genre *Pseudomonas* a subi de nombreux changements taxonomiques (Peix et al., 2009).

D'après Palleroni, (1984) dans Le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology la classification des *Pseudomonas* est la suivante :

Règne : Bacteria  
Division : Proteobacteria  
Classe : Gammaproteobacteria  
Ordre : Pseudomonadales  
Famille : *Pseudomonadaceae*  
Genre : *Pseudomonas*

Jusqu'à présent, 128 espèces ont été validement décrites pour ce genre, y compris les *Pseudomonas* spp fluorescents et non fluorescents (Hofte et Altier, 2010). La plupart des espèces sont saprophytes et sont couramment trouvés dans l'eau et le sol. 23 espèces sont pathogènes pour les plantes, y compris *Pseudomonas syringae* avec 36 pathovars affectant différentes plantes. En outre, 16 espèces sont associées à des maladies chez les humains et les animaux (Mavrodi et al. 2001 ; Peix et al., 2009).

### I.5. Les *Pseudomonas* spp fluorescents

Les *Pseudomonas* fluorescent sont classé en trois différents groupes (Palleroni, 1993 ; Holt et al, 1994 ; Bossis et al. 2000).

1) des espèces phytopathogènes positives au cytochrome c oxydase, telles que *P. cichorii*, *P. marginalis* et *P. tolaasii*.

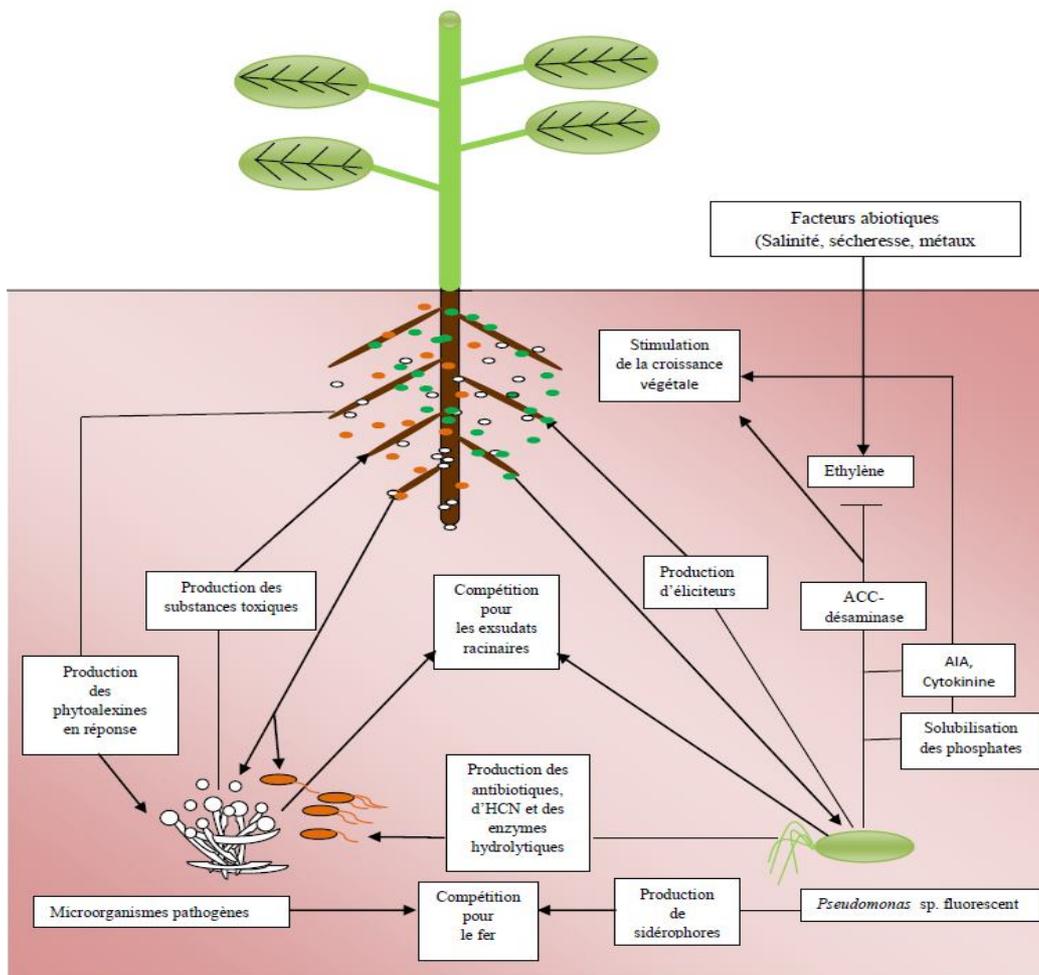
2) Les *Pseudomonas* spp fluorescents nécrogènes phytopathogènes sans cytochrome c oxydase: *P. syringae* et *P. viridiflava*.

3) Les *Pseudomonas* spp fluorescents non phytopathogènes, non-nécrogènes, non symbiotique, telles que *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis* (= *P. aureofaciens*), et *P. aeruginosa* (Palleroni, 1993 ; Holt et al., 1994 ; Bossis et al.,

2000) ont été identifiés comme des bactéries favorisant la croissance des plantes ou également appelées *Pseudomonas* fluorescentes probiotiques des plantes par analogie avec les bactéries probiotiques et les levures dans le tractus gastro-intestinal. (Haas and Keel, 2003 ; Picard et Bosco, 2008) .Ils ont été identifiés également comme agents de lutte biologique efficaces (Janisiewicz et Marchi, 1992 ; Anjaiah et al., 1998).

### I.5.1. Effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents sur les plantes

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents présentent un intérêt scientifique majeur. Ils se caractérisent par une diversité génétique et phénotypique en relation avec leur impact positif sur le fonctionnement de la rhizosphère, en exerçant des actions directes et/ou indirectes sur le développement de la plante (**Figure 03**) (Benchabane et al., 2013).



**Figure 3** : Interactions entre les *Pseudomonas* spp. fluorescents, les microorganismes pathogènes et les cellules racinaires (Rabhi, 2011).

### I.5.1.1. Actions directes

#### a) Stimulation de la croissance

Les *Pseudomonas* spp. sont des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) utilisées comme biofertilisants (Sivasakthi et al., 2014). Ils sont capables de stimuler la croissance des plantes, en augmentant la disponibilité et l'absorption de nutriments minéraux via des enzymes solubilisantes le phosphate et d'augmenter sa disponibilité pour les plantes (Sundara et al., 2002).

La fixation biologique de l'azote relève uniquement du domaine des procaryotes grâce à la nitrogénase, une enzyme catalysant la réduction de l'azote atmosphérique en ammoniac (Weyens et al., 2010) qui a été observé chez les *Pseudomonas* (Tilak et al., 2005) ou en améliorant la croissance et la morphologie par la production de phytohormones telles que l'auxine : L'acide indole-3-acétique (IAA) (Vessey, 2003 ; Abo-Elyousr et El-Hendawy, 2008 ; Sethia et al., 2015), les gibberellines (Ramamoorthy et Samiyappn, 2001) et les cytokinines (Arkhipova et al., 2005 ; Karadeniz et al., 2006 ; Aslantas et al., 2007).

Les *Pseudomonas* fluorescents ont la capacité de réduire le manganèse (Sarniguet, 1990). Cette réduction augmenterait la quantité de manganèse disponible pour la plante et, par ce biais, conduirait à une meilleure tolérance de cette dernière au parasite (Jacques et al., 1993).

Certaines souches de *Pseudomonas* produisent des agents chélateurs appelés sidérophores, ces derniers ont une forte affinité pour l'absorption du fer. Les sidérophores microbiens peuvent améliorer la croissance des plantes en augmentant la solubilité du fer dans la rhizosphère de la plante (Sivasakthi et al., 2014).

#### b) Résistance systémique induite ou ISR (Induced Systemic Resistance)

La reconnaissance par la plante de certaines bactéries de la rhizosphère peut conduire à une réaction d'immunisation lui permettant de mieux se défendre vis-à-vis d'une attaque par un organisme pathogène (van Loon, 2007) lorsqu'ils sont stimulés de manière appropriée (Mercado-Blanco et Bakker, 2007). Ce phénomène est appelé résistance systémique induite (ISR) (Tuzun et Kuc, 1991).

Des espèces fluorescentes de *Pseudomonas* spp. ont été signalées comme induisant une résistance systémique chez les plantes (Alizadeha et al., 2013) par la production de 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG) (Iavicoli et al., 2003). Les résultats suggèrent clairement que l'antibiotique DAPG de *P. fluorescens* CHA0 agissent comme agents inducteurs de la résistance systémique dans les racines de tomate (Siddiqui et Shaukat, 2003) et *Arabidopsis* en supprimant les maladies foliaires grâce au phénomène ISR (Maurhofer et al., 1994 ; Pieterse et van Loon, 1999 ; Park et Kloepper, 2000).

### **c) Production d'acide 1- Aminocyclopropane -1- carboxylique désaminase (ACCd)**

Certaines *Pseudomonas* de la rhizosphère produisent l'enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase (ACCd) (Glick et al., 1994 ; Belimov et al., 2007 ; Kamala-Kannan et al., 2010 ; Ali et al., 2014). Cette enzyme cytoplasmique hydrolyse l'ACC végétal (Honma et Shimomura, 1978). À son tour, l'ACC est le précurseur immédiat de l'hormone végétale de l'éthylène (Glick et al., 1997 ; Cheng et al., 2007), un important médiateur des réponses aux contraintes telles que la salinité (Jalilia et al., 2009) et de la croissance et du développement des plantes (Morgan et Drew, 1997). Ces microorganismes utilisent l'ammoniac libéré de l'ACC comme source d'azote (Elzbieta et Stanisław, 2015). Le substrat de cette enzyme est habituellement exsudé par des racines ou des graines, activement pris par des bactéries, puis clivé par leur désaminase (Penrose et Glick 2001).

En outre, l'absorption microbienne de l'ACC rhizosphérique stimule sa sécrétion par les tissus végétaux et réduit ainsi la biosynthèse de l'éthylène et, par extension, l'effet délétère des niveaux élevés de cette phytohormone sur les plantes, en particulier sur le système racinaire (Penrose et Glick 2001 ; Glick et al., 1998 ; Glick 2005). Pour de nombreuses plantes, un éclat de cette phytohormone est nécessaire pour briser la dormance des graines (Kucera et al., 2005), bien que très efficace sur la croissance et le développement des plantes et aussi sur la maturation des fruits (Jalilia et al., 2009), mais une forte concentration soutenue d'éthylène en particulier dans les dicotylédones, peut diminuer la germination des graines et la croissance des racines (Jackson, 1991 ; Belimov et al., 2001 ; Saravanakumar et Samiyappan, 2007).

### I.5.1.2. Actions indirects

#### a) Antibiose

Les *Pseudomonas* fluorescents (*Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa* et *P. putida*) et des espèces étroitement apparentées sont d'importantes bactéries antagonistes présentes dans le sol, qui permettent de réduire la gravité de différentes maladies d'origine tellurique (Lemanceau et Heulin, 1998).

Ceci est dû à la production d'une large gamme de composés antifongiques tels que : les composés volatils tels que l'acide cyanhydrique (HCN) (Lemanceau et Heulin, 1998 ; Nirmala et Surendranatha, 2014), l'ammoniaque (Jacques et al., 1993), des enzymes lytiques (la chitinase, la glucanase et la laminarinase) (Jacques et al., 1993 ; Toua et al., 2013), et des antibiotiques (Ramyasmruthi et al., 2012; Mezaache-Aichour et al., 2015).

Parmi les antibiotiques produits par les *Pseudomonas*, le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG) (Siddiqui et Shaukat, 2003; Validov et al., 2005 ; Okubara et Bonsall., 2008 ; Kwak et al., 2012 ; Maketon et al., 2012), l'acide phénazine carboxylique (PCA) (Mavrodi et al., 2012), la pyrrolnitrine (PRN), la pyoluteorine (PLT) (Siddiqui et Shaukat, 2003), l'oomycine A (James et Guttererson, 1986 ; Howie et Suslow, 1991) sont très efficaces dans le contrôle et la suppression de divers pathogènes telluriques (Maddulla et al., 2008 ; Abo-Elyousr El-Hendawy, 2008 ; Meera et Balabaskar, 2012).

#### b) Compétition trophique

Une rhizobactérie à croissance rapide pourrait éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie. Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et Defago, 2005).

Un cas particulier de compétition pour les nutriments repose sur la compétition pour le fer, malgré son abondance dans la croûte terrestre, est largement indisponible pour l'assimilation microbienne. Les microorganismes tels que les

*Pseudomonas* spp ont développé une stratégie pour récupérer le fer disponible par les sidérophores (Mercado-Blanco et Bakker, 2007).

Les pigments fluorescents (sidérophores) qui présentent une affinité pour le fer ( $Fe^{3+}$ ) et qui peuvent ainsi inhiber la croissance des microorganismes pathogènes dans la rhizosphère en réduisant la disponibilité du fer (Lemanceau et Heulin, 1998) produisent deux types de sidérophores, l'un de faible affinité au ( $Fe^{3+}$ ) (pyochéline) décelé chez *P. aeruginosa* (Cox et al., 1981; Brandel et al., 2012) et l'autre, possédant une affinité élevée au ( $Fe^{3+}$ ) (pyoverdine ou pseudobactine) (Jacques et al., 1993; Brandel et al., 2012).

Parmi les rhizobactéries, de nombreuses souches du groupe *Pseudomonas* spp fluorescents montrent des activités de phytostimulation en interaction avec différentes espèces végétales (Sivasakthi et al., 2014) en plus de leur potentiel de biocontrôle de plusieurs bio-agresseurs (Walsh et al., 2000 ; Johansson et Wright, 2003 ; O'Callaghan et al., 2006 ; Fang et al., 2007 ; Someya et al., 2007). Leur utilisation en qualité de bio-pesticide, certes dépend de leurs mécanismes d'action, mais aussi de leur efficacité (compétence rhizosphérique) dans des conditions pratiques. Cependant, la qualité des inocula bactériens à travers leurs formulations, est une étape indispensable à la réussite de ces procédures biologiques (Digat, 1988 ; Martínez-Álvarez et al., 2016).

## II. Formulation des *Pseudomonas* spp fluorescentes

La mise en œuvre d'un agent de lutte biologique formulé dans des systèmes de culture de serre ou des grandes cultures et le traitement des semences ou le revêtement des semences en utilisant les PGPR semble être une méthode réalisable (Prathuangwong et al., 2008). Un produit formulé doit être économique à produire, facile à appliquer dans le système de production végétale, efficace avec un nombre suffisant de cellules viables lorsqu'il est utilisé, stable au stockage et l'activité de biocontrôle doit être comparables à des cellules fraîches de l'agent (Prathuangwong et al., 2013).

Bien que divers types de formulations de *Pseudomonas* aient été développés par plusieurs auteurs (Dandurand et al., 1994 ; Moenne-Loccoz et al., 1999 ; Commare et al., 2002; Rajappan et al., 2002; Senthil et al., 2003 ; Bora et al., 2004 ;

Mathivanan et *al.*, 2005) ,le stockage et le développement de produits commerciaux contenant des cellules formulées viables de *Pseudomonas* a été limité (Dietrich et *al.*, 2016).

Le succès de toute formulation dépend de l'aptitude des matières de support et de la durée de conservation du bioagent dans la formulation. Après tout, un matériau de support devrait fournir des conditions favorables pour des bactéries qui maintiendront une survie à long terme et amélioreront l'activité de contrôle biologique des antagonistes (Patil et *al.*, 2013).

La plupart des biopesticides bactériens sont produits par une fermentation liquide à grande échelle, bien que la production *in vivo* et la fermentation du substrat solide aient été utilisées pour des produits de niche particuliers. Une fois la fermentation terminée, les bactéries sont concentrées et formulées en produits, qui doivent avoir une stabilité dans le stockage et être susceptibles d'une application à grande échelle. Le contrôle de la qualité est nécessaire tout au long du processus de production pour assurer un produit final cohérent (Jackson., 2017). Des biopesticides bactériens ont été produits dans des formulations sèches, telles que poudres mouillables et granules, ainsi que dans des concentrés liquides pour répondre à des besoins spécifiques du marché (Jackson, 2017).

Il existe plusieurs techniques de séchage des microorganismes appliquées à l'échelle industrielle à savoir l'atomisation (Bucio et *al.*, 2005; Coulibaly et *al.*, 2011), la fluidisation (Li et *al.*, 2004) et la lyophilisation (Rey, 1965 ; Perry, 1998 ; Palmfeldt et *al.*, 2003 ; Zhao and Zhang, 2005 ; Nanasombat and Sriwong, 2007; Coulibaly et *al.*, 2009).

### **II.1. La lyophilisation**

La lyophilisation a été réalisée pour la première fois en 1890, est considéré comme l'une des plus anciennes méthodes de conservation des aliments et des herbes (Oetjen et Haseley, 2004). Cependant cette méthode de formulation a évolué en fonction du temps en accordant des avantages à plusieurs domaines tel que : la conservation des produits pharmaceutiques (Franks, 1998 ; Garcia, 2011), la conservation des produits biologiques (Franks, 1998 ; Garcia, 2011; Dietrich et *al.*, 2016) et la conservation des aliments thermosensibles (Tse-Chao Hua et *al.*, 2010).

La lyophilisation est une technique de séchage la plus répandue et la plus courante pour la conservation des micro-organismes (Franks, 1998 ; Walsh et *al.*, 2001 ; Morgan et *al.*, 2006 ; Liu et *al.*, 2009 ; Garcia, 2011 ; MputuKanyinda et *al.*, 2012). Elle est appropriée pour la production de cultures bactériennes concentrées avec l'avantage que le matériel séché peut être stabiliser, stocké à température ambiante pour de longues périodes et facilement transporté (Harrison and Pelczar, 1963 ; Souza, 1992 ; Palmfeldt et *al.*, 2003 ; Coulibaly et *al.*, 2009 ; Morgan and Vesey, 2009 ; Dietrich et *al.*, 2016 ; Tse-Chao Hua et *al.*, 2010) tous en conservant l'aspect et les propriétés du produit traité (Perry, 1998). Toutefois cette technique est la plus commode pour le séchage des *Pseudomonas* sp (Harrison et Pelczar, 1963 ; Vidhyasekaran et *al.*, 1997 ; Palmfeldt et *al.*, 2003).

Le procédé de lyophilisation commence par l'étape de congélation suivie par un séchage sous vide à basse température par sublimation, (c'est-à-dire le passage direct de la glace à l'état de vapeur sans passer par l'état liquide) et désorption plutôt que par application de chaleur (Tse-Chao Hua et *al.*, 2010). Cependant le processus de la lyophilisation s'effectue en trois phases majeures : congélation de l'eau, sublimation de la glace et désorption de l'eau de constitution.

- la congélation, où les produits sont réfrigérés à des températures de l'ordre de -20 °C à -80 °C ; l'eau se transforme alors en glace.
- la dessiccation primaire, sous vide, qui consiste à sublimer la glace libre (interstitielle), donc sans effet d'ébullition (pas d'eau en phase liquide).
- la dessiccation secondaire, qui permet d'extraire par désorption les molécules d'eau piégées à la surface des produits séchés (Perry, 1998 ; Zhao and Zhang, 2005 ; Nanasombat and Sriwong, 2007 ; Coulibaly et *al.*, 2011).

En outre, plusieurs auteurs (Heckly, 1985 ; Carvalho et *al.*, 2004 ; Montel Mendoza et *al.*, 2014) ont indiqué que les micro-organismes appartenant à différentes espèces et souches peuvent présenter une sensibilité différente à la lyophilisation (Dietrich et *al.*, 2016). Malgré tout, la congélation et le séchage sont connus pour blesser les différents produits biologiques (Hurst, 1977). D'où l'un des inconvénients les plus importants de la lyophilisation est la perte de viabilité (Wagman, 1960 ; Morgan et *al.*, 2006 ; Schwab et *al.*, 2007 ; Garcia, 2011 ; Shafiei et

*al.*, 2013) pendant le traitement ainsi que pendant le stockage ultérieur (Tsvetkov et Brankova, 1983 ; Potts, 1994 ; Castro et *al.*, 1995 ; Miyamoto-Shinohara et *al.*, 2000).

### II.1.1. Impactes de la lyophilisation

La lyophilisation est largement utilisée pour la conservation de diverses substances biologiques, s'est révélée très nuisible à de nombreuses espèces bactériennes (Fry, 1954). Puisque les molécules d'eau contribuent à la stabilisation des protéines, de l'ADN et des lipides ainsi que conférant l'ordre structurel aux cellules, l'élimination de l'eau (en particulier l'eau liée) affecte la viabilité (Santivarangkna et *al.*, 2008). Tous les sites cellulaires tels que la paroi cellulaire, le chromosome, les ribosomes, les membranes (Hurst, 1977 ; Shafiei et *al.*, 2013) et les enzymes (Shafiei et *al.*, 2013) sont soumis à des traitements physiques tels que la congélation et le séchage (Hurst, 1977).

Cependant, au cours d'un tel traitement, les cellules bactériennes sont exposées à des processus de congélation et de séchage qui soumettent les cellules aux contraintes de concentration élevée de solutés, y compris des extrêmes de pH, à des basses température, à la formation de cristaux de glace et à l'élimination d'eau de la cellule (Zhao and Zhang, 2005).

Différentes espèces présentent un degré différent de survie à la lyophilisation (Font de Valdez et *al.*, 1983). Comparativement aux bactéries gram-positives, les bactéries gram-négatives présentent généralement un taux de survie plus faible après lyophilisation (Miyamoto-Shinohara et *al.*, 2000). De même, les spores sont plus résistantes à la lyophilisation que les cellules végétatives (Morgan et Vesey, 2009).

Les bactéries gram-négatives tel que les *Pseudomonas (chlororaphis, fluorescens, etc.)* sont très sensibles à toutes formes de séchage surtout en l'absence des composés protecteurs. Car pendant la lyophilisation les cellules sont soumises à des contraintes plus importantes ce qui explique pourquoi elles sont moins résistantes (Palmfeldt et *al.*, 2003 ; Nanasombat et Sriwong, 2007). Cette différence de résistance est due à la composition de leur paroi cellulaire. Les parois cellulaires des bactéries Gram-négatives, avec une couche plus mince de peptidoglycane (environ 5 à 10 nm) que celles de bactéries Gram-positives (environ

20 à 80 nm) (Alberts et *al.*, 1994 ; Beveridge, 1999 ; Lodish et *al.*, 2000 ; Gupta, 2002), ont tendance à une rupture plus grande pendant les processus de dessiccation et de réhydratation (Pembrey et *al.*, 1999). L'absence de l'acide techoïque chez la bactérie gram-négative réduit sa résistance au séchage par rapport à son homologue gram-positive. La plupart des bactéries Gram-négatives ont des lipopolysaccharides sur leurs surfaces. Ces derniers peuvent piéger des molécules d'eau, entraînant une baisse des taux de survie au cours du stockage à long terme (Carlson et *al.*, 1995 ; Crooke et *al.*, 1998 ; Miyamoto-Shinohara et *al.*, 2008 ; Mputu Kanyinda et *al.*, 2014).

Les membranes cellulaires sont souvent endommagées pendant le processus de congélation, ou pendant la dessiccation et la réhydratation (Wolfe et Bryant, 1999). Des changements de perméabilité ont conduit à suggérer que la lyophilisation, crée de petits pores dans la membrane cytoplasmique (Wesche et *al.*, 2009). Le dommage à la membrane semble comme indiquer par une fuite de matériel cytoplasmique (Wagman, 1960). Bien que la diminution de la teneur en eau pendant la lyophilisation entraîne certaines lésions cellulaires (Shafiei et *al.*, 2013), cependant le reste de l'eau dans les cellules séchées favorise également les réactions défavorables (Lievense et van't Riet , 1994). Les compositions lipidiques des cellules lyophilisées changent habituellement en raison des réactions d'oxydation et une diminution du rapport entre la teneur en acides gras insaturés et saturés des cellules est observée (Castro et *al.*, 1996 ; Coulibaly et *al.*, 2009). Cependant la formation de radicaux pendant les premiers jours de stockage peut être une preuve de l'instabilité des réactions d'oxydation des bactéries lyophilisées (Carlsen et *al.*, 2009).

Cependant a l'état sec, les biomolécules deviennent plus sensibles à l'attaque de l'oxygène (Garait et *al.*, 2005). Cette oxydation était souvent due aux espèces oxygénées réactives (ROS). Ce dernier peut endommager les protéines, modifier les bases et les sucres dans l'acide désoxyribonucléique (ADN) (Blair, 2008). Il est rapporté que la présence d'antioxydants augmente le taux de survie des bactéries séchées pendant le stockage (Carvalho et *al.*, 2003; Coulibaly et *al.*, 2009).

Cette technique entraîne des effets secondaires indésirables, tels que des modifications de l'état physique des lipides membranaires (Shafiei et *al.*, 2013). Selon la théorie de Crowe et *al.*,(1987), l'élimination de l'eau liée à l'hydrogène de la

bicouche de phospholipides entraîne une augmentation de l'emballage dans le groupe de tête des lipides membranaires (Shafiei et *al.*, 2013) et l'altération des protéines, entraînant la perte de viabilité cellulaire pendant le processus ainsi que pendant le stockage ultérieur (Garait et *al.*, 2005; Nanasombat et Sriwong, 2007). L'oxydation lipidique des cellules membranaires a été jugée responsable de la mort cellulaire pendant la lyophilisation et pendant le stockage (Teixeira et *al.*, 1996 ; MputuKanyinda et *al.*, 2012).

## II.2. La cryoprotection

Les cyroprotecteurs (CPAs) sont d'une importance incontestable pour la survie des cellules lors du processus de lyophilisation (Morgan et *al.*, 2006 ; Coulibaly et *al.*, 2010) car ils peuvent agir sur les fonctions biologiques pour préserver l'intégrité de la bicouche lipidique par le phénomène de remplacement d'eau (Coulibaly et *al.*, 2010).

Ces (CPAs) ont deux fonctions principales pour préserver la viabilité des cellules lyophilisées. Le premier est de fournir un résidu sec avec une structure physique définie agissant comme un matériau de support et comme un récepteur en réhydratation, et le second est de protéger les cellules vivantes biochimiquement contre les dommages durant la congélation et le séchage à l'air (Berny et Hennebert, 1991).

Les milieux protecteurs de lyophilisation couramment utilisés contiennent des solutés protecteurs tels que des disaccharides non réducteurs, des alcools de sucre ou bien les polyols tel que : le sorbitol et le glycérol, des polysaccharides, des acides aminés tel que le glutamate monosodique (Fonseca et *al.*, 2000 ; Fonseca et *al.*, 2001) , des protéines et des mélanges complexes tels que le lait écrémé (Font de Valdez et *al.*, 1983 ; Tsvetkov et Brankova, 1983 ; Costa et *al.*, 2000), des minéraux, des sels d'acides organiques, des milieux complexes de vitamines (antioxydants) (Champagne et *al.*, 1991, Huba'lek 2003) et des macromolécules (maltodextrine) (Béal et *al.*, 2008). Cependant, la protection offerte par un additif donné au cours de ces processus varie avec les espèces de micro-organismes (Font de Valdez et *al.*, 1983).

Les cryoprotecteurs sont groupés en deux classes selon qu'ils sont à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule. On note cependant les cryoprotecteurs intracellulaires et les cryoprotecteurs extracellulaires :

- Cryoprotecteurs intracellulaires : ce sont des substances de faible poids moléculaire (< 100 Da) qui pénètrent à l'intérieur de la cellule. Ils sont utilisés à une concentration de l'ordre de la mol/l et agissent principalement lors d'une congélation lente. Le plus important représentant de cette catégorie est le glycérol (Halliwell et Chirico, 1993 ; Crowe et *al.*, 2001 ; Bakhach et *al.*, 2007; Kawahara, 2008).
- Cryoprotecteurs extracellulaires : ce sont des substances de haut poids moléculaire (>10000 Da) qui se concentrent à l'extérieur de la cellule. Ils sont utilisés à une concentration plus faible, de l'ordre de la mmol/l, et sont indiqués lors des congélations rapides. Parmi les molécules les plus utilisées de cette catégorie se trouvent le lactose, le saccharose, le tréhalose, la maltodextrine, le dextrans et l'amidon (Crowe et *al.*, 2001 ; Palmfeldt et *al.*, 2003 ; Nanasombat et Sriwong, 2007 ; Coulibaly et *al.*, 2011).

Les résultats ont démontré que la congélation sans CPA affectait de façon spectaculaire la survie des deux souches de *Pseudomonas* testées (*P. putida* et *P. fluorescens*) (Dietrich et *al.*, 2016). Lorsque la souche Pf153 a été mise en suspension dans du saccharose, du lactose, de l'acide ligninosulfonique, du glucose ou du lait écrémé, la viabilité a augmenté à deux décimales par rapport aux cellules sans protection. Cet effet est également appelé hypothèse de remplacement de l'eau (Dietrich et *al.*, 2016).

Dietrich et *al.* (2016), confirment que le lait écrémé et plusieurs sucres sont des CPAs appropriées pour les *Pseudomonas*. Sinon, Walsh et *al.*, (2000) et Palmfeldt et *al.*, (2003), ont montré qu'une combinaison de CPA différents augmente la viabilité après lyophilisation. Par conséquent, les effets synergiques des différents ingrédients du lait écrémé ne peuvent pas être exclus (Dietrich et *al.*, 2016).

Selon Dietrich et *al.*, (2016), démontrent qu'après optimisation du processus de lyophilisation, les *Pseudomonas* peuvent être lyophilisés sans perte de viabilité. Enfin les agents protecteurs jouent un rôle important dans la conservation et la préservation de la viabilité des cellules bactériennes. D'où un bon protecteur doit

fournir une cryoprotection aux cellules pendant le processus de congélation, être facilement séché, et fournir une bonne matrice pour permettre la stabilité et la facilité de la réhydratation (Zhao et Zhang, 2005).

En outre, La survie des cellules bactériennes pendant le processus de lyophilisation dépend de nombreux facteurs, y compris les conditions de croissance (Palmfeldt et Hahn-Ha'gerdal, 2000) , Le milieu protecteur (Font de Valdez et *al.*, 1983), du milieu lyophilisant (Morichi, 1970 ; Font de Valdez et *al.*, 1983), de l'état physiologique des cellules (Broadbent et Lin, 1999 ; Palmfeldt et *al.*, 2003 ; Shafiei et *al.*, 2013), du taux de congélation (Peter et Reichart, 2001), des paramètres de lyophilisation, des conditions de réhydratation (Sinha et *al.*, 1982 ; Font de Valdez et *al.*, 1985a, b ; Costa et *al.*, 2000) et de la concentration cellulaire initiale (Bozoglu et *al.* 1987 ; Costa et *al.*, 2000 ; Palmfeldt et *al.*, 2003).

### **III. La Tomate**

#### **III.1. Généralités**

La tomate (*lycopersicon esculentum*) est une espèce de plante de la famille des solanacées (Polese, 2007). Cette famille regroupe d'autres espèces qui sont également bien connues, telles que la pomme de terre, le tabac, le poivron et l'aubergine (Naika et *al.*, 2005). Compte tenu de son importance économique, elle est l'objet de nombreuses recherches scientifiques et est considérée comme une plante modèle pour les études scientifiques (Chougar, 2011).

#### **III.2. Historique**

La tomate, inconnue dans le Vieux Monde jusqu'au xvi e siècle (Blancard et *al.*, 2009) et originaire des Andes d'Amérique du Sud fut domestiquée au Mexique, puis introduite en Europe en 1544. De là, sa culture s'est propagée en Asie du Sud et de l'est, en Afrique et en Moyen Orient (Naika et *al.*, 2005). En Algérie, ce sont les cultivateurs du sud de l'Espagne (Tomateros) qui l'ont introduit car les conditions climatiques lui sont propices. Sa consommation a commencé à partir de l'année 1905 dans la région d'Oran puis elle s'est étendue vers le centre surtout dans le littoral algérois (Latigui, 1984).

### III.3. Nomenclature et classification

Les botanistes modifièrent à plusieurs reprises les noms de genre et d'espèce attribués à la tomate. Elle a été classée par Linné en 1753, comme *Solanum lycopersicon*. D'autres botanistes lui ont attribué différents noms : *Solanum lycopersicon*, *Solanum esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*. Finalement *Lycopersicon esculentum* Mill., lui a été attribué par Philip Miller en 1754 et a été retenu (Munroe et Small, 1997). Le nom de genre « *Lycopersicon* » est gréco-latin, il signifie « pêche de loup ». Le nom d'espèce « *esculentum* » vient du latin et veut dire « comestible » (Blancard et al., 2009).

Cronquist, (1981) ; Gaussen et al. (1982), proposèrent la classification de la tomate qui est largement suivie :

Règne : Plantae  
Sous règne : Trachenobionta  
Embranchement : Magnoliophyta  
Classe : Magnoliopsida  
Sous-classe : Asteridae  
Ordre : Solanales  
Genre : *Solanum* ou *lycopersicon*  
Espèce : *lycopersicon esculentum* Mill.

#### III.3.1. Classification variétale de la tomate

La tomate cultivée, *Lycopersicon esculentum*, appartient à la famille des Solanacées. C'est une espèce diploïde, avec  $2n = 24$  chromosomes (Blancard et al., 2009), peut être classé d'après ces caractères morphologiques et botaniques dans les variétés sont très nombreuses. A cet effet, ces dernières peuvent être classées selon leur croissance qui peut être du type indéterminé ou du type déterminé (Polese, 2007; Snoussi, 2010).

**a) Les variétés à port indéterminé :** Les variétés utilisées pour la production en frais sont principalement de type indéterminé. La plante ne cesse de croître en hauteur jusqu'à épuisement de toutes les réserves. Parmi ce type de croissance, il existe :

- Les variétés fixées dont les caractéristiques génotypiques et phénotypiques se transmettent pour les générations descendantes où on peut citer les variétés les plus utilisées en Algérie telles que la Marmande et la Saint Pierre (Snoussi, 2010).

- Les Hybrides qui du fait de l'effet hétérosis, présentent la faculté de réunir plusieurs caractères d'intérêt (bonne précocité, bonne qualité de résistance aux maladies et aux attaques parasitaires et donc bon rendement) .Ces hybrides ne peuvent être multipliés vu qu'ils perdent leurs caractéristiques dans les descendances (Polese, 2007) .On peut citer les hybrides homologués qui sont les plus utilisés en Algérie: ACTANA, AGORA, BOND, NEDJMA ,TAFNA, TAVIRA, TOUFAN, TYERNO et ZAHRA .

**b) Les variétés à port déterminé :** il n'y a que deux feuilles entre les inflorescences. La croissance de la tige s'arrête avec l'apparition de l'inflorescence terminale et ce après avoir formé un certain nombre de bouquets variable selon les variétés (04 à 06 bouquets). Pour ce type de croissance l'intervention de l'agronome reste sans intérêt puisque la croissance des plantes s'arrête toute seule après avoir formé une inflorescence au sommet de la tige (Polese, 2007). Pour ce type de croissance également, on retrouve des variétés fixées et des Hybrides (Snoussi, 2010).

- la variété AICHA comme variété fixée (Snoussi, 2010).

--+ les hybrides homologués les plus utilisés en Algérie, ils se résument comme suit : FAROUNA, JOKER, ,LUXOR, SUPER RED, TOMALAND, TOP 48, SUZANA, ZIGANA ZERALDA (Snoussi, 2010).

#### **III.4. Description botanique du plant de la tomate**

La description botanique du plant de tomate est faite selon Naika et *al.*, (2005), (Tableau 01).

**Tableau 01** : Description botanique du plant de la tomate.

<b>Racine</b>	Forte racine pivotante qui pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité de racines latérales et adventices (Naika et <i>al.</i> , 2005).
<b>Tige</b>	La tige pousse jusqu'à une longueur de 2 à 4 m. La tige est pleine, fortement poilue et glandulaire (Naika et <i>al.</i> , 2005).
<b>Feuillage</b>	Feuilles disposées en spirale, 15 à 50 cm de long et 10 à 30 cm de large. Les folioles sont ovées à oblongues, couvertes de poils glandulaires (Naika et <i>al.</i> , 2005).
<b>Fleurs</b>	L'inflorescence est une cyme formée de 6 à 12 fleurs. Le pétiole mesure entre 3 et 6 cm. Les fleurs sont bisexuées, mesurent entre 1,5 et 2 cm de diamètre. Elles poussent opposées aux - ou entre les feuilles. Les sépales sont persistantes. En général il y a 6 pétales qui peuvent atteindre une longueur de 1 cm, qui sont jaunes et courbées lorsqu'elles sont mûres. Il y a 6 étamines et les anthères ont une couleur jaune vif et entourent le style qui a une extrémité stérile allongée. En général la plante est autogame, mais la fécondation croisée peut avoir lieu (Naika et <i>al.</i> , 2005).
<b>Fruit</b>	Baie charnue, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre de 2 à 15 cm. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et poilu. La couleur des fruits mûrs varie du jaune au rouge en passant par l'orange. En général les fruits sont ronds et réguliers ou côtelés (Naika et <i>al.</i> , 2005).
<b>Graines</b>	Nombreuses, en forme de rein ou de poire. Elles sont poilues, beiges, 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large. L'embryon est enroulé dans l'albumen. 1000 graines pèsent approximativement 2,5 à 3,5 g (Naika et <i>al.</i> , 2005).

### III.5. Importance nutritionnels du fruit de la tomate

La tomate est appréciée pour sa fraîcheur et constitue la base ou la garniture de toutes sortes de plats, qu'elle soit crue ou cuite. Son utilisation en sauces est ancienne, en particulier en Italie. L'industrie de transformation propose des préparations nombreuses et variées : concentré, jus, tomates pelées, tomates concassées, etc. Du fait de son niveau de consommation relativement élevé (Blancard et *al.*, 2009), la consommation des fruits de la tomate contribue à un régime sain et équilibré. Les fruits sont riches en minéraux, en vitamines, en acides aminés essentiels, en sucres ainsi qu'en fibres alimentaires. La tomate contient beaucoup de vitamines B et C, de fer et de phosphore (Naika et *al.*, 2005). (Tableau 2).

**Tableau 02** : valeur nutritionnelle moyenne pour 100g de tomate (Favier et *al.*, 2003).

Comportement de la tomate crue valeur nutritionnelle de 100 grammes		
Eau		93.80g
Valeur calorique		19 K cal
Eléments énergétiques	Protides	0.80g
	Glucides	3.50g
	Lipides	0.30g
Vitamines	Vitamine A	0.00mg
	Vitamine B1	0.06mg
	Vitamine B2	0.05mg
	Vitamine B6	0.00mg
	Vitamine C	18.00mg
	Vitamine PP	0.60mg
Minéraux	Fer	0.40mg
	Calcium	9.00mg
	Magnésium	11.00mg
	Phosphore	24.00mg
	Potassium	226.00mg
	Sodium	5.00mg
	Soufre	11.00mg
	Zinc	0.24mg
	Chlore	40.00mg
Fibres		1.20g
Cellulose		0.60g

### III.6. Importance économique, superficies et production de la tomate

La tomate est, après la pomme de terre, le légume le plus consommé dans le monde, soit frais soit après transformation (Blancard et *al.*, 2009). Comme c'est une culture à cycle assez court qui donne un haut rendement, elle a de bonnes perspectives économiques et la superficie cultivée s'agrandit de jour en jour (Naika et *al.*, 2005). Elle est cultivée sous toutes les latitudes dans des conditions très variées (climats, modes de production...etc), ce qui démontre une grande plasticité originelle (Blancard et *al.*, 2009).

La production mondiale de tomates a progressé régulièrement au cours du xxe siècle et s'est accrue considérablement durant les trois dernières décennies. Elle est passée dans les environs de 50 millions de tonnes en 1978 à 74 millions de tonnes en 1992, 95 millions de tonnes en 1998 et a atteint 170 millions en 2014 (FAOSTAT,

2017). Cependant la production enregistrée durant l'année 2014 a atteint exactement 170 750 767 de tonnes dans le monde entier et 1 065 609 tonnes en Algérie (FAOSTAT, 2017).

L'évolution des superficies et des productions durant la période de 2007 jusqu'au 2014 en Algérie est donnée dans le tableau 03 ci-dessous :

**Tableau 03** : Evolution des superficies et le rendement de tomates fraîches en Algérie de 2007 au 2014 (FAOSTAT, 2017).

Année	Superficie (ha)	Production (tonne)
2007	20 079.00	567 313.00
2008	19 655.00	559 249.00
2009	20 789.00	641 034.00
2010	21 358.00	718 235.00
2011	20 575.00	771 606.00
2012	21 542.00	796 963.00
2013	22 497.00	975 075.00
2014	22 646.00	1 065 609.00

### III.7. Exigences écologiques et climatiques de la plante

La tomate n'est pas très exigeante en ce qui concerne la pluviosité. Elle préfère des périodes sèches avec un apport d'eau par irrigation : elle requiert un apport d'eau de 5 mm par jour de la plantation à la floraison et 10 mm par jour de la floraison à la récolte (Nyabyenda, 2007). Par contre, elle est exigeante pour la lumière qui est un facteur écologique fondamental qui intervient dans la photosynthèse. Le manque de lumière peut inhiber l'induction florale et gêner la germination du pollen (Chibane, 1999). La tomate se développe à des températures dont l'optimum se situe entre 13 et 20 °C pendant la nuit et entre 20 et 27 °C pendant la journée. Pour obtenir une bonne production, un écart de 6 à 7 °C entre les températures diurnes et les températures nocturnes est nécessaire au moment de la floraison.

La tomate n'est pas très exigeante en ce qui concerne les sols, pourvu qu'ils soient fertiles et bien drainés (Nyabyenda, 2007), La tomate est classée parmi les plantes à tolérance modérée vis-à-vis de la salinité (Morad et Martinez, 1999). Sa tolérance vis-à-vis de l'acidité est très élevée. La tomate tolère modérément un large intervalle de valeurs du pH, mais, pousse le mieux dans des sols où la valeur du pH varie entre 5.5 et 6.8 (Naika et al., 2005).

### **III.8. Cycle biologique de la tomate**

D'après Philouze et Laterrot (1992), le cycle végétatif complet de la graine à la graine de tomate varie selon les variétés, l'époque et les conditions de culture; mais il s'étend généralement en moyenne de 3,5 à 4 mois du semis, jusqu'à la dernière récolte (7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit).

# **PARTIE II**

## **MATERIEL ET METHODES**

Notre travail qui porte sur l'effet de la bactérisation par *Pseudomonas* fluorescents lyophilisées sur la stimulation de la croissance de la tomate a été réalisé au niveau du laboratoire de mycologie du département des biotechnologies (université de Blida 1).

L'objectif de notre travail a été orienté vers la mise en évidence de l'effet de la lyophilisation et la cryoprotection sur la stabilité et l'efficacité de trois souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (BB9, BB10 et F21) employées dans la stimulation de la croissance des plants de tomates tout en évaluant la biostimulation de la germination et les paramètres de croissance ainsi que le dosage de la chlorophylle.

## I. Matériel biologique

### I.1. Souches bactériennes

Dans notre étude, nous avons utilisée trois souches bactériennes (BB9, BB10 et F21) de *Pseudomonas* spp. fluorescents qui proviennent de la collection bactériennes du laboratoire de mycologie du département des biotechnologies (université de blida 1). Ces souches ont été isolées a partir de la rhizosphère de quelques arbres fruitier du sud Algériens (**Tableau 04**), identifiées, lyophilisées (avec et sans cryoprotection) par notre promotrice M<sup>me</sup> Benoussaid chez CWBI (Centre Walon de Biologie Industrielle, laboratoire de bioindustrie Gembloux Belgique sous la direction du Pr Philippe Thonart) et stockées dans des sacs opaques sous vide.

**Tableau 04:** Caractéristiques des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents utilisées.

Souches	Origine	Caractéristiques									
		Sid	Hcn	IAA	Phz	Phos	Cwe				
							Pr	Ch	Ce	Pe	Pro
BB9 <i>P.putida</i>	Palmier dattier	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
BB10 <i>P.sp</i>	Palmier dattier	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+
F21 <i>P. fluorescens</i>	Palmier dattier	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+

Siderophores (Sid), acide cyanhydrique (HCN), Acide Indole 3-Acétique (IAA), phosphatase (Phos), Phenazines (Phz), enzymes de dégradations de parois cellulaire (Cwe), protéase (Pro), chitinase (Ch), cellulase (Ce), pectinase (Pe).

## I.2. Le sol

Le sol utilisé dans notre expérimentation a été prélevé au niveau de la station expérimentale du département des biotechnologies (Université de Blida 1), à partir d'une serre non cultivée.

## I.3. Matériel végétal

Les essais de la promotion de la croissance végétale ont été réalisés avec deux variétés de La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill): Marmande et Saint Pierre.

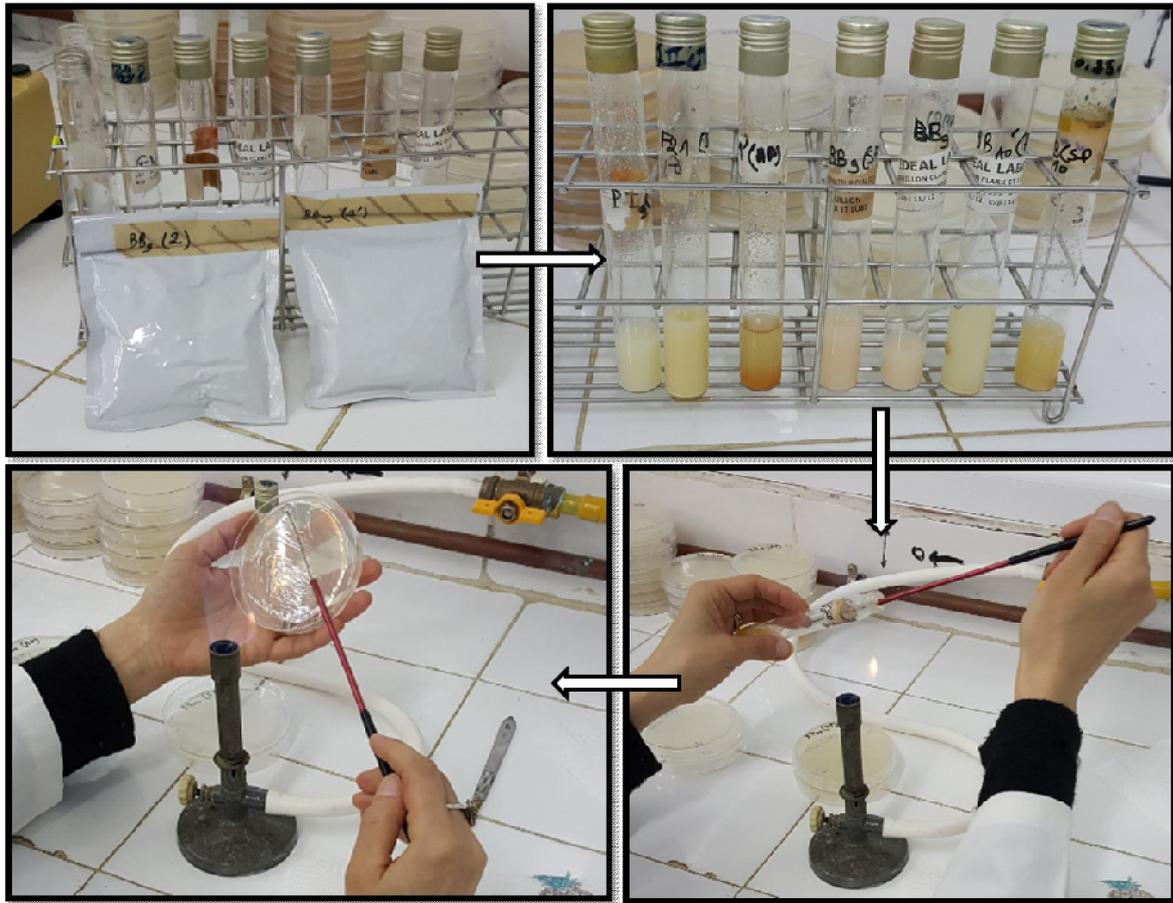
La semence de la variété Saint Pierre (fixée génétiquement, originaire de France) a été fournie par la station expérimentale du département de biotechnologie (université de Blida 1).

La semence de la variété Marmande (fixé génétiquement, homologuée et certifiée) destinée à l'essai est fournie par l'ITCMI (**Annexe 01**).

# II. Méthodes

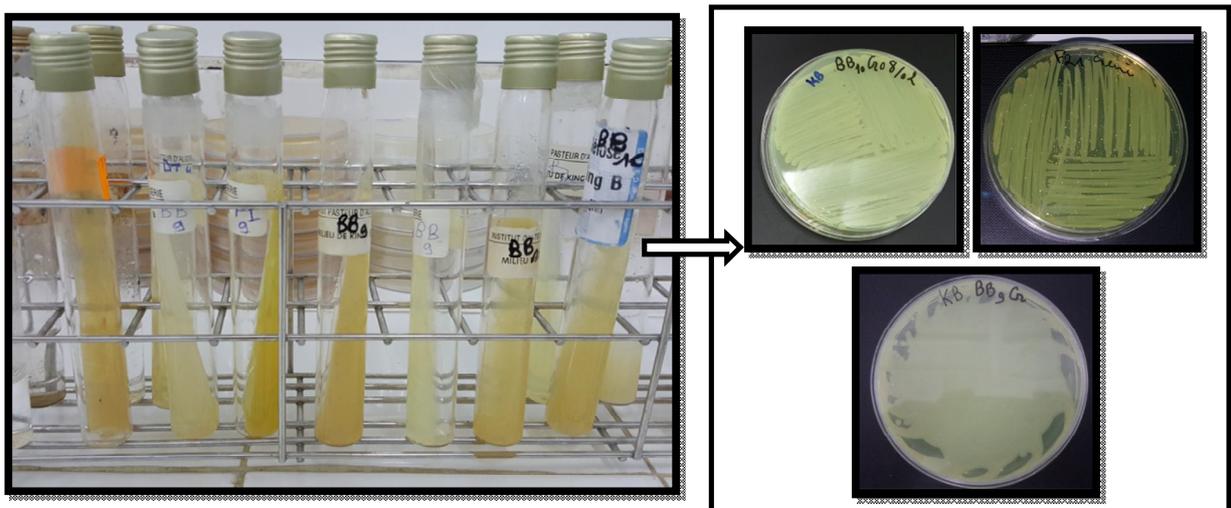
## II.1. Vérification de la pureté des souches

Des petites quantités des souches lyophilisées ont été réhydratées (**Figure 04**) dans des tubes à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile. Une goutte de chaque échantillon prélevé à l'aide de la boucle d'une once a été ensemencé par épuisement sur boîte de Pétrie contenant un milieu King B (King et al., 1954) (**Annexe2**). Ces dernières ont été incubées à 23°C pendant 24h.



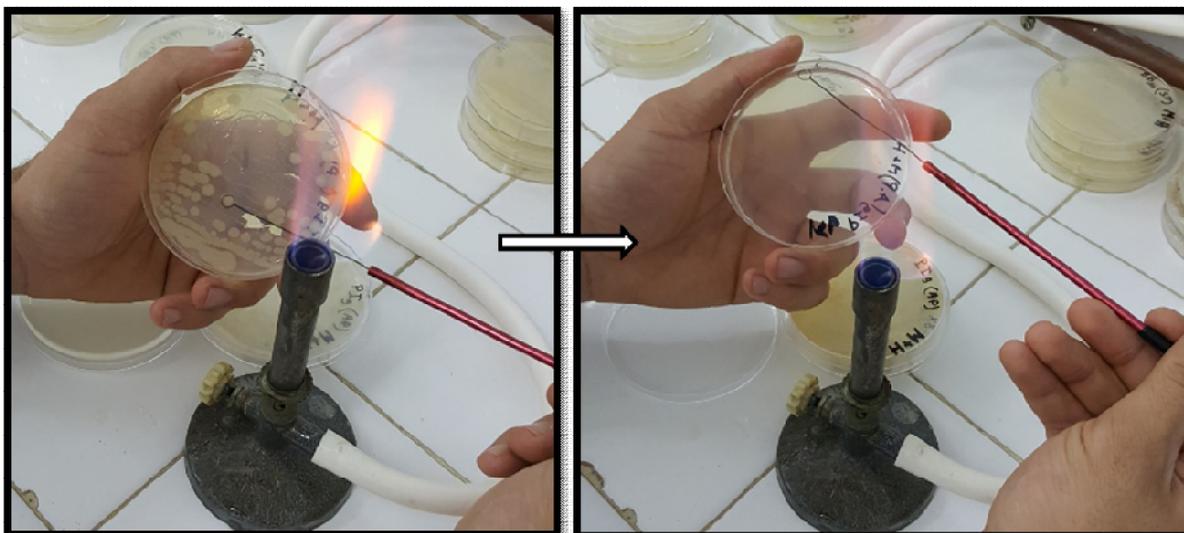
**Figure 04:** Réhydratation et purification des souches lyophilisées de *Pseudomonas* spp. fluorescents .

Le repiquage des souches fraîches stockées sous forme de crème dans un milieu KB incliné à 4°C a été effectuée sur milieu solide KB en boîte de Pétri et incubées à 23°C pendant 24h (**Figure 05**).



**Figure 05:** Purification des souches fraîches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents.

La pureté des souches testées a été vérifiée en réalisant plusieurs repiquages successifs en les incubant à 23°C séparées d'un intervalle de temps de 24h (**Figure 06**).



**Figure 06:** Purification successive des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents.

## II.2. Production de sidérophores

La détection des sidérophores a été réalisée dans le milieu CAS (Chrome Azurol S) (**Annexe 02**) en boîte de Pétri selon les techniques d' Alexander et Zuberer (1991). Des cultures bactériennes de 24h sur milieu King B (King et *al.*, 1954) ont été déposées en spots sur la surface du milieu CAS et incubées 72h à 28°C. L'apparition d'un halo orangeâtre sur le fond bleuté du milieu indique une synthèse de sidérophores (Schwyn et Neilands, 1987 ; Sharma et Johri, 2003).

## II.3. Désinfection et bactérisation des semences

### II.3.1. Désinfection des semences

Un gramme de graines de tomate a été pesé et mélangé avec une solution javellisée (NaClO) à 2% pendant 10 minutes avec agitation, suivi de trois rinçages successifs avec de l'eau distillée stérile et séchées sur papier filtre stérile (Messiaen et *al.*, 1991)(**Figure 08**).

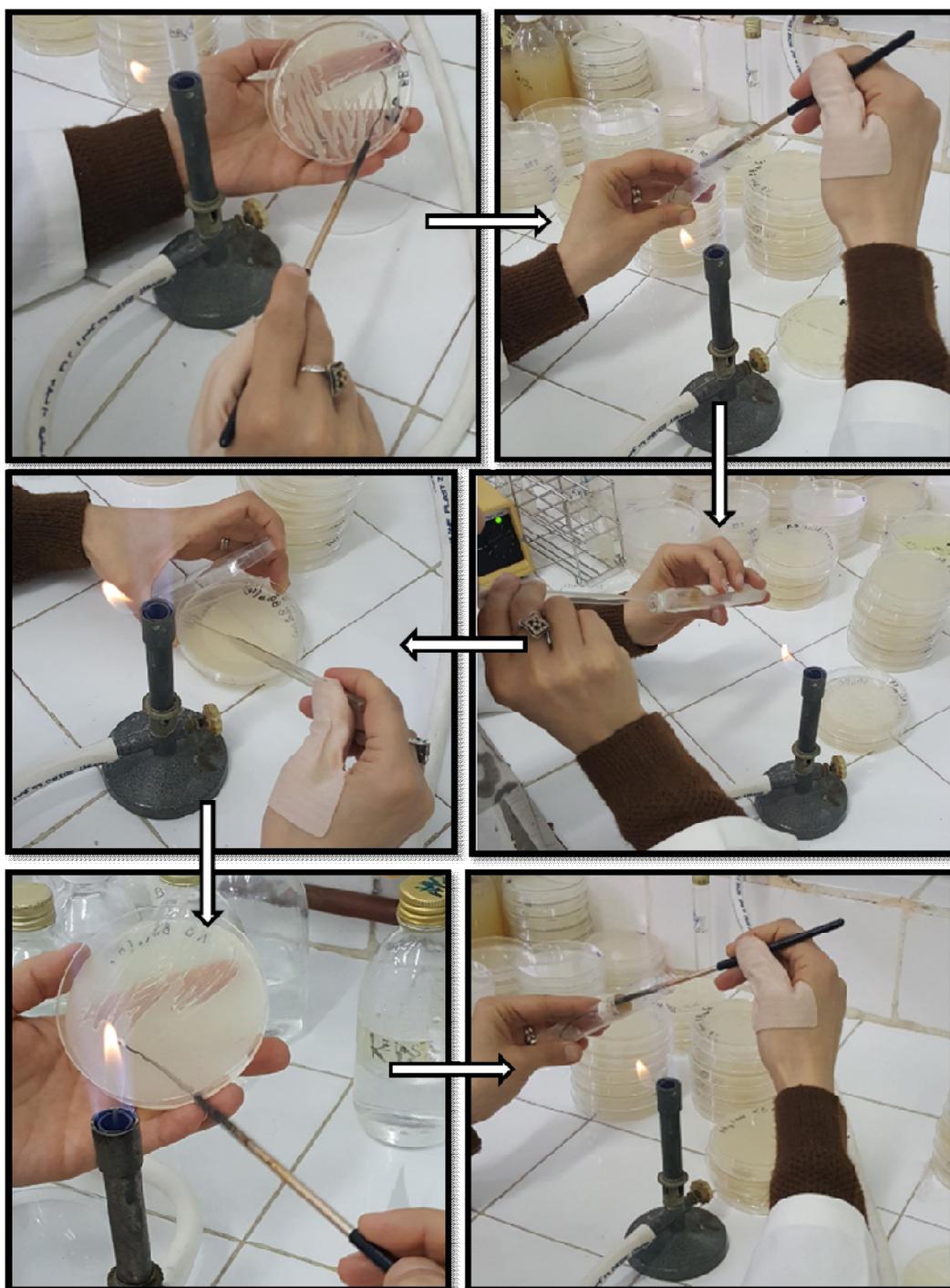


**Figure 07:** désinfection des semences.

### II.3.2. Préparation de la suspension bactérienne

Les suspensions bactériennes des trois souches (neuf traitement) ont été préparées dans des tubes à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile à partir des cultures pure âgées de 24 heures cultivées sur milieu B de King (**Figure 07**).

À l'aide d'une pipette pasteur stérile, une petite quantité de chacune des suspensions est pipetée, puis étalée à l'aide d'un étaioire stérile (**Figure 07**). Deux boîtes de pétrie ont été préparées pour chaque traitement, puis les cultures ont été incubées à 23°C pendant 24h.

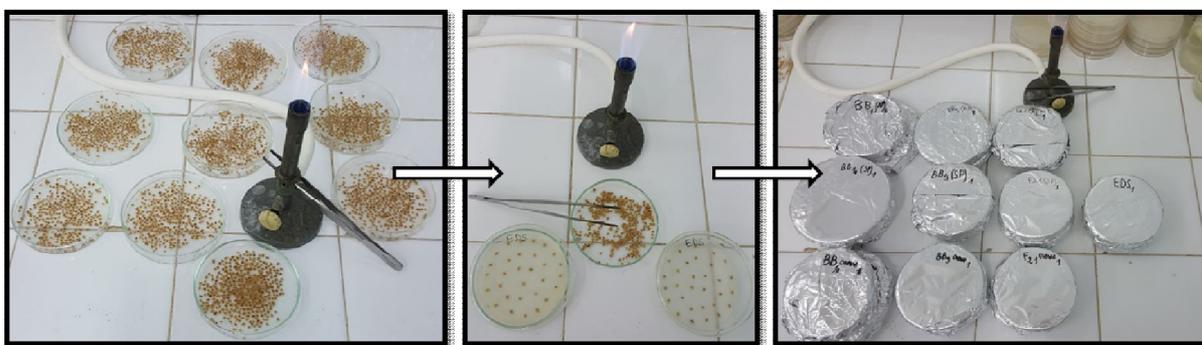


**Figure 08:** Préparation d'inoculum.

Après 24h d'incubation, la crème bactérienne de chaque culture est raclée délicatement à l'aide d'une once stérile et mise dans un tube contenant 9 ml d'eau désilée stérile. La détermination de la concentration a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre (shimadzu) à une longueur d'onde de  $\lambda=580$  nm et en l'ajustant à  $10^7$  CFU/ml (Bliera et *al.*, 2012). Les suspensions ainsi obtenu ferrant l'objet de l'enrobage des semences désinfectées.

### II.3.3. Bactérisation des semences

La bactérisation des semences a été effectuée comme décrit par Anuj et al, (2013). Pour chaque traitement, un gramme de semences a été déposé dans une boîte de pétrie en verre stérile contenant 10 ml de la suspension bactérienne mélangée avec 0.1g de CMC (carboxymethylcellulose). Après 2 heures de contact, les semences ont été réparties à raison de 30 graines sur des papiers filtres stériles imbibés d'eau désilée stérile et placées dans des boîtes de pétrie en verre stérile. Afin d'obtenir une germination, les boîtes ont été recouvertes par un papier aluminium juste pour assurer de l'obscurité ensuite incubées à 23°C. Chaque traitement a été répliqué deux fois. Les semences utilisées comme témoins ont été traitées selon les mêmes procédures mais avec de l'eau distillée stérile (**Figure 09**).



**Figure 09:** Bactérisation et mise en pré-germination des semences traitées.

### II.4. Le sol

Après tamisage, à l'aide d'un tamis de 0.5 mm de diamètre (élimination les éléments grossiers), le sol a subi une stérilisation (deux stérilisations à 160°C pendant 60 minutes séparées d'un intervalle de 24h) afin d'éliminer la microflore tellurique indigène.

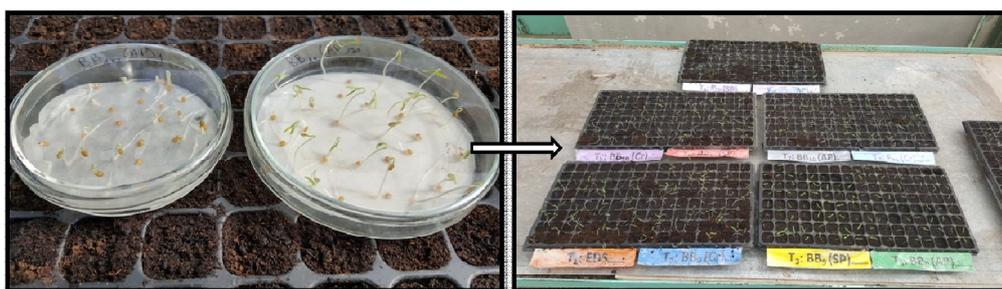
Après refroidissement, le sol stérilisé a été mélangé avec la tourbe stérile (1/3 de tourbe + 2/3 de sol) et réparti dans des pots chimie-plast, d'une capacité de 180 ml munis d'un orifice de drainage à leur base.

### II.5. Lieu et conditions d'expérimentation

L'expérimentation de la promotion de la croissance de la tomate a été réalisée au niveau de la station expérimentale du département des biotechnologies (Université de Blida1) sous serre en verre à charpente métallique de forme

rectangulaire, dont la superficie est de 382,5 m<sup>2</sup>, et d'une hauteur de 4,5 m. L'orientation Nord-Sud, l'aération est assurée par des fenêtres placées latéralement de part et d'autre de la serre et chauffée par des radiateurs.

Les graines germées dans les boîtes de pétrie, ont été transplantées dans des alvéoles (désinfecter par l'hypochlorite de sodium 16%) de 128 trous (8X16) contenant de la tourbe. Chacune des alvéoles est divisée en deux traitements différents où la transplantation a été réalisé à raisons d'une plantule par trou, avec un arrosage quotidien (**Figure 10**).



**Figure 10:** transplantations des plantules dans des alvéoles

## II.6. Evaluation de la promotion de croissance végétale

Pour mettre en évidence et évaluée les effets bénéfiques de la bacterisation sur la phytostimulation de la tomate par les *Pseudomonas* spp. fluorescents, nous nous sommes intéressées au suivi des paramètres de la germination et la de croissance, ainsi que le dosage de la chlorophylle et la colonisation rhizosphérique.

### II.6.1. Taux de germination et Indice de la vigueur

#### II.6.1.1. Taux de germination

L'estimation du taux de germination des semences consiste à effectuer le comptage du nombre de semences germées par rapport au nombre initial des graines mise dans chacune des boîtes. Le suivi de la germination a commencé 24h après la mise en boîte à raison d'une observation par jour (entre 8 h et 9 h) pour évaluer sa cinétique. Le taux de germination a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de germination}(\%) = \frac{\sum n}{N} \times 100$$

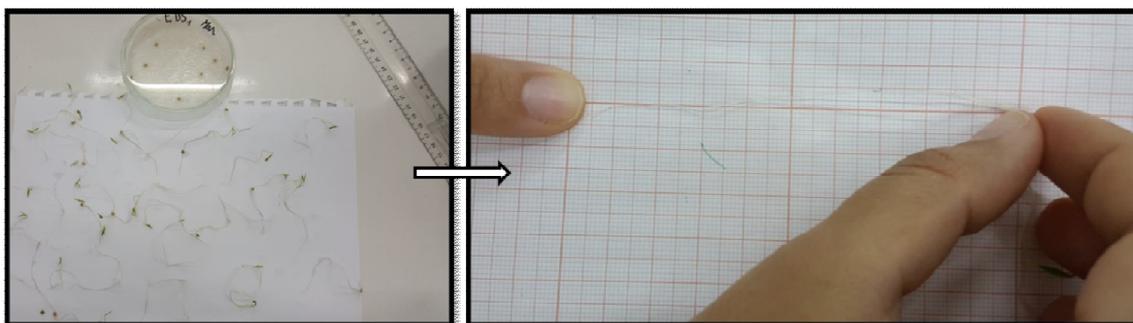
n : nombre de graine germée

N : nombre total de graine mise dans la boîte

### II.6.1.2. Indice de la vigueur

L'indice de vigueur a été calculé pour la variété Marmande en utilisant la formule décrite par Baki et Anderson (1973), en prélevant dix échantillons aléatoirement de chaque boîte (**Figure 11**).

Indice de la vigueur = pourcentage de germination x longueurs de la plantule  
(longueur de la pousse + longueur de la racine).



**Figure 11:** Mensuration de la longueur des plantules.

### II.6.2. Suivre de la survie après mise en alvéoles

Le suivi de la survie après mise en alvéoles des deux variétés a été réalisé avant la transplantation en pots, en réalisant une courbe qui représente l'évolution de la survie et de la mortalité des plantules en fonction du temps.

## II.7. Préparation d'inoculum pour un rappel

A partir des cultures pures et jeunes de 24 heures (neuf traitements), des parces de remes ont été raclées délicatement à l'aide d'un étaloire, puis mise en suspension dans un flacon contenant 200 ml d'eau distillée stérile. Une bonne homogénéisation a été pratiquée.

La détermination de la concentration a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre (shimadzu) à une longueur d'onde de  $\lambda=580$  nm et en l'ajustant à  $10^7$  CFU/ml (Bliera et *al.*, 2012).

### II.7.1. Rappel de bactérisation

La suspension bactérienne de chaque traitement a été inoculée dans la tourbe au prêt des racines à l'aide d'une seringue stérile à raison de 4 ml par plantule (**Figure 12**).

L'inoculation bactérienne a été effectuée deux jours après la mise en alvéole des plantules pour les deux variétés de tomate. Les plantules utilisées comme témoins ont été traitées selon les mêmes procédures mais avec de l'eau distillée stérile.



**Figure 12:** Inoculation de la suspension bactérienne.

## II.8. Dispositif expérimental

Les essais expérimentaux *in situ* ont été réalisés selon un dispositif composé de trois blocs aléatoires complets (bloc1, 2 et 3) (**Figure 13**). Chaque bloc est composé de dix traitements ( $T_1, T_2, T_3, T_4, T_5, T_6, T_7, T_8, T_9, T_{10}$ ) correspondant aux applications des trois souches bactériennes et le traitement témoin. Chaque traitement est représenté par dix plants par bloc, soit trente plants par traitement. Le nombre total des plantes est de trois-cent. Les traitements étudiés sont les suivants :

**$T_1$**  : Témoins, plants traités avec de l'eau distillée stérile.

**$T_2, T_5$  et  $T_8$**  : Plants bactérisés respectivement avec les souches BB9, BB10, F21 non lyophilisées (crèmes).

**$T_3, T_6$  et  $T_9$**  : Plants bactérisés respectivement avec les souches BB9, BB10, F21 lyophilisées sans cryoprotecteurs.

**$T_4, T_7$  et  $T_{10}$**  : Plants bactérisés respectivement avec les souches BB9, BB10, F21 lyophilisées avec cryoprotecteurs.



### **II.9.3. Surface foliaire**

Pour déterminer la surface foliaire, nous avons choisi aléatoirement quelques feuilles des différents traitements étudiés, sur lesquelles des petits carrés de 1 cm<sup>2</sup> de surface, sont découpés soigneusement, pesés individuellement sur une balance de précision ainsi le poids moyen résultant correspond à une surface de 1 cm<sup>2</sup>. Chaque groupe de feuilles, du même plant, est pesé pour déterminer la surface foliaire selon l'unité décrite précédemment.

### **II.9.4. Diamètre des tiges**

Le diamètre a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse au niveau du collet.

### **II.9.5. Longueur du système racinaire**

Pour chaque période, les plants ont été déposés où les racines ont été lavées (rincées) avec de l'eau de robinet courante, secouées pour éliminer le substrat adhérent et étalées soigneusement. La longueur racinaire est mesurée à partir de l'extrémité du chevelu racinaire en utilisant une règle graduée.

### **II.9.6. La floraison**

Le comptage du nombre de fleurs a concerné toutes les fleurs existantes au niveau du plant avant la coupe.

### **II.9.7. La phytomasse**

#### **II.9.7.1. Poids frais et poids sec de la partie aérienne**

Tout plant choisi pour subir les mensurations, est coupé au niveau du collet et pesé immédiatement pour éviter les pertes dues à la déshydratation. Une fois le poids frais est noté, chaque plant est coupé en fragments et mis dans un sachet en papier et déposé dans le four Pasteur à 160°C pendant 24 h, pour déterminer son poids sec. Les sachets ont été remis au four pasteur une deuxième fois à 160°C pendant 24 h, pour déterminer leurs poids sec stable et finale.

### II.9.7.2. Poids frais et poids sec de la partie racinaire

Après dépotage, les racines sont lavées et secouées pour éliminer le substrat qui adhère et pesées pour déterminer le poids frais. Le poids sec a été déterminé de la même façon que la partie aérienne.

## II.10. Dosage de la chlorophylle

Le dosage de la chlorophylle totale (chlorophylle a et b) a été mesurée selon la méthode de Arnon (1949) durant la deuxième et la troisième période végétatif, sur les feuilles médianes de la tomate, on utilisant trois répétitions pour chaque traitement. La méthode d'extraction consiste à une macération à l'obscurité des feuilles (0.5 g) dans 5 ml d'acétone (80%) et centrifugé pendant 5 min à 4 000 tour / min. Les extraits ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre et l'absorbance a été mesurée à deux longueurs d'ondes (649 et 665 nm). La teneur en chlorophylle totale (chlorophylle a et b) a été calculée et exprimée en poids de feuille  $\mu\text{mol} / \text{g}$ . La détermination des teneurs a été réalisée selon les formules :

- Chlorophylle a ( $\mu\text{g/g MF}$ ) =  $[12,21 \times \text{DO}_{(665)} - 2,79 \times \text{DO}_{(649)}] \times V / (1000 \times W)$ .
- Chlorophylle b ( $\mu\text{g/g MF}$ ) =  $[21,21 \times \text{DO}_{(649)} - 5,1 \times \text{DO}_{(665)}] \times V / (1000 \times W)$ .
- Chlorophylle totale (a+b) ( $\mu\text{g/g MF}$ ) =  $[18,42 \times \text{DO}_{(649)} + 7,11 \times \text{DO}_{(665)}] \times V / (1000 \times W)$ .

V: Volume de la solution extraite.

W: Masse de la matière fraîche.

## II.11. Colonisation rhizosphérique

A la fin de notre expérimentation et dans le but d'évaluer le pouvoir colonisateur des souches bactériennes, apportées lors des opérations de bactérisation, nous avons vérifié l'installation des bactéries au niveau des rhizosphères des plants étudiés. Un fragment de racine est prélevé au niveau de chaque traitement et de chaque bloc, suivi de plusieurs rinçages avec l'eau distillée stérile et séché séparément sur papier filtre stérile. Chaque fragment a été déposé aseptiquement sur le milieu B de King dans des boîtes de Pétri (**Figure 14**). Les observations ont été effectuées 24 h à 48 h après incubation à 23°C.

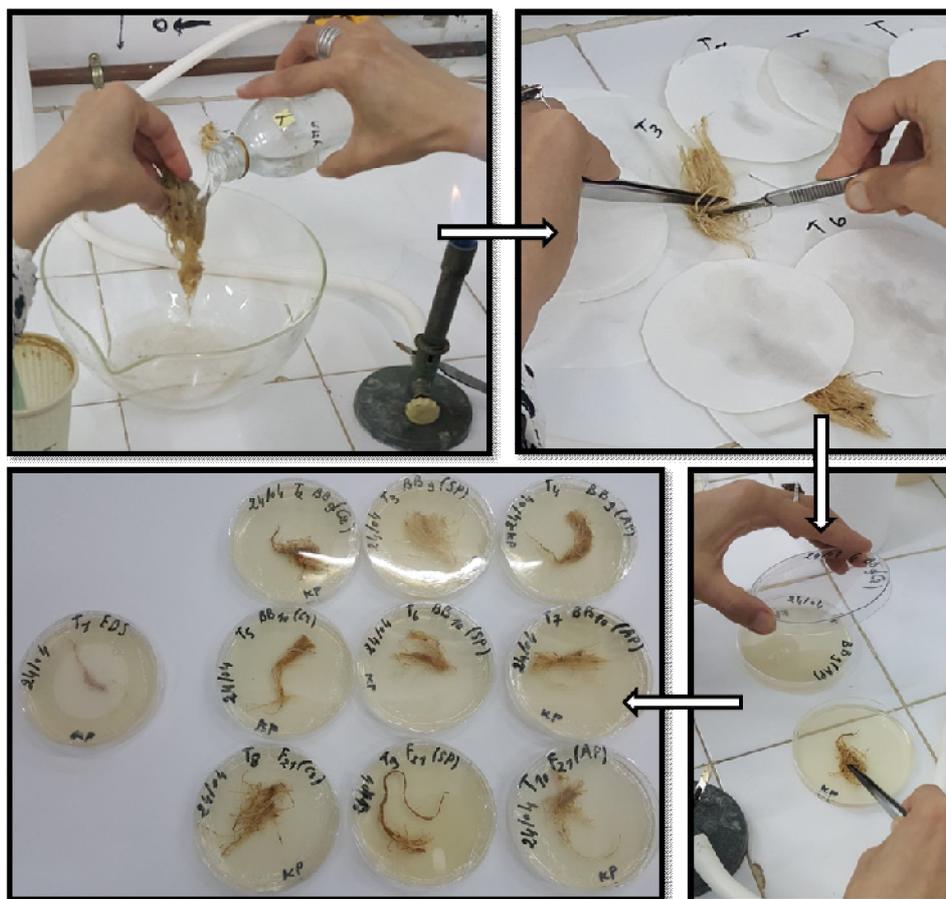


Figure14 : Colonisation rhizosphérique.

## II.12. Analyse statistique :

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel SYSTAT (version 13, 2009). Tous les paramètres analysés ont fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) et les moyennes sont comparées par le test de Newman-Keuls au risque d'erreur  $\alpha=5\%$ . Les gains en croissance (pourcentage) obtenus ont été calculés selon la formule :

$$[(\text{Traitement bactérisé} \times 100 / \text{témoin}) - 100]$$

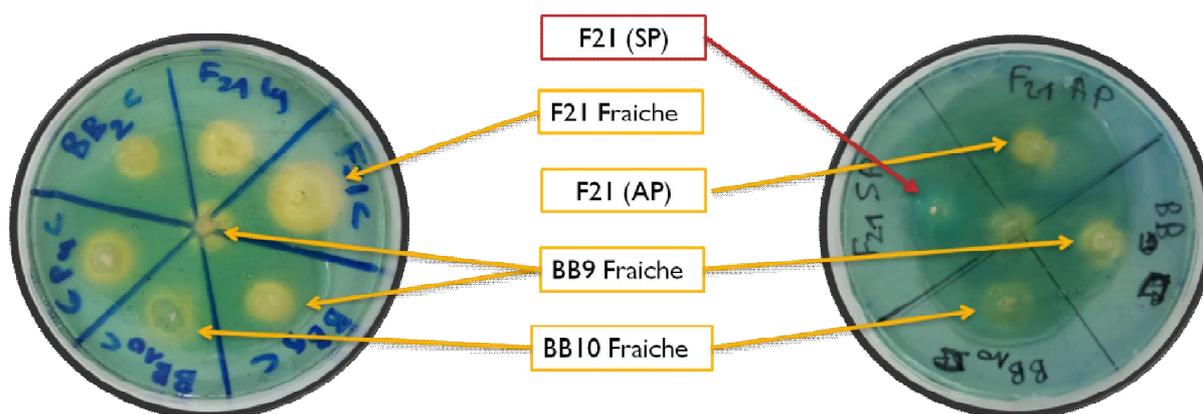
# **PARTIE III**

## **RESULTATS ET DISCUSSIONS**

## I. Resultats et interpretation

### I.1. La détection des sidérophores.

La production des sidérophores par les trois souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes (BB9, BB10 et F21) est confirmée par un changement de couleur du milieu chrome azurol (CAS) après 72h d'incubation (**Figure 15**). Le test CAS est positif seulement pour les isolats frais et lyophilisés avec cryoprotection. Concernant la souche F21(Fr), elle a pu former le plus grand halo orangé par rapport aux autres souches. Contrairement le teste CAS est négative pour les souches lyophilisées sans cryoprotection (BB9, BB10 et F21) se qui confirme l'absence de la production des sidérophores. Cependant le virement de la couleur bleu à l'orange résulte d'une chélation ou une élimination du  $Fe^{3+}$  du colorant chrome par les sidérophores.



**Figure 15:** Test CAS pour la détection des sidérophores.

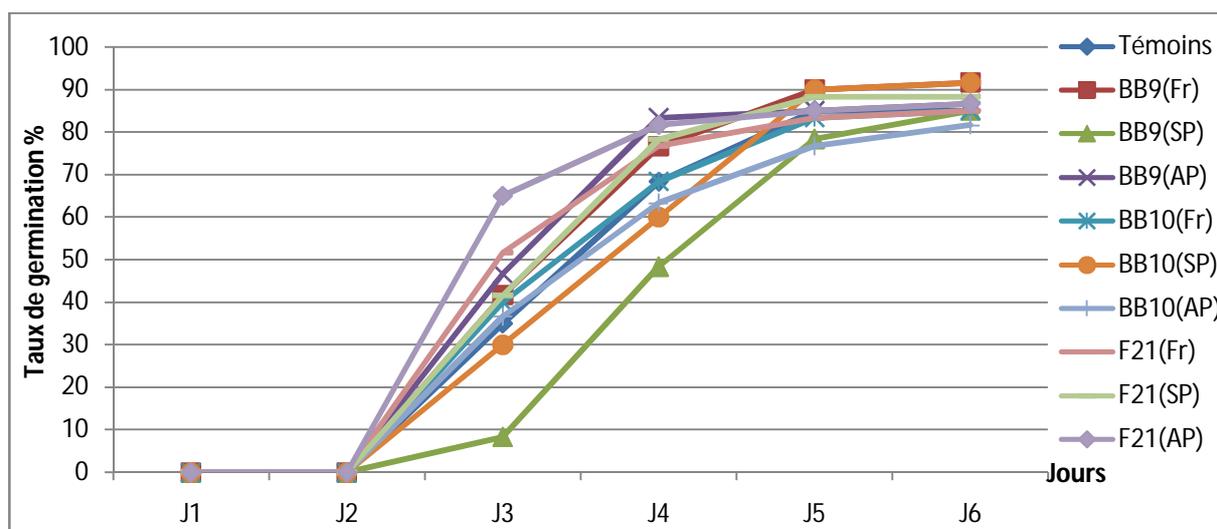
Le test CAS est le dosage universel pour la détection des sidérophores. Le principe de ce dosage est basé sur un changement de couleur du CAS du bleu vers à l'orange résultant de l'élimination des sidérophores du  $Fe^{3+}$  du colorant azurol au chrome (Guan et *al.*, 2001). Cependant nos résultats sont confirmés par l'étude de ; Bhattacharya (2010), Sreedevi et *al.*, (2014) et Bholay et *al.*, (2012), dans lequel le test CAS effectués aux *Pseudomonas* spp. fluorescents est positif par le virement de la couleur bleu du milieu vers l'orange.

## II. Evaluation de la biostimulation de la germination.

### II.1. Cinétique du taux de germination :

#### - Saint pierre

D'après les résultats obtenus pour le taux de germination des graines de la variété Saint Pierre, nous enregistrons une différence significative entre les plants bactérisés et le témoin ( $p=0.01$ ) (**Annexe 03**).



**Figure 16:** Evolution du taux de germination (%) des graines de la variété Saint Pierre.

Selon nos résultats (**Figure16, Annexe 04**), le taux de germination des graines de la variété Saint pierre n'a démarré qu'après le deuxième jour d'incubation pour les différents traitements y compris le témoin. Au bout du troisième jour, nous constatons que le taux de la germination des différents traitements est supérieur au témoin sauf pour les deux traitements bactérisés par la souche BB9(SP) (8.33%) et BB10(SP) (30%), où nous avons pu remarquer un ralentissement très apparents chez la souche BB9(SP) à partir du deuxième jour jusqu'au cinquième jour. L'avantage d'une évolution de germination très rapide est apparent surtout au niveau des graines traitées avec la souche F21 (AP).

Au bout du quatrième jour d'incubation, nous avons enregistré des taux de germination les plus élevés atteignant le maximum par les graines bactérisées par la souche BB9(AP) (83.33%) et la souche F21(AP) (81.76%). La stabilité de l'évolution du taux de la germination a commencé le quatrième jour pour les deux derniers

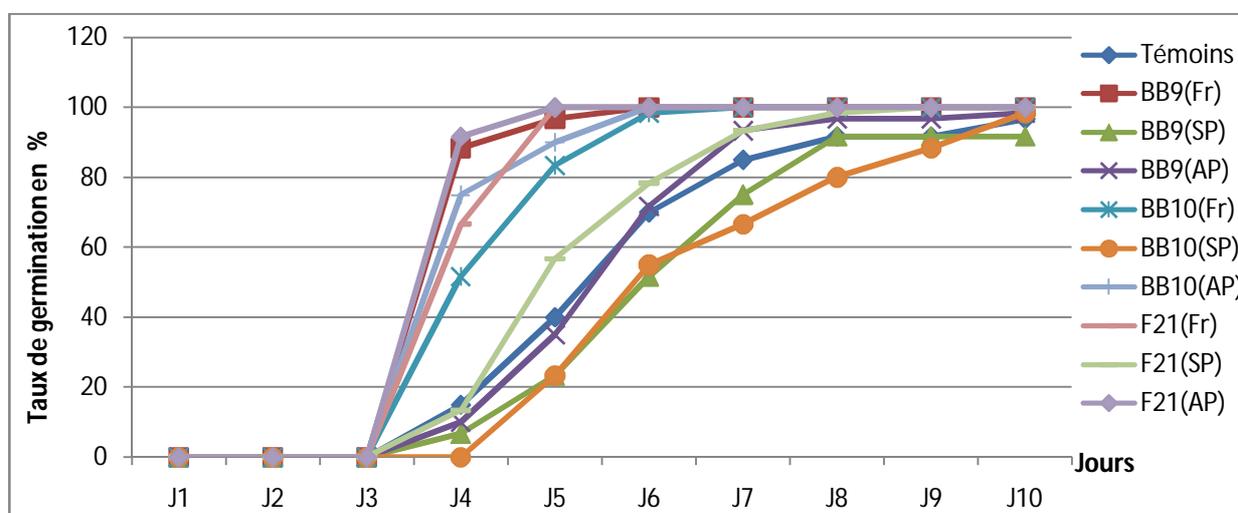
traitements. Après le cinquième jour une stabilité de l'évolution du taux de germination est signalée pour les différents traitements y compris le témoin.

L'analyse de la variance du taux de la germination des graines de la variété Saint Pierre effectuée lors du sixième jour, n'a montré aucune différence significative entre les traitements étudiés ( $p=0.932$ ) (**Annexe 05**). A cette période le taux le plus élevé (91.67%) a été enregistré chez les traitements BB9 (Fr) et BB10 (SP), et le taux minimale (85%) a été enregistré par le témoin et les traitements bactérisés par les souches BB9(SP), BB10(Fr) et F21(Fr).

Cependant le teste de Newman-Keuls effectué sur les différentes traitements étudiés, classe ces derniers en un seul groupe (a) (**Annexe 06**).

#### - Marmande

L'analyse de la variance du taux de la germination des graines de la variété Marmande montre une différence très hautement significative entre les différents traitements ( $p=0.00$ ) (**Annexe 07**).



**Figure 17:** Evolution du taux de germination (%) des graines de la variété Marmande.

D'après les résultats (**Figure17, Annexe 08**), nous remarquons que le taux de germination des graines de la variété Marmande n'a démarré qu'après le troisième jour d'incubation pour les différents traitements, sauf pour les graines traitées avec la souche BB10(SP) qui n'a démarré qu'après le quatrième jour. Dans cette période, nous remarquons une évolution très intense du taux de germination des graines traitées par les différentes bactéries organisées du plus grand taux au plus petit :

F21(AP) (91.67%), BB9(Fr) (88.33%), BB10(AP) (75%), F21(Fr) (66.67%) et BB10 (Fr) (51.67%).

Au cours du cinquième jour, le taux de germination atteint sont maximum (100%) chez les traitements bactérisés par les deux souches F21(Fr) et F21(AP) suivie par BB9(Fr) et BB10(AP) lors du sixième jour, puis par BB10(Cr) le septième jour. En cette dernière période, il a été remarqué que les graines bactérisées par les souches BB9(SP) (75%) et BB10(SP) (66.67%), leurs taux de germination est inferieur au témoin (85%).

A partir du huitième jour le taux de germination attient son maximum pour les différents traitements bactérisés, sauf pour les graines bactérisés par la souche BB10(SP) (98.33%) qui a pu se stabiliser jusqu'aux dixièmes jours.

L'analyse de la variance du taux de la germination des graines de la variété Marmande effectuée lors du dernier jour, montre une différence significative entre les traitements étudiés ( $p=0.028$ ) (**Annexe 09**). D'après les résultats obtenus le dixième jour (Annexe), les graines bactérisées par les souches BB9(Fr), BB10(Fr), BB10(AP), F21(Fr), F21(SP) et F21(AP) ont enregistré des taux de 100%. Par contre, les graines bactérisés par les souches BB9(SP) ont enregistrées un taux de 91.67% qui est inferieur au témoin (96.67%).

D'après le teste de Newman-Keuls au seuil de 5% effectuée lors du dernier jour, tous les traitements sont classés dans un seul groupe (b) sauf les graines bactérisés par la souche BB9(SP) est classée seul dans le groupe (a) (**Annexe 10**).

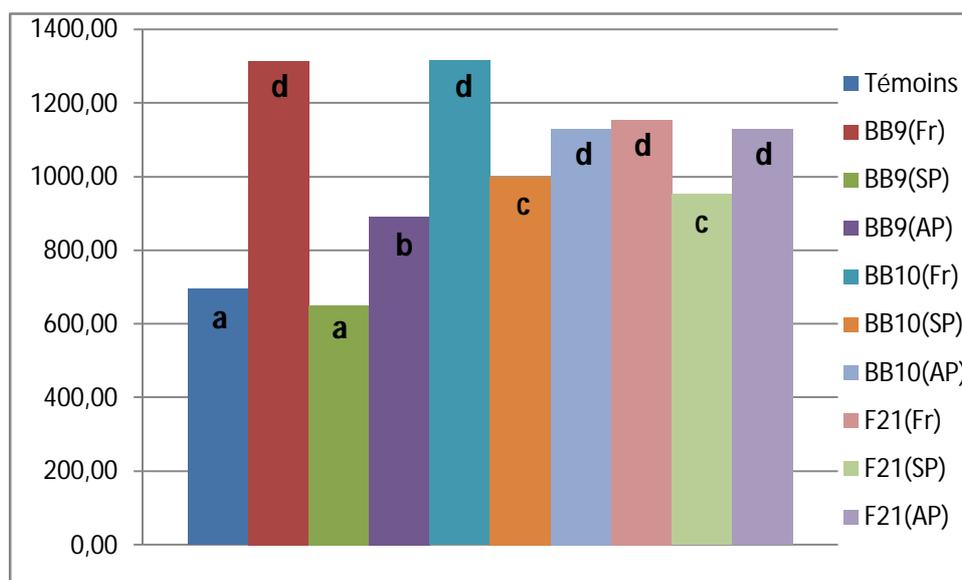
## II.2. Indice de vigueur :



**Figure 18:** Effet de la bacterisation par la souche F21 sur la stimulation de la germination des graines de tomate de la variété Marmande.

L'enrobage des graines avec les souches étudiées a considérablement amélioré la germination des semences et la vigueur des plantules de tomates. Cependant, des variations significatives sont observées dans la longueur des pousses, la longueur des racines (**Figure 18**) et la vigueur des semis chez les semences bactérisées par rapport aux témoins non traités.

L'analyse statistique concernant l'indice de vigueur, montre qu'il existe une différence très hautement significative entre les différents traitements étudiés ( $p=0.000$ ) (**Annexe 11**).



**Figure 19:** Valeur d'indice de vigueur des différents traitements.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

D'après les résultats (**Figure 19, Annexe 12**), les traitements bactérisés avec les souches BB9(Fr) et BB10(Fr), affichent respectivement les plus grandes valeurs d'indice de vigueur de 1313.50 et 1315 observée lors du dixième jour. Cependant, la valeur la plus faible marquante en indice de vigueur est de 650,38 apparente chez les traitements bactérisés par la souche BB9(SP).

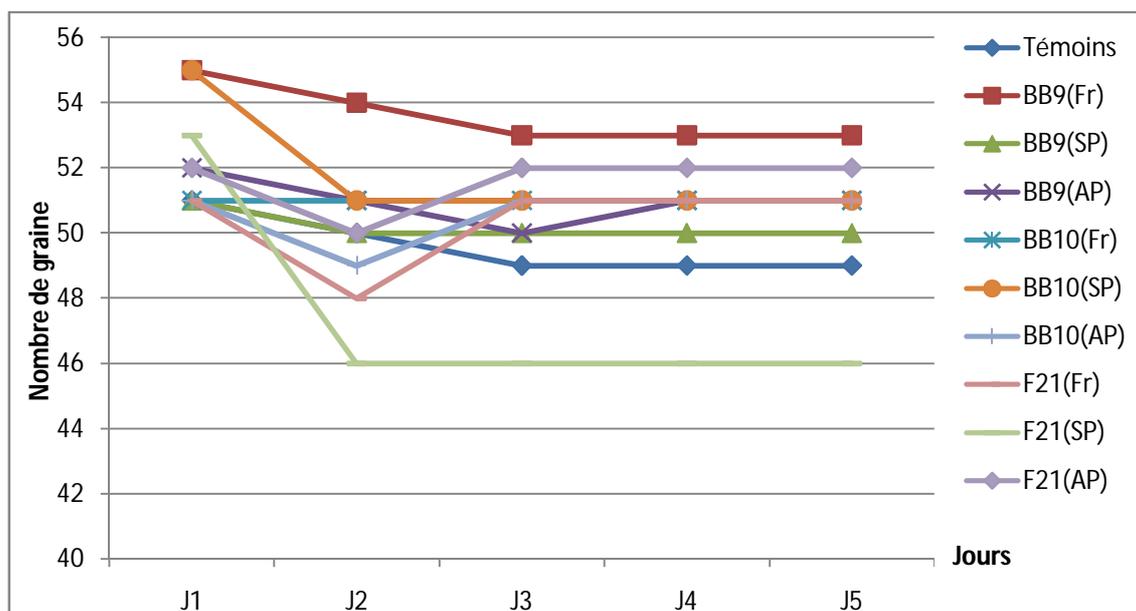
Selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ), nous constatons l'existence de quatre groupes homogènes (a, b, c et d) (**Annexe 13**) représentés sur la **figure (19)**. D'où le groupe (d) classe tout les traitements bactérisés par des souches fraîches et lyophilisées avec cryoprotection dans un seul groupe. Sauf les traitements de la souche BB9(AP) qui sont classés seuls dans le groupe (b). Cependant les traitements bactérisés avec les souches lyophilisées sans cryoprotection sont classés

s dans le groupe (c), sauf les traitements de la souche BB9(SP) qui est classée avec les témoins dans le groupe (a).

### II.3. Suivre de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles :

Le suivi de la survie et de la mortalité après la mise en alvéoles des plantules des deux variétés, montre qu'il existe une différence hautement significative entre tous les traitements étudiés ( $p = 0.000$ ) (**Annexe 14, Annexe 16**).

#### -Saint pierre



**Figure 20:** le suivi de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Saint pierre.

Selon les résultats (**Figure 20, Annexe 15**), le suivi de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Saint pierre est effectué durant cinq jours.

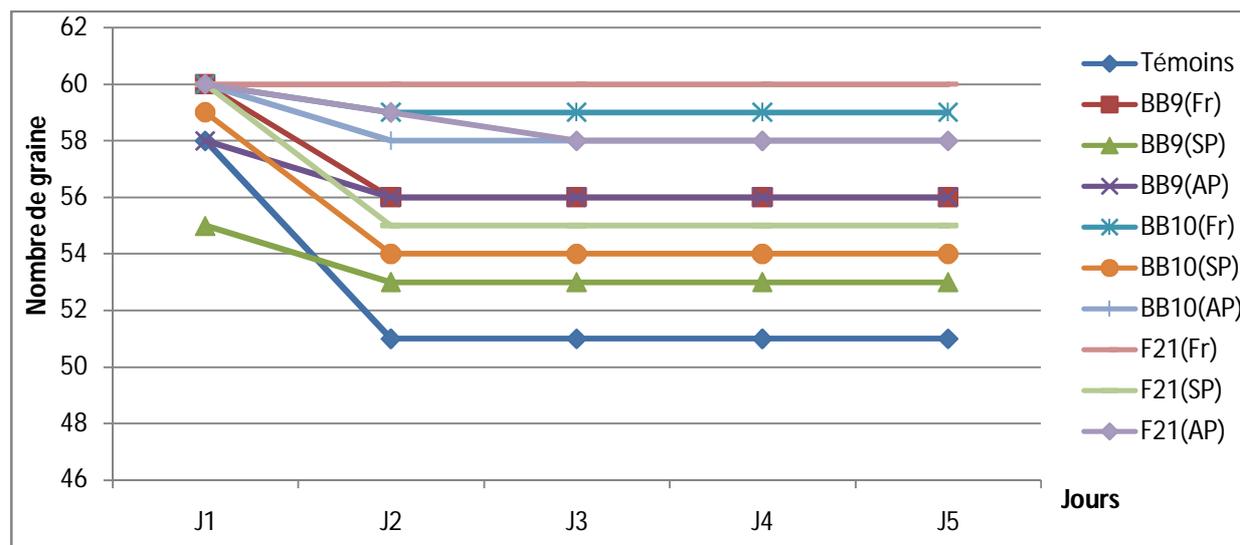
Du premier au deuxième jour de la transplantation, nous remarquons une réduction en nombre de graines germées des différents traitements, où un rabaissement aiguë de 7 plantules est observée chez les plantules traitées par la souche F21(SP), cela est dû à l'exposition des plantules aux facteurs semi contrôlés de la serre.

Cependant du deuxième au troisième jour, une continuation en réduction en nombre de graines traitées par BB9(Fr), BB9(AP) et les graines non bactériées.

Durant cette période la, une reprise est apparue chez les graines bactérisées par F21 (Fr), F21 (AP) et BB10 (AP), sauf les graines bactérisées par la souche BB9 (AP) dans laquelle la reprise est observée lors du jour suivant.

A partir du troisième au cinquième jour, une stabilité en nombre est remarquer chez la plus part des traitements étudiées.

### -Marmande



**Figure 21:** Le suivi de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Marmande.

Selon les résultats (**Figure 21, Annexe 17**), le suivi de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Marmande est effectuer durant scinque jours.

Du premier au deuxième jour de la transplantation, nous remarquons une réduction en nombre de graines germées des différents traitements sauf pour les traitements de la souche F21(Fr) dans laquelle une stabilité est remarquée durant toute la période du suivie. Dans cette période, un rabaissement aiguë est observé chez les graines non bactérisées (témoins).

Cependant du deuxième au troisième jour, une continuation en réduction en nombre de graines traitées par la souche F21 (AP). A cette période la, une stabilité en nombre de graines est remarquer chez la plus part des traitements étudiées jusqu'au cinquième jour.

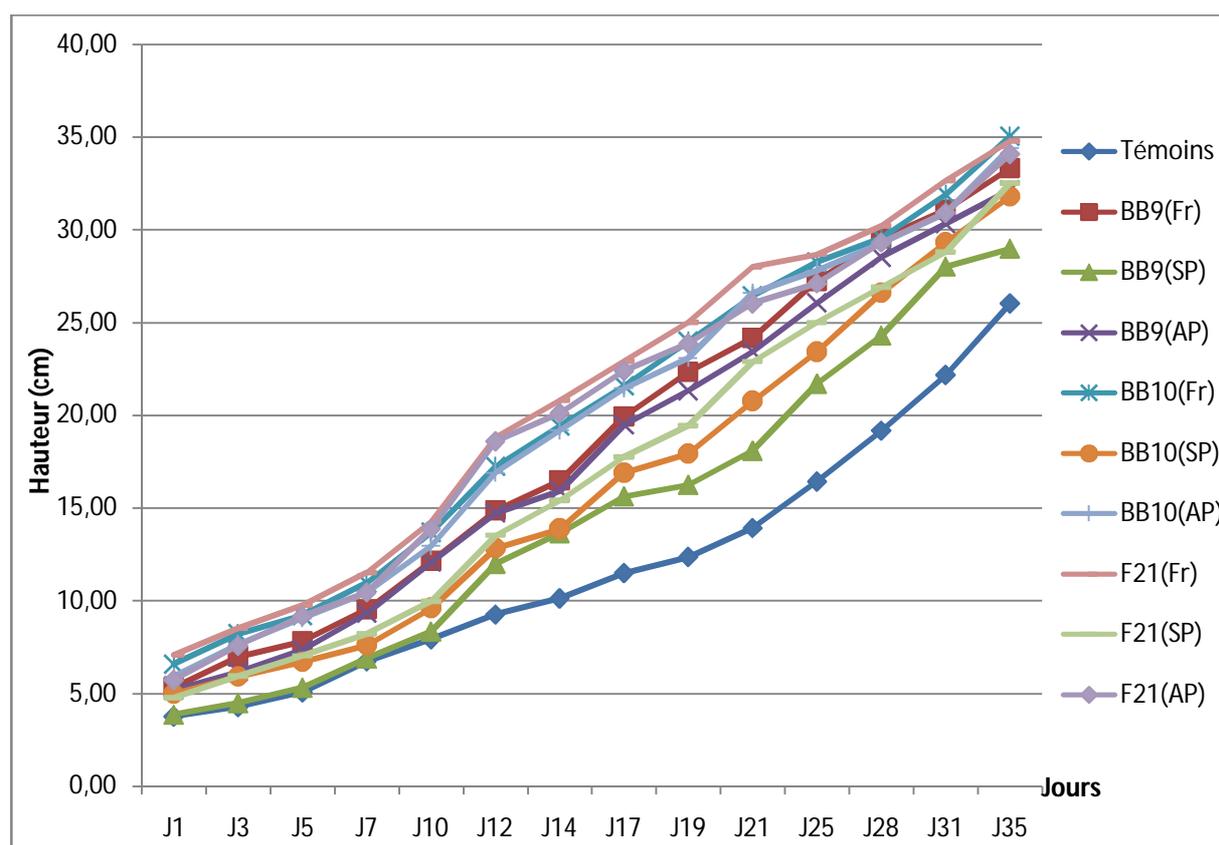
### III. Evaluation des paramètres de croissance

Les paramètres de croissance étudiés sur la tomate sont évalués pendant trois périodes différentes, la première après 33 jours de la bactérisation, la deuxième après 42 jours de la bactérisation et la troisième après 58 jours de la bactérisation.

Nous remarquons en générale, une efficacité de la stimulation des paramètres de croissance apparentes chez tous les plants subissant des traitements de bactérisation par rapport aux plants témoins non bactérisés.

#### III.1. Cinétique de croissance

Les mesures de la hauteur des tiges après l'établissement des courbes de tendances, montrent qu'il existe une différence significative entre tous les traitements étudiés ( $p = 0.01$ ) (**Annexe 18**) pendant une période de 35 jours.



**Figure 22:** Evolution de la hauteur des tiges des différents traitements en fonction des jours.

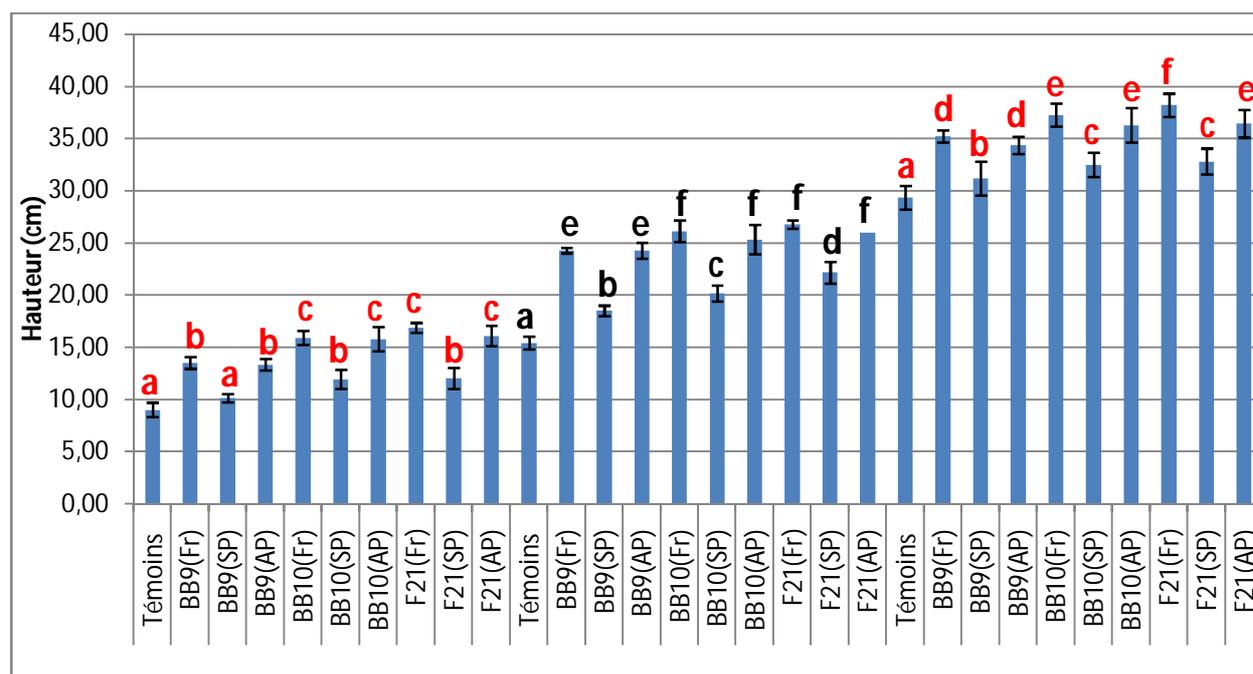
D'après les résultats (**Figure 22, Annexe 19**), les plantes bactérisées avec les différents traitements montrent des longueurs de tiges supérieures à celle des plants

non bactérisés. Dans lesquels les plants bactérisés avec des souches fraîches et lyophilisées avec cryoprotection enregistrent les hauteurs les plus élevées au cours des 35 jours par rapport aux plants bactérisés avec des souches lyophilisées sans cryoprotection.

Pour le dernier jour, nous enregistrons une différence hautement significative entre les différents traitements ( $P=0.00$ ) (**Annexe 20**), dans lesquels les plants bactérisés avec la souche BB10(Fr) montrent les hauteurs les plus élevées avec une moyenne de 35.05 cm, par rapport aux plants témoins (26.02 cm).

### III.2. Hauteur des tiges :

D'après les résultats obtenus pour la hauteur des tiges, nous enregistrons une différence hautement significative durant les trois périodes entre les plants bactérisés et les plants témoins ( $p<0.05$ ) (**Annexe 20**).



**Figure 23:** hauteur des tiges des différent traitements lors des trois périodes.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

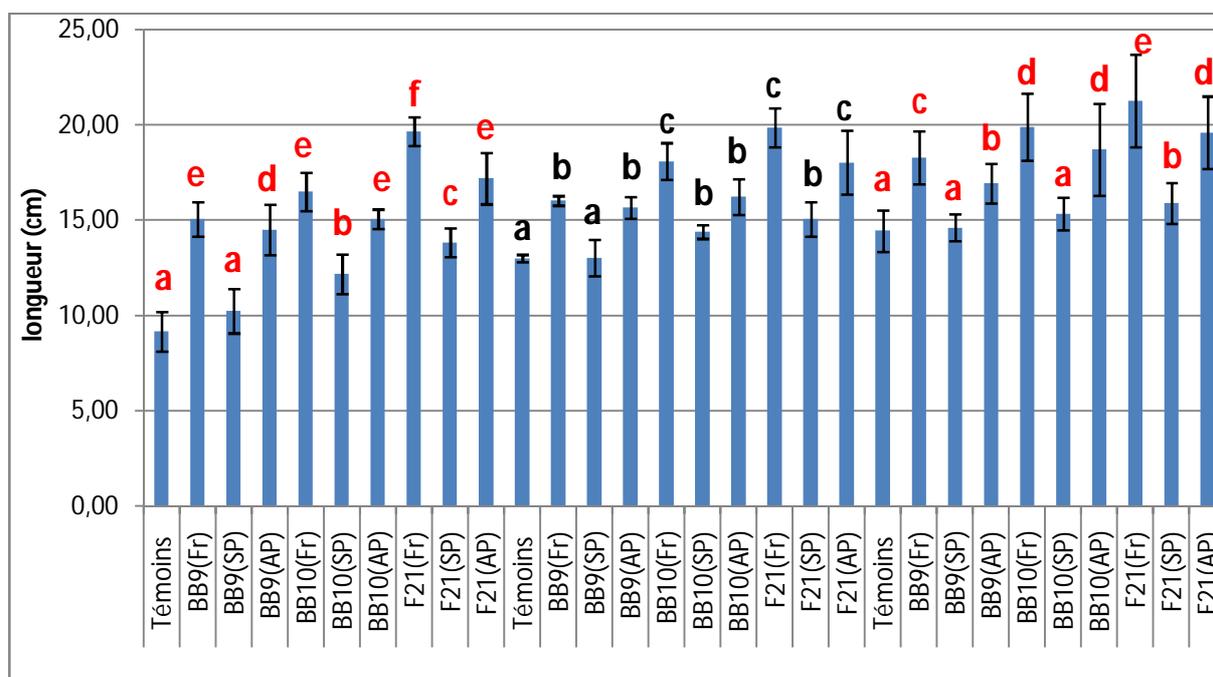
D'après les résultats obtenus (**Figure 23, Annexe 21**), les plants bactérisés avec la souche F21(Fr) montrent les hauteurs les plus élevées durant les trois périodes situées consécutivement (16.85 cm, 26.77 cm et 38.19 cm), comparativement aux plants non bactérisés marquant les hauteurs les plus faibles

durant la première, la deuxième et la troisième période respectivement : 9.00 cm, 15.34 cm et 29.33 cm.

Durant les trois périodes, les hauteurs des différents traitements sont classées selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ) (**Figure 23, Annexe 21**). Pour la première période, les traitements sont classés en trois groupes (a, b et c), alors que durant la deuxième et la troisième période, ils sont classés en quatre (a, b, c et d) et huit (a, b, c, d, e, f, g et h) groupes respectivement.

### III.3. Longueurs des racines :

Les mesures de la longueur des systèmes racinaires effectuées lors des trois périodes respectivement montrent une différence hautement significative entre les traitements étudiés ( $p=0.00$ ) (**Annexe 20**).



**Figure 24:** longueur du système racinaire des différents traitements lors des trois périodes.

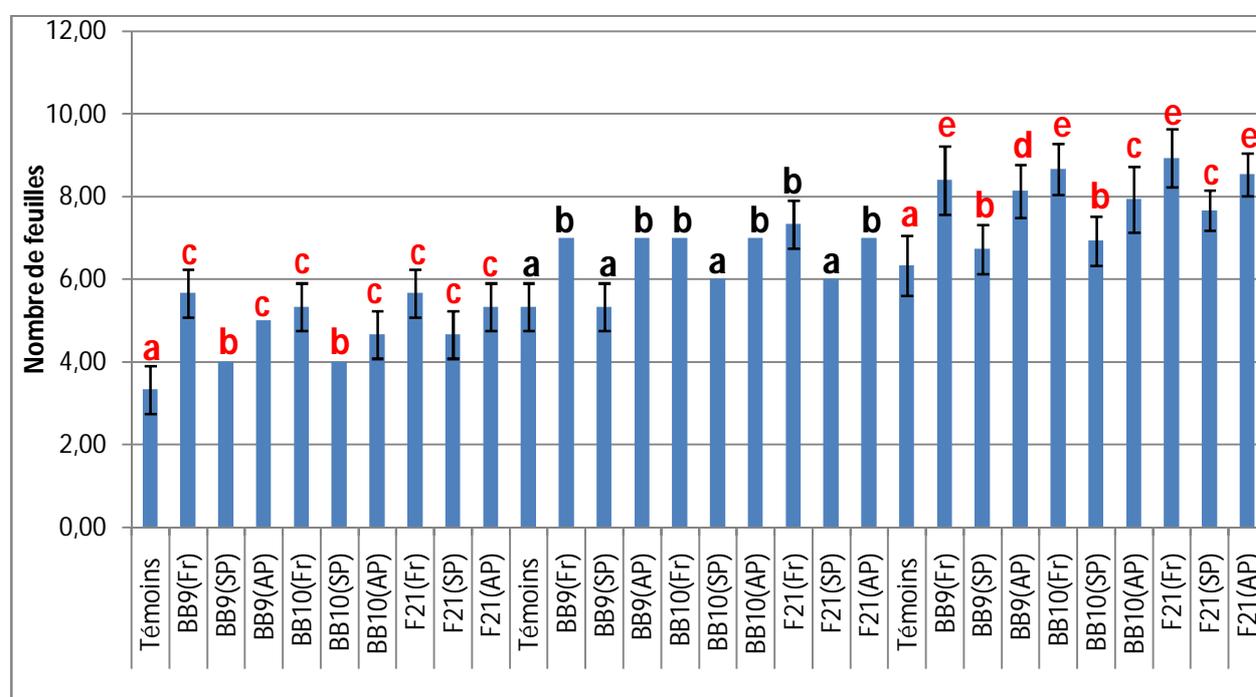
Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

Selon les résultats obtenus (**Figure 24, Annexe 21**), les meilleurs résultats sont enregistrés durant les trois périodes avec des longueurs de 19.66 cm, 19.86 cm et 21.28 cm successivement apparaissant chez les plants bactérisés par la souche F21(Fr), comparativement aux plants non bactérisés qui enregistrent les hauteurs les plus faibles durant la première, la deuxième et la troisième période respectivement : 9.17 cm, 13 cm et 14.45 cm.

D'après la **figure (24)**, une classification des différents traitements en groupe est effectués selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ) (**Annexe 21**). Pour la première période, les traitements sont organiser en six groupes (a, b, c, d, e et f), alors que durant la deuxième et la troisième période, ils sont classés en trois (a, b et c) et cinq groupe (a, b, c, d et e) respectivement.

#### III.4. Nombre de feuilles :

D'après les résultats obtenus concernant les valeurs du nombre de feuille, remarquons qu'il y a une différence significative entre les valeurs des traitements des plants bactérisés et le témoin ( $p=0.000$ ) (**Annexe 20**).



**Figure 25:** nombre de feuille par périodes appartenant aux différents traitements.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

D'après les résultats illustrés par la **figure (25)**, nous enregistrons durant la première période une valeur maximal commune (5,67 feuilles) entre les plants bactérisés par les la souche BB9 (Fr) et F21(Fr). Cependant les plants témoins non bactérisés enregistrent les valeurs les plus faibles (3,33 feuilles) (**Annexe 21**).

Pour la deuxième période, les plants bactérisés par les la souche F21(Fr) marquant la valeur la plus élevée (7.33 feuilles), par contre une valeur minimale (5,33 feuilles) est signaler chez les plants non bactérisés et les plants traitées par la souche BB9(SP).

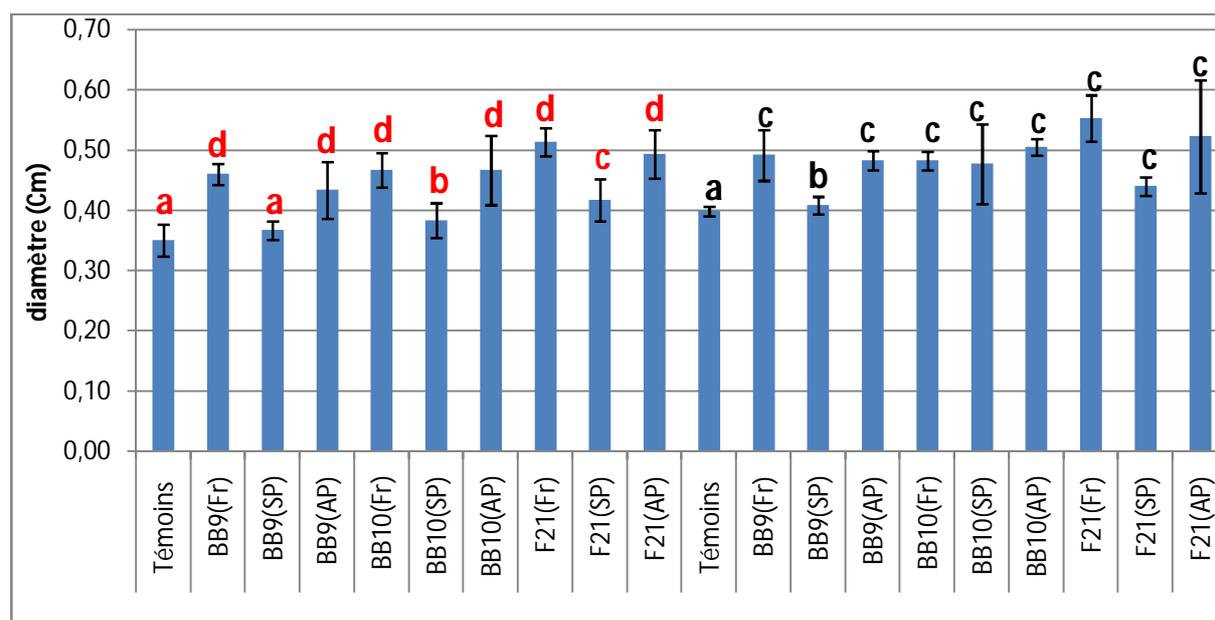
Concernant la troisième période, nous constatons que les plants bactérisés par la souche F21(Fr) enregistrent la valeur la plus élevée (8.93 feuilles) comparé aux différents traitements et les plants témoins non bactérisés (6.33 feuilles).

Cependant les différents traitements sont classés en groupe selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ) (**Annexe 21**).

Dans la première période les traitements sont classés en trois groupes (a, b et c) alors que durant la deuxième et la troisième période, ils sont classés en deux (a et b) et cinq groupe (a, b, c, d et e) respectivement (**Figure 25**).

### III.5. Diamètre des tiges :

L'évaluation du diamètre des tiges est effectuée en deux périodes. Pour le diamètre des tiges, nous enregistrons des différences significatives entre les différents traitements et le témoin lors des deux périodes ( $p=0.00$ ) (**Annexe 20**).



**Figure 26:** diamètre des tiges des différents traitements lors des deux périodes.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

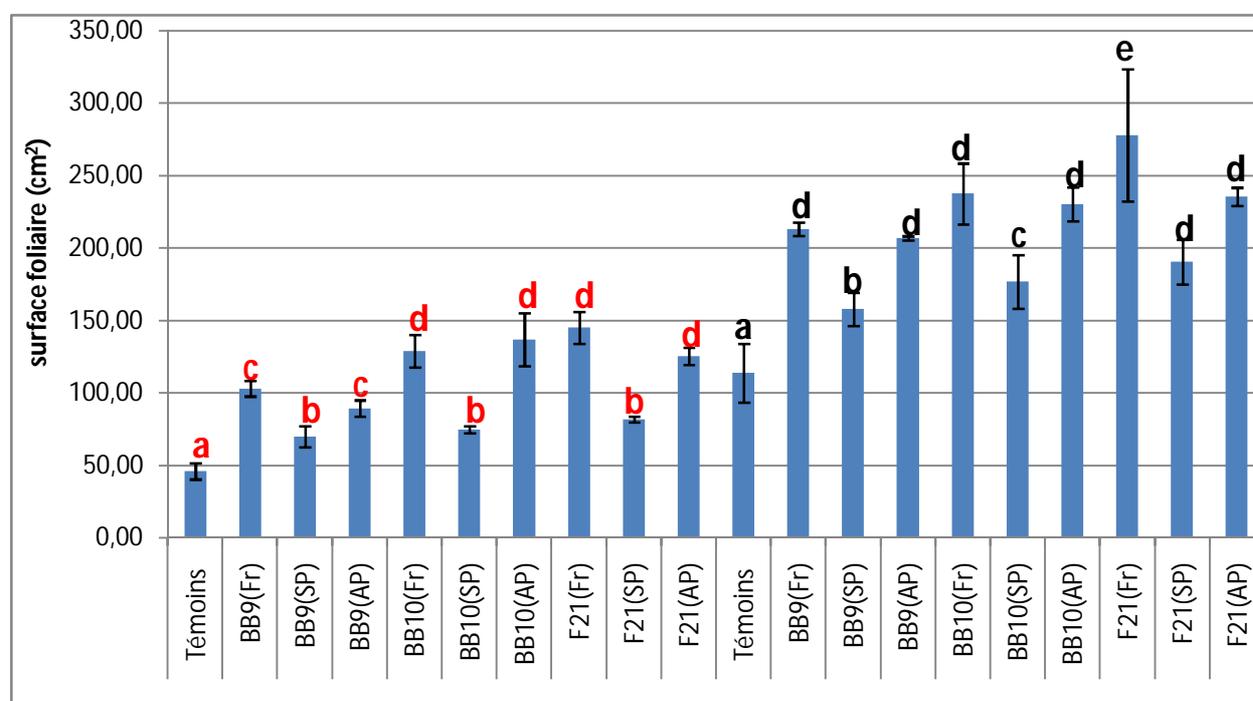
D'après les résultats obtenus (**Figure 26, Annexe 21**), la meilleure performance enregistré dans la première et la deuxième période, est signalée chez les plants traitées par la souche F21(Fr) (0.51 cm et 0.55 cm respectivement aux périodes) par rapport aux différents traitements et aux témoins non bactérisés qui marque la valeur la plus inférieure à tous les traitements (0.35 cm et 0.40 cm respectivement).

Le test de Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ) est effectué durant les deux périodes pour classer les différents traitements étudiés (**Annexe 21**).

Pour la première période, les traitements sont classés en quatre groupes (a, b, c et d), alors que durant la deuxième ils sont classés en trois groupes (a, b et c) (**Figure 26**).

### III.6. Surface foliaire

L'évaluation de la surface foliaire a été effectuée au cours de deux périodes. Les valeurs obtenues enregistrent des différences significatives entre les plants traités par les différentes souches et les témoins qui sont non bactérisés ( $p=0.00$ ) (**Annexe 20**).



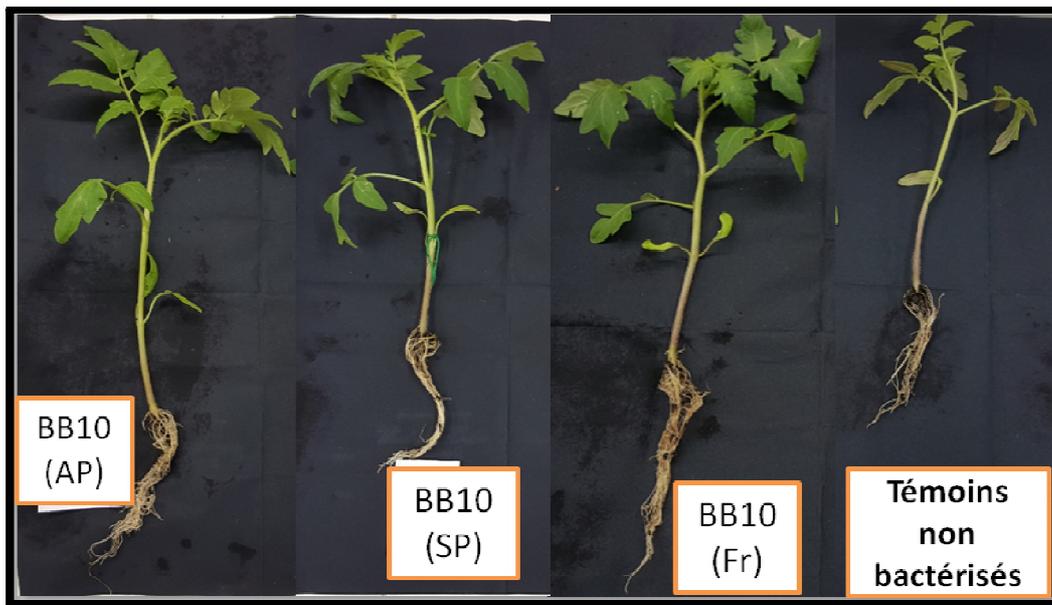
**Figure 27:** surface foliaire des différents traitements lors des deux périodes.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

D'après les résultats (**Figure 27**, **Annexe 21**) obtenus, les deux périodes révèlent une meilleure efficacité de la souche F21 (Fr) ( $145.10 \text{ cm}^2$  et  $278.01 \text{ cm}^2$  successivement par rapport aux périodes) qui a assuré une stimulation de la croissance de la surface foliaire par rapport aux différents traitements bactérisés et non bactérisés ( $46.06 \text{ cm}^2$  et  $113.88 \text{ cm}^2$  située respectivement par rapport aux périodes).

Le test de Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ) effectué durant les deux périodes a permis de classer les traitements étudiés en différents groupes (**Figure 27, Annexe 21**).

Pour la première période, les traitements sont classés en quatre groupes (a, b, c et d), alors que durant la deuxième période les traitements sont classés en cinq groupes (a, b, c, d et e).



**Figure 28:** Effet des traitements bactériens de la souche BB10 sur la stimulation de la croissance des plants de tomates en première période.

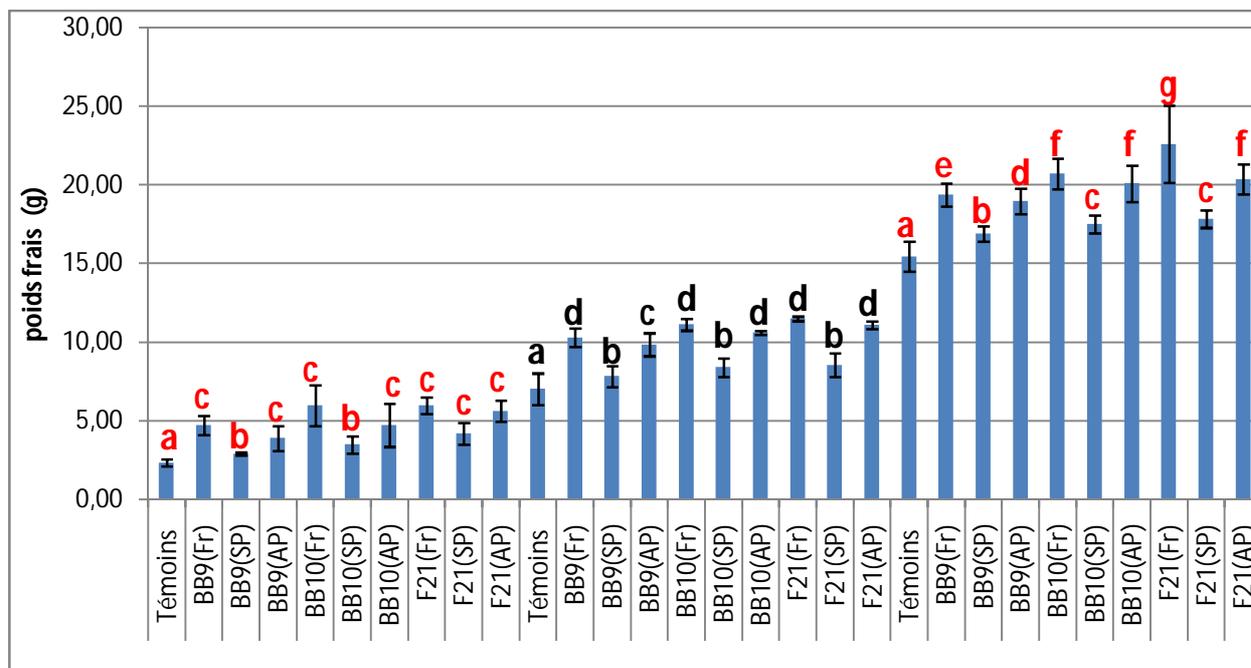


**Figure 29:** effet des traitements bactériens de la souche BB9 sur la stimulation de la croissance des plants de tomates en troisième période.

### III.7. La phytomasse

#### III.7.1. Poids frais de la partie aérienne

Les résultats obtenus en poids frais de la partie aérienne des différents traitements, montrent qu'il existe une différence hautement significative durant les trois périodes ( $p=0.000$ ) (**Annexe 20**).



**Figure 30:** poids frais de la partie aérienne en gramme des différents traitements.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

Les résultats du poids frais de la partie aérienne des différents traitements bactérisés y compris le témoin sont représentés par **la figure (30)**.

Pour la première période, l'efficacité de la bactérisation est enregistrée chez tous les traitements bactérisés par rapport aux témoins (2.33 g), dans lequel nous constatons un meilleur résultat du poids frais chez les traitements bactérisés par la souche BB10(Fr) (5.96 g) (**Figure 30, Annexe 21**).

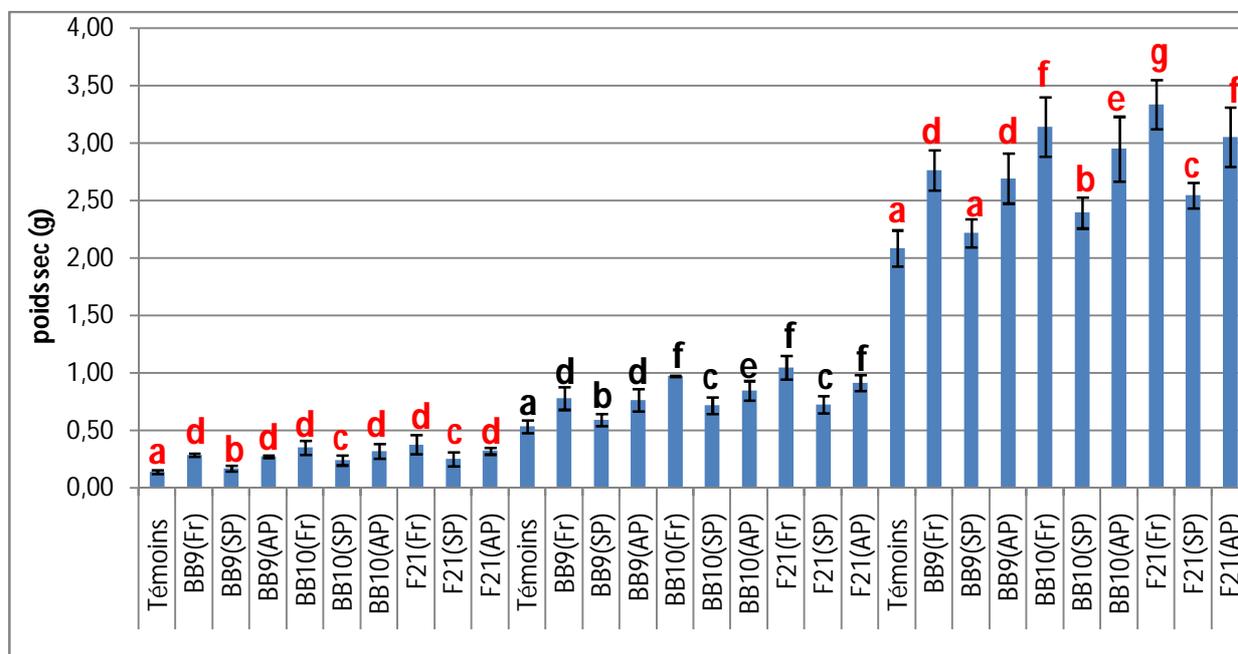
Durant la deuxième et la troisième période en poids frais, la meilleure performance est obtenue par les plants bactérisés par la souche F21(Fr) (11.49 g et 22.58 g situées respectivement), par contre durant les trois périodes les plants témoins non bactérisés enregistrent les valeurs les plus faibles en poids frais de la partie aérienne (2.33 g, 7.01 g et 5.44 g respectivement) (**Figure 30, Annexe 21**).

Selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ), les moyennes des traitements sont classées en différents groupes durant les trois périodes (**Figure 30, Annexe 21**).

Pour la première période les traitements sont classés en trois groupes (a, b et c). Alors que durant la deuxième et la troisième période, ils sont classés en quatre (a, b, c et d) et sept groupes (a, b, c, d, e, f et g) respectivement.

### III.7.2. Poids sec de la partie aérienne :

Les résultats obtenus en poids sec de la partie aérienne des différents traitements, montrent qu'il existe une différence hautement significative durant les trois périodes ( $p=0.000$ ) (**Annexe 20**).



**Figure 31:** poids sec de la partie aérienne en gramme des différents traitements.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

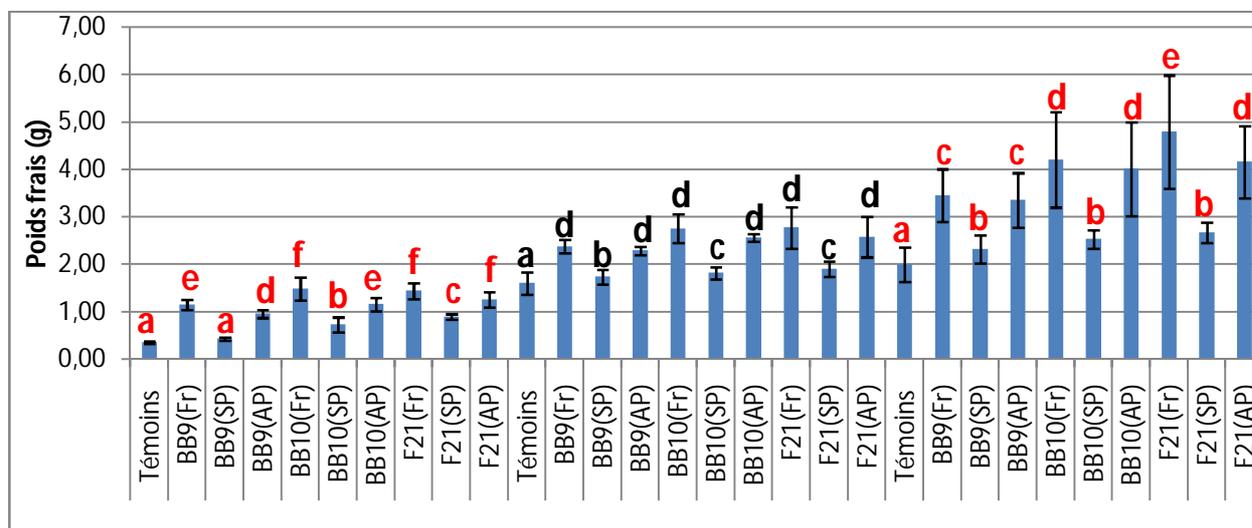
D'après les résultats (**Figure 31, Annexe 21**) obtenus durant les trois périodes, nous remarquons que les plants bactérisés ont eu un effet positif sur le poids sec de la partie aérienne par rapport aux plants témoins. Cependant les valeurs maximales durant les trois périodes ont été obtenues par les plants bactérisés avec la souche F21(Fr) (0.37 g, 1.05 g et 3.33 g). Par contre les valeurs les plus faibles sont remarquées chez les plants témoins non bactérisés durant les trois périodes respectivement (0.14 g, 0.53 g et 2.08 g).

Une classification des différents traitements en groupe est faite selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5% effectué lors des trois périodes sur les différents traitements (**Figure 31, Annexe 21**).

Durant la première période, les traitements sont classés en quatre groupes (a, b, c et d). Alors que durant la deuxième et la troisième période, ils sont classés en six (a, b, c, d, e et f) et sept groupes (a, b, c, d, e, f et g) respectivement.

### III.7.3. Poids frais de la partie racinaire :

Selon les résultats obtenus, la différence en poids frais de la partie racinaire est significative entre tous les traitements bactérisés et les témoins lors des trois périodes ( $p=0.000$ ) (**Annexe 20**).



**Figure 32:** poids frais de la partie racinaire en gramme des différents traitements.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

D'après les résultats obtenus (**Figure32, Annexe 21**), l'efficacité de la bactérisation durant la première période est enregistrée chez tous les traitements bactérisés par rapport aux témoins, dans lequel nous constatons un meilleur résultat du poids frais de la partie racinaire chez les traitements bactérisés par la souche BB10(Fr) par une valeur de l'ordre de 1.48 g.

Durant la deuxième et la troisième période en poids frais, la meilleure performance est obtenue chez les plants bactérisés par la souche F21(Fr) : 2.77 g et 4.79 g situées respectivement.

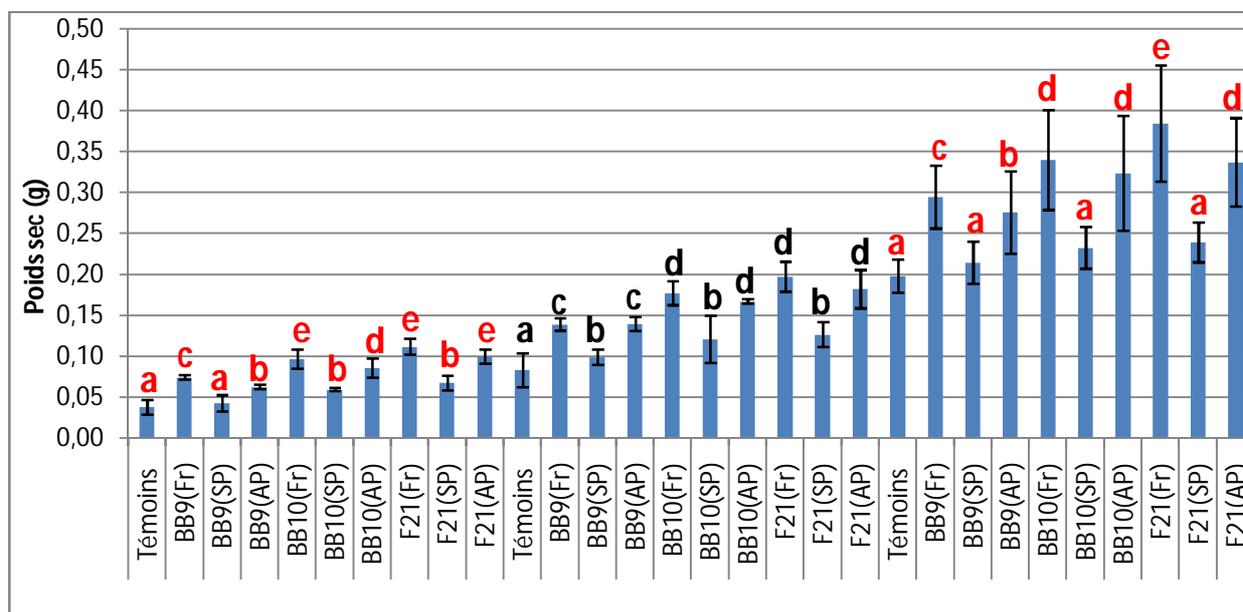
Cependant au cours des trois périodes les plants témoins non bactérisés montrent les valeurs les plus basses en poids frais de la partie racinaire avec les valeurs suivantes situées respectivement 0.35 g, 1.60 g et 1.99 g.

Les moyennes du poids frais de la partie racinaire sont classées selon le test de Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ) en différents groupes pour les trois périodes (**Figure 32, Annexe 21**).

Durant la première période, les traitements sont classés en six groupes (a, b, c, d, e et f). Alors que durant la deuxième et la troisième période, ils sont classés en quatre (a, b, c et d) et en cinq groupes (a, b, c, d et e) respectivement d'après leur ordre d'importance.

#### III.7.4. Poids sec de la partie racinaire :

Selon les résultats obtenus, la différence en poids sec de la partie racinaire est significative entre tous les traitements bactérisés et le témoin lors des trois périodes ( $p=0.000$ ) (**Annexe 20**).



**Figure 33:** poids sec de la partie racinaire en gramme des différents traitements.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque  $\alpha=5\%$ .

D'après les résultats obtenus (**Figure 33, Annexe 21**), l'efficacité de la bactérisation durant les trois périodes est enregistrée chez tous les traitements bactérisés par rapport aux témoins, dans lequel nous constatons un meilleur résultat du poids sec de la partie racinaire chez les traitements bactérisés par la souche F21

(Fr) durant les trois périodes de l'ordre de 0.11 g, 0.20 g et 0.38 g situées respectivement.

Durant la première période les plants témoins non bactérisés et les plants traités par la BB9(SP) enregistrent les valeurs les plus basses en poids sec de la partie racinaire avec une valeur de 0.04 g.

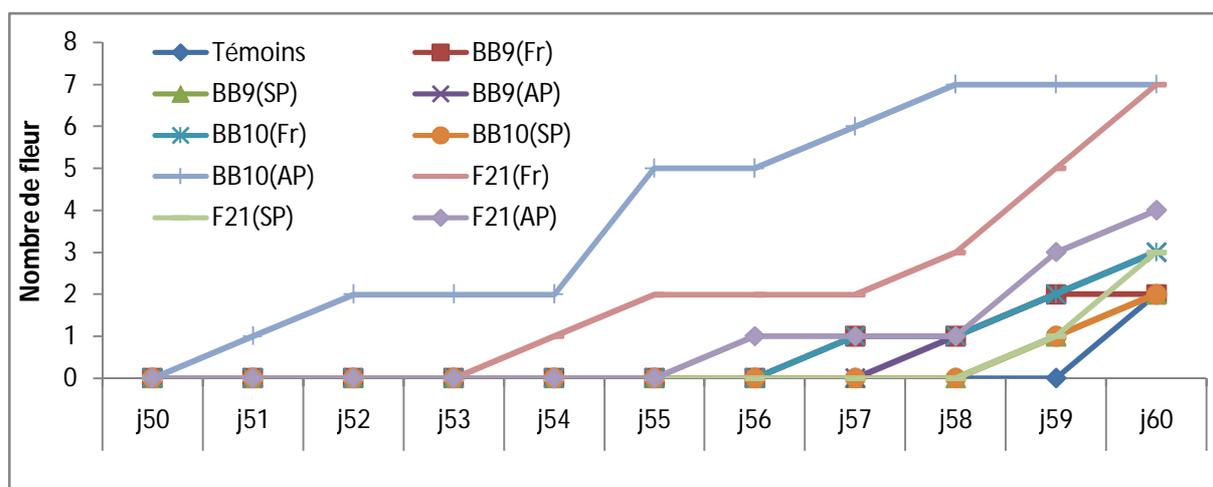
Cependant au cours de la deuxième et la troisième période les plants témoins non bactérisés marquent les valeurs les plus basses en poids sec de la partie racinaire avec les valeurs suivantes situées respectivement 0.08 g et 0.20 g.

Une classification des différents traitements en groupe est faite selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5% effectué lors des trois périodes sur les différents traitements (**Figure 33, Annexe 21**).

Durant la première période, les traitements sont classés en cinq groupes (a, b, c, d et e), Concernant la deuxième période, les traitements sont classés en quatre groupes (a, b, c et d). Cependant durant la dernière période, les traitements sont classés en cinq groupes (a, b, c, d et e) d'après leur ordre d'importance.

### III.8. La floraison :

Selon les résultats obtenus, l'analyse de variance du paramètre de floraison est significative entre tous les traitements bactérisés et le témoin durant la période de suivi ( $p=0.000$ ) (Annexe 22).



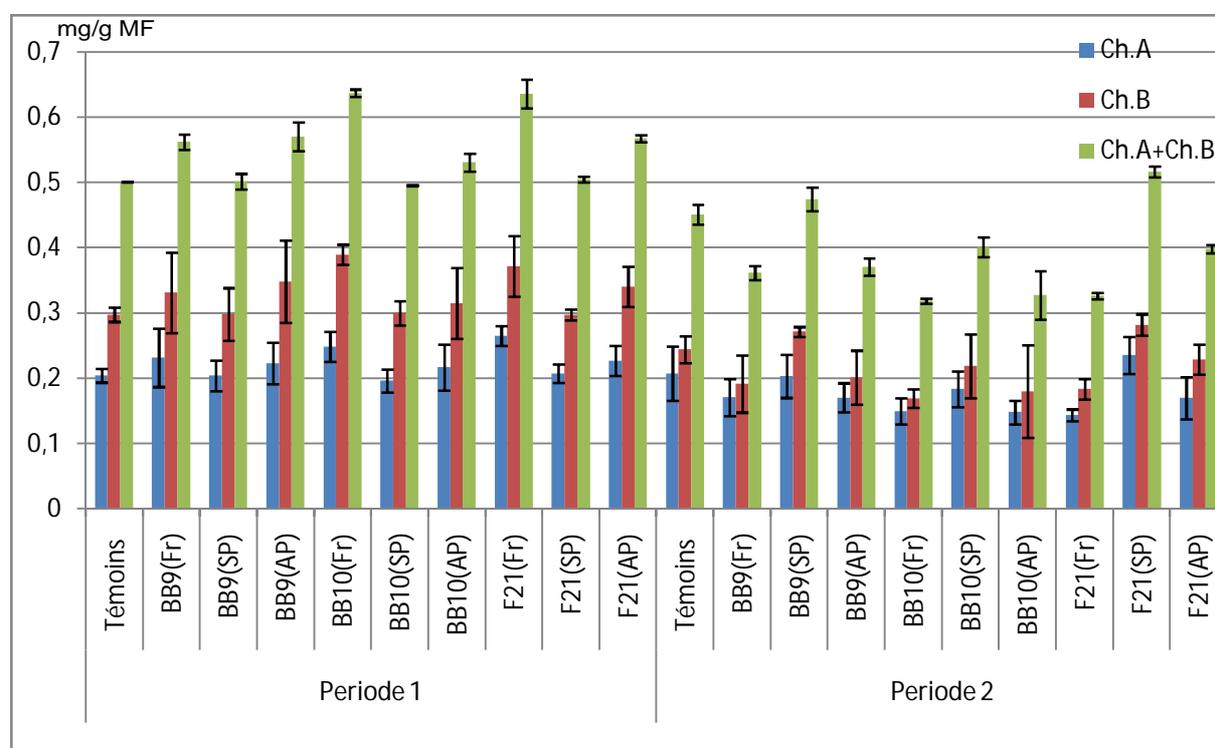
**Figure 34:** évolution de la floraison des différents traitements.

Selon les résultats obtenus (**Figure 34, Annexe 23**), nous remarquons qu'après le cinquante-unième jour de la germination des graines, la floraison des plants est apparue pour la première fois chez les plants traités par la souche BB10 (AP) suivie par les plants traités par la souche F21(Cr) lors du cinquante-quatrième jour, puis par les plants traités par la souche F21(AP) au cinquante-sixième jour et en dernier au soixantième jour par les plants témoins.

Vers la fin de notre expérimentation nous avons pu déterminer le nombre final des fleurs des plants bactérisés des différents traitements étudiés au soixantième jour en comparant avec les témoins non bactérisés. Le nombre le plus important (7 fleurs) a été enregistré chez les plants bactérisés par les souches F21(Cr) et BB10(AP), suivie par la souche F21(AP) (4 fleurs). Cependant le nombre de fleur le moins importants (2 fleurs) est enregistré par les plants traités avec les souches BB9(Cr), BB9(SP), BB10(SP) et les plants témoins.

#### IV. Dosage de la chlorophylle.

L'évaluation de la chlorophylle a été effectuée au cours de deux périodes.



**Figures 35** : Teneurs en pigments chlorophylliens

Selon les résultats obtenus du dosage de la chlorophylle des plants durant les deux périodes (**Figure 35, Annexe 24**), nous remarquons en générale que les

teneurs les plus élevés en chlorophylle totale sont observées chez les plants bactérisés par des souches fraîches, suivie par les plants bactérisés par des souches qui ont subi une lyophilisation avec cryoprotection. Cependant, en dernier lieu les teneurs les plus faibles ou qui sont égales aux témoins sont remarquées chez les plants bactérisés par les souches qui ont subi une lyophilisation sans cryoprotection.

Durant la première période, la performance la plus marquante en chlorophylle totale (a+b) est enregistrée chez les plants bactérisés avec la souche F21(Fr) (0.636 mg/g MF) et la souche BB10(Fr) (0.637 mg/g MF). Cependant les plants bactérisés par la souche BB10(SP) marquent les teneurs les plus faibles en chlorophylle totale (0.496 mg/g MF).

Au cours de la deuxième période, une diminution progressive est observée en pigments chlorophylliens chez les plants traités avec des souches bactériennes fraîches et lyophilisées avec cryoprotection, d'où la performance la plus marquante en chlorophylle totale est enregistrée chez les plants bactérisés avec la souche F21(SP) (0.517 mg/g MF). Cependant la valeur la plus faible en chlorophylle totale est observée chez les traitements bactérisés par la souche BB10(Fr) (0.318 mg/g MF) suivie par F21(Fr) (0.326 mg/g MF).

Un maximum de gains en chlorophylles totale est constaté au cours de la première période (**Annexe 25**) chez la plus part des plants bactérisés par rapport aux témoins. La meilleure performance est marquée chez les plants bactérisés par la souche BB10 (Fr) (27.2%) suivie par la souche F21(Fr) (26.9%) puis par la souche BB9(AP) (13.9%). Cependant les plants traités avec des souches lyophilisées qui ont subi une lyophilisation sans cryoprotection enregistrent des gains plus ou moins égale aux témoins apparaissent chez toute les souches BB9(SP) (0.1%), BB10(SP) (-1.1%) et F21(SP) (0.7%).

Au cours de la deuxième période (**Annexe 25**), une perte très importante est observé en pigments chlorophylliens (a+b) chez les plants traités avec des souches bactériennes fraîches et lyophilisées avec cryoprotection, d'où la performance en gain la plus marquante en chlorophylle totale est enregistrée chez les plants bactérisés avec la souche F21(SP) (14.53%). Cependant les pertes les plus importantes observées en pigments chlorophylliens (a+b) sont enregistrées par les plants bactérisés par la souche BB10(Fr) (-29,46%). Cependant, cette perte est du

au développement intensif des plants bactériés par des souches fraîches et lyophilisées avec cryoprotection d'où les conditions de leurs croissance deviennent réversible à cause du développement du système racinaire dans un pot qui devient très étroit. Ce qui implique le jaunissement des feuilles, le dessèchement puis la mort des plants .

D'après l'étude de Boukerma et *al.*, (2017), la teneur en chlorophylle des plantes bactériés par rapport aux témoins, a montré une augmentation des pigments de chlorophylle chez les plantes traitées avec les souches de *Pseudomonas fluorescens* PF15 and *Pseudomonas putida* PP27 ou leur combinaison. Cependant, les témoins présentent une faible valeur d'indice de chlorophylle.

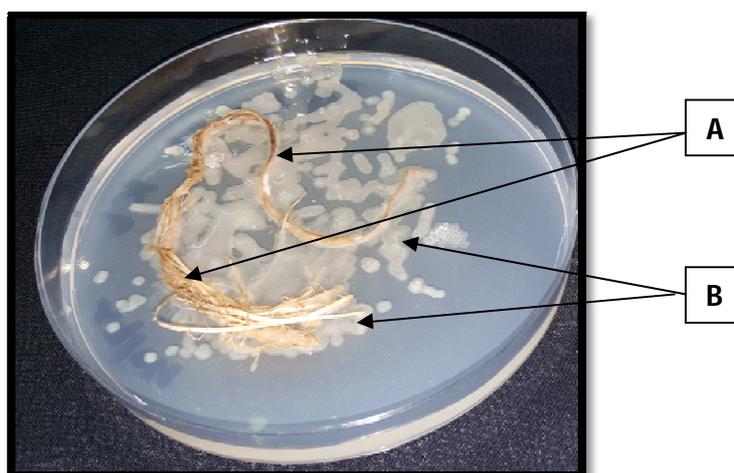
D'après les résultats de Hernández-León et *al.*, (2015), les quatre souches UM16, UM240, UM256 et UM270 de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont induit des concentrations plus élevées en chlorophylle de *Medicago truncatula* (la luzerne). Ces résultats suggèrent que les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents favorisent la croissance des plantes.

Selon les résultats de Faisal et *al.*, (2014), l'inoculation bactérienne par une souche de *Pseudomonas* sur les plantes de blé, a amélioré la production de la chlorophylle (a), la chlorophylle (b) et la chlorophylle totale jusqu'à 4,6%, 10% et 5,5% respectivement.

Nos résultats confirme que la teneur en chlorophylle totale des plants bactériés par des souches fraîches et lyophilisées avec cryoprotection était plus élevée par rapport aux plantes témoins et les plants bactériés par les souches lyophilisées sans cryoprotection. Cela révèle l'effet positif des PGPR appliquées sur la physiologie végétale. Les souches fluorescentes de *Pseudomonas* peuvent augmenter la teneur totale en chlorophylle dans les plantes (Farhan et *al.*, 2010). La capacité des *Pseudomonas* sp. pour améliorer le niveau total de chlorophylle dans les plantes peut être lié à l'apport de certains nutriments tels que l'azote et le phosphore (Hameed et Farhan, 2007).

## V. Colonisation rhizosphérique.

D'après la **figure (36)**, l'essai de la vérification de la survie des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents a montré après 24h à 48h d'incubation, des culture bactériennes tout autour des fragments racinaires, ce qui confirme la présence des PGPR appliqués pour tout les traitements sauf le témoin non bactérisées.



**Figure 36:** culture bactérienne d'un fragment racinaire

A : Fragment racinaire bactérisées par la souche BB9(SP).

B : colonies bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescentes BB9(SP).

L'étape de colonisation rhizosphérique effectuée en dernier lieux, révèlent une bonne colonisation des systèmes racinaire, d'où tous les traitements des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents utilisées, montent une bonne capacité de colonisation rhizosphérique. Cependant la présence et la survie des souches *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la rhizosphère est influencé en partie par le système racinaire des plants, par conséquent les plants libèrent au sein de la rhizosphère divers éléments carbonés relativement riche en éléments nutritifs, en raison de la perte de jusqu'à 40% des photosynthétats (hydrates de carbone et d'autres sous-produits) à partir des racines (Lynch et Whipps, 1990), regroupés sous le terme de rhizodépôts (Lynch et Whipps, 1990 ; Nguyen, 2003 ). Dans lesquels ces rhizodépôts induisent une augmentation des populations microbiennes bénéfiques dans la rhizosphérique par rapport à la masse du sol (Lynch, 1990 ; Bending, 2003).

## VI. Discussion générale

A travers les résultats obtenus de l'évaluation de la biostimulation de la germination et des paramètres de croissances effectués sur la tomate, nous avons pu mettre en évidence l'effet biostimulateur chez les semences bactérisées par les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (BB9, BB10 et F21), par rapport aux plants témoins. Nous avons enregistré des effets de phytostimulation exprimés en gains relatifs par rapport aux plants non bactérisés (**Annexe 26**). Ces gains sont variables selon le génotype végétal, la souche bactérienne, l'effet de la lyophilisation et la cryoprotection.

L'effet des traitements par des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents fraîches et lyophilisés sur la stimulation de la germination des graines de tomate ont montré que tous les traitements augmentaient le pourcentage de germination, sauf pour la semences bactérisés par la souche BB9(SP). Dans lesquels nous avons obtenus on général des gains très appréciables pour la variété Marmande enregistrés au dixième jour (**Annexe 26**), d'où le meilleur gain est de 3.45% remarqué chez les traitements bactérisés par la BB9(Fr), BB10(Fr), BB10(AP), F21(Fr), F21(SP) et F21(AP) suivie par un gain de 1.72% des traitement bactérisés par BB9 (AP) et BB10(SP).

Pour la variété Saint pierre une variabilité de gain en taux de germination (Annexe 26) est constatée au niveau des différent traitements étudiés : BB9(Fr) (7.84%), BB9(AP) (1.96%), BB10(SP) (7.84%), F21(SP) (3.92%), et F21(AP) (1.69%), par contre le traitement des graines par la BB10(AP) a enregistrée une perte de - 3.92%, ce qui xplique cette inhibition de la germination. Cependant les autres traitements (BB9 (SP), BB10 (Fr) et F21 (Fr)) n'ont enregistré aucun gain. Cela est dû probablement aux mauvaises conditions de stockage ou de la qualité défectueuse de la semence.

D'après l'évolution des courbes (**Figure 16, Figure 17**) des taux de germination nous remarquons en générale une rapidité dans l'évolution chez les semences traitées par des souches fraîches et lyophilisées avec cryoprotection pour atteindre le maximum aussitôt que possible par rapport aux semences témoins non bactérisées et bactérisées pas des souches lyophilisées sans cryoprotectons. D'où nous prouvons l'efficacité que les souches fraîches et lyophilisées avec

cryoprotection ont un effet de biostimulation de la germination des graines par rapport aux semences témoins et les semences bactérisées pas des souches lyophilisées sans cryoprotectons.

Nos résultats sont similaires aux résultats d'Abo-Elyousr et El-Hendawy (2008), qui ont pu obtenir une stimulation de la germination par bactérisation des semences de tomate traitées avec les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents d'un pourcentage de germination des graines jusqu'à 17,33% par rapport au témoins traitée à l'eau distillée.

D'après les résultats des gains (%) ( l'annexe 26), les différents traitements bactériens effectués aux semences de tomates ont permis d'obtenir des gains très appréciables en vigueur des plantules par rapport aux témoins non bactérisés, sauf pour la souche BB9(SP) qui a donné une inhibition par rapport aux témoins. Les gains les plus fascinant ont été obtenus chez les semences traitées par les souches fraîches, suivie par les souches lyophilisées avec une cryoprotection.

Cependant un gain de 89,33% a été obtenu par la souche BB10(Fr), suivie par BB9(Fr), F21(Fr), BB10(AP), F21(AP), BB10(SP), F21(SP) et BB9(AP) avec des gains respectivement de 89.12%, 66.22%, 62.77%, 62.34%, 44.06%, 36.92% et 28.20%..

Nos résultats confirment le travail de Bellishree et *al.*, (2014), ou ils ont révélé que sous les conditions *in vitro* et en serre, le traitement des graines avec des souches de PGPR tel que *Pseudomonas* spp. fluorescent améliorerait la germination des semences, la vigueur et l'émergence des semis.

L'amélioration similaire des paramètres de germination des graines par des rhizobactéries a été rapportée dans d'autres plants tel que les céréales comme le sorgho (Raju et *al.*, 1999) et le millet perlé (Niranjan et *al.*, 2003, 2004). L'amélioration de la germination des graines par PGPR a également été constatée dans le travail réalisé sur le blé et le tournesol (Shaukat et *al.*, 2006a, 2006b).

La bactérisation des graines de tomate par les souches étudiées, a permis d'obtenir des gains très appréciables de chaque paramètre de croissance étudié (nombre de feuille, hauteur des tiges, longueur du système racinaire, diamètre des tiges, surface foliaire, poids frais de la partie aérienne, poids sec de la partie

aérienne, poids frais du système racinaire, poids sec du système racinaire et en floraison) des plants par rapport aux plants témoins non bactérisés.

Selon les résultats des paramètres de croissances obtenues en trois périodes, nous signalons des gains (%) (**Annexe 27**) les plus élevés en générale chez les plants bactérisés par les souches fraîches, suivie par les plants bactérisés par des souches ayant subie une lyophilisation avec cryoprotection, et en dernier lieux les gains les plus faibles ou égales aux témoins représentés chez les plants bactérisés par les souches ayant subie une lyophilisation sans cryoprotection. L'action des souches bactériennes, sur les paramètres de croissance, semble être beaucoup plus accentuée a des stades précoces, vue que cet effet s'attenué avec le développement des plants.

Notons que, les gains les plus élevés sont obtenus en poids frais de la partie racinaire par rapport aux plants témoins Cette amélioration en poids frais de la partie racinaire est constatée durant la première période, avec un taux maximum de 319.81% chez les plants traités par la souche BB10(Fr) suivie par un taux de 306.60% chez les plants traités par la souche F21(Fr). Cependant un taux minimal de gain de 20.75% est enregistré chez les plants traités par la souche BB9(SP) (**Annexe 27**).

Dans le cas de nos essais sur les paramètres de croissance (poids frais de la partie aérienne, poids sec de la partie aérienne, poids frais de la partie racinaire, poids sec de la partie racinaire et la surface foliaire), des gains remarquables dépassent les 100% sont apparus sur les plants traitées par souches fraîches et lyophilisés avec cryoprotection (**Annexe 27**).

Les plants bactérisés avec des souches fraîches et lyophilisées avec une cryoprotection, leur floraison est apparue en amonts par rapport aux plants bactérisés avec des souches lyophilisées sans cryoprotection. Cependant les plants bactérisés avec la souche BB10 (AP) ont enregistrée une précocité d'une différence de 10 jours par rapport aux plants témoins.

La performance en gain (250%) (**Annexe 27**) du paramètre de floraison en pourcentage par rapport aux témoins est remarqué au soixantième jour chez les plans bactérisés par les souches BB10(AP) et F21(Fr).Cependant les plants bactérisés par les souches BB9(Fr), BB9(SP) et BB10(SP) leurs gain est de 0%

comparable aux plants témoins. D'où nous remarquons que la lyophilisation sans cryoprotection influe négativement sur l'efficacité des souches sur la précocité de l'apparitions des fleurs et le nombre de fleurs en comparons avec des traitements effectués avec des souches fraîches et lyophilisées avec cryoprotection. Cependant d'après le cycle de la graine à la fleur est variable selon les variétés, l'époque et les conditions de culture. Il est en moyenne de 7 à 8 semaines (Philouze et Laterrot, 1992).

D'après les travaux d'Abo-Elyousr et El-Hendawy (2008), nous confirmons que, l'application de *Pseudomonas* spp. fluorescent entraîne une augmentation de la longueur du système racinaire et de la partie aérienne du poids sec ainsi que le rendement en tomate. Cependant le rôle des *Pseudomonas* spp. fluorescent dans la promotion de la croissance des racines et des pousses de différentes cultures a été démontré avant par plusieurs auteurs (Sivamani et Gwanamanickam, 1988, Girish et Umesha, 2005, Kavitha et Umesha, 2007).

Les études d'Umesha et al (1998), indiquent que la croissance des racines et des pousses a été provoquée en traitant les graines avec une souche de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Cette promotion de la croissance confirme les rapports sur Plusieurs autres cultures (Kaiser et al., 1989 ; Traperocasas et al., 1990 ; Parke et al., 1991 ; Whipps et Lumsden, 1991).

De même, Kandan (2000), a constaté une augmentation de la surface foliaire et de la longueur des pousses dans les plants de tomates traités avec la souche CHAO de *Pseudomonas fluorescens*, Co-T. La bactérisation des graines de pois chiches et de soja avec *Pseudomonas* spp. fluorescents, RBT13, provoque une augmentation de la germination des graines, de la longueur des pousses et de la racine (Nandakumar et al., 2001). De même, Nandakumar et al., (2001), ont indiqué que l'application de souches de *Pseudomonas fluorescens* augmentait le rendement du riz.

Il a été rapporté par plusieurs chercheurs que les *Pseudomonas* spp. fluorescents jouent également un rôle dans la promotion de la croissance par la production d'hormones végétales telles que les auxines (Loper and Schroth, 1986), les gibberellines (Ramamoorthy et Samiyappn, 2001) et d'autres substances favorisant la croissance (Loper and Schroth, 1986).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont capables de stimuler la croissance des plantes, en augmentant la disponibilité et l'absorption de nutriments minéraux via des enzymes solubilisantes le phosphate et d'augmenter sa disponibilité pour les plantes (Sundara et al., 2002). Cependant ils peuvent réduire le manganèse, cette réduction augmenterait la quantité de manganèse disponible pour la plante (Sarniguet, 1990), aussi que la réduction de l'azote atmosphérique en ammoniac grâce à l'enzyme nitrogénase (Weyens et al., 2010).

Selon Sharmaa et al., (2003), le fer est un cofacteur pour plus de 140 enzymes qui catalysent des réactions biochimiques pour le métabolisme des végétaux. Par conséquent, le fer remplit plusieurs rôles essentiels dans la croissance et le développement des plantes, y compris la synthèse de chlorophylle, la synthèse de thylacoïdes et le développement de chloroplaste. Pour acquérir cet élément indispensable mais peu soluble les bactéries ont développé une stratégie d'acquisition du fer par la production des sidérophores en augmentant la solubilité du fer dans la rhizosphère de la plante (Lemanceau, 1992 ; Nicklin et al., 2000 ; Latour et al., 2003 ; Gobat et al., 2003 ; Sivasakthi et al., 2014).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents réduit ainsi la biosynthèse d'éthylène dans les racines grâce a l'enzyme ACCd (1-amino-cyclopropane-1-carboxylate deaminase) tout en favorisant l'élongation des racines (Jacobson et al., 1994 ; Glick et al., 1994 ; Belimov et al., 2007 ; Kamala-Kannan et al., 2010 ; Ali et al., 2014). L'effet délétère des niveaux élevés de cette phytohormone sur les plantes, en particulier sur le système racinaire (Glick et al., 1998 ; Penrose et Glick 2001 ; Glick, 2005). Pour de nombreuses plantes, un éclat de cette phytohormone est nécessaire pour briser la dormance des graines (Kucera et al., 2005), bien que très efficace sur la croissance et le développement des plantes et aussi sur la maturation des fruits (Jalilia et al., 2009), mais une forte concentration soutenue d'éthylène en particulier dans les dicotyledones, peut diminuer la germination des graines et la croissance des racines (Jackson, 1991 ; Belimov et al., 2001 ; Saravanakumar et Samiyappan, 2007).

Yang et al., (2011), montrent que la souche P13 de *Pseudomonas fluorescens*, une bactérie favorisant la croissance des plantes, on améliorant la croissance du maïs. Le rôle de *Pseudomonas fluorescens* dans la promotion de la croissance des

racines et des pousses de différentes cultures a déjà été démontré (Sivamani et Gwanamanickam, 1988, Girish et Umesha, 2005, Kavitha et Umesha, 2007).

Selon la plus part des résultats des gains obtenus a partir des différents paramètres étudiés avec les trois souches bactériennes (BB9, BB10 et F21) fraîches et lyophilisées, nous remarquons une stimulation chez tous les traitements bactériens par rapport aux témoins non bactérisés. Par contre il ressort une variabilité dans l'efficacité et l'expression des effets bénéfiques des souches bactériennes lyophilisées sans cryoprotection par rapport aux souches fraîches et lyophilisées avec cryoprotection. Cependant a travers nos résultats la lyophilisation sans cryoprotection a exercée des effets néfastes sur les cellules bactériennes, et par conséquent sur l'expression des effets bénéfiques apparaissant sur les plants.

A partir des différents gains obtenus (**Annexe 26, Annexe 27**) sur les plants traités par des souches (BB9, BB10 et F21) lyophilisés avec deux types de cryoprotecteurs (glycérol et le maltodextrine), il ressort une efficacité dans l'expression des effets bénéfiques remarquables sur les plants traitées par ces dernières. D'où cette efficacité sur les plants de tomate est comparable aux gains des plants traités par des souches fraîches. Donc la cryoprotection a empêché les effets négatifs de la lyophilisation dans lesquels les bactéries ont sauvegardé leurs effets bénéfiques et par conséquent leurs modes d'action restent intacts et comparable aux souches fraîches.

La plus part des résultats des paramètres étudiés sur la promotion de la croissance des plantes de tomate sous l'effet d'une bactérisation par des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents, montrent en générale que le traitement des plants en utilisant des souches fraîches et lyophilisés avec cryoprotection ont donné presque les mêmes résultats. Pour que la lyophilisation soit recommandée aux *Pseudomonas* spp. fluorescents, il est fortement conseillé d'apporter une cryoprotection avant le processus de lyophilisation.

Le glycérol est un polyol, considéré comme l'un des plus importants cryoprotecteurs intracellulaires qui pénètre à l'intérieur de la cellule dans le processus de lyophilisation (Anchordoguy et al., 1987 ; Halliwell et Chirico, 1993 ; Fonseca et al., 2000; Fonseca et al., 2001 ; Crowe et al., 2001 ; Bakhach et al., 2007 ; Kawahara, 2008 ; Coulibaly et al., 2010). Cependant le maltodextrine est considéré comme un

cryoprotecteur extracellulaire qui se concentre à l'extérieur de la cellule (Crowe et al., 2001; Palmfeldt et al., 2003 ; Nanasombat et Sriwong, 2007 ; Coulibaly et al., 2011).

Plusieurs auteurs (Heckly, 1985 ; Carvalho et al., 2004 ; Montel Mendoza et al., 2014) ont indiqué que les micro-organismes appartenant à différentes espèces et souches peuvent présenter une sensibilité différente à la lyophilisation. En plus des espèces, la survie des cellules bactériennes pendant le processus de lyophilisation dépend de nombreux facteurs, y compris les conditions de croissance (Palmfeldt et Hahn-Ha'gerdal, 2000), le milieu protecteur (CPA) (Clement, 1961 ; Font de Valdez et al., 1983 ; Abadias et al., 2001), la concentration cellulaire initiale (Bozoglu et al., 1987; Costa et al., 2000), la température de congélation (Sanders et al., 1999) et les conditions de réhydratation (Sinha et al., 1982 ; Font de Valdez et al., 1985a, b).

Dietrich et al., (2016), ont démontré que la congélation sans CPA affectait de façon spectaculaire la survie des deux souches de *Pseudomonas* testées (*P. putida* et *P. fluerecsens*) et lorsque la souche de *Pseudomonas fluerecsens* Pf153 a été mise en suspension dans du saccharose, du lactose, de l'acide ligninosulfonique, du glucose ou du lait écrémé, la viabilité a augmenté à deux décimales par rapport aux cellules sans protection. Cet effet est également appelé hypothèse de remplacement de l'eau. Sinon, Palmfeldt et al., (2003) et Walsh et al., (2000), ont montré qu'une combinaison de plusieurs CPA augmente la viabilité des cellules après lyophilisation.

Les résultats de Dietrich et al., (2016), démontrent qu'après optimisation du processus de lyophilisation, les *Pseudomonas* peuvent être lyophilisés sans perte de viabilité. Aussi que, ils ont démontré que le gel sans CPA a considérablement affecté la survie des deux souches testées de *Pseudomonas* spp, parce que la phase de congélation a été décrite comme l'étape la plus critique dans le processus de lyophilisation.

Cependant les cryoprotecteurs (CPA) jouent un rôle important dans le processus de lyophilisation (Morgan et al., 2006). Les CPAs ont deux fonctions principales : elles protègent les cellules vivantes biochimiquement contre les dommages lors de la congélation et fournissent un résidu sec avec une structure physique définie agissant comme matériau de support et comme récepteur dans la réhydratation (Berny et Hennebert, 1991).

# **CONCLUSION**

## CONCLUSION

L'efficacité d'une bactérisation par des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents sur les caractéristiques de croissance de la tomate a été enregistrée à la fois dans des conditions *in-vitro* et en serre. Les trois souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (BB9, BB10 et F21) ont considérablement amélioré la biostimulation de la germination (taux de germination, indice de vigueur et Suivie de la survie) et les paramètres de la croissance (nombre de feuille hauteur, longueur du système racinaire, diamètre des tiges, surface foliaire, poids frais de la partie aérienne, poids sec de la partie aérienne, poids frais du système racinaire, poids sec du système racinaire et la floraison) des plantes par rapport aux témoins non bactérisés.

Les estimations réalisées montrent que les effets bénéfiques des souches utilisés sont plus accentués lors des mensurations effectuées durant la première période, correspondant au stade juvénile qui a permis une meilleure distinction des effets de phytostimulation sur la phytomasse des la tomate.

La présente étude montre que l'utilisation de nos trois souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (BB9, BB10 et F21) à leur l'état frais ou bien lyophiliser sont considérées comme des PGPR. En effet cette biostimulation s'est traduite par l'obtention des gains appréciables (par rapport aux plants témoins non bactérisés) dépassent parfois les 100%, ce qui confirme le potentiel phytostimulateur des souches bactériennes fraîches et lyophilisées.

Notre recherche suggère que, à mesure que l'utilisation indiscriminée et fréquente d'agents chimiques entraîne des effets néfastes sur le sol et l'environnement, l'utilisation des bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) dans l'agriculture entraîne une croissance accrue des plantes et un rendement sans laisser de résidus chimiques.

A travers nos résultats sur la traitement des plants par des souches fraîches et lyophilisées avec cryoprotection, ils résultent en général une similarité dans les différents paramètres étudiés, d'où les agents cryoprotecteurs apportent une protection aux cellules bactériennes et empêchent l'apparition des effets négatifs exercés par traitements rigoureux de la lyophilisation. Cependant cette dernière

sans cryoprotection exerce des effets néfastes sur les cellules bactériennes, et par conséquent réduisent l'expression des effets bénéfiques apparaissant sur les plants.

A travers nos résultats, nous considérons que la lyophilisation est une technique préconisée dans le cas des *Pseudomonas* spp. fluorescents vue que c'est une technique appropriée pour la production de cultures bactériennes concentrées, une méthode établie pour préserver les micro-organismes en gardent toutes leurs viabilités et efficacités avec l'avantage que le matériel séché peut être stabiliser, stocké à température ambiante pour de longues périodes, facilement transporté et manipulée. Par contre pour que le la lyophilisation soit prioritaire et recommandé aux souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents par rapport aux autres traitements physiques préexistants, il est conseiller d'apporter une cryoprotection avant le processus de lyophilisation.

Il est fortement souhaitable de poursuivre des études sur ces souches lyophilisées pour confirmer la validité de nos résultats dans des conditions expérimentales réelles applicables sur les champs de culture. Comme il est nécessaire de s'intéresser à une application de ces souches sur d'autres cultures en essayant de prolonger les stades de croissance jusqu'à la récolte de fruit en réalisant des analyses sur les composant du fruit. Par conséquent, d'autres recherches doivent être menées pour améliorer l'efficacité des souches de *Pseudomonas* en optimisant la lyophilisation et en sélectionnant les bons agents cryoprotecteurs. Aussi il est conseillé de pratiquer cette méthode de formulation sur d'autre bactéries gram négatives et d'approfondir les investigations relatives à l'étude des mécanismes d'action associées à l'expression de leurs effets bénéfiques, en s'assurant de leurs viabilité, efficacité, stabilité, et de leur reproductibilité, dans des conditions in-vitro et expérimentales réelles semi contrôlée en serre ou au champ.

# **ANNEXES**

## Annexe 01: Milieux de culture

### • Milieu King B (King et *al.*, 1954).

- Ingrédients.....g/l
- Peptone.....20g
- Agar.....20g
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.....1.5g
- MgSo<sub>4</sub>.....1.5g
- Glycérol.....15ml
- Eau distillée.....1000ml
- pH =7.2, autoclavage 20 minute a 120 °C.

### • Milieu CAS :

- Ingrédients.....g/l
- Chrome Azurol S..... 60.5mg/50ml d.w.
- Hexadecyltrimethyl ammonium bromide .....72.9mg/40ml d.w.
- Milieu King B .....42.23
- eau distillée.....1000ml
- pH =6.8±0.2

Mélanger la solution Chrome Azurol S et la solution du bromure de Hexadecyltrimethyl ammonium puis ajoutez-le à 10 ml de 1 mM d'une solution de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O préparée dans du HCl 10 mM. Ajouter la solution finale à 900 ml de base Kings Medium B.

**Annexe 02:** Fiche technique de la variété Marmande (Institut Technique des Cultures Maraichères et industrielles de Staoueli, ITCMI).

• **Plante**

- Type de semences : fixée ou standard
- Croissance : semi déterminée
- Vigueur : moyenne
- Ecart des entre nœud : court a moyen
- Production : rendement précoce élevé
- Mise en culture : sous abris plastiques et plein champ
- Résistance aux maladies : verticilliose

• **Fruit**

- Forme : ronde, aplatie
- Couleur : rouge intense
- Chair : peu charnue, bien juteuse
- Nombre de fruits par bouquet : 4 à 6
- Nombre de loges par fruit : 4 à 5
- Calibre du fruit : moyen
- Poids moyen d'un fruit : 120 à 150 g

**Annexe 03 :** Analyse de variance du taux de germination de la variété Saint pierre.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Traitements	1178,51852	9	130,946502	2,77105286	0,01137836	2,09575509
jours	80036,4815	5	16007,2963	338,741879	1,643E-34	2,42208546
Erreur	2126,48148	45	47,255144			
Total	83341,4815	59				

**Annexe 04** : Evolution du taux de germination (%) des graines de la variété Saint Pierre.

	jours					
	j1	j2	j3	j4	j5	j6
<b>Témoins</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	35,00 ± 7,07	68,33 ± 11,79	85,00 ± 7,07	85,00 ± 7,07
<b>BB9(Fr)</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	41,67 ± 11,79	76,67 ± 9,43	90,00 ± 9,43	91,67 ± 7,07
<b>BB9(SP)</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	8,33 ± 2,36	48,33 ± 16,50	78,33 ± 11,79	85,00 ± 7,07
<b>BB9(AP)</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	46,67 ± 18,86	83,33 ± 9,43	85,00 ± 11,79	86,67 ± 9,43
<b>BB10(Fr)</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	40,00 ± 18,86	68,33 ± 7,07	83,33 ± 0,00	85,00 ± 2,36
<b>BB10(SP)</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	30,00 ± 18,86	60,00 ± 18,86	90,00 ± 4,71	91,67 ± 2,36
<b>BB10(AP)</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	36,67 ± 28,28	63,33 ± 28,28	76,67 ± 9,43	81,67 ± 2,36
<b>F21(Fr)</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	51,67 ± 16,50	76,67 ± 14,14	83,33 ± 9,43	85,00 ± 11,79
<b>F21(SP)</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	41,67 ± 16,50	78,33 ± 11,79	88,33 ± 11,79	88,33 ± 11,79
<b>F21(AP)</b>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	65,00 ± 2,36	81,67 ± 2,36	85,00 ± 7,07	86,67 ± 4,71

**Témoins** : plants témoins non bactérisés.

**BB9(Fr)** : plants bactérisés par la souche BB9 de *Pseudomonas* spp. fluorescent fraîche.

**BB9 (SP)** : plants bactérisés par la souche BB9 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée sans cryoprotecteurs.

**BB9 (AP)** : plants bactérisés par la souche BB9 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée avec cryoprotecteurs.

**BB10 (Fr)** : plants bactérisés par la souche BB10 de *Pseudomonas* spp. fluorescent fraîche

**BB10 (SP)**: plants bactérisés par la souche BB10 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée sans cryoprotecteurs.

**BB10 (AP)**: plants bactérisés par la souche BB10 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée avec cryoprotecteurs.

**F21 (Fr)**: plants bactérisés par la souche F21 de *Pseudomonas* spp. fluorescent fraîche

**F21 (SP)**: plants bactérisés par la souche F21 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée sans cryoprotecteurs.

**F21 (AP)**: plants bactérisés par la souche F21 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée avec cryoprotecteurs.

**Annexe 05** : Analyse de variance du taux de germination de la variété Saint pierre effectué le dernier jour.

Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	177,778	9	19,753	0,356	0,932
Erreur	555,556	10	55,556		

**Annexe 06** : Teste de Newman-Keuls du taux de germination de la variété Saint pierre effectué le dernier jour.

traitements	Groupe
BB10(AP)	81,667(a)
BB10(Fr)	85,000(a)
BB9(SP)	85,000(a)
Témoins	85,000(a)
F21(Fr)	85,000(a)
F21(AP)	86,667(a)
BB9(AP)	86,667(a)
F21(SP)	88,333(a)
BB10(SP)	91,667(a)
BB9(Fr)	91,667(a)

**Annexe 07** : Analyse de variance du taux de germination de la variété Marmande.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Traitements	10655,5556	9	1183,95062	5,91346648	2,57E-06	1,99760915
jours	166841,111	9	18537,9012	92,5910726	7,4813E-39	1,99760915
Erreur	16217,2222	81	200,21262			
Total	193713,889	99				

**Annexe 08** : Evolution du taux de germination (%) des graines de la variété Marmande.

	jours				
	j1	j2	j3	j4	j5
Témoins	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	15,00 ± 11,79	40,00 ± 14,14
BB9(Fr)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	88,33 ± 11,79	96,67 ± 4,71
BB9(SP)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,67 ± 0,00	23,33 ± 9,43
BB9(AP)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	10,00 ± 4,71	35,00 ± 21,21
BB10(Fr)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	51,67 ± 30,64	83,33 ± 9,43
BB10(SP)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	23,33 ± 4,71
BB10(AP)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	75,00 ± 7,07	90,00 ± 4,71
F21(Fr)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	66,67 ± 0,00	100,00 ± 0,00
F21(SP)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	13,33 ± 4,71	56,67 ± 4,71
F21(AP)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	91,67 ± 7,07	100,00 ± 0,00
	jours				
	j6	j7	j8	j9	j10
Témoins	70,00 ± 18,86	85,00 ± 7,07	91,67 ± 11,79	91,67 ± 11,79	96,67 ± 4,71
BB9(Fr)	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
BB9(SP)	51,67 ± 11,79	75,00 ± 11,79	91,67 ± 2,36	91,67 ± 2,36	91,67 ± 2,36
BB9(AP)	71,67 ± 21,21	93,33 ± 4,71	96,67 ± 4,71	96,67 ± 4,71	98,33 ± 2,36
BB10(Fr)	98,33 ± 2,36	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
BB10(SP)	55,00 ± 11,79	66,67 ± 23,57	80,00 ± 14,14	88,33 ± 11,79	98,33 ± 2,36
BB10(AP)	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
F21(Fr)	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
F21(SP)	78,33 ± 11,79	93,33 ± 4,71	98,33 ± 2,36	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
F21(AP)	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00

**Annexe 09** : Analyse de variance du taux de germination de la variété Marmande effectué le dernier jour.

Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	127,222	9	14,136	3,635	0,028
Erreur	38,889	10	3,889		

**Annexe 10** : Teste de Newman-Keuls du taux de germination de la variété Marmande effectué le dernier jour.

traitements	Groupe
BB9(SP)	91,667(a)
Témoins	96,667(b)
BB10(SP)	98,333(b)
BB9(AP)	98,333(b)
BB10(Fr)	100,000(b)
F21(Fr)	100,000(b)
F21(SP)	100,000(b)
F21(AP)	100,000(b)
BB10(AP)	100,000(b)
BB9(Fr)	100,000(b)

**Annexe 11** : Analyse de variance concernant l'indice de vigueur.

Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	958 162,640	9	106 462,516	26,050	0,000
erreur	40 868,394	10	4 086,839		

**Annexe 12** : Valeur d'indice de vigueur des différents traitements.

traitements	Longueur partie aérienne	longueur partie racinaire	biomasse Total	nombre de graines germées	taux de germination	indice de vigueur
<b>Témoins</b>	3,46 ± 0,74	3,73 ± 0,89	7,19 ± 0,82	58,00 ± 1,41	96,67 ± 4,71	694,55
<b>BB9(Fr)</b>	5,14 ± 0,59	8,00 ± 1,65	13,14 ± 1,89	60,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	1313,50
<b>BB9(SP)</b>	4,27 ± 0,79	2,83 ± 0,64	7,10 ± 1,02	55,00 ± 0,71	91,67 ± 2,36	650,38
<b>BB9(AP)</b>	5,02 ± 0,88	4,04 ± 1,29	9,06 ± 1,20	59,00 ± 0,71	98,33 ± 2,36	890,41
<b>BB10(Fr)</b>	4,94 ± 0,64	8,22 ± 0,80	13,15 ± 1,81	60,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	1315,00
<b>BB10(SP)</b>	5,80 ± 0,84	4,38 ± 0,65	10,18 ± 1,04	59,00 ± 0,71	98,33 ± 2,36	1000,54
<b>BB10(AP)</b>	4,84 ± 0,66	6,47 ± 1,75	11,31 ± 1,54	60,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	1130,50
<b>F21(Fr)</b>	4,81 ± 0,53	6,74 ± 1,45	11,55 ± 1,46	60,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	1154,50
<b>F21(SP)</b>	4,67 ± 0,83	4,84 ± 0,86	9,51 ± 0,84	60,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	951,00
<b>F21(AP)</b>	5,03 ± 0,36	6,25 ± 0,98	11,28 ± 0,95	60,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	1127,50

**Annexe13** : test de Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ) concernant l'indice de vigueur.

traitements	Groupe
<b>BB9(SP)</b>	649,833 (a)
<b>Témoins</b>	695,133 (a)
<b>BB9(AP)</b>	891,667 (b)
<b>F21(SP)</b>	951,000 (c)
<b>BB10(SP)</b>	1 001,183 (c)
<b>F21(AP)</b>	1 127,500 (d)
<b>BB10(AP)</b>	1 130,500 (d)
<b>F21(Fr)</b>	1 154,500 (d)
<b>BB9(Fr)</b>	1 313,500 (d)
<b>BB10(Fr)</b>	1 315,000 (d)

**Annexe 14** : Analyse de variance du suivie de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Saint pierre.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Traitements	115,28	9	12,8088889	10,0857393	1,5436E-07	2,15260747
Jours	29,08	4	7,27	5,72440945	0,00113411	2,63353209
Erreur	45,72	36	1,27			
Total	190,08	49				

**Annexe 15** : suivie de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Saint pierre.

Traitements	jours				
	J1	J2	J3	J4	J5
Témoins	51	50	49	49	49
BB9(Fr)	55	54	53	53	53
BB9(SP)	51	50	50	50	50
BB9(AP)	52	51	50	51	51
BB10(Fr)	51	51	51	51	51
BB10(SP)	55	51	51	51	51
BB10(AP)	51	49	51	51	51
F21(Fr)	51	48	51	51	51
F21(SP)	53	46	46	46	46
F21(AP)	52	50	52	52	52

**Annexe 16** : Analyse de variance du suivie de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Marmande.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Traitements	282,18	9	31,3533333	32,5092166	1,1283E-14	2,15260747
jours	70,88	4	17,72	18,3732719	2,6373E-08	2,63353209
Erreur	34,72	36	0,96444444			
Total	387,78	49				

**Annexe 17** : suivie de la survie et de la mortalité après mise en alvéoles des plantules de la variété Marmande.

traitements	jours				
	J1	J2	J3	J4	J5
Témoins	58	51	51	51	51
BB9(Fr)	60	56	56	56	56
BB9(SP)	55	53	53	53	53
BB9(AP)	58	56	56	56	56
BB10(Fr)	60	59	59	59	59
BB10(SP)	59	54	54	54	54
BB10(AP)	60	58	58	58	58
F21(Fr)	60	60	60	60	60
F21(SP)	60	55	55	55	55
F21(AP)	60	59	58	58	58

**Annexe 18 :** Analyse de variance de l'évolution de la hauteur des tiges des différents traitements en fonction des jours.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Traitements	1178,51852	9	130,946502	2,77105286	0,01137836	2,09575509
jours	80036,4815	5	16007,2963	338,741879	1,643E-34	2,42208546
Erreur	2126,48148	45	47,255144			
Total	83341,4815	59				

**Annexe 19 :** Evolution de la hauteur des tiges des différents traitements en fonction des jours.

Traitements	Jours						
	J1	J3	J5	J7	J10	J12	J14
Témoins	3,78 ± 0,35	4,28 ± 0,31	5,08 ± 0,59	6,75 ± 0,58	7,93 ± 0,42	9,27 ± 0,74	10,14 ± 0,55
BB9(Fr)	5,33 ± 0,53	6,99 ± 0,53	7,82 ± 0,47	9,52 ± 0,56	12,16 ± 0,50	14,87 ± 0,58	16,48 ± 0,73
BB9(SP)	3,88 ± 0,41	4,51 ± 0,43	5,33 ± 0,43	6,90 ± 0,45	8,35 ± 0,49	12,00 ± 0,67	13,66 ± 0,55
BB9(AP)	5,19 ± 0,79	6,15 ± 0,61	7,36 ± 0,61	9,32 ± 0,57	12,08 ± 0,42	14,73 ± 0,90	15,94 ± 0,81
BB10(Fr)	6,60 ± 0,80	8,23 ± 0,85	9,21 ± 0,94	10,96 ± 0,67	13,70 ± 0,95	17,25 ± 1,12	19,43 ± 1,22
BB10(SP)	4,99 ± 0,46	5,91 ± 0,46	6,71 ± 0,43	7,63 ± 0,44	9,62 ± 0,71	12,85 ± 0,62	13,89 ± 0,71
BB10(AP)	5,90 ± 0,72	7,63 ± 0,61	9,06 ± 0,71	10,45 ± 0,78	12,97 ± 0,94	16,91 ± 1,86	19,20 ± 1,40
F21(Fr)	7,07 ± 0,87	8,52 ± 0,65	9,76 ± 0,65	11,53 ± 0,66	14,29 ± 0,91	18,84 ± 1,24	20,83 ± 1,11
F21(SP)	4,77 ± 0,63	5,93 ± 0,36	7,02 ± 0,61	8,22 ± 0,59	9,96 ± 0,61	13,53 ± 1,03	15,42 ± 0,60
F21(AP)	5,73 ± 0,59	7,58 ± 0,58	9,18 ± 0,67	10,46 ± 0,62	13,88 ± 1,00	18,61 ± 0,99	20,13 ± 0,90
Traitements	Jours						
	J17	J19	J21	J25	J28	J31	J35
Témoins	11,50 ± 0,63	12,37 ± 0,78	13,93 ± 0,48	16,43 ± 0,46	19,17 ± 0,73	22,17 ± 0,84	26,02 ± 0,70
BB9(Fr)	19,92 ± 0,81	22,34 ± 0,84	24,15 ± 0,70	27,25 ± 0,69	29,55 ± 1,02	31,09 ± 1,01	33,32 ± 0,94
BB9(SP)	15,63 ± 0,55	16,25 ± 0,63	18,09 ± 0,64	21,70 ± 0,90	24,31 ± 0,93	28,02 ± 1,09	28,98 ± 1,10
BB9(AP)	19,49 ± 0,89	21,32 ± 1,10	23,42 ± 1,12	26,06 ± 0,76	28,51 ± 1,00	30,33 ± 1,20	32,14 ± 1,94
BB10(Fr)	21,59 ± 1,22	24,00 ± 0,84	26,45 ± 0,99	28,26 ± 1,14	29,56 ± 1,24	31,93 ± 1,33	35,05 ± 1,09
BB10(SP)	16,91 ± 0,55	17,95 ± 0,54	20,78 ± 0,83	23,43 ± 0,88	26,61 ± 0,88	29,32 ± 0,95	31,81 ± 0,98
BB10(AP)	21,45 ± 1,38	23,09 ± 1,29	26,60 ± 1,57	27,80 ± 0,97	29,31 ± 1,15	30,90 ± 1,07	34,43 ± 0,64
F21(Fr)	22,93 ± 1,04	25,03 ± 1,06	28,02 ± 1,09	28,69 ± 0,92	30,22 ± 1,14	32,67 ± 0,93	34,81 ± 0,95
F21(SP)	17,75 ± 0,63	19,43 ± 0,83	22,90 ± 0,72	25,00 ± 0,65	26,90 ± 0,68	28,81 ± 0,62	32,52 ± 1,24
F21(AP)	22,41 ± 0,90	23,89 ± 1,11	26,05 ± 0,91	27,12 ± 0,64	29,32 ± 1,05	30,93 ± 0,93	34,10 ± 1,09

**Annexe 20 :** Analyse statistique des paramètres de croissance.

Analyse de variance de l'évolution de la hauteur des tiges en dernier jours.					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	1 541,742	9	171,305	136,653	0,000
Erreur	250,715	200	1,254		
Analyse de variance du nombre de feuille. Période 1					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	16,700	9	1,856	7,952	0,000
Erreur	4,667	20	0,233		

<b>Analyse de variance du nombre de feuille. Période 2</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	15,500	9	1,722	17,222	0,000
Erreur	2,000	20	0,100		
<b>Analyse de variance du nombre de feuille. Période 3</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	106,507	9	11,834	28,434	0,000
Erreur	58,267	140	0,416		
<b>Analyse de variance de la hauteur des tiges. Période 1</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	195,574	9	21,730	35,682	0,000
Erreur	12,180	20	0,609		
<b>Analyse de variance de la hauteur des tiges. Période 2</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	383,376	9	42,597	69,870	0,000
Erreur	12,193	20	0,610		
<b>Analyse de variance de la hauteur des tiges. Période 3</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	1 094,951	9	121,661	81,847	0,000
Erreur	208,103	140	1,486		
<b>Analyse de variance de la longueur des racines. Période 1</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	272,725	9	30,303	29,325	0,000
Erreur	20,667	20	1,033		
<b>Analyse de variance de la longueur des racines. Période 2</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	134,587	9	14,954	18,802	0,000
Erreur	15,907	20	0,795		
<b>Analyse de variance de la longueur des racines. Période 3</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	778,743	9	86,527	34,512	0,000
Erreur	351,002	140	2,507		
<b>Analyse de variance du diamètre des tiges. Période 1</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	0,081	9	0,009	7,605	0,000
Erreur	0,024	20	0,001		
<b>Analyse de variance du diamètre des tiges. Période 2</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	0,064	9	0,007	4,036	0,004
Erreur	0,035	20	0,002		
<b>Analyse de variance de la surface foliaire. Période 1</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	29 381,850	9	3 264,650	42,720	0,000
Erreur	1 528,379	20	76,419		
<b>Analyse de variance de la surface foliaire. Période 2</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	58 676,854	9	6 519,650	17,005	0,000
Erreur	7 668,079	20	383,404		
<b>Analyse de variance du poids frais de la partie aérienne. Période 1</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	42,624	9	4,736	7,764	0,000
Erreur	12,200	20	0,610		

<b>Analyse de variance du poids frais de la partie aérienne. Période 2</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
Traitements	66,102	9	7,345	21,189	0,000
Erreur	6,932	20	0,347		
<b>Analyse de variance du poids frais de la partie aérienne. Période 3</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	594,416	9	66,046	54,319	0,000
Erreur	170,226	140	1,216		
<b>Analyse de variance du poids frais de la partie racinaire. Période 1</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	4,098	9	0,455	25,195	0,000
E Erreur	0,361	20	0,018		
<b>Analyse de variance du poids frais de la partie racinaire. Période 2</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	5,238	9	0,582	9,258	0,000
Erreur	1,257	20	0,063		
<b>Analyse de variance du poids frais de la partie racinaire. Période 3</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	119,406	9	13,267	26,909	0,000
Erreur	69,027	140	0,493		
<b>Analyse de variance du poids sec de la partie aérienne. Période 1</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	0,153	9	0,017	7,764	0,000
Erreur	0,044	20	0,002		
<b>Analyse de variance du poids sec de la partie aérienne. Période 2</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	0,701	9	0,078	13,337	0,000
Erreur	0,117	20	0,006		
<b>Analyse de variance du poids sec de la partie aérienne. Période 3</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	22,742	9	2,527	62,182	0,000
Erreur	5,689	140	0,041		
<b>Analyse de variance du poids sec de la partie racinaire. Période 1</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	0,016	9	0,002	25,054	0,000
Erreur	0,001	20	0,000		
<b>Analyse de variance du poids sec de la partie racinaire. Période 2</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	0,038	9	0,004	14,926	0,000
Erreur	0,006	20	0,000		
<b>Analyse de variance du poids sec de la partie racinaire. Période 3</b>					
Source	Type III SS	df	Moyenne des carrés	Rapport-F	Valeur-p
traitements	0,522	9	0,058	25,276	0,000
Erreur	0,321	140	0,002		

**Annexe 21:** classification des moyenne des paramètres de croissance selon le teste Newman-Keuls ( $\alpha=5\%$ ).

Traitement	Périodes	Nombre de feuilles	Longueur de la partie aérienne	Longueur du système racine	Diamètre des tiges	surface foliaire	Poids frais de la partie aérienne	Poids frais de la partie racinaire	Poids sec de la partie aérienne	poids sec de la partie racinaire
Témoins	1	3,33±0,58 (a)	9,00±0,70 (a)	9,17±1,04 (a)	0,35±0,03 (a)	46,06±5,61 (a)	2,33±0,21 (a)	0,35±0,02 (a)	0,14±0,02 (a)	0,04±0,01 (a)
	2	35,33±0,58 (a)	15,43±0,60 (a)	13,00±0,20 (a)	0,40±0,01 (a)	113,88±20,23 (a)	7,01±1,00 (a)	1,60±0,24 (a)	0,53±0,06 (a)	0,08±0,02 (a)
	3	6,33±0,72 (a)	29,33±1,14 (a)	14,45±1,08 (a)			15,44±0,96 (a)	1,99±0,36 (a)	2,08±0,16 (a)	0,20±0,02 (a)
BB9 (Fr)	1	5,67±0,58 (c)	13,50±0,56 (b)	15,07±0,90 (e)	0,46±0,02 (d)	103,16±5,41 (c)	4,70±0,61 (c)	1,15±0,11 (e)	0,28±0,01 (d)	0,07±0,00 (c)
	2	7,00±0,00 (b)	24,27±0,25 (e)	16,03±0,25 (b)	0,49±0,04 (c)	213,21±4,58 (d)	10,29±0,58 (d)	2,38±0,14 (d)	0,78±0,10 (d)	0,14±0,01 (c)
	3	8,40±0,83 (e)	35,20±0,59 (d)	18,29±1,38 (c)			19,36±0,73 (e)	3,45±0,55 (c)	2,76±0,17 (d)	0,29±0,04 (c)
BB9 (SP)	1	4,00±0,00 (b)	10,13±0,40 (a)	10,23±1,16 (a)	0,37±0,02 (a)	69,95±7,39 (b)	2,90±0,09 (b)	0,43±0,03 (a)	0,17±0,02 (b)	0,04±0,01 (a)
	2	5,33±0,58 (a)	18,50±0,50 (b)	13,03±0,96 (a)	0,41±0,01 (b)	157,87±11,38 (b)	7,82±0,68 (b)	1,73±0,16 (b)	0,59±0,05 (b)	0,10±0,01 (b)
	3	6,73±0,59 (b)	31,18±1,62 (b)	14,61±0,70 (a)			16,89±0,48 (b)	2,32±0,29 (b)	2,22±0,12 (a)	0,21±0,03 (a)
BB9 (AP)	1	5,00±0,00 (c)	13,33±0,57 (b)	14,50±1,32 (d)	0,43±0,05 (d)	89,56±5,57 (c)	3,88±0,79 (c)	0,95±0,08 (d)	0,26±0,06 (d)	0,06±0,00 (b)
	2	7,00±0,00 (b)	24,27±0,75 (e)	15,67±0,58 (b)	0,48±0,02 (c)	206,91±1,51 (d)	9,84±0,73 (c)	2,28±0,08 (d)	0,76±0,10 (d)	0,14±0,01 (c)
	3	8,13±0,64 (d)	34,35±0,82 (d)	16,95±1,04 (b)			18,96±0,81 (d)	3,35±0,58 (c)	2,69±0,22 (d)	0,28±0,05 (b)
BB10 (Fr)	1	5,33±0,58 (c)	15,90±0,66 (c)	16,50±1,00 (e)	0,47±0,03 (d)	129,1±11,11 (d)	5,96±1,30 (c)	1,48±0,24 (f)	0,35±0,06 (d)	0,10±0,01 (e)
	2	7,00±0,00 (b)	26,13±1,03 (f)	18,10±0,96 (c)	0,48±0,02 (c)	237,58±21,04 (d)	11,11±0,38 (d)	2,75±0,30 (d)	0,97±0,01 (f)	0,18±0,01 (d)
	3	8,67±0,62 (e)	37,25±1,12 (e)	19,91±1,76 (d)			20,72±0,97 (f)	4,21±1,01 (d)	3,14±0,26 (f)	0,34±0,06 (d)
BB10 (SP)	1	4,00±0,00 (b)	11,93±0,90 (b)	12,17±1,04 (b)	0,38±0,03 (b)	74,83±2,58 (b)	3,47±0,54 (b)	0,73±0,16 (b)	0,24±0,04 (c)	0,06±0,00 (b)
	2	6,00±0,00 (a)	20,17±0,76 (c)	14,40±0,36 (b)	0,48±0,07 (c)	177,0±18,57 (c)	8,39±0,59 (b)	1,81±0,13 (c)	0,72±0,07 (c)	0,12±0,03 (b)
	3	6,93±0,59 (b)	32,48±1,15 (c)	15,34±0,86 (a)			17,49±0,56 (c)	2,53±0,19 (b)	2,39±0,14 (b)	0,23±0,03 (a)
BB10 (AP)	1	4,67±0,58 (c)	15,77±1,17 (c)	15,07±0,51 (e)	0,47±0,06 (d)	137,0±18,15 (d)	4,71±1,36 (c)	1,15±0,14 (e)	0,32±0,06 (d)	0,09±0,01 (d)
	2	7,00±0,00 (b)	25,33±1,40 (f)	16,23±0,93 (b)	0,51±0,01 (c)	230,43±11,53 (d)	10,59±0,13 (d)	2,56±0,08 (d)	0,85±0,08 (e)	0,17±0,00 (d)
	3	7,93±0,80 (c)	36,27±1,66 (e)	18,71±2,42 (d)			20,08±1,15 (f)	4,01±0,99 (d)	2,95±0,28 (e)	0,32±0,07 (d)
F21 (Fr)	1	5,67±0,58 (c)	16,87±0,47 (c)	19,67±0,76 (f)	0,51±0,02 (d)	145,1±10,90 (d)	5,95±0,53 (c)	1,44±0,17 (f)	0,37±0,08 (d)	0,11±0,01 (e)
	2	7,33±0,58 (b)	26,77±0,40 (f)	19,87±1,03 (c)	0,55±0,04 (c)	278,01±45,56 (e)	11,49±0,14 (d)	2,77±0,44 (d)	1,05±0,10 (f)	0,20±0,02 (d)
	3	8,93±0,70 (e)	38,19±1,11 (f)	21,29±2,43 (e)			22,58±2,45 (g)	4,79±1,19 (e)	3,33±0,21 (g)	0,38±0,07 (e)

Traitement	Périodes	Nombre de feuilles	Longueur de la partie aérienne	Longueur du système racine	Diamètre des tiges	surface foliaire	Poids frais de la partie aérienne	Poids frais de la partie racinaire	Poids sec de la partie aérienne	pois sec de la partie racinaire
F21 (SP)	1	4,67±0,58 (c)	12,03±1,00 (b)	13,83±0,76 (c)	0,42±0,04 (c)	81,81±1,93 (b)	4,19±0,69 (c)	0,89±0,06 (c)	0,27±0,01 (c)	0,07±0,01 (b)
	2	6,00±0,00 (a)	22,17±1,04 (d)	15,07±0,90 (b)	0,44±0,02 (c)	190,58±15,4 (d)	8,54±0,75 (b)	1,90±0,16 (c)	0,72±0,08 (c)	0,13±0,02 (b)
	3	7,67±0,49 (c)	32,80±1,24 (c)	15,89±1,08 (b)			17,83±0,56 (c)	2,66±0,21 (b)	2,54±0,11 (c)	0,24±0,02 (a)
F21 (AP)	1	5,33±0,58 (c)	16,10±0,98 (c)	17,20±1,35 (e)	0,49±0,04 (d)	125,47±5,97 (d)	5,62±0,68 (c)	1,25±0,16 (f)	0,32±0,03 (d)	0,10±0,01 (e)
	2	7,00±0,00 (b)	26,00±0,00 (f)	18,03±1,67 (c)	0,52±0,09 (c)	235,68±6,23 (d)	11,09±0,24 (d)	2,58±0,43 (d)	0,91±0,07 (f)	0,18±0,02 (d)
	3	8,53±0,52 (e)	36,42±1,34 (e)	19,61±1,91 (d)			20,34±0,95 (f)	4,16±0,76 (d)	3,05±0,26 (f)	0,34±0,05 (d)

### Annexe 22 : Analyse de variance du paramètre de floraison.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Lignes	139,463636	9	15,4959596	20,3192053	3,3511E-18	1,98559496
Colonnes	120,818182	10	12,0818182	15,8423841	5,2906E-16	1,93756679
Erreur	68,6363636	90	0,76262626			
Total	328,918182	109				

### Annexe 23 : nombre de fleur apparu en fonction du temps.

	jours										
	J49	J50	J51	J52	J53	J54	J55	J56	J57	J58	J59
Témoins	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
BB9(Fr)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2
BB9(SP)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
BB9(AP)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3
BB10(Fr)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3
BB10(SP)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
BB10(AP)	0	1	2	2	2	5	5	6	7	7	7
F21(Fr)	0	0	0	0	1	2	2	2	3	5	7
F21(SP)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
F21(AP)	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	4

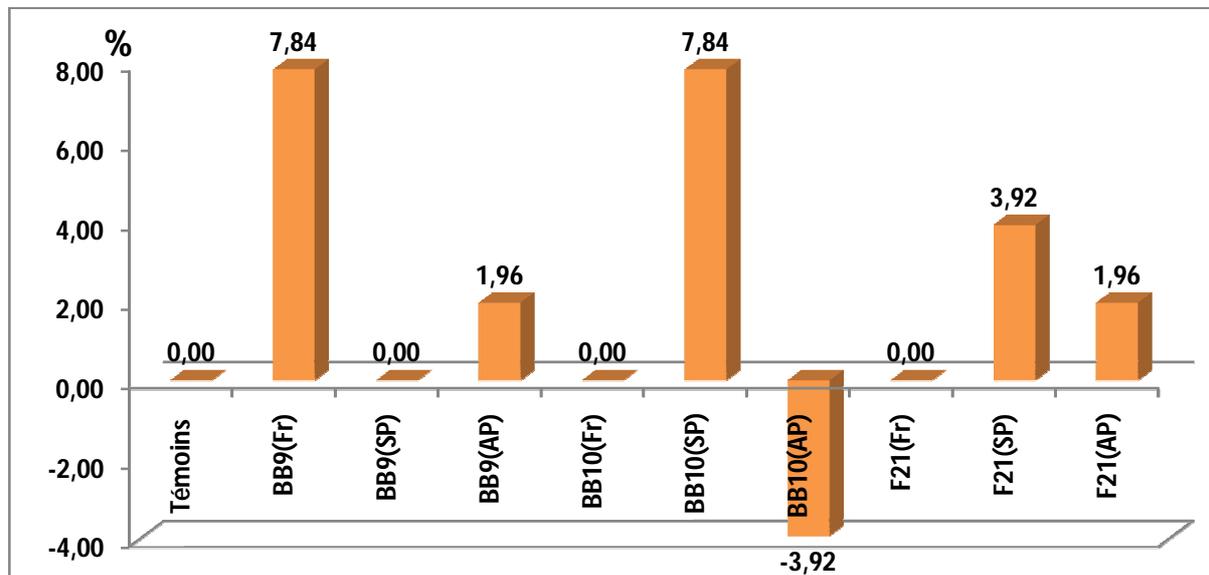
**Annexe 24** : teneurs en pigments chlorophylliens par périodes.

Période	traitement	Ch.A	Ch.B	Ch.A+Ch.B
1	Témoins	0,20 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,50 ± 0,00
	BB9(Fr)	0,23 ± 0,04	0,33 ± 0,06	0,56 ± 0,01
	BB9(SP)	0,20 ± 0,02	0,30 ± 0,04	0,50 ± 0,01
	BB9(AP)	0,22 ± 0,03	0,35 ± 0,06	0,57 ± 0,02
	BB10(Fr)	0,25 ± 0,02	0,39 ± 0,02	0,64 ± 0,01
	BB10(SP)	0,20 ± 0,02	0,30 ± 0,02	0,50 ± 0,00
	BB10(AP)	0,22 ± 0,04	0,31 ± 0,05	0,53 ± 0,01
	F21(Fr)	0,26 ± 0,02	0,37 ± 0,05	0,64 ± 0,02
	F21(SP)	0,21 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,50 ± 0,00
	F21(AP)	0,23 ± 0,02	0,34 ± 0,03	0,57 ± 0,01
2	Témoins	0,21 ± 0,04	0,24 ± 0,02	0,45 ± 0,01
	BB9(Fr)	0,17 ± 0,03	0,19 ± 0,04	0,36 ± 0,01
	BB9(SP)	0,20 ± 0,03	0,27 ± 0,01	0,47 ± 0,02
	BB9(AP)	0,17 ± 0,02	0,20 ± 0,04	0,37 ± 0,01
	BB10(Fr)	0,15 ± 0,02	0,17 ± 0,01	0,32 ± 0,00
	BB10(SP)	0,18 ± 0,03	0,22 ± 0,05	0,40 ± 0,02
	BB10(AP)	0,15 ± 0,02	0,18 ± 0,07	0,33 ± 0,04
	F21(Fr)	0,14 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,33 ± 0,00
	F21(SP)	0,23 ± 0,03	0,28 ± 0,02	0,52 ± 0,01
	F21(AP)	0,17 ± 0,03	0,23 ± 0,02	0,40 ± 0,01

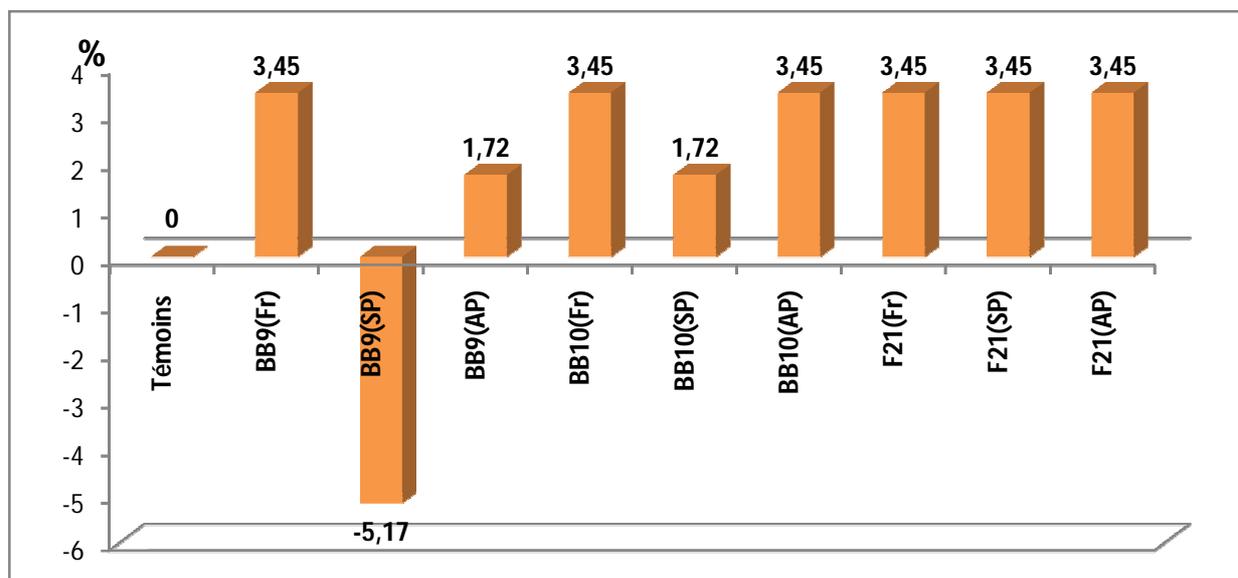
**Annexe 25** : Gain (%) en teneurs des pigments chlorophylliens par périodes.

Périodes	Traitements	Ch.A	Ch.B	Ch.A+Ch.B
Période 1	Témoins	0,0	0,0	0,0
	BB9(Fr)	13,6	11,3	12,2
	BB9(SP)	-0,1	0,2	0,1
	BB9(AP)	9,2	17,1	13,9
	BB10(Fr)	21,8	31,0	27,2
	BB10(SP)	-3,8	0,8	-1,1
	BB10(AP)	6,2	5,8	6,0
	F21(Fr)	29,9	24,9	26,9
	F21(SP)	1,7	0,0	0,7
	F21(AP)	11,3	14,6	13,2
Période 2	Témoins	0,00	0,00	0,00
	BB9(Fr)	-17,71	-21,58	-19,81
	BB9(SP)	-2,00	11,24	5,15
	BB9(AP)	-18,03	-17,53	-17,76
	BB10(Fr)	-27,93	-30,76	-29,46
	BB10(SP)	-11,64	-10,48	-11,01
	BB10(AP)	-28,79	-26,29	-27,44
	F21(Fr)	-30,87	-24,97	-27,68
	F21(SP)	13,37	15,51	14,53
	F21(AP)	-18,28	-6,14	-11,72

**Annexe 26:** Estimation des gains de l'évaluation de la biostimulation de la germination.



Gain (%) en taux de germination de la variété Saint Pierre par rapport au témoin effectuée le sixième jour



Gain (%) en taux de germination de la variété Marmande par rapport au témoin effectuée le dixième jour.

**Témoins** : plants témoins non bactérisés.

**BB9(Fr)** : plants bactérisés par la souche BB9 de *Pseudomonas* spp. fluorescent fraîche.

**BB9 (SP)** : plants bactérisés par la souche BB9 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée sans cryoprotecteurs.

**BB9 (AP)** : plants bactérisés par la souche BB9 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée avec cryoprotecteurs.

**BB10 (Fr)** : plants bactérisés par la souche BB10 de *Pseudomonas* spp. fluorescent fraîche

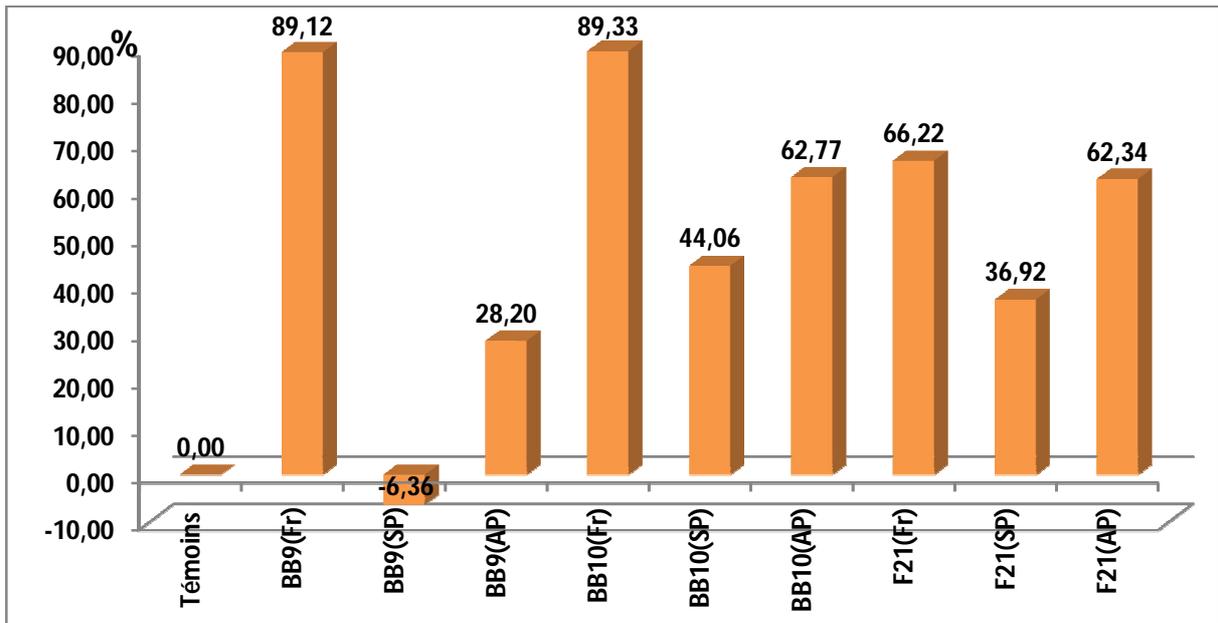
**BB10 (SP)** : plants bactérisés par la souche BB10 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée sans cryoprotecteurs.

**BB10 (AP)** : plants bactérisés par la souche BB10 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée avec cryoprotecteurs.

**F21 (Fr)** : plants bactérisés par la souche F21 de *Pseudomonas* spp. fluorescent fraîche

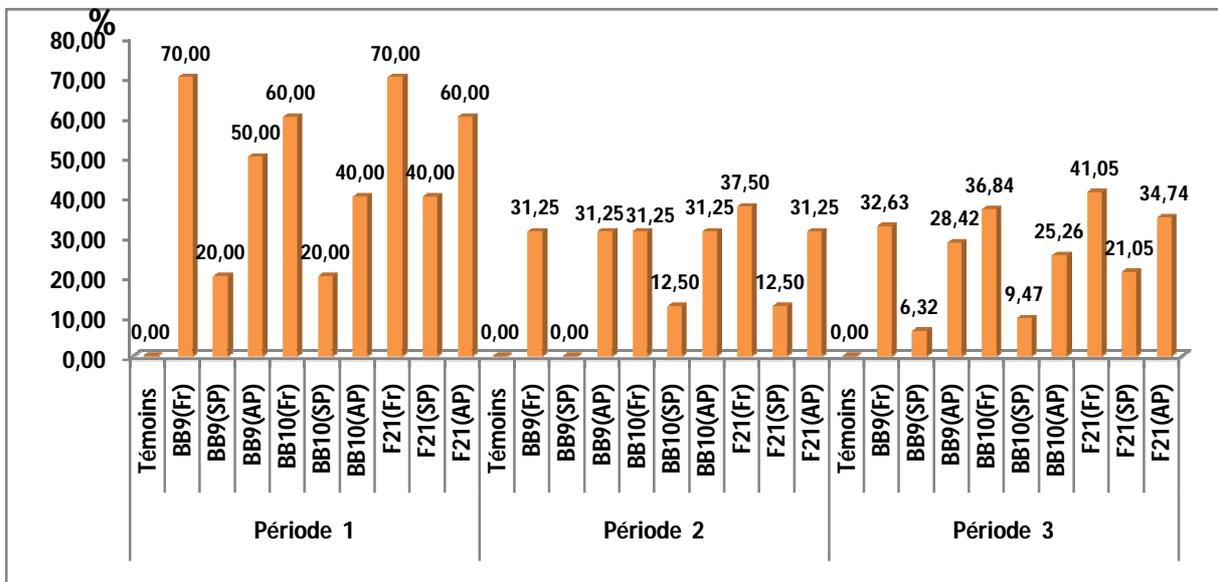
**F21 (SP)** : plants bactérisés par la souche F21 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée sans cryoprotecteurs.

**F21 (AP)** : plants bactérisés par la souche F21 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée avec cryoprotecteurs.

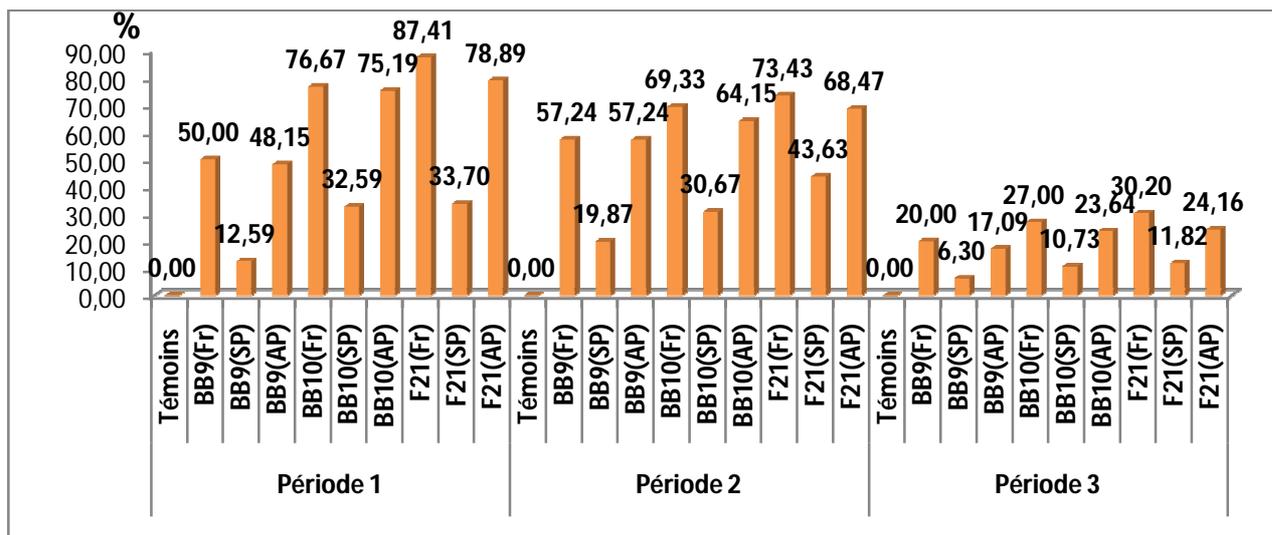


Gain (%) en indice de vigueur de la variété Marmande par rapport au témoin effectuée le dixième jour.

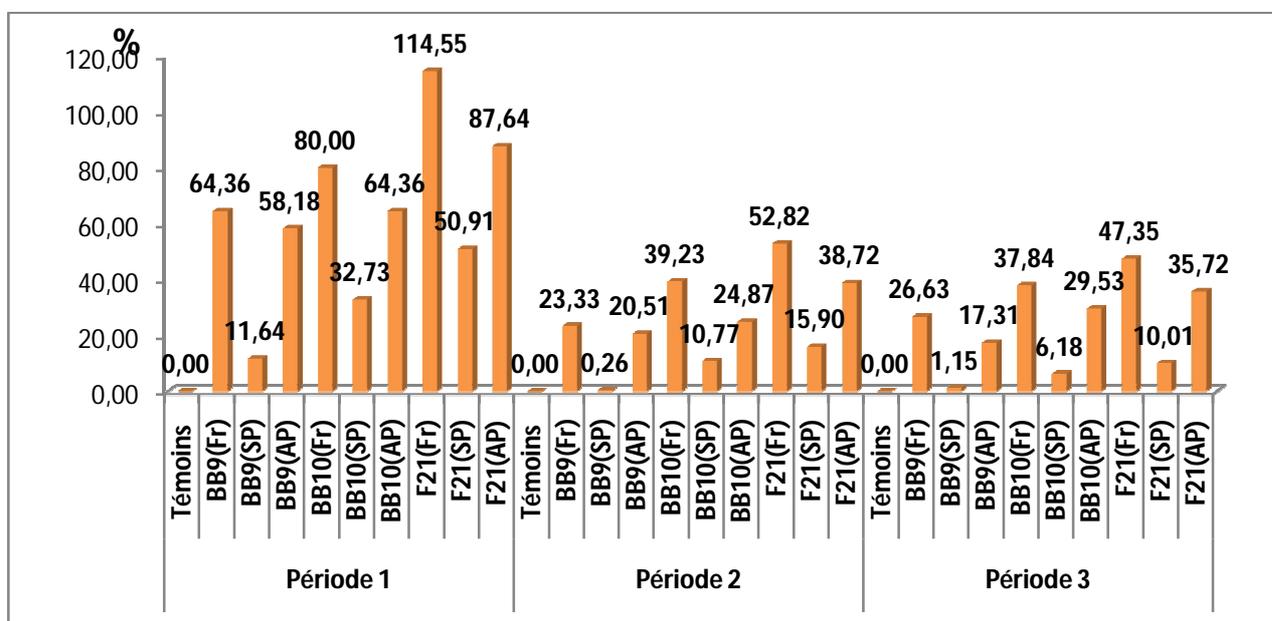
**Annexe 27:** Estimation des gains de l'évaluation de la biostimulation des paramètres de croissance.



Gain (%) en nombre de feuille par rapport aux témoins.



Gain (%) en hauteur des plants par rapport aux témoins.



Gain (%) en longueur des systèmes racinaire par rapport aux témoins.

**Témoins** : plants témoins non bactérisés.

**BB9(Fr)** : plants bactérisés par la souche BB9 de *Pseudomonas* spp. fluorescent fraîche.

**BB9 (SP)** : plants bactérisés par la souche BB9 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée sans cryoprotecteurs.

**BB9 (AP)** : plants bactérisés par la souche BB9 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée avec cryoprotecteurs.

**BB10 (Fr)** : plants bactérisés par la souche BB10 de *Pseudomonas* spp. fluorescent fraîche

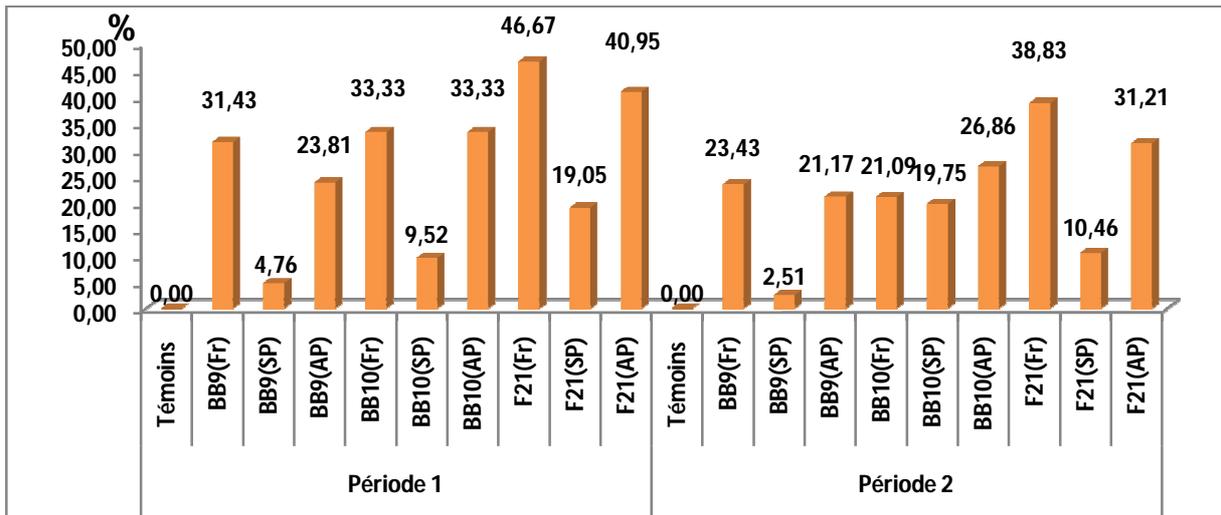
**BB10 (SP)** : plants bactérisés par la souche BB10 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée sans cryoprotecteurs.

**BB10 (AP)** : plants bactérisés par la souche BB10 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée avec cryoprotecteurs.

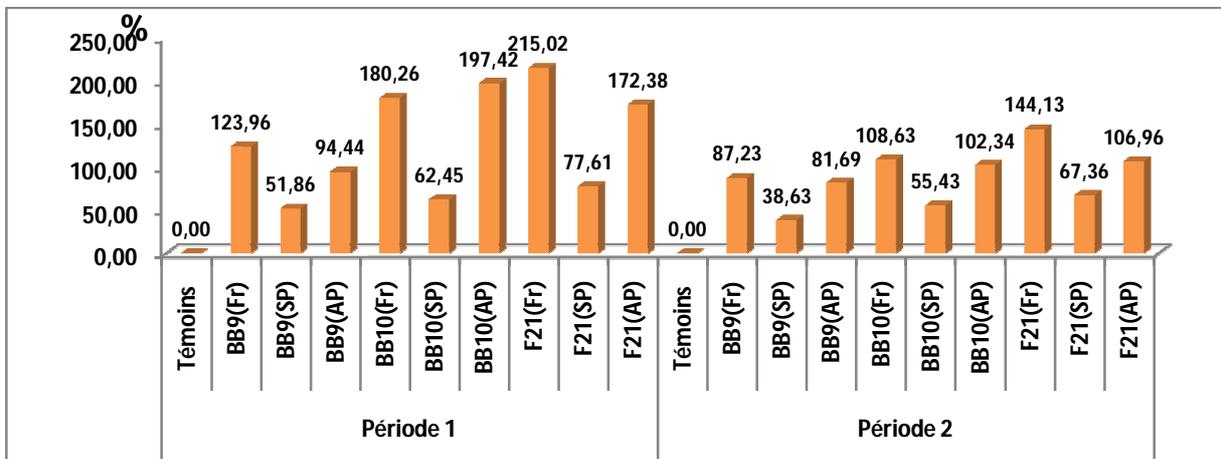
**F21 (Fr)** : plants bactérisés par la souche F21 de *Pseudomonas* spp. fluorescent fraîche

**F21 (SP)** : plants bactérisés par la souche F21 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée sans cryoprotecteurs.

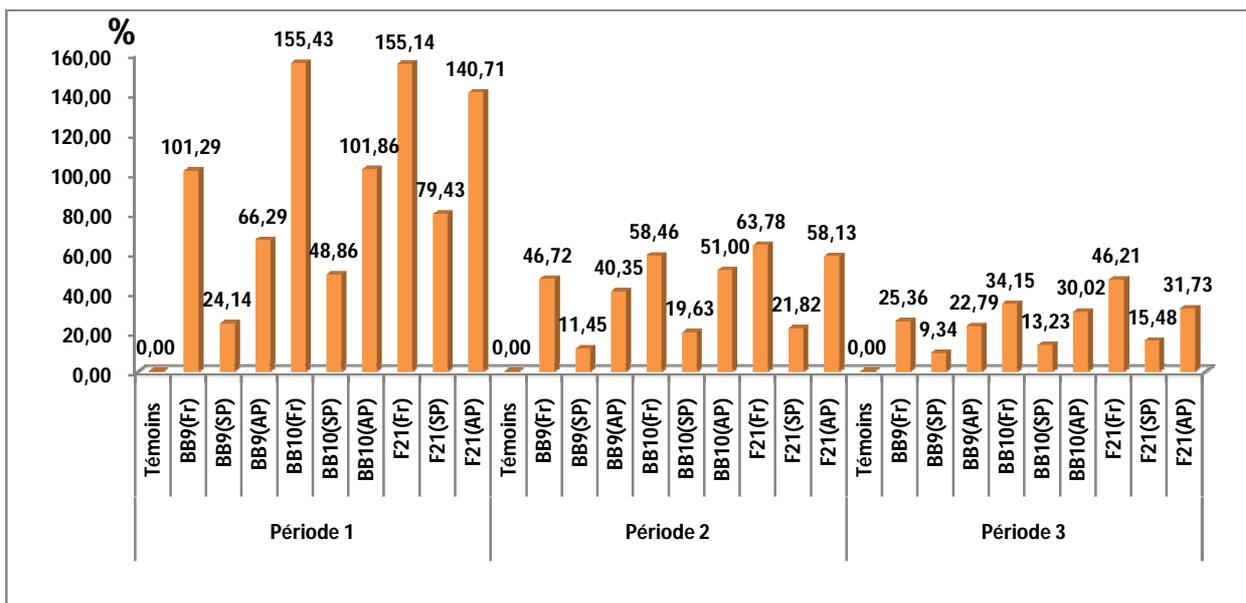
**F21 (AP)** : plants bactérisés par la souche F21 de *Pseudomonas* spp. fluorescent lyophilisée avec cryoprotecteurs.



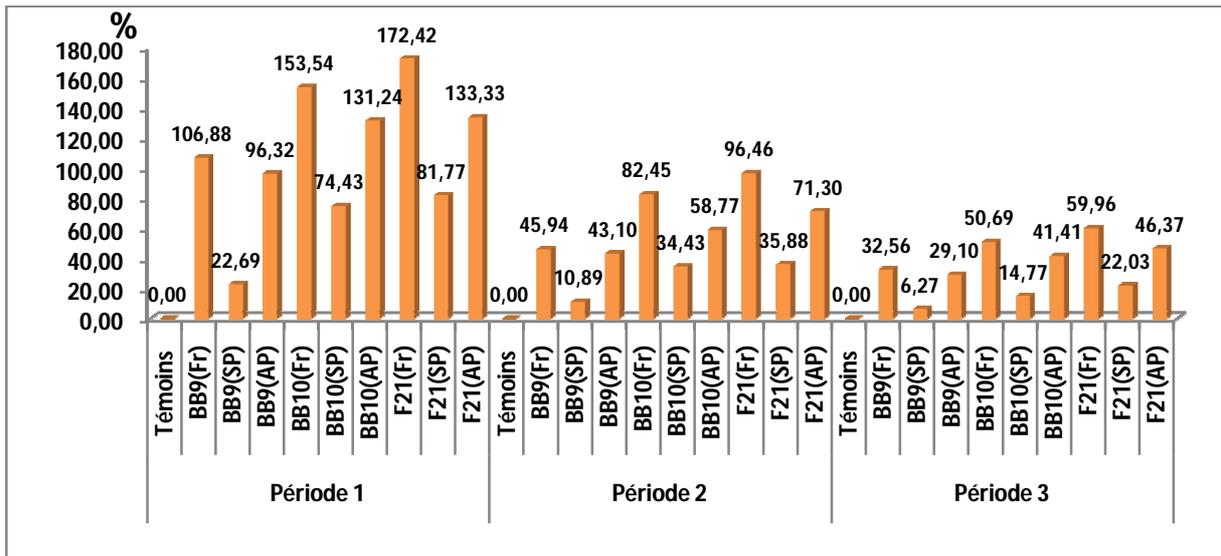
Gain (%) en diamètre des tiges des plants par rapport aux témoins.



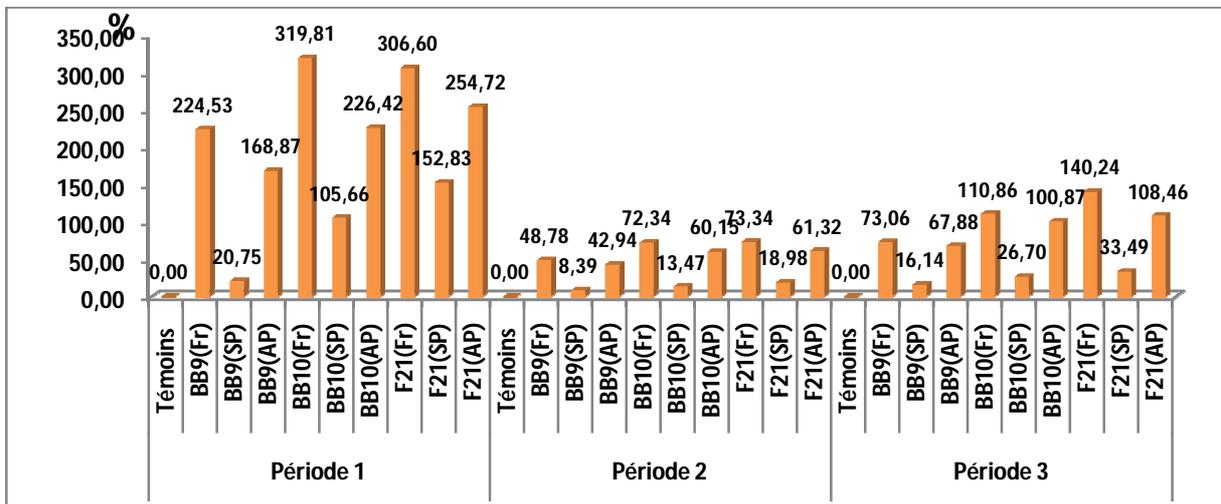
Gain (%) en surface foliaire des plants par rapport aux témoins.



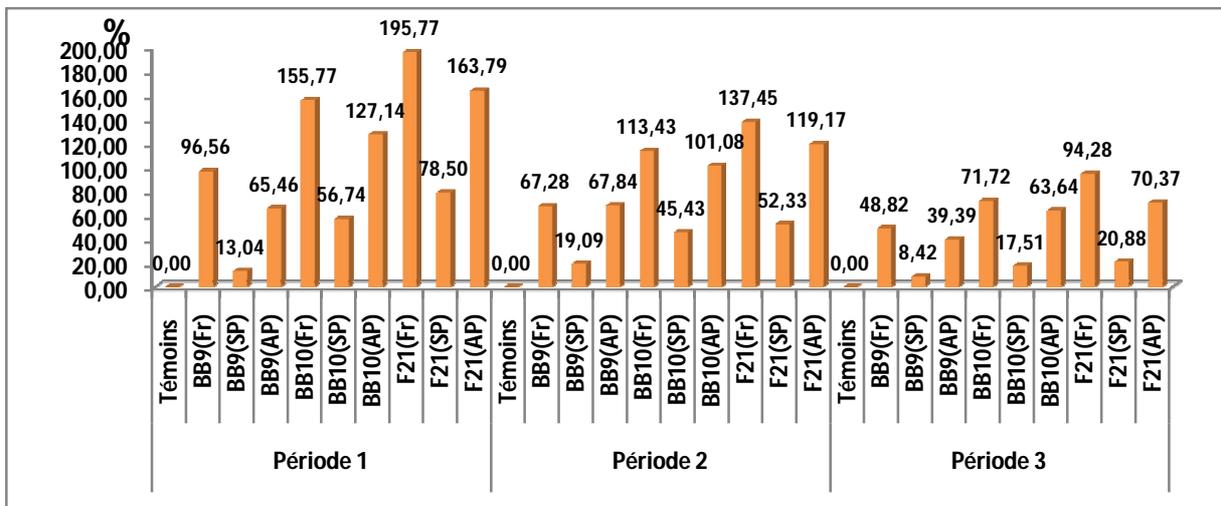
Gain (%) en poids frais de la partie aérienne des plants par rapport aux témoins.



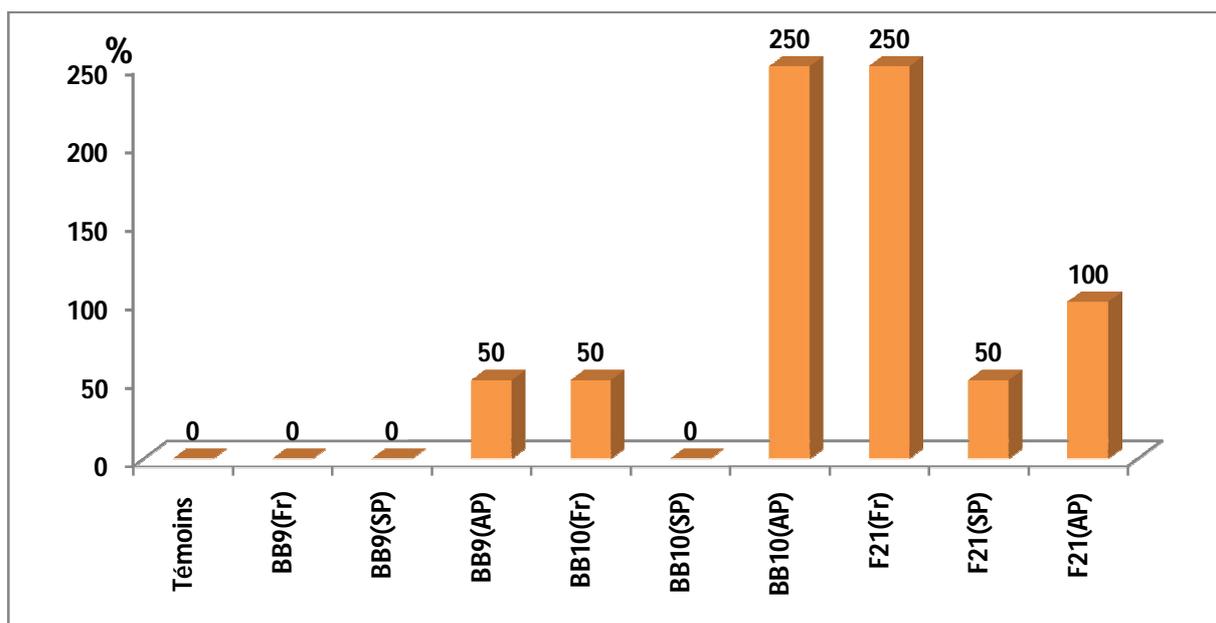
Gain (%) en poids sec de la partie aérienne des plants par rapport aux témoins.



Gain (%) en poids frais du système racinaire des plants par rapport aux témoins.



Gain (%) en poids sec du système racinaire des plants par rapport aux témoins.



Gain (%) en floraison des plants par rapport aux témoins.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques :

**Abadias M., Benabarre A., Teixido N., Usall J. and Vinas I., 2001.** Effect of freeze drying and protectants on viability of the biocontrol yeast *Candida sake*. *Int J Food Microbiol.* 65 :173–182.

**Abo-Elyousr KAM. and El-Hendawy HH., 2008.** Integration of *Pseudomonas fluorescens* and acibenzolar-S-methyl to control bacterial spot disease of tomato. *ELSEVIER. ScienceDirect.* 27:1118-1124.

**Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Warson JD., 1994.** *Molecular Biology of Cell* (3rd Ed.). Garland Publishing. New York and London. 22, (3): 1361p.

**Alexander DB. and Zuberer DA.,1991.** Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. 12, (1), : 39–45.

**Ali SZ., Sandhya V. and Rao LV., 2014.** Isolation and characterization of drought-tolerant ACC deaminase and exopolysaccharide-producing fluorescent *Pseudomonas* sp. *Ann Microbiol.* 64: 493–502.

**Alizadeha H., Behboudia K., Ahmadzadeha M., Javan-Nikkhaha M., Zamioudisb Ch, Pieterseb Corné M J. and Bakker Peter A H M., 2013.** Induced systemic resistance in cucumber and *Arabidopsis thaliana* by the combination of *Trichoderma harzianum* Tr6 and *Pseudomonas* sp. Ps14. *Biological control.* 65, (1): 14–23.

**Allaire M., 2005.** Diversité fonctionnelle des *pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel, Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université laval dans le cadre du programme de maîtrise en microbiologie agricole pour l'obtention du grade de maître ès sciences (m. sc.) faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation université laval québec. 80p.

**Anchordoguy TJ., Rudolph AS., Carpenter JF. and Crowe JH., 1987.** Modes of interaction of cryoprotectants with membrane phospholipids during freezing. *Cryobiology.* 24, (4) : 324–331.

**Andreoni V. and Zaccheo P, 2010.** Potential for the Use of in the Sustainable Management of Contaminated Soils Rhizobacteria (Chap 14). *In:* Ashraf M., Ozturk M and Ahmad MSA. Plant adaptation and phytoremediation. Springer, Dordrecht Heidelberg London. Pp: 313-314.

**Anjaiah V., Koedam N., Nowak-Thompson B., Loper J E., Hoöfte M., Tambong J T. and Cornelis P., 1998.** Involvement of phenazines and anthranilate in the antagonism of *Pseudomonas aeruginosa* PNA1 and Tn5 derivatives toward *Fusarium* spp. and *Pythium* spp. *Mol. Plant Microbe Interact.* 11: 847-854.

**Anuj S., Niranjana R., Sarosh BR., Ramachandran K. and Shetty HS., 2013.** Rhizobacteria mediated growth enhancement in pearl millet. *Indian J Sci Res.* 4 (2) : 41-44.

**Arkhipova TN., Veselov SU., Melantiev AI., Marty NEV. and Kudoyerova GR., 2005.** Ability of bacterium *Bacillus* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil.* 272 : 201-209.

**Arnon DI., 1949.** Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology.* 24 : 1–15.

**Aslantas R., Cakmakci R. and Sahin F., 2007.** Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apples trees growth and fruit yield under orchard conditions. *SCI HORT.* 111, (4): 371-377.

**Bakhach J., Casoli V. and Guimberteau JC., 2007.** The cryopreservation of composite tissues: principle, literature review and preliminary results of our own experiments. *Annales de chirurgie plastique esthétique.* 52 : 531-547.

**Baki AA. and Anderson JD., 1973.** Vigour determination in soyabean seed by multiple criteria. *Crop Sci.* 31 : 630–633.

**Bashan Y. and Gonzalez LE., 1999.** Long-term survival of the plant growth bacteria *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas Xuorescens* in dry alginate inoculants. *Appl Microbiol Biotech.* 51 : 262–266.

**Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. and Obert JP., 2008.** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. *In*: Corrieu G and Luquet F-M., Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments, (Eds.), Tec & Doc Lavoisier, Paris. Pp : 661-785.

**Belimov AA., Dodd IC., Safronova VI., Hontzeas N. and Davies WJ., 2007.** *Pseudomonas brassicacearum* strain Am3 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase can show both pathogenic and growth-promoting properties in its interaction with tomato. *J Exp Bot.* 58 : 1485–95.

**Belimov AA., Sergeyeva TA., Egorova TN., Matveyeva VA., Safronova VI., Tsyganov VE., Borisov AY., Tikhonovich IA., Kluge C., Preisfeld A., Dietz KJ. and Stepanok VV., 2001.** Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Can J Microbiol.* 47 : 642–52.

**Bellishree K., Girija G., Ramachandra YL., Archana SR. and Chethana BS., 2014.** Effect of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) on germination, seedling growth and yield of tomato. *International Journal of Recent Scientific Research.* 5, (8) :1437-1443.

**Benchabane M., Toua D. and Bakour R., 2013.** Les *Pseudomonas* Spp. Fluorescents Phytobeneifiques. Presses Académiques Francophones. 672 p.

**Bending GD., 2003.** The rhizosphere and its microorganisms. *In*: Thomas B., Murphy DJ., Murray BG., eds *Eyclopedia of applied plant sciences.* Academic Press. London. Pp : 1123-1129.

**Bergey's ., 2005.** Manual of Systematic Bacteriology. 2nd ed – The Proteobacteria. Department of Microbiology and Molecular Genetics Michigan State University East Lansing USA. 2 : 1203p.

**Berny JF. and Hennebert GL., 1991.** Viability and stability of yeast cells and filamentous fungus spores during freeze drying: effects of protectants and cooling rates. *Mycologia.* 83: 805–815.

**Beveridge TJ., 1999.** Structures of Gram-Negative Cell Walls and Their Derived Membrane Vesicles. *J Bacteriol.* 181, (16) : 4725–4733.

**Bhattacharya A., 2010.** Siderophore mediated metal uptake by *Pseudomonas fluorescens* and its comparison to iron (iii) chelation. *Cey J Sci (Bio Sci).* 39, (2) : 147-155.

**Bholay AD., Jadhav Priyanka U., Borkhataria BV. and Dhalkari MV., 2012.** Fluorescent Pseudomonads as Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Their Siderophoregenesis. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSRJPBS).* 3, (1) : 27-32.

**Bin L., Smith DL. and Ping-Qui F., 2000.** Application and mechanism of silicate bacteria in agriculture and industry. *Guizhou Sci* 18 : 43–53.

**Blair IA., 2008.** DNA Adducts with lipid peroxidation products. *The Journal of Biological Chemistry.* 283, 15545-15549.

**Blancard D., Laterrot H., Marchoux G. and Candresse T., 2009.** Les maladies de la tomate: Identifier, connaître, maîtriser. Editions Quae. 679 p.

**Bliera A-S., Vieillardb J., Geraulta E, Dagorna A., Varacavoudinb T., Le Derfb F., Orangea N., Feuilloleya M. and Lesouhaitier O., 2012.** Quantification of *Pseudomonas aeruginosa* hydrogen cyanide production by a polarographic approach. *Journal of Microbiological Methods.* 90 : 20–24.

**Blom D., Fabbri C., Connor EC., Schiestl FP., Klauser DR., Boller T., Eberl L. and Weisskopf L., 2011.** Production of plant growth modulating volatiles is widespread among rhizosphere bacteria and strongly depends on culture conditions. *Environ Microbiol.* 13 : 3047–3058.

**Bora T., Ozaktan H., Gore E. and Aslan E., 2004.** Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp melonis by wettable powder formulations of the two strains of *Pseudomonas putida*. *J Phytopathol.* 152 : 471–475.

**Bossis E., Lemanceau P., Latour X. and Gardan L., 2000.** The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie*. 20 : 51-53.

**Boukerma L., Benchabane M., Charif A. and r Khélifi L., 2017.** Activity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPRs) in the Biocontrol of Tomato Fusarium Wilt. *Plant Protect Sci*. 53, (2), : 78–84.

**Bowen GD. and Rovira AD., 1999.** The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Adv Agron*. 66 : 1-102.

**Bozoglu TF., Ozilgen M. and Bakir U., 1987.** Survival kinetics of lactic acid starter cultures during and after freeze drying. *Enzyme Microb Technol*. 9 : 531–537.

**Brandel J., Humbert N., Elhabiri M., Schalk IJ., Mislin GL. and Albrecht-Gary AM., 2012.** Pyochelin, a siderophore of *Pseudomonas aeruginosa*: physicochemical characterization of the iron(III), copper(II) and zinc(II) complexes. *Dalton Transactions*. 41, (9) : 2820-34.

**Broadbent JR. and Lin C., 1999.** Effect of heat shock or cold shock treatment on the resistance of *Lactococcus lactis* to freezing and lyophilization. *Cryobiology*. 39 : 88–102.

**Brown SD., Utturkar SM., Klingeman DM., Johnson CM., Martin SL., Land ML., Lu T-YS., Schadt CW., Doktycz MJ. and Pelletier DA., 2012.** Twenty-one genome sequences from *Pseudomonas* species and 19 genome sequences from diverse bacteria isolated from the rhizosphere and endosphere of *Populus deltoides*. *J Bacteriol*. 194 : 5991–5993.

**Bucio A., Hartemink R., Schrama JW., Verreth J. and Rombouts FM., 2005.** Survival of *Lactobacillus plantarum* 44a after spraying and drying in feed and during exposure to gastrointestinal tract fluids in vitro. *J Gen Appl Microbiol*. 51 : 221-227.

**Bulgarelli D., Rott M., Schlaeppi K., Ver Loren van Themaat E., Ahmadinejad N., Assenza F., Rauf P., Huettel B., Reinhardt R. and Schmelzer E., 2012.** Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*. 488 : 91–95.

**Carlsen CU., Kurtmann L. and Brüggemann DA., 2009.** Investigation of oxidation in freeze-dried membranes using the fluorescent probe C11-BODIPY581/591. *Cryobiology*. 58 : 262-7.

**Carlson RW., Reuhs B., Chen TB., Bhat UR. and Noel KD., 1995.** Lipopolysaccharide core structures in *Rhizobium etli* and mutants deficient in O-antigen. *J Biol Chem*. 270 : 11783-11788.

**Carvalho AS., Silva J., Ho P., Teixeira P., Malcata F. and Gibbs P., 2004.** Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. *Int Dairy J*. 14 : 835–847.

**Carvalho AS., Silva J., Ho P., Teixeira P., Malcata FX. and Gibbs P., 2003.** Protective effect of sorbitol and monosodium glutamate during storage of freeze-dried lactic acid bacteria. *Lait*. 83 : 203-210.

**Castro HP., Teixeira PM and Kirby R., 1996.** Changes in the cell membrane of *Lactobacillus bulgaricus* during storage following freeze-drying. *Biotechnol Lett*. 18 : 99-104.

**Castro HP., Teixeira PM. and Kirby R., 1995.** Storage of lyophilized cultures of *Lactobacillus bulgaricus* under different relative humidities and atmospheres. *Appl Microbiol Biot*. 44 : 172–176.

**Champagne CP., Gardner N., Brochu E. and Beaulieu Y., 1991.** The freeze-drying of lactic acid bacteria. A review. *Can Inst Sci Technol J*. 24 : 118–128.

**Chen C., Bauske EM., Musson G., Rodriguez-Kabaña R. and Kloepper JW., 1994.** Biological control of *Fusarium* on cotton by use of endophytic bacteria. *Biol Control*. 5 : 83–91.

**Cheng Z., Park E. and Glick BR., 2007.** 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. *Can J Microbiol*. 53 : 912–8.

**Chibane A., 1999.** Fiche Technique : Tomate sous serre. Transfert de Technologie en Agriculture n°57. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. 4p.

**Chougar S., 2011.** Bioécologie de la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (MEYRICK, 1917) (Lepidoptera : Gelechiidae) sur trois variétés de tomate sous serre (Zahra, Dawson et Tavira) dans la wilaya de Tizi-Ouzou. Mémoire de magistère. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. 106p.

**Clement MT., 1961.** Effects of freezing, freeze-drying, and storage in freeze-dried and frozen state on viability of *Escherichia coli* cells. *Can J Microbiol.* 7 : 99-106.

**Commare RR., Nandakumar R., Kandan A., Suresh S., Bharathi M., Raguchander T. and Samiyappan R., 2002.** *Pseudomonas fluorescens* based bioformulation for the management of sheath blight disease and leafhopper insect in rice. *Crop Prot.* 21 : 671–677.

**Costa E., Usall J., Teixido N., Garcia N. and Vinas I., 2000.** Effect of protective agents, rehydration media and initial cell concentration on viability of *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 subjected to freeze-drying. *J Appl Microbiol.* 89 : 793–800.

**Coulibaly I., Amenan A. and Lognay G., 2009.** Survival of freeze-dried *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* related to their cellular fatty acids composition during storage. *Appl Biochem Biotechnol.* 157: 70-84.

**Coulibaly I., Dubois-Dauphin R., Danthine S., Majad L., Mejoub T., Destain J., Béra F., Wathelet J-P. and Thonart P., 2011.** Techniques de séchage des starters lactiques et mécanismes affectant la viabilité cellulaire suite à la lyophilisation. *Biotechnol Agron Soc Environ.* 15 : 287-299.

**Coulibaly I., Dubois-Dauphin R., Destain J., Fauconnier M-L., Lognay G. and Thonart Ph., 2010.** The Resistance to Freeze-Drying and to Storage Was Determined as the Cellular Ability to Recover Its Survival Rate and Acidification Activity. *International Journal of Microbiology.* 2010 : 1-9.

**Cox CD., Rinehart KL., Moore ML. and Cook JC., 1981.** Pyochelin novel structure of an iron-chelating growth promoter for *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 78 : 4256-60.

**Cronquist A., 1981.** An integrated system of classification of following plants. Colombia University. 1256p.

**Crooke H., Griffiss JM., John CM., Lissenden S., Bramley J., Regan T., Smith H. and Cole J., 1998.** Characterization of a sialyltransferase-deficient mutant of *Neisseria gonorrhoeae* strain F62: Instability of transposon Tn1545 delta3 in gonococci and evidence that multiple genetic loci are essential for lipooligosaccharide sialylation. *Microb Pathog.* 25 : 237–252.

**Crowe JH., Crowe LM., Carpenter JF. and Wistrom CA., 1987.** Stabilization of dry phospholipids bilayers and proteins by sugars. *Biochem J.* 242 : 1–10.

**Crowe JH., Crowe LM., Oliver AE., Tsvetkova NW. and Tablin F., 2001.** The Trehalose Myth Revisited: Introduction to a Symposium on Stabilization of Cells in the Dry State. *Cryobiology.* 43 : 89-105.

**Dandurand LM., Morra MJ., Chaverra MH. and Orser CS., 1994.** Survival of *Pseudomonas* spp in air-dried mineral powders. *Soil Biol Biochem.* 26 : 1423– 1430.

**Darrah PR., 1993.** The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach. *Plant Soil.* 54 : 3–22.

**Dey R., Pal KK., Bhatt DM. and Chauhan SM., 2004.** Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea L.*) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbio.Res.* 159 : 371-394.

**Dietrich S., Ana-Paula MDS. and Bisutti IL., 2016.** Optimization of a freeze-drying process for the biocontrol agent *Pseudomonas* spp. and its influence on viability, storability and efficacy. *Biological Control.* 94 : 74-81.

**Digat B., 1988.** Strategies for bactérisation with Rhizobacteria. *Bull Organ Eur Mediterr prot plant OEPP.* 18 : 29-35.

**Elzbieta G M. and Stanisław J P., 2015.** Various effects of fluorescent bacteria of the genus *Pseudomonas* containing ACC deaminase on wheat seedling growth. *Microbiological Research.* 181 : 112-119.

**Faisal I., Tahira Y., Qasim A., Shafaqat A , Muhammad Saleem A., Sabir H. and Hina R., 2014.** Influence of *Pseudomonas aeruginosa* as PGPR on oxidative stress tolerance in wheat under Zn stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 104, 285–293.

**Fang, GC., Waldrop VC., Wechter WP. and Kluepfel DA., 2007.** A broad-spectrum antagonistic activity of the biocontrol agent *Pseudomonas synxantha* BG33R. *Phytopathology*. 97 : S34-S34.

**FAO., 2007.** Biotes du sol et biodiversité. Le sol vie. 2p.

**Farhan HN., Abdullah BH. and Hameed AT., 2010.** The biological activity of bacterial vaccine of *Pseudomonas putida*<sup>2</sup> and *Pseudomonas fluorescens*<sup>3</sup> isolates to protect sesame crop (*Sesamum indicum*) from *Fusarium* fungi under field conditions. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 1 : 803–811.

**Favier J., Ireland-Ripert J., Toque C. and Feinberg M., 2003.** Répertoire général des aliments.(Ed) Ciqual. Pp : 40-48.

**Fonseca F., B´eal C. and Corrieu G., 2000.** Method of quantifying the loss of acidification activity of lactic acid starters during freezing and frozen storage. *Journal of Dairy Research*. 67, (1) : 83–90.

**Fonseca F., B´eal C., Mihoub F., Marin M. and Corrieu Gs., 2001.** State diagrams and sorption isotherms of bacterial suspensions and fermented medium. *Thermochimica Acta*. 366, (2) : 167–182.

**Font de Valdez G., de Giori GS., de Ruiz Holgado AP. and Oliver G., 1985b.** Effect of the rehydration medium on the recovery of freeze-dried lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 50 :1339–1341.

**Font de Valdez G., de Girori GS., de Ruiz Holgado AP. and Oliver G., 1985a.** Rehydration conditions and viability of freeze-dried lactic acid bacteria. *Cryobiology*. 22: 574–577.

**Font de Valdez G., Savoy de Giori G., Pesce de Ruiz Holgado A. and Oliver G., 1983.** Comparative study of the efficiency of some additives in protecting lactic acid bacteria against freeze-drying. *Cryobiology*. 20 : 560–566.

**Franks F., 1998.** Freeze-drying of bioproducts: putting principles into practice. *Eur J Pharm Biopharm*. 45 : 221-9.

**Fry RM., 1954.** The preservation of bacteria. *In*: Harris RCJ., Biological applications of freezing and drying. Academic Press Inc, New York. Pp : 215-252.

**Garait B., Couturier K., Servais S., Letexier D., Perrin D., Batandier C., Rouanet J-L., Sibille B., Rey B., Leverve X. and Favier R., 2005.** Fat intake reverses the beneficial effects of low caloric intake on skeletal muscle mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production. *Free Radical Biology and Medicine*. 29 : 1249-1261.

**Garcia AH., 2011.** Anhydrobiosis in bacteria: from physiology to applications. *J Biosci*. 36 : 939-50.

**Gausсен H., Lefoy J. and Ozenda P., 1982.** Précis de Botanique. 2eme ed. Masson, Paris. 172p.

**Girish N. and Umesha S., 2005.** Effect of plant growth promoting rhizobacteria on bacterial canker of tomato. *Arch Phytopathol Plant Prot*. 38 : 235–243.

**Girish N. and Umesha S., 2005.** Effect of plant growth promoting rhizobacteria on bacterial canker of tomato. *Arch Phytopathol Plant Prot*. 38 : 235–243.

**Glick BR., 2005.** Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiol Lett*. 251 : 1–7.

**Glick BR., Jacobson CB., Schwarze MMK. and Pasternak JJ., 1994.** 1-Aminocyclo-propane- 1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. *Can J Microbiol*. 40 : 911–5.

**Glick BR., Liu C., Ghosh S. and Dumbroff EB., 1997.** The effect of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 on the development of canola seedlings subjected to various stresses. *Soil Biol Biochem*. 29 : 1222–39.

**Glick BR., Penrose DM. and Li J., 1998.** A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *J Theor Biol.*190 : 63–8.

**Gobat J M., Aragno M. and Matthey W., 2003.** Le sol vivant : Bases de pédologie-Biologie des sols. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. Lausanne, Suisse. 528p.

**Gray El. and Smith DL. ,2005.** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol Biochem.* 37 : 395-412.

**Guan LL., Kanoh K. and Kamino K., 2001.** Effect of Exogenous Siderophores on Iron Uptake Activity of Marine Bacteria under Iron-Limited Conditions. *Applied and Environmental Microbiol.* 67, (4) : 1710-1717.

**Gupta RS., 2002.** Phylogeny of bacteria: Are we now close to understanding it?. *ASM News.* 68, (6): 284-291.

**Haas D. and Keel C., 2003.** Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Phytopathol.* 41 : 117-153.

**Haas D. and Defago G., 2005.** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent *pseudomonads*. *Nat Rev Microbiol.* 3,(4) :307-319.

**Halliwell B. and Chirico S., 1993.** Lipid peroxydation: its mechanism, measurement and significance 1-3. *Am J Clin Nutr.* 57 : 715S-725S.

**Hameed AT. and Farhan HN., 2007.** Effect of *Pseudomonas aureofaciens* and *Pseudomonas putida* on growth of sorghum biocolor and protect them from infection of *Rhizoctonia solani* fungi. *Al-Anbar University Journal for Pure Science.* 1 : 8–16.

**Harrison AP. and Pelczar MJ., 1963.** Damage and Survival of Bacteria during Freeze-Drying and during Storage over a Ten-Year Period. *J gen Microbiol.* 30 : 395-400.

**Hartmann A., Rothballer M. and Schmid M., 2008.** Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil.* 312 : 7p.

**Hauduroy P. and Piguet JD., 1960.** Fundamental Problems in Vacuum Techniques Ultra-High Vacuum : Les Applications de la Lyophilisation dans les Collections de Types Microbiens. Namur, Belgium. 2 : 721-723.

**Heckly RJ., 1985.** Principles of preserving bacteria by freeze-drying. Dev Ind Microbiol. 26 : 379–395.

**Herman MAB., Nault BA. and Smart CD., 2008.** Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. Crop Protect. 27 : 996-1002.

**Hernández-León R., Rojas-Solís D., Contreras-Pérez M., Orozco-Mosqueda adC., Macías-Rodríguez LI., Reyes-de la Cruz H., Valencia-Cantero E. and Santoyo G., 2015.** Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. Biological Control. 81 : 83-92.

**Hiltner L., 1904.** Über neuere Erfahrungen und Problem auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Grundüngung und Brache. Arb. Dtsch. Landwirt. Ges, 98: 59–78.

**Hinsinger P., 1998.** How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. Adv. Agron, 64 : 225–265.

**Hofte M. and De Vos P., 2006.** Plant Pathogenic *Pseudomonas* Species. IN: Gnanamanickam S. Plant-associated Bacteria. Springer. The Netherlands. Pp : 507-533.

**Hofte Monica. and Altier Nora., 2010.** Fluorescent *pseudomonads* as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. Research in Microbiology. 161 : 464 – 471.

**Holt JG., Krieg NR., Sneath PHA., Staley JT. and Williams S T., 1994.** Genus *Pseudomonas*. In: Holt J G., Krieg, N R., Sneath P H A., Staley J T and Williams S T. (eds) Bergey's manual of determinative bacteriology. Williams and Wilkins. Pp: 93-94.

**Honma M. and Shimomura T., 1978.** Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agric Biol Chem* .42 : 1825–31.

**Howie WJ. and Suslow TV., 1991.** Role of antibiotic biosynthesis in the inhibition of *Pythium ultimum* in the cotton spermosphere and rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens*. *Mol Plant-Microbe Inter.* 37 : 393-399.

**Hubařílek Z., 2003.** Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*. 46 : 205–229.

**Hurst A., 1977.** Bacterial injury: a review. *Can J Microbiol.* 23 : 936-44.

**Iavicoli A., Boutet E., Buchala A. and Métraux J-P., 2003.** Induced Systemic Resistance in *Arabidopsis thaliana* in Response to Root Inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *MPMI spotlight*.16, (10) : 851–858.

**Jackson MB., 1991.** Ethylene in root growth and development. *In: Mattoo AK., Suttle JC., editors. The plant hormone ethylene. Boca Raton: CRC Press. Pp. 159–81.*

**Jackson TA., 2017.** Entomopathogenic Bacteria: Mass Production, Formulation, and Quality Control (Chapter 8). *In: Lacey LA., Microbial Control of Insect and Mite Pests. Academic Press. AgResearch, Lincoln Research Center, Christchurch, New Zealand. Pp: 125-139.*

**Jacobson CB., Pasternack JJ. and Glick BR., 1994.** Partial purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR 12-2. *Can J Microbiol.* 40 : 1019–1025.

**Jacques Ph., Delfosse Ph., Ongena M, Lepoivre Ph., Cornélis P., Koedam N., Neirinckx L. and Thonart Ph., 1993.** Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. *Cahier agricultures.* 2 : 301-307.

**Jalilia F., Khavazib K., Pazirac E., Nejatib A., Asadi Rahmanib H., Rasuli Sadaghianid H. and Miransari M., 2009.** Isolation and characterization of ACC

deaminase-producing fluorescent *Pseudomonads*, to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth. *Journal of plant physiology*. 166 : 667-674.

**James DW. and Gutterson NI., 1986.** Multiple antibiotics produced by *Pseudomonas fluorescens* 1-1\37a and their differential regulation by glucose. *Appl Environ Microbiol*. 52 : 1183-1189.

**Janisiewicz W J. and Marchi A., 1992.** Control of storage rots on various pear cultivars with a saprophytic strain of *Pseudomonas syringae*. *Plant Dis*. 76 : 555-560.

**Johansson PM. and Wright SAI., 2003.** Low-temperature isolation of disease-suppressive bacteria and characterization of a distinctive group of *pseudomonads*. *Appl Environ Microbiol*. 69 : 6464–6474.

**Jones DL. and Hinsinger P., 2008.** The rhizosphere: Complex by design. *Plant Soil*. 312 : 1–6.

**Jossi M., 2008.** Rhizosphere bacterial communities associated with *Lolium perenne* structuration and plant-mediated influences. Thèse d'états de la faculté de Neuchâtel de Suisse. Pp : 19-25.

**Kaiser WJ., Harman RM. and Weller DM., 1989.** Biological control of seed rot and pre-emergence damping-off of chickpea with fluorescent *pseudomonads*. *Soil Biol Biochem*. 21 : 269-273.

**Kamala-Kannan S., Lee KJ., Park SM., Chae JC., Yun BS., Lee YH., Park YJ. and Oh BT., 2010.** Characterization of ACC deaminase gene in *Pseudomonas entomophila* strain PS-PJH isolated from the rhizosphere soil. *J Basic Microbiol*. 50 : 200–5.

**Kanawapee N., Sanitchon J., Lontom W. and Threerakulpisut P., 2012.** Evaluation of salt tolerance at the seedling stage in rice genotypes by growth performance, ion accumulation, proline and chlorophyll content. *Plant Soil*. 358 : 235–249.

**Kandan A., 2000.** Induction of systemic resistance against tomato spotted wilt virus (TSWV) in tomato by fluorescent *Pseudomonas* strains. M Sc (Ag) Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India. 117p.

**Karadeniz A., Topcuoglu SF. and Ivan S., 2006.** Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. *World. J. Microbiol. Biotech.* 22 (10): 1061-1064.

**Kavitha R. and Umesha S., 2007.** Prevalence of bacterial spot in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease incidence. *Crop Prot.* 26 : 991–997.

**Kavitha R. and Umesha S., 2007.** Prevalence of bacterial spot in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease incidence. *Crop Prot.* 26 : 991–997.

**Kawahara H., 2008.** Cryoprotectants and Ice-Binding Proteins. *In: Margesin R., Schinner F., Marx JC and Gerday C., Psychrophiles: from Biodiversity to Biotechnology* (Eds). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. Pp: 229-243

**King EO., Wark MK. and Ranney DE., 1954.** Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Chemical Medicine.* 44 : 301-307.

**Kloepper JW. and Schroth MN., 1978.** Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. *IN: Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria.* Pp. 879–882.

**Kloepper JW., Schroth MN. and Miller TD., 1980.** Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology.* 70 : 1078–1082.

**Kucera B., Cohn MA. and Leubner-Metzger G., 2005.** Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci Res.* 15: 281–307.

**Kwak Youn-Sig, Bonsall Robert F., Okubara Patricia A., Paulitz Timothy C., Thomashow Linda S. and Weller David M., 2012.** Factors impacting the activity of

2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* against take-all of wheat, *Soil Biology and Biochemistry*. 54 : 48-56.

**Latigui A., 1984.** Effets des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. These de Magister. INA. El Harrach.

**Latour X. and Lemanceau P.,1997.** Carbon and energy metabolism of oxydase positive saprophytique fluorescents *Pseudomonas* spp. *Agronomie*. 17 : 427-443.

**Lemanceau P. and Heulin T., 1998.** La rhizosphère (chap 7). *In* : Stengel P., Gelin S and Coord. Sol interface fragile. INRA Paris. Pp : 93-104.

**Lemanceau P.,1992.** Effets benifiques de rhizobactérie sur les plantes : Exemples des *Pseudomonas* spp. fluorescent. *Agronomie*.12 : 413-437.

**Li J., Pan Y., Chen G., Mujumdar AS. and Zhou M., 2004.** Fluidized-bed drying of biological materials: two cases studies. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 12, (6) : 840-842.

**Lievensse L. and van't Riet K., 1994.** Convective drying of bacteria. *Biotechnics/Wastewater*. Berlin/Heidelberg: Springer. Pp : 71-89.

**Liu X., Pang J. and Yang Z., 2009.** The Effect of *Bacillus subtilis* SY1 and *Pseudomonas fluorescens* W1 in the Ecological Remediation of the Soil. *J Sust Dev*. 2 : 90-94.

**Lodish H., Berk A., Zipursky LS., Matsudaira P., Baltimore D. and Darnell J., 2000.** *Molecular Cell Biology*. Freeman WH and Co. New-york. 1084p.

**Loper JE. and Schroth MN., 1986.** Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathology*. 76 : 386–389.

**Lucy M., Reed E. and Glick BR., 2004.** Application of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. 86 :1–25.

**Lundberg DS., Lebeis SL., Paredes SH., Yourstone S., Gehring J., Malfatti S., Tremblay J., Engelbrekton A., Kunin V. and del Rio TG., 2012.** Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature*. 488 : 86–90.

**Lyczak J B., Cannon C L. and Pier G B., 2000.** Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist<sup>1</sup>. *Microbes Infect*. 2 : 1051-1060.

**Lynch JM. and Whipps JM., 1990.** Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil*. 129 : 1- 10.

**Maddula VSRK., Pierson EA. and Pierson III LS., 2008.** Altering the Ratio of Phenazines in *Pseudomonas chlororaphis (aureofaciens)* Strain 30-84: Effects on Biofilm Formation and Pathogen Inhibition. *J Bacteriol*. 190 : 2759–2766.

**Maier RM, Pepper IL. and Gerba CP., 2000.** Environmental microbiology (Second Edition). San Diego: Academic Press. 589p.

**Maketon Ch., Fortuna AM. and Okubara PA., 2012.** Cultivar-dependent transcript accumulation in wheat roots colonized by *Pseudomonas fluorescens* Q8r1-96 wild type and mutant strains. *Biological Control*. 60 : 216–224.

**Mandell GL., Bennett JE. and Dolin R., 2010.** Principles and practices of infectious diseases, 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 51, (5) : 2835-60.

**Mark G., Morrissey J P., Higgins P. and O'Gara F., 2006.** Molecular-based strategies to exploit *Pseudomonas* biocontrol strains for environmental biotechnology applications. *FEMS Microbiol Ecol*. 56 : 167-177.

**Marshner H., 1995** Mineral nutrition of higher plants (Second Edition). Academic, London. 889p.

**Martínez-Álvarez JC., Castro-Martínez C., Sánchez-Peña P., Gutiérrez-Dorado R. and Maldonado-Mendoza IE., 2016.** Development of a powder formulation based on *Bacillus cereus* sensu lato strain B25 spores for biological control of *Fusarium verticillioides* in maize plants. *World J Microbiol Biotechnol*. 32, (5) : 75p.

**Mathivanan N., Prabavathy VR. and Vijayanandraj VR., 2005.** Application of talc formulations of *Pseudomonas fluorescens* migula and *Trichoderma viride* pers. Ex SF Gray decrease the sheath blight disease and enhance the plant growth and yield in rice. J Phytopathol. 153 : 697–701.

**Maurhofer M., Hase C., Meuwly P., Métraux J-P. and Défago G., 1994.** Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: influence of the gacA gene and pyoverdine production. Phytopathology. 84 : 139–146.

**Mavrodi D V., Bonsall R F., Delaney S M., Soule M J., Phillips G. and Thomashow L S., 2001.** Functional analysis of genes for biosynthesis of pyocyanin and phenazine-1-carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. J. Bacteriol. 183 : 6454-6465.

**Mavrodi DV., Parejko JA., Mavrodi OV., Kwak Youn-Sig, Weller DM., Blankenfeldt W. and Thomashow LS., 2012.** Recent insights into the diversity, frequency and ecological roles of phenazines in fluorescent *Pseudomonas* spp. Environmental microbiology. 15, (3) : 675–686.

**McCauley A., Jones C. and Jacobsen J., 2005.** Soil and Water Management. Basic Soil Properties. Montana State University Extension Services, Montana State University, Bozeman. Pp: 994-2721.

**McSpadden Gardener BB., 2007.** Diversity and Ecology of Biocontrol *Pseudomonas* spp. In Agricultural Systems. Phytopathology. 97, (02) : 221-226.

**Meera T. and Balabaskar P., 2012.** isolation and characterization of *pseudomonas fluorescens* from rice fields. International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences. 2, (1) : 113-120.

**Mendes R., Kruijt M., de Bruijn I., Dekkers E., van der Voort M., Schneider JHM., Piceno YM., DeSantis TZ., Andersen GL. and Bakker PAHM., 2011.** Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. Science 332 : 1097–1100.

**Mercado-Blanco Jesús. and Bakker Peter A H M., 2007.** Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. Antonie van Leeuwenhoek-Springer. 92 : 367–389.

**Messiaen C., Blancard D., Rouxel F. and Lafon R., 1991.** Les Maladies des plantes maraichères : Du labo au terrain . Editions Quae, Paris, 552 p.

**Mezaache-Aichour S., Haichour N., Khaled A. and Zerroug M M., 2015.** Recherche extraction et mise en évidence de substances antifongiques chez les souches indigènes de *pseudomonas* sp antagonistes. AFPP – cinquième conférence internationale sur les méthodes alternatives de protection des plantes. Lille, France.

**Micorsky PV., 2008.** On the inside. Plant Physiol. 146 : 323-324.

**Miyamoto-Shinohara Y., Imaizumi T., Sukenobe J., Murakami Y., Kawamura S. and Komatsu Y., 2000.** Survival rate of microbes after freeze-drying and long-term storage. Cryobiology 41 : 251–255.

**Miyamoto-Shinohara Y., Sukenobe J., Imaizumi T. and Nakahara T., 2008.** Survival of freeze-dried bacteria. J Gen Appl Microbiol. 54 : 9-24.

**Moenne-Loccoz Y., Naughton M., Higgins P., Powell J., O'Connor B. and O'Gara F., 1999.** Effect of inoculum preparation and formulation on survival and biocontrol efficacy of *Pseudomonas fluorescens* F113. J Appl Microbiol. 86 : 787-787.

**Montel Mendoza G., Pasteris SE., Otero MC. and Nader-Macias MEF., 2014.** Survival and beneficial properties of lactic acid bacteria from raniculture subjected to freeze-drying and storage. J Appl Microbiol. 116 : 157–166.

**Morad P. and Martinez S.,1999.** Tomate progres. Un nouveau système de recyclage des solutions nutritives. Laboratoire d'ingénierie agronomique, ENSAT, BP107, 31320. Castanet Tolosan, INP/Ecole nationale supérieure d'agronomie. Toulouse. 5p.

**Morgan C. and Vesey G., 2009.** Freeze-Drying of Microorganisms. Encyclopedia of Microbiology (Third Edition). Reference Module in Biomedical Sciences. Pp : 162-173

**Morgan CA., Herman N., White PA. and Vesey G., 2006.** Preservation of microorganisms by drying. J Microbiol Methods. 66 : 183–193.

**Morgan PW. and Drew MC., 1997.** Ethylene and plant response to stress. Physiol Plant. 100 : 620–30.

**Morichi T., 1970.** Nature and action of protective solutes in freeze-drying of bacteria. *In*: Ilzuka H and Hasegawa T., (Eds) Culture Collections of Microorganisms. University Park Press, Manchester, England. Pp : 351–361.

**Mputu Kanyinda J-N., Pierart C., Destain J., Noki Ph. and Thonart Ph .,2014.** Impact du séchage sur la viabilité de *Pseudomonas fluorescens* (synthèse bibliographique). Biotechnol Agron Soc Environ.18, (1) : 134-141.

**MputuKanyinda J-N., Pierart C., Weekers F., Delvigne F., Destain J., Wathelet J-P. and Thonart Ph., 2012.** Effects of glycerol on *Pseudomonas fluorescens* BTP1 freeze-dried. International Journal of Biotechnology and Biochemistry. 8, (2) : 245-258.

**Munro DB. and Small E., 1998.** Les legumes du Canada .NRC Research Press. 436p.

**Naika S., Lidt de Jeude JV., de Goffaux M., Hilmi M. and Van Dam B., 2005.** Agrodok17 : La culture de la tomate. Production, transformation et commercialisation. Fondation Agromisa et CTA, Digigrafi, Wageningen, Pays-Bas. 105p.

**Nanasombat S. and Sriwong N., 2007.** Improving viability of freeze-dried lactic acid bacteria using lyoprotectants in combination with osmotic and cold adaptation. Sci Tech J. 7 : 61-67.

**Nandakumar R., Viswanathan R., Babu S., Sheela J., Raghuchander T. and Samiyappan R., 2001.** A new bioformulation containing plant growth promoting rhizobacterial mixture for the management of sheath blight and enhanced grain yield in rice. Biocontrol. 46 : 493–510.

**Nguyen C., 2003.** Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. *Agronomie*. 23 : 375-396.

**Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T. and Killington R., 2000.** L'essentiel de la microbiologie. Port Royal Livres, Berti Editions, Paris, France. 360p.

**Niranjan SR., Deepak SA., Basavaraju P., Shetty HS., Reddy MS. and Kloepper JW., 2003.** Comparative performance of formulations of plant growth promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy mildew in pearl millet. *Crop Protection*. 22 : 579–588.

**Niranjan SR., Shetty NP. and Shetty HS., 2004.** Seed bio-priming with *Pseudomonas fluorescens* isolates enhances growth of pearl millet plants and induces resistance against downy mildew. *J pest manage*. 50, (1) : 41-48.

**Nirmala JL. and Surendranatha Reddy EC., 2014.** Evaluation of plant growth promoting attributes and biocontrol potential of native fluorescent *pseudomonas* spp. against *Aspergillus niger* causing collar rot of ground nut. *International journal of plant, animal and environmental sciences*. 4, (4) : 256-262.

**Nyabyenda P., 2007.** Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique : Cultures industrielles et d'exportation, cultures fruitières, cultures maraîchères. Presses Agronomiques de Gembloux. 2 : 238p.

**O'Callaghan M., Swaminathan J., Lottmann J., Wright D. and Jackson T., 2006.** Seed coating with biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113. *New Zealand Plant Protection*. 59 : 80-85.

**Oetjen GW. and Haseley P., 2004.** Freeze-drying. Wiley-VCH, Weinheim, Germany. ISBN 978-352-7306-20-6.

**Okubara Patricia A. and Bonsall Robert F., 2008.** Accumulation of *Pseudomonas*-derived 2,4-diacetylphloroglucinol on wheat seedling roots is influenced by host cultivar. *Biological Control*. 46 : 322–331.

**Okubara Patricia A., Call Douglas R., Kwak Y-S. and Skinner Daniel Z., 2010.** Induction of defense gene homologues in wheat roots during interactions with *Pseudomonas fluorescens*. *Biological Control*. 55 : 118–125.

**Palleroni N J., 1993.** *Pseudomonas* classification: a new case history in the taxonomy of gram-negative bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. 64 : 231-251.

**Palleroni N J., 1984.** Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894. Pp : 141–199. *In*: Krieg, N R., and Holt J G. (eds), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore. 1: 462p.

**Palleroni NJ., 2010.** The *Pseudomonas* story. *Environ Microbiol*. 12 : 1377–83.

**Palmfeldt J. and Hahn-Hägerdal., 2000.** Influence of culture pH on survival of *Lactobacillus reuteri* subjected to freeze-drying. *Int J Food Microbiol*. 55 : 235–238.

**Palmfeldt J., Radström P. and Hahn-Hägerdal B., 2003.** Optimisation of initial cell concentration enhances freeze-drying tolerance of *Pseudomonas chlororaphis*. *Cryobiology*. 47 : 21-29.

**Park KS. and Kloepper JW., 2000.** Activation of PR-1a promoter by rhizobacteria that induce systemic resistance in tobacco against *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Biological Control*. 18 : 2–9.

**Parke JL., Rand RE., Joy AE. and King EB., 1991.** Biological control of *Pythium* damping-off and *Aphanomyces* root rot of peas by application of *Pseudomonas cepacia* or *P. fluorescens* to seed. *Plant Dis*. 15 : 987-992.

**Parvatha Reddy P., 2014.** Plant growth promoting rhizobacteria for horticultural crop protection. New Delhi Heidelberg , New York, Dordrecht London. 309p.

**Patil B V., Naik MK., Manujnath H. and Hosamani AC., 2013.** FORMULATION AND COMPATIBILITY OF PGPR WITH PESTICIDES FOR SUPPRESSION OF INSECT PESTS (CHAPTER 23) . Department of Plant Pathology and Entomology, UAS, Raichur, Karnataka, India. *In*: Reddy MS., Ilao RI., Faylon PS., Dar WD., Sayyed R., Sudini H., Kumar KVK., Armanda A. *Recent Advances in Biofertilizers and Biofungicides (PGPR) For Sustainable Agriculture*. Proceedings of 3rd Asian

Conference on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and other Microbials  
Manila, Philippines. Pp:287-288.

**Peix A., Ramirez-Bahena MH. and Velazquez E., 2009.** Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. *Infect Genet Evol.* 9, (6) : 1132-47.

**Pembrey RS., Marshall KC. and Schneider RP., 1999.** Cell surface analysis techniques: What do cell preparation protocols do to cell surface properties?. *Appl Environ Microbiol.* 65, (7) : 2877-2894.

**Penrose DM. and Glick BR., 2001.** Levels of ACC and related compounds in exudate and extracts of canola seeds treated with ACC deaminase-containing plant growthpromoting bacteria. *Can J Microbiol.* 47 : 368–72.

**Perry SF., 1998.** Freeze-Drying and Cryopreservation of Bacteria. *Molecular Biotechnology.* 9: 59-64.

**Peter G. and Reichart O., 2001.** The effect of growth phase, cryoprotectants and freezing rates on the survival of selected micro-organisms during freezing and thawing. *Acta Aliment Hung.* 30 : 89–97.

**Philouze J. and Laterrot H., 1992.** La tomate. *In: Gallais A and Bannerot H., 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Objectifs et critères de sélection. Editions Quae. 768p.*

**Picard C. and Bosco M., 2008.** Genotypic and phenotypic diversity in populations of plant-probiotic *Pseudomonas* spp. colonizing roots. *Naturwissenschaften.* 95 : 1-16.

**Pieterse CMJ. and Van Loon LC., 1999.** Salicylic acid-independent plant defence pathways. *Trends in Plant Science.* 4 : 52–58.

**Polese J-M., 2007.** La culture des tomates. Editions Artemis. Chine. 95 p.

**Polese KM., 2007.** La culture de tomate. Ed Artémis . 95p.

**Potts M., 1994.** Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiol Rev.* 58 : 755–805.

**Prathuangwong S., Athinuwat D., Chuaboon W., Chatnaparat T. and Buensanteai N., 2013.** Bioformulation *Pseudomonas fluorescens* SP007s against dirty panicle disease of rice. African Journal of Microbiology Research. 7, (47) : 5274-5283.

**Prathuangwong S., Pornprom T., Kasem S., Thowthampitak J. and Chuaboon W., 2008.** Integrated pest management of sustainable rice production. A Research Report, Office of the Higher Education Commission, Bangkok. *In*: Prathuangwong S., Athinuwat D., Chuaboon W., Chatnaparat T and Buensanteai N., Bioformulation *Pseudomonas fluorescens* SP007s against dirty panicle disease of rice. African Journal of Microbiology Research. 7, (47) : 5274-5283.

**Preston GM., 2004.** Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*. Phil. Trans R.Soc Lond B 359, 907-918.

**Rabhi NEH., 2011.** Isolement de *Pseudomonas* spp. fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magistère. Université Ferhat Abbas Setif. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Département de Microbiologie.

**Rajappan K., Vidhyasekaran P., Sethuraman K. and Baskaran TL., 2002.** Development of powder and capsule formulations of *Pseudomonas fluorescens* strain Pf-1 for control of banana wilt. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. J Plant Dis Prot. 109 : 80–87.

**Raju NS., Niranjana SR., Janardhana GR., Prakash HS., Shetty HS. and Mathur SB., 1999.** Improvement of seed quality and field emergence of Fusarium moniliforme infected sorghum seeds using biological agents. J Sci Food Agric. 79 : 206-212.

**Ramamoorthy V. and Samiyappn R., 2001.** Induction of defense related genes in *Pseudomonas fluorescens* treated chilli plants in response to infection by *Colletotrichum capsici*. J Mycol Plant Pathol. 31 : 146–155.

**Ramos-Solano B., Barriuso-Maicas J. and Gutierrez-Mañero J., 2009.** Biotechnology of the Rhizosphere. IN: Kirakosyan A and Kaufman PB. Recent

Advances in Plant Biotechnology. Springer Science and Business Media. Pp. 137-162.

**Ramyasmruthi S., Pallavi O., Pallavi S., Tilak K. and Srividya S., 2012.** Chitinolytic and secondary metabolite producing *Pseudomonas fluorescens* isolated from Solanaceae rhizosphere effective against broad spectrum fungal phytopathogens. Asian J Plant Sci Res. 2, (1) :16-24.

**Rey L., 1965.** Un développement nouveau de la lyophilisation: La cryodessiccation des systbmes non aqueux. . Experientia. 21: 241-304.

**Richardson AE., Barea JM., McNeil AM. and Prigent-Combaret C., 2009.** Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphero and plant growth promotion by microorganisms. Plant Soil, 321 : 305-339.

**Sanders JM., Venema J. and Kok J., 1999.** Environmental stress responses in *Lactococcus lactis*. FEMS Microbiol. 23 : 483–501.

**Santivarangkna C., Kulozik U. and Foerst P., 2008.** Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. J Appl Microbiol.105 : 1-13.

**Saravanakumar D. and Samiyappan R., 2007.** ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. J Appl Microbiol. 102:1283–92.

**Sarniguet A., 1990.** Réceptivité des sols au piétin-échaudage du blé : Influence des rotations et de la fertilisation azotée en relation avec certains facteurs physicochimiques et les peuplements de *Pseudomonas fluorescens*. Thèse de l'Université de Paris-Sud Orsay. 98p. In : **Jacques Ph., Delfosse Ph., Ongena M, Lepoivre Ph., Cornélis P., Koedam N., Neirinckx L. and Thonart Ph., 1993.** Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas fluorescens* dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. Cahier agricultures. 2 : 301-307.

**Schwab C., Vogel R. and Gañzle MG., 2007.** Influence of oligosaccharides on the viability and membrane properties of *Lactobacillus reuteri* TMW1.106 during freeze-drying. Cryobiology. 55 : 108–114.

**Schwachtje J., Karojet S., Thormählen I., Bernholz C., Kunz S., Brouwer S., Schwochow M., Köhl K. and van Dongen JT., 2011.** A naturally associated rhizobacterium of *Arabidopsis thaliana* induces a starvation-like transcriptional response while promoting growth. *Plos One*. 6, (12) : e29382.

**Schwyn R. and Neilands JB., 1987.** Universal chemical assay for detection and determination of siderophores. *Anal Biochem*. 160 : 47-56.

**Senthil N., Raguchander T., Viswanathan R. and Samiyappan R., 2003.** Talc formulated fluorescent *pseudomonads* for sugarcane red rot suppression and enhanced yield under field conditions. *Sugar Tech*. 5 : 37–43.

**Sessitsch A., Hardoim P., Döring J., Weilharter A., Krause A., Woyke T., Mitter B., Hauberg-Lotte L., Friedrich F. and Rahalkar M., 2012.** Functional characteristics of an endophyte community colonizing rice roots as revealed by metagenomic analysis. *Mol Plant Microbe Interact*. 25 : 28–36.

**Sethia B., Mustafa M., Manohar S., Patil SV., Jayamohan NS. and Kumudini BS., 2015.** Indole acetic acid production by fluorescent *Pseudomonas* spp. from the rhizosphere of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng and their variation in extragenic repetitive DNA sequences. *Indian journal of experimental biology*. 53, (06) : 342-349.

**Shafiei R., Delvigne F. and Thonart Ph., 2013.** Flow-cytometric assessment of damages to *Acetobacter senegalensis* during freeze-drying process and storage. *Acetic Acid Bacteria*. 2, (s1) : 62-70.

**Shakilabanu S., Kanchana D. and Jayanthi M., 2012.** Biodiversity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Pgpr) In Mangrove Ecosystem: A Review. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 3 ,(3) : 418-422.

**Sharma A. and Johria BN., 2003.** Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions. *Microbiological Research*. 158, (3) ,: 243-248.

**Sharma A., Johria BN., sharmab AK. and Glickc BR., 2003.** Plant growth promoting bacterium *Pseudomonas* sp. strain GRP3 influences iron acquisition in mung bean (*Vigna radiate* L. Wilzeck). *Soil biology and biochemistry*. 35 : 887-894.

**Shaukat K., Affrasayab S. and Hasnain S., 2006a.** Growth responses of *Helianthus annus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. *J Agri Res*. 1, (6) : 573-581.

**Shaukat K., Affrasayab S. and Hasnain S., 2006b.** Growth responses of *Triticum aestivum* to Plant Growth Promoting Rhizobacteria Used as a Biofertilizer. *Research Journal of Microbiology*. 1, (4) : 330-338.

**Siddiqui Imran A. and Shaukat Shahid S., 2003.** Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in tomato: importance of bacterial secondary metabolite, 2,4-diacetylphloroglucinol. *Soil Biology and Biochemistry*. 35 : 1615–1623

**Silva VN., Silva LESF. and Figueiredo MVB., 2006.** Atuaçãõ de rizo´bios com rizobact´rias promotora de crescimento em plantas na cultura do caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Acta Sci Agron*. 28 : 407–412.

**Singer MJ and Munns DN., 2006.** *Soils: an introduction* (6th Edition). Pearson Education, New Jersey. 464p.

**Sinha RN., Shukla AK., Madan La I. and Ranganathan B., 1982.** Rehydration of freeze-dried cultures of lactic streptococci. *J Food Sci*. 47 : 668–669.

**Sivamani E. and Gwanamanickam SS., 1988.** Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense in banana by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Plant Soil*. 107 : 3–9.

**Sivamani E. and Gwanamanickam SS., 1988.** Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense in banana by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Plant Soil*. 107 : 3–9.

**Sivasakthi S., Usharani G. and Saranraj P., 2014.** Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)- *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. African Journal of Agricultural Research. 9,(16) : 1265-1277.

**Smith RS., 1992.** Legume inoculant formulation and application. Can J Microbiol. 38 : 485–492.

**Snoussi S-A., 2010.** Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome. 52 p.

**Someya N., Tsuchiya K., Yoshida T., Noguchi MT. and Sawada H., 2007.** Encapsulation of cabbage seeds in alginate polymer containing the biocontrol bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain LRB3W1 for the control of cabbage soilborne diseases. Seed Sci. Technol. 35 : 371–379.

**Souzo H., 1992.** Freeze-drying of Microorganisms. Encyclopedia of Microbiology, Academic Press, New York, vol 2.

**Sreedevi B., Preethi S. and Pramoda Kumari J., 2014.** Isolation, Production And Optimization Of Siderophore Producing *Pseudomonas* From Paddy Soil. Int J Pharm Res Sci. 02, (1) : 71-88.

**Sundara B., Natarajan V. and Hari K., 2002.** Influence of phosphorous solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorous and sugarcane and sugar yields. Field Crop Res. 77 : 43-49.

**Sylvia D., Fuhrmann J., Hartel P. and Zuberer D., 2005.** Principles and applications of soil microbiology (2nd Edition). Pearson Education, New Jersey. 672p.

**Teixeira P., Castro H and Kirby R., 1996.** Evidence of membrane lipid oxidation of spray-dried *Lactobacillus bulgaricus* during storage. Lett Appl Microbiol. 22 : 34-38.

**Tilak KVBR., Ranganayaki N., Pal KK., De R., Saxena AK., Nautiyal CS, Shilpi Mittal., Tripathi AK. and Johri BN., 2005.** Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Curr Sci. 89: 136-150.

**Toua D., Benchabane M., Bensaid F. and Bakour R., 2013.** Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of fusarium wilt in tomato and flax. African Journal of Microbiology Research. 7, (48) : 5449-5458.

**Tourkya B., 2009.** Mise au point de la spectroscopie de fluorescence pour la taxonomie des *Pseudomonads* : Application à la caractérisation d'isolats d'ateliers carnés. Thèse Présentée à l'Université Blaise Pascal En vue d'obtenir le grade de DOCTEUR EN SCIENCES DES ALIMENTS, N° D U. 1942.

**Trapero-Casas A., Kaiser WJ. and Ingram DM., 1990,** Control of *Pythium* seed rot and pre-emergence damping-off of chickpea in the US Pacific North West and Spain. Plant Dis. 74 : 563-569.

**Trevors JT., Van Elsas JD., Lee H. and Van Overbeek LS., 1992.** Use of alginate and other carriers for encapsulation of microbial cells for use in soil. Microb Releases. 1: 61–69.

**Tse-Chao Hua., Bao-Lin Liu. and Hua Zhang., 2010.** Freeze-Drying of Pharmaceutical and Food Products: 2-Fundamentals of Freeze Drying. A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Pp : 18-67.

**Tsvetkov T. and Brankova R., 1983.** Viability of micrococci and lactobacilli upon freezing and freeze-drying in the presence of different cryoprotectants. Cryobiology. 20 : 318–323.

**Tuzun S. and Kuc J., 1991.** Plant immunization: An alternative to pesticides for control of plant diseases in greenhouse and field. pp. 30–40. *In*: Bay-Peterson J., (Ed.) The biological control of plant diseases. Taiwan: Food and Fertilizer Technology Centre.

**Umesha S., Dharmesh SM., Shetty SA., Krishnappa M. and Shekar Shetty H., 1998.** Biocontrol of downy mildew disease of pearl millet using *Pseudomonas fluorescens*. Crop Protection. 17, (5) : 387-392.

**Validov S., Mavrodi O., De La Fuente L., Boronin A., Weller D., Thomashow L. and Mavrodi D., 2005.** Antagonistic activity among 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. FEMS Microbiology Letters. 242 : 249–256.

**Van Loon LC., 2007.** Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Pathol.* 119 : 243-254.

**Verma J P.,Yadav J. and Tiwari KN., 2010.** Application of *Rhizobium* sp. BHURC01 and plant growth promoting rhizobacteria on nodulation, plant biomass and yields of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Int J Agric Res.* 5 : 148-156.

**Vessy Kevin J., 2003.** Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biofertilizers. *Plant and Soil.* 255, (2) : 571–586.

**Vidhyasekaran P., Sethuraman K., Rajappan K. and Vasumathi K., 1997.** Powder Formulations of *Pseudomonas fluorescens* to Control Pigeonpea Wilt. *Biological Control.* 8: 166-171.

**Wagman J., 1960.** Evidence of cytoplasmic membrane injury in the drying of bacteria. *U S, Army Chemical Corps.* 80 : 558-564.

**Walsh UF., Morrissey JP. and O’Gara F., 2001.** *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation. *Current Opinion in Biotechnology.* 12 : 289-295.

**Weller DM., 2007.** *Pseudomonas* Biocontrol Agents of Soilborne Pathogens: Looking Back Over 30 Years. *Phytopathology.* 97: 250-256.

**Wesche AM., Gurtler JB. and Marks BP., 2009.** Stress, sublethal injury, resuscitation, and virulence of bacterial foodborne pathogens. *J Food Prot.* 72 : 1121-38.

**Weyens N., Monchy S., Vangronsveld J., Taghavi S. and Vander Lelie D., 2010.** Plant-Microbe Partnerships. *In:* Timmis KN., (ed.), *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology.* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. Pp : 254-2564.

**Whipps JM. and Lumsden RD., 1991.** Biological control of *Pythium* species. *Biocontrol Sci Technol.* 1 : 75-90.

**Wolfe J. and Bryant G., 1999.** Freezing, drying, and/or vitrification of membrane-solute-water systems. *Cryobiology.* 39: 103-29.

**Yang L., Wang Y., Song J., Zhao W, He X., Chen J. and Xiao M., 2011.** Promotion of plant growth and in situ degradation of phenol by an engineered *Pseudomonas fluorescens* strain in different contaminated environments. *Soil Biology and Biochemistry*. 43 : 915-922.

**Zhao G. and Zhang G., 2005.** Effect of protective agents, freezing temperature, rehydration media on viability of malolactic bacteria subjected to freeze-drying. *Journal of Applied Microbiology*. 99 : 333–338.