

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET  
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا

Département : Productions végétales

القسم : الانتاج النباتي

Spécialité : Ressources génétiques et  
amélioration des productions végétales

التخصص : الموارد الوراثية و تحسين الإنتاج النباتي

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master

***THEME***

**FORMULATION ET ÉVALUATION DE LA PERFORMANCE DES  
BIOENGRAIS À BASE DU MICROBIOME RHIZOSPHERIQUE  
(PGPR) DES PLANTES**

Présenté par : Meriem BADJI

Soutenu Publiquement le 20/12/2023

Devant le jury composé de :

Mémoire dirigé par :

M. RAHMOUNE Bilal

(MCA, ENSA)

Président :

M. MEFTI Mohammed

(Professeur, ENSA)

Examineurs :

M. KADRI Adel

(MCA, ENSA)

M. ZERROUK Izeddine Zakarya

(MCA, ENS Constantine)

Promotion : 2018-2023

## *Dédicaces*

À ma chère famille. Ils ont toujours été à ma côtés, pour me protéger, me soutenir, et m'encourager. Aucun mot ne saurait exprimer ma reconnaissance et ma gratitude envers vous.

Mes chers parents, **Papa** qui a illuminé les routes sombres que j'ai empruntées de ses yeux et a créé les miracles que j'ai souhaités. **Mama**, grâce à sa tendresse et à la douceur de ses mains, où je trouve le réconfort dont j'ai besoin.

Mes frères et sœurs : **Marwa, Zakaria, Mohammed Amine** et **Khadidja** , qui ont été le soutien et l'épaule chaleureuse qui ont cru en moi. et sans oublier **Malek**

Mon oncle **Fayçal** qui me soutient constamment et qui croit que nous méritons toujours le meilleur, car nous nous efforçons continuellement d'offrir le meilleur

Mes anges sur terre, **Maram** et **Basma**, qui créent le bonheur et le sourire dans les moments difficiles.

Ma sœur de cœur, **Kenza**, qui a cru, soutenu, et laissé son empreinte à chaque étape de ce travail.

À **Tata Rabiha** et **Nour el dine** qui m'ont soutenue moralement et matériellement.

A mes amies de la promotion **Feriel, Youmna, kami** , **Neila** et **Wafa**, Ces quelques mots sont un témoignage de l'expérience partagée, des défis surmontés ensemble, et des liens tissés au cours de notre parcours académique. Votre camaraderie a rendu ces années mémorables et riches en apprentissages. Que notre amitié perdure au-delà de ces bancs d'école, et que le succès accompagne chacun de nous dans nos futurs défis.

*Meriem*

## *Remerciement*

*Avant tout, je remercie Allah de m'avoir donné la force et la volonté de mener à bien ce travail.*

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers mon promoteur, **M. RAHMOUNE B**, dont la patience, les conseils éclairés et la disponibilité tout au long de ce parcours sont infiniment appréciés. Son expertise et son soutien ont été des éléments déterminants dans la concrétisation de ce projet. Ses retours constructifs ont orienté mes réflexions, éclairé mes choix et m'ont permis de donner le meilleur de moi-même dans ce travail.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à **M. MEFTI. M.**, d'avoir accepté de présider ce jury et de juger ce travail.

Je remercie également **M. KADRI A**, et **M. ZERROUK I. Z.**, de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je souhaite exprimer ma sincère gratitude à **M. MEKLIICHE A**. et encore une fois à **M. KADRI A.**, les responsables du département pendant ma formation. Leur soutien inestimable et leurs efforts continus ont contribué à nous fournir des conditions de travail optimales. Merci pour leur accompagnement tout au long de cette période.

Je remercie **Rachida** pour tous les moments que nous avons vécus ensemble au laboratoire

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers mes camarades de la promotion 2023, **Feriel, Youmna, Kami, Abderezak**, ainsi que la doctorante **Hadjer** et les ingénieurs de laboratoires **Mme Djamila, Mme Yasmine, Mme Asma, Mme Triki**, du département de productions et amélioration végétales. Leur précieuse aide et leur patience sont hautement appréciées.

Je remercie **mes chers parents** pour leurs sacrifices, leur confiance et le soutien qu'ils m'ont accordé durant tout mon parcours et qui ont fait de moi la personne dont je suis aujourd'hui.

*Meriem*

## Résumé

L'exploitation des ressources naturelles, telles que les PGPR et les techniques d'ingénierie du microbiome, constitue une avenue prometteuse pour optimiser la production agricole et accroître la fertilité des sols. Les PGPR représentent le groupe le plus étudié et largement utilisé au sein du microbiome des plantes, en raison de leurs divers services écosystémiques. Bien que les inoculants de souches uniques de PGPR soient fortement recommandés pour favoriser la croissance des plantes, les applications dans le monde réel sont toujours limitées par des méthodes peu efficaces. Notre étude vise à isoler et caractériser dix-huit nouvelles souches de PGPR en vue de les exploiter dans l'élaboration de bioengrais, en utilisant des consortia de souches intégrales. Quatorze formules ont été développées en se basant sur les caractéristiques PGP des souches, en utilisant la technique d'encapsulation dans une solution d'alginate-cellulose, puis leur potentiel biostimulant et de biocontrôle a été évalué sur une culture de blé dur de la variété Oued El Bared, aussi bien dans des sols désinfectés que dans des sols infectés par des pathogènes. Les résultats obtenus montrent que dix isolats présentant des caractéristiques PGP intéressantes telles que la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphore et du zinc, la production d'AIA et des enzymes lytiques. L'analyse des capacités biostimulant et de biocontrôle des formules a révélé un impact positif pour l'ensemble des paramètres examinés. La formule F3 s'est démarquée la plus performante, suivie de près par la F6 démontrant un pouvoir biostimulant remarquable pour la majorité des paramètres étudiés. Ce bioengrais a amélioré de 28,37 % ; 30,59 % ; 140,55 % ; 91,84 % ; 154,55 % ; 143,75 % et 20 % par rapport au témoin les paramètres HT à la fin de culture, LR, PFA, PSA, PFR, PSR et P respectivement. Alors que, la formule F12 s'est distinguée comme la plus performante en termes de capacité de biocontrôle, suivie par la F4, notamment pour les paramètres morphologiques, où des améliorations significatives de 20,93 % ; 35,23 % ; 69,67 % ; 44,19 % ; 145 % et 100 % par rapport au T1 ont été enregistrées pour les paramètres HT à la fin de culture, LR, PFA, PSA, PFR et PSR respectivement avec la F12.

**Mots clés :** PGPR, Bioengrais, Consortium, Encapsulation, Biocontrôle, Biostimulant, Blé dur.

## **Abstract**

Exploiting natural resources such as the beneficial plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and methods of microbiome engineering represents a promising avenue to enhance crop production and soil fertility. PGPR represents the most studied and widely used group within the plant microbiome, due to their diverse ecosystem services. Although inoculants of single strains of PGPR are highly recommended to boost plant growth, real-world employment are still limited by inefficient methods. Our study aims to isolate and characterize eighteen new strains for use to formulate PGPR-based biofertilizers, using consortia of integral strains. Fourteen formulas were developed based on the PGP characteristics of the strains, using the encapsulation technique in an alginate-cellulose solution, and then their biostimulating and biocontrol potential was evaluated on a Oued El Bared wheat variety, both in disinfected soils and in soils infected with pathogens. The results show that ten isolates have interesting PGP traits such as nitrogen fixation, solubilisation of phosphorus and zinc, production of AIA and lytic enzymes. The investigation of the biostimulant and biocontrol capacities of the formulas revealed a beneficial effect across all the parameters studied. The F3 formula was the most effective, followed closely by the F6 which demonstrated remarkable biostimulating potential for most of examined parameters. This biofertilizer was improved by 28.37%; 30.59%; 140.55%; 91.84%; 154.55%; 143.75% and 20% compared to the control the HT test, LR, PFA, PSA, PFR, PSR and P, respectively. While formula F12 demonstrated the highest efficacy in terms of biocontrol capacity, followed by formula F4, for morphological parameters, where significant improvements of 20.93%; 35.23%; 69.67%; 44.19%; 145% and 100% compared to T1 were recorded for end-cultivation HT parameters; LR, PFA, PSA, PFR and PSR respectively with formula F12.

**Keywords:** PGPR, Biofertilizers, Consortium, Encapsulation, Biocontrol, Biostimulant, Wheat.

## ملخص

ان استغلال الموارد الطبيعية مثل PGPR و تقنيات الهندسة الميكروبيومية يشكل مسارا و اعدا لتحسين الانتاج الزراعي و زيادة خصوبة التربة. حيث تعد PGPR المجموعة الأكثر دراسة و الاوسع استعمالا فيما يخص ميكروبيوم النباتات لتنوع خدماتها البيئية . لكن بالرغم من أن اضافة سلالات فردية من PGPR موصى بها بشدة لتحسين نمو النبات إلا ان استعمالها في الواقع ما يزال محدود بسبب استعمال وسائل اقل فعالية. تهدف دراستنا لعزل و توصيف ثمانية عشرة سلالة جديدة من PGPR للإستفادة منها لتطوير سماد طبيعي، باستخدام تحالفات السلالات . تم تطوير اربعة عشر صيغة بالاستناد على خصائص PGP للسلالات باستعمال تقنية الكبسلة في محلول الالجينات و السليلوز ، ثم تم تقييم امكانياتها في التنشيط الحيوي و المكافحة الحيوية على صنف واد البارد من القمح الصلب ، سواءا في التربة المعقمة أو الملوثة بمسببات المرض. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن عشر عزلات تظهر سمات PGP مهمة مثل تثبيت النيتروجين و تحليل الفوسفور و الزنك و صنع و الانزيمات المحللة . كشف تحليل قدرات التحفير الحيوي و المكافحة الحيوية للصيغ ، تأثير إيجابي على جميع المعايير المدروسة . برزت الصيغة F3 كافضل محفز حيوي تليها الصيغة F4 بفارق ضئيل لمعظم المعايير المدروسة . حيث ساهم هذا السماد الحيوي بتحسين معدلات بنسبة 28,37% ، 30,59% ، 140,55%، 91,84% ، 143,75%، 154,55%، 20% بالنسبة للشاهد للمعاملات HT,LR,PFA,PSA,PFR ,PSR و P بينما تميزت الصيغة F12 كالأكثر أداءا من حيث قدرة المكافحة الحيوية ، تليها الصيغة F4 , خاصة للمعايير المورفولوجية حيث تم تسجيل تحسنات ملحوظة بنسبة 20,93% ، 35,23% ، 69,67% ، 44,19% ، 145% و 100% بالنسبة لT1 للمعايير HT,LR,PFA,PSA,PFR ,PSR على التوالي مع الصيغة F12

**الكلمات المفتاحية:** PGPR، الأسمدة الحيوية، إتحادات، التغليف، المكافحة الحيوية، المنشط الحيوي، القمح الصلب.

# Sommaire

## Sommaire

Sommaire .....	vi
Liste des figures .....	xii
Liste des tableaux .....	xv
Liste des annexes .....	xvi
Liste des abréviations .....	xviii
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	3
Chapitre 1 : Microbiome végétal : Phytobiome .....	3
1. Définition et généralités.....	3
2. Microbiome rhizosphérique .....	3
3. Microbiome phyllosphérique.....	4
4. Microbiome endosphérique.....	4
5. Approches d'étude et d'analyse du microbiome végétal.....	5
5.1. Techniques conventionnelles .....	5
5.2. Techniques modernes.....	5
5.2.1. Hybridation d'acides nucléiques et hybridation fluorescente in situ (FISH).....	5
5.2.2. Techniques basées sur la PCR.....	6
5.2.3. Approche métagénomique .....	6
6. Effet de l'hôte sur le microbiome végétal.....	6
Chapitre 2 : Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes 'PGPR' .....	7
1. Définition et généralités.....	7
2. Interactions des PGPR dans la rhizosphère.....	7
2.1. Interaction bactérie – bactérie.....	7
2.2. Interaction bactérie – plante.....	8
2.3. Interaction bactérie – plante – environnement.....	8
2.4. Rôle et importance des exsudats racinaire dans les interactions des PGPR.....	9
3. Différents genres des PGPR.....	9
3.1. Bactéries du genre <i>Azospirillum</i> .....	9
3.2. Bactéries du genre <i>Pseudomonas</i> .....	10
3.3. Bactéries du genre <i>Rhizobium</i> .....	10
3.4. Bactéries du genre <i>Bacillus</i> .....	10
4. Mécanismes de promotion de la croissance des plantes.....	10
4.1. Mécanismes directs.....	11
4.1.1. Fixation d'azote.....	11

4.1.2.	Solubilisation du phosphore .....	11
4.1.3.	Solubilisation de potassium.....	12
4.1.4.	Solubilisation de zinc .....	12
4.1.5.	Production des sidérophores.....	12
4.1.6.	Production des phytohormones.....	13
4.2.	Mécanismes indirects.....	13
4.2.1.	Production des enzymes .....	13
4.2.2.	Production des antibiotiques.....	14
4.2.3.	Résistance systémique acquise et induite.....	14
5.	Rôle, effet et importance du PGPR dans l'agriculture .....	14
5.1.	Effet sur la croissance et le rendement des plantes.....	14
5.2.	Effet sur l'acquisition de nutriments.....	15
5.2.1.	Effet sur l'immunité et la santé des plantes.....	15
5.2.2.	Effet sur la santé et la fertilité du sol.....	16
Chapitre 3 : PGPR comme biofertilisant .....		16
1.	Définition d'un biofertilisant microbien .....	16
2.	Processus de formulation d'inoculant de PGPR.....	16
2.1.	Formulation de souche unique.....	17
2.2.	Formulation de consortium de PGPR.....	17
3.	Formes de formulation de PGPR.....	17
3.1.	Formulation sous support ou en poudre .....	17
3.2.	Formulations granulaires .....	17
3.3.	Formulations liquide .....	18
3.4.	Formulations piégées dans des polymère (encapsulées) .....	18
4.	Encapsulation et microencapsulation .....	18
4.1.	Définition .....	18
4.2.	Méthodes de microencapsulation de formules PGPR .....	19
4.2.1.	Technique d'extrusion .....	19
4.2.2.	Séchage par pulvérisation .....	19
4.2.3.	Technique d'émulsion.....	20
5.	Importance de l'encapsulation de PGPR.....	20
<b>Matériel et Méthodes .....</b>		<b>21</b>
I.	Objectif de travail.....	21

<b>II.</b>	Lieu d'expérimentation .....	21
<b>III.</b>	Matériel utilisés .....	21
	1. Matériel bactérien.....	21
	2. Matériel végétal .....	21
	3. Sol agricole.....	21
<b>IV.</b>	Méthodes de travail .....	22
	Partie 1 : Isolement et caractérisation des souches PGPR.....	22
	1. Prélèvement des échantillons, isolement et purification des souches PGPR .....	22
	1.1.Échantillonnage du sol .....	22
	1.2.Isolement des souches PGPR.....	22
	1.3.Ensemencement et incubation .....	23
	1.4. Sélection des colonies bactériennes .....	23
	1.5.Purification des isolats PGPR .....	24
	1.6.Conservation des isolats.....	24
	2. Identification et caractérisation des PGPR.....	24
	2.1.Caractérisation macroscopique .....	24
	2.2.Caractérisation microscopique .....	25
	2.3.Caractérisation biochimique .....	26
	2.3.1. Fixation d'azote atmosphérique.....	26
	2.3.2. Solubilisation du phosphore .....	26
	2.3.3. Solubilisation du zinc .....	26
	2.3.4. Production d'indole (AIA).....	26
	2.3.5. Production d'ammoniaque .....	27
	2.3.6. Production de catalase .....	27
	2.3.7. Production d'amylase .....	27
	2.3.8. Production de protéase .....	27
	2.3.9. Production d'estérase et de lipase .....	28
	Partie 2 : Développement et élaboration des formules de bioengrais.....	28
	1. Compatibilité des souches isolées .....	28
	2. Classification et sélection des souches et design des formules des bioengrais .....	29
	3. Microencapsulation de bioengrais.....	30

Partie 3 : Évaluation du potentiel biostimulant et biocontrôle des formules élaborées	31
.....	31
1. Principe de sélections de formules .....	31
2. Sol agricole utilisé .....	31
3. Stérilisation et mise en germination des graines.....	32
4. Design de l'expérimentation .....	32
4.1. Evaluer le potentiel biostimulant : .....	33
4.2. Evaluer le potentiel biocontrôle : .....	33
5. Paramètres étudiés.....	34
5.1. Paramètres morphologiques.....	34
5.1.1. Hauteur des tiges.....	34
5.1.2. Longueur racinaire .....	34
5.1.3. Poids frais et sec de la partie racinaire et aérienne.....	35
5.1.4. Taux de mortalité des plants.....	35
5.2. Paramètres biochimiques .....	35
5.2.1. Teneur en chlorophylle .....	35
5.3. Paramètres du sol.....	36
5.3.1. Phosphore assimilable (Méthode de JORET – HEBERT).....	36
5.3.2. Respiration basale du sol (Activité Catalase) .....	37
6. Analyses statistiques des données.....	38
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>39</b>
<b>I. Résultats .....</b>	<b>39</b>
Partie 1 : Isolement et caractérisation des souches PGPR.....	39
1. Isolement des PGPR .....	39
2. Caractérisation et identification des souches .....	39
2.1. Caractérisation macroscopique .....	39
2.2. Caractérisation microscopique .....	40
2.3. Caractérisation biochimique.....	41
2.3.1. Fixation d'azote.....	41
2.3.2. Solubilisation du phosphore .....	42
2.3.3. Solubilisation du zinc .....	43
2.3.4. Production d'acide indole acétique (AIA).....	45
2.3.5. Production d'ammoniaque .....	45

2.3.6. Production de catalase .....	47
2.3.7. Production de protéase .....	47
2.3.8. Production d'amylase .....	48
2.3.9. Production d'estérase.....	49
2.3.10. Production de lipase.....	50
Partie 2 : Développement et élaboration des formules de bioengrais .....	52
1. Compatibilités des souches .....	52
2. Sélection, formulation et élaboration des bioengrais.....	54
3. Microencapsulation des bioengrais.....	55
Partie 3 : Évaluation du potentiel des formules.....	56
1. Etude du potentiel biostimulant des formules développées .....	56
1.1.Effet des formules (bioengrais) sur l'évolution de la croissance du blé.....	56
1.2.Effet des formules sur la longueur des racines .....	60
1.3.Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne .....	61
1.4.Effet des bioengrais sur le poids sec de la partie aérienne.....	62
1.5.Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire.....	63
1.6.Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire.....	64
1.7. Investigation de l'influence des formules sur le taux du phosphore assimilable dans le sol .....	65
1.8.Impact des formules de PGPR sur le teneur en chlorophylle .....	66
1.9. Discussion .....	67
2. Analyse des capacités de biocontrôle et de biostimulation de quelques Formules sélectionnées .....	67
2.1.Taux de mortalité .....	67
2.2. Effet des formules de PGPR sur la croissance du blé dans un sol infecté.....	67
2.3. Effet des formules sur la longueur des racines dans les deux types de sol.....	71
2.4.Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne .....	72
2.5.Effet des formules sur le poids sec de la partie aérienne.....	73
2.6.Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire.....	74
2.7.Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire.....	75
2.8.Comparaison de l'effet des formules sur le taux du phosphore assimilable dans les deux types de sol.....	76
2.9.Effet des formules sur la sante de blé : les chlorophylles a et b comme indicateurs	

<b>2.9.1.</b> Chlorophylles a .....	77
<b>2.9.2.</b> Chlorophylles total (a + b).....	78
<b>2.10.</b> Effet des formules sur la santé du sol : l'activité catalase comme indicateur .....	79
<b>2.11.</b> Discussion.....	80
<b>II.</b> Discussion .....	81
<b>Conclusion</b> .....	89
<b>Références bibliographiques</b> .....	92
<b>Annexes</b> .....	107

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Compositions et diversité du microbiome végétal.....	3
<b>Figure 2:</b> Schéma représente les différents mécanismes de PGPR. ....	11
<b>Figure 3:</b> Effet remarquable des PGPR sur la croissance de la tomate.....	15
<b>Figure 4:</b> Schématique de la technique d'extrusion pour l'encapsulation bactérienne.....	19
<b>Figure 5:</b> Echantillons de sol rhizosphérique .....	22
<b>Figure 6:</b> Isolement et ensemencement des souches PGPR .....	23
<b>Figure 7:</b> Coloration de Gram des souches .....	25
<b>Figure 8:</b> Notre dispositif de microencapsulation .....	30
<b>Figure 9:</b> Stérilisation et mise en germination des graines de blé dur .....	32
<b>Figure 10 :</b> Remplissage des pots avec le mélange de sol .....	33
<b>Figure 11:</b> Les apports de nos formules de consortia PGPR encapsulées.....	34
<b>Figure 12:</b> Dépotage et la mesure de la longueur racinaire .....	35
<b>Figure 13:</b> Préparation des broyats pour la mesure des pigments chlorophylliens .....	36
<b>Figure 14:</b> Agitation du sol avec la solution d'oxalate d'ammonium.....	37
<b>Figure 15:</b> Titrage de filtrat par la solution de KMnO4 .....	38
<b>Figure 16:</b> Test de Gram sur quelques souches .....	40
<b>Figure 17:</b> Croissance des bactéries isolées sur le milieu de culture Ashby.....	42
<b>Figure 18:</b> Solubilisation du phosphore par quelques souches PGPR .....	43
<b>Figure 19:</b> Indice de solubilisation du phosphore par les 18 souches.....	43
<b>Figure 20:</b> Solubilisation du zinc sur un milieu spécifique .....	44
<b>Figure 21:</b> Indice moyen de solubilisation du zinc .....	44
<b>Figure 22:</b> Différentes réactions de production d'AIA par les souches .....	45
<b>Figure 23:</b> Différentes productions d'ammoniaque par nos isolats .....	46
<b>Figure 24:</b> Réaction positive du test de catalase .....	47
<b>Figure 25:</b> Production de protéase pour les 18 souches. ....	48
<b>Figure 26 :</b> Indice moyen de production d'amylase .....	49
<b>Figure 27:</b> Quelques résultats du test de production d'amylase .....	49
<b>Figure 28:</b> Résultats de production d'estérase.....	50
<b>Figure 29:</b> Indice moyen de production d'estérase.....	50
<b>Figure 30:</b> Résultats de production de lipase. ....	51
<b>Figure 31:</b> Indice moyen de production de lipase par nos isolats .....	51
<b>Figure 32:</b> Test de compatibilité des souches PGPR .....	53

<b>Figure 33</b> : Aspect des bioengrais a base des consortia de souches PGPR.....	55
<b>Figure 34 a</b> : Effet remarquable des bioengrais sur la croissance de blé durant la 6 <sup>ème</sup> semaines dans le sol désinfecté .....	58
<b>Figure 34 b</b> : Evolution de la longueur des plantes de blé dur (Var Oued el Bared) en fonction des différents traitements et du temps .....	58
<b>Figure 35</b> : Longueurs moyennes des racines des différents traitements après 6 semaines de culture.....	60
<b>Figure 36</b> : Biomasse fraiche de la partie aérienne des différents traitements après 6 semaines de culture .....	61
<b>Figure 37</b> : Poids sec de la partie aérienne des différents traitements après 6 semaines de culture. ....	62
<b>Figure 38</b> : Poids frais de la partie racinaire des différents traitements après 6 semaines de culture.....	63
<b>Figure 39</b> : Poids sec de la partie racinaire des différents traitements après six semaines de culture.....	64
<b>Figure 40</b> : Taux du phosphore assimilable dans le sol obtenus après application des bioengrais. ....	65
<b>Figure 41</b> : Teneur en chlorophylle des différents traitements après 6 semaines de culture....	66
<b>Figure 42</b> : Longueur des racines dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture. ....	71
<b>Figure 43</b> : Poids frais de la partie aérienne dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture. ....	72
<b>Figure 44</b> : Poids sec de la partie aérienne dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture. ....	73
<b>Figure 45</b> : Poids frais de la partie racinaire dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture. ....	74
<b>Figure 46</b> : Poids sec de la partie racinaire. Dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture.....	75
<b>Figure 47</b> : Taux du phosphore assimilable dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture. ....	76
<b>Figure 48</b> : Teneur en chlorophylle a dans les deux types de sol des différents traitements (formules) après 6 semaines de culture. ....	77

<b>Figure 49:</b> Teneur en chlorophylle a +b dans les deux types de sol des différents traitements (formules) après 6 semaines de culture. Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent $\pm$ l'écart type. ....	78
<b>Figure 50:</b> Teneur de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dans les deux types de sol des différents traitements (formules) après 6 semaines de culture. ....	79
<b>Figure 51 :</b> Carte thermique (Heatmap) et clustering obtenus par la méthode de Pearson... ..	128
<b>Figure 52 :</b> Matrice de corrélation entre les paramètres de blé dur, ainsi que la teneur en P dans le sol. ....	128
<b>Figure 53 :</b> Visualisation par analyse de la composante principale (ACP Biplot) des résultats de l'effet des formules de bioengrais sur la croissance de blé et la teneur en P dans le sol... ..	128
<b>Figure 54:</b> Carte thermique (Heatmap) et clustering obtenus par la méthode de Pearson ....	128
<b>Figure 55:</b> Matrice de corrélation entre les paramètres de blé dur, ainsi que la teneur en P et l'activité CAT dans le sol. ....	128
<b>Figure 56:</b> Principaux modèles associés à l'interaction type de sol-formule obtenus par une analyse ASCA (analyse de variance-simultaneous components analysis) ANOVA-ACP.....	128

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Souches et leurs milieux d'isolement et de croissance. ....	39
<b>Tableau 2:</b> Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolas.....	39
<b>Tableau 3:</b> Résultats d'observation microscopique des souches .....	41
<b>Tableau 4:</b> Capacité de fixation d'azote par les souches isolées .....	42
<b>Tableau 5 :</b> Résultats de la production d'AIA et d'ammoniaque par les 18 souches.....	46
<b>Tableau 6 :</b> Résultats de la production de protéase .....	48
<b>Tableau 7 :</b> Récapitulatif des résultats du test de compatibilité des souches .....	52
<b>Tableau 8 :</b> Formules de bioengrais élaborées, souches composantes et leur trait PGP.....	54
<b>Tableau 9 :</b> Carte thermique montrant la dynamique de l'évolution de la longueur des plantes de blé dur (Var Oued el Bared) en fonction des différents traitements et du temps .....	59
<b>Tableau 10:</b> Carte thermique montrant la dynamique et la différence de l'évolution de la longueur des plantes de blé dur (Var Oued el Bared) en fonction des formules, et type de sol durant 6 semaines de culture. ....	70

## Liste des annexes

<b>Annexe 1</b> : Composition de milieu King B en g/L .....	107
<b>Annexe 2</b> : Composition de milieu Yeast Extract-Mannitol (YEM) en g/L. ....	107
<b>Annexe 3</b> : Composition de solution nutritif .....	107
<b>Annexe 4</b> : Composition de milieu Ashby sans azote en ( g/L) .....	107
<b>Annexe 5</b> : Composition de milieu Pikovskaya en g/L .....	108
<b>Annexe 6</b> : Composition de milieu de solubilisation de zinc en g/L .....	108
<b>Annexe 7</b> : Composition du typton sel (bouillon) en g/L (l'eau peptonée) .....	108
<b>Annexe 8</b> : Préparation de réactif Nessler .....	109
<b>Annexe 9</b> : Composition de milieu de production d'amylase en g/L .....	109
<b>Annexe 10</b> : Composition de milieu de production de protéase en g/L.....	109
<b>Annexe 11</b> : Composition de milieu de production estérasique et lipasique en g/L.....	110
<b>Annexe 12</b> : Solution nutritive équilibrée de Hoagland. ....	110
<b>Annexe 13</b> :Effet des formules sur la croissance de blé à la première semaine. ....	110
<b>Annexe 14</b> : Effet des formules sur la croissance de blé à la deuxième semaine.....	111
<b>Annexe 15</b> : Effet des formules sur la croissance de blé à la 3eme semaine. ....	111
<b>Annexe 16</b> : Effet des formules sur la croissance de blé à la 4eme semaine.....	112
<b>Annexe 17</b> : Effet des formules sur la croissance de blé à la 5eme semaine.....	112
<b>Annexe 18</b> : Effet des formules sur la croissance de blé à la 6eme semaine (fin de culture).113	
<b>Annexe 19</b> : Effet des formules sur la longueur des racines.....	114
<b>Annexe 20</b> : Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne .....	114
<b>Annexe 21</b> : Effet des formules sur le poids sec de la partie aérienne .....	115
<b>Annexe 22</b> : Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire. ....	116
<b>Annexe 23</b> : Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire .....	116
<b>Annexe 24</b> : Effet des formules sur le taux du phosphore .....	117
<b>Annexe 25</b> : Effet des formules sur le teneur en chlorophylle a.....	118
<b>Annexe 26</b> : Effet des formules sur la croissance de blé à la première semaine dans les deux types de sol.....	118
<b>Annexe 27</b> : Effet des formules sur la croissance de blé à la deuxième semaine dans les deux types de sol.....	119
<b>Annexe 28</b> : Effet des formules sur la croissance de blé à la 3ème semaine dans les deux types de sol. ....	120

<b>Annexe 29:</b> Effet des formules sur la croissance de blé à la 4 <sup>émé</sup> semaine dans les deux types de sol. ....	120
<b>Annexe 30:</b> Effet des formules sur la croissance de blé à la 5 <sup>émé</sup> semaine dans les deux types de sol. ....	121
<b>Annexe 31:</b> Effet des formules sur la croissance de blé à la 6 <sup>émé</sup> semaine dans les deux types de sol. ....	121
<b>Annexe 32:</b> Effet des formules sur la longueur des racines dans les deux types de sol .....	122
<b>Annexe 33:</b> Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne dans les deux types de sol .....	123
<b>Annexe 34 :</b> Effet des formules sur le poids sec de la partie aérienne dans les deux types de sol .....	123
<b>Annexe 35:</b> Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire dans les deux types de sol .....	124
<b>Annexe 36 :</b> Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire dans les deux types de sol .....	125
<b>Annexe 37:</b> Effet des formules sur la teneur en Phosphore assimilable dans les deux types de sol .....	125
<b>Annexe 38:</b> Effet des formules sur la teneur en chlorophylle a dans les deux types de sol ..	126
<b>Annexe 39 :</b> Effet des formules sur le teneur en chlorophylle b dans les deux types de sol .	127
<b>Annexe 40:</b> Effet des formules sur l'activité catalase dans les deux types de sol .....	127
<b>Annexe 41 :</b> Matériels supplémentaire.....	128

## Liste des abréviations

- \* : Effet significatif ;
- \*\* : Effet hautement significatif ;
- \*\*\* : Effet très hautement significatif ;
- °C : degré Celsius
- µg/ml : microgramme par millilitre
- ADN : Acide désoxyribonucléique ;
- AIA : Acide Indole 3-Acétique ;
- ANOVA : Analyse de la variance
- ARNr : Acide ribonucléique ribosomique
- Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> : Phosphate de calcium
- CaCl<sub>2</sub> :Chlorure de calcium
- Chlo : chlorophylle
- cm : centimètre
- CAT : activité catalase du sol
- DDL : Degré de liberté ;
- g : gramme
- h : heure
- HCl : Acide chlorhydrique ;
- HS : Hautement Significatif
- HT : Hauteur de la Tige
- IS : Indice de Solubilisation
- KMnO<sub>4</sub> : permanganate de potassium
- L: Litre
- LR : longueur racinaire
- LSD : Plus Petite Différence Significative ;
- ml : millilitre
- NH<sub>3</sub> : ammoniac
- NS : Non significatif ;
- PCR : Polymerase chain reaction ;

**PFA** : poids frais moyen de la parti aérienne  
**PFR** : poids n frais rmoyen racinaire  
**PGP** : Plant Growth Promoting  
**PGPR** : Plant Growth Promoting Rhizobacteria  
**pH** : potentiel hydrogène  
**Ppm** : Partie par million  
**PSA** : poids sec moyen de la npartie aérienne  
**PSR** :poids sec moyen racinaire  
**PVK** : milieu de Pikovskaya  
**S** : Significatif ;  
**SC** : Sol contaminé  
**SD** : Sol Désinfecté  
**THS** : Très Hautement Significatif  
**YEM** : milieux de culture Yeast Extract Mannitol

# Introduction

La demande en produits agroalimentaires, notamment les ‘bio-healthy’ devrait connaître une augmentation significative d'ici 2050 en raison de l'importante croissance démographique prévue. La production agricole, surtout dans les pays non développés, devra augmenter de près de 70 % pour répondre à la demande projetée et devra faire face à des problèmes synchrones tels que le changement climatique imprévisible, baisse de la fertilité des sols, manque d'eau, la perte de biodiversité et les crises politiques (Moreira et al., 2023). Pendant plusieurs décennies, l'agriculture intensive basée sur l'utilisation massive d'intrants chimiques était désignée comme étant la meilleure alternative afin de répondre aux besoins croissant du marché (Kumar et al., 2019). Cependant, ce modèle de production commence à démontrer ses limites en affectant négativement la fertilité des sols induisant leur pollution ainsi qu'une eutrophisation des eaux. Plusieurs approches ont été proposées afin d'adapter les systèmes et les conditions de culture pour améliorer l'utilisation des intrants chimiques par les cultures (Rani et al., 2021).

Diverses stratégies ont été suggérées pour optimiser les conditions de culture et accroître les rendements tout en limitant l'usage d'intrants chimiques. Parmi les plus prometteuses figurent celles qui reposent sur la refonte des agroécosystèmes et l'exploitation de techniques biotechnologiques émergentes, telles que l'ingénierie du microbiome. Dans ce cadre, le microbiome bénéfique lié aux racines des plantes appelé également « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » (PGPR) offre une stratégie efficace, rentable et respectueuse de l'environnement pour enrichir la santé et la fertilité des sols d'une part, et d'autre part, pour favoriser l'absorption de nutriments et les rendements des cultures (Afridi et al., 2022).

Les feuilles et les racines des plantes sont des habitats pour une grande variété de micro-organismes qui forment le microbiome végétal, dont beaucoup sont bénéfiques pour les plantes. La rhizosphère, qui est la zone restreinte du sol affectée par les sécrétions racinaires, est considérée comme un axe rassemblant des millions de micro-organismes appelé rhizomicrobiome y a compris les PGPR (Irfan et al., 2023). Les PGPR jouent un rôle crucial pour les plantes hôtes ; cela peut (i) stimuler leur croissance par des actions directs telle que la fixation d'azote, la solubilisation des éléments nutritifs et par la sécrétion des hormones similaires à celles des plantes (ii) booster leur santé et atténuer les effets néfastes des stress biotiques ou abiotiques par la production des métabolites spécifiques (ex les sidérophores) et des enzymes lytiques (Bhanse et al., 2023).

La diversité du rhizomicrobiome est influencée par les conditions environnementales, le génotype de l'hôte, les stades de développement et le type de sol. Le succès écologique des plantes dépend principalement de leur capacité à recruter des partenaires microbiens collaboratifs. Les PGPR constituent un ensemble déterminant de bactéries bénéfiques

colonisant les racines. Ils présentent diverses interactions avec leur hôte et participent à un large éventail de services écologiques pour l'écosystème (Mohanty et al., 2021). Bien que l'inoculation de souches uniques de PGPR soient fortement recommandés pour favoriser la croissance des plantes, atténuer le stress et contrôler les maladies et les agents pathogènes des plantes, les applications dans le monde agricole réel en plein champ sont toujours limitées par des méthodes peu efficaces. Dans le but de développer des méthodes nouvelles et plus efficaces, la recherche s'est tournée vers l'utilisation de consortiums microbiens, abondamment présents dans le monde naturel (communauté microbienne). Ces consortiums comprennent différents types de micro-organismes dont la structure est équilibrée pour assurer le bénéfice de l'hôte et des membres du consortium eux-mêmes (Padmaperuma et al., 2020). Les consortiums sont élaborés en sélectionnant les caractéristiques fonctionnelles et les compétences de chaque souche membre, telles que la production d'hormones ou la solubilisation des nutriments. Ainsi, les traits distinctifs de chaque membre peuvent se compléter mutuellement (Saad et al., 2020). Ces dernières années, plusieurs consortiums bactériens à base de PGPR ont été élaborés, testés sur les cultures et évalué pour leur potentiel promouvoir sur les phénotypes des plantes (croissance, rendement...) (Singh et al., 2023).

Ainsi, le présent travail vise à contribuer dans le développement d'une nouvelle stratégie de fertilisation pour améliorer la productivité et la résilience des agrosystèmes en Algérie par la formulation et le développement par microencapsulation des bioengrais à base de PGPR. Pour ce faire, on a (i) isoler des nouvelles souches PGPR à partir des rhizosphères de quelques plantes dans deux régions différentes, (ii) caractériser morphologiquement et biochimiquement les isolats, (iii) formuler des bioengrais à base de consortia de souches PGPR, en utilisant la technique d'encapsulation et (iv) évaluer les potentiels « biostimulant et biocontrôle » des formules de bioengrais élaborées sur la croissance du blé dur cultivé sous serre.

Ce travail s'articule autour de trois grandes parties :

- ✚ La première partie est une revue de la littérature qui donne une présentation générale des PGPR et les consortia et leurs modes d'actions bénéfiques sur les plantes, ainsi que des généralités sur les engrais et la formulation de bioengrais à base de PGPR.
- ✚ La deuxième, décrit le matériel et les méthodes utilisés durant notre travail.
- ✚ Et, la troisième décrit tous les résultats obtenus et les discute en les comparant avec d'autres travaux dans cet axe de recherche.
- ✚ Une conclusion générale est présentée à la fin de ce travail, résumant les résultats principaux obtenus, et quelques perspectives ont été suggérées.

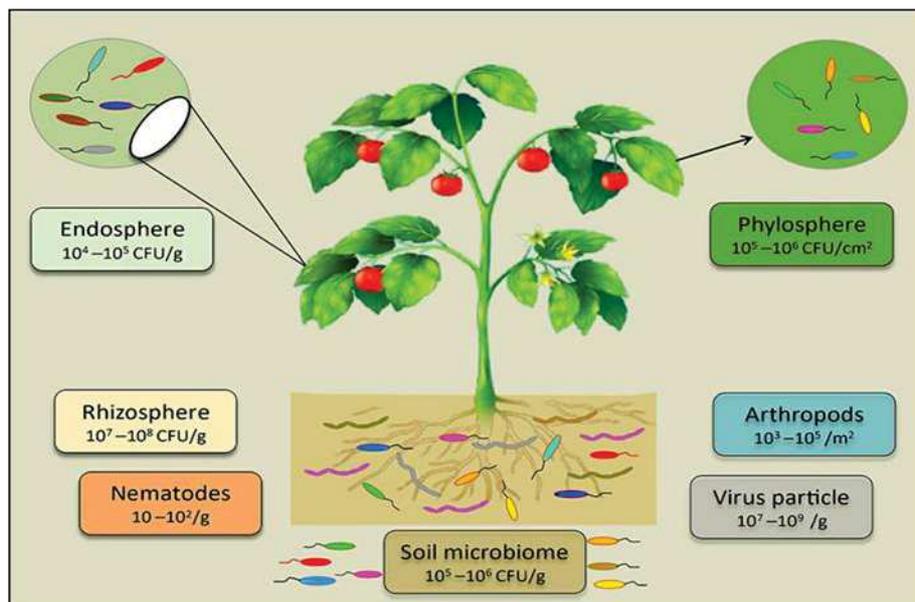
# **Synthèse bibliographique**

## Chapitre 1 : Microbiome végétal : Phytobiome

### 1. Définition et généralités

Le phytobiome végétal englobe les bactéries, les champignons, les protistes, les nématodes et les virus qui colonisent divers compartiments de la plante (racine, feuille, fleur...) (Hashimi et al., 2023), influençant positivement, neutrement ou négativement la croissance et la santé de l'hôte. Le composant microbien de l'holobionte végétal, également appelé microbiote végétal (comprenant tous les micro-organismes) ou microbiome végétal (comprenant tous les génomes microbiens) dans la rhizosphère, la phyllosphère et l'endosphère (**Figure 1**) (Santos et al., 2021).

Le microbiome interagit de manière dynamique avec la plante hôte, établissant des relations synergiques qui, en retour, exercent une influence sur la physiologie de l'hôte (Santos et al., 2021).



**Figure 1:** Compositions et diversité du microbiome végétal (Afridi et al., 2022)

### 2. Microbiome rhizosphérique

La rhizosphère, l'un des écosystèmes les plus compliqués, désigne la portion restreinte du sol entourant les racines d'une plante, influencée par les racines, les poils absorbants et les exsudats générés par la plante. Elle comprend également la région du sol où les racines et les tissus racinaires spécifiques des plantes modifient les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques du sol. Divers facteurs tels que le type de sol, l'environnement, le génotype de

plante et le stade de développement impactent le façonnage, la structure et la diversité des microorganismes présents dans une rhizosphère (Afridi et al., 2022).

La rhizosphère par sa richesse en microbiome, représente la partie la plus diversifiée de l'écosystème terrestre. En tant qu'interface cruciale, elle facilite les interactions et les communications entre les microbes et les racines. Les bactéries, généralement bénéfiques, exercent une influence majeure sur cette diversité. À l'exception de certains champignons bénéfiques, divers champignons et nématodes représentent la catégorie de microbiomes nuisibles, conduisant à des maladies et à une faible productivité des plantes cultivées (Hashimi et al., 2023).

La plupart des communautés microbiennes de la rhizosphère jouent un rôle crucial dans l'amélioration de la santé et de la productivité des espèces végétales naturelles, en assurant leur survie et leur tolérance aux diverses conditions de stress biotiques et abiotiques. Elles accomplissent cela à travers une série de mécanismes, comprenant la biofertilisation, la stimulation de la croissance des racines, le contrôle du stress abiotique, la rhizorémédiation et la gestion des maladies et des agents pathogènes (biocontrôle) (Ali et al., 2017).

### **3. Microbiome phyllosphérique**

La phyllosphère, constituée des parties aériennes d'une plante, particulièrement les feuilles, offre un habitat aux micro-organismes tels que les bactéries, les champignons, les levures, les algues, et les protozoaires, où ils constituent le microbiome phyllosphérique. Les bactéries prédominent, avec une présence moins fréquente de champignons, de protistes et de microbes pathogènes. Ces communautés microbiennes jouent un rôle significatif dans la protection contre les maladies et les insectes, la modification des métabolites et la biosynthèse des phytohormones, contribuant ainsi à la santé et à la tolérance des plantes face aux défis environnementaux (Dong et al., 2019 ; Hashimi et al., 2023).

### **4. Microbiome endosphérique**

Le terme « endophyte », dérivé du grec signifiant « dans la plante ». L'endosphère est constituée des tissus internes colonisés par des micro-organismes, qui contribuent au microbiome végétal en établissant une relation commensale, stimulant la croissance des plantes et influençant la santé végétale. Cependant, malgré les informations approfondies sur les mécanismes d'infection et de colonisation, les études actuelles offrent une perspective limitée sur la véritable diversité et importance des bactéries présentes dans le microbiome endophytique (Turner et al., 2013 ; Hashimi et al., 2023).

### **5. Approches d'étude et d'analyse du microbiome végétal**

Les méthodes microbiologiques traditionnelles, notamment l'isolement et la culture de micro-organismes dans des conditions de croissance variables, demeurent indispensables pour l'étude génétique, de diversité et physiologique des organismes ciblés. Les analyses effectuées sur ces micro-organismes isolés révèlent leurs stratégies de vie variées et leur impact sur la croissance des plantes (Mohanty et al., 2021). Cependant, l'utilisation de techniques dépendantes de la culture entraîne la perte d'une partie substantielle de la diversité microbienne environnementale. Par conséquent, plusieurs méthodes indépendantes de la culture ont révolutionné la science, permettant une compréhension plus approfondie des interactions entre les plantes et les microorganismes. Les avancées dans les procédures d'extraction d'ADN/ARN, conjuguées à l'analyse 'omics' (métagénomiques avec les analyses bio-informatique) ont fourni des données riches sur la diversité, l'abondance, le profil fonctionnel et les métabolites au sein de diverses communautés microbiennes (Santos et al., 2021).

#### **5.1. Techniques conventionnelles**

Les méthodes physiologiques et biochimiques traditionnelles utilisées dans la plupart des kits de tests biochimiques présentent de nombreuses limitations, potentiellement liées à de faibles activités métaboliques dans les conditions expérimentales. Malgré ces limitations, elles demeuraient considérées comme des approches utiles, telles que l'utilisation de biomarqueurs lipidiques pour des empreintes digitales spécifiques (LB), la numération sur plaque, les profils CLPP, la méthode des esters méthyliques d'acides gras (FAME), et la méthode des acides gras phospholipidiques (PLFA) (Sraphet et Javadi, 2022).

#### **5.2. Techniques modernes**

Pendant de nombreuses années, les microbiologistes ont analysé la densité et les activités métaboliques des microbes dans l'environnement en utilisant diverses techniques moléculaires. Plusieurs méthodes ont été mises au point afin de détecter, identifier et établir la relation phylogénique des interactions entre les micro-organismes végétaux.

##### **5.2.1. Hybridation d'acides nucléiques et hybridation fluorescente in situ (FISH)**

C'est un instrument quantitatif en microbiologie moléculaire, utilisé pour l'analyse de l'ADN et de l'ARN extraits est réalisable. Cependant, cette méthode présente des limitations, notamment l'incapacité à détecter les bactéries à croissance lente en raison de la faible teneur en ribosomes par cellule (Sraphet et Javadi, 2022).

### 5.2.2. Techniques basées sur la PCR

En microbiologie agricole, la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est essentielle pour explorer les micro-organismes non cultivables dans l'environnement, avec une utilisation répandue dans les études écologiques et agricoles. La PCR, ciblant l'ADNr 16S pour la diversité microbienne et l'identification, ainsi que l'ADNr 18S et les régions ITS pour les études fongiques. Ainsi que peut être réalisée directement à partir de l'ADN environnemental.

Parmi les techniques basées sur la PCR, on compte l'électrophorèse sur gel à gradient dénaturant (DGGE) et l'électrophorèse sur gel à gradient de température (TGGE), ainsi que divers polymorphismes de longueur, tels que l'ADN polymorphe amplifié au hasard (RAPD-PCR), le polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP) et le polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP) (Sraphet et Javadi, 2022).

### 5.2.3. Approche métagénomique

L'approche métagénomique liée avec les outils de bio-informatiques, exploitant l'intégralité du génome de la communauté microbienne, se distingue avantageusement du séquençage des amplicons (16S full length). En utilisant le génome entier (Séquençage Shotgun), incluant les fragments extrachromosomiques tels que les plasmides, cette méthode fournit des informations approfondies sur un microbe spécifique, offrant ainsi une représentation plus claire et complète de la communauté microbienne. L'intégration de plusieurs techniques de contrôle qualité et d'outils en ligne a significativement amélioré la représentation accessible et précise de la diversité microbienne grâce à l'approche métagénomique (Nwachukwu et Babalola, 2022).

## 6. Effet de l'hôte sur le microbiome végétal

Les microbiomes associés aux plantes peuvent avoir des effets bénéfiques pour leurs hôtes, mais la composition microbienne de la rhizosphère ainsi que l'efficacité de la colonisation sont affectées par les paramètres environnementaux ainsi que par le génotype et l'état physiologique de l'hôte. Les communautés synthétiques « SynComs », les mutants et les approches réseau sont des outils de recherche importants pour utiliser pour démêler les facteurs déterminants et comprendre les causalités hautement interdépendantes de l'assemblage du microbiome. Le système immunitaire des plantes doit faire la différence entre les microbes bénéfiques et pathogènes et mettre en place des réponses appropriées, mais diamétralement opposées, permettant la colonisation ou la défense (Rodriguez et al., 2019).

## Chapitre 2 : Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ‘PGPR’

### 1. Définition et généralités

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR), un groupe diversifié de bactéries du sol, jouent un rôle clé dans les systèmes végétaux. Présentes dans la rhizosphère, ces bactéries, se caractérisent par leur aptitude à coloniser les racines et à persister dans différents macrohabitats liés aux racines en concurrence avec d'autres macrobiote et à promouvoir activement la croissance des plantes, contribuent de manière significative à l'épanouissement des végétaux (Jeyanthi et Kanimozhi, 2018 ; Hashimi et al., 2023).

Alternativement, classés PGPR en fonction de leurs activités fonctionnelles comme biofertilisants (augmentant la disponibilité des nutriments pour les plantes), phytostimulateurs (favorisant la croissance des plantes, généralement par le biais de phytohormones), rhizoremédiateurs (dégradant les polluants organiques) et biopesticides. (Contrôle des maladies, principalement par la production d'antibiotiques et de métabolites antifongiques). De plus, dans la plupart des cas étudiés, un seul PGPR révélera souvent plusieurs modes d'action, dont la lutte biologique (Ahemad et Kiber, 2014).

### 2. Interactions des PGPR dans la rhizosphère

Diverses interactions, à la fois directes et indirectes, se produisent dans la rhizosphère. De nombreuses revues de la littérature ont examiné les multiples molécules et mécanismes qui coordonnent l'établissement d'interactions symbiotiques spécifiques dans la rhizosphère, avec le potentiel d'améliorer la croissance et la productivité des plantes. Cependant, la compréhension globale des interactions entre les plantes et le microbiome demeure encore rudimentaire (Quiza et al., 2015).

#### 2.1. Interaction bactérie – bactérie

Les PGPR (rhizobactéries promouvoir de la croissance des plantes) peuvent interagir de différentes manières avec d'autres PGPR. Leurs interactions peuvent être symbiotiques ou mutualistes, ce qui peut booster la croissance des plantes sous des conditions de stress. Par exemple, une étude a montré que l'application combinée de PGR (régulateurs de la croissance des plantes) et de PGPR a diminué la peroxydation des lipides de manière plus efficace et a augmenté la surface foliaire, ce qui a amélioré la tolérance à la sécheresse des pois chiches. Cependant, l'introduction de PGPR spécifiques dans un nouvel environnement peut présenter des défis, tels que la concurrence et les effets antagonistes des microbes indigènes (de Andrade et al., 2023 ; Khan et al., 2018 ; Shah et al., 2021).

### **2.2. Interaction bactérie – plante**

Les interactions complexes entre les plantes et leur microbiome dépendent de facteurs tels que les espèces végétales, le type de sol et les conditions environnementales. La collaboration entre les PGPR et la plante hôte varie selon l'abondance des taxa de PGPR et de la plante hôte (Narula et al., 2012 ; Drogue et al., 2014 ; Quiza et al., 2015).

Les plantes ajustent et contrôlent via les exsudats racinaires et surtout les métabolites secondaires la composition et les services de leur communauté microbienne associée. Ces micro-organismes confèrent de nombreux avantages à la plante ; en contrepartie, celle-ci produit des métabolites qui apportent moins de carbone à la communauté microbienne et à d'autres ressources (John et al., 2020).

Un exemple illustre la boucle de rétroaction associée aux interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère. Il démontre que la libération d'exsudats racinaires favorise des populations microbiennes spécifiques au sein de la communauté tellurique. En retour, certaines de ces populations stimulent la croissance (nutrition en N, P, K, Zn, Fe, etc.) et la protection (antagonisme microbien, etc.) de la plante hôte. Ces effets bénéfiques compensent le coût représenté par les exsudats racinaires pour la plante (Lemanceau et al., 2013).

### **2.3. Interaction bactérie – plante – environnement**

L'interaction complexe entre le sol, les microbes et les plantes joue un rôle essentiel dans l'écosystème. Le sol, en tant que source de nutriments et de support de croissance, s'associe aux microbes qui participent activement au cycle des nutriments, favorisent la croissance des plantes et préservent la qualité du sol en améliorant ses propriétés physiques et chimiques. Un aspect crucial de cette symbiose réside dans la capacité des microbes à se nourrir de résidus végétaux, comme démontré par Hashimi et al., (2023). Les facteurs environnementaux tels que les niveaux élevés de CO<sub>2</sub>, la sécheresse et le manque de nutriments, notamment l'azote et le phosphore, peuvent influencer la composition et la quantité des exsudats racinaires, ayant ainsi des répercussions significatives sur la phytochimie libérée sous forme d'exsudats (Rout, 2014). Ces exsudats ont une influence directe sur les propriétés chimiques du sol, modifiant les profils microbiens et créant des structures distinctes de communautés microbiennes rhizosphériques. Cela impacte la croissance et la productivité des plantes, un phénomène connu sous le nom de « Plant-Soil Feedback » (Bever, 1994).

### 2.4. Rôle et importance des exsudats racinaire dans les interactions des PGPR

Les exsudats racinaires émis par les plantes jouent un rôle crucial dans les interactions avec le microbiome notamment avec les PGPR. Composés de glucides, acides aminés, acides organiques, vitamines et autres, ces exsudats modifient les propriétés chimiques du sol, fournissant des nutriments aux microbes (Turner et al., 2013 ; Hashimi et al., 2023). Ces composés exsudats déclenchent la chimiotaxie, permettant aux plantes d'attirer et de recruter des communautés microbiennes pour des interactions variées dans la rhizosphère (Ali et al., 2017). L'exsudation est génétiquement contrôlée, formant des communautés rhizobactériennes distinctes pour différents génotypes de plantes, suggérant une sélection spécifique des PGPR par les plantes (Berendsen et al., 2012 ; John et al., 2020). Les exsudats racinaires induisent une diversité d'expressions phénotypiques chez les bactéries de la rhizosphère, incluant la chimiotaxie, la tolérance au stress et la formation de biofilm, notamment grâce aux acides aminés (Rout, 2014).

### 3. Différents genres des PGPR

Les PGPR, micro-organismes principalement présents dans la rhizosphère, englobent des espèces bactériennes telles qu'*Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Bradyrhizobium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Allorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Frankia*, *Mésorhizobium*, *Pantoea*, *Méthyllobactérie*, *Exiguobactérie*, *Paenibacillus*, *Azoarcus*, *Streptomyces*, *Klebsiella*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Rhodococcus*, *Serratia*, etc. Ces bactéries sont associées à la rhizosphère des plantes et ont la capacité d'exercer de nombreux effets bénéfiques sur leur croissance (Shaikh et al., 2018 ; Sharma et al., 2020). Parmi les genres les plus importants on distingue :

#### 3.1. Bactéries du genre *Azospirillum*

*Azospirillum* est un genre appartenant à la famille des Rhodospirillaceae. Ces bactéries, à Gram négatif, adoptent une forme en spirale, sont microaérophiles et non fermentaires. Elles se retrouvent dans de nombreux sols ainsi qu'au niveau des racines des graminées (Hossain et al., 2015). Les différentes espèces d'*Azospirillum* ont la capacité de coloniser de manière distincte les racines des plantes. Elles peuvent subir une internalisation et habiter les espaces intercellulaires des racines (Schloter et Hartmann, 1998).

### 3.2. Bactéries du genre *Pseudomonas*

Le *Pseudomonas* se présente sous la forme d'un bacille fin, mesurant de 1 à 5 µm de longueur et de 0,5 à 1 µm de largeur (Chaker, 2012). Il s'agit de bactéries Gram négatives, caractérisées par des flagelles polaires et une forme de bâtonnet (Anayo et al., 2016). Ubiquistes, on les trouve fréquemment dans les sols, les classant parmi les candidats privilégiés en tant que PGPR (Saharan et Nohra, 2011). Ces bactéries démontrent une grande aptitude à coloniser la rhizosphère et les racines des plantes, établissant des associations intimes avec leurs hôtes.

### 3.3. Bactéries du genre *Rhizobium*

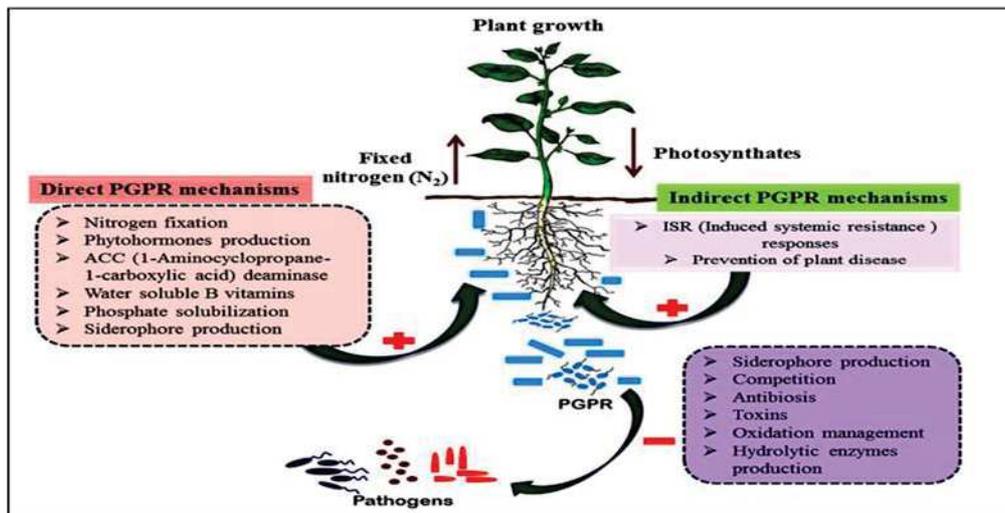
Les *rhizobiums*, ou rhizobia, constituent des bactéries aérobies présentes dans le sol et appartenant à la famille des Rhizobiaceae (Sahgal et Johri, 2006). Gram négatives, non sporulantes, et prenant la forme de bacilles mobiles, de petite taille préfèrent une température de croissance optimale de 28 °C et un pH optimal de 6 à 7 (Burton et Elkan, 1985).

### 3.4. Bactéries du genre *Bacillus*

Les *bacillus* constituent un genre de bactéries Gram positives, faisant partie de la famille des Bacillaceae. En tant que principal représentant des bactéries aérobies, le genre *Bacillus* prédomine dans la rhizosphère. Ces bactéries présentent la capacité de produire des endospores, leur permettant ainsi de résister à des conditions environnementales difficiles (Probanza et al., 2002).

## 4. Mécanismes de promotion de la croissance des plantes

En général, les PGPR contribuent directement à la croissance des plantes, soit en facilitant l'acquisition de ressources telles que l'azote, le phosphore et les minéraux essentiels, soit en modulant les niveaux d'hormones végétales. De manière indirecte, ils agissent en réduisant les effets inhibiteurs de divers pathogènes sur la croissance et le développement des plantes en tant qu'agents de biocontrôle (Ahemad et Kiber, 2014) (**Figure2**).



**Figure 2:** Schéma représente les différents mécanismes de PGPR (Candran et al., 2021).

#### 4.1. Mécanismes directs

Les mécanismes qui stimulent directement la croissance des plantes, variant en fonction des espèces végétales spécifiques et des souches microbiennes utilisées, sont définis comme des mécanismes directs. (Sharma et al., 2020a).

##### 4.1.1. Fixation d'azote

L'azote, crucial pour la croissance végétale, représente un nutriment essentiel. Bien que principalement présent sous forme gazeuse ( $N_2$ ) et inaccessible aux plantes. Certains PGPR, tels que *Pseudomonas* sp., *Rhizobium* sp., *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp., *Azotobacter* et *Paenibacillus*, se distinguent par leur potentiel à fixer l'azote atmosphérique en ammoniac via un système enzymatique spécifique (Prasad et al., 2019). Les Rhizobium, un groupe de rhizobactéries, établissent des interactions symbiotiques en formant des nodules racinaires, où l'azote est fixé en ammoniac, puis en nitrate, rendant ainsi cet élément disponible pour la plante hôte (spécialement les légumineuses). Le processus de fixation de l'azote commence dans la racine avant la formation des nodules (Munes et Mulugeta, 2013).

##### 4.1.2. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est le deuxième nutriment le plus limitant pour les plantes après l'azote (John et al., 2020), jouant un rôle important dans divers processus métaboliques (Khan et coll., 2010). Bien qu'abondant dans le sol, il est largement indisponible, avec 95 à 99 % sous forme insoluble. Les PGPR peuvent favoriser la solubilisation et la minéralisation du phosphore en sécrétant des acides organiques, réduisant ainsi le pH de la rhizosphère (Sharma et al., 2013 ;

Prasad et al., 2019). Les genres de PGPR capables de solubiliser les phosphates comprennent *Azotobacters*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*... (Oteino et al., 2015 ; Prasad et al., 2019).

### **4.1.3. Solubilisation de potassium**

Le potassium (K) est le troisième nutriment essentiel pour les plantes, crucial pour l'activation des enzymes, la synthèse des protéines et la photosynthèse. En raison de sa prédominance sous forme insoluble (90%), la concentration soluble dans le sol est généralement faible (1 à 2%), contribuant à la carence en potassium, une contrainte majeure pour la production agricole. La carence en potassium entraîne des racines peu développées, une production de graines limitée, une croissance lente et un rendement inférieur. Les PGPR, tels que *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Klebsilla*, *Erwinia*, peuvent solubiliser naturellement le potassium en produisant et en sécrétant des acides organiques (Prasad et al., 2019 ; Wang et al., 2020).

### **4.1.4. Solubilisation de zinc**

Le zinc (Zn), en tant que micronutriment essentiel, est indispensable pour la croissance et la reproduction des plantes en agissant comme activateur métallique et cofacteur enzymatique. Sa carence perturbe des processus biologiques tels que la photosynthèse, la maturation des fruits, la reproduction, la production d'amidon et de glucides (Hyder et al., 2023). Les PGPR solubilisant le zinc contribuent à libérer sa forme fixe, favorisant ainsi son absorption et jouant un rôle significatif dans la nutrition des plantes. Des études ont montré que ces bactéries mobilisant le zinc peuvent améliorer les rendements de cultures telles que le riz, le blé et le soja, utilisant probablement des mécanismes similaires à ceux des solvants de phosphore et des mobilisateurs de fer, impliquant des agents chélateurs et des acides organiques (Prasad et al., 2019 ; John et al., 2020).

### **4.1.5. Production des sidérophores**

Le fer, essentiel à la croissance et au développement des plantes en tant que cofacteur pour des protéines impliquées dans des processus métaboliques cruciaux comme la photosynthèse et la respiration, se trouve principalement sous forme d'ions ferriques peu assimilables par les organismes vivants. Pour pallier cette difficulté et fournir du fer aux plantes, les PGPR, conscientes de la limitation des ions ferriques dans le sol, ont développé des stratégies, notamment la production de sidérophores, pour fournir du fer essentiel aux plantes. Ces petites molécules organiques, produites en conditions de limitation en fer, forment des chélates avec les ions ferriques de la rhizosphère, augmentant ainsi l'apport en fer aux plantes.

Cette stratégie, employée par diverses bactéries telles que *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces*, contribue à améliorer la croissance et la productivité des cultures (Prasad et al., 2019 ; Sharma et al., 2020a).

### 4.1.6. Production des phytohormones

Les PGPR jouent un rôle crucial en influençant la croissance des plantes par la sécrétion de phytohormones. Parmi celles-ci, l'auxine, l'éthylène, la cytokinine, les gibbérellines et l'acide abscissique sont notables (Ghitri, 2018).

L'auxine, essentielle au développement végétal, favorise la division cellulaire, l'agrandissement cellulaire, l'initiation des racines et la dominance apicale (Sharma et al., 2020a). L'acide indole acétique (AIA), prédominant dans le développement végétal, est central dans les interactions plantes-bactéries, stimulant particulièrement l'élongation racinaire et augmentant le flux des exsudats racinaires (Grobelaq, 2015 ; Luo, 2018). Plus de 80 % des bactéries du sol dans la rhizosphère, notamment *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Enterobacter*, *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Azospirillum* et *Bacillus*, ont démontré la capacité de produire des auxines favorisant la croissance des plantes (Choudhary et al., 2018).

## 4.2. Mécanismes indirects

L'antagonisme ou le biocontrôle des agents pathogènes végétaux représente l'un des mécanismes indirects par lesquels les PGPR favorisent la croissance des plantes. Ces microorganismes produisent des enzymes lytiques qui stimulent le système immunitaire des plantes, induisant ainsi une résistance systémique ISR. De plus, les PGPR entravent l'infection des phytopathogènes en générant des antibiotiques (antibiose) et en émettant des composés organiques volatils (COV) antimicrobiens (Hyder et al., 2023).

### 4.2.1. Production des enzymes

Les enzymes extracellulaires revêtent une importance capitale dans le cycle des nutriments, assurant ainsi l'approvisionnement en éléments nutritifs pour les plantes (Dahdah et al., 2022). Les enzymes lytiques bactériennes telles que l'uréase, l'estérase, la lipase, la protéase, la chitinase, l'amylase et la cellulase jouent un rôle essentiel dans les processus de transformation biologique de l'azote, de l'hydrogène et du carbone. Ces enzymes hydrolytiques interviennent dans la lyse de la paroi cellulaire fongique, contribuant ainsi à la dégradation des composants de la paroi cellulaire des agents pathogènes.

Ces enzymes jouent un rôle majeur dans le contrôle eco-friendly des pathogènes du sol, agissant comme un mécanisme clé de protection des plantes contre les champignons invasifs tels que *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* et *Phytophthora sp.* (Sharma et al., 2020a).

### 4.2.2. Production des antibiotiques

Un des mécanismes les plus étudiés et efficaces contre les microbes pathogènes causant des maladies chez les plantes est la production d'antibiotiques par des souches rhizobactériennes (Hakim et al., 2021). Ce processus englobe la production et la délivrance de molécules qui tuent ou ralentissent la croissance de l'agent pathogène cible (Fravel, 1988 ; Pinton et al., 2007). Parmi les divers PGPR, les espèces *Bacillus* et *Pseudomonas*, démontrent la capacité de produire une vaste gamme d'antibiotiques qui peuvent contrôler la croissance d'environ 23 types d'agents pathogènes des plantes (Nagórska et al., 2007 ; Ulloa-Ogaz et al., 2015 ; Meena et al., 2020). La plupart des espèces de *Pseudomonas* produisent une variété étendue d'antibiotiques, comprenant des antifongiques, des antibiotiques, des antitumoraux et des antiviraux (Ramadan et al., 2016).

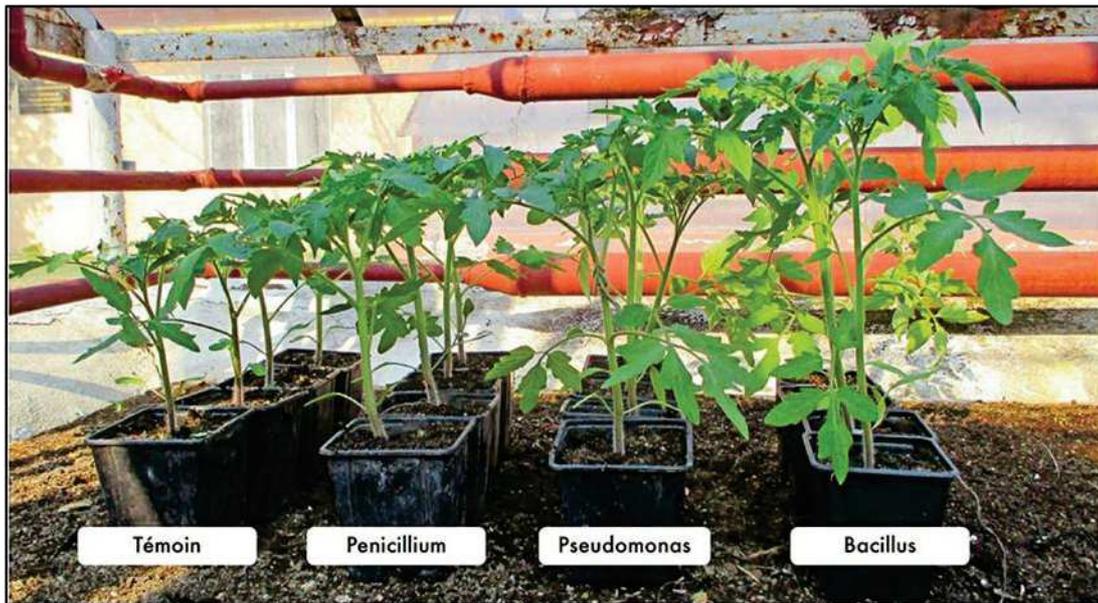
### 4.2.3. Résistance systémique acquise et induite

Les PGPR protègent les plantes contre les agents pathogènes en déclenchant des réponses de défense biochimiques et moléculaires au sein de la plante. La PGPR peut déclencher l'ISR chez les plantes, qui active les gènes liés à la pathogenèse et même à la tolérance aux stress abiotiques, médiés par les voies de signalisation des phytohormones et les protéines régulatrices de défense pour préparer les plantes contre de futures attaques d'agents pathogènes (Backer et al., 2018)

## 5. Rôle, effet et importance du PGPR dans l'agriculture

### 5.1. Effet sur la croissance et le rendement des plantes

Au cours des dernières décennies, la réponse des cultures végétales à l'inoculation par des PGPR a fait l'objet d'études approfondies à travers le monde, tant dans les champs que sous serres. Les données obtenues mettent en évidence des augmentations significatives des rendements pour différentes cultures et dans diverses conditions à la suite de l'inoculation. Ces effets bénéfiques se manifestent dans un large éventail de cultures, notamment les céréales et les légumes. Les traitements avec les PGPR ont illustré une amélioration du pourcentage de germination, de la vigueur des plantules, de l'émergence, du développement des racines et des tiges, de la biomasse totale des plantes, du poids des semences, de la floraison précoce, ainsi que des rendements en fruits et en graines (Ramamoorthy et al., 2001 ; Rahmoune et al., 2017) **(Figure 3)**.



**Figure 3:** Effet remarquable des PGPR sur la croissance de la tomate (Symanczik et al., 2022)

## 5.2. Effet sur l'acquisition de nutriments

Les plantes vivantes dépendent de 16 éléments essentiels pour leur survie. Parmi eux, le carbone, l'hydrogène et l'oxygène sont principalement obtenus de l'air et de l'eau. Les autres éléments sont généralement absorbés par les racines des plantes, chacun jouant un rôle spécifiquement défini dans leur croissance. Les PGPR sont reconnues comme des acteurs clés dans le maintien de la nutrition optimale des plantes, favorisant potentiellement l'absorption des nutriments et réduisant la nécessité d'apports d'engrais. Cela contribue à prévenir l'accumulation de nitrates et de phosphates dans les sols agricoles, en particulier étant donné que le phosphore et l'azote sont des nutriments majeurs limitant la croissance des plantes. Certains PGPR améliorent également l'absorption de ces éléments nutritifs en stimulant le développement des racines grâce à la production de phytohormones. Un autre mécanisme par lequel les PGPR facilitent l'absorption des ions minéraux est la stimulation de l'ATPase, la pompe à protons (Chérif, 2014 ; Prasad et al., 2019 ; Wang et al., 2020).

### 5.2.1. Effet sur l'immunité et la santé des plantes

Le microbiome végétal, en particulier celui des racines, joue un rôle essentiel dans la suppression des pathogènes, agissant comme un bouclier protecteur contre les agents pathogènes du sol. Ces mécanismes, largement étudiés, ont été exploités pour le développement de produits phytosanitaires à base de plusieurs souches de PGPR (Berg et al., 2016)

### 5.2.2. Effet sur la santé et la fertilité du sol

La capacité des sols à soutenir diverses interventions agricoles reflète leur santé globale, étroitement liée à des aspects variés de l'écosystème du sol. Cette santé dépend de la séquestration du carbone, du cycle des éléments nutritifs et de la gestion globale du sol. La fertilité du sol et la santé des plantes sont mutuellement dépendantes, ayant un impact manifeste sur l'activité métabolique des plantes. De manière indirecte, cela contribue à renforcer la défense des plantes et à gérer les stress abiotiques tels que la sécheresse, la salinité, la chaleur, tout en facilitant la solubilisation des nutriments pour une absorption aisée par les plantes. Ces processus contribuent à améliorer la fertilité du sol et la diversité microbienne du sol (Sharma et al., 2020).

## Chapitre 3 : PGPR comme biofertilisant

### 1. Définition d'un biofertilisant microbien

Les biofertilisants à base de microbiome sont définis comme des produits contenant des micro-organismes vivants. Lorsqu'ils sont appliqués sur les graines, la surface des plantes ou le sol, ils colonisent la rhizosphère ou l'intérieur de la plante et favorisent la croissance de celle-ci en augmentant l'apport ou la disponibilité de nutriments primaires et secondaires pour la plante hôte. Un biofertilisant soit le produit formulé contenant un ou plusieurs micro-organismes qui améliorent l'état nutritionnel des plantes, soit en remplaçant les éléments nutritifs du sol et/ou en rendant les éléments nutritifs plus accessibles aux plantes et/ou en augmentant l'accès des plantes aux éléments nutritifs (Véjan et al., 2016).

Les PGPR sont utilisés dans le monde entier comme biofertilisants, contribuant à augmenter les rendements des cultures et la fertilité des sols. Ainsi, avec la contribution potentielle des PGPR, cela conduit à une agriculture robuste et durable (Sharma et al., 2020).

### 2. Processus de formulation d'inoculant de PGPR

La première phase du processus débute par la collecte minutieuse de bactéries provenant du sol rhizosphérique de plantes spécifiquement choisies. Ces micro-organismes sont ensuite cultivés dans des environnements soigneusement optimisés pour stimuler leur croissance. Les souches ainsi obtenues sont soumises à une batterie complète de tests biochimiques visant à caractériser leurs performances en tant qu'activateurs de la croissance des plantes (PGP) et/ou bio contrôleur. Cette étape permet de sélectionner les souches les plus prometteuses.

Par la suite, ces souches sont soumises à différentes méthodes de multiplication et de conservation, mettant en lumière celles qui présentent les performances les plus robustes et

constantes. Cette phase est déterminante pour assurer la disponibilité à long terme des souches les plus performantes (Singh et al., 2023).

Enfin, une formulation de biofertilisant est élaborée avec une attention particulière à diverses formes, telles que liquides, solides ou en poudre. Cette formulation est ensuite rigoureusement évaluée pour sa performance dans des conditions réelles, sur une plante ou une culture spécifique (Saad et al., 2020).

### **2.1. Formulation de souche unique**

La stratégie de formulation de souche unique implique la sélection propre et l'utilisation exclusive d'un seul PGPR en tant que biofertilisant. Cette approche précise se concentre sur le choix soigneux d'une souche compétente de PGPR et son introduction unique dans le milieu, visant à maximiser son impact bénéfique sur la croissance et le rendement des plantes.

### **2.2. Formulation de consortium de PGPR**

L'élaboration d'un consortium nécessite une évaluation approfondie de la compatibilité et de la synergie entre les différentes souches de PGPR. Ce processus méticuleux implique la recherche d'une harmonie entre les différentes souches, favorisant une collaboration efficace tout en minimisant les éventuelles interactions négatives. La quête d'un équilibre délicat entre la compatibilité et la synergie au sein du consortium est essentielle pour garantir des interactions positives et optimiser les avantages pour la croissance des plantes (Bustamam et al., 2022).

## **3. Formes de formulation de PGPR**

### **3.1. Formulation sous support ou en poudre**

Les microorganismes peuvent être introduits dans le sol via un inoculant solide, dont le composant principal est appelé supports. Le plus souvent, les supports utilisés dans les formulations solides sont organiques ou minéraux, tels que la tourbe, le talc, l'argile et la vermiculite. Ils ont permis d'améliorer le taux de survie des bactéries (Mauricio, 2010).

### **3.2. Formulations granulaires**

Des granules de tourbe, des grains de silice, du minuscule marbre ou de la calcite sont utilisés comme matières premières pour préparer les granulés. Les granules sont ensuite chargés du microorganisme approprié. Leur taille granulaire est variée, mais il existe une étroite corrélation dans la culture mère entre la qualité du produit fini et la densité. Elle présente également certains inconvénients, car ils sont plus denses et il est donc difficile de les transporter jusqu'aux champs. En revanche, le coût de stockage et le niveau de production sont bien plus élevés (Saif et al., 2021)

### **3.3. Formulations liquide**

Les inocula sous forme liquide sont les plus simples à utiliser et les moins coûteux. La préparation de ce type d'inoculum s'effectue en mélangeant les bactéries soit avec un milieu de culture, soit avec une solution spécifique préalablement formulée. Il existe principalement deux façons de traiter les semences pour l'application d'inoculum liquide bactérien. La première consiste à mélanger les graines dans l'inoculum liquide, tandis que la seconde consiste à pulvériser l'inoculum sur le sillon des semis (Mauricio, 2010). Cette méthode permet un contact direct entre les graines et les micro-organismes, ce qui augmente la survie des bactéries sur les racines des plantes. Cependant les micro-organismes ne sont pas suffisamment protégés contre les conditions environnementales et la contamination lors du stockage, du transport et de l'application dans le sol (Schoebitz et al., 2013).

### **3.4. Formulations piégées dans des polymère (encapsulées)**

Les cellules après le processus de multiplication en masse sont mélangées avec un certain type de polymère et traitées par solidification chimique. Il en résulte des billes uniformes contenant des cellules vivantes à l'intérieur. Les perles sont pétillantes dans la matrice polymère qui provoque une croissance ultérieure, puis séchées. Les billes sont généralement dégradées par les micro-organismes vivant dans le sol lorsqu'elles y sont appliquées. Une étude a rapporté des résultats très efficaces pour la colonisation des racines grâce à des cellules bénéfiques ciblées libérées par un matériau polymère par rapport à l'inoculation directe de la culture de blé (Saad et al., 2020 ; Saif et al., 2021).

## **4. Encapsulation et microencapsulation**

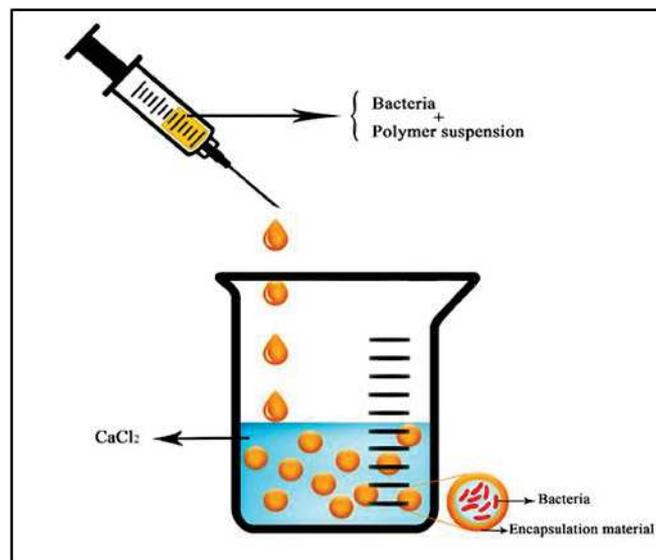
### **4.1. Définition**

L'encapsulation et la microencapsulation peuvent être définies comme un processus physico-chimique consistant à revêtir ou piéger une substance/cellule dans un matériau pour produire des particules de diamètres allant de quelques nanomètres à quelques millimètres (Burgain et al., 2011). Il s'agit d'une technologie d'emballage de matériaux, liquides, solides ou gazeux, à l'intérieur de capsules miniatures scellées. Ces capsules peuvent libérer leur contenu dans des conditions contrôlées et spécifiques (Rokka et Rantamäki, 2010). Le but de la microencapsulation est de protéger le matériau du noyau du stress de son environnement, tel que l'acidité élevée (par exemple, les conditions du sol) (Arslan et al., 2015).

## 4.2. Méthodes de microencapsulation de formules PGPR

### 4.2.1. Technique d'extrusion

Il s'agit de l'une des techniques d'encapsulation microbienne les plus simples et les plus efficaces pour diverses raisons. L'encapsulation dans des biopolymères à base d'hydrogel augmente l'efficacité du PGPR. Le port interne du dispositif d'extrusion pompe le matériau central (la suspension bactérienne) et le port externe pompe la substance de la paroi pour créer une tige co-extrudée constituée d'un matériau central et enveloppée par la substance de la paroi. Les gouttes de cette tige créée sont moulées en capsules pendant que le système tourne. Un des avantages de la technique d'extrusion est qu'elle confère une stabilité contre l'oxydation (Saber et al., 2021) (Figure 4).



**Figure 4:** Schématique de la technique d'extrusion pour l'encapsulation bactérienne (Saber Rish et al., 2021)

### 4.2.2. Séchage par pulvérisation

Le séchage par pulvérisation est la méthode de microencapsulation la plus couramment utilisée dans l'industrie alimentaire. Elle est économique, flexible et permet d'obtenir un produit de bonne qualité. Le processus implique la dispersion du matériau central dans une solution polymère, formant une émulsion ou une dispersion, suivie d'une homogénéisation du liquide, puis d'une atomisation du mélange dans la chambre de séchage. Ceci entraîne l'évaporation du solvant (eau), conduisant ainsi à la formation de microcapsules de type matriciel (Kailasapathy, 2002).

### 4.2.3. Technique d'émulsion

La technique d'émulsion implique la dispersion d'une phase aqueuse contenant les cellules bactériennes et la suspension de polymère dans une phase organique, telle que de l'huile, créant ainsi une émulsion d'eau dans de l'huile (Kailasapathy, 2002).

## 5. Importance de l'encapsulation de PGPR

Cette technologie permet de protéger les PGPR et également pour s'adapter au mode d'action lors des applications. Fondamentalement, l'encapsulation du PGPR fait référence à une technologie créant un paramètre semblable à une paroi qui se dissout une fois dans le sol (Bashan et al., 2002 ; Vejan et al., 2019).

Parmi les avantages de la technique :

- Permettant la protection, la libération contrôlée et la capacité fonctionnelle du micro-organisme (PGPR) ;
- Stabilisation des cellules limite l'exposition à la contrainte abiotique et biotique ;
- Améliorant leur bioactivité et leur stabilité lors de la production, de la conservation et de la manipulation.
- Amélioration de l'activité systémique grâce à une taille de particules plus petite et une mobilité accrue.
- Minimisation de la toxicité grâce à l'élimination des solvants organiques par rapport aux pesticides utilisés conventionnellement et à leurs formulations
- Produire l'inoculant en grande quantité et le stocker durant une longue période sous forme appropriée.
- Réduire la possibilité de contamination des inoculant pendant le stockage, le transport et l'application.
- Produire des inoculant avec une forme adaptée aux équipements de semoir existants
- Faciliter l'utilisation des PGPR en plein champ/sous serre par les agriculteurs ;
- De plus, les capsules sont biodégradables et non toxiques.

# **Matériel et Méthodes**

### I. Objectif de travail

Cette étude a pour but de (i) Isoler et caractériser morphologiquement et biochimiquement des souches de PGPR à potentiel élevé, (ii) Élaborer et formuler des bioengrais à base de consortium de souches PGPR et enfin (iii) évaluer, sous serre, les capacités biostimulantes et de biocontrôle des consortiums élaborés. Les résultats et les conclusions de cette étude contribueront à l'exploration et à l'exploitation des ressources microbiennes bénéfiques pour renforcer les pratiques agroécologiques et la production agricole en Algérie.

### II. Lieu d'expérimentation

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche des ressources génétiques et biotechnologies (L-RGB) à l'École Nationale Supérieure Agronomique ENSA El-Harrach. La culture a été réalisée en serre contrôlée de ENSA. Les analyses du sol et l'évaluation de l'effet des bioengrais sur la croissance des plantes, ont été effectués dans le laboratoire pédagogique du département de productions végétales.

### III. Matériel utilisés

#### 1. Matériel bactérien

Le matériel bactérien utilisé dans cette expérimentation comprend des souches nouvellement isolées à partir des rhizosphères des quelques plantes cultivées et spontanées dans les régions de Biskra et Ain defla.

#### 2. Matériel végétal

L'investigation de l'effet des souches isolées sur la croissance et la santé des plantes a été réalisée sur une plante modèle, le blé dur (*Triticum durum*), variété Oued El Bared. Cette plante a été choisie pour son importance dans les systèmes de culture en Algérie, pour sa germination rapide, et afin de préparer à l'utilisation des formulations de bioengrais en plein champ l'année prochaine. Les semences ont été fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC), station de Khemis-Miliana, Aïn Defla.

#### 3. Sol agricole

Pour estimer le potentiel biostimulant et biocontrôle des formules, un sol agricole provenant de la wilaya de Ain Defla a été utilisé. La démarche, le motif et le choix du sol ont été détaillés de manière approfondie dans la section correspondante (voir page 32).

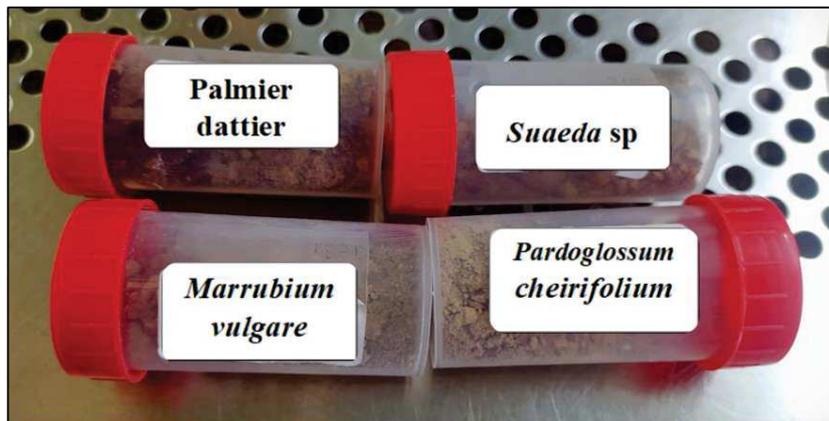
## IV. Méthodes de travail

### Partie 1 : Isolement et caractérisation des souches PGPR

#### 1. Prélèvement des échantillons, isolement et purification des souches PGPR

##### 1.1. Échantillonnage du sol

Quatre échantillons de sols rhizosphériques ont été prélevés au cours du mois de septembre 2022, dans la station CRSTRA de Biskra et le mont de Zeccar. L'échantillonnage a été réalisé à partir de la rhizosphère du palmier dattier et de la plante sauvage *Suaeda* sp. (Biskra), ainsi qu'à Zeccar à partir de la rhizosphère de *Marrubium vulgare* et de *Pardoglossum cheirifolium*. Les plantes ont été sélectionnées de manière aléatoire en ciblant celles qui poussent dans des conditions extrêmes. Les échantillons ont été placés dans des pots stériles hermétiques, puis conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur utilisation (**Figure 5**).



**Figure 5:** Echantillons de sol rhizosphérique (originale)

##### 1.2. Isolement des souches PGPR

L'isolement des souches PGPR a été effectué en suivant la méthode de 'série de dilution' telle que décrite par Kushwaha et al. (2013). Brièvement, dans des tubes à essai stériles de 10 mL, 1 g de chaque échantillon du sol rhizosphérique a été mélangé avec 9 ml d'eau distillée stérile pendant 20 minutes à l'aide d'un vortex (150 tr/min) pour assurer l'homogénéité de la solution.

Ensuite, une série de dilutions entre  $10^{-4}$  et  $10^{-7}$  a été réalisée pour chaque échantillon.

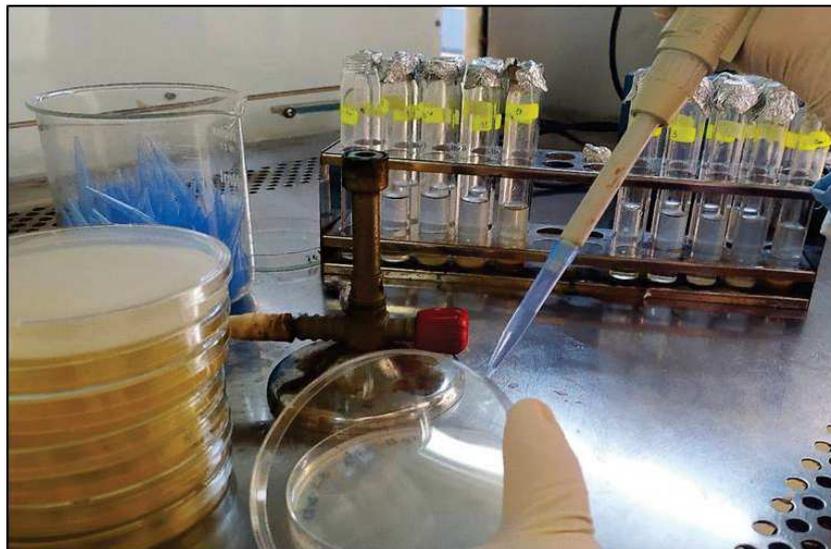
### 1.3. Ensemencement et incubation

Afin d'isoler une large diversité de taxa bactériens et de sélectionner des souches plus performantes et tolérantes aux conditions de stress abiotique (salinité), deux milieux de culture spécifiques et très utilisés pour la culture des bactéries rhizosphériques ont été utilisés :

\*\* Milieu King B (**Annexe 1**) : King B normal ou modifié en ajoutant une concentration de 1,5 % de NaCl.

\*\* Milieu YEM (**Annexe 2**) : YEM normal ou modifié par l'ajout d'une concentration de 1,5 % de NaCl.

Par la suite, 1 ml obtenu à la fin la série de dilution pour chaque échantillon a été déposé dans des boîtes de pétri contenant les milieux de culture (chaque goutte de 1 ml a été déposée sur les 4 milieux, avec 3 répétitions chacune) (**Figure 6**). Ensuite, les boîtes de pétri elles ont été incubées pendant 72 heures à 28°C dans une étuve.



**Figure 6:** Isolement et ensemencement des souches PGPR (originale)

### 1.4. Sélection des colonies bactériennes

Après la fin de la période d'incubation, les colonies bactériennes ont été observées visuellement sur les boîtes de pétri contenant les différents milieux de culture, puis 18 colonies bien isolées présentant une morphologie similaire ont été sélectionnées (4 souches choisies à partir du milieu King B, 5 souches à partir du King B + NaCl, 6 souches du milieu YEM, et enfin 3 souches à partir du YEM + NaCl).

Les isolats ont été prélevés puis ensemencés sur leur milieu d'isolement frais respectif, puis elles ont été incubées de manière similaire à la précédente. Les 18 souches ont été codées pour faciliter leurs utilisations.

### **1.5. Purification des isolats PGPR**

Un ensemencement par strie d'épuisement, selon la méthode des quadrants a été réalisé pour obtenir des cultures pures. Chaque souche a été ensemencée sur son milieu de culture et incubée pendant 48 heures à 28°C. Des examens macroscopiques (la taille, la forme, la couleur, la surface, l'élévation... ) et microscopiques (coloration des Gram) ont été effectués pour vérifier et confirmer la pureté de nos isolats.

### **1.6. Conservation des isolats**

#### **➤ Pour une longue durée**

Pour une conservation à long terme, le glycérol a été employé, chaque souche pure fraîchement prélevée a été ensemencée et incubée dans 10 ml de la solution nutritive stérile (**Annexe 03**) à 28°C. Après 24 heures d'incubation, 1ml a été prélevé, placé dans un tube Eppendorf, puis centrifugé (à 5000 tours/minute pendant 10 minutes). Ensuite le surnageant a été retiré et 1ml de solution de glycérol à 30% a été ajouté avant d'être conservé à -20°C.

#### **➤ Pour une courte durée**

La conservation à courte terme a été réalisée sur les milieux de culture King B et YEM, les souches pures ont été ensemencées et incubées pendant 48 heures à 28 °C. Ensuite, elles ont été maintenues à 4 °C. Plusieurs copies de chaque souche ont été conservées pour permettre une utilisation ultérieure dans les différents tests.

## **2. Identification et caractérisation des PGPR**

### **2.1. Caractérisation macroscopique**

L'examen macroscopique des isolats consiste en une analyse de l'aspect morphologique des souches. Il implique l'observation visuelle des colonies obtenues sur leur milieu de culture après 24 à 48 heures d'incubation. Cette observation tient compte de la taille des colonies (petite, moyenne ou grosse), de la chromogénèse (couleur de la colonie), de la forme des colonies (rondes, irrégulières), de l'odeur (avec ou sans odeur) et de la surface des colonies (lisse, rugueuse, sèche ou dentelée) (Joffin et Leral, 2006).

### 2.2. Caractérisation microscopique

La coloration de Gram publiée par Hans Christian Gram en 1884 c'est la méthode la plus importante pour l'identification des bactéries, elle permet également de les différencier et de les classer en deux catégories distinctes : bactérie à Gram + et à Gram -. Cette méthode permet aussi de fournir une analyse morphologique des bactéries. On peut observer les différentes formes (bacille, coccobacilles et coque), ainsi que les tailles et les structures de regroupement (en amas, en chaîne, isolées, diplocoque ou diplobacille).

Pour effectuer la coloration de Gram de nos isolats, un frottis bactérien a été réalisé en versant une goutte d'eau distillée sur une lame de verre, en prenant un fragment de colonie à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, en dissociant attentivement l'inoculum dans l'eau distillée et en laissant sécher. La préparation a été fixée à la flamme, soigneusement séchée et laissée refroidir. La lame a été plongée dans la solution Cristal Violet pendant une minute avant d'être lavée avec de l'eau. Par la suite, la lame a été immergée dans du Lugol pendant une minute en agitant, puis lavée avec de l'eau. La préparation a été décolorée dans l'alcool jusqu'à ce que la couleur violette disparaisse, puis elle a été lavée avec de l'eau. La préparation a été à nouveau colorée avec la solution de safranine diluée pendant 20 à 30 secondes, a été lavée avec de l'eau et a été séchée à l'air. L'ensemble, recouvert d'une lamelle, a été observé sous microscope optique à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile (**Figure.7**).



**Figure 7:** Coloration de Gram des souches (originale)

### 2.3. Caractérisation biochimique

Dans le but de déterminer les capacités de chaque souche à promouvoir et booster la croissance (biostimulant) et la santé des plantes (biocontrôle), ainsi que la fertilité du sol, les traits PGP (Plant Growth Promoting) des isolats ont été évalués par des tests spécifiques.

#### 2.3.1. Fixation d'azote atmosphérique

Le protocole de Rodge et al. (2016) a été suivi pour estimer le potentiel et sélectionner les meilleures souches fixatrices d'azote. Sur un milieu Ashby stérile sans azote (**Annexe 04**), les isolats bactériens ont été striés puis incubés dans une étuve à une température de 25°C pendant 48h. La croissance des bactéries sur le milieu de culture indique leurs capacités de fixer l'azote atmosphérique.

#### 2.3.2. Solubilisation du phosphore

La capacité des souches bactériennes à solubiliser le phosphate inorganique a été analysée sur le milieu de Pikovskaya solide (PVK) contenant du  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  comme seule source de phosphate (**Annexe 05**) (Pikovskaya, 1948). Les isolats ont été inoculés en spots de 10ul dans le milieu PVK, puis ont été placés dans une étuve à 30°C pendant 72 heures. La formation d'une zone claire autour des spots indique que la souche est capable de solubiliser le phosphate (Alam et al., 2002).

#### 2.3.3. Solubilisation du zinc

La capacité de isolats à solubiliser le zinc a été effectuée en suivant la méthode Goteti et al. (2013). Les souches ont été striés sur le milieu gélosé stérile contenant l'Oxyde de zinc (ZnO) insoluble comme seule source de zinc (**Annexe 06**), puis elles ont été incubées à 30°C pendant 72h. La formation d'une zone claire autour des colonies bactériennes indique la solubilisation du zinc par ces bactéries.

#### 2.3.4. Production d'indole (AIA)

Le test a pour but de vérifier si les souches sont capables de synthétiser des hormones de croissance telle que l'indole (auxine). Les isolats ont été cultivés dans un bouillon tryptone (**Annexe 07**), puis mis dans une étuve à 37°C pendant 48h. Après incubation, le réactif de Kovac a été ajouté aux tubes. La présence d'un anneau rouge cerise à la surface indique un résultat positif pour le test, tandis que son absence indique un résultat négatif.

### 2.3.5. Production d'ammoniac

La procédure de Islam et al. (2022) a été suivie pour examiner l'aptitude des isolats bactériens à produire l'ammoniac. D'abord, les souches ont été inoculées dans de l'eau préptonée (**Annexe 07**), incubées pendant une durée de 96 heures à 30°C. Ensuite, 1 ml de réactif de Nessler a été ajouté à la solution (**Annexe 08**).

L'observation d'une couleur jaune à brunâtre montre un résultat positif pour la production d'ammoniac, tandis que l'absence de cette couleur est interprétée comme un résultat négatif.

Le potentiel de biocontrôle des invasions pathogéniques ou d'autres maladies des plantes par les souches PGPR est principalement lié à leur capacité à produire une quantité suffisante d'enzymes « lytiques ». Un screening, à travers plusieurs tests, a été réalisé pour évaluer et identifier les isolats présentant des activités enzymatiques :

### 2.3.6. Production de catalase

L'objectif de la réalisation de ce test était d'analyser l'activité catalase (enzymatique) des souches bactériennes. Sur une lame en verre, on dépose l'inoculum fraîche de chaque souche, puis on ajoute une goutte du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 3 %. La formation des bulles d'air (dégagement gazeux de dioxygène) après quelques secondes, confirme la présence d'une activité catalase (Apostol et al., 1989).

### 2.3.7. Production d'amylase

En utilisant un milieu gélosé spécifique contient de l'amidon (**Annexe 09**), les isolats ont été ensemencés dans des puits (disques) et incubés à une température de 30°C pendant une durée de 72 h. Une solution de Lugol a été ajoutée à la surface des boîtes. Après les avoir laissées reposer pendant quelques minutes, les boîtes ont été rincées par l'eau distillée. La présence d'une zone claire autour des disques confirme l'activité amyliasique des souches (Vidyalakshmi et al., 2009).

### 2.3.8. Production de protéase

La production de protéase par les souches a été effectué selon le protocole mentionné par (Modi et al., 2017). Sur un milieu de culture gélosé contient du lait écrémé (**Annexe 10**), les souches ont été ensemencées dans puis incubées à 30°C pendant une durée de 48 h. La présence

d'une activité protéase est marquée par l'apparition d'un halo transparent autour des colonies bactériennes.

### 2.3.9. Production d'estérase et de lipase

Les activités d'estérase et de lipase ont été déterminées selon la méthode de Sierra (1957). Les souches bactériennes ont été cultivées sur une gélose nutritive modifiée (**Annexe 11**). Pour mettre en évidence l'activité estérasique, le Tween 80 a été ajouté. Cependant, l'activité lipasique a été révélée par l'ajout du Tween 20 (Carrim et al., 2006).

Les isolats ont étéensemencées puis incubées à une température de 30°C pendant une période de 48h. L'observation d'un halo clair autour des colonies indique la présence d'activités estérasiques et lipasiques.

La mesure de l'indice de solubilisation du phosphore et du zinc et même la production des enzymes hydrolytiques amylase, estérase et lipase est effectuée selon la formule suivante :  
Indice de solubilisation = diamètre de la colonie + diamètre de la zone claire / diamètre de la colonie.(Yasmin et al.,2020).

## Partie 2 : Développement et élaboration des formules de bioengrais

### 1. Compatibilité des souches isolées

Avant la formulation des consortia de bactéries, la compatibilité entre chaque paire de souches a été vérifiée en utilisant la méthode de confrontation (striés croisés) des plaques telle que décrite par Raja et al. (2006). Sur un milieu King B, les cultures bactériennes ont été étalées, avec une souche principale au centre de la boîte et l'autre souche disposée de manière perpendiculaire. Ensuite, elles ont été incubées dans une étuve à une température de 28°C pendant une période de 48 heures. L'apparition d'une zone d'inhibition (zone claire) entre les deux souches indique que les souches sont incompatibles. Alors que, l'absence de la zone claire montre la compatibilité entre les deux.

**NB** : Chaque test (traits PGP ou compatibilité) a été répété en minimum trois fois pour chaque souche.

### 2. Classification et sélection des souches et design des formules des bioengrais

Les 18 souches ont été classées et sélectionnées en basant sur les résultats de l'estimation et la caractérisation biochimique (traits PGP) des souches. De plus, la compatibilité mutuelle entre les isolats a été prise en considération lors de la formation du bioengrais.

Globalement, les souches ont été classées en 4 catégories :

- Souches capables de fixer l'azote atmosphérique (biostimulation).
- Souches améliorant l'acquisition des nutriments (Phosphore et Zinc), (biostimulation).
- Souches ayant un potentiel de production de phytohormones (biostimulation).
- Souches ayant des activités enzymatiques remarquables (biocontrôle).

#### • Formulation des bioengrais

Pour formuler et développer des bioengrais présentant des qualités et efficacités élevées, des consortia de souches intégrales ont été élaborés en tenant compte de la complémentarité entre leurs catégories assignées. Par exemple, un biofertilisant (consortia) peut contenir à la fois une souche à très haut potentiel de fixation d'azote, une souche à un potentiel de solubilisation du phosphore, une souche avec une capacité de production de phytohormones, et une souche avec une activité enzymatique. De la même manière, des formulations ont été conçues en utilisant des souches ayant un potentiel similaire, par exemple, une souche fixatrice d'azote avec une autre souche fixatrice d'azote, ou en regroupant des souches ayant uniquement des capacités d'activité enzymatique. Les formules ont été élaborées en utilisant de deux à sept souches.

Les éléments cruciaux à prendre en considération lors de la conception des formules sont :

- Azote + Phosphore
- Azote + Phosphore + Zinc
- Azote + Phosphore + Zinc + AIA + Ammoniac
- Lipase + Estérase + Amylase + Protéase
- Azote + Phosphore + Lipase + Estérase + Amylase + Protéase
- Azote + Phosphore + Zinc + Lipase + Estérase + Amylase + Protéase
- Azote + Phosphore + Zinc + AIA + Ammoniac + Lipase + Estérase + Amylase + Protéase

Plusieurs combinaisons entre les différentes souches bactériennes ont été testées, conduisant au total à 14 formules (bioengrais) qui ont été nommées : F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9, F10, F11, F12, F14 (*voir partie résultats*).

### 3. Microencapsulation de bioengrais

La microencapsulation des 14 formulations de bioengrais a été réalisée selon le protocole de He et al. (2016) avec de légères modifications. Pour ce faire, deux polymères, le premier est l'alginate de sodium à 2 % (NaAlg) et l'autre la cellulose à 2 %, ont été mélangées avec les solutions bactériennes (formules) dans un rapport respectif de 2:1 (polymères : solutions bactériennes). Les mélanges contenant les formules et les polymères ont été ajoutés goutte à goutte à l'aide d'un dispositif spécial dans la solution de réticulation  $\text{CaCl}_2$  (2%).

NB : Pour la solution bactérienne (formules), Il s'agit d'une combinaison des souches qui ont été incubées individuellement pendant 24 heures dans un milieu King B liquide. Dans chaque formule, la concentration des souches est égale.

La microencapsulation est réalisée à l'aide d'un appareil semi-automatique que nous avons développé et conçu pour faciliter et accélérer l'opération (**Figure 8**).



**Figure 8:** Notre dispositif de microencapsulation (originale)

Les billes obtenues (formules de bioengrais) ont été lavées deux à trois fois avec de l'eau distillée stérile, puis elles ont été séchées à 40°C dans une étuve. Les microcapsules séchées ont été placées dans des boîtes stériles et stockées à une température de 4°C en vue d'une expérimentation ultérieure.

### **Parti 3 :Évaluation du potentiel biostimulant et biocontrôle des formules élaborées**

Dans le but d'évaluer la performance et l'efficacité de nos bioengrais composées de plusieurs consortia de PGPR encapsulées en tant que biostimulant et agent biocontrôle pour la croissance, le développement et la sante de blé dur Var. Oued El Bared (voir la section matériel), ainsi que sur la fertilité du sol, un essai a été conduit dans la serre contrôlée de l'école nationale supérieure d'agronomie ENSA El- Harrach.

#### **1. Principe de sélections de formules :**

Après la formulation et l'élaboration des bioengrais, en se basant sur les caractéristiques principales de chaque formule, celles-ci ont été classées en deux catégories principales :

- **Formules avec un potentiel biostimulant** : Ce groupe contient des souches caractérisées par des capacités élevées de production d'hormones de croissance, fixation de l'azote... Il renferme les quatorz (14) formules suivantes : F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9, F10, F11, F12, F13, F14.
- **Formules avec un potentiel biocontrôle** : Ce groupe contient des souches caractérisées par des activités enzymatiques remarquables. Il renferme les huit (8) formules suivantes : F3, F4, F5, F6, F9, F12, F13, F14.

#### **2. Sol agricole utilisé**

Le sol utilisé dans notre expérimentation est constitué d'un mélange de deux sols infectés par des pathogènes lors la culture dans la wilaya d'Aïn Defla. Le choix de ces sols a été effectué suite à une prospection menée auprès des services agricoles de la wilaya (DSA), qui nous ont fourni des informations sur les parcelles ayant présenté des infections par des pathogènes. Dans notre démarche (très utilisée à l'échelle mondiale), les sols agricoles (réel) ont été utilisés pour plusieurs raisons : afin de tester les effets des formulations dans des conditions très proches de la réalité en vue de passer prochainement à l'examen des formules en plein champ, et pour évaluer l'efficacité et l'aptitude des formules en tant qu'agents de biocontrôle des "soil-borne patho gens" (Akhtar et al. 2018).

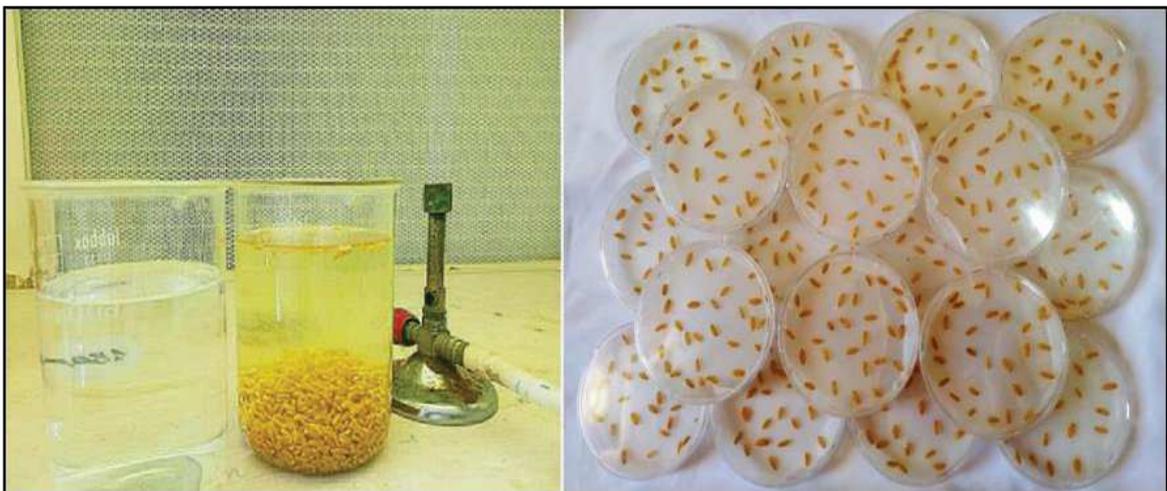
Les deux sols sont :

- Sol 1 : Sol provient d'une culture de pomme de terre déclarée infectée par le *Fusarium*.
- Sol 2 : Sol provient d'une culture de tomates industrielles officiellement déclarée infectée par plusieurs pathogènes.

Le sol utilisé pour le test biostimulant, ainsi que pour les traitements témoins (test biostimulant), a été placé dans une étuve pendant 48 heures à 105 °C afin d'assurer la désinfection.

### 3. Stérilisation et mise en germination des graines

Les graines de blé sont stérilisées en surface avec une solution d'hypochlorite de sodium (2%) pendant 30 mn et rincées plusieurs fois à l'eau distillée stérile. Ensuite, elles sont placées en germination dans des boîtes de Petri sur du papier filtre imprégné d'eau distillée, avec 25 graines par boîte. Les boîtes de pétri sont placées à l'obscurité dans un germoir à 20°C/ 48 h. (Figure 9)



**Figure 9:** Stérilisation et mise en germination des graines de blé dur (originale)

### 4. Design de l'expérimentation

L'effet des formules sur la croissance et la santé du blé a été évalué par une culture en pots en serre. La croissance de blé a été effectuée dans des pots de 5 litres, placés aléatoirement. Les pots remplis du sol agricole infecté ou désinfecté ont été percés au fond de quatre trous afin d'assurer le drainage de l'eau (Figure 10). Dans chaque pot, nous avons placé trois plantules pré-germées de 48 heures



**Figure 10 :** Rempolissage des pots ac le mélange de sol (originale)

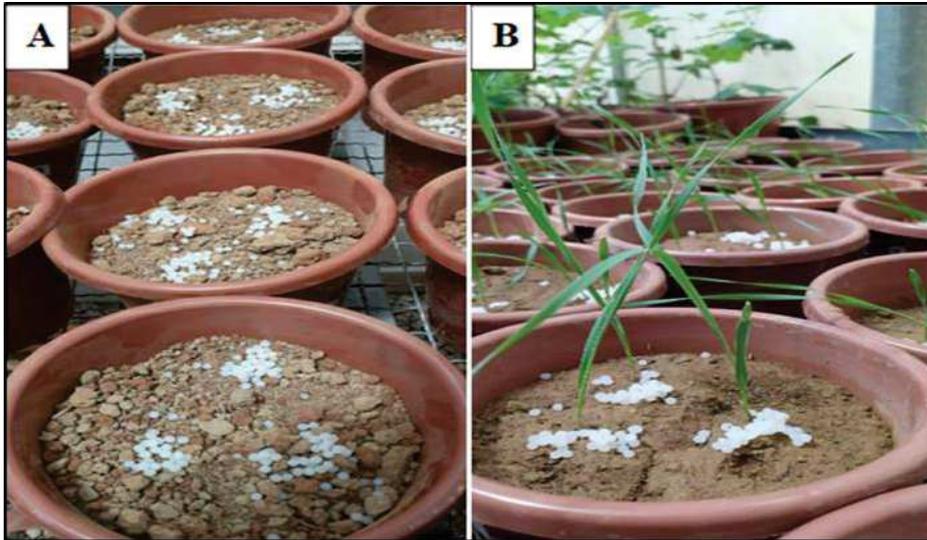
#### **4.1. Evaluer le potentiel biostimulant :**

Seize (16) traitements différents ont été réalisés en utilisant le mélange de sol dsinfecté uniquement, avec quatre répétitions pour chaque traitement. Les quatorze formules de bioengrais : F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9, F10, F11, F12, F13 et F14 ont été appliquées (chacune dans 4 pots) deux fois au cours de la croissance des plantules de blé. Un traitement T1, servant de témoin sans apport de bioengrais, a été installé. Les 14 traitements et le témoin T1 ont été régulièrement irrigués avec de l'eau de robinet. Un deuxième traitement témoin (S) a été également installé, il consistait à les irriguer les plantes avec une solution nutritive équilibrée de Hoagland (**Annexe 12**) et sans apport de formules. Ce témoin a été utilisé pour estimer le degré de l'efficacité et de performance de nos formules en les comparant à cette solution.

#### **4.2. Evaluer le potentiel biocontrôle :**

Les formules F3, F4, F5, F6, F9, F12, F13, et F14 composées principalement de souches ayant des activités enzymatiques remarquables ont été examinées pour leur pouvoir de biocontrôle et promotion de la croissance de blé dans un sol infecté par des "soil-borne pathogens". De même manière que précédemment, les formules ont été appliquées deux fois. Un traitement T1, servant de témoin sans apport de formules, a été installé et un deuxième témoin S est utilisé pour comparaison. Chaque traitement a été répété 4 fois.

Pour les deux tests, les formules ont été appliquées deux fois, le premier apport a été effectué lors la plantation. Le deuxième apport a été réalisé 15 jours après la plantation (stade 3 feuilles) (**Figure 11**). La dose de fertilisation adaptée est de  $4.5 \text{ g. pot}^{-1} \cdot \text{apport}^{-1}$ .



**Figure 11:** Les apports de nos formules de consortia PGPR encapsulées  
(originale)

A : premier apport., B : deuxième apport

## 5. Paramètres étudiés

### 5.1. Paramètres morphologiques

#### 5.1.1. Hauteur des tiges

La hauteur de la tige a été mesurée, pour les deux tests, chaque semaine pendant six semaines, en utilisant un mètre ruban.

#### 5.1.2. Longueur racinaire

Après six semaines de culture, un dépotage des pots a été effectué. La partie racinaire de chaque plant a été nettoyée soigneusement, du sol adhérent, puis sa longueur a été mesurée à l'aide d'une règle (**Figure 12**).



**Figure 12:** Dépôtage et la mesure de la longueur racinaire (originale)

### 5.1.3. Poids frais et sec de la partie racinaire et aérienne

La tige et la racine de chaque échantillon sont pesées séparément à l'aide d'une balance de précision pour déterminer le poids frais de la partie aérienne, ainsi que de la partie racinaire. Ensuite, le poids sec de chaque partie a été mesuré après le séchage des échantillons dans une étuve à 60 °C pendant 48 heures.

### 5.1.4. Taux de mortalité des plants

À la fin de l'essai, nous avons inspecté l'état des plantes afin de déterminer, le cas échéant, les plants morts, en vue de calculer le taux de mortalité en fonction des traitements et l'état du sol.

## 5.2. Paramètre biochimique

### 5.2.1. Teneur en chlorophylle

L'estimation du taux de chlorophylle a été faite selon la méthode de Witham et al. (1971). Brièvement, 0,1 g de feuilles fraîches de chaque échantillon est broyé à sec, puis homogénéisé dans 10 ml d'acétone à 80 % (**Figure 13**). Ensuite, le broyat obtenu est centrifugé à 4000 tr/min pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant est mesurée à 663 et 645 nm pour déterminer respectivement les taux de chlorophylle a et b.

La teneur en chlorophylle est déterminée en utilisant les équations d'Arnon (1949) :

- **Chlorophylle a** = 12,7 DO 663 – 2,69 DO 645 (µg/ml)

- **Chlorophylle b** = 22,9 DO 663 – 4,68 DO 645 ( $\mu\text{g/ml}$ )
- **Chlorophylle (a+b)** = 8,02 DO 663 + 20,21 DO 645 ( $\mu\text{g/ml}$ ).

Sachant que : **DO 663** : Densité optique lue à la longueur d'onde 663 nm

**DO 645** : Densité optique lue à la longueur d'onde 645 nm.



**Figure 13:** Préparation des broyats pour la mesure des pigments chlorophylliens (originale)

### 5.3. Paramètres du sol

#### 5.3.1. Phosphore assimilable (Méthode de JORET – HEBERT)

4 g de sol tamisé ont été placés dans une bouteille avec 100 ml de la solution d'oxalate d'ammonium, agités pendant 2 heures, puis filtrés (**Figure 14**). Ensuite, les solutions ont été dosées en utilisant 1,5 ml de la solution d'extraction, 2 ml de réactif sulfomolybdique et 6,5 ml de solution d'acide ascorbique. Le mélange a été homogénéisé, chauffé au bain-marie à 95°C pendant 10 à 15 minutes, puis a été laissé refroidir avant d'être mesuré au spectrophotomètre à 650 nm.

La teneur en ppm de  $\text{P}_2\text{O}_5$  a été déterminée selon l'équation suivante :

$$\text{Ppm (P2O5)} = X.U.V/P. \quad v = (X/6).1000$$

Sachant que:

**X** : Concentration lue sur le graphe.

**U** : Volume de solution utilisée (10 ml)

**v** : Volume de la prise d'essai (1.5 ml)

V : Volume de la solution d'extraction (100ml)

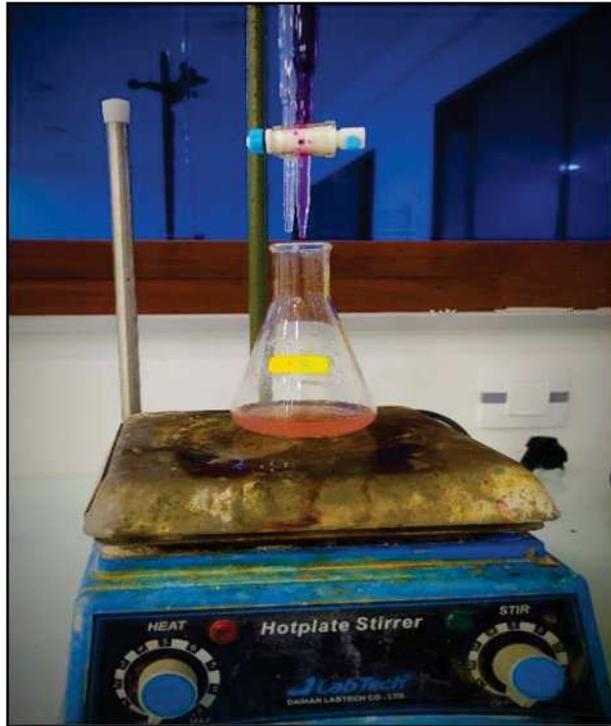
P : Poids de la prise d'essai (4g)



**Figure 14:** Agitation du sol avec la solution d'oxalate d'ammonium (originale)

### 5.3.2. Respiration basale du sol (Activité Catalase)

Pour évaluer l'activité de la catalase du sol (CAT), la méthode de Guan (1986) a été utilisée. Un mélange composé de 5 g de sol, 2,5 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 3%, et 20 ml de tampon phosphate (pH 7) a été incubé à 25°C pendant 20 minutes. Ensuite, pour stopper la réaction, 2,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 3 mol/l ont été ajoutés. Le mélange a été filtré à travers un papier filtre, et 15 ml du filtrat ont été titrés à l'aide d'une solution de KMnO<sub>4</sub> 0,02 mol/l jusqu'à l'obtention d'une couleur rose clair. Enfin, le volume de solution de KMnO<sub>4</sub> nécessaire a été utilisé pour évaluer l'activité de la catalase (**Figure 15**).



**Figure 15:** Titration of filtrate by the solution of  $\text{KMnO}_4$  (original)

## 6. Analyses statistiques des données

The Microsoft Excel 2016 software was used to obtain simple statistical information (such as means and standard deviation). Subsequently, the quantitative data collected were subjected to a univariate analysis as well as a multivariate analysis using the STATGRAPHICS Centurion, version 19 and the R software.

The univariate analysis consisted of an ANOVA analysis with one factor of classification. It was carried out with the aim of highlighting any possible differences between the 16 treatments studied (two controls and 14 consortia of PGPR encapsulated) as biostimulants. Homogeneous groupings were also determined by completing the first analysis with the Fisher (LSD) test.

The multivariate analysis consisted of an ANOVA analysis with two classification criteria and was carried out with the aim of highlighting differences that could exist between the ten treatments studied (two controls and eight consortia of PGPR encapsulated) as biostimulant and biocontrol at the same time. This analysis was completed in the case of the significance of the differences for the two parameters (treatments and soil state) by the Fisher LSD test in order to regroup the homogeneous effect of the treatments.

# **Résultats et Discussion**

## I. Résultats

### Partie 1 : Isolement et caractérisation des souches PGPR

#### 1. Isolement des PGPR

L'isolement à partir des différents sols rhizosphériques en utilisant les deux milieux de culture King B et YEM a permis d'obtenir 18 souches pures, qui ont été nommées : 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 15, 17, 18, 20, 22, 23, 24, 25, et 26 (**Tableau 1**). L'isolement a montré une richesse de diversité des souches bactériennes apparaitre dans les boites (parfois plus de 15 souches sur la même boite). Les souches ont été sélectionnées au hasard.

**Tableau 1:** Souches et leurs milieux d'isolement et de croissance.

Les milieux de culture	Les souches
King B	6, 7, 8, 9, 13.
King B avec NaCl	15, 17, 18, 20.
YEM	3,5, 22, 23, 24, 25.
YEM avec NaCl	1,4, 26.

#### 2. Caractérisation et identification des souches

Afin d'identifier les isolats, une analyse de plusieurs types de données, englobant les caractéristiques culturelles, morphologiques et biochimiques des 18 souches bactériennes obtenues à partir des différentes rhizosphères, a été réalisée.

##### 2.1. Caractérisation macroscopique

L'observation macroscopique de nos 18 souches a révélé une grande variabilité des caractéristiques morphologiques entre les isolats comme indiqué dans le tableau suivant (**Tableau 2**).

**Tableau 2:** Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolas

Souches	Surface	Odeur	Couleur
1	Lisse	-	Blanc
3	Lisse	-	Blanc
4	Lisse	-	Rose claire
5	Lisse	-	Blanc
6	Lisse	+	Crème

7	Lisse	+	Crème
8	Lisse	+	Crème
9	Lisse	-	Jaune
13	Lisse	+	Crème
15	Lisse	+	Crème
17	Lisse	+	Crème
18	Lisse	+	Crème
20	Lisse	+	Jaune
22	Lisse	-	Crème
23	Lisse	-	Blanc
24	Lisse	-	Blanc
25	Lisse	-	Blanc
26	Lisse	-	Blanc

+ : présence d'odeur / - : absence d'odeur

## 2.2. Caractérisation microscopique

Des observations microscopiques ont été effectuées afin de distinguer entre les formes, les marges et les couleurs des souches isolées. Les résultats obtenus ont montré que la majorité des souches présentent une forme bacille (10 souches) et les autres une forme coque (8) (Tableau 3)

.En outre, après la coloration de gram (Figure 16), les tous les isolats ont été caractérisée par une couleur rose. Elles ont donc une réaction négative (Gram -).

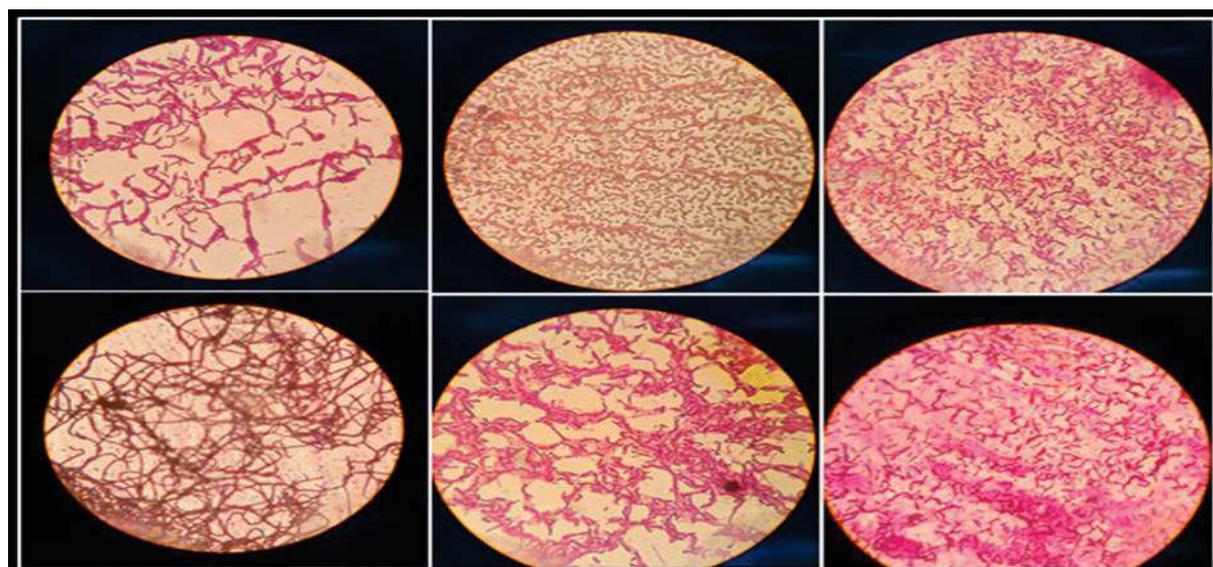


Figure 16: Test de Gram sur quelques souches (originale)

**Tableau 3:** Résultats d'observation microscopique des souches

Souches	Gram	Forme	Disposition
1	Gram -	Cocci	Isolées
3	Gram -	Cocci	Isolées
4	Gram -	Cocci	En chaine
5	Gram -	Cocci	Isolées
6	Gram -	Cocci	Isolées
7	Gram -	Bacille	Isolées
8	Gram -	Bacille	Isolées
9	Gram -	Cocci	Isolées
13	Gram -	Bacille	Isolées
15	Gram -	Bacille	En chaine
17	Gram -	Bacille	Isolées
18	Gram -	Bacille	Isolées
20	Gram -	Cocci	Isolées
22	Gram -	Cocci	Isolées
23	Gram -	Bacille	Isolées
24	Gram -	Bacille	Isolées
25	Gram -	Bacille	Isolées
26	Gram -	Bacille	Isolées

### 2.3.Caractérisation biochimique

#### 2.3.1. Fixation d'azote

La croissance des souches sur le milieu Ashby dépourvu d'azote indique leur capacité à fixer l'azote atmosphérique (**Figure 17**). Les résultats obtenus ont révélé que 14 souches parmi nos isolats ont la capacité de fixer l'azote. La souche 25 a enregistré la meilleure croissance (crème observée a un intervalle de 48h) suivie par les souches 3, 4 et 7 (**Tableau 4**).



**Figure 17:** Croissance des bactéries isolées sur le milieu de culture Ashby(originale)

**Tableau 4:** Capacité de fixation d'azote par les souches isolées

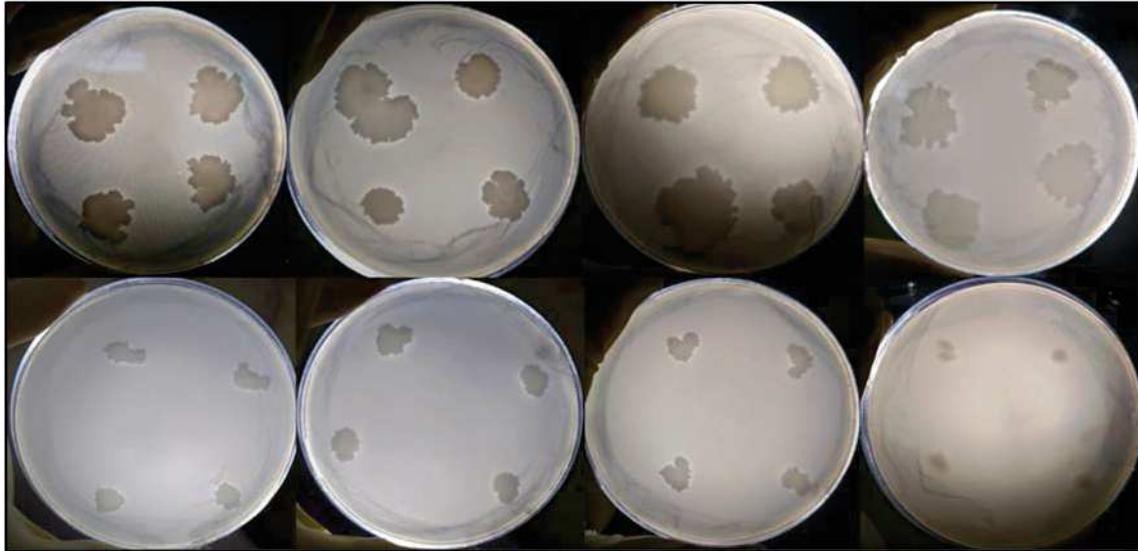
Souches	Fixation d'azote	Souches	Fixation d'azote
1	+	15	+
3	+++	17	++
4	+++	18	++
5	++	20	-
6	-	22	-
7	+++	23	+
8	++	24	++
9	-	25	++++
13	+	26	++

++++ : très fort croissance /+++ : Forte croissance /++ : Croissance moyenne /+ : Faible croissance / - : Pas de croissance

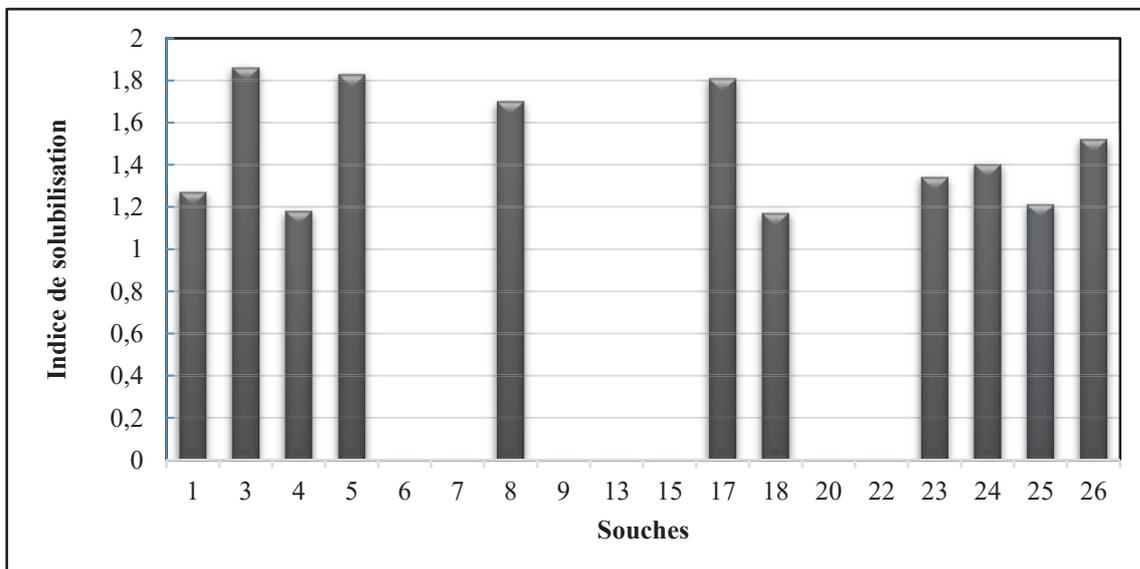
### 2.3.2. Solubilisation du phosphore

La capacité des souches à solubiliser le phosphore se manifeste par la formation d'une zone claire autour de la colonie dans un milieu PVK. Après 72 heures d'incubation, seuls les isolats 6 , 7, 13, 15, 9, 20 et 22 qui ont présentés un résultat négatif, tandis que les autres isolats ont montés un potetiel de transformer le phosphore d'un format insoluble (phosphate

tricalcique) et le rendre soluble (accessible pour les plantes) (**Figure 18**). La quantité soluble varie d'une souche à une autre, comme l'indique l'indice de solubilisation (IS). Le taux le plus élevée a été enregistré avec la souche 3 (IS = 1,86), suivi par la souche 5 (IS = 1,83), alors que le taux le plus faible a été observé chez la souche 18 (IS = 1,17) (**Figure 19**).



**Figure 18:** Solubilisation du phosphore par quelques souches PGPR (originale).

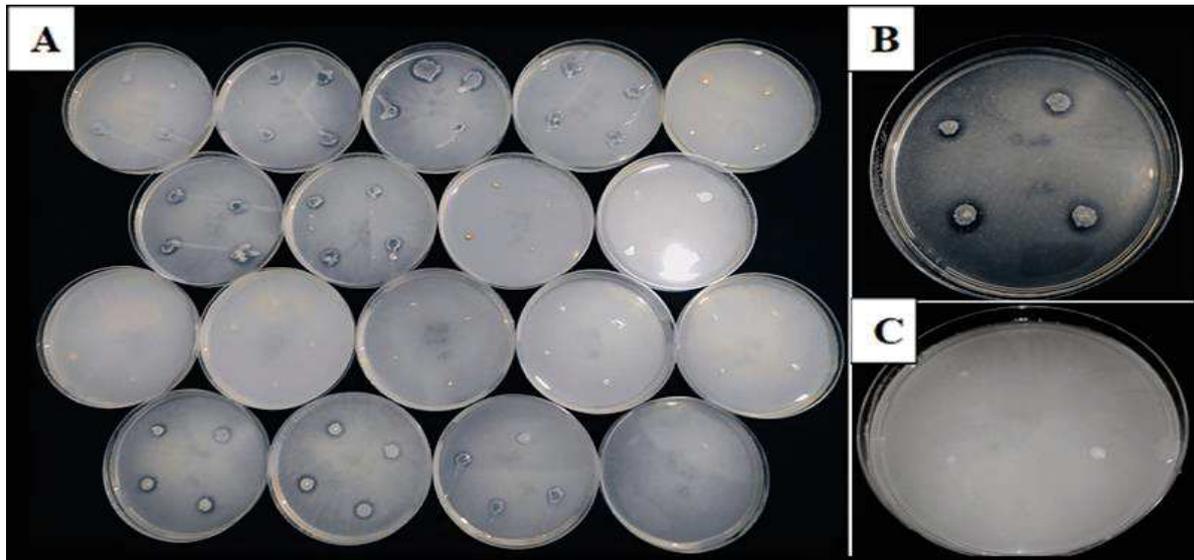


**Figure 19:** Indice de solubilisation du phosphore par les 18 souches

### 2.3.3. Solubilisation du zinc

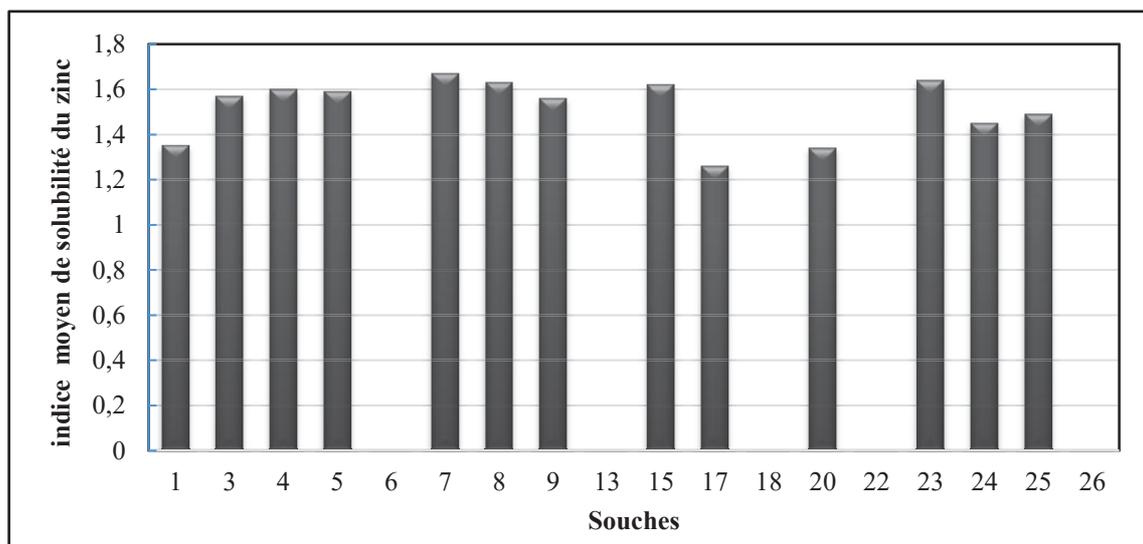
Ce test est réalisé afin de montrer la capacité des isolats de transformer le zinc d'un format insoluble et le rendre soluble. Un résultat positif s'exprime par la formation d'un halo

clair autour des colonies PGPR. Les résultats obtenus ont montré que la majorité de nos isolats présentent des résultats positifs, à l'exception des souches 6, 13, 18, 22, et 26 (**Figure 20**). L'indice de solubilisation du zinc varie entre 1,67 et 1,64 pour les souches 7 et 23, respectivement, cependant l'indice le plus faible avec 1,26 a été révélé chez la souche 17 (**Figure 21**).



**Figure 20:** Solubilisation du zinc sur un milieu spécifique (originale)

(A) : résultat des 18 souches (B) : Souche solubilisatrice du zinc (C) : souche incapable de solubiliser le zinc

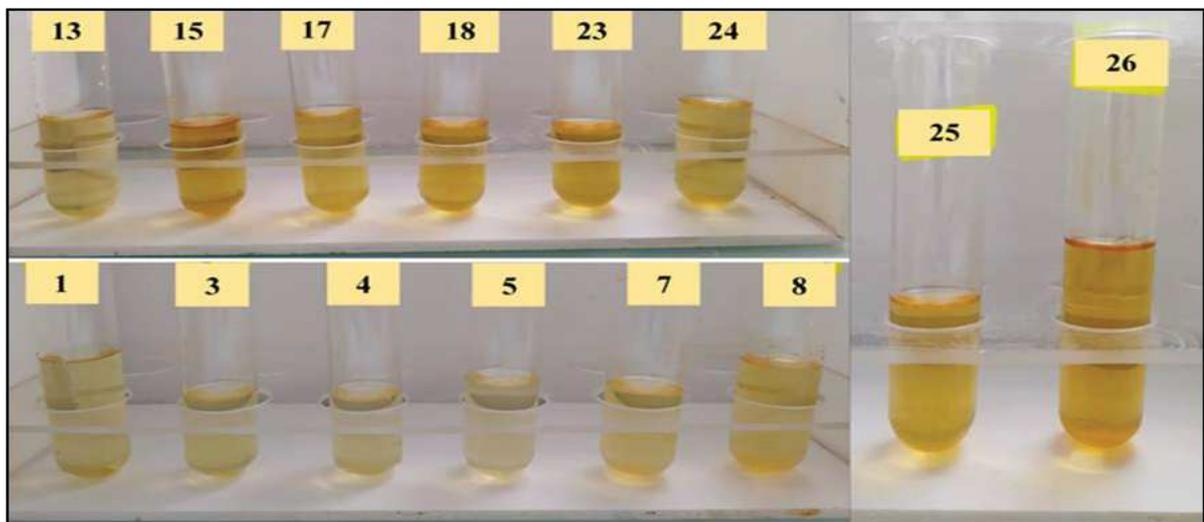


**Figure 21:** Indice moyen de solubilisation du zinc

### 2.3.4. Production d'acide indole acétique (AIA)

Les PGPR boostent la croissance et le fitness des plantes hôte directement par la synthèse d'un large gramme des hormones de croissance tels que l'acide indole-3-acétique (AIA) (Malhotra et Srivastava, 2008). Il fonctionne comme un signal important dans la régulation du développement des plantes, stimulation de l'élongation racinaire, de la division et de la différenciation cellulaire.

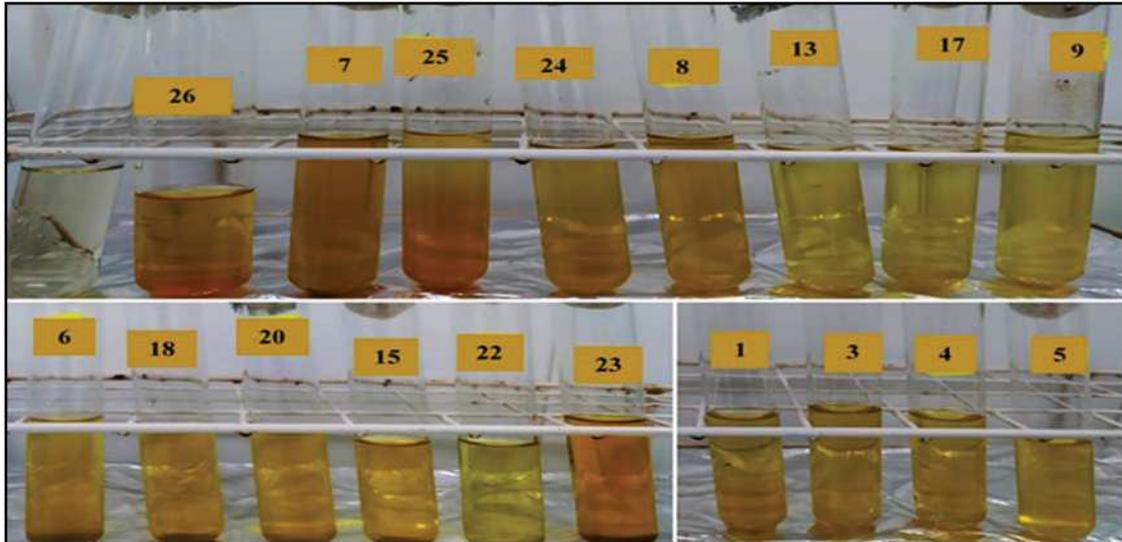
Les résultats obtenus ont montré que tous les isolats ont réagi positivement avec ce test par la formation d'un anneau rouge cerise dans la couche supérieure des solutions bactériennes. L'intensité de la couleur varient en fonction du taux d'indole produit par les souches (**Figure 22**) (**Tableau 5**)



**Figure 22:** Différentes réactions de production d'AIA par les souches (originale)

### 2.3.5. Production d'ammoniaque

Après incubation et l'ajout de 3 gouttes de réactif de Nessler, on a observé que 16 souches ont manifesté des résultats positifs pour la production d'ammoniaque, identifiables par un changement de couleur du milieu en une teinte orangé-brun à divers degrés (**Figure 23**) (**Tableau 5**).



**Figure 23:** Différentes production d'ammoniaque par nos isolats (originale)

**Tableau 5 :** Résultats de la production d'AIA et d'ammoniaque par les 18 souches

Souches	Production AIA	Production d'ammoniaque
1	12	9
3	-	7
4	-	8
5	11	9
6	-	11
7	10	2
8	9	5
9	-	-
13	8	13
15	2	16
17	5	14
18	4	12
20	-	6
22	-	-
23	3	10
24	7	4
25	6	3
26	1	1

Les chiffres représentent l'ordre décroissant des souches, du plus productif au moins productif (chiffre élevé), où "-" indique l'absence de production.

### 2.3.6. Production de catalase

Pour identifier une bactérie, il est préférable de connaître son type respiratoire. On retrouve la catalase chez tous les organismes aérobies. Il s'agit d'un cytochrome faisant partie de la chaîne respiratoire, composée d'une série de transporteurs d'électrons, notamment les cytochromes.

Le test a montré que tous les isolats ont une activité catalase positive parce qu'ils ont dégagé des bulles d'air après ajout le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (**Figure 24**).



**Figure 24:** Réaction positive du test de catalase (originale)

### 2.3.7. Production de protéase

Les résultats obtenus ont révélé la capacité de 14 isolats à synthétiser l'enzyme de la protéase, avec des variations de cette capacité d'une souche à l'autre. Les meilleures potentialités ont été remarqué chez les souches 3, 7 et 25 (**Figure 25**) (**Tableau 6**)

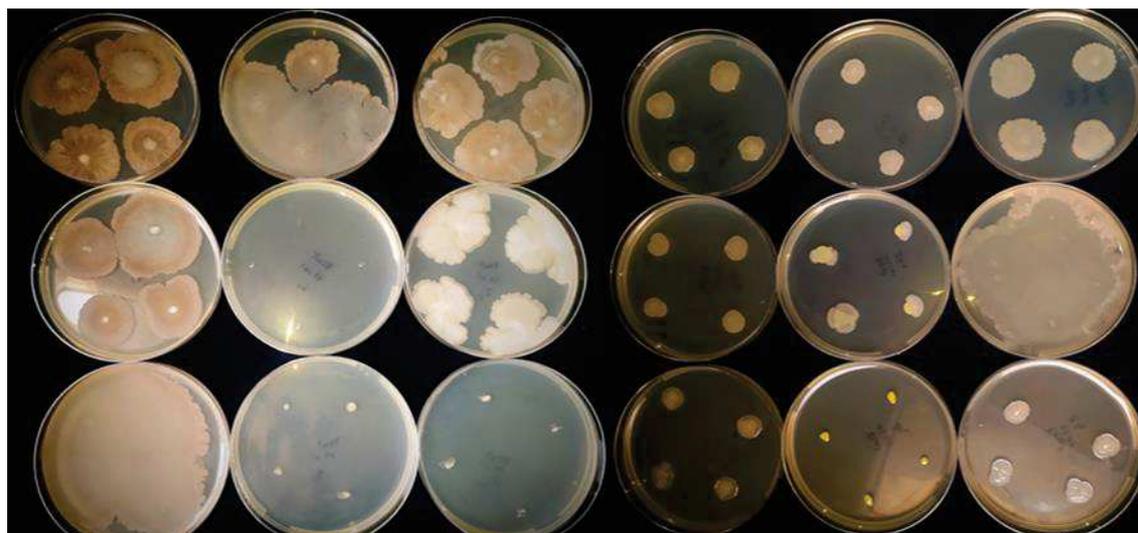


Figure 25: Production de protéase pour les 18 souches.

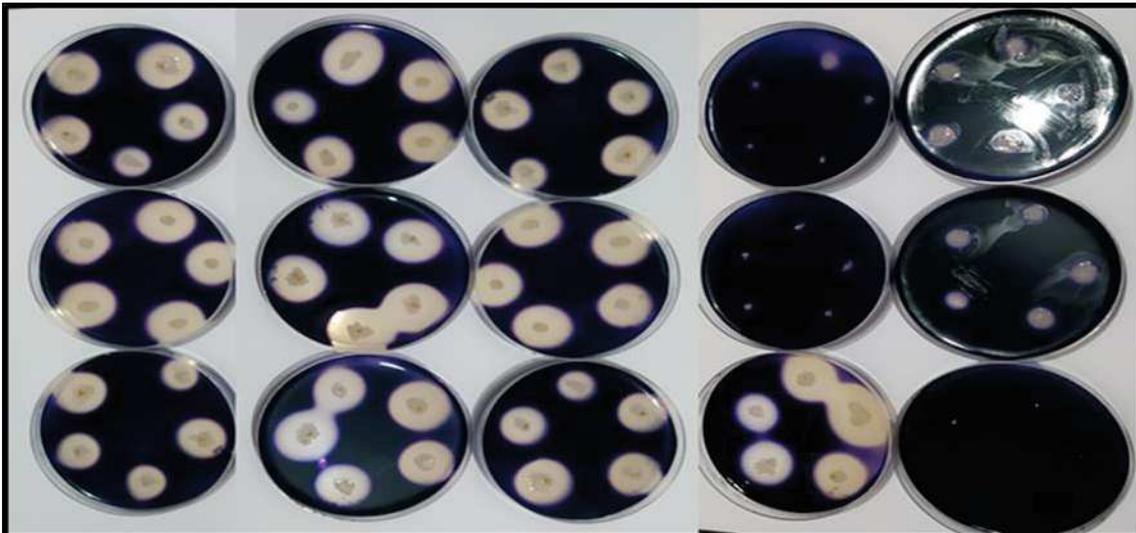
Tableau 6 : Résultats de la production de protéase

Souches	Production de protéase	Souches	Production de protéase
1	++	15	+
3	++++	17	++
4	+++	18	++
5	+++	20	+
6	-	22	-
7	++++	23	++
8	+++	24	+
9	-	25	++++
13	-	26	++

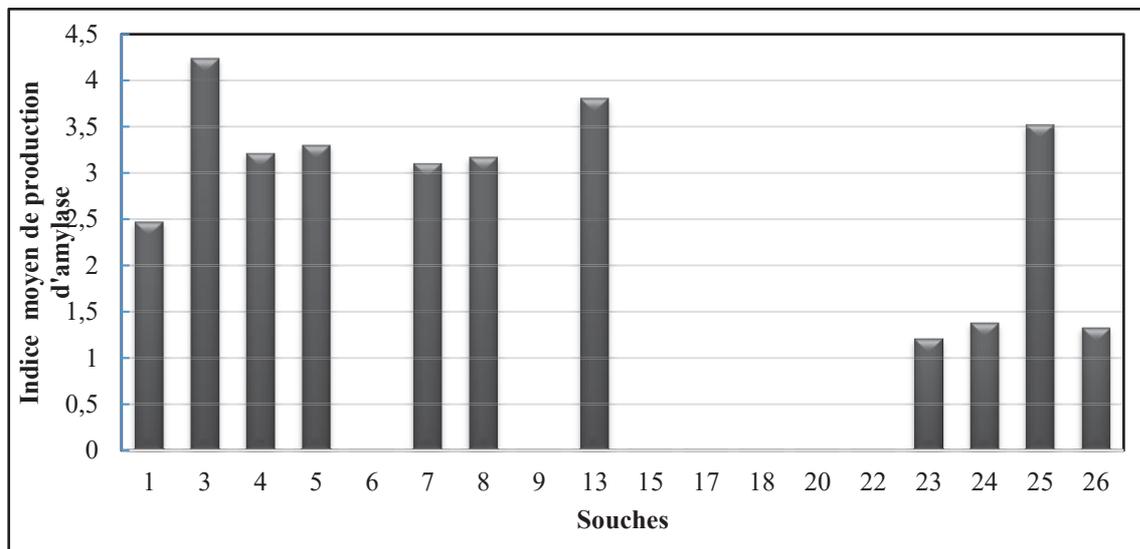
++++ : très forte production / +++ : Forte production / ++ : Production moyenne / + : Faible production / - : absence de production

### 2.3.8. Production d'amylase

11 isolats ont présenté un résultat positif (capacité de production d'amylase) avec un indice moyen de production varie de 4,24 pour la souche 3 à 1,21 pour la souche 23, tandis que les souches 6, 9, 15, 17, 18, 20, et 22 n'ont pas un pouvoir de production d'amylase (Figure 26 ; Figure 27).



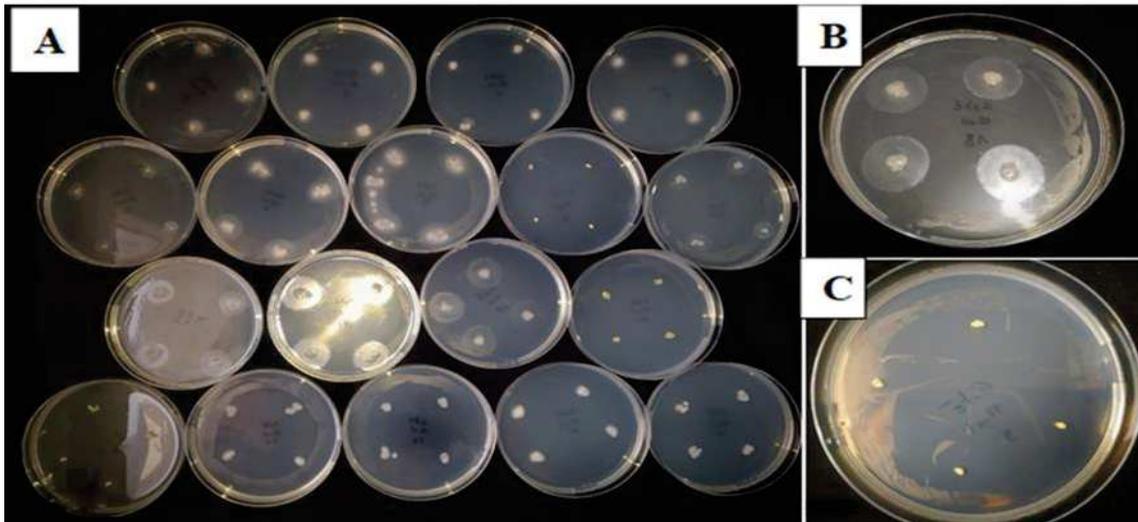
**Figure 26 :** Quelques résultats du test de production d'amylase (originale)



**Figure 27:** Indice moyen de production d'amylase

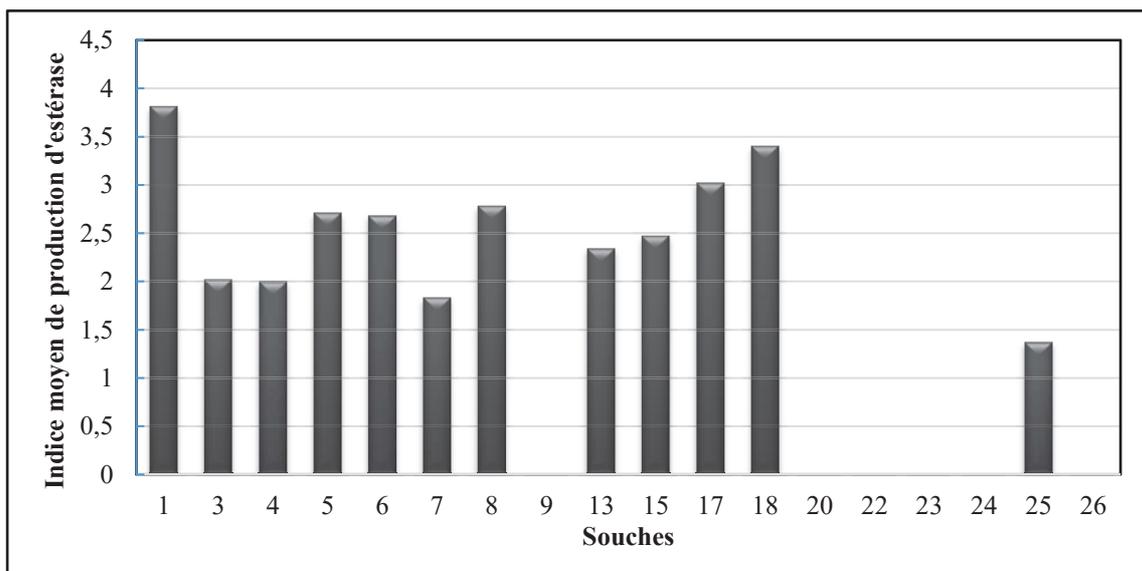
### 2.3.9. Production d'estérase

Parmi les 18 souches, 12 ont présenté un résultat positif quant à la production de l'enzyme estérase. Le calcul de l'indice de production a révélé que la production de l'enzyme la plus élevée a été enregistrée chez les souches 1, 18 et 17 avec 3.81 ; 3,4 et 3,02 respectivement. Alors que la souche 25 a présenté le taux le plus faible (1.37) (**Figure 28 et Figure 29**)



**Figure 28:** Résultats de production d'estérase,. (originale)

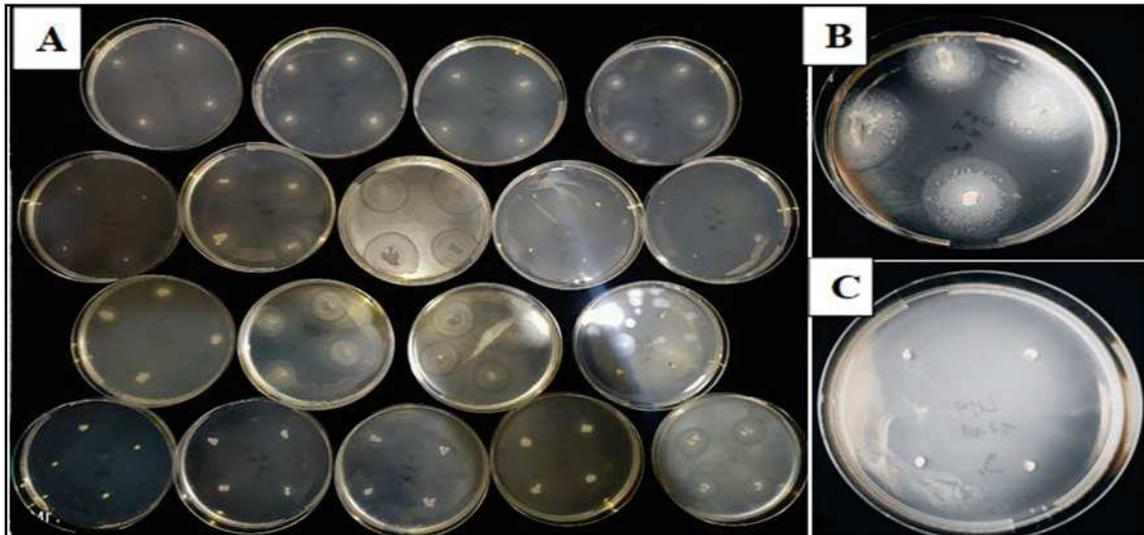
(A) : pour les 18 souches, (B) Souche productrice d'estérase, (C) Souche non productrice d'estérase d'estérase



**Figure 29:** Indice moyen de production d'estérase

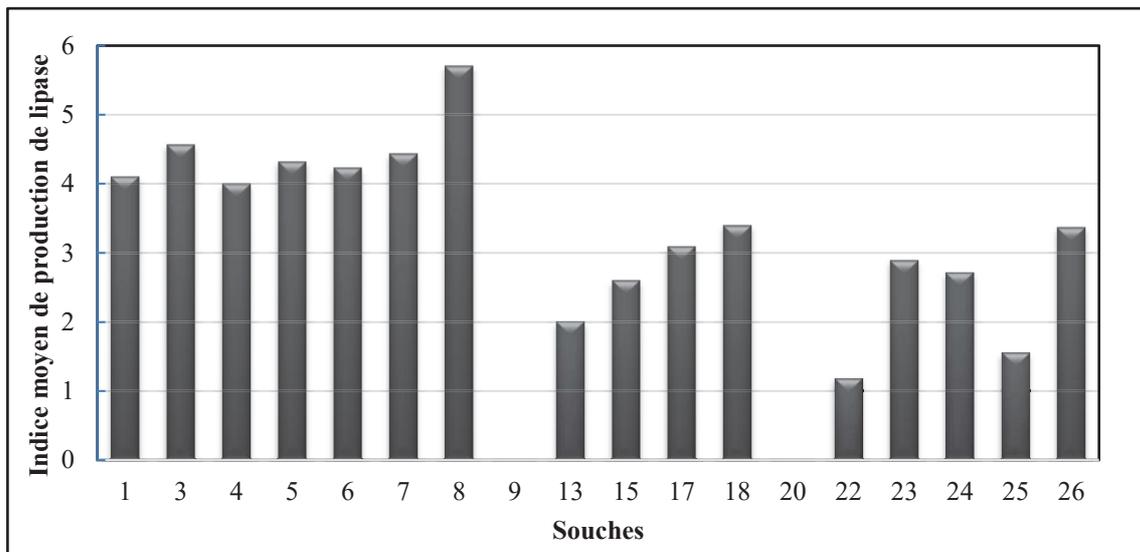
### 2.3.10. Production de lipase

Les résultats du test de production de lipase ont indiqué que 16 de nos souches ont la capacité de produire cette enzyme. Le taux de production le plus élevé a été remarqué avec la souche 8 avec un indice de 5,71. Cependant, les souches 9 et 20 ne manifestent pas cette capacité (**Figure 30 ;Figure 31**).



**Figure 30:** Résultats de production de lipase. (originale)

(A) : pour les tous les isolats, (B) : Souche productrice de lipase (C) : souche non productrice de lipase



**Figure 31:** Indice moyen de production de lipase par nos isolats

## Partie 2 : Développement et élaboration des formules de bioengrais

### 1. Compatibilités des souches

Les souches 6, 9, 20 et 22 ont été éliminées parce qu'elles ont exprimé un très faible potentiel PGP.

La compatibilité entre toutes les combinaisons (par paire) possibles parmi les quatorse souches isolées a été examinée avant de procéder à la formulation des bioengrais. Le **tableau 7** montre les résultats obtenus. La majorité des souches ont présenté une compatibilité avec les autres souches. Cependant, les souches 1, 23, 7 et 18 sont les souches les moins compatibles (**Figure 32**)

**Tableau 7** : Récapitulatif des résultats du test de compatibilité des souches

Souches	1	3	4	5	7	8	13	15	17	18	23	24	25	26
1														
3	+													
4	+	+												
5	+	+	+											
7	+	+	+	+										
8	-	+	+	+	+									
13	+	+	+	+	+	+								
15	+	+	+	+	+	+	+							
17	+	+	+	+	+	+	+	+						
18	+	-	+	+	+	+	+	+	+					
23	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+				
24	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+			
25	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+		
26	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	

+ : Paire de souches compatibles / - : Paire de souches incompatibles

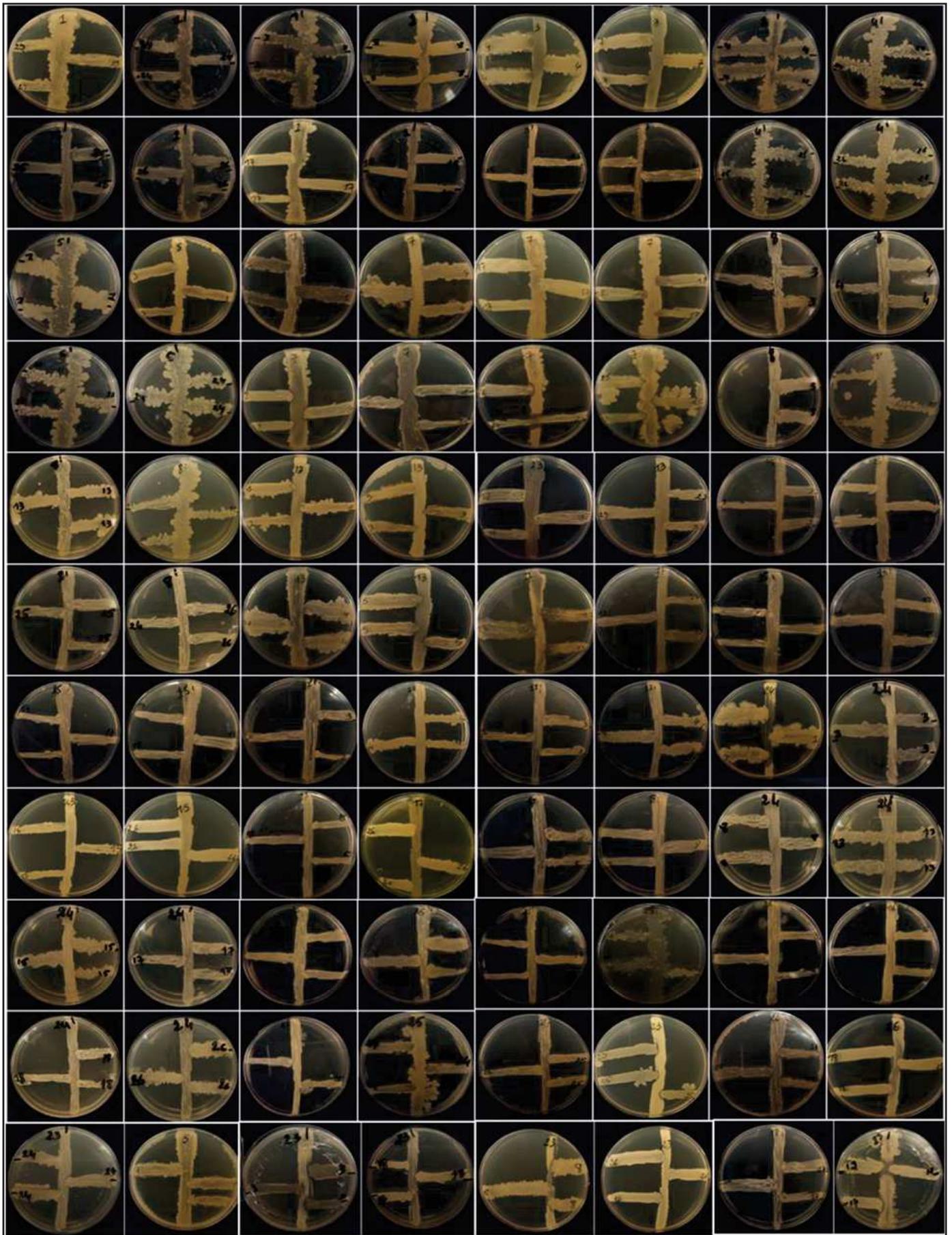


Figure 32: Test de compatibilité des souches PGPR (originale)

## 2. Sélection, formulation et élaboration des bioengrais

Après analyse des résultats obtenus par évaluation des traits PGP (biochimique) et le test de compatibilité entre les souches, nous avons sélectionné 10 souches à savoir : 3, 4, 5, 8, 13, 15, 17, 24, 25, et 26 pour la formulation de bioengrais. 12 formules de bioengrais ont été élaborées, nommés F1 ; F2 ; F3 ; F4 ; F5 ; F6 ; F7 ; F8 ; F9 ; F10 ; F11 ; et F12. Une 13-ème formule a été élaborée, composée des souches 1, 7 et 23 qui ne sont pas compatibles avec les autres. Une autre formule, F14, est constituée des souches sélectionnées au hasard. Le **Tableau 8** présente les formules, souches composantes, et les traits PGP de sélection.

**Tableau 8** : Formules de bioengrais élaborées, souches composantes et leur trait PGP.

Formules	Souches	Traits PGP remarquables	Nombre de souches dans la formule
<b>F1</b>	25, 3	N, P	2
<b>F2</b>	25, 3, 8	N, P, Zn	3
<b>F3</b>	8, 17, 3, 25	L, E, A, Pr	4
<b>F4</b>	8, 5, 17, 3, 13, 25, 4	L, E, A, Pr	7
<b>F5</b>	8, 4, 17, 15, 5, 13, 3, 25	N, P, Zn, L, E, A, Pr	8
<b>F6</b>	25, 3, 8, 26, 24, 4, 17, 13, 5	N, P, Zn, IAA, NH <sub>3</sub> , L, E, A, Pr	9
<b>F7</b>	25,4,3,5	N, P	4
<b>F8</b>	25,4,3,5,8,15	N, P, Zn	6
<b>F9</b>	25,4,3,5,8,15,17,13,26	N, P, Zn, L, E, A, Pr	9
<b>F10</b>	25,3,8,26,24	N, P, Zn, IAA, NH <sub>3</sub>	5
<b>F11</b>	25,4,3,5,8,15,26,17,24	N, P, Zn, IAA, NH <sub>3</sub>	9
<b>F12</b>	25,4,3,5,8,15,26,17,24,13	N, P, Zn, IAA, NH <sub>3</sub> , L, E, A, Pr	10
<b>F13</b>	1, 7, 23	/	3
<b>F14</b>	7, 17, 8	Au hasard	3

Sachant que : **N** : azote ; **P** : phosphore ; **Zn** : zinc ; **IAA** : indole ; **NH<sub>3</sub>** : ammoniacque , **L** : lipase, **E** : estérase, **A** : amylase et **Pr** :protéase.

### 3. Microencapsulation des bioengrais

Un dispositif semi-automatique a été développé au cours de la réalisation de ce projet de recherche et qui nous a permis d'accélérer le processus d'encapsulation des souches. Les bioengrais obtenus ont une forme de billes blanches, rendues, solides et lisses, renfermant à l'intérieur les consortia de souches PGPR (**Figure 33**). Après encapsulation, les bioengrais ont été conservés dans des boîtes à 4°C jusqu'à leur application (**Figure 33**).



**Figure 33** : Aspect des bioengrais à base des consortia de souches PGPR (originale)

### Partie 3: Évaluation du potentiel des formules

#### 1. Etude du potentiel biostimulant des formules développées

Cette partie de notre travail vise à examiner le pouvoir stimulant et à vérifier l'effet des 14 formules de consortia de PGPR sur la croissance et le développement du blé dur, ainsi que sur la teneur en phosphore (P) dans le sol (amélioration de la fertilité du sol). Ce test a été réalisé en cultivant du blé dur dans des pots, dans des conditions de serre contrôlées.

##### 1.1.Effet des formules (bioengrais) sur l'évolution de la croissance du blé :

La croissance des plantes a été observée dès la première semaine de culture pour tous les traitements. Elle a varié en fonction des traitements, comme illustré dans la **Figure 34 a et b** et le **Tableau 9**.

L'analyse de la variance (ANOVA) a enregistré, à la première semaine (**Annexe 13**) et à la troisième semaine (**Annexe 15**), un effet significatif des formules de bioengrais sur la croissance et la longueur des plantes de blé. Les valeurs moyennes de croissance les plus élevées à la première semaine ont été de 11,7 cm ; 10,98 cm et 10,63 cm respectivement pour F3, F5 et F4. A la troisième semaine, les hauteurs les plus élevées de 30,43 cm ; 30,03 cm et 29,4 cm ont été enregistré avec F3, F5 et F10 respectivement.

Cependant, le test LSD de Fisher (Différence Significative Minimale) a montré :

A la première semaine, l'existence de 7 groupes homogènes qui se sont chevauchés, dont la formule F3 exprime le premier groupe (a), tandis que la F6 représente le dernier groupe.

A la 3<sup>ème</sup> semaine, le test LSD a révélé 9 groupes homogènes qui se sont chevauchés. La formule F3 a constitué le premier groupe (a) Alors que le dernier groupe est représenté par le témoin.

L'analyse de la variance n'a révélé aucun effet significatif des formules sur la croissance de blé à la deuxième semaine (**Annexe 14**) et à la quatrième semaine (**Annexe 16**). Bien que les moyennes de toutes les formules aient surpassé celles du témoin.

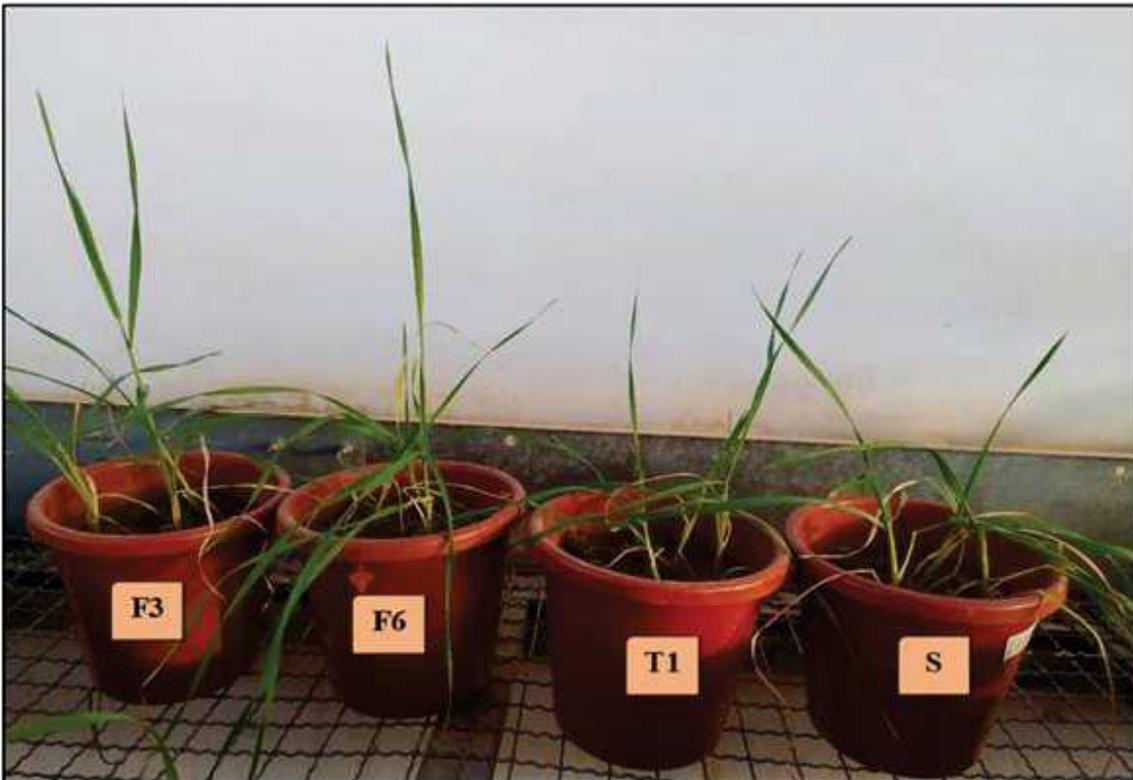
A la 2<sup>ème</sup> semaine, les formules F5 et F3 ont présenté les valeurs les plus élevées, 21,93 cm et 21,88 cm respectivement, cependant le témoin a affiché une longueur de 17,4 cm.

A la 4<sup>ème</sup> semaine, les meilleures longueurs, 30,5 cm et 29,78 cm, ont été marquée avec les formules F3 et F10 respectivement.

L'analyse de la variance à la fin de la culture (les deux dernières semaines : 5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> semaine) a indiqué un effet très hautement significatif de bioengrais sur la croissance et la longueur des plantes de blé (**Annexe 17**) (**Annexe 18**).

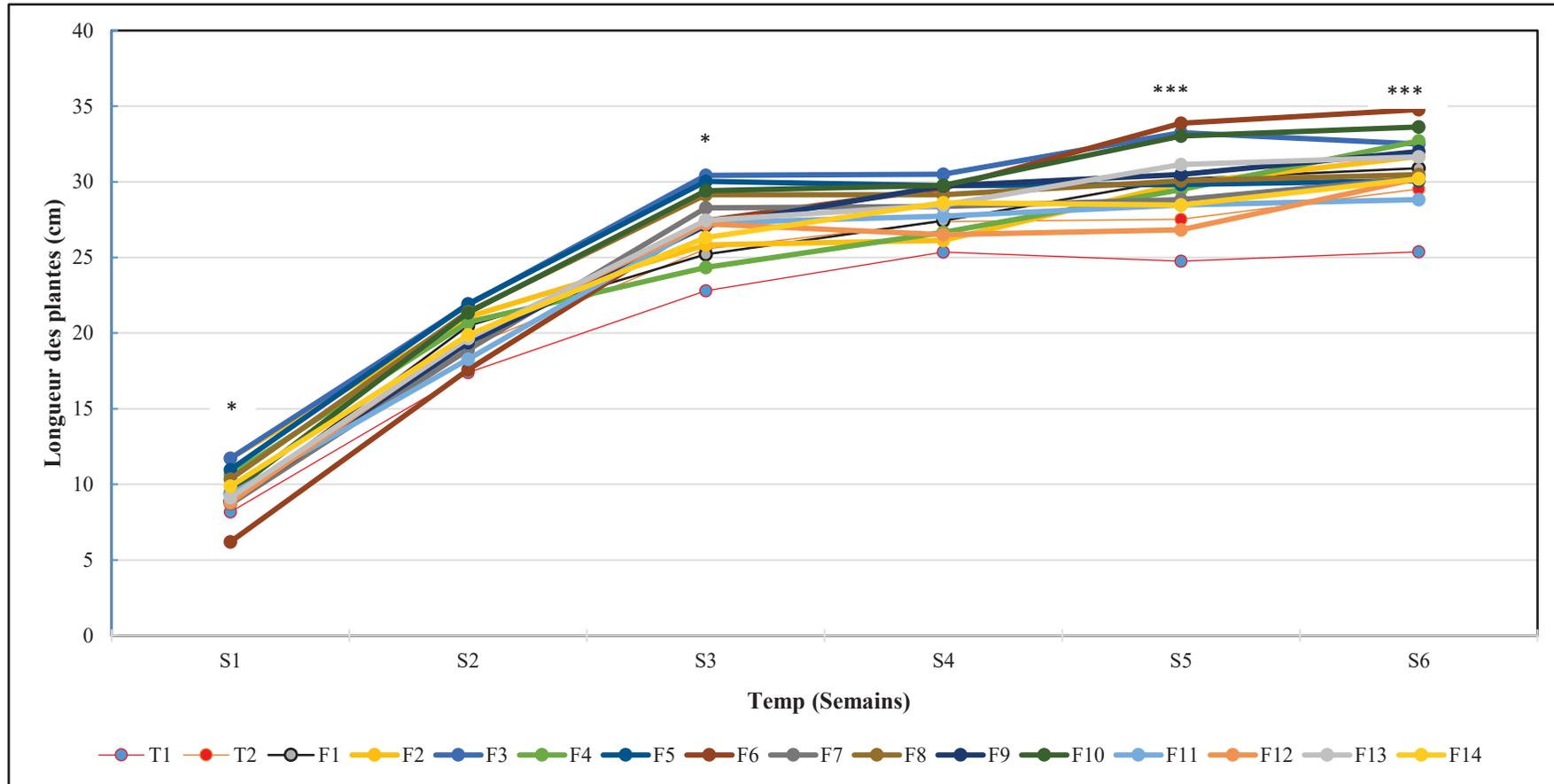
Ainsi, après 6 semaines de culture, les valeurs de la longueur les plus élevées ont été de : 34,78 cm ; 33,63 cm ; 32,7 cm ; et 32,5 cm obtenues avec F6, F10, F4 et F3 respectivement (**Figure 34 a**).

Le test LSD de Fisher a montré l'existence de plusieurs groupes homogènes qui se chevauchent. Les formules F6 et F10 ont constitué les deux premiers groupes (a) et (ab) respectivement, tandis que le témoin (T1) a formé le dernier groupe.



**Figure 34 a** : : Effet remarquable des bioengrais sur la croissance de blé durant la 6<sup>ème</sup> semaines dans le sol désinfecté (originale)

## Résultats et Discussion



**Figure 34 b:** Evolution de la longueur des plantes de blé dur (Var Oued el Bared) en fonction des différents traitements et du temps

Les mesures ont été prises chaque samedi de chaque semaine. Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les étoiles représentent le degré de significativité des traitements, \*\*\* : THS, et \* : S

## Résultats et Discussion

**Tableau 9:** Carte thermique montrant la dynamique de l'évolution de la longueur des plantes de blé dur (Var Oued el Bared) en fonction des différents traitements et du temps

	T1	S	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14
<b>S1*</b>	cd 8,17	abc 9,275	bc 8,85	abc 9,6	a 11,725	abc 10,625	ab 10,975	d 6,2	bcd 8,7	abc 10,35	bc 8,875	abc 9,45	abc 9,35	bcd 8,8	abc 9,125	abc 9,875
<b>S2</b>	17,4	19,075	20,475	21,06667	21,875	20,725	21,925	17,575	18,9	21,4	19,375	21,35	18,275	19,75	19,65	19,875
<b>S3*</b>	e 22,8	cde 25,575	cde 25,2	bcde 25,825	a 30,425	de 24,35	ab 30,025	abcd 27,425	abcd 28,275	abc 29,15	abcde 27,1	abc 29,4	abcd 27,275	abcd 27,225	abcd 27,45	abcde 26,325
<b>S4</b>	25,35	27,375	27,425	26,125	30,5	26,65	29,75	29,575	28,375	29,15	29,725	29,775	27,725	26,5	28,475	28,625
<b>S5***</b>	g 24,75	efg 27,525	cde 30,175	de 29,875	ab 33,25	def 29,475	de 29,825	a 33,875	def 28,825	de 30,075	bcd 30,475	abc 33,025	def 28,475	fg 26,825	abcd 31,15	def 28,475
<b>S6***</b>	f 25,375	de 29,525	bcde 30,9	bcde 31,675	abc 32,5	abc 32,7	cde 30,075	a 34,775	cde 30,25	cde 30,475	abcd 32	ab 33,625	e 28,825	cde 30,225	bcde 31,65	cde 30,2

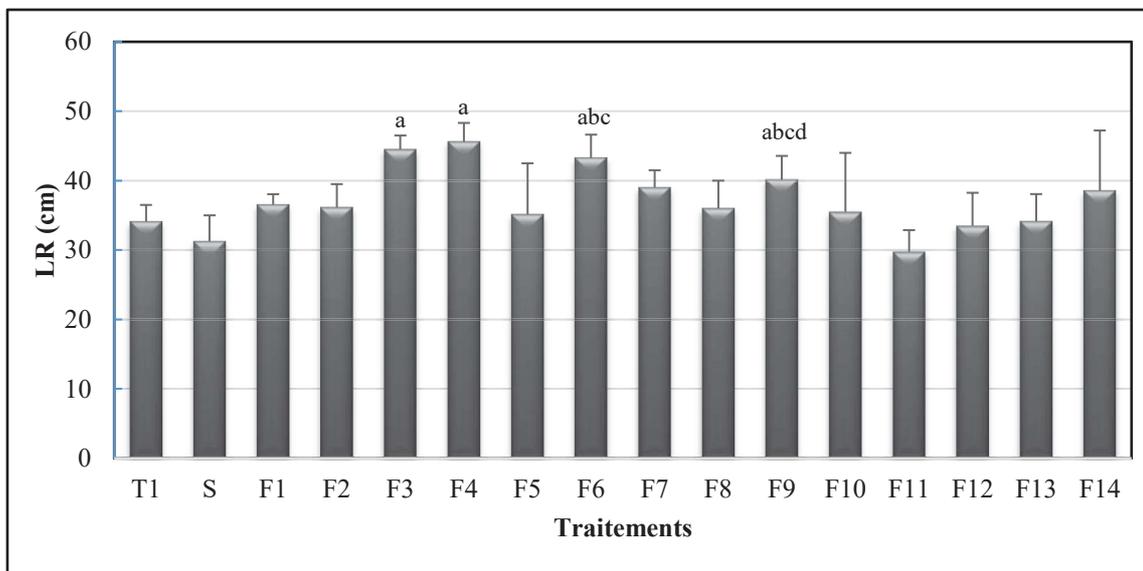
Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les étoiles représentent le degré de significativité des traitements, \*\*\* : THS, et \* : S. Les lettres minuscules représentent les groupes homogènes selon un test LSD de de Fisher. Les nuances des couleurs représentent les niveaux de la longueur des plantes, plus la couleur est chaude plus la longueur est élevée. S1 : première semaine , S2 : deuxième semaine, S3 : troisième semaine , S4 : quatrième semaine , S5 : cinquième semaine , S6 : sixième semaine

**1.2.Effet des formules sur la longueur des racines**

La mesure de la longueur des racines de blé a été réalisée à la fin de la période de culture pour l'ensemble des traitements. La longueur varie en fonction des différentes formules, comme indiqué dans la **Figure 35**. Ainsi, après six semaines de culture, On a observé que la formule F4 s'est démarquée avec la plus grande longueur de racines, atteignant 45,63 cm, suivie de près par F3 avec 44,5 cm, et F6 avec 43,25 cm. En revanche, les valeurs les plus basses ont été enregistrées avec la formule F11, atteignant 29,75 cm.

De plus, l'analyse de la variance a mis en évidence un effet significatif des différentes formules de consortia de PGPR sur la longueur des racines de blé (**Annexe 19**).

Le test LSD de Fisher a identifié 9 groupes homogènes, dont les formules F4 et F3 ont constitué le premier groupe homogène (a).



**Figure 35** : Longueurs moyennes des racines des différents traitements après 6 semaines de culture

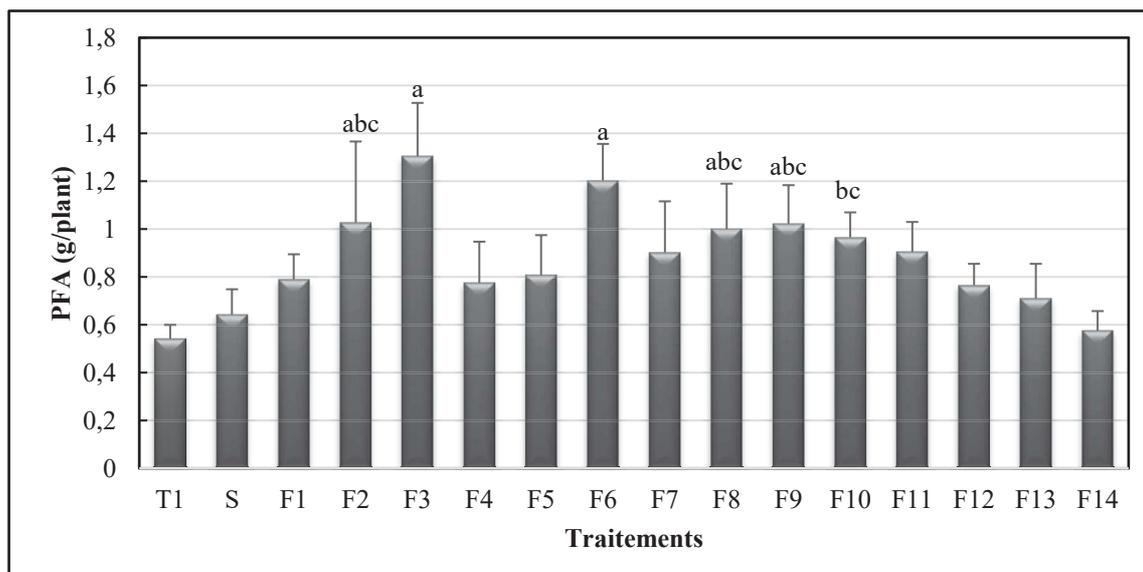
Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type. Les lettres minuscules représentent les meilleurs groupes homogènes selon un test LSD de de Fisher.

**1.3.Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne**

La Figure 36 montre une variation de la biomasse fraîche aérienne du blé, après six semaines de culture, qui a été influencée par les différentes formules appliquées. Les formulations F3, F6, F2 et F9 ont enregistré les valeurs les plus élevées, atteignant respectivement 1,31 g/plante, 1,2 g/plante, 1,03 g/plante et 1,2 g/plante. Cela représente des augmentations de 140,55 %, 121,65 %, 89,4 % et 88,48 % par rapport au témoin T1, et de 103,11 %, 87,16 %, 59,92 % et 59,14 % par rapport au témoin S. En contraste, la formule F14 a présenté la plus faible biomasse se situant en dessous du témoin, avec seulement 0,58 g/plante.

L'analyse de la variance à la 6<sup>ème</sup> semaine de culture a effectivement illustré un effet très hautement significatif des formules de bioengrais sur le poids frais de la partie aérienne des plantes de blé (Annexe 20).

En effet, le test LSD de de Fisher a identifié 7 groupes homogènes. Les traitements F3 et F6 composent le premier groupe (a).



**Figure 36** : Biomasse fraîche de la partie aérienne des différents traitements après 6 semaines de culture

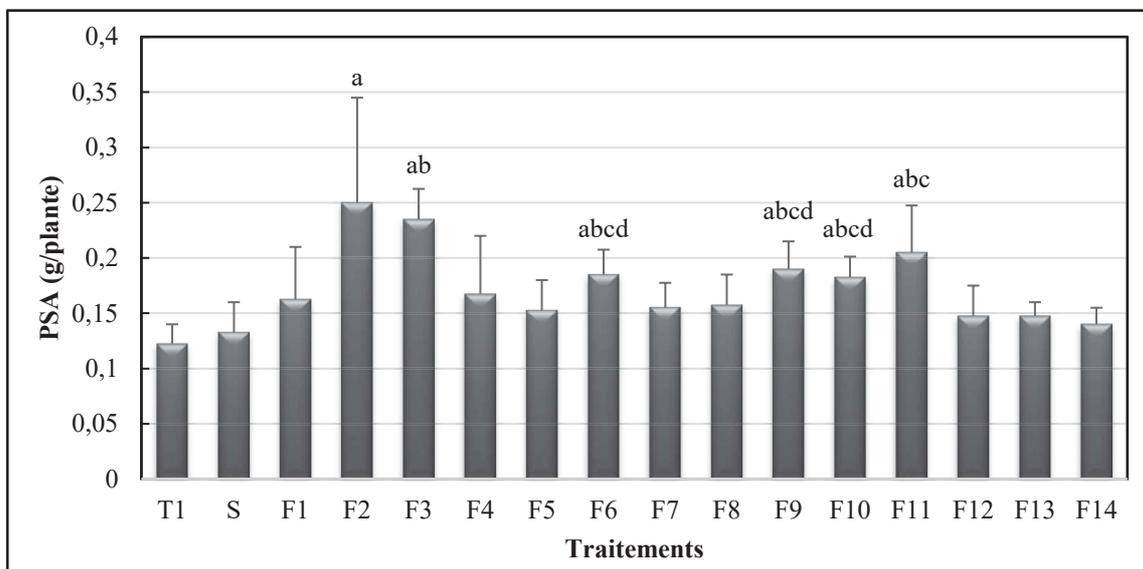
Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent ± l'écart type. Les lettres minuscules représentent les meilleurs groupes homogènes selon un test LSD de de Fisher.

**1.4.Effet des bioengrais sur le poids sec de la partie aérienne**

Les résultats obtenus ont révélé que les formules de bioengrais ont boostées le poids sec de la partie aérienne du blé. Les meilleurs poids ont été enregistrés avec les formules F2, F3, et F11 avec 0,25g ; 0,24g ; 0,21g, respectivement. Cependant, les mesures les plus faibles ont été obtenus par les témoins S et T1 qui ont noté des valeurs de 0,133 et 0,123 g respectivement (Figure 37).

Par ailleurs, l’analyse de la variance a révélé un effet significatif des formules de bioengrais sur le poids sec de la partie aérienne (Annexe 21).

Le test LSD de Fisher a révélé l’existence de 7 groupes homogènes, dont la F2 représente le premier groupe (a).



**Figure 37:** Poids sec de la partie aérienne des différents traitements après 6 semaines de culture.

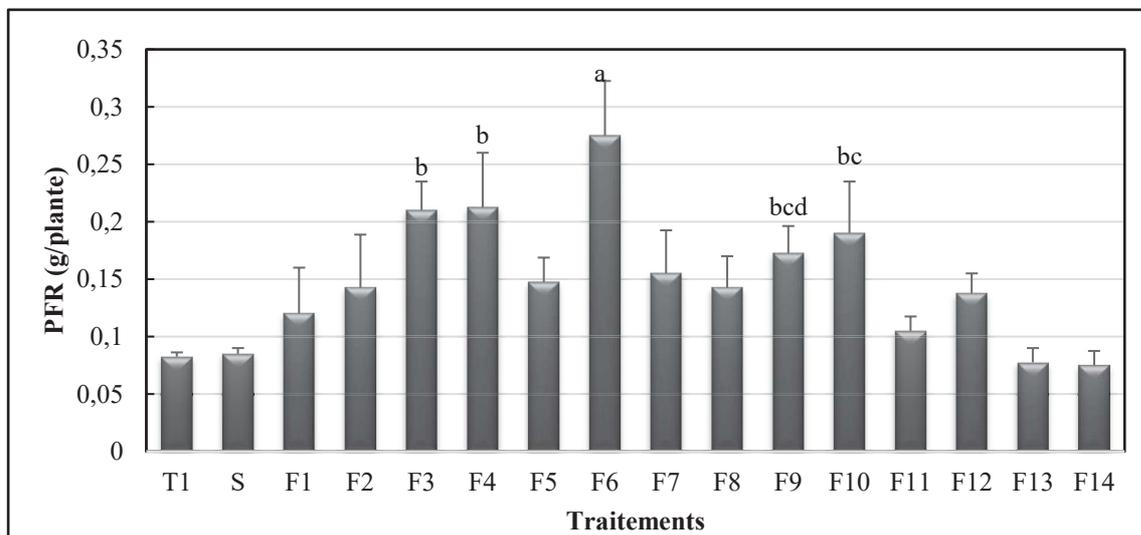
Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d’erreur représentent  $\pm$  l’écart type. Les lettres minuscules représentent les meilleurs groupes homogènes selon un test LSD de de Fisher.

**1.5.Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire**

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les formules F6, F4 et F3. Les poids frais des racines dans ces trois formules ont été de 0,28g/plante ; 0,213g/plante et 0,21g/plante, soit des augmentations de 233,33% ; 157,58% et 154,55%, respectivement, par rapport au témoin T1. Cependant, les formules F13 et F14 ont montré les poids les plus faibles (**Figure 38**).

L'analyse de la variance a indiqué un effet très hautement significatif de l'application des bioengrais sur le poids frais de la partie racinaire du blé (**Annexe 22**).

Le test LSD de Fisher a révélé l'existence de 13 groupes homogènes, dont la formule F6 représente le premier groupe.



**Figure 38:** Poids frais de la partie racinaire des différents traitements après 6 semaines de culture.

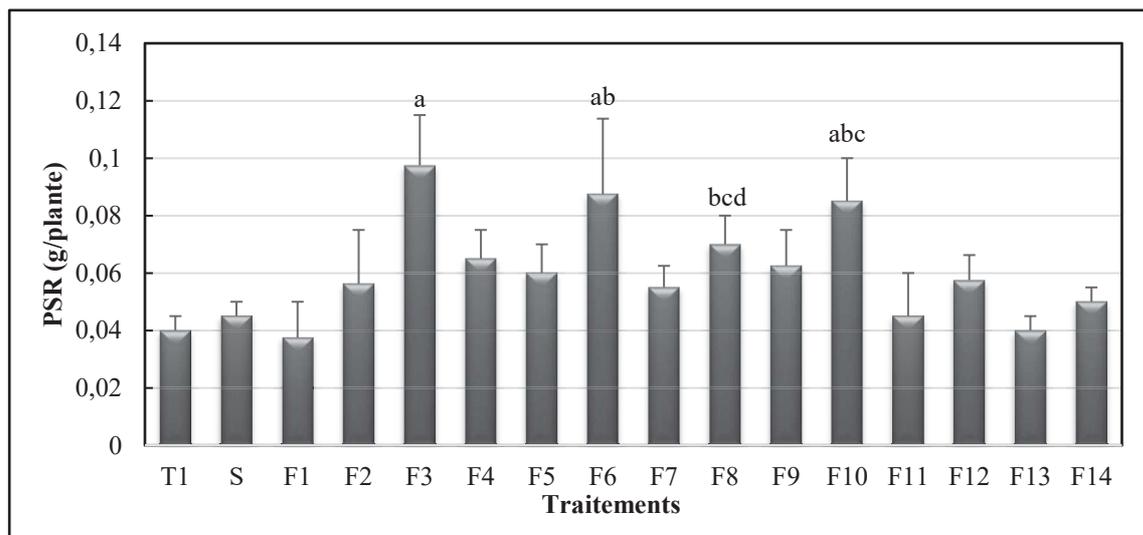
Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type. Les lettres minuscules représentent les meilleurs groupes homogènes selon un test LSD de de Fisher.

**1.6.Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire**

Le poids sec des racines, mesuré après séchage des racines fraîches, illustré dans la **Figure 39**, a dévoilé une variation de la biomasse sèche moyenne de la partie racinaire en fonction des différentes formules. Des augmentations remarquables l'ordre de 143,75 %, 118,75 % et 112,5% par rapport au témoin T1 et de 116,67 % ; 94,44 % et 88,89 % par rapport au témoin S ont été enregistrées par les formules F3, F6 et F10 respectivement. En revanche, les formules F13 et F1 ont présenté les biomasses les plus faibles, avec 0,4 g/plante et 0,38 g/plante, respectivement.

L'analyse de la variance a illustré un effet très hautement significatif des formules de bioengrais sur le poids sec de la partie racinaire des plantes de blé (**Annexe 23**).

En effet, le test LSD de de Fisher a révélé 10 groupes homogènes, dont les formules F3 et F6 forment les deux premiers groupes (a) et (ab).



**Figure 39:** Poids sec de la partie racinaire des différents traitements après six semaines de culture.

Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type. Les lettres minuscules représentent les meilleurs groupes homogènes selon un test LSD de de Fisher.

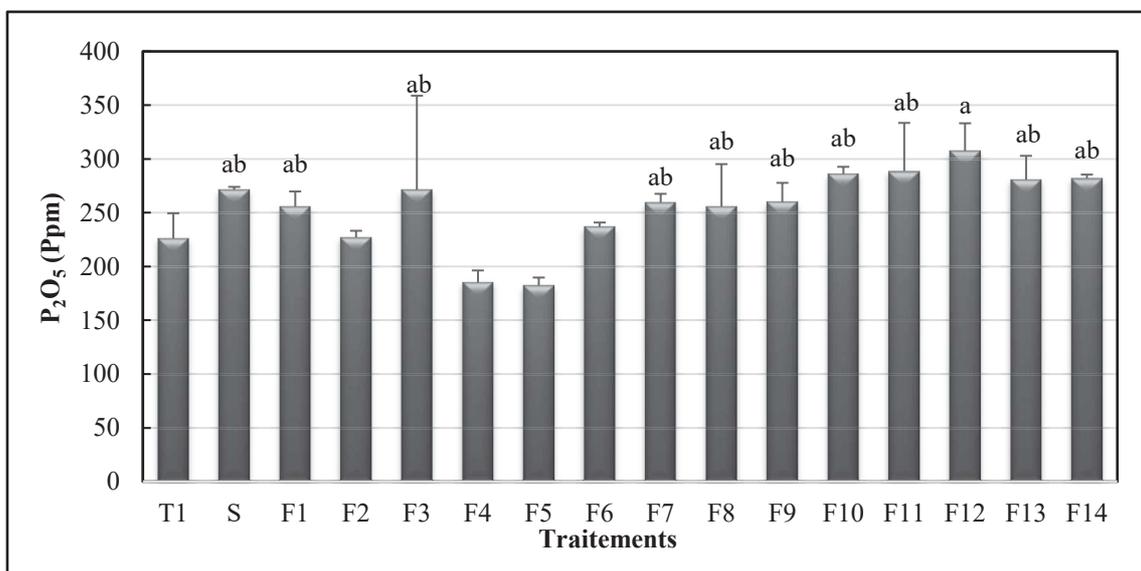
**1.7. Investigation de l'influence des formules sur le taux du phosphore assimilable dans le sol**

Le phosphore est l'un des éléments nutritifs majeurs pour les plantes, essentiel à leur croissance. Il favorise le développement des racines, du tallage et contribue à la précocité de la floraison. De plus, il participe à diverses fonctions métaboliques, notamment la synthèse des protéines (War et Shaktawat, 2003). Cependant, il est considéré comme l'un des éléments nutritifs les moins disponibles dans le sol. De plus, les formes de phosphore disponibles dans le sol ne sont pas directement assimilables par la plante et la biomasse microbienne « P » joue le rôle le plus important dans sa solubilisation (Ragothama et Karthikeyan, 2005).

La Figure 40 montre les taux de phosphore assimilable dans les sols obtenus après la fin de la culture. Les valeurs les plus élevées étaient dans l'ordre de 307,44 ppm ; 288,61 ppm et 285,78 ppm obtenues par les formules F12, F11 et F10 respectivement.

L'analyse de la variance a montré un effet significatif des bioengrais sur le taux de phosphore assimilable dans le sol.

Le test LSD de Fischer a révélé 4 groupes homogènes, le premier groupe (a) étant représenté par la formule F12, cependant les formules F4 et F5 forment le dernier groupes (c) (annexe 24).



**Figure 40:** Taux du phosphore assimilable dans le sol obtenus après application des bioengrais.

Chaque valeur est la moyenne de 03 répétitions. Les barres d'erreur représentent ± l'écart type. Les lettres minuscules représentent les meilleurs groupes homogènes selon un test LSD de de Fishe

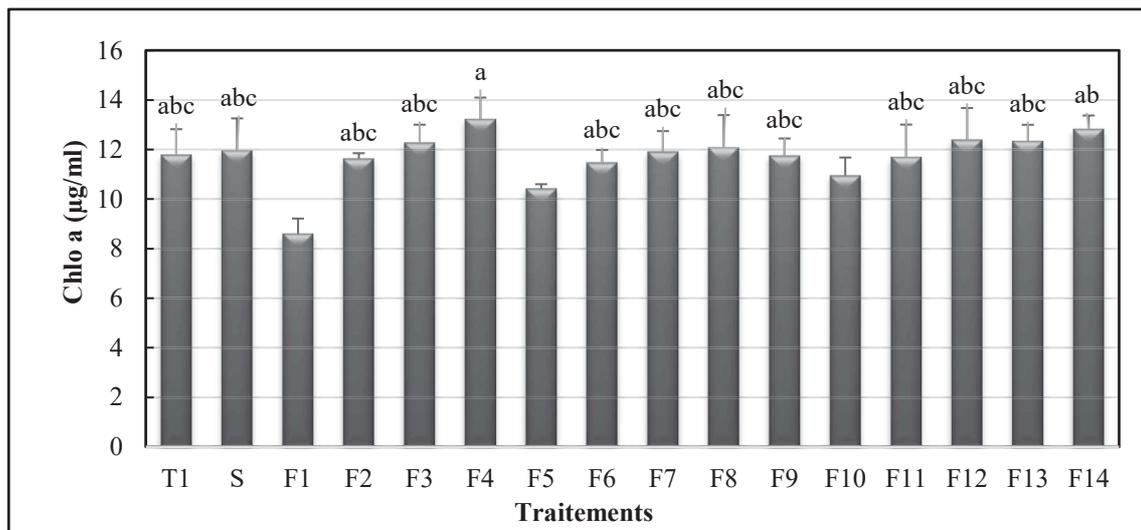
### 1.8. Impact des formules de PGPR sur la teneur en chlorophylle

La mesure de la teneur de la chlorophylle des cultures fournit des informations sur l'état physiologique et sanitaire des plantes car la concentration de chlorophylle dans les feuilles est liée à la teneur en azote et par conséquent, à la photosynthèse (Haboudane et al., 2008). La chlorophylle est donc un indicateur crucial de la croissance, santé et du rendement des plantes (Boutchich et al., 2016).

Les résultats relatifs à la teneur en chlorophylle ont dans les différents traitements ont été présentés dans la **Figure 41**. On observe que les formules F4 et F14 ont affiché les teneurs les plus élevées avec 13,23 µg/ml et 12,82 µg/ml, respectivement.

L'analyse de la variance a révélé un effet significatif de l'application de bioengrais sur la teneur en chlorophylle.

Le test LSD de Fisher a identifié la présence de 6 groupes homogènes, avec le premier groupe (a) représenté par la formule F4 et le dernier groupe (d) exprimé par la formule F71 (**Annexe 25**).



**Figure 41:** Teneur en chlorophylle des différents traitements après 6 semaines de culture.

Chaque valeur est la moyenne de 03 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type. Les lettres minuscules représentent les meilleurs groupes homogènes selon un test LSD de de Fisher.

### 1.9. Discussion

Selon les résultats obtenus pour les différents paramètres étudiés, on a observé que la formule F3, suivie de près par la F6, s'est avérée être les plus performantes en termes de capacité biostimulante pour la majorité des paramètres étudiés. Elles ont montré des augmentations de 28,37 % ; 30,59 % ; 140,55 % ; 91,84 % ; 154,55 % ; 143,75 % et 20 % ont été enregistrées par rapport au T1 avec la formule F3 et de 37,08 % ; 26,93 % ; 121,66 % ; 51,02 % ; 233,33 % ; 118,75 % et 4,79 % ; avec la F6, pour les paramètres HT à la fin de culture, LR, PFA, PSA, PFR, PSR et P respectivement.

## 2. Analyse des capacités de biocontrôle et de biostimulation de quelques Formules sélectionnées

L'objectif de cette section de notre travail est d'analyser les capacités de biocontrôle et de biocontrôle-biostimulant des formulations de consortia de PGPR sélectionnées, en se basant sur leur potentiel remarquable de production d'enzymes lytiques. Les formules sont : F3, F4, F5, F6, F9, F12, F13 et F14. Un sol agricole infecté par des maladies a été utilisé afin d'atteindre cet objectif.

### 2.1. Taux de mortalité

Les résultats obtenus à la fin de la culture portent sur le taux de mortalité des plantes dans chaque traitement et à chaque type de sol ont indiqué qu'uniquement infecter a entraîné la mortalité des plantes de blé. Le taux le plus élevé a été enregistré chez le témoin T avec 25% de mortalité, suivi par le témoin S, avec 16,66%. En outre, des taux faibles de 8,33% ont été observé dans les traitements F4 et F5.

### 2.2. Effet des formules de PGPR sur la croissance du blé dans un sol infecté

L'effet des 8 formules sélectionnées sur la croissance du blé dans un sol agricole infecté par les « soil-born-pathogene » a été suivi dès la première semaine. Les valeurs enregistrées ont été comparées avec celles des formules applique dans un sol désinfecté (**Tableau 10**).

Après une semaine de culture, dans le sol infecté les meilleures valeurs ont été enregistrées par les formules F14, F12, F4 et F5, avec des hauteurs de 13,08 cm, 12,85 cm, 12,45 cm et 12,23 cm respectivement.

Les résultats obtenus d'après l'analyse de la variance à deux facteurs à la première semaine de culture montrent une interaction significative entre les deux facteurs sur la croissance et la longueur des plantes de blé (**Annexe 26**).

Le test LSD de Fisher montre 3 groupes homogènes.

Lors de la deuxième semaine de culture, les meilleures valeurs, soit 24,25 cm (F14), 23,05 cm (F12), 23,03 cm (F6) et 22,85 cm (F5), ont été obtenues dans le sol infecté. Cependant, la meilleure valeur dans le sol désinfecté a été de 21,93 cm chez la F5.

L'analyse de la variance à la 2ème semaine de culture révèle un effet significatif de l'interaction sur la croissance et la longueur des plantes de blé (**Annexe 27**).

Après 3 semaines de culture, toutes les formules, dans les deux types de sol, ont montré des hauteurs supérieures au témoin T1 (22,8 cm dans le SD et 22,98 cm dans le SC). La F3 et la F5 ont enregistré les valeurs les plus élevées, soit 30,43 cm et 30,02 cm dans le SD, et 25,25 cm et 23,25 cm dans le SC, respectivement.

L'analyse de la variance à la 3ème semaine a révélé un effet significatif d'interaction effet significatif sur la croissance (**Annexe 28**).

Le test LSD de Fisher indique l'existence de 6 groupes homogènes. Les formules F12 et F3 constituent les deux premiers groupes (a) et (ab) respectivement, alors que le témoin (T1) représente le dernier group.

Après 4 semaines de culture, toutes les formules ont stimulé la hauteur de manière positive, à l'exception de la F9 dans le SC, qui a affiché une valeur(25,5cm) inférieure au témoin T1. De plus, la F12 a atteint une hauteur de 26,5 cm et a montré la plus faible augmentation (4,74 %) dans le SD par rapport à T1.

L'analyse de la variance à la 4ème semaine de culture n'a pas montré d'effet significatif entre les traitements, le type du sol et même pour l'interaction (**Annexe 29**).

Après 5 semaines de culture, on constate que dans le SC, les augmentations de hauteur par rapport au témoin T1 sont plus importantes qu'au SD. Les valeurs de 32,08 cm et 29,63 cm pour les formules F12 et F14 ont marqué les meilleures performances dans le SC, dépassant ainsi les résultats enregistrés dans le SD. En moyenne, dans les deux types de sol, les formules ont eu un impact significatif sur la hauteur, avec des performances exceptionnelles pour les formules F6, F3, F13 et F9, atteignant respectivement des hauteurs de 31 ,46 cm, 30,44 cm, 30,14 cm et 29,5 cm.

Les résultats obtenus après l'analyse de la variance à la 5<sup>ème</sup> semaine de culture a montré et une interaction très hautement significative entre les deux facteurs sur la croissance et la longueur des plantes de blé (**Annexe 30**).

Le test LSD de Fisher montre 6 groupes homogènes.

Après 6 semaines de culture, toutes les formules ont maintenu une stimulation de la hauteur par rapport au témoin, bien qu'une variation ait été observée entre les deux types de sol. Dans le SD, les formules F6 et F4 ont donné les meilleures hauteurs de 34,78 cm et 32,7 cm, tandis que la F12 a affiché la meilleure performance dans le SC avec 33,1 cm.

L'analyse de la variance à la 6<sup>ème</sup> semaine de culture révèle une interaction très hautement significative entre les deux facteurs sur la croissance et la longueur des plantes de blé (**Annexe 31**).

Le test LSD de Fisher montre l'existence groupes 7 homogènes.

## Résultats et Discussion

**Tableau 10:** Carte thermique montrant la dynamique et la différence de l'évolution de la longueur des plantes de blé dur (Var Oued el Bared) en fonction des formules, et type de sol durant 6 semaines de culture.

	Normal	oil contamin																		
	T1	S	F3	F4	F5	F6	F9	F12	F13	F14	T1	S	F3	F4	F5	F6	F9	F12	F13	F14
S1	↘ 8,175	↘ 9,275	↗ 11,725	↗ 10,625	↗ 10,975	↘ 6,2	↘ 8,875	↘ 8,8	↘ 9,125	↗ 9,875	↗ 10,3	↗ 10,975	↘ 9,5	↗ 12,45	↗ 12,225	↗ 11,675	↗ 12,075	↗ 12,85	↗ 11,175	↗ 13,075
S2	↘ 17,4	↘ 19,075	↗ 21,875	↘ 20,725	↗ 21,925	↘ 17,575	↘ 19,375	↘ 19,75	↘ 19,65	↗ 19,875	↘ 18,375	↘ 18,925	↘ 18,925	↗ 21,6	↗ 22,85	↗ 23,025	↗ 22,1	↗ 23,05	↗ 21,075	↗ 24,25
S3	↘ 22,8	↘ 25,575	↗ 30,425	↘ 24,35	↗ 30,025	↗ 27,425	↗ 27,1	↗ 27,225	↗ 27,45	↘ 26,325	↘ 22,975	↘ 24,4	↘ 25,25	↘ 25,05	↘ 23,25	↗ 27,25	↘ 25,25	↗ 30	↘ 25,75	↗ 28,875
S4	↘ 25,35	↘ 27,375	↗ 30,5	↘ 26,65	↗ 29,75	↗ 29,575	↗ 29,725	↘ 26,5	↗ 28,475	↗ 28,625	↘ 26,5	↘ 26,125	↘ 26,15	↘ 26,7	↗ 28,3	↘ 27,35	↘ 25,45	↗ 30,125	↘ 27,725	↗ 28,675
S5	↘ 24,75	↘ 27,525	↗ 33,25	↗ 29,475	↗ 29,825	↗ 33,875	↗ 30,475	↘ 26,825	↗ 31,15	↘ 28,475	↘ 26,25	↘ 27,25	↘ 27,625	↘ 28,525	↘ 28,825	↘ 29,05	↘ 28,525	↗ 32,075	↘ 29,125	↗ 29,625
S6	↘ 25,375	↘ 29,525	↗ 32,5	↗ 32,7	↗ 30,075	↗ 34,775	↗ 32	↗ 30,225	↗ 31,65	↗ 30,2	↘ 27,375	↘ 28,5	↘ 28,125	↗ 31,7	↗ 30,9	↘ 29,825	↗ 30,325	↗ 33,1	↗ 30,7	↗ 30,525

Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les nuances des couleurs représentent les niveaux de la longueur des plantes, plus la couleur est chaude plus la longueur est élevée. S1 : première semaine, S2 : deuxième semaine, S3 : troisième semaine, S4 : quatrième semaine, S5 : cinquième semaine, S6 : sixième semaine

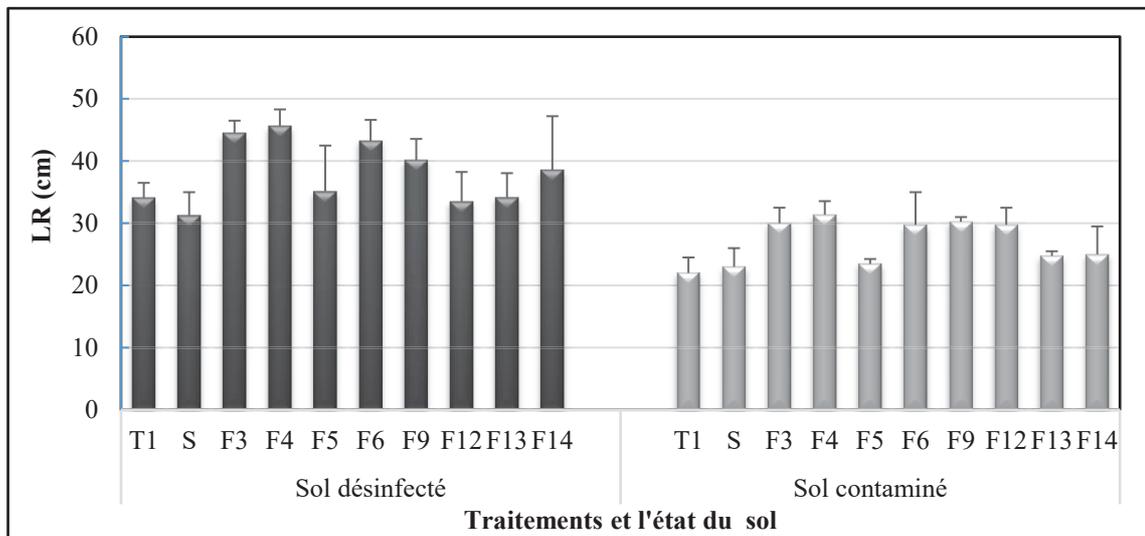
**2.3.Effet des formules sur la longueur des racines dans les deux types de sol**

La Figure 42 illustre la variation et l'effet de différentes formules en fonction de l'état du sol sur la longueur racin Vaire à la fin de la culture. On a observé que toutes les valeurs de la longueur stimulée par les formules étaient plus élevées par rapport aux deux témoins T1 et S dans les deux types du sol, à l'exception de la formule F12, dont la valeur était inférieure à celle du témoin T1 dans le sol désinfecté.

Les formules F4, F3 et F6 se sont révélées être les plus performantes en tant que biostimulants et agents de biocontrôle simultanés. Elles ont enregistré respectivement des augmentations de 33,9 %, 30,6 % et 26,93 % dans le sol désinfecté, et de 42,61 %, 36,36 % et 35,23 % dans le sol contaminé par rapport aux témoins T1.

L'analyse de la variance a mis en évidence un effet très hautement significatif des formules de consortia de PGPR et de types de sol sur la longueur des racines de blé (Annexe 32).

Le test LSD de de Fisher a montré 4 groupes homogènes dont F4 et F3 constituent le premier groupe (a).



**Figure 42:** Longueur des racines dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture.

Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type.

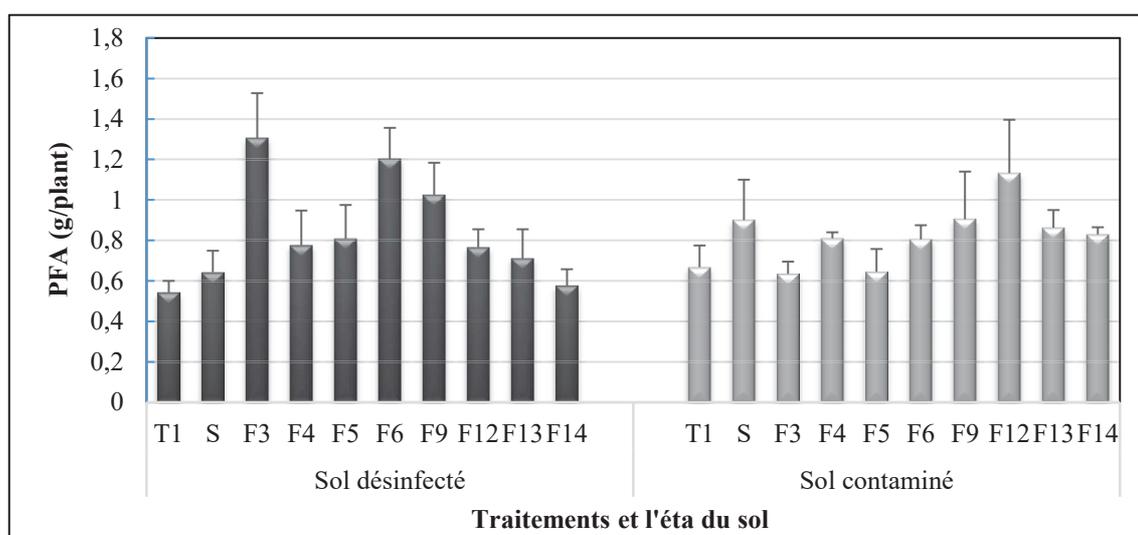
### 2.4.Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne

La biomasse fraîche aérienne mesurée à la fin de la culture a varié non seulement d'une formule à une autre, mais surtout d'un état du sol à un autre, comme illustré la **Figure 43**. La F3, qui a enregistré la meilleure biomasse dans le sol désinfecté, a affiché dans le sol contaminé une valeur de 0,635g/plante, la plus faible, même en comparaison avec les deux témoins T1 et S. De même, pour la F6, cette formule a présenté une bonne biomasse aérienne dans le sol désinfecté, mais elle montrée une valeur faible dans le sol infecté.

En outre, la formule F9 dans le sol désinfecté a présenté une biomasse significative, avec une augmentation de 88,48 % par rapport au T1, et elle a affiché une valeur de 0,91 g/plante, qui figure parmi les meilleures valeurs dans le sol contaminé.

L'analyse de la variance a illustré une interaction très hautement significative entre les deux facteurs sur le poids frais de la partie aérienne (**Annexe 33**).

En effet, le test LSD de de Fisher a révélé 6 groupes homogènes avec le traitement F6 qui forme le premier groupe (a).



**Figure 43:** Poids frais de la partie aérienne dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture.

Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type.

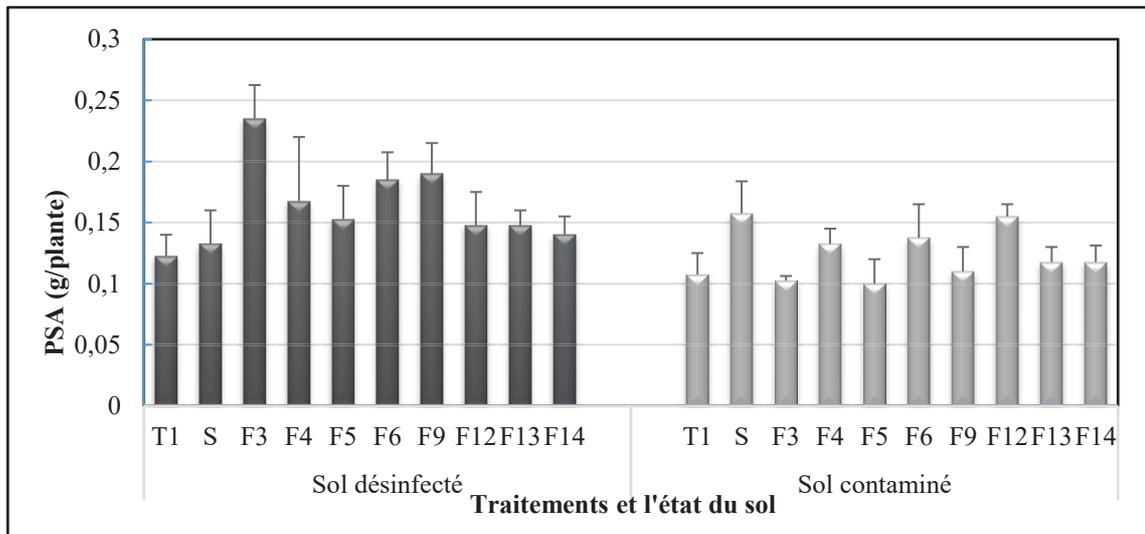
**2.5.Effet des formules sur le poids sec de la partie aérienne**

La Figure 44 montre que dans le sol désinfecté, toutes les formules ont stimulé de manière positive la biomasse sèche aérienne par rapport aux deux témoins T et S. Par contre, dans le sol contaminé, la plupart des formules ont enregistré une valeur supérieure à T1 (0,1075 g/plante), à l'exception des F3 et F5 qui ont respectivement présenté des valeurs de 0,1025 g/plante et 0,1 g/plante.

On outre, des valeurs de 0,1613 g/plante, 0,1513 g/plante et 0,15 g/plante, représentant des augmentations de 40,2 %, 31,52 % et 30,43 % par rapport au témoin T1, ont exprimé les meilleures moyennes de l'effet de biocontrôle et de biostimulation des formules F6, F12 et F4 respectivement, sur le poids sec aérien.

Les résultats de l'analyse de la variance ont montré que l'interaction entre les deux facteurs ont présenté des effets très hautement significatifs pour le poids sec de la partie aérienne (Annexe 34).

Le test LSD de de Fisher révèle l'existence de 7 groupes homogènes.



**Figure 44:** Poids sec de la partie aérienne dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture.

Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type.

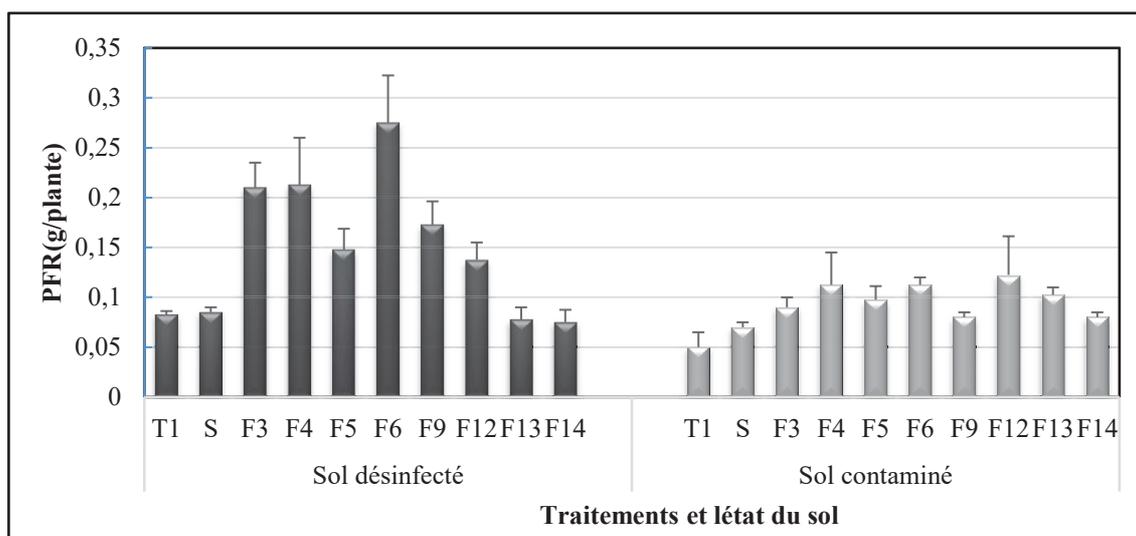
### 2.6.Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire

La formule F6 a démontré sa supériorité en enregistrant une valeur de 0,275 g/plante dans le sol désinfecté, alors que dans le sol contaminé, c'est la F12 qui a affiché la meilleure performance avec 0,123 g/plante (**Figure 45**).

Dans l'ensemble, les formules F6, F4, F3 et F12 se sont distinguées en affichant des performances supérieures par rapport aux deux témoins T1 et S, dans les deux types du sol simultanément. Leurs valeurs moyennes se sont élevées à 0,194 g/plante, 0,163 g/plante, 0,15 g/plante et 0,13 g/plante respectivement, soit des augmentations de 192,45%, 145,28%, 126,41% et 96,23% par rapport au témoin T1.

L'analyse de la variance de poids frais racinaire a fait ressortir un effet très hautement significatif pour les deux facteurs formules et état de sol et pour l'interaction entre les deux facteurs (**Annexe 35**).

Le test LSD de de Fisher révèle l'existence de 5 groupes homogènes dont la F6 représente le meilleur group (**Annexe 35**).



**Figure 45:** Poids frais de la partie racinaire dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture.

Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type.

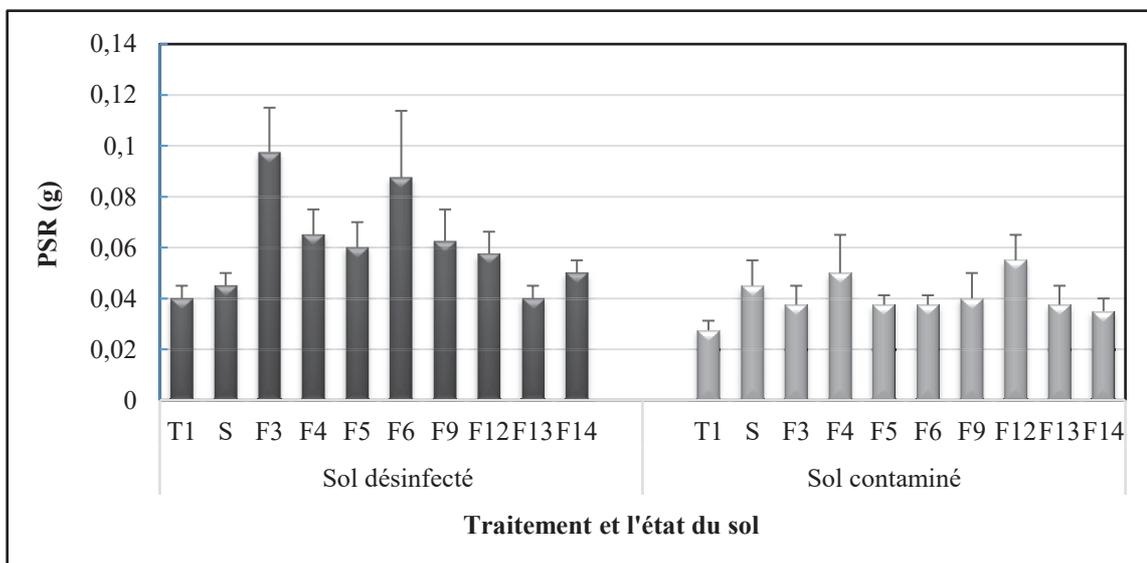
**2.7.Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire**

La **Figure 46** illustre l'impact significatif de toutes les formules appliquées sur le PSR dans les deux types du sol par rapport au témoin T1 (0,04 g/plante dans le SD et 0,0275 g/plante dans le SC). On a noté que les formules F3 et F6, qui ont affiché les meilleures biomasses dans le sol désinfecté (SD), ont exercé une influence similaire sur la biomasse avec une valeur de 0,0375 g/plante dans le sol contaminé (SC), représentant une augmentation de 36,36 %

Les formules F12 et F4, avec des poids secs respectifs de 0,055 g/plante et 0,05 g/plante, ont manifesté la meilleure influence dans le SC (augmentation de 100% et 81,82%), tandis que, les valeurs ont atteint 0,058 g/plante et 0,065 g/plante dans le sol SD (augmentation de 43,75% et 62,5%).

L'analyse de la variance à la 6<sup>ème</sup> semaine de culture a effectivement illustré un effet très hautement significatif pour les deux facteurs formules et type de sol et pour l'interaction entre ces deux facteurs (**Annexe 36**).

En effet, le test LSD de de Fisher révèle 9 groupes homogènes avec les traitements F3 et F6 qui forment les 2 premiers groupes (a) et (ab).



**Figure 46:** Poids sec de la partie racinaire. Dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture..

Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type.

**2.8.Comparaison de l'effet des formules sur le taux du phosphore assimilable dans les deux types de sol**

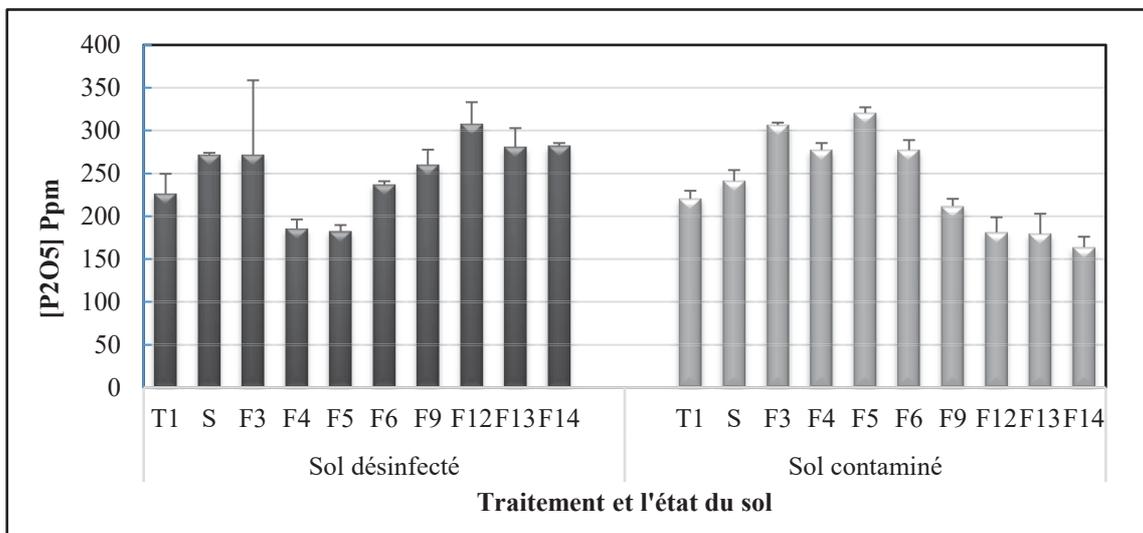
La meilleure concentration observée est de 320,62 ppm par la F5 dans le SC. De même, cette formule et la formule F4, qui ont également enregistré de bonnes valeurs (277,31 ppm), ont enregistré des concentrations inférieures à celles du témoin T1 (225,99 ppm) dans le SD (Figure 47).

En revanche, les formules F12, F14, F13 et F9, qui ont enregistré de bonnes concentrations dans le SD, ont montré des valeurs inférieures à celles du témoin T1 (220,34 ppm) dans le SC.

Seulement les formules F6 et F3 ont montré des concentrations élevées par rapport aux témoins T1, avec 277,3 ppm et 306,5 ppm respectivement, dans le SC. (Annexe 37).

L'analyse de la variance à la fin de la culture a montré un effet très hautement significatif pour l'interaction entre les traitement et type de sol sur la teneur de phosphore assimilable dans le sol.

En effet, le test LSD de de Fisher révèle 3 groupes homogènes.



**Figure 47:** Taux du phosphore assimilable dans les deux types de sol des différents traitements après 6 semaines de culture.

Chaque valeur est la moyenne de 03 répétitions. Les barres d'erreur représentent  $\pm$  l'écart type.

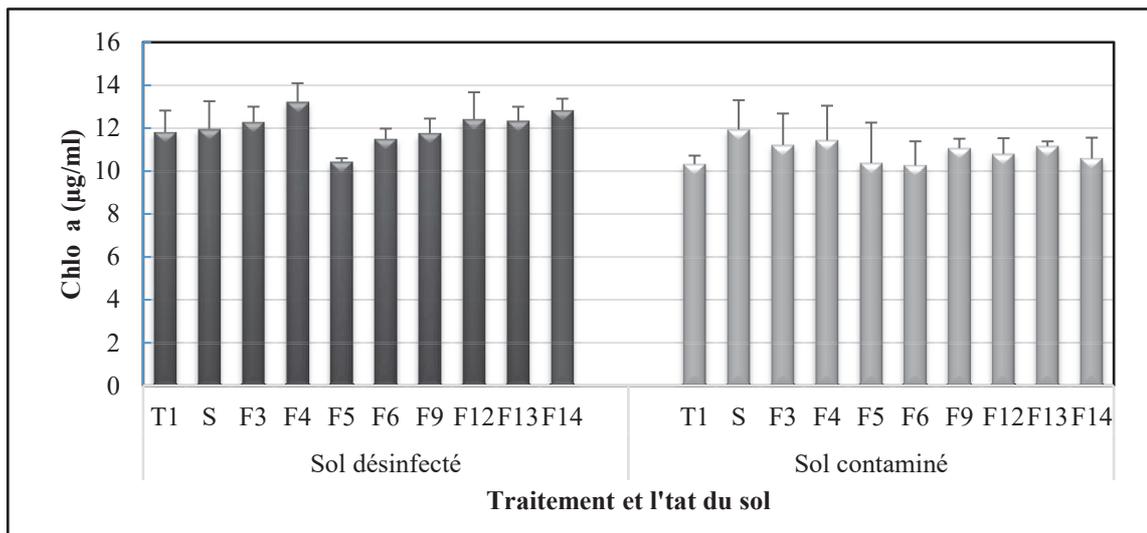
**2.9. Effet des formules sur la sante de blé : les chlorophylles a et b comme indicateurs**  
**2.9.1. Chlorophylles a**

La quantité de chlorophylle dans la plante offrir des informations sur la sensibilité et le statut phytosanitaire des plantes au cours de la culture. Dans nos résultats, la formule F4 a affiché les valeurs supérieures (13,22 µg/ml et 11,42 µg/ml) dans les deux types de sol.

Dans le sol contaminé (SC), toutes les formules ont enregistré des valeurs légèrement supérieures à celles du témoin. Alors que, dans le SD, les trois formules F6, F5 et F9 ont exprimé des valeurs inférieures au témoin (**Figure 48**)

L'analyse de la variance n'a révélé aucun effet significatif des formules, un effet hautement significatif du type de sol, et un effet non significatif pour l'interaction entre les deux (**Annexe 38**).

En effet, le test LSD de de Fisher révèle 3 groupes homogènes.



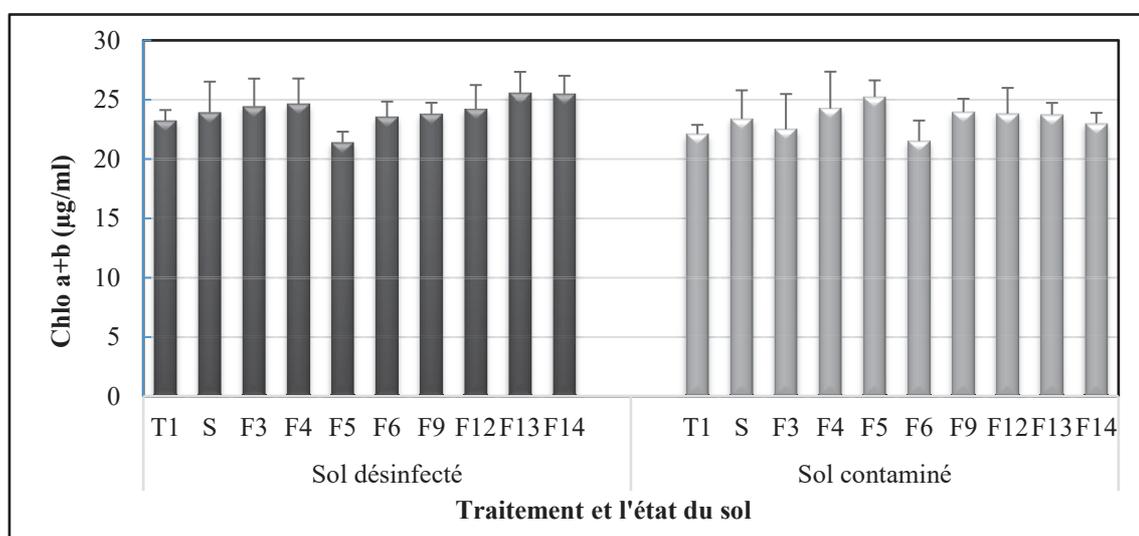
**Figure 48:** Teneur en chlorophylle a dans les deux types de sol des différents traitements (formules) après 6 semaines de culture.

Chaque valeur est la moyenne de 03 répétitions. Les barres d'erreur représentent ± l'écart type.

### 2.9.2. Chlorophylles total (a + b)

Tous les traitements ont montré des légères augmentations par rapport aux témoins T1 et S. La formule F3 dans le SD a présenté la valeur la plus remarquable (25,56 µg/ml), soit une augmentation de 10,19 %. En revanche, la F5 dans le SC a enregistré la valeur la plus élevée, soit 25,23 µg/ml, ce qui représente une augmentation de 14,19 % par rapport au témoin T (Figure 49).

Pour ce paramètre, l'analyse de la variance a montré un effet significatif des traitements et du type de sol. Cependant, l'interaction entre les deux facteurs n'a pas exprimé un effet significatif (Annexe 39).



**Figure 49:** Teneur en chlorophylle a +b dans les deux types de sol des différents traitements (formules) après 6 semaines de culture. Chaque valeur est la moyenne de 04 répétitions. Les barres d'erreur représentent ± l'écart type.

Chaque valeur est la moyenne de 03 répétitions. Les barres d'erreur représentent ± l'écart type.

**2.10. Effet des formules sur la sante du sol : l'activité catalase comme indicateur**

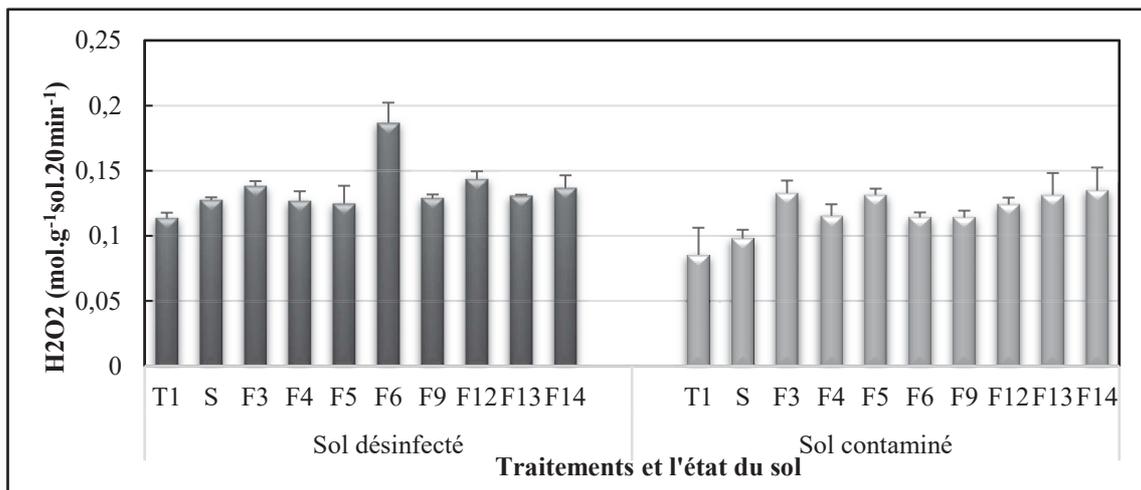
L'activité de catalase dans les différents traitements, est exprimée par la quantité de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (en moles) transformée dans 1 g de sol pendant 20 minutes.

Les valeurs obtenues par toutes les formules ont été supérieures par rapport aux témoins dans les deux types du sol comme présenté dans la **Figure 50**. La formule F6 a été distinguée par sa meilleure valeur, atteignant 0,187 mol.g<sup>-1</sup> sol. 20min<sup>-1</sup> dans le SD, ce qui exprime une augmentation de 64,71 % par rapport au T1 et de 46,6 % par rapport au S. De plus, dans le SD, les activités catalase ont présenté des augmentations de 26,47 %, 21,76 % et 10 % avec F12, F3 et F5 respectivement. Pour le sol contaminé (SC), des améliorations ont été notées, dépassant celles du sol désinfecté (SD), avec des augmentations par rapport au T1 variant entre 57,81 % (F14), 55,47 % (F3), 53,91 % (F5, F13) et 33,59 % (F6, F9). Cette supériorité s'explique par une diminution très marquée chez les témoins T1, passant du sol désinfecté (SD) au sol contaminé (SC) de 24,71 %.

En ce qui concerne la diminution des valeurs des formules du sol désinfecté au sol contaminé, la plus élevée a été de 13,49 % (F12), suivie de 11,39 % (F9), et la plus faible a été de 1,46 % (F14) (à l'exception de la F6).

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif des formules, type de sol et de l'interaction entre les deux facteurs sur le CAT (**Annexe 40**).

En effet, le test LSD de de Fisher révèle 6 groupes homogènes.



**Figure 50:** Teneur de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans les deux types de sol des différents traitements (formules) après 6 semaines de culture.

Chaque valeur est la moyenne de 03 répétitions. Les barres d'erreur représentent ± l'écart type.

### 2.11. Discussion

Selon les résultats obtenus à partir des différents paramètres étudiés, il a été observé que la formule F12, suivie de la F4, s'est démarquée en tant que formules la plus performante en ce qui concerne la capacité biostimulante-biocontrôle, notamment pour les paramètres morphologiques, où des augmentations ont été enregistrées de 20,93 % ; 35,23 % ; 69,67 % ; 44,19 % ; 145 % et 100 % pour la F12 par rapport au T1, et de l'ordre de 15,8 % ; 42,61 % ; 21 ;35 % ; 23,26 % ; 125 % et 81,82 % pour la F4, pour les paramètres HT à la fin de culture, LR, PFA, PSA, PFR et PSR respectivement.

Pour les autres paramètres tels que TP, Chlo a+b et CAT, la formule F5 a indiqué les meilleures augmentations par rapport à T1, qui sont respectivement de 45,51 %, 14,19 % et 53,9 %.

**NB :** Plus d'analyses de données et d'illustrations se trouvent dans le matériel supplémentaire (Annexe 41).

### II. Discussion

#### Partiel 1 : Identification et caractérisation des isolates PGPR

La rhizosphère, qui est la zone restreinte du sol affectée par les sécrétions racinaires, est considérée comme un axe rassemblant des millions de micro-organismes appelé rhizomicrobiome. Le rhizomicrobiome symbiotique, y a compris les « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » joue un rôle crucial pour les plantes ; il peut stimuler leur croissance, santé et atténuer les effets néfastes des attaques biotiques ou des stress abiotiques (Tian et al. 2020).

Dans cette étude, dix-huit souches PGPR ont été isolées à partir de la rhizosphère du palmier dattier et de la plante sauvage *Suaeda* sp. a Biskra, ainsi qu'à Zeccar à partir de la rhizosphère de *Marrubium vulgare* et de *Pardoglossum cheirifolium* et ont été évalué par la suite pour leurs traits PGP (trait de biostimulation et de biocontrôle) et enfin ont été utilisé en consortia dans la formulation et l'élaboration des bioengrais qui ont été testé sur la germination et la croissance du blé dur en utilisant un sol agricole.

Il semble que les souches PGPR isolées puissent probablement appartenir aux genres *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Azobacter* et *Rhizobium*. Le milieu King B est connu pour favoriser la croissance des *Pseudomonas*, des *Bacillus*, et des *Lysinibacillus* tandis que le milieu YEM est propice aux *Rhizobia* et parfois aux *Azobacter*. Cette classification est cohérente avec la littérature et les catalogues d'identification des bactéries (en basant sur les caractères morphologiques et biochimiques : test de Gram, catalase, forme de la cellule, forme des colonies...), indiquant que ces genres sont souvent associés aux racines des plantes. Cependant, une identification précise nécessiterait des tests de laboratoire approfondis ou un séquençage du gène 16S pour confirmer le genre et l'espèce spécifique de chaque souche.

Par ailleurs, plusieurs études ont rapporté que les bactéries rhizosphériques de genres différents, y compris *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, présentent la capacité de fixer l'azote atmosphérique (Cakmakci et al., 2007), de solubiliser le phosphate (Prasad et al., 2019) et le zinc (Sayyed et al., 2019). De plus, elles ont la capacité de produire des enzymes lytiques bactériennes telles que l'uréase, l'estérase, la lipase, la protéase, la chitinase, l'amylase et la cellulase (Abdelwahab et al., 2016 ; Khan et al., 2017).

La majorité des processus biochimiques des plantes, tels que la synthèse des protéines et la photosynthèse, dépendent de l'azote (N), en faisant l'un des minéraux les plus cruciaux dont les plantes ont besoin pour prospérer (Alori et al., 2017). Le diazote, qui représente 79 % de l'azote dans l'atmosphère, a une liaison covalente triplement liée et une réactivité relativement faible ; par conséquent, les plantes ne peuvent pas l'utiliser directement (Hasan et al., 2023).

Certaines PGPR ont la capacité de fixer l'azote et sont aptes à former une interaction libre (non obligatoire et non durable) avec la plante hôte (Ahemad et Kibret, 2013).

La croissance des bactéries sur le milieu « Ashby » dépend de leur aptitude à fixer l'azote. Dans notre étude, nous avons constaté que la majorité (78 %) de nos isolats ont fixé l'azote. Plusieurs auteurs ont supposé que la majorité des bactéries rhizosphériques pourraient avoir la capacité de fixer l'azote atmosphérique, contribuant ainsi à améliorer le rendement des cultures (Rodge et al., 2016).

Le phosphore est le 2<sup>ème</sup> élément le plus essentiel pour la croissance et la productivité des plantes (Willard, 1979). Cependant, elles ne peuvent l'assimiler tel quel car il se présente sous une forme insoluble. Pour remédier à cela, des bactéries spécifiques au sol ont la capacité de dissoudre les phosphates minéraux, permettant ainsi aux plantes un meilleur développement dans des environnements naturels (Bashir et al., 2023).

Dans notre étude, 67 % de nos souches bactériennes ont montré la capacité de solubiliser le phosphore. Elles ont exhibé des zones rouges entourées de halos, résultant du mécanisme principal de solubilisation, à savoir l'acidification par la création d'acide organique dans le milieu PVK, qui contient  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  comme source de phosphore.

Dans nos résultats, la souche 3 a présenté le meilleur indice de solubilisation de 1,86, ce qui rejoint les résultats obtenus par Djuuna et al. (2022), qui a travaillé sur 37 souches bactériennes solubilisatrices de phosphore. Selon Tariq et al. (2022), la prolongation de la durée d'incubation des souches pour le test de solubilisation du phosphore augmentera leur indice de solubilisation.

Le zinc est un composant essentiel des plantes et est responsable de leurs processus métaboliques, cruciaux pour leur développement. La carence en zinc est très courante chez les plantes, entraînant des pertes importantes dans la production agricole.

Les bactéries rhizosphériques solubilisatrices de zinc peuvent convertir la forme insoluble du zinc dans le sol en une forme soluble, le rendant facilement biodisponible aux plantes pour leur croissance, leur développement et leur rendement final, tout en préservant efficacement la santé et la fertilité du sol pour une production durable (Sayyed et al., 2019).

Nos résultats montrent que 72 % de nos isolats ont le pouvoir de solubiliser le zinc lorsqu'elles ont été cultivées dans un milieu gélosé contenant le  $\text{ZnO}$  comme source de zinc. Un indice de solubilisation maximal de 1,67 a été présenté par la souche 7. Ces résultats sont similaires à ceux de Chanchal et al., (2022), qui ont enregistré un indice de solubilisation maximum de 1,58 sur le même milieu mais avec une durée d'incubation plus longue (7 jours).

L'indice de solubilisation varie selon les souches, le milieu et même selon la durée d'incubation, dont la prolongation augmente l'indice de solubilisation (Bhatt & Kumar, 2020).

Les PGPR colonisent la rhizosphère et améliorent la croissance des plantes par différents mécanismes. La production d'acide indole-3-acétique (AIA), l'un des auxines physiologiquement les plus actifs, est un outil essentiel pour les rhizobactéries afin de stimuler la croissance des plantes hôtes. L'AIA favorise l'allongement des racines, augmente le nombre de poils racinaires et de racines latérales, améliorant ainsi l'absorption des nutriments. Elle stimule également la germination des graines, la division cellulaire, retarde l'abscission des feuilles, et induit la floraison et la fructification (Anesa et al., 2023).

La plupart des études antérieures ont montré que les bactéries productrices d'AIA sont des Gram négatifs (Datta et Basu, 2000). Environ 80 % des bactéries rhizosphériques sont capables de produire de l'AIA (Sharma, V et al., 2020a), ce qui est compatible à nos résultats dont plus de 60 % de nos isolats ont révélé une capacité variable de synthèse de l'AIA. Le taux de production de ce composé varie selon les souches et les espèces, comme le montrent les nuances de couleur allant du rose au rouge obtenues. Cette variation est aussi influencée par les conditions de culture, et la phase de croissance (Mirza et al., 2001).

L'ammoniac produit comme intermédiaire du catabolisme des acides aminés des exsudats racinaires assimilés par la bactérie est un agent inhibiteur des phytopathogènes (Cherif, 2014). L'enzyme nitrogénase joue un rôle important dans la réduction de N<sub>2</sub> fixé en NH<sub>3</sub> chez les bactéries fixatrices d'azote. L'ammoniac fixé est assimilé en glutamate et glutamine qui sont importants pour former des composés azotés organiques dans les cellules, tels que les acides aminés, les acides nucléiques, les protéines, etc. Après la mort bactérienne et la lyse, ces composés sont rejetés dans l'environnement et utilisés comme sources d'azote par d'autres organismes, tels que les plantes (Hartono et al., 2016). Les genres *Bacillus* et *Pseudomonas* sont de bons producteurs d'ammoniac (Ahmad et al., 2008). Selon nos résultats, la production de NH<sub>3</sub> est observée chez la majorité de nos isolats. Ces résultats sont similaires à ceux des travaux précédents tel que Ahmad et al. (2008).

Tous nos souches ont présenté des résultats positifs pour la production de catalase. L'activité de la catalase dans les souches bactériennes peut être potentiellement très avantageuse, et les souches bactériennes montrant une activité catalase doivent être très résistantes aux stress environnementaux, mécaniques et chimiques (Singh et al., 2016).

Les enzymes extracellulaires jouent un rôle important dans le cycle des nutriments, fournissant ainsi des nutriments aux plantes (Dahdah et al., 2022). Les enzymes lytiques

bactériennes, telles que l'uréase, l'estérase, la lipase, la protéase, la chitinase, l'amylase et la cellulase, jouent un rôle clé dans les processus de transformation biologique de l'azote, de l'hydrogène et du carbone. Les enzymes hydrolytiques sont impliquées dans la lyse et la dégradation des composants de la paroi cellulaire des agents pathogènes fongiques. Il s'agit de l'un des mécanismes importants pour le contrôle eco-friendly des pathogènes du sol (Mekonnen et Kibret, 2021).

La méthode de diffusion radiale dans les milieux solides indique l'activité de manière qualitative, en corrélant directement les diamètres du halo de dégradation et de la colonie (Indice enzymatique). Un indice enzymatique supérieur à 1,0 indique l'excrétion d'enzymes (Jussara et al., 2006).

Nos résultats montrent que 77,78% de nos isolats produisent la protéase et de même, 66,67% ; 88,89% et 61,11% de nos souches PGPR présentent des résultats positifs avec un indice maximum de 3,81 (souche 1) 5,71 (souche 8) ; et 4,24 (souche 3) pour la production des enzymes estérase, lipase et amylase respectivement. Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés par Jussara et al., (2006), qui ont constaté que 60% des isolats produisent la protéase, et 40% enregistrent des résultats positifs pour estérase et lipase, avec un indice maximum de 6,2 et 3,7 respectivement. L'activité amylatique est présente chez 60% des isolats avec un indice maximum de 2,6. Ces différences peuvent être dues à la différence du site de prélèvement ainsi qu'à la variabilité et à la diversité génétique des isolats.

### **Partie 2 : Formulation et encapsulation des bioengrais**

Bien que, l'inoculation de souches uniques de PGPR est fortement recommandée pour favoriser la croissance des plantes, atténuer le stress et contrôler les maladies des plantes et les agents pathogènes, la recherche s'est orientée les dernières années vers l'utilisation de consortiums microbiens, qui existent en abondance dans le monde naturel, par exemple les consortiums de l'intestin humain, plus plus d'efficacité. Ces consortiums comprennent différents types de micro-organismes dont la structure est équilibrée pour garantir le bénéfice de l'hôte et des membres du consortium eux-mêmes. Les consortiums sont construits en choisissant les caractéristiques fonctionnelles et les capacités de chaque souche membre, par ex. production d'hormones, fixation d'azote, solubilisation des nutriments. Les consortia sont plus efficaces qu'un inoculant unique sur la croissance promotion et absorption des nutriment (Wickramasinghe et al., 2021).

Notre approche pour l'élaboration et la formulation des consortiums de PGPR a permis d'obtenir plusieurs formules intégrant diverses souches présentant une large gamme de caractéristiques bénéfiques. Consortium de 2 souches (F1) ; de 3 souches (F2, F13, F14) ; 4 souches (F3, F7) ; 5 souches (F10) ; 6 souches (F8) ; 7 souches (F4) ; 8 souches (F5) ; 9 souches (F6, F9, F11) et 10 souches (F12). Cela diffère de nombreuses études précédentes qui ont construit et utilisé des consortiums composés de 2, 3 ou 4 PGPR (Jha et al., 2012 ; Mathur et al., 2023 ; Samain et al., 2023), et au maximum 5 PGPR (Wickramasinghe et al., 2021 ; Bisailon, 2023). Cette disparité découle des objectifs et de la vision spécifiques de notre recherche.

De petites macrobilles, contenant des rhizobiums, insolubles sphériques et de couleur blanche se sont formé lorsqu'une solution d'alginate de sodium avec une solution des rhizobiums ont été introduite goutte à goutte dans la solution de chlorure de calcium. La taille des billes d'alginate peut avoir un effet déterminant sur la libération et l'efficacité de bactéries (Reddy, 2014).

La production de capsules contenant des PGPRs s'improvise régulièrement. L'avancement des technologies d'ingénierie du microbiome et de séquençage métagénomique a permis une conception spécifique des supports des PGPR afin de les adapter de manière optimale à leur mode d'action lors des applications. Fondamentalement, l'encapsulation du PGPR fait référence à la technologie qui crée un paramètre semblable à une paroi qui permet la protection, la libération contrôlée et la capacité fonctionnelle du micro-organisme. En outre, la stabilisation des cellules, limitant l'exposition à la contrainte abiotique et biotique et améliorant très probablement leur bioactivité et leur stabilité lors de la production, de la conservation et de la manipulation (Vejan et al., 2019).

### **Partie 3 : Evaluation de la performance des bioengrais**

Les chercheurs ont étudié l'effet des PGPR sur la croissance dans diverses plantes, les céréales, les légumineuses, etc. et ils ont évalué leurs fonctionnalités sur la base de la libération d'enzymes ; des métabolites ; des promoteurs de croissance. A la base de ces recherches deux groupes de PGPR ont été décrits : le premier groupe est impliqué dans la stimulation des éléments nutritifs et de la croissance des plantes (biofertilisants) et le deuxième groupe est impliqué dans le contrôle biologique des pathogènes des plantes (bio pesticides) (Rahmoune, 2017).

L'effet de nos différentes formules de consortiums de PGPR encapsulés, sur une culture de blé dans des conditions contrôlées, s'est avéré globalement positif dans tous les paramètres étudiés par rapport au témoin non traité.

Les résultats obtenus durant cette étude avec les différents paramètres étudiés pour évaluer la capacité biostimulante ont montré que la formule F3, suivie de la F6, a été la plus performante en ce qui concerne la capacité biostimulante pour la majorité des paramètres. Des augmentations ont été enregistrées par rapport au T1 de 28,37 % ; 30,59 % ; 140,55 % ; 91,84 % ; 154,55 % et 143,75 % pour la F3 et de 37,08 % ; 26,93 % ; 121,66 % ; 51,02 % ; 233,33 % et 118,75 % pour la F6. D'autre part, la formule F12, suivie de la F4, ont été les plus performante en ce qui concerne la capacité biocontrôle pour la majorité des paramètres morphologiques. Des augmentations ont été enregistrées par rapport au T1, de 20,93 % ; 35,23 % ; 69,67 % ; 44,19 % ; 145 % et 100 % pour la F12 , et de 15,8 % ; 42,61 % ; 21 ; 35 % ; 23,26 % ; 125 % et 81,82 %; pour la F4, respectivement, pour les paramètres HT à la fin de culture, LR, PFA, PSA, PFR et PSR.

Nos résultats pour tous les paramètres morphologiques de F3 et F6 dans le sol désinfecté sont très proches des meilleurs effets des différents consortiums testés par Jha et al., (2012) sur le *Jatropha curcas* pendant 60 jours de culture. En contraste avec les résultats de l'essai mené par Mathur et al. (2023), qui a évalué le potentiel de promotion de la croissance du blé par une inoculation unique des souches bactériennes pré-isolées ainsi que par l'inoculation de toutes leurs combinaisons possibles. Après 50 jours de semis, le consortium (RS03 + RS21 + RS25) a affiché une amélioration significative de HT de 53 %, légèrement surpassant ainsi nos meilleurs résultats. Cependant, bien que le PSA et le PSR aient enregistré la meilleure augmentation de 42% et 30% respectivement, ces résultats étaient très inférieurs à la stimulation de nos consortiums.

D'autre part, nos résultats sont inférieurs en ce qui concerne la HT, PSA et LR, tandis qu'ils sont supérieurs pour le PSR par rapport aux résultats obtenus par le consortium (BAM-4+BAM-12) encapsulé et appliqué dans une serre lors de la culture de blé, enregistrant respectivement des augmentations de 42,78%, 307,7%, 65,6% et 129,4% (Saxena, 2011).

Une autre étude menée par Rojas-Padilla et al., (2022) sur la même culture pendant deux ans en plein champ pour évaluer la capacité de 3 PGPR et 2 consortiums encapsulés après 65 jours a affiché des résultats inférieurs à nos enregistrements pour l'ensemble des traitements. Un consortium plus performant (TRQ8+TRQ65) a donné des augmentations de 9,14%, 23,4% et 14,5% pour HT, LR et PSA au cours de la première année.

De même, un essai de Saadaoui et al., (2022), qui a été réalisé pour évaluer la capacité de 2 PGPR et leur co-inoculation sur deux variétés de blé, Bousselem et Boutaleb, dans un compost stérile et un sol non stérile. Il a montré que nos résultats sont supérieurs.

Nos résultats montrent une amélioration de la teneur en chlorophylle après application des formules PGPR dont la valeur la plus remarquable a été enregistrée par la F4 dans les deux états du sol, SD et SC, respectivement 12,8% et 10,7%. Saadaoui et al., (2022) ont trouvé un teneur en chlorophylle amélioré par 83,75% chez la variété Bousselem et de 28,5% chez la variété Boutaleb dans le compost stérile.

Quant à la chlorophylle a+b, notre meilleur résultat a été de 14,9% (F5), des résultats presque similaires ont été trouvés par Saadaoui et al., (2022). Cependant des valeurs très inférieures ont été enregistrées par Rojas-Padilla et al., (2022).

Les oxireductases, en particulier les enzymes catalase et peroxydase, jouent un rôle important dans les processus de conversion des substances et de l'énergie du sol. La minéralisation des composés organiques contenant du fer est provoquée par de nombreux micro-organismes ayant un type de nutrition hétérotrophe – bactéries, champignons et actinomycètes. La catalase, en tant qu'enzyme respiratoire, catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (en eau et en oxygène), qui est libéré lors de la dégradation des composés organiques et est hautement toxique (Malcheva et al., 2023).

Nos résultats montrent une augmentation maximale de 64,71 % (F6) dans le sol désinfecté, tandis que les autres augmentations varient de 26,47 (F1) à 10 % (F5). L'essai de Li et al., (2020) évaluant l'effet des PGPR sur l'avoine, la luzerne et le concombre a montré respectivement un effet non significatif et seulement des augmentations de 8,34 % et 4,42 % par rapport au témoin.

Pour le sol contaminé, une augmentation remarquable a été enregistrée par nos formules, variant de 57,81 % à 33,59 %. Nos résultats sont également supérieurs à ceux de Ju et al., (2019) qui enregistre une augmentation de 22,81 % par l'effet des PGPR sur la luzerne dans un sol contaminé.

L'activité de la catalase du sol dépend de la quantité et de l'activité des micro-organismes du sol, de la teneur en matière organique du sol, du type de sol, de la teneur en argile du sol, de la température, de l'humidité, du pH et de la profondeur d'échantillonnage du sol, du type de végétation, de la présence d'inhibiteurs, ainsi que des méthodes de recherche (Malcheva et al., 2023)

À partir de notre étude et même en comparaison avec d'autres études, auxquelles nous avons déjà fait référence, l'effet des consortiums de PGPR est varié, selon le composant des PGPR eux-mêmes, la génétique et la capacité des souches, le nombre de PGPR composant chaque consortium, où plusieurs études montrent que, en raison de la synergie des micro-organismes qui les peuplent, les consortiums microbiens possèdent plus de propriétés qu'un inoculum individuel. Un consortium microbien est composé de plusieurs espèces microbiennes travaillant ensemble et dotées de larges capacités métaboliques (Dahdah et al., 2022). Cependant, il est important de noter que l'augmentation de la diversité au sein des communautés microbiennes peut réduire le fonctionnement de la communauté et la santé des plantes en raison d'une augmentation des interactions antagonistes. Ainsi, une plus faible diversité n'indique pas toujours des communautés microbiennes moins saines (Rosa et al., 2023). Les souches de PGPR varient considérablement selon les types de cultures et de sols, et leurs performances de croissance et leurs activités PGP dépendent d'une interaction complexe entre le sol, les plantes et les microbes. De nombreux chercheurs ont étudié les isolats natifs de PGPR sur la croissance et le rendement des plantes et ont signalé que leur colonisation et leur amélioration de la croissance des plantes étaient comparativement plus élevées (Wickramasinghe et al., 2021).

# **Conclusion**

La fertilisation joue un rôle déterminant dans la production agricole, particulièrement à la lumière des changements climatiques actuels. L'exploitation des ressources microbiennes naturelles, par les outils d'ingénierie du microbiome, peut constituer l'une des alternatives les plus efficaces pour renforcer le développement d'une agriculture durable et résiliente.

Cette étude renferme trois volets : (i) l'isolement et la caractérisation de nouvelles souches PGPR, (ii) la formulation des bioengrais en utilisant des consortiums de ces souches par et encapsulation, et enfin, l'évaluation de leur potentiel biostimulant et/ou biocontrôle pour booster la croissance et la santé des plantes de blé dur sous serre.

Dans la première partie, dix-huit isolats (souches) codés 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 15, 17, 18, 20, 22, 23, 24, 25, et 26 ont été isolées à partir des rhizosphères du palmier dattier et de *Suaeda* sp. Dans la région de Biskra, ainsi qu'à Zeccar à partir des rhizosphères de *Marrubium vulgare* et de *Pardoglossum cheirifolium*. Ces souches ont été identifiées et caractérisées morphologiquement et biochimiquement. La plupart des isolats sont des Gram négatif présentent une coloration crème et blanche, ayant des formes variées, principalement des bacilles. De même, elles ont manifesté différentes capacités pour divers traits promouvoir de la croissance des plantes (PGP). Les souches 3, 7, 3, 8 et 1 ont enregistré les meilleurs taux et indices de solubilisation de phosphore, de zinc, et également de la production d'enzymes lytiques telles que l'amylase, la lipase et l'estérase, Quant aux souches 25, 26, 15, 3 et 7, elles ont montré les meilleurs potentiels en termes de fixation d'azote, de production de phytohormones (IAA), d'ammoniac et de production de protéase. En outre, toutes les souches isolées révèlent être catalase positives. De plus, avant de formuler les consortia de bioengrais, les souches ont été soumises à une analyse de compatibilité par paire, où la majorité ont montré une compatibilité avec les autres souches, à l'exception des souches 1, 23, 7 et 18 qui sont les moins compatibles.

Dans la deuxième partie, des bioengrais ont été formulés en utilisant des consortiums de différentes combinaison de souches PGPR allant de 2 à 10 souches. Ces souches ont été sélectionnées au sein de chaque consortium en se basant sur leur potentiel PGP (biostimulant et/ou biocontrôle), tout en tenant compte de leur compatibilité. Ces formules ont été identifiées comme F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9, F10, F11, F12, F13, F14. Le processus d'obtention de ces bioengrais impliquait l'encapsulation des souches dans de l'alginate de sodium et de la cellulose à l'aide d'un dispositif semi-automatique que nous avons développé. Le résultat final consiste en des bioengrais se présentant sous forme de billes blanches et rigides facile à utiliser en plein champ, dans les serres...

A la fin, après une courte durée de stockage et afin d'évaluer et confirmer les pouvoirs biostimulants et /ou biocontrôle de ces bioengrais sur la croissance et santé des plantes, ainsi que sur la teneur en phosphore (P) dans le sol (fertilité du sol). Les bioengrais ont été appliqués sur la variété du blé dur 'Oued El Bared' sous serre. L'utilisation des bioengrais à base de PGPR a révélé que la formulation F3 (composée des souches 8, 17, 3, 25) s'est démarquée comme la plus performante, suivie de près par la F6 (composée des souches 25, 3, 8, 26, 24, 4, 17, 13, 5), démontrant une capacité biostimulante exceptionnelle pour la majorité des paramètres étudiés. Avec la formule F3, des améliorations significatives de 28,37 % ; 30,59 % ; 140,55 % ; 91,84 % ; 154,55 % ; 143,75 % et 20 % ont été enregistrées par rapport au T1 pour les paramètres HT à la fin de culture, LR, PFA, PSA, PFR, PSR et P respectivement. De même pour ces paramètres, des augmentations de 37,08 % ; 26,93 % ; 121,66 % ; 51,02 % ; 233,33 % ; 118,75 % et 4,79 % ; ont été obtenues avec la F6.

Alors que, la formule F12, suivie de la F4, s'est démarquée en tant que formules les plus performantes en ce qui concerne la capacité biocontrôle, notamment pour les paramètres morphologiques, où des améliorations significatives ont été exprimées de 20,93 % ; 35,23 % ; 69,67 % ; 44,19 % ; 145 % et 100 % pour la F12 par rapport au T1, et de l'ordre de 15,8 % ; 42,61 % ; 21 ; 35 % ; 23,26 % ; 125 % et 81,82 % pour la F4 pour les paramètres HT à la fin de culture, LR, PFA, PSA, PFR et PSR respectivement.

Ce travail a abouti à la formulation et au développement, par microencapsulation, de bioengrais à base de consortiums composés de différentes combinaisons de souches PGPR. Il a également permis l'évaluation de leur performance en tant que biostimulants et agents de biocontrôle dans une culture stratégique, à savoir le blé dur.

En vue de pousser davantage cette étude et de perfectionner la formulation, la performance, ainsi que l'application des bioengrais élaborés à partir de microbiomes rhizosphériques bénéfiques (PGPR), il serait intéressant d'envisager :

- Identifier les souches par un séquençage du gène 16S ;
- Expérimenter avec divers matériaux d'encapsulation et concentrations pour évaluer leur influence sur la survie et la libération des souches et améliorer la stabilité des bioengrais ;
- Conduire des expériences et des études approfondies pour déterminer les doses et concentrations optimales des souches au sein de chaque consortium ;

- Élargir les investigations pour évaluer l'efficacité des bioengrais sur différentes cultures, en divers stades de développement, afin d'adapter les bioengrais à des contextes agricoles variés et avec plus de précision ;
- Soumettre les bioengrais encapsulés à des conditions de stress biotique et abiotique pour évaluer leur résilience et leur efficacité dans des environnements agricoles réalistes ;
- Explorer, à travers des analyses métagénomiques et bio-informatiques, les communautés microbiomes rhizosphériques naturels afin de construire des consortia (bioengrais) similaires, potentiellement plus efficaces.

# **Références**

## **Bibliographique**

1. Abdelwahab, R., Bensidhoum, L., Tabli, N., Bouaoud, Y., Naili, F., Cristina, C., & Nabti, E. (2016). A *Pseudomonas protegens* with high antifungal activity protects apple fruits against *Botrytis cinerea* gray mold. *Int. J. Sci. Res. Sci. Technol*, 2(6), 227.
2. Afridi, M. S., Ali, S., Salam, A., César Terra, W., Hafeez, A., Sumaira, ... & Karunakaran, R. (2022). Plant microbiome engineering: hopes or hypes. *Biology*, 11(12), 1782.
3. Afridi, M. S., Javed, M. A., Ali, S., De Medeiros, F. H. V., Ali, B., Salam, A., ... & Santoyo, G. (2022). New opportunities in plant microbiome engineering for increasing agricultural sustainability under stressful conditions. *Frontiers in Plant Science*, 13, 899464.
4. Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King saud University-science*, 26(1), 1-20.
5. Ahmad, F., Ahmad, I., et Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological research*, 163(2), 173-181.
6. Akhtar, N., Naveed, M., Khalid, M., Ahmad, N., Rizwan, M., & Siddique, S. (2018). Effect of bacterial consortia on growth and yield of maize grown in *Fusarium* infested soil. *Soil & Environment*, 37(1).
7. Alam, S., Khalil, S., Ayub, N., & Rashid, M. (2002). In vitro solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) from maize rhizosphere. *Int J Agric Biol*, 4(4), 454-458.
8. Ali, M. A., Naveed, M., Mustafa, A., & Abbas, A. (2017). The good, the bad, and the ugly of rhizosphere microbiome. *Probiotics and plant health*, 253-290.
9. Alori, E. T., Dare, M. O., and Babalola, O. O. (2017). "Microbial inoculants for soil quality and plant health," In *Sustainable Agriculture Reviews*, eds. E. Lichtfouse (Cham : Springer), 281–307. Doi : 10.1007/978-3-319-48006-0\_9
10. Anayo, O. F., Peter, O. C., Nneji, U. G., Obinna, A., Scholastica, E. C., & Mistura, L. O. (2016). The Beneficial Roles of *Pseudomonas* in Medicine, Industries, and Environment: A *Pseudomonas Aeruginosa*: An Armory Within, 97.90: 488.

## Références Bibliographique

11. Anesa, A. H., Mujo, H., & Adaleta, D. P. (2023). INDOLE-3-ACETIC ACID (IAA) production in metal-tolerant bacterial isolates from the serpentine outcrops of eastern bosnia. *Genetics & Applications*.
12. Antoun H. and Prévost D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. Z. A.Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. p 1–38
13. Apostol, I., Heinstejn, P. F., & Low, P. S. (1989). Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells: role in defense and signal transduction. *Plant physiology*, 90(1), 109-116.
14. Arslan, S., Erbas, M., Tontul, I., & Topuz, A. (2015). Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* with different wall materials by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 685-690.
15. Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., ... & Smith, D. L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, 1473.
16. Barea JM, Azcon J, Azcon-Aguilar RC. (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of experimental botany*. 56(417): 1761-1778.
17. Bashan, Y (1998). Inoculants of plants growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances* .16:729-770.
18. Bashan, Y. and de-Bashan, L.E (2002). Reduction of bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv tomato) of tomato by combined treatments of plant growth-promoting bacterium, *Azospirillum brasilense*, streptomycin sulfate, and chemothermal seed treatment. *European Journal of Plant Pathology* 108:821–829
19. Bashir, T., Iqbal, M., Javed, S., Riaz, J., Bukhari, N. T., Nisa, I., ... & Khan, N. (2023). isolation and characterization of plant growth promoting bacteria (PGPR) from rhizosphere of Okra. *Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology*, 30(18), 1257-1268.
20. Beck D.P., Materon L.A. et Afandi F(1993). *Practical Rhizobium–legume technology manual*, .ICARDA (Ed), Syria. 389.
21. Berendsen, R. L., Pieterse, C. M., & Bakker, P. A. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant science*, 17(8), 478-486.

## Références Bibliographique

22. Berg, G., Rybakova, D., Grube, M., & Köberl, M. (2016). The plant microbiome explored: implications for experimental botany. *Journal of experimental botany*, 67(4), 995-1002.
23. Bever, J. D. (1994). Feedback between Plants and Their Soil Communities in an Old Field Community. *Ecology* 75, 1965-1977.
24. Bezemer, T. M., Lawson, C. S., Hedlund, K., Edwards, A. R., Brook, A. J., Igual, J. M., Mortimer, S. R., and Van Der Putten, W. H. (2006). Plant species and functional group effects on abiotic and microbial soil properties and plant–soil feedback responses in two grasslands. *Journal of Ecology* 94, 893-904.
25. Bhanse, P., Kumar, M., Singh, L., Awasthi, M. K., & Qureshi, A. (2022). Role of plant growth-promoting rhizobacteria in boosting the phytoremediation of stressed soils: Opportunities, challenges, and prospects. *Chemosphere*, 303, 134954.
26. Bhatt, K., & Maheshwari, D. K. (2020). Zinc solubilizing bacteria (*Bacillus megaterium*) with multifarious plant growth promoting activities alleviates growth in *Capsicum annum* L. *3 Biotech*, 10(2), 36.
27. Bisailon, M. (2023). Le consortium de PGPR Era Boost Pro améliore la résistance à la sécheresse chez *Lactuca sativa* via une dérégulation spécifique de trois aquaporines (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).
28. Bogusz, D., & Franche, C. (2020). Frankia and the actinorhizal symbiosis. In *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture* (pp. 367-380). Academic Press.
29. Boutchich, G. E. K., Tahiri, S., Mahi, M., Sisouane, M., Kabil, E. M., & El Krati, M. (2016). Effets de différents composts matures à base de boues d'épuration et des substrats organiques sur les propriétés morphologiques et physiologiques de deux variétés de blé. *J. Mater. Environ. Sci*, 7, 5810-5827
30. Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467-483.
31. Burton, M. Elkan, G. 1985. Multiple antibiotic resistance in *rhizobium japonicum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 37 ; 867- 870.
32. Bustamam, H., Hartal, H., Wahyuni, H., & Gusmara, H. (2022). The Effectiveness of the Organic Fertilizer Formula of the PGPR and Biocontrol Agents Consortium

- on the Growth of Leeks and Reduction of Soft Rot Disease. *KnE Life Sciences*, 193-205.
33. Cakmakci, R., Dönmez, M. F., & Erdoğan, Ü. (2007). The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacterial counts. *Turkish journal of agriculture and forestry*, 31(3), 189-199.
  34. Carrim, A. J. I., Barbosa, E. C., & Vieira, J. D. G. (2006). Enzymatic activity of endophytic bacterial isolates of *Jacaranda decurrens* Cham.(Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49, 353-359.
  35. Chaker, H. (2012). Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte: implication des métabolites du tryptophane (Doctoral dissertation, Université de Grenoble).
  36. Chanchal, A. K., Singh, M., Pradhan, A. K., Chakraborty, D., Chattopadhyaya, N., Kumar, S., & Tyagi, S. (2022). Release kinetics and solubilization of insoluble zinc compounds in response to zinc solubilizing bacterial (ZSB) isolates. *Scientist*, 1(3), 1-3.
  37. Chandran, H., Meena, M., & Swapnil, P. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria as a green alternative for sustainable agriculture. *Sustainability*, 13(19), 10986.
  38. Chaparro, J. M., Badri, D. V., and Vivanco, J. M. (2013). Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. *The Isme Journal* 8, 790.
  39. Cherif, H.(2014). Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp. et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides(Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas Sétif 1).
  40. Choudhary, M., Ghasal, P. C., Yadav, R. P., Meena, V. S., Mondal, T., & Bisht, J. K. (2018). Towards plant-beneficiary rhizobacteria and agricultural sustainability. In *Role of rhizospheric microbes in soil* (pp. 1-46). Springer, Singapore.
  41. Dahdah, K., Charchar, N., Bouchaala, L., Nourine, H., Belkabila, N., Melo, J., & Nabti, E. H. (2022). Isolation, in vitro evaluation and construction of Versatile Microbial Consortia. *Cellular and Molecular Biology*, 68(8), 173-181.
  42. Datta, C., & Basu, P. S. (2000). Indole acetic acid production by a *Rhizobium* species from root nodules of a leguminous shrub, *Cajanus cajan*. *Microbiological Research*, 155(2), 123-127.

## Références Bibliographique

43. de Andrade, L. A., Santos, C. H. B., Frezarin, E. T., Sales, L. R., & Rigobelo, E. C. (2023). Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. *Microorganisms*, 11(4), 1088.
44. Djigal, D. (2003). Interactions entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhizienne) et les nématodes bactérivores: effet sur la nutrition minérale et la croissance de différente plante. Diplôme de docteur de 3ème cycle de biologie végétal, 166p
45. Djuuna, I. A. F., Prabawardani, S., & Massora, M. (2022). Population distribution of phosphate-solubilizing microorganisms in agricultural soil. *Microbes and environments*, 37(1), ME21041.
46. Dong CJ, Wang LL, Li Q, Shang QM (2019) Bacterial communities in the rhizosphere, phyllosphere and endosphere of tomato plants. *PLoS One* 14:e0223847
47. Dos Santos, R. M., Diaz, P. A. E., Lobo, L. L. B., & Rigobelo, E. C. (2020). Use of plant growth-promoting rhizobacteria in maize and sugarcane: characteristics and applications. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 136.
48. Drogue, B., Sanguin, H., Chamam, A., Mozar, M., Llauro, C., Panaud, O., ...& Wisniewski-Dyé, F. (2014). Plant root transcriptome profiling reveals a straindependent response during *Azospirillum*-rice cooperation. *Frontiers in plant science*, 5, 607.
49. Duhoux E., NICOLE MICHEL, Selosse M.A. (préf.). (2004). *Biologie végétale : associations et interactions chez les plantes : premier cycle, prépas, CAPES, Pharmacie*. Paris : Dunod, 166 p. (Sciences Sup : Série Atlas). ISBN 2-10-006930-6
50. Etesami, H., Emami, S., & Alikhani, H. A. (2017). Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects A review. *Journal of soil science and plant nutrition*, 17(4), 897-911.
51. Fravel, D. R. (1988). Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annual review of phytopathology*, 26(1), 75-91.
52. Goteti, P. K., Emmanuel, L. D. A., Desai, S., & Shaik, M. H. A. (2013). Prospective zinc solubilising bacteria for enhanced nutrient uptake and growth promotion in maize (*Zea mays* L.). *International journal of microbiology*, 2013.
53. Grobelak, A., Napora, A., & Kacprzak, M. (2015). Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. *Ecological Engineering*, 84, 22-28.

## Références Bibliographique

54. Guan, S. Y., Zhang, D., & Zhang, Z. (1986). Soil enzyme and its research methods. Agricultural, Beijing, 1986, 274-297.
55. Haas, D., & Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature reviews microbiology*, 3(4), 307-319.
56. Haboudane, D., Tremblay, N., Miller, J. R., & Vigneault, P. (2008). Remote estimation of crop chlorophyll content using spectral indices derived from hyperspectral data. *IEEE Transactions on Geoscience and remote Sensing*, 46(2), 423-437.
57. Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M. S., Laraib, I., Siddique, M. J., Zia, R., ...& Imran, A. (2021). Rhizosphere engineering with plant growth-promoting microorganisms for agriculture and ecological sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 16
58. Hartono, H., Nurfitriani, Fais, A., Harniyati, C., Nur, I.H. & Muhammad, J. (2016). Ability of ammonium excretion, indol acetic acid production, and phosphate solubilization of nitrogenfixing bacteria isolated from crop rhizosphere and their effect on plant growth. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences* 11(19): 11735-11741.
59. Hasan, A., Tabassum, B., Hashim, M., & Khan, N. (2023). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as a Plant Growth Enhancer for Sustainable Agriculture : A Review.
60. Hashimi, M. H., Abad, Q., & Noori, G. H. (2023). A review of plant microbiome: Its functions and components. *IJO-International Journal of Agriculture and Research (ISSN 2814-189X)*, 6(02), 10-17.
61. Hassen, A. I., Pierneef, R., Swanevelder, Z. H., & Bopape, F. L. (2020). Microbial and functional diversity of *Cyclopia intermedia* rhizosphere microbiome revealed by analysis of shotgun metagenomics sequence data.
62. He, Y., Wu, Z., Ye, B. C., Wang, J., Guan, X., & Zhang, J. (2016). Viability evaluation of alginate-encapsulated *Pseudomonas putida* Rs-198 under simulated salt-stress conditions and its effect on cotton growth. *European journal of soil biology*, 75, 135-141.
63. Hertenberger, G., Zampach, P., and Bachmann, G. (2002). Plant species affect the concentration of free sugars and free amino acids in different types of soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165, 557-565.

## Références Bibliographique

64. Hossain, M. S., Akhtar, A., Hossain, M. H., Choudhury, M. P., & Islam, F. (2015). Goat husbandry practices in Southern region of Bangladesh. *J. Biosci. Agric. Res*, 5(02), 59-64
65. Hyder, S., Rizvi, Z. F., los Santos-Villalobos, S. D., Santoyo, G., Gondal, A., Khalid, N., ... & Rani, A. (2023). Applications of plant growth-promoting rhizobacteria for increasing crop production and resilience. *Journal of Plant Nutrition*, 46(10), 2551-2580.
66. Irfan, M., Aslam, H., Maqsood, A., Tazeen, S. K., Mahmood, F., & Shahid, M. (2023). Changes in Plant Microbiome in Response to Abiotic Stress. In *Plant Microbiome for Plant Productivity and Sustainable Agriculture* (pp. 99-119). Singapore: Springer Nature Singapore.
67. Islam, S. S., Sen, K., Dutta, S., & Midya, S. (2022). Performance of Rice-Lentil Cropping Under Different Tillage Influencing Soil Suppressiveness: A Short-Term Approach. In *Soil Health and Environmental Sustainability: Application of Geospatial Technology* (pp. 551-577). Cham: Springer International Publishing.
68. Jeyanthi, V., & Kanimozhi, S. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)-prospective and mechanisms: a review. *J Pure Appl Microbiol*, 12(2), 733-749.
69. Jha, C. K., & Saraf, M. (2012). Evaluation of multispecies plant-growth-promoting consortia for the growth promotion of *Jatropha curcas* L. *Journal of plant growth regulation*, 31, 588-598.
70. Joffin J. N & Leyral G. (2006). *Microbiologie technique - Tome 1, Dictionnaire des techniques*, 4ème Ed., Collection Biologie Technique. CRDP d'aquitaine, Bordeaux. 368 p.
71. John C, J., Kumar, S., & Ge, M. (2020). Probiotic prospects of PGPR for green and sustainable agriculture. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(19-20), 899-914.
72. Ju, W., Liu, L., Fang, L., Cui, Y., Duan, C., & Wu, H. (2019). Impact of co-inoculation with plant-growth-promoting rhizobacteria and rhizobium on the biochemical responses of alfalfa-soil system in copper contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 167, 218-226.
73. Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current issues in intestinal microbiology*, 3(2), 39-48.

## Références Bibliographique

74. Khan, A. L., Shahzad, R., Al-Harrasi, A., & Lee, I. J. (2017). Endophytic microbes : a resource for producing extracellular enzymes. *Endophytes : Crop Productivity and Protection : Volume 2*, 95-110.
75. Khan, N., Bano, A. M., & Babar, A. (2020). Impacts of plant growth promoters and plant growth regulators on rainfed agriculture. *PloS one*, 15(4), e0231426.
76. Khan, N., Bano, A., & Zandi, P. (2018). Effects of exogenously applied plant growth regulators in combination with PGPR on the physiology and root growth of chickpea (*Cicer arietinum*) and their role in drought tolerance. *Journal of plant interactions*, 13(1), 239-247.
77. King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 44(2), 301-307.
78. Krzyżaniak, M., & Lemanowicz, J. (2013). Enzymatic activity of the Kuyavia Mollic Gleysols (Poland) against their chemical properties. *Plant, Soil and Environment*, 59(8), 359-365.
79. Kumar, R., Kumar, R., & Prakash, O. (2019). Chapter-5 the impact of chemical fertilizers on our environment and ecosystem. Chief Ed, 35, 69.
80. Kushwaha, A., Baily, S. B., Maxton, A., & Ram, G. D. (2013). Isolation and characterization of PGPR associated with cauliflower roots and its effect on plant growth. *The Bioscan*, 8(1), 95-99.
81. Lemanceau, P., Offre, P., Mougel, C., Gamalero, E., Dessaux, Y., Moenne-Loccoz, Y. and Berta, G., (2006). Microbial ecology of the rhizosphere. In: *Microbiological methods for assessing soil quality*. Bloem, J., Hopkins, D.W. et Benedetti, A. (eds). CABI publishing, Massachusetts, Cambridge, MA, Etats-Unis, pp. 228-230.
82. Li, H., Qiu, Y., Yao, T., Ma, Y., Zhang, H., & Yang, X. (2020). Effects of PGPR microbial inoculants on the growth and soil properties of *Avena sativa*, *Medicago sativa*, and *Cucumis sativus* seedlings. *Soil and Tillage Research*, 199, 104577.
83. Luo, J., Zhou, J. J., & Zhang, J. Z. (2018). Aux/IAA gene family in plants: molecular structure, regulation, and function. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 259.
84. Malcheva, B., Hristov, B., Gushterova, A., Malinova, L., Pavlov, P., & Petrova, K. (2023). Response of catalase activity of soil microorganisms according to microbial

- biomass carbon in forest ecosystems from natural park “VITOSHA”. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 24(2), 446-458.
85. Mathur, A., Jain, R., & Singh, D. (2023). Screening of Multi-Traits PGPR isolates for their potential as Growth Promoters for Wheat plantation.
86. Mauricio I(2010) . Étude de l’encapsulation de rhizobactéries pour la biofertilisation du blé. Thèse de Doctorat. Université de NANTES UFR sciences et techniques.
87. Meena, M., Swapnil, P., Divyanshu, K., Kumar, S., Tripathi, Y. N., Zehra, A., ...& Upadhyay, R. S. (2020). PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives. *Journal of Basic Microbiology*, 60(10), 828-861.
88. Mekonnen, H., & Kibret, M. (2021). The roles of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable vegetable production in Ethiopia. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8(1), 1-11.
89. Mirza, M., Ahmad, W., Latif, F., Haurat, J., Bally, R., Normand, P., & Malik, K. A.(2001). Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (pGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro *Plant and Soil*, 237(1), 47–54.
90. Mishra, D., Rajvir, S., Mishra, U., & Kumar, S. S. (2013). Role of bio-fertilizer in organic agriculture: a review. *Research Journal of Recent Sciences ISSN*, 2277, 2502.
91. Mohanty, P., Singh, P. K., Chakraborty, D., Mishra, S., & Pattnaik, R. (2021). Insight into the role of PGPR in sustainable agriculture and environment. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 667150.
92. Moreira, Z. P. M., Chen, M. Y., Ortuno, D. L. Y., & Haney, C. H. (2023). Engineering plant microbiomes by integrating eco-evolutionary principles into current strategies. *Current Opinion in Plant Biology*, 71, 102316.
93. Munees A, Mulugetakibret. (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, *Journal of King Saud University-Science*, January Volume 26, Issue 1, p 1-20
94. Modi, K., Patel, P., & Parmar, K. (2017). Isolation, screening and characterization of PGPR from rhizosphere of rice. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 5(3), 264-270.

## Références Bibliographique

95. Nagórska, K., Bikowski, M., & Obuchowski, M. (2007). Multicellular behaviour and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrol agent. *Acta Biochimica Polonica*, 54(3), 495-508.
96. Narula, N., Kothe, E., & Behl, R. K. (2012). Role of root exudates in plant-microbe interactions. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 82(2), 122-130.
97. Nwachukwu, B. C., & Babalola, O. O. (2022). Metagenomics: A tool for exploring key microbiome with the potentials for improving sustainable agriculture. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 886987.
98. Padmaperuma, G., Butler, T. O., Shuhaili, F. A. A., Almalki, W. J., & Vaidyanathan, S. (2020). Microbial consortia: Concept and application in fruit crop management. In *Fruit crops* (pp. 353-366). Elsevier.
99. Pikovskaya, R. I. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* 17, 362–370
100. Pinton, R., Varanini, Z., & Nannipieri, P. (2007). *The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. CRC press.
101. Prasad, M., Srinivasan, R., Chaudhary, M., Choudhary, M., & Jat, L. K. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture: perspectives and challenges. *PGPR amelioration in sustainable agriculture*, 129-157.
102. Probanza, A., Lucas Garcia, J. A., et al. (2002). Pinus pineal seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus*. *Applied Soil Ecology*, 20: 75-84..
103. Raghothama, K. G., & Karthikeyan, A. S. (2005). Phosphate acquisition. *Plant and Soil*, 274, 37-49.
104. Raghothama, K. G., & Karthikeyan, A. S. (2005). Phosphate acquisition. *Plant and Soil*, 274, 37-49.
105. Rahmoune, B., Morsli, A., Khelifi-Slaoui, M., Khelifi, L., Strueh, A., Erban, A., ... & van Dongen, J. T. (2017). Isolation and characterization of three new PGPR and their effects on the growth of *Arabidopsis* and *Datura* plants. *Journal of plant interactions*, 12(1), 1-6.
106. Rahmoune, B. (2017). Effet des PGPRs sur le développement de la plante et la teneur en métabolites primaires et secondaires chez *Datura* sp (Doctoral dissertation, Ecole Nationale Supérieure Agronomique).

## Références Bibliographique

107. Raja, P., Uma, S., Gopal, H., & Govindarajan, K. (2006). Impact of bio inoculants consortium on rice root exudates, biological nitrogen fixation and plant growth. *J Biol Sci*, 6(5), 815-823.
108. Ramadan, E. M., AbdelHafez, A. A., Hassan, E. A., & Saber, F. M. (2016). Plant growth promoting rhizobacteria and their potential for biocontrol of phytopathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 10(15), 486-504.
109. Ramamoorthy, V., R. Viswanathan, T. Raghuchander, V. Prakasamet R. Samiyappan (2001). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Prot.* 20:1–11.
110. Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Grewal, A. S., ... & Kaushal, J. (2021). An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of cleaner production*, 283, 124657.
111. Raza, W., Yousaf, S., Rajer, F. U. (2016). Plant growth promoting activity of volatile organic compounds produced by Bio-control strains. *Sci. Lett.* 4: 40-43.
112. Reddy, P. P. (2014). Potential role of PGPR in agriculture. In *Plant growth promoting Rhizobacteria for horticultural crop protection* (pp. 17-34). Springer, New Delhi.
113. Rehman, F. U., Kalsoom, M., Adnan, M., Toor, M., & Zulfiqar, A. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria and their mechanisms involved in agricultural crop production: A review. *SunText Rev. Biotechnol*, 1(2), 1-6.
114. Rodge, S. P., Sable, S. K., Salve, S. K., Sawant, S. A., & Patil, N. P. (2016). Isolation and Characterization of PGPR from Roots of *Ficus religiosa* growing on Concrete Walls and its Effect on Plant Growth in Drought Condition. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 5(9), 583-593.
115. Rodriguez, P. A., Rothballer, M., Chowdhury, S. P., Nussbaumer, T., Gutjahr, C., & Falter-Braun, P. (2019). Systems biology of plant-microbiome interactions. *Molecular plant*, 12(6), 804-821
116. Rodriguez, P. A., Rothballer, M., Chowdhury, S. P., Nussbaumer, T., Gutjahr, C., & Falter-Braun, P. (2019). Systems biology of plant-microbiome interactions. *Molecular plant*, 12(6), 804-821.
117. Rojas-Padilla, J., De-Bashan, L. E., Parra-Cota, F. I., Rocha-Estrada, J., & de Los Santos-Villalobos, S. (2022). Microencapsulation of *Bacillus* Strains for Improving

- Wheat (*Triticum turgidum* Subsp. *durum*) Growth and Development. *Plants*, 11(21), 2920.
118. Rokka, S., & Rantamäki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*, 231(1), 1-12.
  119. Rosa, A. P., Dias, T., Mouazen, A. M., Cruz, C., & Santana, M. M. (2023). Finding optimal microorganisms to increase crop productivity and sustainability under drought—a structured reflection. *Journal of Plant Interactions*, 18(1), 2178680.
  120. Rout, M. E. (2014). The plant microbiome. In *Advances in botanical research* (Vol. 69, pp. 279-309). Academic Press.
  121. Saad, M. M., Eida, A. A., & Hirt, H. (2020). Tailoring plant-associated microbial inoculants in agriculture: a roadmap for successful application. *Journal of Experimental Botany*, 71(13), 3878-3901.
  122. Saadaoui, N., Silini, A., Cherif-Silini, H., Bouket, A. C., Alenezi, F. N., Luptakova, L., ... & Belbahri, L. (2022). Semi-arid-habitat-adapted plant-growth-promoting rhizobacteria allows efficient wheat growth promotion. *Agronomy*, 12(9), 2221.
  123. Saberi Riseh, R., Skorik, Y. A., Thakur, V. K., Moradi Pour, M., Tamanadar, E., & Noghabi, S. S. (2021). Encapsulation of plant biocontrol bacteria with alginate as a main polymer material. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 11165.
  124. Saharan, B. S., & Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sci Med Res*, 21(1), 30.
  125. Sahgal, M., Johri, B. N. (2006). Taxonomy of Rhizobia: current status. *Current science*
  126. Saif, S., Abid, Z., Ashiq, M. F., Altaf, M., & Ashraf, R. S. (2021). Biofertilizer formulations. *Biofertilizers: Study and Impact*, 211-256.
  127. Samain, E., Duclercq, J., Ait Barka, E., Eickermann, M., Ernenwein, C., Mazoyon, C., ... & Selim, S. (2023). PGPR-Soil Microbial Communities' Interactions and Their Influence on Wheat Growth Promotion and Resistance Induction against *Mycosphaerella graminicola*. *Biology*, 12(11), 1416.
  128. Santos, L. F., & Olivares, F. L. (2021). Plant microbiome structure and benefits for sustainable agriculture. *Current Plant Biology*, 26, 100198
  129. Saxena, J. (2011). Efficacy of rhizobacterial strains encapsulated in nontoxic biodegradable gel matrices to promote growth and yield of wheat plants. *Applied soil ecology*, 48(3), 301-308.

130. Sayyed, R. Z. (Ed.). (2019). Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management : Volume 2 : Rhizobacteria in Biotic Stress Management (Vol. 13). Springer Nature.
131. Schloter, M., & Hartmann, A. (1998). Endophytic and surface colonization of wheat roots (*Triticum aestivum*) by different *Azospirillum brasilense* strains studied with strain-specific monoclonal antibodies. *Symbiosis*
132. Schoebitz, M., López, M. D., & Roldán, A. (2013). Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil–plant fertilization. A review. *Agronomy for sustainable development*, 33, 751-765.
133. Seth D. Hothem , Karen A. Marley & Richard A. Larson (2003) Photochemistry in Hoagland's Nutrient Solution, *Journal of Plant Nutrition*, 26:4, 845-854, DOI: 10.1081/PLN-120018569
134. Shah, A., Nazari, M., Antar, M., Msimbira, L. A., Naamala, J., Lyu, D., ... & Smith, D. L. (2021). PGPR in agriculture : A sustainable approach to increasing climate change resilience. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 667546.
135. Shaikh, S. S., Wani, S. J., & Sayyed, R. Z. (2018). Impact of interactions between rhizosphere and rhizobacteria: a review. *J Bacteriol Mycol*, 5(1), 1058.
136. Sharma, S. K., Singh, U. B., Sahu, P. K., Singh, H. V., & Sharma, P. K. (Eds.). (2020). *Rhizosphere Microbes: Soil and Plant Functions* (p. 23). Berlin/Heidelberg, Germany: Springer.
137. Sharma, V., Kaur, J., & Sharma, S. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria: potential for sustainable agriculture. *Bioteconología Vegetal*, 20(3), 157-166. a
138. Singh, A., Yadav, V. K., Chundawat, R. S., Soltane, R., Awwad, N. S., Ibrahim, H. A., ... & Vicas, S. I. (2023). Enhancing plant growth promoting rhizobacterial activities through consortium exposure: A review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1099999.
139. Singh, J.s.2016.plant Growth promoting Rhizobacteria , *Résonance* 18,275.281
140. Sraphet, S., & Javadi, B. (2022). Unraveling techniques for plant microbiome structure analysis. *Diversity*, 14(3), 206.
141. Symanczik, S., Mäder, P., & Romano, I. (2022). Biofertilisants
142. Tariq, M. R., Shaheen, F., Mustafa, S., Sajid, A. L. I., Fatima, A., Shafiq, M., ... & Nasir, M. A. (2022). Phosphate solubilizing microorganisms isolated from medicinal plants improve growth of mint. *PeerJ*, 10, e13782.

143. Tian, T., Reverdy, A., She, Q., Sun, B., & Chai, Y. (2020). The role of rhizodeposits in shaping rhizomicrobiome. *Environmental Microbiology Reports*, 12(2), 160-172.
144. Tian, T., Reverdy, A., She, Q., Sun, B., & Chai, Y. (2020). The role of rhizodeposits in shaping rhizomicrobiome. *Environmental Microbiology Reports*, 12(2), 160-172.
145. Trevors, J. T. & VanElsas, J. D. (1997). Microbial Interactions in soil. In: VanElsas, J. D., Trevors, J. T. & Wellington, E. M. H. (eds) *Modern soil microbiology*. Marcel Dekker, INC. New York. 215-243.
146. Turner, T. R., James, E. K., & Poole, P. S. (2013). The plant microbiome. *Genome biology*, 14(6), 1-10.
147. Ulloa-Ogaz, A. L., Muñoz-Castellanos, L. N., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2015). Biocontrol of phytopathogens: antibiotic production as mechanism of control. The battle against microbial pathogens: basic science, Technological advances and educational programs, 305-309.
148. Van Loon, L. C., Bakker, P. A. M., & Pieterse, C. M. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453–483.
149. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. *Molecules*, 21(5), 573.
150. Vejan, P., Khadiran, T., Abdullah, R., Ismail, S., & Dadrasnia, A. (2019). Encapsulation of plant growth promoting Rhizobacteria—prospects and potential in agricultural sector: a review. *Journal of Plant Nutrition*, 42(19), 2600-2623.
151. Vidyalakshmi, R., Paranthaman, R., & Indhumathi, J. (2009). Amylase production on submerged fermentation by *Bacillus* spp. *World Journal of Chemistry*, 4(1), 89-91.
152. Vincent, J. M. (1970). *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria.
153. Wang, F., Zhang, X., Zhang, S., Zhang, S., & Sun, Y. (2020). Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil. *Chemosphere*, 254, 126791.
154. War, S., & Shaktawat, M. S. (2003). Influence of phosphorus sources, levels and solubilizers on yield, quality and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*)—wheat (*Triticum aestivum*) cropping system in southern Rajasthan. *Indian J Agric Sci*, 73(1), 3-7.

## Références Bibliographique

155. Wickramasinghe, W. R. K. D. W. K. V., Girija, D., & Gopal, K. S. (2021). Native Multiphasic Plant Growth Promoting Rhizobacteria Consortia for Growth and Yield of Rice.
156. Yasmin, H., Naz, R., Nosheen, A., Hassan, M. N., Ilyas, N., Sajjad, M., ... & Geng, Z. (2020). Identification of new biocontrol agent against charcoal rot disease caused by *Macrophomina phaseolina* in soybean (*Glycine max* L.). *Sustainability*, 12(17), 6856.

<https://boowiki.info/art/les-reactifs-chimiques/reactif-de-nessler.html>

# **Annexes**

## Composition des milieux de cultures

### Annexe 1 : Composition de milieu King B en g/L (King et al., 1954)

Peptone .....	20,0 g/L
Glycérol .....	10 mL
Phosphate dipotassique .....	1,5 g/L
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O) .....	1,5 g/L
Agar agar bactériologique .....	15 g/L
Ph : 7,2 ± 0,2	

### Annexe 2 : Composition de milieu Yeast Extract-Mannitol (YEM) en g/L ( Vincent, 1970).

Phosphate dipotassique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ).....	0,5 g/L
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O) .....	0,2 g/L
Chlorure de sodium (NaCl) .....	0,1 g/L
Extrait de levure .....	0,6 g/L
Mannitol .....	10 g/L
Agar .....	15 g/L
pH : 6,8	

### Annexe 3 : Composition de solution nutritif

Peptone.....	5 g/L
Extrait de viande .....	1 g /L
Extrait de levure .....	2 g/L
Chlorure de sodium .....	5 g/L
pH : 7	

### Annexe 4 : Composition de milieu Ashby sans azote en ( g/L)

Mannitol .....	20 g/l
Hydrogénophosphate de potassium (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) .....	0,20 g/L
Sulfate de magnésium (MgSO <sub>4</sub> ) .....	0,20 g/L
Chlorure de sodium (NaCl) .....	0,20 g/L
Sulfate de potassium (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) .....	0,10 g/L

Carbonate de calcium (CaCO <sub>3</sub> ) .....	05 g/L
Agar .....	15 g/L
Eau distillée .....	1000 mL

**Annexe 5 :** Composition de milieu Pikovskaya en g/L

Extrait de levure .....	0,50 g/L
Dextrose (Glucose) .....	10 g/L
Phosphate de calcium ( Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ) .....	05 g/L
Sulfate d'ammonium ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) .....	0,5 g/L
Chlorure de potassium (KCl) .....	0,2 g/L
Sulfate de magnésium (MgSO <sub>4</sub> ) .....	0,1 g/L
Sulfate de manganèse (MnSO <sub>4</sub> ) .....	0,0001 g/L
Sulfate de fer (FeSO <sub>4</sub> ) .....	0,0001 g/L
Agar .....	15 g/L
Eau distillée .....	1000 mL

pH :7

**Annexe 6 :** Composition de milieu de solubilisation de zinc en g/L

Glucose .....	20 g/L
Sulfate d'ammonium ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) .....	0,2 g/L
Chlorure de potassium (KCl) .....	0,4 g/L
Hydrogénophosphate de potassium ( K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) .....	0,2 g/L
Sulfate de magnésium (MgSO <sub>4</sub> ) .....	0,4 g/L
Oxyde de zinc (ZnO) .....	0,1%
Agar .....	15 g/L
Eau distillée .....	1000 mL

pH= 6,8

**Annexe 7 :** Composition du typton sel (bouillon) en g/L (l'eau peptonée)

Peptone de caséine .....	10 g /L
Chlorure de sodium (NaCl) .....	5g /L
Eau distillée .....	1000 mL

**Annexe 8 : Préparation de réactif Nessler**

35 g d'iodure de potassium ont été dissous dans 100 ml d'eau distillée. Ensuite, une solution de chlorure mercurique (2+) à 4% a été ajoutée jusqu'à ce qu'un précipité rouge se forme, nécessitant normalement environ 325 ml.

Sous agitation, une solution de 120 g d'hydroxyde de sodium a été ajoutée à 250 ml d'eau distillée, suivie de l'ajout d'eau distillée jusqu'à atteindre un volume total de 1 litre. En cas de turbidité persistante, quelques gouttes de solution de chlorure mercurique ont été ajoutées.

Le mélange a été laissé reposer pendant une journée, puis les éventuels sédiments ont été filtrés. Il a été stocké dans des bouteilles en verre foncé.

**Annexe 9 : Composition de milieu de production d'amylase en g/L**

Nitrate de potassium (KNO <sub>3</sub> ) .....	0,5 g/L
Hydrogénophosphate de potassium (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) .....	1 g/L
Sulfate de magnésium (MgSO <sub>4</sub> ) .....	0,2 g/L
Chlorure de calcium (CaCl <sub>2</sub> ).....	0,1 g/L
Chlorure ferrique (FeCl <sub>3</sub> ) .....	0,001 g/L
Amidon soluble .....	10 g/L
Agar .....	15 g/L
Eau distillée .....	1000 mL

pH : 7,2

**Annexe 10 : Composition de milieu de production de protéase en g/L**

Caséine pancréatique .....	5 g/L
Extrait de levures .....	2,5 g/L
Glucose .....	1 g/L
Solution de lait écrémé a 10 % .....	100 mL
Agar .....	15 g/L
Eau distillée .....	1000 mL

pH : 7

**Annexe 11** : Composition de milieu de production estérasiqque et lipasiqque en g/L

Peptone .....	10 g/L
Chlorure de sodium (NaCl).....	5 g/L
Chlorure de calcium (CaCl <sub>2</sub> ).....	0,1 g/L
Tween 80 ( Tween 20 ) .....	1%
Agar .....	15 g/L
Eau distillée .....	1000 mL
pH : 7,4	

**Annexe 12** : Solution nutritive équilibrée de Hoagland ( Seth et al., 2003).

MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	2mL (L24.6 g/100 mL)
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O.....	5 mL (L23.6 g/100 mL)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1 mL/L (13.6 g/100 mL)
KNO <sub>3</sub> .....	5 mL/L (10.1 g/100 mL)
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	1 mL/L (2.86 g/L)
MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O .....	1 mL/L (1.82 g/L)
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.....	1 mL/L (0.22 g/L)
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O .....	1 mL/L (0.09 g/L)
MoO <sub>3</sub> .....	1 mL/L (0.01 g/L)
Fe-DTPA .....	50 mg/L

**Analyses statistiques****Analyses statistiques de l'évolution de la croissance des plantes de blé****Annexe 13** :Effet des formules sur la croissance de blé à la première semaine.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	95,1675	15	6,3445	1,83	<b>0,05</b>	<b>S (*)</b>
Résiduelle	166,49	48	3,46854			
Total	261,657	63				

## Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
F6	6,2	X
T1	8,175	XX
F7	8,7	XXX
F12	8,8	XXX
F1	8,85	XX
F9	8,875	XX
F13	9,125	XXX
F2	9,15	XXX
S	9,275	XXX
F11	9,35	XXX
F10	9,45	XXX
F14	9,875	XXX
F8	10,35	XXX
F4	10,625	XXX
F5	10,975	XX
F3	11,725	X

**Annexe 14** : Effet des formules sur la croissance de blé à la deuxième semaine.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	132,027	15	8,80182	1,40	0,1858	NS
Résiduelle	301,708	48	6,28557			
Total	433,735	63				

**Annexe 15** : Effet des formules sur la croissance de blé à la 3eme semaine.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	259,88	15	17,3253	1,86	0,05	S
Résiduelle	447,058	48	9,3137			
Total	706,937	63				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
T1	22,8	X
F4	24,35	XX
F1	25,2	XXX
S	25,575	XXX
F2	25,825	XXXX
F14	26,325	XXXXX
F9	27,1	XXXXX
F12	27,225	XXXX
F11	27,275	XXXX
F6	27,425	XXXX
F13	27,45	XXXX
F7	28,275	XXXX
F8	29,15	XXX
F10	29,4	XXX
F5	30,025	XX
F3	30,425	X

**Annexe 16** : Effet des formules sur la croissance de blé à la 4eme semaine.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	139,223	15	9,2815	1,49	0,1476	NS
Résiduelle	299,295	48	6,23531			
Total	438,518	63				

**Annexe 17** : Effet des formules sur la croissance de blé à la 5eme semaine.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	341,891	15	22,7927	5,43	0,0000	THS
Résiduelle	201,588	48	4,19974			
Total	543,479	63				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
T1	24,75	X

F12	26,825	XX
S	27,525	XXX
F11	28,475	XXX
F14	28,475	XXX
F7	28,825	XXX
F4	29,475	XXX
F5	29,825	XX
F2	29,875	XX
F8	30,075	XX
F1	30,175	XXX
F9	30,475	XXX
F13	31,15	XXXX
F10	33,025	XXX
F3	33,25	XX
F6	33,875	X

**Annexe 18** : Effet des formules sur la croissance de blé à la 6eme semaine (fin de culture).

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	278,227	15	18,5485	4,61	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	193,167	48	4,02432			
Total	471,395	63				

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
T1	25,375	X
F11	28,825	X
S	29,525	XX
F5	30,075	XXX
F14	30,2	XXX
F12	30,225	XXX
F7	30,25	XXX
F8	30,475	XXX
F1	30,9	XXXX
F13	31,65	XXXX
F2	31,675	XXXX
F9	32,0	XXXX
F3	32,5	XXX
F4	32,7	XXX
F10	33,625	XX
F6	34,775	X

**Annexe 19** : Effet des formules sur la longueur des racines

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	1232,85	15	82,19	2,19	0,0205	<b>S</b>
Résiduelle	1801,69	48	37,5353			
Total	3034,54	63				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
F11	29,75	X
S	31,25	XX
F12	33,5	XXX
T1	34,075	XXX
F13	34,125	XXX
F5	35,125	XXXX
F10	35,5	XXXX
F8	36,0	XXXXX
F2	36,15	XXXXX
F1	36,525	XXXXX
F14	38,55	XXXXX
F7	39,0	XXXXX
F9	40,125	XXXX
F6	43,25	XXX
F3	44,5	X
F4	45,625	X

**Annexe 20** : Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	2,7121	15	0,180807	3,52	0,0005	<b>THS</b>
Résiduelle	2,46513	48	0,0513568			
Total	5,17722	63				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
T1	0,5425	X
F14	0,575	X
S	0,6425	XX
F13	0,71	XXX
F12	0,765	XXX
F4	0,775	XXX
F1	0,79	XXX
F5	0,8075	XXX
F7	0,9025	XXX
F11	0,905	XXX
F10	0,965	XX
F8	1,0	XXX
F9	1,0225	XXX
F2	1,0275	XXX
F6	1,2025	X
F3	1,305	X

**Annexe 21** : Effet des formules sur le poids sec de la partie aérienne

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	0,0757859	15	0,0050524	1,84	0,05	<b>S</b>
Résiduelle	0,131475	48	0,00273906			
Total	0,207261	63				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
T1	0,1225	X
S	0,1325	XX
F14	0,14	XX
F12	0,1475	XX
F13	0,1475	XX
F5	0,1525	XX
F7	0,155	XX
F8	0,1575	XX
F1	0,1625	XXX
F4	0,1675	XXX
F10	0,1825	XXXX

F6	0,185	XXXX
F9	0,19	XXXX
F11	0,205	XXX
F3	0,235	XX
F2	0,25	X

**Annexe 22** : Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	0,191275	15	0,0127517	6,96	0,0000	<b>THS</b>
Résiduelle	0,0879	48	0,00183125			
Total	0,279175	63				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
F14	0,075	X
F13	0,0775	XX
T1	0,0825	XXX
S	0,085	XXX
F11	0,105	XXXX
F1	0,12	XXXXX
F12	0,1375	XXXXX
F2	0,1425	XXXX
F8	0,1425	XXXX
F5	0,1475	XXX
F7	0,155	XXXX
F9	0,1725	XXX
F10	0,19	XX
F3	0,21	X
F4	0,2125	X
F6	0,275	X

**Annexe 23** : Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	0,0192715	15	0,00128477	4,15	0,0001	<b>THS</b>
Résiduelle	0,0148438	48	0,000309245			
Total	0,0341152	63				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
F1	0,0375	X
T1	0,04	XX
F13	0,04	XX
F11	0,045	XXX
S	0,045	XXX
F14	0,05	XXX
F7	0,055	XXX
F2	0,05625	XXX
F12	0,0575	XXX
F5	0,06	XXXX
F9	0,0625	XXXXX
F4	0,065	XXXX
F8	0,07	XXX
F10	0,085	XXX
F6	0,0875	XX
F3	0,0975	X

**Annexe 24 : Effet des formules sur le taux du phosphore**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	56801,6	15	3786,77	2,55	0,0130	<b>S</b>
Résiduelle	47602,3	32	1487,57			
Total	104404,	47				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
F5	182,203	X
F4	185,028	X
T1	225,989	XX
F2	226,93	XX
F6	236,817	XX
F1	255,65	XX
F8	255,65	XX
F7	259,416	XX
F9	259,887	XX
F3	271,186	XX
S	271,186	XX

F13	280,603	XX
F14	282,015	XX
F10	285,782	XX
F11	288,606	XX
F12	307,439	X

**Annexe 25** : Effet des formules sur le teneur en chlorophylle a

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité	Significativité
Formules	50,8705	15	3,39137	2,34	0,0212	<b>S</b>
Résiduelle	46,2988	32	1,44684			
Total	97,1693	47				

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyenne	Groupes homogène
F1	8,58892	X
F5	10,4159	XX
F10	10,9513	XX
F6	11,4812	XXX
F2	11,6332	XXX
F11	11,6794	XXX
F9	11,7422	XXX
T1	11,7904	XXX
F7	11,9209	XXX
S	11,9563	XXX
F8	12,0797	XXX
F3	12,2691	XXX
F13	12,3294	XXX
F12	12,3908	XXX
F14	12,819	XX
F4	13,2159	X

**Analyses statistiques de l'évolution de la croissance des plantes de blé sol contaminé**

**Annexe 26** : Effet des formules sur la croissance de blé à la première semaine dans les deux types de sol.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Traitement	61,2345	9	6,80383	1,81	<b>0,0859</b>

B:Type de sol	102,605	1	102,605	27,22	<b>0,0000</b>
AB :Interaction	74,0155	9	8,22394	2,18	<b>0,0359</b>
Résiduelle	226,145	60	3,76908		
Total	464,0	79			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
F6	8,9375	X
T1	9,2375	X
S	10,125	XX
F13	10,15	XX
F9	10,475	XX
F3	10,6125	XX
F12	10,825	XX
F14	11,475	X
F4	11,5375	X
F5	11,6	X

**Annexe 27:** Effet des formules sur la croissance de blé à la deuxième semaine dans les deux types de sol.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Traitement	131,236	9	14,5817	2,77	<b>0,0088</b>
B:Type de sol	57,4605	1	57,4605	10,93	<b>0,0016</b>
AB	103,512	9	11,5013	2,19	<b>0,0354</b>
Résiduelle	315,42	60	5,257		
Total	607,628	79			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
T1	17,8875	X
S	19,0	XX
F6	20,3	XX
F13	20,3625	XX
F3	20,4	XX
F9	20,7375	XX
F4	21,1625	XX

F12	21,4	X
F14	22,0625	X
F5	22,3875	X

**Annexe 28** : Effet des formules sur la croissance de blé à la 3<sup>ème</sup> semaine dans les deux types de sol.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Traitement	212,89	9	23,6544	2,74	<b>0,0096</b>
B:Type de sol	22,6845	1	22,6845	2,62	<b>0,1105</b>
AB	167,573	9	18,6192	2,15	<b>0,0383</b>
Résiduelle	518,56	60	8,64267		
Total	921,707	79			

#### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
T1	22,8875	X
F4	24,7	XX
S	24,9875	XXX
F9	26,175	XXX
F13	26,6	XXX
F5	26,6375	XXX
F6	27,3375	XXX
F14	27,6	XXX
F3	27,8375	XX
F12	28,6125	X

**Annexe 29**: Effet des formules sur la croissance de blé à la 4<sup>ème</sup> semaine dans les deux types de sol.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Traitement	73,7256	9	8,19174	1,36	<b>0,2263</b>
B:Type de sol	17,7661	1	17,7661	2,95	<b>0,0910</b>
AB	103,923	9	11,547	1,92	<b>0,0664</b>
Résiduelle	361,207	60	6,02012		
Total	556,622	79			

**Annexe 30:** Effet des formules sur la croissance de blé à la 5<sup>ème</sup> semaine dans les deux types de sol.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Traitement	197,43	9	21,9367	5,98	<b>0,0000</b>
B:Type de sol	15,3125	1	15,3125	4,18	<b>0,0454</b>
AB	176,563	9	19,6181	5,35	<b>0,0000</b>
Résiduelle	219,965	60	3,66608		
Total	609,27	79			

### Test LSD de de Fisher

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
T1	25,5	X
S	27,3875	XX
F4	29,0	XX
F14	29,05	XX
F5	29,325	X
F12	29,45	X
F9	29,5	X
F13	30,1375	XX
F3	30,4375	XX
F6	31,4625	X

**Annexe 31:** Effet des formules sur la croissance de blé à la 6<sup>ème</sup> semaine dans les deux types de sol.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Traitement	221,265	9	24,5851	8,29	<b>0,0000</b>
B:Type de sol	12,6405	1	12,6405	4,26	<b>0,0434</b>
AB	112,267	9	12,4741	4,20	<b>0,0003</b>
Résiduelle	178,045	60	2,96742		
Total	524,218	79			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
T1	26,375	X
S	29,0125	X
F3	30,3125	XX
F14	30,3625	XX
F5	30,4875	XXX
F9	31,1625	XXX
F13	31,175	XXX
F12	31,6625	XXX
F4	32,2	XX
F6	32,3	X

**Annexe 32:** Effet des formules sur la longueur des racines dans les deux types de sol

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Formules	1211,94	9	134,66	4,85	<b>0,0001</b>
B:Type de sol	2454,22	1	2454,22	88,47	<b>0,0000</b>
AB	202,229	9	22,4698	0,81	<b>0,6089</b>
Résiduelle	1664,44	60	27,7407		
Total	5532,83	79			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
S	27,125	X
T1	28,0375	X
F5	29,3	X
F13	29,4375	X
F12	31,625	XX
F14	31,775	XX
F9	35,1875	XX
F6	36,5	XX
F3	37,25	X
F4	38,5	X

**Annexe 33:** Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne dans les deux types de sol

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Formules	1,32885	9	0,147651	3,89	<b>0,0006</b>
B:Type de sol	0,004805	1	0,004805	0,13	<b>0,7234</b>
AB	1,90242	9	0,21138	5,56	<b>0,0000</b>
Résiduelle	2,2802	60	0,0380033		
Total	5,51628	79			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
T1	0,605	X
F14	0,7025	X
F5	0,72625	X
S	0,77125	XX
F13	0,78625	XXX
F4	0,7925	XXX
F12	0,94875	XXX
F9	0,96375	XXX
F3	0,97	XX
F6	1,00375	X

**Annexe 34 :** Effet des formules sur le poids sec de la partie aérienne dans les deux types de sol

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Formules	0,0203513	9	0,00226125	2,42	<b>0,0204</b>
B:Type de sol	0,0292613	1	0,0292613	31,31	<b>0,0000</b>
AB	0,0357513	9	0,00397236	4,25	<b>0,0003</b>
Résiduelle	0,056075	60	0,000934583		
Total	0,141439	79			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
T1	0,115	X
F5	0,12625	XX
F14	0,12875	XX
F13	0,1325	XXX
S	0,145	XXXX
F4	0,15	XXX
F9	0,15	XXX
F12	0,15125	XXX
F6	0,16125	XX
F3	0,16875	X

**Annexe 35:** Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire dans les deux types de sol

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Formules	0,125526	9	0,0139474	13,78	<b>0,0000</b>
B:Type de sol	0,0621612	1	0,0621612	61,42	<b>0,0000</b>
AB	0,0658763	9	0,00731958	7,23	<b>0,0000</b>
Résiduelle	0,060725	60	0,00101208		
Total	0,314289	79			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
T1	0,06625	X
S	0,0775	X
F14	0,0775	X
F13	0,09	X
F5	0,1225	X
F9	0,12625	X
F12	0,13	X
F3	0,15	XX
F4	0,1625	XX
F6	0,19375	X

**Annexe 36** : Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire dans les deux types de sol

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Formules	0,00825125	9	0,000916806	4,37	<b>0,0002</b>
B:Type de sol	0,00820125	1	0,00820125	39,13	<b>0,0000</b>
AB	0,00726125	9	0,000806806	3,85	<b>0,0007</b>
Résiduelle	0,012575	60	0,000209583		
Total	0,0362888	79			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
T1	0,03375	X
F13	0,03875	XX
F14	0,0425	XXX
S	0,045	XXXX
F5	0,04875	XXXX
F9	0,05125	XXXX
F12	0,05625	XXXX
F4	0,0575	XXX
F6	0,0625	XX
F3	0,0675	X

**Annexe 37**: Effet des formules sur la teneur en Phosphore assimilable dans les deux types de sol

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Formules	22130,4	9	2458,93	2,47	<b>0,0240</b>
B:Type de sol	2264,97	1	2264,97	2,28	<b>0,1393</b>
AB	108644,	9	12071,5	12,13	<b>0,0000</b>
Résiduelle	39810,0	40	995,251		
Total	172849,	59			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
F14	222,928	X
T1	223,164	X
F13	229,991	X
F4	231,168	X
F9	235,876	X
F12	244,35	X
F5	251,412	X
S	256,121	XX
F6	257,062	XX
F3	288,842	X

**Annexe 38:** Effet des formules sur la teneur en chlorophylle a dans les deux types de sol

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Formules	17,1687	9	1,90764	1,04	<b>0,4281</b>
B:Type de sol	19,0686	1	19,0686	10,37	<b>0,0025</b>
AB	6,91425	9	0,76825	0,42	<b>0,9178</b>
Résiduelle	73,5291	40	1,83823		
Total	116,681	59			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
F5	10,3937	X
F6	10,8716	XX
T1	11,0556	XX
F9	11,4014	XX
F12	11,5948	XX
F14	11,7024	XX
F3	11,743	XX
F13	11,7434	XX
S	11,9463	XX
F4	12,3205	X

**Annexe 39** : Effet des formules sur le teneur en chlorophylle b dans les deux types de sol

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Formules	14,4062	9	1,60069	0,38	<b>0,9385</b>
B:Type de sol	3,38964	1	3,38964	0,80	<b>0,3759</b>
AB	29,2217	9	3,24685	0,77	<b>0,6460</b>
Résiduelle	169,091	40	4,22727		
Total	216,108	59			

**Annexe 40**: Effet des formules sur l'activité catalase dans les deux types de sol

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
A:Formules	0,010735	9	0,00119278	6,28	<b>0,0000</b>
B:Type de sol	0,00461127	1	0,00461127	24,30	<b>0,0000</b>
AB	0,00696807	9	0,00077423	4,08	<b>0,0009</b>
Résiduelle	0,007592	40	0,0001898		
Total	0,0299063	59			

**Test LSD de de Fisher**

Traitements	Moyennes	Groupes homogène
T1	0,0993333	X
S	0,112667	XX
F4	0,121	XX
F9	0,121333	XX
F5	0,128	XX
F13	0,131	X
F12	0,133667	X
F3	0,135333	XX
F14	0,135667	XX
F6	0,150333	X

## Annexe 41 : Matériels supplémentaire

## 1. Etude du potentiel biostimulant des formules

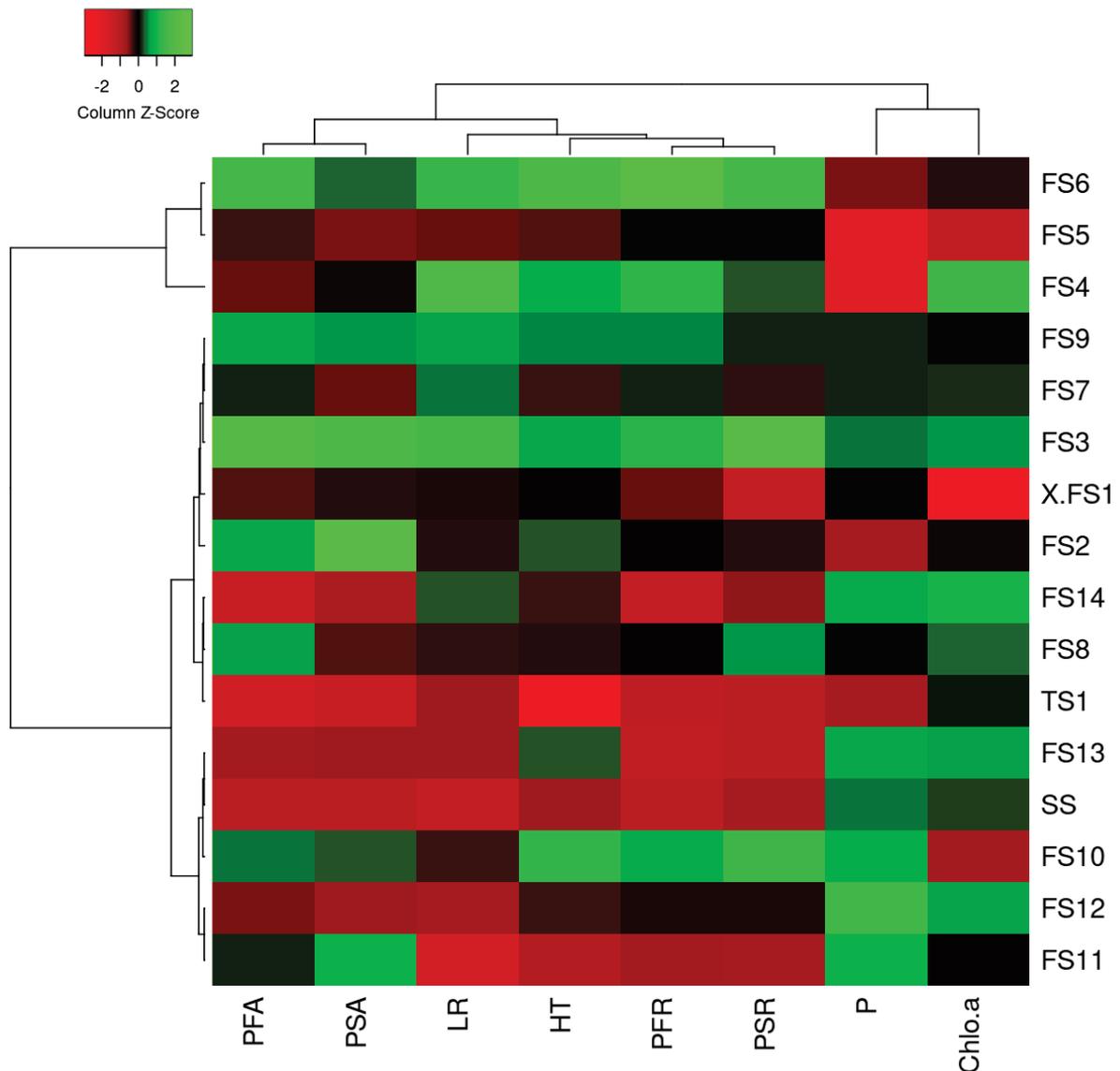
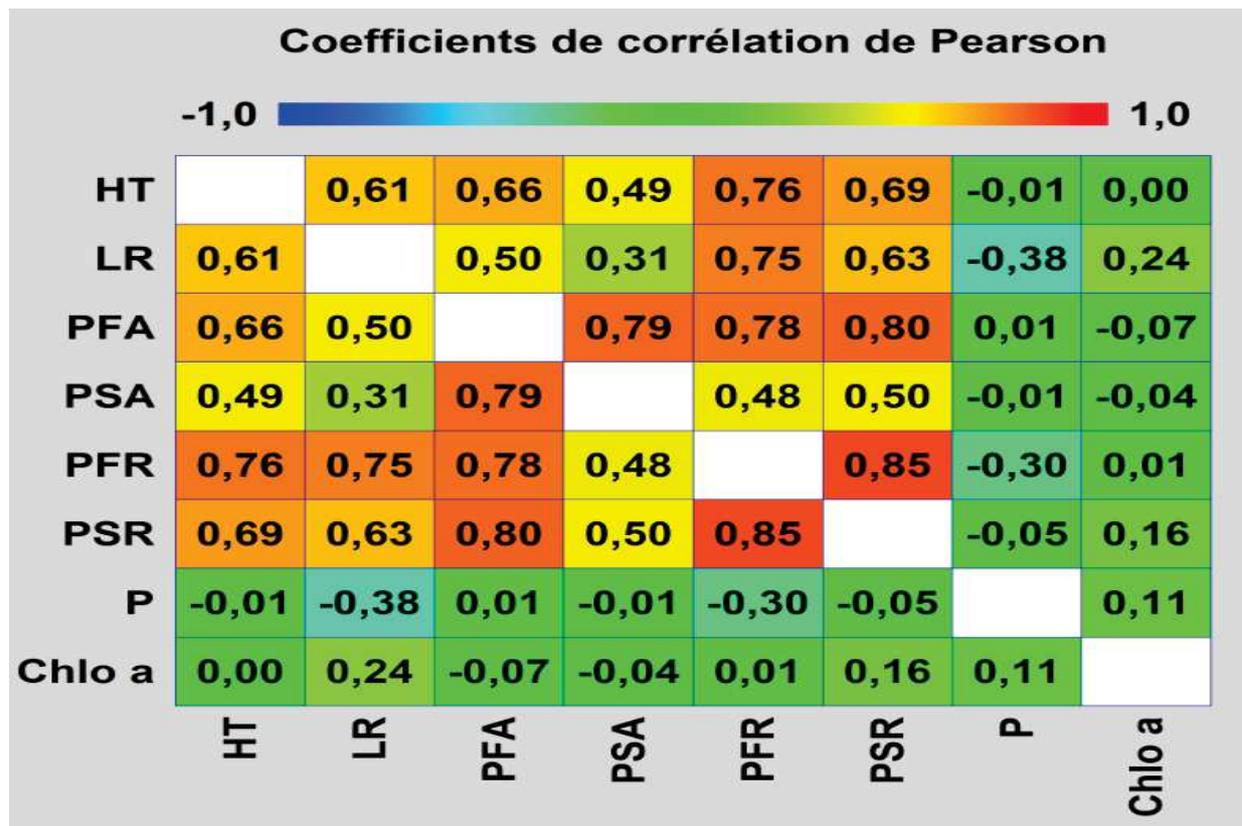


Figure 51 : Carte thermique (Heatmap) et clustering obtenus par la méthode de Pearson.

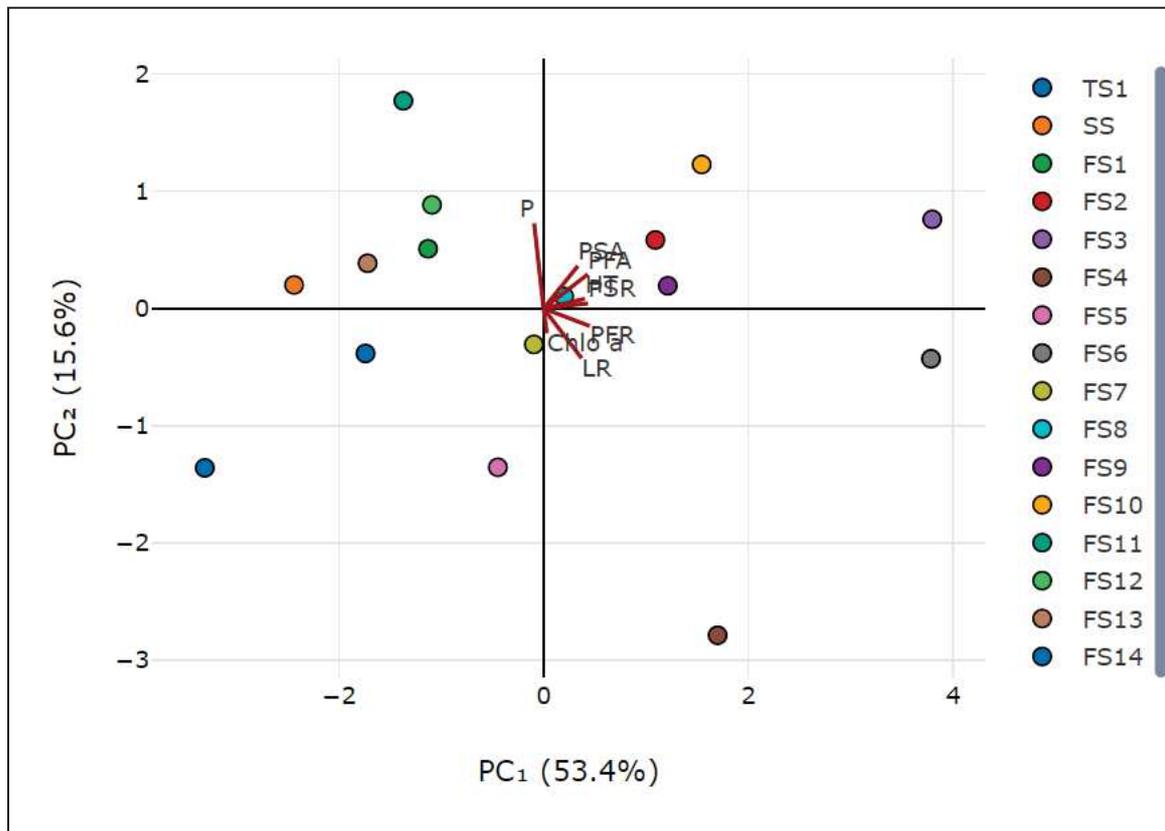
Ce cluster permet de classer les différentes formules et paramètres, mettant en évidence l'existence de frontières horizontales et verticales. Cela confirme la présence de trois catégories distinctes de bioengrais et même de paramètres.

### Étude des principales corrélations

D'après les résultats obtenus, la HT est corrélée positivement avec tous les paramètres morphologiques : LR, PFA, PSA, PFR et PSR ( $r = 0,61^{**}$ ,  $r = 0,66^{**}$ ,  $r = 0,49^*$ ,  $r = 0,76^{**}$ , et  $r = 0,69^{**}$ , respectivement). Alors que, la teneur en P n'est corrélée positivement qu'avec le chlo a ( $r = 0,11^*$ ).

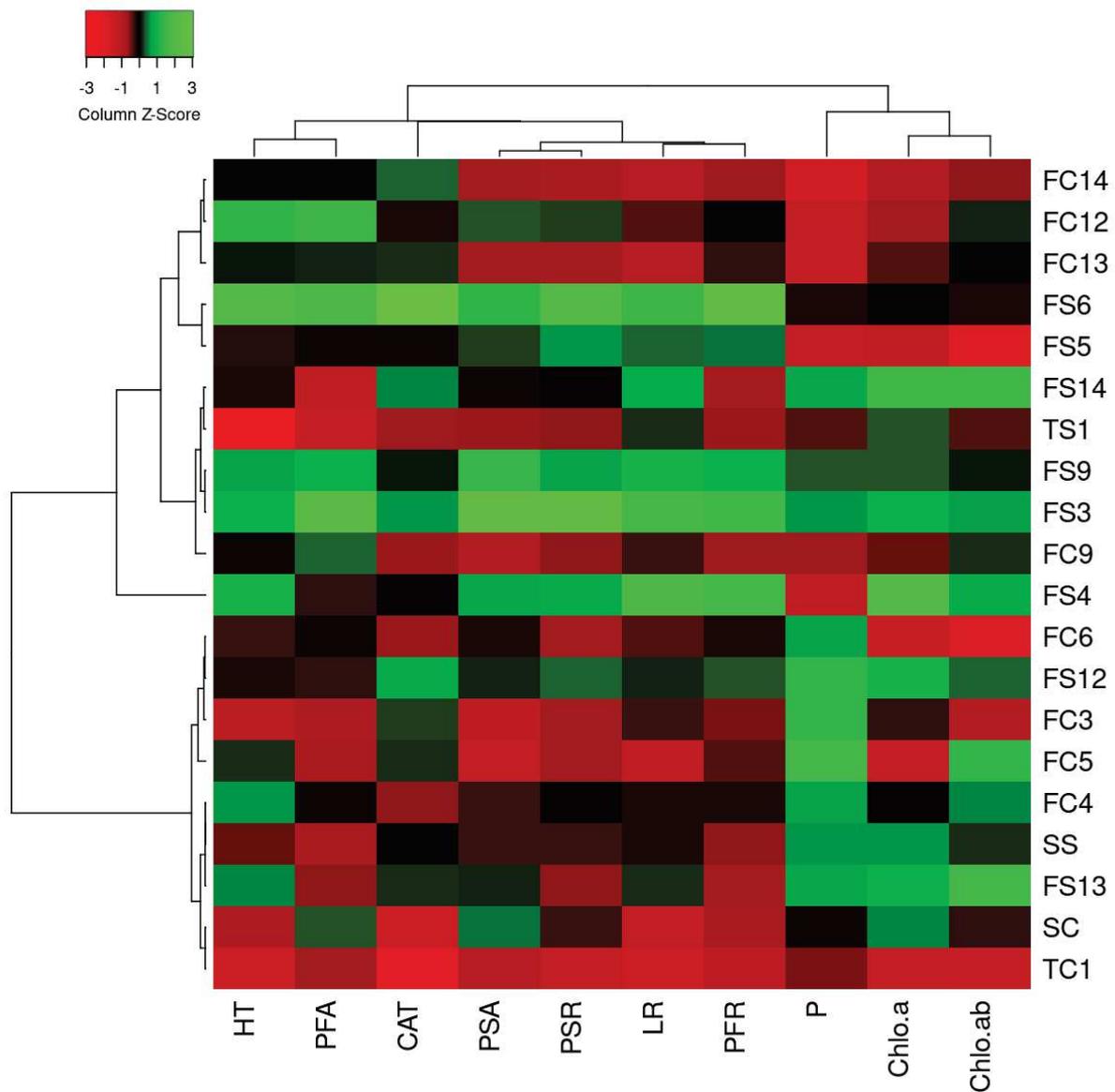


**Figure 52** : Matrice de corrélation entre les paramètres de blé dur, ainsi que la teneur en P dans le sol.



**Figure 53 :** Visualisation par analyse de la composante principale (ACP Biplot) des résultats de l'effet des formules de bioengrais sur la croissance de blé et la teneur en P dans le sol.

## 2. Etude du potentiel biostimulant et biocontrôle des formules

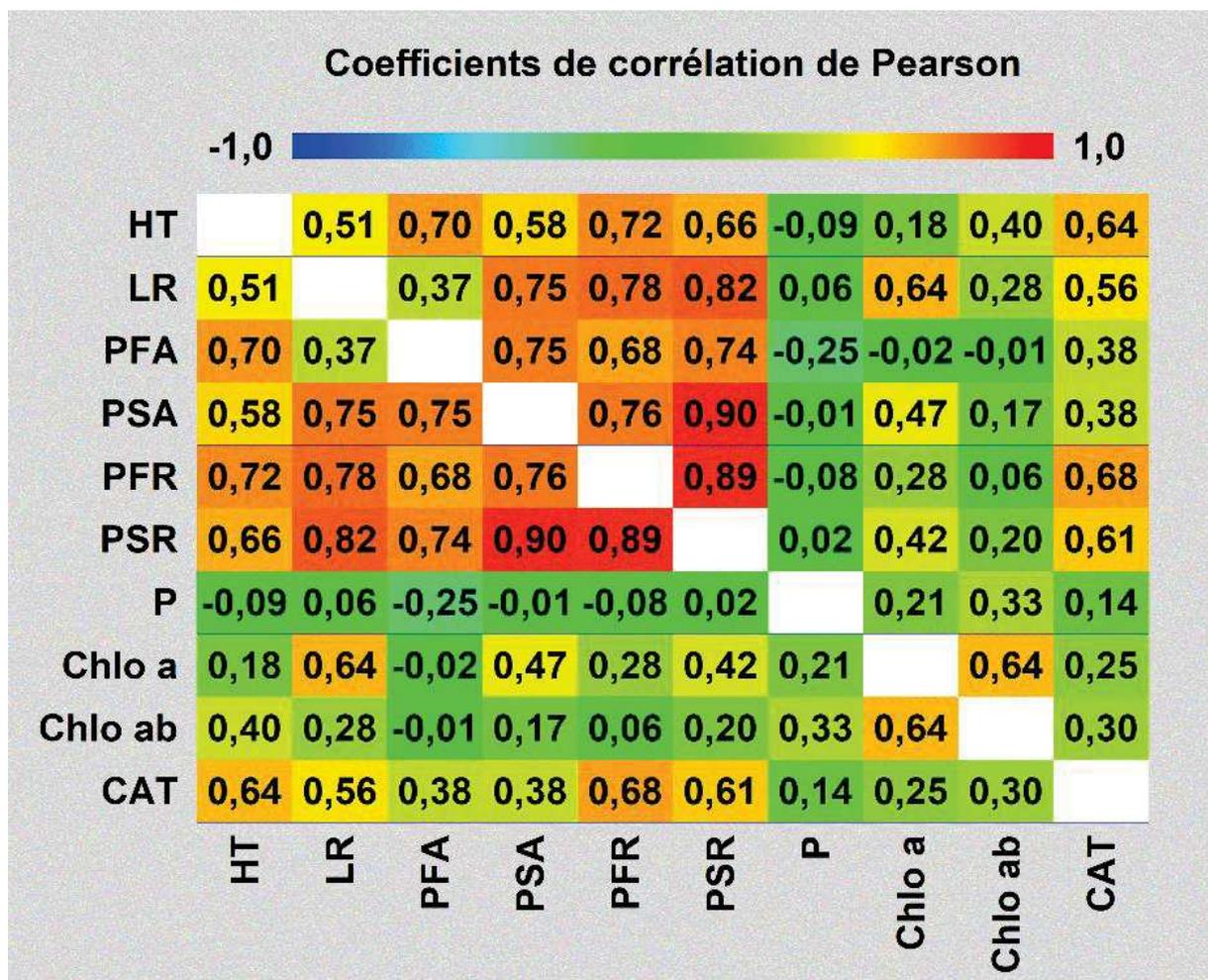


**Figure 54:** Carte thermique (Heatmap) et clustering obtenus par la méthode de Pearson

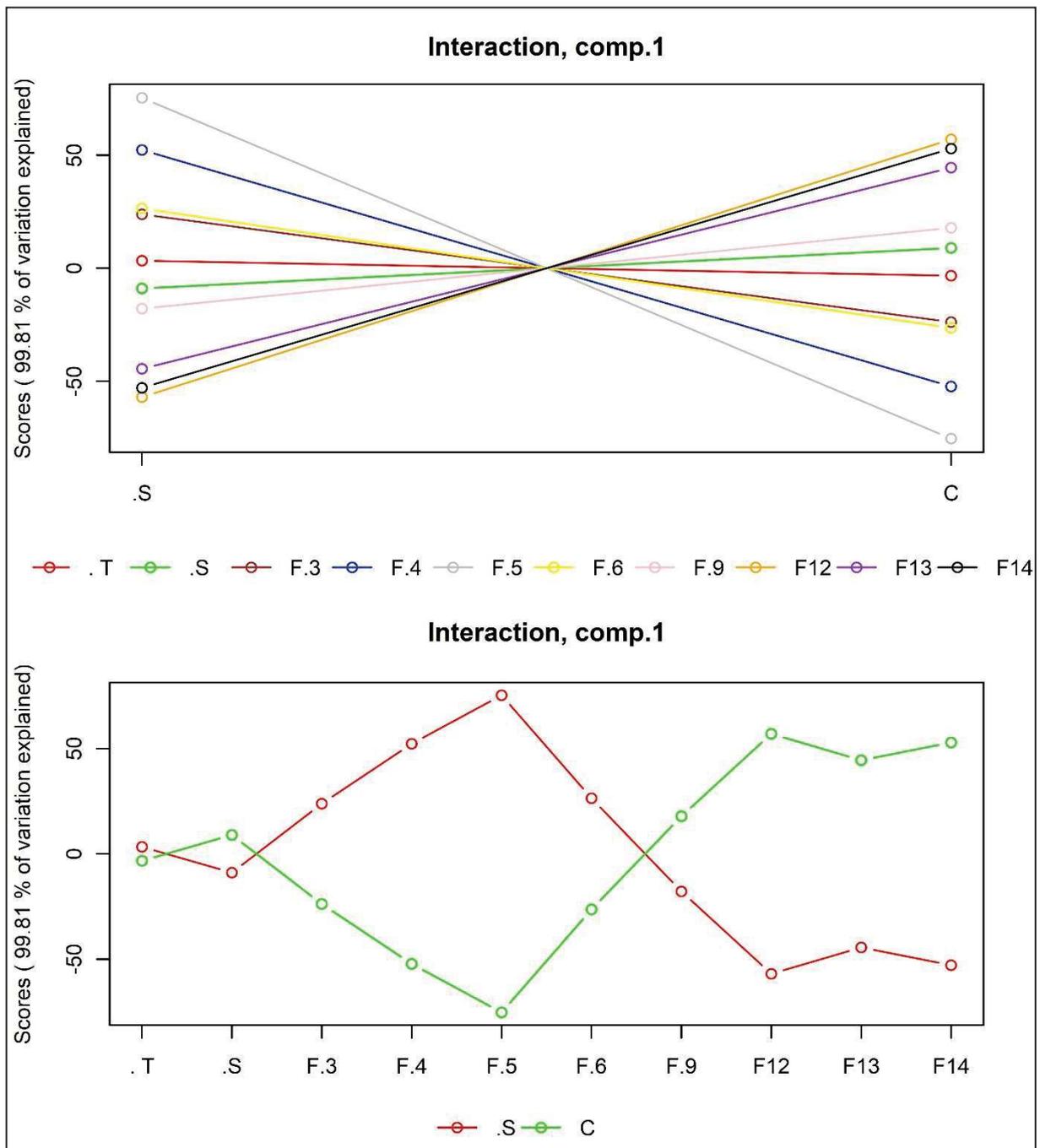
Ce cluster permet de classifier les différentes formules et paramètres, mettant en évidence l'existence de frontières horizontales et verticales. Cela confirme la présence de quatre catégories distinctes de bioengrais et trois catégories de paramètres.

### Étude des principales corrélations

D'après les résultats obtenus, la HT est corrélée positivement avec tous les paramètres morphologiques. Alors que, la teneur en P est corrélée positivement avec le chlo a ( $r = 0,21^*$ ), chlo ab ( $r = 0,33^*$ ), et CAT ( $r = 0,14^*$ ).



**Figure 55:** Matrice de corrélation entre les paramètres de blé dur, ainsi que la teneur en P et l'activité CAT dans le sol.



**Figure 56:** Principaux modèles associés à l'interaction type de sol-formule obtenus par une analyse ASCA (analyse de variance-simultaneous components analysis) ANOVA-ACP



## Sommaire

Sommaire .....	vi
Liste des figures .....	xii
Liste des tableaux .....	xv
Liste des annexes .....	xvi
Liste des abréviations .....	xviii
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	3
Chapitre 1 : Microbiome végétal : Phytobiome .....	3
1. Définition et généralités.....	3
2. Microbiome rhizosphérique .....	3
3. Microbiome phyllosphérique.....	4
4. Microbiome endosphérique.....	4
5. Approches d'étude et d'analyse du microbiome végétal.....	5
5.1. Techniques conventionnelles .....	5
5.2. Techniques modernes.....	5
5.2.1. Hybridation d'acides nucléiques et hybridation fluorescente in situ (FISH).....	5
5.2.2. Techniques basées sur la PCR.....	6
5.2.3. Approche métagénomique .....	6
6. Effet de l'hôte sur le microbiome végétal.....	6
Chapitre 2 : Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes 'PGPR' .....	7
1. Définition et généralités.....	7
2. Interactions des PGPR dans la rhizosphère.....	7
2.1. Interaction bactérie – bactérie.....	7
2.2. Interaction bactérie – plante.....	8
2.3. Interaction bactérie – plante – environnement.....	8
2.4. Rôle et importance des exsudats racinaire dans les interactions des PGPR.....	9
3. Différents genres des PGPR.....	9
3.1. Bactéries du genre <i>Azospirillum</i> .....	9
3.2. Bactéries du genre <i>Pseudomonas</i> .....	10
3.3. Bactéries du genre <i>Rhizobium</i> .....	10
3.4. Bactéries du genre <i>Bacillus</i> .....	10
4. Mécanismes de promotion de la croissance des plantes.....	10
4.1. Mécanismes directs. ....	11
4.1.1. Fixation d'azote.....	11

4.1.2.	Solubilisation du phosphore .....	11
4.1.3.	Solubilisation de potassium.....	12
4.1.4.	Solubilisation de zinc .....	12
4.1.5.	Production des sidérophores.....	12
4.1.6.	Production des phytohormones.....	13
4.2.	Mécanismes indirects.....	13
4.2.1.	Production des enzymes .....	13
4.2.2.	Production des antibiotiques.....	14
4.2.3.	Résistance systémique acquise et induite.....	14
5.	Rôle, effet et importance du PGPR dans l'agriculture .....	14
5.1.	Effet sur la croissance et le rendement des plantes.....	14
5.2.	Effet sur l'acquisition de nutriments.....	15
5.2.1.	Effet sur l'immunité et la santé des plantes.....	15
5.2.2.	Effet sur la santé et la fertilité du sol.....	16
Chapitre 3 : PGPR comme biofertilisant .....		16
1.	Définition d'un biofertilisant microbien .....	16
2.	Processus de formulation d'inoculant de PGPR.....	16
2.1.	Formulation de souche unique.....	17
2.2.	Formulation de consortium de PGPR.....	17
3.	Formes de formulation de PGPR.....	17
3.1.	Formulation sous support ou en poudre .....	17
3.2.	Formulations granulaires .....	17
3.3.	Formulations liquide .....	18
3.4.	Formulations piégées dans des polymère (encapsulées) .....	18
4.	Encapsulation et microencapsulation .....	18
4.1.	Définition .....	18
4.2.	Méthodes de microencapsulation de formules PGPR .....	19
4.2.1.	Technique d'extrusion .....	19
4.2.2.	Séchage par pulvérisation .....	19
4.2.3.	Technique d'émulsion.....	20
5.	Importance de l'encapsulation de PGPR.....	20
<b>Matériel et Méthodes .....</b>		<b>21</b>
<b>I.</b>	<b>Objectif de travail.....</b>	<b>21</b>

<b>II.</b>	Lieu d'expérimentation .....	21
<b>III.</b>	Matériel utilisés .....	21
	1. Matériel bactérien.....	21
	2. Matériel végétal .....	21
	3. Sol agricole.....	21
<b>IV.</b>	Méthodes de travail .....	22
	Partie 1 : Isolement et caractérisation des souches PGPR.....	22
	1. Prélèvement des échantillons, isolement et purification des souches PGPR .....	22
	1.1.Échantillonnage du sol .....	22
	1.2.Isolement des souches PGPR.....	22
	1.3.Ensemencement et incubation .....	23
	1.4. Sélection des colonies bactériennes .....	23
	1.5.Purification des isolats PGPR .....	24
	1.6.Conservation des isolats.....	24
	2. Identification et caractérisation des PGPR.....	24
	2.1.Caractérisation macroscopique .....	24
	2.2.Caractérisation microscopique .....	25
	2.3.Caractérisation biochimique .....	26
	2.3.1. Fixation d'azote atmosphérique.....	26
	2.3.2. Solubilisation du phosphore .....	26
	2.3.3. Solubilisation du zinc .....	26
	2.3.4. Production d'indole (AIA).....	26
	2.3.5. Production d'ammoniaque .....	27
	2.3.6. Production de catalase .....	27
	2.3.7. Production d'amylase .....	27
	2.3.8. Production de protéase .....	27
	2.3.9. Production d'estérase et de lipase .....	28
	Partie 2 : Développement et élaboration des formules de bioengrais.....	28
	1. Compatibilité des souches isolées .....	28
	2. Classification et sélection des souches et design des formules des bioengrais .....	29
	3. Microencapsulation de bioengrais.....	30

Partie 3 : Évaluation du potentiel biostimulant et biocontrôle des formules élaborées	31
.....	31
1. Principe de sélections de formules	31
2. Sol agricole utilisé	31
3. Stérilisation et mise en germination des graines	32
4. Design de l'expérimentation	32
4.1. Evaluer le potentiel biostimulant	33
4.2. Evaluer le potentiel biocontrôle	33
5. Paramètres étudiés	34
5.1. Paramètres morphologiques	34
5.1.1. Hauteur des tiges	34
5.1.2. Longueur racinaire	34
5.1.3. Poids frais et sec de la partie racinaire et aérienne	35
5.1.4. Taux de mortalité des plants	35
5.2. Paramètres biochimiques	35
5.2.1. Teneur en chlorophylle	35
5.3. Paramètres du sol	36
5.3.1. Phosphore assimilable (Méthode de JORET – HEBERT)	36
5.3.2. Respiration basale du sol (Activité Catalase)	37
6. Analyses statistiques des données	38
<b>Résultats et discussion</b>	39
<b>I. Résultats</b>	39
Partie 1 : Isolement et caractérisation des souches PGPR	39
1. Isolement des PGPR	39
2. Caractérisation et identification des souches	39
2.1. Caractérisation macroscopique	39
2.2. Caractérisation microscopique	40
2.3. Caractérisation biochimique	41
2.3.1. Fixation d'azote	41
2.3.2. Solubilisation du phosphore	42
2.3.3. Solubilisation du zinc	43
2.3.4. Production d'acide indole acétique (AIA)	45
2.3.5. Production d'ammoniaque	45

2.3.6. Production de catalase .....	47
2.3.7. Production de protéase .....	47
2.3.8. Production d'amylase .....	48
2.3.9. Production d'estérase.....	49
2.3.10. Production de lipase.....	50
Partie 2 : Développement et élaboration des formules de bioengrais .....	52
1. Compatibilités des souches .....	52
2. Sélection, formulation et élaboration des bioengrais.....	54
3. Microencapsulation des bioengrais.....	55
Partie 3 : Évaluation du potentiel des formules.....	56
1. Etude du potentiel biostimulant des formules développées .....	56
1.1.Effet des formules (bioengrais) sur l'évolution de la croissance du blé.....	56
1.2.Effet des formules sur la longueur des racines .....	60
1.3.Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne .....	61
1.4.Effet des bioengrais sur le poids sec de la partie aérienne.....	62
1.5.Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire.....	63
1.6.Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire.....	64
1.7. Investigation de l'influence des formules sur le taux du phosphore assimilable dans le sol .....	65
1.8.Impact des formules de PGPR sur le teneur en chlorophylle .....	66
1.9. Discussion .....	67
2. Analyse des capacités de biocontrôle et de biostimulation de quelques Formules sélectionnées .....	67
2.1.Taux de mortalité .....	67
2.2. Effet des formules de PGPR sur la croissance du blé dans un sol infecté.....	67
2.3. Effet des formules sur la longueur des racines dans les deux types de sol.....	71
2.4.Effet des formules sur le poids frais de la partie aérienne .....	72
2.5.Effet des formules sur le poids sec de la partie aérienne.....	73
2.6.Effet des formules sur le poids frais de la partie racinaire.....	74
2.7.Effet des formules sur le poids sec de la partie racinaire.....	75
2.8.Comparaison de l'effet des formules sur le taux du phosphore assimilable dans les deux types de sol.....	76
2.9.Effet des formules sur la sante de blé : les chlorophylles a et b comme indicateurs	

2.9.1. Chlorophylles a .....	77
2.9.2. Chlorophylles total (a + b).....	78
2.10. Effet des formules sur la santé du sol : l'activité catalase comme indicateur .....	79
2.11. Discussion.....	80
II. Discussion .....	81
<b>Conclusion</b> .....	89
<b>Références bibliographiques</b> .....	92
<b>Annexes</b> .....	107

## Résumé

L'exploitation des ressources naturelles, telles que les PGPR et les techniques d'ingénierie du microbiome, constitue une avenue prometteuse pour optimiser la production agricole et accroître la fertilité des sols. Les PGPR représentent le groupe le plus étudié et largement utilisé au sein du microbiome des plantes, en raison de leurs divers services écosystémiques. Bien que les inoculants de souches uniques de PGPR soient fortement recommandés pour favoriser la croissance des plantes, les applications dans le monde réel sont toujours limitées par des méthodes peu efficaces. Notre étude vise à isoler et caractériser dix-huit nouvelles souches de PGPR en vue de les exploiter dans l'élaboration de bioengrais, en utilisant des consortia de souches intégrales. Quatorze formules ont été développées en se basant sur les caractéristiques PGP des souches, en utilisant la technique d'encapsulation dans une solution d'alginate-cellulose, puis leur potentiel biostimulant et de biocontrôle a été évalué sur une culture de blé dur de la variété Oued El Bared, aussi bien dans des sols désinfectés que dans des sols infectés par des pathogènes. Les résultats obtenus montrent que dix isolats présentant des caractéristiques PGP intéressantes telles que la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphore et du zinc, la production d'AIA et des enzymes lytiques. L'analyse des capacités biostimulant et de biocontrôle des formules a révélé un impact positif pour l'ensemble des paramètres examinés. La formule F3 s'est démarquée la plus performante, suivie de près par la F6 démontrant un pouvoir biostimulant remarquable pour la majorité des paramètres étudiés. Ce bioengrais a amélioré de 28,37 % ; 30,59 % ; 140,55 % ; 91,84 % ; 154,55 % ; 143,75 % et 20 % par rapport au témoin les paramètres HT à la fin de culture, LR, PFA, PSA, PFR, PSR et P respectivement. Alors que, la formule F12 s'est distinguée comme la plus performante en termes de capacité de biocontrôle, suivie par la F4, notamment pour les paramètres morphologiques, où des améliorations significatives de 20,93 % ; 35,23 % ; 69,67 % ; 44,19 % ; 145 % et 100 % par rapport au T1 ont été enregistrées pour les paramètres HT à la fin de culture, LR, PFA, PSA, PFR et PSR respectivement avec la F12.

**Mots clés :** PGPR, Bioengrais, Consortium, Encapsulation, Biocontrôle, Biostimulant, Blé dur.

## **Abstract**

Exploiting natural resources such as the beneficial plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and methods of microbiome engineering represents a promising avenue to enhance crop production and soil fertility. PGPR represents the most studied and widely used group within the plant microbiome, due to their diverse ecosystem services. Although inoculants of single strains of PGPR are highly recommended to boost plant growth, real-world employment are still limited by inefficient methods. Our study aims to isolate and characterize eighteen new strains for use to formulate PGPR-based biofertilizers, using consortia of integral strains. Fourteen formulas were developed based on the PGP characteristics of the strains, using the encapsulation technique in an alginate-cellulose solution, and then their biostimulating and biocontrol potential was evaluated on a Oued El Bared wheat variety, both in disinfected soils and in soils infected with pathogens. The results show that ten isolates have interesting PGP traits such as nitrogen fixation, solubilisation of phosphorus and zinc, production of AIA and lytic enzymes. The investigation of the biostimulant and biocontrol capacities of the formulas revealed a beneficial effect across all the parameters studied. The F3 formula was the most effective, followed closely by the F6 which demonstrated remarkable biostimulating potential for most of examined parameters. This biofertilizer was improved by 28.37%; 30.59%; 140.55%; 91.84%; 154.55%; 143.75% and 20% compared to the control the HT test, LR, PFA, PSA, PFR, PSR and P, respectively. While formula F12 demonstrated the highest efficacy in terms of biocontrol capacity, followed by formula F4, for morphological parameters, where significant improvements of 20.93%; 35.23%; 69.67%; 44.19%; 145% and 100% compared to T1 were recorded for end-cultivation HT parameters; LR, PFA, PSA, PFR and PSR respectively with formula F12.

**Keywords:** PGPR, Biofertilizers, Consortium, Encapsulation, Biocontrol, Biostimulant, Wheat.

## ملخص

ان استغلال الموارد الطبيعية مثل PGPR و تقنيات الهندسة الميكروبيومية يشكل مسارا و اعدا لتحسين الانتاج الزراعي و زيادة خصوبة التربة. حيث تعد PGPR المجموعة الأكثر دراسة و الاوسع استعمالا فيما يخص ميكروبيوم النباتات لتنوع خدماتها البيئية . لكن بالرغم من أن اضافة سلالات فردية من PGPR موصى بها بشدة لتحسين نمو النبات إلا ان استعمالها في الواقع ما يزال محدود بسبب استعمال وسائل اقل فعالية. تهدف دراستنا لعزل و توصيف ثمانية عشرة سلالة جديدة من PGPR للإستفادة منها لتطوير سماد طبيعي، باستخدام تحالفات السلالات . تم تطوير اربعة عشر صيغة بالاستناد على خصائص PGP للسلالات باستعمال تقنية الكبسلة في محلول الالجينات و السليلوز ، ثم تم تقييم امكانياتها في التنشيط الحيوي و المكافحة الحيوية على صنف واد البارد من القمح الصلب ، سواء في التربة المعقمة أو الملوثة بمسببات المرض. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن عشر عزلات تظهر سمات PGP مهمة مثل تثبيت النيتروجين و تحليل الفوسفور و الزنك و صنع و الانزيمات المحللة . كشف تحليل قدرات التحفير الحيوي و المكافحة الحيوية للصيغ ، تأثير إيجابي على جميع المعايير المدروسة . برزت الصيغة F3 كافضل محفز حيوي تليها الصيغة F4 بفارق ضئيل لمعظم المعايير المدروسة . حيث ساهم هذا السماد الحيوي بتحسين معدلات بنسبة 28,37% ، 30,59% ، 140,55%، 91,84% ، 143,75%، 154,55%، و 20% بالنسبة للشاهد للمعاملات HT,LR,PFA,PSA,PFR ,PSR و P بينما تميزت الصيغة F12 كالأكثر أداءا من حيث قدرة المكافحة الحيوية ، تليها الصيغة F4 , خاصة للمعايير المورفولوجية حيث تم تسجيل تحسنات ملحوظة بنسبة 20,93% ، 35,23% ، 69,67% ، 44,19% ، 145% و 100% بالنسبة لT1 للمعايير HT,LR,PFA,PSA,PFR ,PSR على التوالي مع الصيغة F12

**الكلمات المفتاحية:** PGPR، الأسمدة الحيوية، إتحادات، التغليف، المكافحة الحيوية، المنشط الحيوي، القمح الصلب.