

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة فرحات عباس، سطيف 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة



Université Ferhat Abbas Sétif 1  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

N°...../SNV/2023

## THÈSE

Présentée par

**SAADAOUI Nora**

Pour l'obtention du diplôme de  
**DOCTORAT 3<sup>ÈME</sup> CYCLE**

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : MICROBIOLOGIE GENERALE

## THÈME

**Impact stimulateur des PGPR sur la croissance végétale et sur les  
communautés bactériennes bénéfiques cultivables du microbiote racinaire  
du blé dur**

Soutenue publiquement le...../...../2023

### DEVANT LE JURY

Président	<b>ROUAG Nouredine</b>	<b>Pr. UFA Sétif 1</b>
Directeur	<b>SILINI Allaoua</b>	<b>Pr. UFA Sétif 1</b>
Co-Directeur	<b>BELBAHRI Lassaad</b>	<b>Pr. Univ. Genève, Suisse</b>
Examineurs	<b>HAMIDECHI M<sup>d</sup> Abdelhafid</b>	<b>Pr. UM Constantine 1</b>
	<b>KACEM CHAUCHE Nouredine</b>	<b>Pr. UM de Constantine 1</b>
	<b>KECHA Mouloud</b>	<b>Pr. UAM Bejaia</b>

*Laboratoire de Microbiologie Appliquée*



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة فرحات عباس، سطيف 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة



Université Ferhat Abbas Sétif 1  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

N°...../SNV/2023

## THÈSE

Présentée par

**SAADAOUI Nora**

Pour l'obtention du diplôme de  
**DOCTORAT 3<sup>ÈME</sup> CYCLE**

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : MICROBIOLOGIE GENERALE

## THÈME

**Impact stimulateur des PGPR sur la croissance végétale et sur les  
communautés bactériennes bénéfiques cultivables du microbiote racinaire  
du blé dur**

Soutenue publiquement le...../...../2023

### DEVANT LE JURY

Président	<b>ROUAG Nouredine</b>	<b>Pr. UFA Sétif 1</b>
Directeur	<b>SILINI Allaoua</b>	<b>Pr. UFA Sétif 1</b>
Co-Directeur	<b>BELBAHRI Lassaad</b>	<b>Pr. Univ. Genève, Suisse</b>
Examineurs	<b>HAMIDECHI M<sup>d</sup> Abdelhafid</b>	<b>Pr. UM Constantine 1</b>
	<b>KACEM CHAUCHE Nouredine</b>	<b>Pr. UM de Constantine 1</b>
	<b>KECHA Mouloud</b>	<b>Pr. UAM Bejaia</b>

*Laboratoire de Microbiologie Appliquée*

## **Remerciements**

*Je tiens tout d'abord à remercier « Allah » le tout puissant et miséricordieux, qui ma donnée la force et la patience d'accomplir et de mener au terme ce travail.*

*En second lieu, je tiens à remercier du fond du cœur Mr SILINI Allaoua, Professeur de Microbiologie à l'Université Ferhat Abbas–Sétif 1, pour m'avoir permis de valoriser mes travaux de recherche effectués sous son encadrement éclairé, pour la confiance qu'il m'avait accordée tout au long de ce travail, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion, pour m'avoir fait l'honneur, d'accepter la direction de ma thèse . Veuillez trouver, ici, le témoignage de ma profonde gratitude et de mon plus grand respect.*

*Je remercie également mon co-directeur Mr BELBAHRI Lassaad, Professeur de Microbiologie à l'Université de Genève – Suisse, pour ses idées et ses encouragements et pour ses conseils judicieux sur la structuration des articles scientifiques.*

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude et mes vifs remerciements Mr ROUAG Nouredine, Professeur de Microbiologie à l'Université Ferhat Abbas – Sétif 1, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance, Qu'il trouve ici le témoignage de ma haute considération.*

*Je remercie également Mr HAMIDECHI Mohamed Abdelhafid et Mr KACEM CHAUCHE Nouredine, Professeurs de Microbiologie à l'Université de Mentouri – Constantine 1 et Mr KECHA Mouloud, Professeur de Microbiologie à l'Université de Abderrahman Mira Béjaia pour le privilège et l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'examiner et de juger mon travail.*

*Mes vifs remerciements vont à Mme CHERIF-SILINI Hafsa, Professeure de Microbiologie à l'Université Ferhat Abbas – Sétif 1, pour avoir toujours été là pour me guider tout le long de mon parcours, à travers les moments joyeux et les plus sombres, et qui a toujours été disponible tant pour les expérimentations en laboratoire, que pour la correction avisées de l'article scientifique. Elle n'a épargné aucun effort à m'encourager, m'épauler et me soutenir.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mr. ZERARI Abbas pour la réalisation de l'analyse physico-chimique du sol, à Mr. Laouer Salim et Sebane Mahieddine pour l'aide et les conseils agronomiques.*

*J'adresse aussi un vif remerciement à tous mes collègues de recherche que j'ai côtoyé durant mon chemin, Sarah, Amel, Naouel, Nafissa et Basma.*

*Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*A mes parents pour m'avoir soutenue durant toutes mes années d'études, et qui ont tellement sacrifié pour que je puisse en arriver là. A maman pour le soutien à toute épreuve, la compréhension, les trajets et j'en passe.*

*A mon père pour m'avoir donné les moyens de devenir ce que j'ai envie d'être, pour toute la joie que vous avez apporté.*

*A mes sœurs, pour l'encouragement et le soutien, à Razika et Loubna pour sa bonne humeur quotidienne et pour m'avoir aidé à garder le cap.*

*A mon frère Mohamed et son épouse pour avoir toujours cru en moi et m'avoir poussé à aller aussi loin que je l'ai souhaité.*

*A mes meilleures amies, Samra, Amel, Imene, Sarah, Asma, Nafissa, Ahlem, qui ont été des vraies sœurs pour moi pendant ces années.*

*A Dr. BOUCHIHA Ahmed et à Mme HAMLAOUI Louiza, leurs soutiens inconditionnels et leurs encouragements ont été d'une grande aide.*

## Production scientifique

### Publications

**Saadaoui, N.**, Silini, A., Cherif-Silini, H., Bouket, A. C., Alenezi, F. N., Luptakova, L., Boulahouat, S. et Belbahri, L. (2022). Semi-Arid-Habitat-Adapted Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria Allows Efficient Wheat Growth Promotion. *Agronomy*, 12(9), 2221. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092221>

Cherif-Silini, H., Thissera, B., Bouket, A. C., **Saadaoui, N.**, Silini, A., Eshelli, M., Alenezi, F. N., Vallat, A., Luptakova, L. et Yahiaoui, B. (2019). Durum Wheat Stress Tolerance Induced by Endophyte *Pantoea agglomerans* with Genes Contributing to Plant Functions and Secondary Metabolite Arsenal. *International journal of molecular sciences*, 20(16), 3989. <https://doi.org/10.3390/ijms20163989>

Boulahouat, S., Cherif-Silini, H., Silini, A., Chenari Bouket, A., Luptakova, L., **Saadaoui, N.**, Alenezi, F. N. et Belbahri, L. (2022). Critical Evaluation of Biocontrol Ability of Bayoud Infected Date Palm Phyllospheric *Bacillus* spp. Suggests That In Vitro Selection Does Not Guarantee Success in Planta. *Agronomy*, 12(10), 2403. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102403>

### Communications internationales

**Saadaoui, N.**, Silini, A., Chenari Bouket, A., Boulahouat, S., Cherif-Silini, H et Belbahri, L. (2019). Endophytic stress tolerance *Pantoea agglomerans* an efficient biofertilizer in wheat plants culture in arid and salinity-impacted regions. Les Journées Internationales de Biotechnologie (JIB 2019) de l'Association Tunisienne de Biotechnologie. Sousse. Tunisie. 18-21 Déc.

Boulahouat, S., Cherif-Silini, H., Chenari Bouket, A., **Saadaoui, N.**, Silini, A., et Belbahri, L. (2019). Endophytic *Bacillus halotolerans* isolated from contrasting niches protect the date palm against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Les Journées Internationales de Biotechnologie (JIB 2019) de l'Association Tunisienne de Biotechnologie. Sousse. Tunisie. 18-21 Déc.

# Sommaire

ملخص

**Résumé**

**Abstract**

**Abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

Introduction .....	1
1. Revue bibliographique .....	4
1. 1. Impacts du changement climatique sur l'agriculture .....	5
1. 2. Les engrais chimiques .....	7
1. 3. Les microorganismes bénéfiques pour les plantes (PBM) .....	10
1. 3. 1. Bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPB) en tant qu'alternatif biologique .	10
1. 3. 2. Interaction plante-bactérie .....	11
1. 3. 3. Impact des PGPR sur la croissance végétale.....	13
1. 3. 3. 1. Modes d'action des PGPR.....	16
1. 3. 3. 2. Mécanismes des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes .....	17
1. 3. 4. Effet de l'inoculation des PGPR sur la communauté microbienne de la rhizosphère.....	18
1. 3. 4. 1. Microbiome de la rhizosphère.....	19
1. 3. 4. 2. Facteurs affectant les communautés microbiennes de la rhizosphère.....	21
1. 3. 4. 2. 1. Facteurs environnementaux.....	21
1. 3. 4. 2. 2. Inoculation bactérienne et interactions PGPR - communauté microbienne du sol.....	24
1. 3. 4. 3. Comment les PGPR peuvent-ils affecter la communauté microbienne ? .....	26
1. 3. 4. 3. 1. Augmentation des exsudats racinaires .....	26
1. 3. 4. 3. 2. Quorum sensing.....	27
1. 3. 4. 4. Modes de stimulation de la communauté .....	28
1. 3. 4. 4. 1. Sélection des espèces microbiennes .....	28
1. 3. 4. 4. 2. Activation des gènes.....	31
1. 3. 4. 5. Comment le changement des communautés bactériennes profite-t-il à la plante ? ....	32
1. 3. 5. Inoculation par consortium.....	33
1. 3. 6. Technologie pour l'utilisation des PGPR en agriculture .....	34
1. 3. 6. 1. Biofertilisants .....	35

1. 3. 6. 2. Bioformulation .....	36
1. 3. 6. 3. Technologie d'enrobage des semences .....	41
2. Matériel et méthodes .....	46
2. 1. Souches bactériennes.....	46
2. 2. Matériel végétal.....	46
2. 3. Effet de l'inoculation bactérienne sur la germination des graines .....	47
2. 3. 1. Désinfection des semences .....	47
2. 3. 2. Préparation de l'inoculum bactérien et de l'enrobage des semences .....	47
2. 3. 3. Germination des graines .....	47
2. 4. Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance des plantes de blé dur dans un compost stérile.....	48
2. 4. 1. Détermination des paramètres morphologiques .....	49
2. 4. 2. Détermination des paramètres biochimiques .....	49
2. 4. 2. 1. Chlorophylles et caroténoïdes .....	49
2. 4. 2. 2. Sucres totaux .....	49
2. 4. 2. 3. Proline .....	50
2. 4. 2. 4. Peroxydation des lipides (MDA).....	50
2. 4. 3. Persistance bactérienne dans la rhizosphère.....	50
2. 4. 4. Colonisation bactérienne endophytique .....	51
2. 5. Effet de l'inoculation sur la croissance de la plante de blé dur dans un sol non stérile.....	51
2. 5. 1. Paramètres morphologiques .....	52
2. 5. 2. Paramètres biochimiques.....	52
2. 5. 3. Effet de l'inoculation sur la communauté rhizobactérienne.....	53
2. 5. 3. 1. Dénombrement des rhizobactéries .....	53
2. 5. 3. 2. Dénombrement des bactéries endophytes .....	53
2. 5. 3. 3. Activités PGP .....	53
2. 5. 3. 3. 1. Solubilisation du phosphate .....	53
2. 5. 3. 3. 3. Production de sidérophores .....	54
2. 5. 3. 3. 4. Production de l'AIA .....	54
2. 5. 3. 3. 5. Production de l'ACC désaminase .....	54
2. 6. Effet de la conservation sur la survie bactérienne des graines inoculées enrobées.....	55
2. 7. L'analyse statistique.....	55

3. Résultats et discussion.....	56
3. 1. Résultats .....	56
3. 1. 1. Effet de l'inoculation bactérienne sur la germination des graines du blé dur.....	56
3. 1. 2. Effet de l'inoculation sur la croissance végétale du blé .....	58
3. 1. 2. 1. Effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur la croissance végétale du blé dur dans le compost stérile .....	58
3. 1. 2. 1. 1. Paramètres morphologiques .....	58
3. 1. 2. 1. 2. Paramètres biochimiques.....	62
a) Pigments chlorophylliens .....	62
b) Sucres totaux, proline et MDA .....	64
3. 1. 2. 1. 3. Survie bactérienne dans la rhizosphère stérile .....	65
3. 1. 2. 2. Effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur la croissance des plantes du blé dur dans un sol non stérile.....	67
3. 1. 2. 2. 1. Paramètres morphologiques .....	67
3. 1. 2. 2. 2. Paramètres biochimiques.....	70
a) Pigments chlorophylliens .....	70
b) Sucres totaux, proline et MDA .....	72
3. 1. 2. 2. 3. Effet de l'inoculation sur la communauté rhizobactérienne et endophyte.....	74
a) Communauté bactérienne cultivable totale .....	74
b) Communauté PGPR cultivable .....	76
3. 1. 3. Effet du stockage sur la survie bactérienne des semences enrobées .....	80
3. 2. Discussion .....	82
4. Conclusion.....	90
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>91</b>

## **Annexes**

## ملخص

البكتيريا المعززة لنمو النبات (PGPR) هي بكتيريا خارجية يتم إدخالها في النظم البيئية الزراعية وهي تؤثر بشكل إيجابي على نمو النبات وتمثل بديل إيكولوجي لاستخدام المواد الكيميائية في الإنتاج الزراعي. تسلط هذه الدراسة الضوء على تأثير سلالتين من *Pantoea agglomerans* Pa PGPR و *Bacillus thuringiensis* B25 بشكل فردي أو متحدة على نمو صنفين من القمح القاسي بوسلام و بوطالب ، وعلى تكوين مجتمع البكتيريا الجذرية القابلة للزراعة وتنوعها ووظائفها. تم إجراء التلقيح عن طريق طلاء البذور بكاربوكسي ميثيل السليلوز. تم تقييم بقاء السلالات، على البذور، أثناء التخزين، في التربة الجذرية وفي الجذور. أظهرت النتائج أن الإنبات لم يتأثر بالتلقيح ، بينما تحسنت المواصفات المورفولوجية - بيوكيميائية بالتلقيح ، في السماد المعقم، حيث لوحظت زيادات بأكثر من 24.78% في طول الجذور ، 60% في الوزن الحي للجذور و 45% في الوزن الجاف لأوراق وجذور بوطالب. تمت زيادة محتويات الكلوروفيل أ ، الكلوروفيل الإجمالي والكاروتينويدات بشكل معتبر، خصوصا في بوسلام. بينما تم تقليل تلك الخاصة بالبرولين و MDA بشكل كبير تحت تأثير التلقيح في نفس الصنف. في التربة غير المعقمة ، أدى التلقيح بالسلالات Pa و B25 إلى تحسين طول الأوراق والجذور بأكثر من 22% ، والوزن الحي للأوراق والجذور بنسبة 30% في بوسلام. كما أدى التلقيح إلى زيادة محتوى أصباغ الكلوروفيل والسكريات الكلية في كلا الصنفين ، وخفض معدل البرولين و MDA في أوراق بوسلام. كان تأثير التلقيح والتلقيح المشترك على الكثافة البكتيرية للمجتمع القابل للزراعة ضئيلاً ، في حين تم تحسين تنوع البكتيريا الجذرية و البكتيريا الباطنية ذات أنشطة PGP (إنتاج AIA ، ACC désaminase و Siderophores ، تثبيت النيتروجين وإذابة الفوسفات) بشكل ملحوظ.

**الكلمات المفتاحية :** PGPB ؛ التلقيح؛ القمح القاسي؛ ؛ الإنبات؛ نمو النبات؛ طلاء البذور.

## Résumé

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) sont des bactéries exogènes introduites dans les écosystèmes agricoles agissant positivement sur le développement des plantes et constituent une alternative écologique à l'utilisation de produits chimiques dans la production agricole. La présente étude met en évidence l'effet de deux souches PGPR *Pantoea agglomerans* Pa et *Bacillus thuringiensis* B25 individuellement ou en consortium sur la croissance de deux variétés de blé dur Bousselam et Boutaleb, et sur la composition, la diversité et la fonctionnalité de la communauté bactérienne de la rhizosphère cultivable. L'inoculation a été effectuée par l'enrobage des graines avec le carboxyméthyl cellulose. La survie des souches, sur les graines, durant la conservation, dans la rhizosphère et dans les racines a été évaluée. Les résultats ont montré que la germination n'était pas affectée par l'inoculation, alors que, les paramètres morpho-biochimiques sont améliorés par l'inoculation, dans le compost stérile, où des augmentations de plus de 24,78% dans la longueur des racines, 60% dans le poids frais des racines et 45% dans le poids sec des feuilles et des racines de Boutaleb ont été observées. Les teneurs en pigments chlorophylliens a, totale et caroténoïdes ont été augmentées significativement, essentiellement chez Bousselam. Alors que celles de la proline et de la MDA ont été réduites fortement sous l'effet de l'inoculation chez la même variété. Dans le sol non stérile, l'inoculation avec les souches Pa et B25 a amélioré les longueurs foliaire et racinaire de plus de 22%, et le poids frais des feuilles et des racines de 30% chez Bousselam. L'inoculation a augmenté aussi la teneur des pigments chlorophylliens et des sucres totaux chez les deux variétés, et a diminué le taux de proline et de la MDA dans les feuilles de Bousselam. L'effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur la densité bactérienne de la communauté cultivable était négligeable, alors que la diversité de la population rhizobactérienne et endophyte ayant des activités PGP (production AIA, ACC désaminase et siderophores, fixation d'azote et solubilisation des phosphates) a été significativement améliorée.

**Mots clés :** PGPR; inoculation; blé dur; germination; croissance des plantes; enrobage des graines.

## **Abstract**

Plant-growth-promoting bacteria (PGPR) are exogenous bacteria introduced into agricultural ecosystems that positively affect plant development and are an ecological alternative to the use of chemicals in agricultural production. This study highlights the effect of two PGPB strains *Pantoea agglomerans* Pa and *Bacillus thuringiensis* B25 individually or in consortium on the growth of two durum wheat varieties Bousselam and Boutaleb, and on the composition, the diversity and functionality of the bacterial community of the cultivable rhizosphere. Inoculation was carried out by coating the seeds with cellulose carboxymethyl. The survival of strains on seeds during storage in the rhizosphere and in roots was assessed. The results showed that germination was not affected by inoculation, while morpho-biochemical parameters are improved by inoculation, in a sterile compost, where increases of more than 24.78% in root length, 60% in the fresh weight of the roots and 45% in the dry weight of the leaves and roots of Boutaleb were observed. Chlorophyll a, total and carotenoides pigment levels were significantly increased, mainly in Bousselam. While those of proline and MDA were greatly reduced by inoculation in the same variety. In non-sterile soil, inoculation with Pa and B25 strains improved leaf and root lengths by more than 22%, and fresh leaf and root weight by 30% in Bousselam. Inoculation also increased chlorophyll pigments and total sugars in both varieties, and decreased proline and MDA levels in Bousselam leaves. The effect of inoculation and co-inoculation on the bacterial density of the cultivable community was negligible, while the diversity of the rhizobacterial and endophyte population with PGP activities (AIA production, ACC deaminase and siderophores, nitrogen fixation and phosphate solubilization) has been significantly improved.

**Keywords :** PGPR; inoculation; durum wheat; germination; plant growth; seed coating.

## Abréviations

**ABA** : Acide Abscissique

**ACCd** : Amino-Cyclopropane-1-Carboxylate désaminase

**AIA** : Acide Indole Acétique

**AMF** : de l'anglais « Arbuscular Mycorrhizal Fungi »

**C<sub>a</sub>** : chlorophylle a

**C<sub>b</sub>** : chlorophylle b

**C<sub>x+c</sub>** : caroténoïdes

**CMC** : carboxyméthyl cellulose

**CNCC** : Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plants

**DO** : densité optique

**EPS** : exopolysaccharides

**ITGC** : Institut Technique des Grandes Cultures

**MDA** : malondialdéhyde

**meq** : milliequivalents

**mS** : milliSiemens

**N** : Azote

**P** : Phosphore

**PBM** : de l'anglais « Plant Beneficial Microbes »

**PGPR** : de l'anglais « Plant Growth Promoting Rhizobacteria »

**PGPB** : de l'anglais « Plant Growth Promoting Bacteria »

**PVK** : Pikovskaya

**qx** : quintaux

**TSA** : Trypticase soja agar

**WS** : Winogradsky

**UFC** : Unité Formant Colonie

## Liste des Figures

**Fig. 1.** Impact de l'intensification agricole sur les sols.

**Fig. 2.** Conséquences néfastes générales des intrants chimiques sur l'agriculture et la santé humaine.

**Fig. 3.** Les différents types d'association entre les racines des plantes et les bactéries bénéfiques du sol.

**Fig. 4.** Mécanismes de l'induction médiée par les PGPR dans la tolérance des plantes au stress hydrique.

**Fig. 5.** Exopolysaccharides produits par des PGPR entraînant une atténuation du stress hydrique chez les plantes .

**Fig. 6.** Diagramme schématisant le mode d'action des PGPR.

**Fig. 7.** Facteurs influençant les communautés microbiennes de la rhizosphère et interactions positives et négatives qui en résultent.

**Fig. 8.** Modes d'ingénierie du rhizobiome.

**Fig. 9.** Services bénéfiques rendus par le rhizobiome aux plantes.

**Fig. 10.** Méthode de traitement des semences par bio-amorçage avec des PGPR.

**Fig. 11.** Les différents domaines de recherche et applications des PGPR.

**Fig. 12.** Exemples d'équipement et de type d'enrobage de semences.

**Fig. 13.** Facteurs affectant la durée de conservation microbienne pendant les opérations commerciales d'enrobage des semences.

**Fig. 14.** Remplissage des pots avec du sol et semis des graines de blé traitées.

**Fig. 15.** Effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur : (A) le pourcentage final de germination, (B) l'indice de taux de germination (%), (C) l'indice de vigueur de la longueur, et (D) l'indice de vigueur du poids avec les deux variétés Bousselam et Boutaleb.

**Fig. 16.** Effet des souches bactériennes sur la germination des graines de blé.

**Fig. 17.** Effet de l'inoculation par Pa et/ou B25 sur les paramètres morphologiques des plantes cultivées dans le compost stérile.

**Fig. 18.** Effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur la croissance des plantes cultivées dans le compost stérile.

**Fig. 19.** Effet des souches bactériennes sur les pigments chlorophylliens des plantes cultivées dans le compost stérile.

**Fig. 20.** Effet des souches bactériennes sur le contenu en : (A) sucres solubles totaux, (B) proline, et (C) MDA.

**Fig. 21.** Survie bactérienne dans la rhizosphère et dans les racines.

**Fig. 22.** Effet des souches bactériennes sur les paramètres morphologiques des plantes cultivées dans le sol non stérile.

**Fig. 23.** Effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur la croissance végétale des plantes cultivées dans le sol non stérile.

**Fig. 24.** Effet des souches bactériennes sur le contenu en pigments chlorophylliens des plantes cultivées dans le sol non stérile.

**Fig. 25.** Effet des souches bactériennes sur le contenu en : (A) sucres solubles totaux, (B) proline, et (C) MDA dans les feuilles de blé cultivé dans le sol non stérile.

**Fig. 26.** Dénombrement des bactéries totales isolées de la rhizosphère et des racines du blé cultivé dans le sol non stérile.

**Fig. 27.** Colonies bactériennes après étalement sur milieu TSA.

**Fig. 28.** Analyse des Clusters et heatmap des bactéries endophytes des racines de blé dur.

**Fig. 29.** Analyse des Clusters et heatmap des bactéries isolées de la rhizosphère du blé dur.

**Fig. 30.** Survie de Pa et B25 fixées par CMC sur les graines de blé.

## Liste des Tableaux

**Tab. 1.** Exemples des microorganismes affectant la communauté rhizosphérique native.

**Tab. 2.** Principal fabricant de biofertilisants à base de microorganismes solubilisant le phosphore.

**Tab. 3.** Caractères physico-chimiques du sol.

## Introduction

Au milieu du XXI<sup>e</sup> siècle, la population mondiale pourrait augmenter de 26%, ajoutant 2 milliards aux 7,6 milliards actuels. Les estimations montrent que pour nourrir 9,5 milliards de personnes, l'agriculture nécessiterait de produire 60 à 70% de céréales en plus (Kogan, 2019). Les organisations des Nations Unies prévoient une croissance démographique continue et, d'ici 2050, ce chiffre devrait se situer entre 8,3 et 10,9 milliards de personnes, tandis que les tendances actuelles indiquent une version plus grande (Prosekov et Ivanova, 2018). En parallèle, le commerce mondial des céréales en 2017/2018 a baissé d'environ 5 millions de tonnes (1,2%) pour s'établir à 391 millions de tonnes, ce qui sera la première réduction en quatre ans (Prosekov et Ivanova, 2018).

Les pratiques agricoles actuelles, telles que les apports d'engrais, de pesticides et de déchets animaux, ont des effets néfastes sur l'environnement, car elles polluent fortement l'air, le sol et l'eau et diminuent la diversité biologique des écosystèmes. Il est donc nécessaire de développer de nouvelles stratégies agricoles (Ma, 2019). Le coût croissant des engrais et la demande d'aliments sans pesticides ont conduit à la recherche d'une approche alternative qui pourrait atténuer le problème (Gusain et Bhandari, 2019). L'agriculture moderne offre le potentiel d'une alimentation durable de la population mondiale croissante. Jusqu'à présent, les produits génétiquement modifiés (GM) ont permis d'augmenter les rendements et de réduire l'utilisation des pesticides. Néanmoins, les produits GM sont controversés parmi les décideurs politiques, les scientifiques et les consommateurs, en ce qui concerne leurs éventuels risques environnementaux, écologiques et sanitaires (Tsatsakis *et al.*, 2017).

L'utilisation de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) comme biofertilisants efficaces semble être un outil idéal pour atténuer la dépendance mondiale aux produits agrochimiques dangereux et améliorer la sécurité alimentaire (Gusain et Bhandari, 2019).

L'effet bénéfique de l'inoculation sur la population microbienne peut être direct, en raison d'un apport accru de phosphate (P) et d'azote (N) disponible, ou indirect, par le biais de changements dans le taux de croissance et les activités métaboliques des cultures (Canbolat *et al.*, 2006). Au cours des dernières décennies, un grand nombre de bactéries telles que *Bacillus* spp., *Azospirillum* spp., *Pseudomonas* spp. et *Azotobacter* spp. ont été signalées pour améliorer la croissance et le développement des plantes (Sabeti *et al.*, 2019). L'inoculation avec *Planomicrobium chinense*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas fluorescens*

a considérablement amélioré les paramètres de rendement du blé (Khan *et al.*, 2019). *Azotobacter* spp. pourrait améliorer les stress de diverses cultures agricoles qui se développent en raison des agents biotiques et abiotiques (Sumbul *et al.*, 2020).

L'application des PGPR dans un consortium avec des bactéries synergiques ayant de multiples caractéristiques favorisant la croissance des plantes peut être utilisée pour stimuler la production de blé de manière durable (Ashok Kumar *et al.*, 2017). Les combinaisons de souches PGPR sont nettement meilleures que tout antagoniste individuel, en plus de la suppression de la maladie, le traitement avec un mélange de souches a permis l'augmentation de la hauteur des plants et du nombre de talles, et finalement du rendement en grains (Nandakumar *et al.*, 2001). La co-inoculation des plantes est un moyen de prévenir la limitation du phosphore et pour une utilisation judicieuse des engrais chimiques (Bechtaoui *et al.*, 2020). La réponse agronomique à l'inoculation dépend également des communautés microbiennes indigènes, parmi lesquelles des micro-organismes ayant une capacité de fixation biologique de l'azote (Di Salvo et García de Salamone, 2019). Une question plus large est de savoir si l'inoculation peut entraîner des changements dans la structure de la communauté qui augmente les fonctions de la promotion de la croissance des plantes et de la suppression des maladies de la communauté résidente (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). Par exemple, l'inoculation avec *Azospirillum lipoferum* CRT1, a affecté la taille et la composition taxonomique des communautés fonctionnelles impliquées dans la fixation de l'azote et la désamination de l'ACC, (Renoud *et al.*, 2022). De même, l'inoculation des graines d'orge (*Hordeum vulgare*) avec des *Bacillus* a augmenté le nombre bactéries totales ainsi que celui des bactéries solubilisant le phosphate (Canbolat *et al.*, 2006). Une autre étude de Roesti *et al.*, 2006, rapporte que les bio-inoculants produits à partir des PGPR ou champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF), ont induit une modification significative de la structure de la communauté bactérienne du blé. De plus, l'inoculation avec un champignon mycorhizien arbusculaire *Funneliformis mosseae* IMA1 et avec une bactérie *Lactobacillus plantarum* B.MD.R.A2 a entraîné une sélection dans la composition de la communauté endophyte racinaire de deux variétés de blé augmentant l'abondance de certains genres et espèces d'Actinobacteria et de Bacteroidetes (Agnolucci *et al.*, 2019). L'inoculation du soja par *Paenibacillus mucilaginosus* avait diminué la richesse et la diversité bactériennes mais, elle avait aussi, favorisé des micro-organismes spécifiques par la sélectivité et l'enrichissement des exsudats racinaires. De plus, de nombreuses classes et genres bactériens, qui étaient associés à la fixation

symbiotique de l'azote, à la promotion de la croissance des plantes, au contrôle biologique et à l'amélioration de l'activité des catalases du sol, étaient surreprésentés (Ma *et al.*, 2018). Outre les paramètres de croissance, les enzymes de défense, les enzymes du sol et la diversité microbienne ont été modulées de manière significative dans les plantes inoculées individuellement et en consortiums avec *Pseudomonas putida* NBRIRA et *Bacillus amyloliquefaciens* NBRISN13 (Kumar *et al.*, 2016).

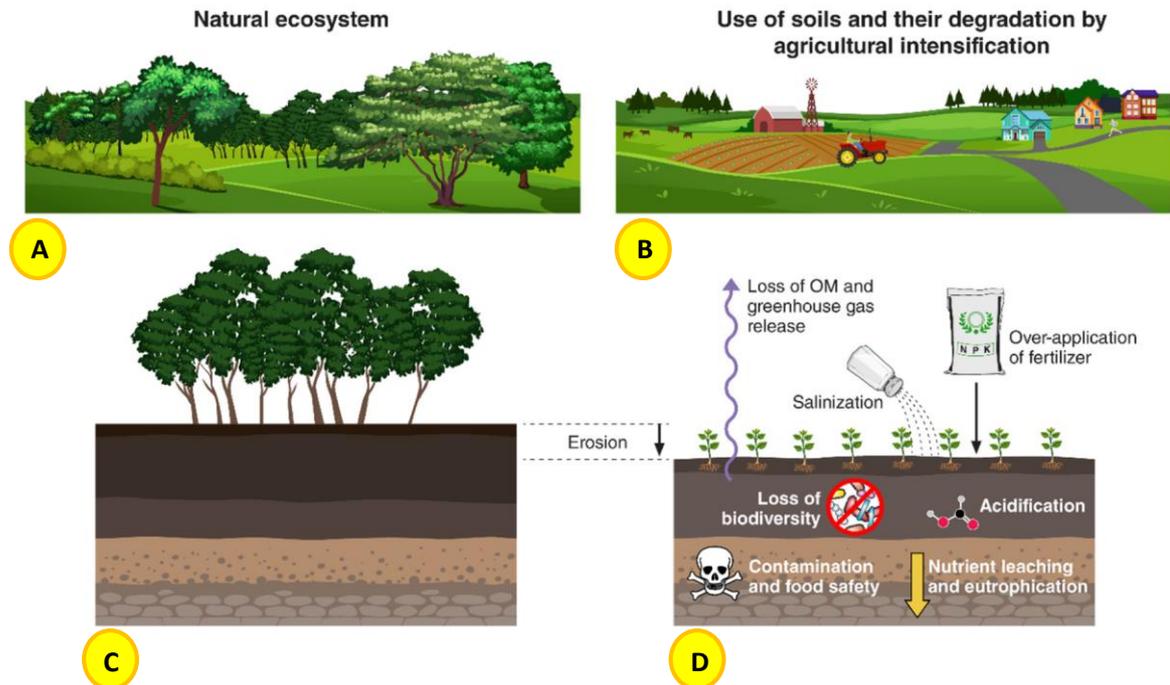
L'objectif de ce travail est d'évaluer, d'une part, l'impact stimulateur de l'inoculation par des souches PGPR *Pantoea agglomerans* Pa et *Bacillus thuringiensis* B25 sur la faculté germinative des graines et sur la croissance végétale de blé dur dans un milieu hydroponique et dans un sol non stérile. D'autre part, l'effet de ces souches sur la composition de la communauté rhizobactérienne cultivable bénéfique sera, aussi, analysé.

## 1. Revue bibliographique

L'agriculture est l'une des plus grandes et des plus importantes branches de l'industrie qui produit des aliments (Garbowski *et al.*, 2023), environ 37,6% (c'est-à-dire 4889 millions d'hectares) de la superficie terrestre totale du monde est classée comme "zone agricole" par la FAO (Ritchie et Roser, 2013). Rien qu'en 2019, 883 millions de personnes travaillaient dans le secteur agricole. En moyenne, cinq travailleurs sur dix dans l'Afrique étaient employés dans le secteur agricole (48,9 %) en 2019 (FAO, 2022). Il ne sera pas surprenant que l'agriculture emploie une plus grande part de la population en Afrique (Bandiera *et al.*, 2022). Il s'agit du secteur économique le plus important dans de nombreux pays et il représente la principale source de nourriture et de revenus pour les plus démunis (FAO, 2018).

Les cultures céréalières sont les aliments de base qui ont une grande importance dans l'alimentation d'un individu (Yadav *et al.*, 2020). L'un d'entre eux est le blé qui a son propre impact sur le corps humain. Le blé est la source la moins chère des principaux nutriments et assure la sécurité alimentaire et nutritionnelle de la population majoritaire du pays (Polisetty et Paidipati, 2020). Le blé est une source de nutriments de base pour environ 40 % de la population mondiale (Giraldo *et al.*, 2019). Le changement climatique devrait entraîner une baisse de la production mondiale de blé de -1,9 % d'ici le milieu du siècle (Pequeno *et al.*, 2021). Au temps que la demande de nourriture augmente énormément avec la croissance de la population mondiale (Wang *et al.*, 2022). Aujourd'hui, avec une croissance fortement accélérée au cours des derniers siècles, nous avons atteint environ 8 milliards de personnes (Milner et Boldsen, 2023). Les dernières projections des Nations Unies suggèrent que la population mondiale pourrait atteindre environ 9,7 milliards en 2050 (UN, 2022), et en termes d'énergie alimentaire, environ un milliard de personnes dans le monde ne répondent même pas aux besoins alimentaires de base (Hossain *et al.*, 2020). Ce qui pose un défi important pour assurer la sécurité alimentaire, car les nutriments et la fertilité du sol sont limités et diminuent avec le temps. Il est donc nécessaire d'accroître la productivité agricole pour répondre à la demande alimentaire d'une population croissante (Fasusi *et al.*, 2021), sachant que, les possibilités d'étendre la superficie des terres arables sont limitées (Nyssölä *et al.*, 2022). L'intensification actuelle des pratiques agricoles se traduit déjà par une dégradation non durable des sols. Les principales formes de cette dégradation comprennent la perte de matière organique et la libération de gaz à effet de serre, l'application excessive d'engrais,

l'érosion, la contamination, l'acidification, la salinisation et la perte de diversité génétique (Kopittke *et al.*, 2019). Rien qu'en 2020, 295 milliards d'heures de travail potentiel ont été perdus en raison de l'exposition à la chaleur extrême (Aghbashlo *et al.*, 2022).



**Fig. 1.** Impact de l'intensification agricole sur les sols, y compris la dégradation par la perte de matière organique du sol et la libération de gaz à effet de serre (B, D), l'érosion (C), l'application excessive d'engrais, la contamination des sols, l'acidification, la salinisation et la perte de diversité génétique des sols (D) (Kopittke *et al.*, 2019).

## 1. 1. Impacts du changement climatique sur l'agriculture

Le stress environnemental représente un défi majeur dans notre quête d'une production alimentaire durable car il réduit les rendements potentiels jusqu'à 70% dans les plantes cultivées. Le stress hydrique causé par la sécheresse et la gravité de la température est le stress abiotique le plus répandu qui limite la croissance et la productivité des plantes (Agarwal *et al.*, 2006). Plus de 60 pour cent des terres irriguées sont soumises à un stress hydrique élevé et si on n'agit pas, l'augmentation de la demande d'eau conjuguée aux effets du changement climatique risque d'aggraver la situation (FAO, 2020). Ainsi, les sols salinisés se sont continuellement dilatés dans l'espace et dans le temps et ont été significativement corrélés aux taux de précipitations (Bannari et Al-Ali, 2020). L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) affirme qu'environ 397 millions d'hectares (ha) de terres ont été salinisés dans le monde. Elle a également déclaré que sur 230 millions d'hectares de terres irriguées, 45 millions d'hectares (19,5%) ont été affectés par la salinité et que sur 1500 millions d'hectares de

terres arides, 32 millions d'hectares (2,1%) ont été soumis à un stress salin (Maheshwari et Dheeman, 2019).

L'aridité aussi, augmentera généralement dans des conditions d'augmentation du CO<sub>2</sub> et de réchauffement climatique associé (Greve *et al.*, 2019). Par exemple, en cas de rendement élevé en CO<sub>2</sub>, le blé peut augmenter jusqu'à 36%, mais la concentration en protéines du grain diminue et un changement dans la composition se traduit par une réduction des propriétés fonctionnelles (Nuttall *et al.*, 2017).

Les changements liés au climat ont un impact significatif sur la productivité des cultures, la vulnérabilité aux maladies et la persistance des maladies des plantes. La température, les précipitations, l'humidité, la rosée, le rayonnement, la vitesse du vent ont tous une incidence sur la croissance, la propagation et la survie des maladies des cultures. Des températures et une humidité de l'air plus élevées stimulent la germination des spores des microorganismes pathogènes et la croissance de bactéries et des champignons chez les plantes et facilitent la propagation des maladies (Chavula *et al.*, 2019).

Le changement climatique aggrave encore la dégradation des terres, l'érosion et la fertilité des sols (Pawlak et Kołodziejczak, 2020). Le sol érodé emporte les nutriments vitaux des plantes tels que l'azote, le phosphore, le potassium et le calcium. Ce qui pourrait entraîner la perturbation des communautés microbiennes, la disparition de la végétation et la diminution de l'habitat des animaux, entraînant ainsi une perte de la biodiversité et l'extinction des animaux (Pimentel, 2006). Les microorganismes telluriques (champignons, bactéries, protozoaires et algues) sont des composants fondamentaux des agroécosystèmes et sont cruciaux pour la dynamique vitale du sol et les fonctions telles que le cycle des nutriments, la fertilité et la productivité des sols (Dubey *et al.*, 2019). Le changement climatique affecte le fonctionnement et l'abondance relative des communautés microbiennes présentes dans le sol (Catania *et al.*, 2022; Dubey *et al.*, 2019). Il peut influencer la structure et la diversité des communautés microbiennes et leurs fonctions directement (par exemple, saisonnalité et température) ou indirectement (par exemple, composition des plantes, litière végétale et exsudats racinaires) (Cavicchioli *et al.*, 2019).

Certains pensent que si le changement climatique n'est pas maîtrisé, la production agricole pourrait bien s'effondrer, entraînant une famine catastrophique à travers le monde (Leridon, 2020). En parallèle, La population qui se multiplie exerce une pression immense sur les terres agricoles pour obtenir plus de rendements, ce qui entraîne une utilisation de plus en plus importante d'engrais chimiques (Shaharooni *et al.*, 2008).

## 1. 2. Les engrais chimiques

Du milieu du 20<sup>ème</sup> siècle jusqu'à ce jour, les engrais chimiques ont aidé à nourrir la population mondiale. Cela a été fait en fournissant les nutriments nécessaires, tels que le phosphore (P), l'azote (N) et le potassium (K), aux plantes (Fasusi *et al.*, 2021). Les engrais chimiques ont joué un rôle important dans la révolution verte, mais leur utilisation excessive a entraîné une réduction de la fertilité des sols et une dégradation de l'environnement (Gyaneshwar *et al.*, 2002). En outre, la production de cultures dépendant en grande partie de produits chimiques synthétiques a également diminué la qualité nutritionnelle des produits, ce qui affecte finalement la santé humaine (Bhardwaj *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2017; Prakash et Arora, 2019).

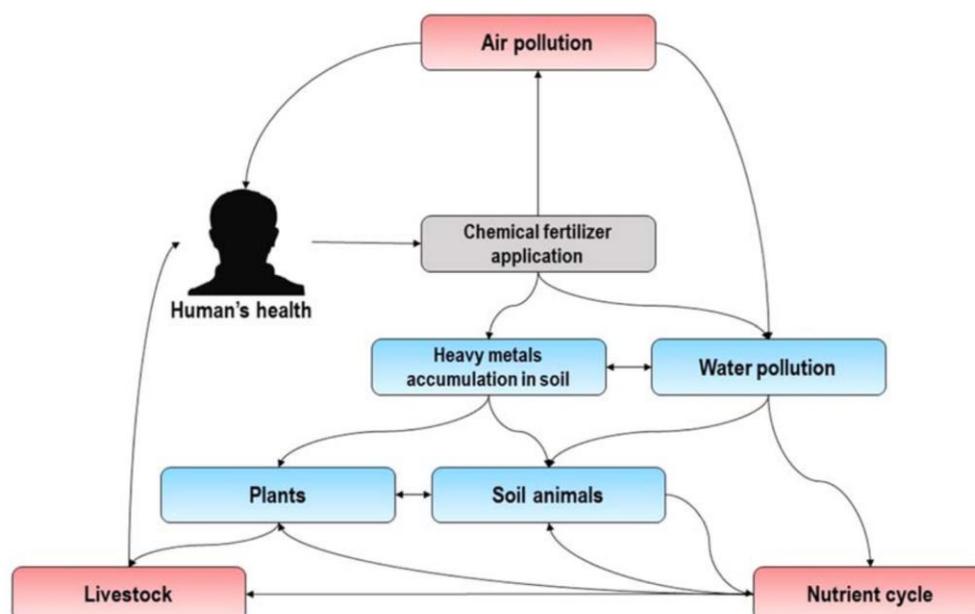
En général, 60 % à 90 % du total des engrais appliqués sont perdus et les 10 à 40 % restants sont absorbés par les plantes (Bhardwaj *et al.*, 2014). De plus, l'augmentation de l'utilisation d'engrais a affecté la fertilité des sols, la qualité de l'eau, la qualité de l'air et les émissions de gaz à effet de serre en raison de l'inefficacité de la mise en œuvre des engrais et de l'absorption par les plantes (Omran et Negm, 2020). L'utilisation d'engrais chimiques n'est pas bénéfique car elle affecte les communautés microbiennes du sol à grande échelle. La toxicité des engrais chimiques diminue la fertilité du sol et provoque une perturbation microbienne (Chaudhary *et al.*, 2019). Un niveau élevé de dépendance à l'égard des engrais chimiques comme moyen d'augmenter la production alimentaire a nui à l'équilibre écologique et devient trop coûteux pour de nombreux agriculteurs (Babalola, 2010; Fasusi *et al.*, 2021). Les engrais chimiques épuisent les énergies non renouvelables par des effets secondaires, tels que le lessivage et la pollution des bassins d'eau, détruisant les micro-organismes et les insectes bénéfiques, rendant la culture plus vulnérable aux attaques de maladies, réduisant la fertilité des sols, causant ainsi des dommages irréparables à l'ensemble du système (Babalola, 2010; Hazra, 2016). L'engrais chimique a également des effets néfastes, tels que la contamination des eaux souterraines par les nitrates et la croissance de mauvaises herbes aquatiques non ciblées (Verma *et al.*, 2001). En Chine, la sur- utilisation d'engrais azotés contribue de manière substantielle à l'acidification des sols.

Depuis 1980, la production agricole a augmenté avec l'augmentation rapide de la consommation d'engrais azotés. La diminution de l'efficacité de l'utilisation de l'azote, principalement due à l'acidification croissante des sols, résulte de cette pratique ( Lima *et al.*, 2021; Maheshwari, 2011). De plus, environ un tiers de l'azote appliqué (urée-N ou

nitrate-N, qui est appliqué comme engrais) est consommé par la plante ; le reste de l'azote peut pénétrer sous forme de nitrate dans les eaux souterraines et constitue un danger potentiel pour la santé de l'environnement. L'excès d'azote peut également produire de l'oxyde nitreux (N<sub>2</sub>O), un gaz à effet de serre efficace (Maheshwari et Dheeman, 2019).

En revanche, pour éviter les pertes alimentaires causées par les maladies fongiques, les agriculteurs aujourd'hui sont largement tributaires des fongicides synthétiques (Ons *et al.*, 2020). Les fongicides chimiques sont utilisés depuis longtemps pour lutter contre la pourriture post-récolte. Cependant, la dépendance excessive à l'égard des fongicides chimiques traditionnels a entraîné divers problèmes, tels que des résidus de fongicides, la pollution de l'environnement et une résistance accrue des agents pathogènes aux fongicides (Zhang *et al.*, 2020). L'utilisation répétée des nouveaux fongicides à faible impact entraîne le développement d'une résistance aux fongicides chez les agents pathogènes (Mavrodi *et al.*, 2017). Le principal impact environnemental du pesticide est sur la perte de la biodiversité microbienne tellurique et aquatique due à son lessivage dans le sol et l'eau (Omran et Negm, 2020). En addition, les pesticides sont chers, toxiques, dangereux et polluants (Dave *et al.*, 2020).

En conclusion, la fertilité des sols a considérablement diminué dans de nombreuses régions du monde en raison de l'agriculture intensive, du surpâturage, de la pollution de l'eau, de l'utilisation croissante d'engrais et de pesticides, de la salinisation, de la déforestation et de l'accumulation de déchets non biodégradables. Le changement climatique a aggravé encore la dégradation des terres, l'érosion et la fertilité des sols (Chalise *et al.*, 2019; Gupta, 2019).



**Fig. 2.** Conséquences néfastes générales des intrants chimiques sur l'agriculture et la santé humaine (Rad *et al.*, 2022).

Pour assurer la sécurité alimentaire, il faut tout mettre en œuvre pour prévenir le changement climatique et développer une agriculture durable (Wang *et al.*, 2022). La durabilité environnementale, en particulier pour une agriculture durable, doit être exempte d'utilisation abusive d'engrais chimiques gâchant simultanément la diversité biologique et la fertilité des sols. Elle a soulevé, aussi, plusieurs préoccupations pour trouver des alternatives d'origine naturelle (Maheshwari et Dheeman, 2019). Il est donc urgent de développer une solution respectueuse de l'environnement pour améliorer la production agricole et promouvoir simultanément une agriculture durable sous l'impact de divers facteurs, tels que le changement climatique (Prakash et Arora, 2019; Wang *et al.*, 2022).

La production durable de plus de nourriture pour la consommation humaine nécessite une technologie qui permet une meilleure utilisation des ressources limitées, y compris la terre, l'eau et les engrais (Fróna *et al.*, 2019). De nos jours, la communauté scientifique s'est concentrée sur une approche de gestion alternative respectueuse de l'environnement (Choudhary *et al.*, 2019).

Étant donné que les micro-organismes présents dans la rhizosphère sont importants pour la santé des végétaux et les cycles biogéochimiques, l'ingénierie de la rhizosphère pourrait enfin mettre fin à l'utilisation de produits agrochimiques en substituant leurs fonctions par des microorganismes bénéfiques (Alawiye et Babalola, 2019). Depuis longtemps, les microorganismes jouent un rôle important dans la fourniture d'un environnement sans pollution (Rana *et al.*, 2022). La rhizosphère du sol est riche en microflore qui possède des

propriétés fascinantes, supprimant les phytopathogènes et favorisant la croissance des plantes (Dave *et al.*, 2020). L'agriculture biologique dépend principalement de la microflore naturelle du sol constituant toutes sortes de bactéries et de champignons utiles, y compris les champignons mycorhizes arbusculaires (CMA) et les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Bhardwaj *et al.*, 2014).

### **1. 3. Les microorganismes bénéfiques pour les plantes (PBM)**

L'agriculture durable dépend de la santé des sols et de la diversité des microorganismes. La recherche actuelle doit donc se concentrer sur la gestion du microbiome des sols. L'utilisation de microorganismes bénéfiques (qui améliorent la santé et la qualité de la plante, et aident au recyclage des résidus de culture qui ont également des effets plus faibles sur l'environnement) sont des pratiques vitales pour la production durable d'énergie et de nourriture (Dubey *et al.*, 2019). Les microorganismes bénéfiques pour les plantes (PBM) sont considérés comme une voie alternative naturelle pour atténuer la pression sur l'environnement résultant de l'agriculture conventionnelle (Rocha *et al.*, 2019). Le rôle de la microbiologie de la rhizosphère a été établi comme une arène d'agriculture et d'économie durables. Dans cette quête, La recherche de microorganismes bénéfiques souhaités, y compris les bactéries, les champignons, les actinobactéries, les protozoaires et les algues, est de loin la plus courante (Maheshwari et Dheeman, 2019). Les organismes bénéfiques de la rhizosphère les plus fréquemment étudiés sont les mycorhizes, les *Rhizobium*, les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) et les microorganismes de biocontrôle (Dastogeer *et al.*, 2020).

#### **1. 3. 1. Bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPB) en tant qu'alternatif biologique**

La plupart des sols contiennent des niveaux très élevés de bactéries (souvent estimés à environ  $10^8$  à  $10^9$  cellules bactériennes par gramme de sol). Certaines de ces bactéries sont des PGPB, certaines sont des phytopathogènes et certaines n'ont aucun effet perceptible sur la croissance des plantes (Gamalero *et al.*, 2022). Les PGPB peuvent soit se fixer à la surface externe de la plante, comme les racines (rhizosphère) ou les feuilles (phyllosphère), soit coloniser les tissus internes de la plante, créant une relation endophytique (Belaouni *et al.*, 2023). Les bactéries rhizosphériques bénéfiques vivant librement sont généralement appelées "rhizobactéries favorisant la croissance des plantes" (PGPR) (Yadav *et al.*, 2020). Ces bactéries sont associées à la rhizosphère, la partie du sol sous l'influence des racines

des plantes et de leurs exsudats (García-Fraile *et al.*, 2015). Ils sont des micro-organismes du sol qui habitent la rhizosphère ou les racines des plantes pendant la croissance et le développement des plantes (Wang *et al.*, 2020). Conceptuellement, les "PGPR" représentent la partie bénéfique du microbiome rhizosphérique et peuvent avoir un effet positif sur la croissance et le développement des plantes par des mécanismes directs ou indirects (Yadav *et al.*, 2020). Les PGPR sont des bactéries non pathogènes, fortement colonisatrices de la surface des racines des plantes, qui augmentent le rendement des plantes par un ou plusieurs mécanismes (Babalola, 2010). Ils ont été définis pour la première fois par Kloepper et Schroth (1978) pour expliquer les microorganismes du sol qui sont destinés à habiter la zone des racines des plantes après l'inoculation des graines pour promouvoir la croissance des plantes (Koul *et al.*, 2019). Kloepper et Schroth (1981) ont appelé ces rhizobactéries bénéfiques des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Bhattacharyya et Jha, 2012). Environ 2 à 5% des rhizobactéries, lorsqu'elles sont réintroduites par inoculation végétale dans un sol contenant une microflore compétitive, exercent un effet bénéfique sur la croissance des plantes et sont des PGPR (Kumari *et al.*, 2019). Ces découvertes peuvent offrir un potentiel pour les applications des PGPR afin d'améliorer la production agricole et la durabilité. Actuellement, les producteurs sont confrontés à la nécessité de réduire les intrants comme l'eau et les applications d'engrais tout en augmentant simultanément la production (Chaparro *et al.*, 2012).

Les principaux habitants des racines représentent deux embranchements bactériens : les protéobactéries, qui comprennent de nombreux membres favorisant la croissance, et les actinobactéries, dont beaucoup sont connues pour produire des composés antimicrobiens (Berg *et al.*, 2013). Ces bactéries appartenant aux genres *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Derrxia*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Ochrobactrum*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Stenotrophomonas* et *Zoogloea* ont fait l'objet de recherches approfondies au fil des ans (Babalola, 2010).

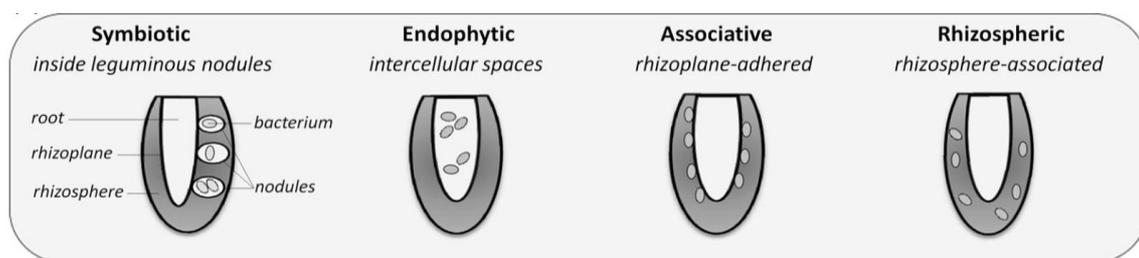
### **1. 3. 2. Interaction plante-bactérie**

En raison de leur mode de vie statique, les plantes doivent optimiser leur santé dans les environnements biotiques dont elles font partie (Dubey *et al.*, 2019). Dans les milieux naturels, les plantes sont exposées à divers microbiotes avec lesquels elles interagissent de manière complexe (Rodriguez *et al.*, 2019). L'association entre les plantes et les micro-

organismes remonte à plus de 400 millions d'années ; il existe des archives fossiles qui soutiennent l'établissement d'interactions entre les plantes et certains champignons, tels que les mycorhizes arbusculaires (Orozco-Mosqueda *et al.*, 2022; Santoyo, 2022). L'interaction entre les bactéries et la plante peut être nocive ou neutre et parfois s'avérer bénéfique pour celle des plantes (Maheshwari et Dheeman, 2019). Les micro-organismes pathogènes et mutualistes semblent être les principaux facteurs qui, en plus d'influencer l'aptitude des plantes, utilisent également les plantes hôtes pour leur prolifération (Dubey *et al.*, 2019). Le système immunitaire des plantes doit faire la différence entre les microorganismes bénéfiques et pathogènes et mettre en place des réponses appropriées, mais diamétralement opposées, permettant la colonisation ou la défense (Rodriguez *et al.*, 2019).

La rhizosphère est l'un des écosystèmes les plus complexes de la planète, considérée comme un point chaud des interactions plantes-microorganismes (Ali *et al.*, 2017; Kong et Liu, 2022; Maheshwari et Dheeman, 2019). La rhizosphère des plantes possède une riche communauté de microorganismes bénéfiques. Une telle communauté microbienne vit en étroite association avec les plantes et interagit avec elles (Jung *et al.*, 2017). Il y a une interaction entre la plante en développement et une gamme de microorganismes habitant le sol entourant la plante pendant la période de germination de la graine et la croissance de la plantule. Pendant la germination de la graine en plantule, les matières organiques sont libérées au fur et à mesure que les racines se développent dans le sol et cela déclenche les activités de la diversité des microorganismes dans la région des racines de la plante et dans le sol entourant la plante avec un petit millimètre d'épaisseur (Odelade et Babalola, 2019). Les signaux chimiques émis par les micro-organismes du sol sont reçus et reconnus par les plantes, puis traités par la libération de composés chimiques sous forme d'exsudats racinaires (Chaparro *et al.*, 2012). Les exsudats racinaires sont impliqués en tant que déterminant clé de la structure de la communauté microbienne de la rhizosphère (Dennis *et al.*, 2010). Ces métabolites agissent comme des signaux chimiques permettant aux bactéries mobiles de se déplacer vers la surface des racines, mais représentent également les principales sources de nutriments disponibles pour soutenir la croissance et la persistance dans la rhizosphère (Nihorimbere *et al.*, 2011). En effet, Les plantes alimentent le microbiome de la rhizosphère avec des métabolites de carbone et d'azote par l'exsudation des racines. À leur tour, les microorganismes bénéfiques contribuent à l'absorption des nutriments, à la régulation des phytohormones et à la résistance aux stress biotiques et abiotiques de la plante (Kong et Liu, 2022). Ainsi, cette association est attendue, puisque

les micro-organismes sont apparus avant les plantes et ont colonisé une grande partie des écosystèmes de la planète (Santoyo, 2022). Les plantes et les PGPB participent à de nombreux événements de signalisation moléculaire qui établissent des relations symbiotiques, endophytes ou associatives spécifiques. Ces relations varient selon les génotypes végétaux et les souches bactériennes et selon le degré de proximité entre les racines et le sol environnant (Fig. 3) (Ambrosini *et al.*, 2016). De plus, la haute valeur nutritionnelle des métabolites primaires et secondaires modifie l'assemblage physicochimique des microorganismes du sol et induit également la division et la colonisation des cellules microbiennes (Mondal et Baksi, 2022).

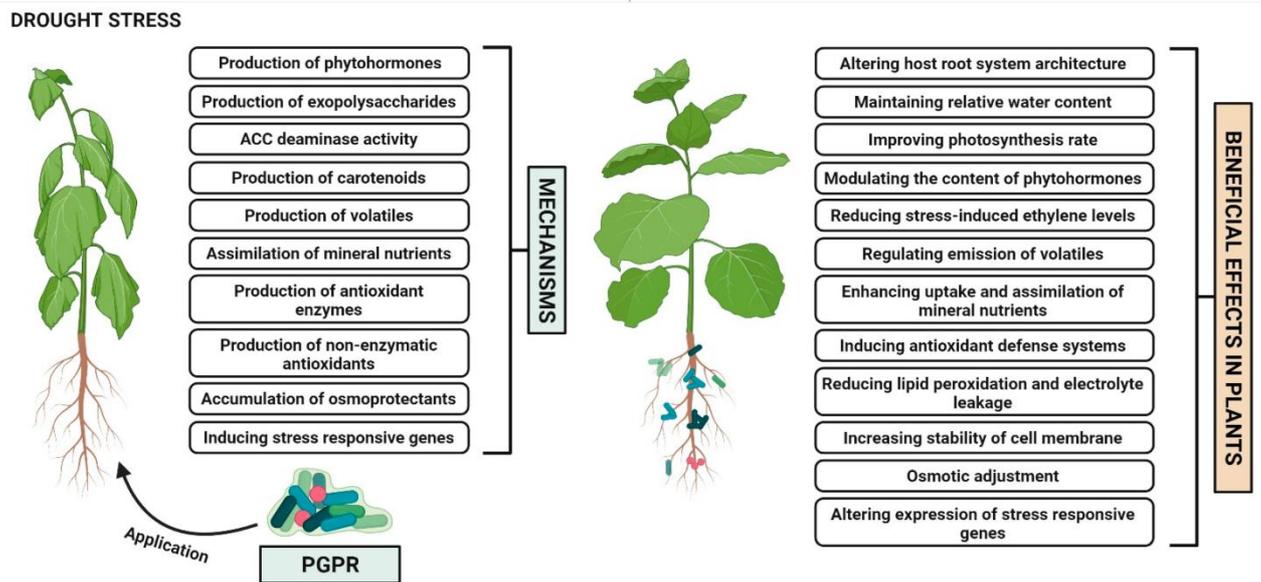


**Fig. 3.** Différents types d'association entre les racines des plantes et les bactéries bénéfiques du sol (Ambrosini *et al.*, 2016).

### 1. 3. 3. Impact des PGPR sur la croissance végétale

Les plantes sont des méta-organismes ou des holobiontes qui dépendent en partie de leur microbiome pour des fonctions et des traits spécifiques. Les racines des plantes hébergent des communautés bactériennes distinctes qui affectent profondément la santé, le développement, la vigueur, la résistance aux maladies et la productivité des plantes (Mavrodi *et al.*, 2017). Environ 27 % du carbone fixé produit par les plantes est sécrété par les exsudats racinaires (Gupta *et al.*, 2021). Les plantes nourrissent les communautés de la rhizosphère et influencent leur activité en déposant jusqu'à 40 % de carbone fixé par photosynthèse dans le sol qui entoure directement les racines des plantes (Mavrodi *et al.*, 2017). Pourquoi la plante utiliserait-elle un tel grand pourcentage de son énergie pour produire et libérer ces rhizodépôts ? Il s'agit peut-être d'attirer les micro-organismes qui rendent service à la plante en sécrétant des hormones de croissance, en prévenant les maladies ou en acquérant des nutriments par les excréments d'un système racinaire biochimiquement actif (Chaparro *et al.*, 2012). La rhizosphère soutient des communautés microbiennes complexes associées aux plantes qui jouent un rôle vital dans le maintien de la santé des plantes. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) sont des bactéries du sol naturelles capables de bénéficier aux plantes en améliorant leur

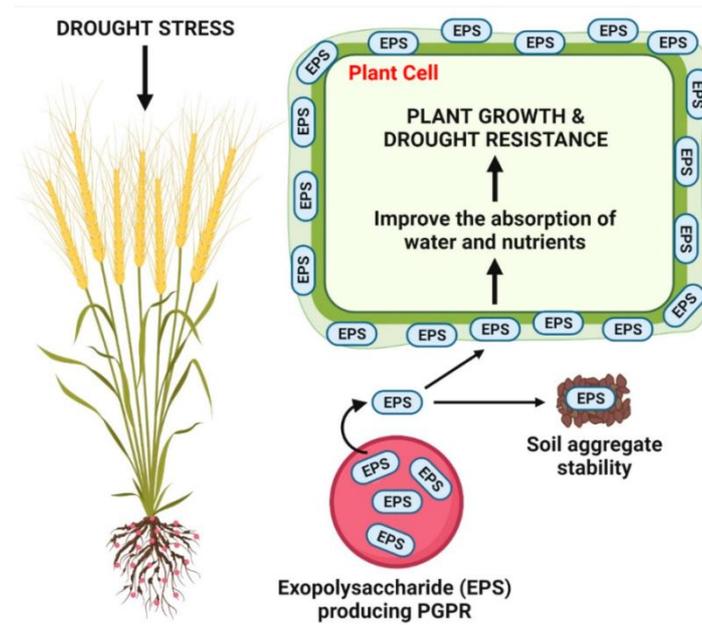
productivité et leur immunité (García-Fraile *et al.*, 2015). Les PGPR présents encouragent les effets bénéfiques sur la santé et la croissance des plantes, suppriment les microorganismes pathogènes et accélèrent la disponibilité et l'assimilation des nutriments (Babalola, 2010). Les avantages pour la croissance des plantes dus à l'ajout de PGPR comprennent des augmentations des taux de germination, de la croissance des racines, du rendement (y compris la graine), de la surface foliaire, de la teneur en chlorophylle, de la teneur en magnésium, de la teneur en azote, de la teneur en protéines, de l'activité hydraulique, de la tolérance à la sécheresse, du poids des feuilles et des racines, et la sénescence retardée des feuilles (Lucy *et al.*, 2004).



**Fig. 4.** Mécanismes de l'induction médiée par les PGPR dans la tolérance des plantes au stress hydrique (Gowtham *et al.*, 2022).

Les résultats de Ali *et al.* (2011) ont indiqué une amélioration de la performance de la souche AKMP7 de *Pseudomonas putida* sur la survie et la croissance des plants de blé soumis à un stress thermique. Cette bactérie a considérablement augmenté la longueur des racines et des feuilles, la biomasse sèche de l'épi et de la graine de blé. Ce résultat suggère le rôle possible des micro-organismes dans l'atténuation des effets néfastes des changements climatiques sur la croissance des cultures et pourrait conduire au développement d'une technologie adaptée au climat basée sur les microorganismes (Cavicchioli *et al.*, 2019). L'inoculation avec les souches productrices de l'enzyme acide amino cyclopropane carboxyclique désaminase (ACC désaminase) a réduit la production d'éthylène sous stress salin (Bal *et al.*, 2013). Certains PGPR sont capables de sécréter des exopolysaccharides (EPS) pour se protéger et, par conséquent, protéger leurs plantes hôtes

contre les fluctuations environnementales et autres stress abiotiques tels que la sécheresse, la salinité ou la pollution par les métaux lourds (Morcillo et Manzanera, 2021). Plusieurs modes d'actions sont attribués aux EPS, parmi lesquels : (i) une grande capacité de rétention d'eau ; (ii) capacité de modification de la structure de la matrice du sol et la connectivité des pores ; (iii) changement des propriétés physico-chimiques de l'eau (tension superficielle et viscosité) (Zheng *et al.*, 2018).



**Fig. 5.** Exopolysaccharides produits par des PGPR entraînant une atténuation du stress hydrique chez les plantes (Gowtham *et al.*, 2022).

Les EPS aident, aussi, à la rétention de la fertilité du sol et protègent l'environnement lors de conditions défavorables (Chaudhary *et al.*, 2020). Un autre avantage majeur de l'utilisation des PGPR est la résistance des plantes contre les maladies, parfois appelée «contrôle biologique» (Lucy *et al.*, 2004). Les inoculants microbiens, lorsqu'ils sont utilisés comme inoculum composite, ont montré une efficacité maximale dans la suppression des maladies avec l'augmentation caractéristique de la teneur en chlorophylle, du nombre total de feuilles, de la hauteur des feuilles et facilitant ainsi le rendement global des cultures que lorsqu'ils sont inoculés individuellement (Bhattacharyya et Jha, 2012). Les PGPR offrent une approche durable pour augmenter la production et la santé des cultures (Podile *et al.*, 2014).

De nos jours, les PGPR suscitent beaucoup d'attention dans la recherche agricole et environnementale en tant qu'outil respectueux de l'environnement pour augmenter le rendement des cultures, et également en tant que composant des systèmes intégrés de gestion des éléments nutritifs des plantes (Vandana *et al.*, 2021).

Les PGPR comprennent 72 genres bactériens dont *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, etc ... Avec l'utilisation de ces genres, les intrants chimiques et agrochimiques sont voués à être réduits afin de maintenir les avantages pour la santé humaine (Koul *et al.*, 2019; Maheshwari et Dheeman, 2019; Vandana *et al.*, 2021). Les PGPR sont censés remplacer les régulateurs de croissance artificiels, les engrais chimiques et les pesticides qui imposent divers effets néfastes sur l'agriculture durable (Koul *et al.*, 2019). Ils ont la capacité d'induire une défense contre les insectes herbivores. Certains microorganismes bénéfiques induisent également une résistance systémique (ISR) contre les virus pathogènes microbiens, les parasites et les insectes herbivores et certains affichent une pathogénicité directe des insectes (Maheshwari et Dheeman, 2019). Comme ils sont sensibles aux changements des conditions abiotiques telles que le stress environnemental, les microorganismes rhizosphériques sont utilisés comme bioindicateurs de la qualité du sol (Koul *et al.*, 2019). Des substances favorisant la croissance sont susceptibles d'être produites en grande quantité par ces microorganismes de la rhizosphère qui influencent indirectement la morphologie globale des plantes (Bhattacharyya et Jha, 2012). Ils entretiennent et réparent également les friches dégradées et contaminées, eutrophisent les plans d'eau, régulent le ruissellement d'azote et de phosphore et contrôlent la pollution par les pesticides (Koul *et al.*, 2019). Les PGPR et les champignons mycorhizes arbusculaires (CMA) pourraient rendre les plantes plus tolérantes aux contaminants nocifs des hydrocarbures (Xun *et al.*, 2014). Les microorganismes favorisant la croissance des plantes (PGPM) deviennent une solution efficace au problème de la toxicité du mercure provenant des terres agricoles contaminées (Maheshwari et Dheeman, 2019).

Les bactéries associées aux plantes jouent un rôle clé dans le maintien de l'intégrité écologique et ont des applications agrobiotechnologiques futures dans la gestion des cultures (Kalam *et al.*, 2017).

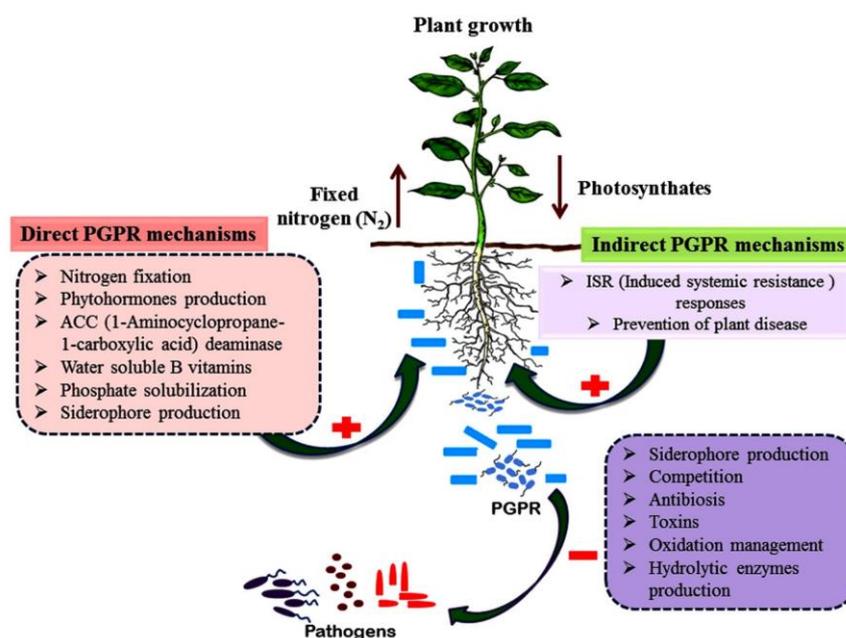
### **1. 3. 3. 1. Modes d'action des PGPR**

Les PGPR peuvent être classés comme biofertilisants, phytostimulateurs et biopesticides, en fonction de leur mode d'action, certaines bactéries ayant des applications qui se chevauchent (Bhattacharyya et Jha, 2012; Martínez-Viveros *et al.*, 2010). Il a été observé que certains micro-organismes, y compris les bactéries favorisant la croissance des plantes, les champignons, les cyanobactéries, etc. ont montré des activités de type biofertilisant dans le secteur agricole (Mahanty *et al.*, 2016). Les bioinoculants sont des micro-

organismes respectueux de l'environnement (PGPR) jouant un rôle important dans l'amélioration de la production végétale et sont bénéfiques pour les producteurs et les consommateurs en protégeant le sol dans des conditions défavorables (Chaudhary *et al.*, 2020).

### **1. 3. 3. 2. Mécanismes des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes**

Comprendre les mécanismes de promotion de la croissance des plantes est important pour décider quel type de bactérie utiliser avec une plante dans une situation donnée (Lucy *et al.*, 2004). Les PGPR favorisent la promotion de la croissance des plantes en recrutant une variété de mécanismes directs et indirects : à savoir la fixation de l'azote atmosphérique qui est transféré à la plante, la production de sidérophores qui chélatent le fer et le rendent disponible pour la racine de la plante, la solubilisation de minéraux tels que le phosphore et la synthèse de phytohormones (Shivran *et al.*, 2013). Par exemple, la synthèse de l'acide indole acétique (AIA), de l'acide gibbérellique (GA) et de l'ACC (acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique) désaminase, qui aide à la régulation de la biosynthèse de l'éthylène (Vandana *et al.*, 2021), la protection des plantes dans des conditions stressantes, contrecarrant ainsi les impacts négatifs du stress (García-Fraile *et al.*, 2015). Alors que les mécanismes indirects utilisés par les PGPR comprennent la protection antibiotique contre les bactéries pathogènes, la réduction du fer disponible pour les phytopathogènes dans la rhizosphère, la synthèse d'enzymes de lyse des parois cellulaires fongiques et la compétition avec des micro-organismes nuisibles pour les sites sur les racines des plantes (Lucy *et al.*, 2004). Certains PGPR ont plus d'un mécanisme pour accomplir une croissance accrue des plantes, comme la production d'enzymes, de facteurs bioactifs, d'antibiotiques, de métabolites ainsi que de promoteurs de croissance (Babalola, 2010; Singh *et al.*, 2020).



**Fig. 6.** Diagramme schématisique représentant le mode d'action des PGPR (Chandran *et al.*, 2021).

### 1. 3. 4. Effet de l'inoculation des PGPR sur la communauté microbienne de la rhizosphère

Il existe des preuves montrant les liens étroits entre les plantes et leur microbiome. Un microbiome équilibré peut être la solution pour obtenir des plantes plus saines et plus productives (Chaparro *et al.*, 2012). Malgré les résultats prometteurs de promotion de la croissance des plantes couramment rapportés et principalement attribués aux phytohormones, ou à d'autres composés organiques produits par les inoculants PGPR, peu d'informations sont disponibles sur les mécanismes potentiels sous-jacents à ces effets positifs via la modification de la communauté microbienne de la rhizosphère et la fonctionnalité du sol (Kong et Liu, 2022). La compréhension des processus qui détermine la composition, la dynamique et l'activité de la microflore de la rhizosphère a suscité l'intérêt de scientifiques de multiples disciplines et peut être exploitée pour le développement de nouvelles stratégies pour favoriser la croissance et la santé des plantes (Raaijmakers *et al.*, 2009). Bien que les micro-organismes individuels tels que les endophytes, les symbiotes, les pathogènes et les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes soient de plus en plus présents dans la littérature, la plus grande communauté de micro-organismes du sol, ou microbiome du sol, peut avoir des effets plus profonds. Chaque micro-organisme fonctionne en coordination avec le microbiome global du sol pour influencer sur la santé des végétaux et la productivité des cultures (Chaparro *et al.*, 2012).

Notre compréhension pour manipuler et gérer le microbiome de la rhizosphère est très limitée. La façon la meilleure et la plus efficace de manipuler le microbiome est la bioinoculation (Kumar et Dubey, 2020). L'inoculation de PGPR dans le sol aura un grand impact sur les espèces et l'abondance des micro-organismes indigènes dans le processus de formation d'une nouvelle relation de coexistence coopérative avec les micro-organismes indigènes (Xing *et al.*, 2022).

Il y a eu peu d'études sur les effets d'un microorganisme introduit sur les membres indigènes des communautés microbiennes autres que les agents pathogènes (Agrawal *et al.*, 2018; Gilbert *et al.*, 1993). Il est donc nécessaire d'étudier la dynamique de la communauté microbienne sur le terrain avant de modifier la pratique agricole, en particulier lors de l'utilisation de bio-inoculants pour améliorer la santé du sol ou le rendement des cultures (Roesti *et al.*, 2006). Une façon d'évaluer cette hypothèse est d'analyser l'inoculation d'un "agent microbien" dans la rhizosphère, et d'observer un réarrangement de la composition microbienne associée ; par conséquent, une amélioration de la santé, de la croissance des plantes ou de la condition physique sera indirectement observée par rapport aux plantes qui n'ont pas été préalablement inoculées avec "l'agent microbien"(Santoyo, 2022).

#### **1. 3. 4. 1. Microbiome de la rhizosphère**

L'ensemble du génome microbien habitant un environnement végétal est décrit comme le microbiome d'une plante ou est appelé génome microbien des plantes (Odelade et Babalola, 2019) , Il est beaucoup plus grand que celui de la plante et est également appelé deuxième génome de la plante (Berendsen *et al.*, 2012). La population de microorganismes colonisant l'environnement de la plante peut être bien supérieure aux concentrations cellulaires de la plante elle-même (Odelade et Babalola, 2019). Le terme « microbiome de la rhizosphère » fait référence aux communautés microbiennes collectives associées à la rhizosphère végétale (Ali *et al.*, 2017; Mondal et Baksi, 2022). De plus, les microbiomes trouvés au niveau de la rhizosphère ont une structure et une composition très diverses avec une grande influence sur la plante hôte (de différentes manières), cela peut être dû à la proximité adjacente à la racine de la plante et à leur association constante (Odelade et Babalola, 2019). Gu *et al.* (2022) ont rapporté que des changements dans la composition de la communauté de la rhizosphère, plutôt que dans la diversité globale des espèces peuvent expliquer la santé future des plantes. À un niveau plus détaillé, ils ont découvert que les

états du microbiome suppresseurs de maladies étaient associés à des taxons microbiens spécifiques.

Certains auteurs ont désigné le rhizobiome comme un ensemble de génomes qui réside dans une rhizosphère (Orozco-Mosqueda *et al.*, 2022). Le microbiome racinaire est recruté à partir d'une gamme variée de microorganismes présents dans le sol en vrac environnant (biome du sol en dehors de la rhizosphère) (Dastogeer *et al.*, 2020; Vandenkoornhuysen *et al.*, 2015). Relier la composition et la diversité du microbiome à leur fonction est un grand défi pour les recherches futures (Dastogeer *et al.*, 2020). L'émergence de groupes dominants dans la rhizosphère à partir de ce biome du sol peut avoir des implications majeures pour les espèces végétales résidentes (Lareen *et al.*, 2016). La rhizosphère sélectionne les micro-organismes du sol en vrac pour fonctionner comme une banque de graines, réduisant la diversité microbienne (Ling *et al.*, 2022). Le groupe de bactéries qui sont des habitants de la rhizosphère et capables de concourir pour coloniser le système racinaire est connu sous le nom de « rhizobactéries », tandis que le composant microbien total (procaryotes, eucaryotes et virus) de la rhizosphère est appelé rhizo-microbiome ou microbiome de la rhizosphère (Yadav *et al.*, 2020). Les bactéries sont responsables de plus de 95 % des activités microbiennes du sol et sont également dominantes dans de nombreux sols (Kenneth *et al.*, 2019), souvent estimées à environ  $10^8$  à  $10^9$  cellules bactériennes par gramme de sol (Gamalero *et al.*, 2022). Sur la base de leurs expériences sur les radis, Kloepper et Schroth (1978) ont introduit le terme «rhizobactéries» dans la communauté bactérienne du sol qui colonisait de manière compétitive les racines des plantes et stimulait la croissance, réduisant ainsi l'incidence des maladies des plantes (Bhattacharyya et Jha, 2012). Une partie de la matière perdue par les racines a un faible poids moléculaire et est métabolisée par les microorganismes. Les bactéries de la rhizosphère sont écophysiologiquement adaptées à ces métabolites chimiques. L'approvisionnement abondant en carbone organique contenu dans ou émanant des racines des plantes fait de la rhizosphère une oasis pour la croissance et le maintien des bactéries dans le sol en vrac (Babalola, 2010). Comprendre la dynamique microbe-microbe et leurs effets sur la composition des communautés microbiennes est essentiel pour identifier les déterminants microbiens qui façonnent les communautés microbiennes. Ces connaissances peuvent fournir des solutions pour créer des microbiomes bénéfiques apparemment présents dans les sols suppressifs qui peuvent améliorer durablement la production agricole (Lareen *et al.*, 2016).

### **1. 3. 4. 2. Facteurs affectant les communautés microbiennes de la rhizosphère**

La distribution spatiale des microorganismes sur notre planète est formulée de manière célèbre dans l'hypothèse de Baas Becking comme "tout est partout mais l'environnement sélectionne"(Fondi *et al.*, 2016). Le plein potentiel des rhizobactéries pour favoriser la croissance des plantes ne peut être atteint que lorsqu'il y a une meilleure compréhension des facteurs contrôlant leur écologie et leur établissement sur les racines (Shweta, *et al.*, 2008). Cependant, les facteurs et les interactions multipartites qui peuvent entraîner des changements dans la structure du microbiome racinaire et, par conséquent, affecter la santé et le développement des plantes, sont très complexes, dynamiques et mal compris (Lareen *et al.*, 2016). Les micro-organismes associés aux cultures pourraient être sélectionnés directement, en agissant sur des variables environnementales, telles que la disponibilité des nutriments et de l'eau, le pH du sol, les niveaux d'oxygène du sol, l'identité de la culture ou d'autres facteurs biotiques ou abiotiques (Agoussar et Yergeau, 2021).

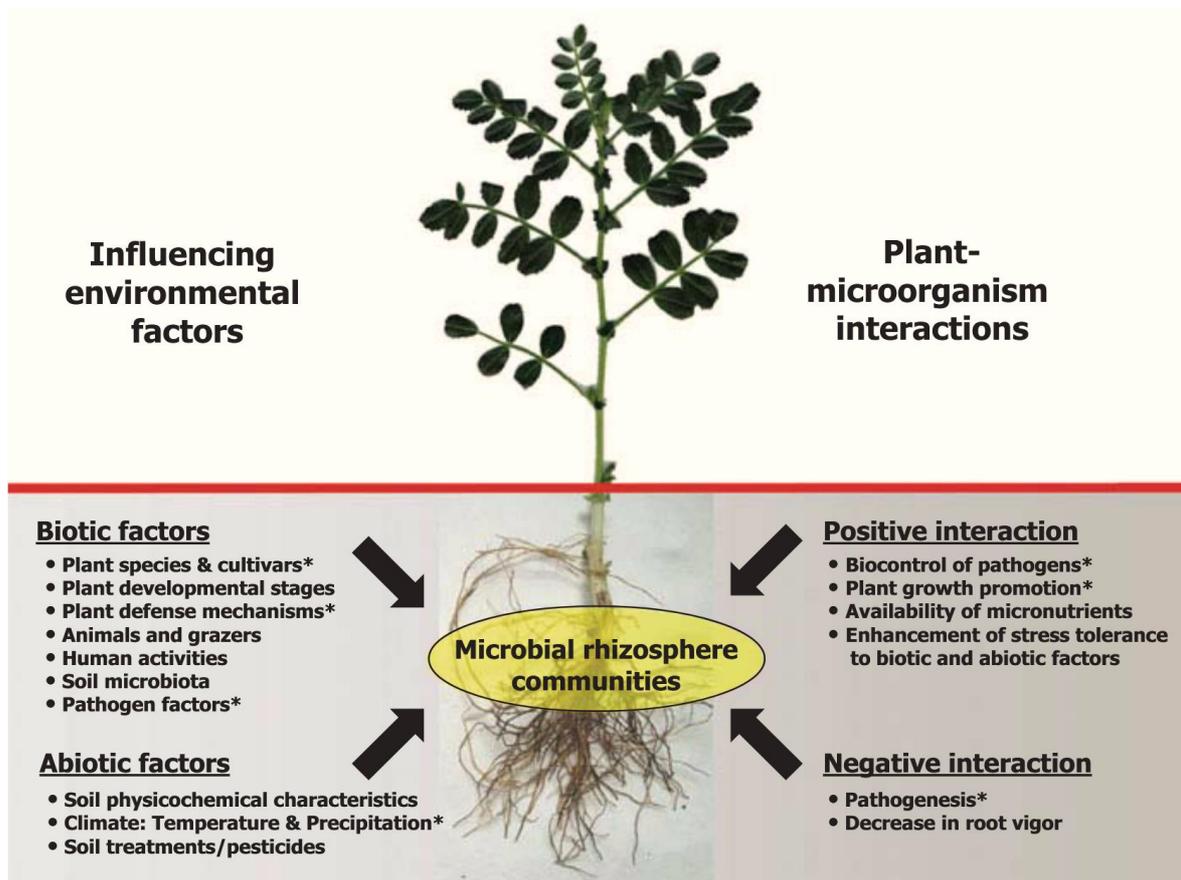
#### **1. 3. 4. 2. 1. Facteurs environnementaux**

Les communautés microbiennes hétérogènes des microbiomes rhizosphériques varient considérablement selon le type de sol, le mode d'utilisation des terres, les espèces végétales et le génotype de l'hôte (Dastogeer *et al.*, 2020; Yadav *et al.*, 2020). L'identité de la plante hôte a une influence significative sur l'identité de son microbiome. Différentes espèces végétales poussant les unes à côté des autres peuvent abriter des microbiomes distincts. Les espèces végétales influencent également l'identité et la diversité des communautés endophytes (Dastogeer *et al.*, 2020). Sur la base de preuves expérimentales, il ne fait aucun doute que les plantes créent un environnement qui recrute un rhizomicrobiome spécifique et façonne des associations microbiennes bénéfiques pour leur croissance (Jamil *et al.*, 2022). Par exemple, les nombres de *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*,  $\alpha$ -Proteobacteria et  $\beta$ -Proteobacteria étaient significativement plus élevés dans le sol d'arachide avec interactions souterraines. Pendant ce temps, des abondances significativement plus élevées de *Bacillus*, *Rhizobium*, Firmicutes et Actinobacteria ont été observées dans les interactions souterraines dans le sol de maïs (Li *et al.*, 2018). En plus, la présence de différentes espèces endophytes dans le soja dépendait du génotype de la plante, de l'âge de la plante, des tissus prélevés, ainsi que de la saison d'isolement. Il semble que les bactéries les mieux adaptées pour vivre à l'intérieur des plantes soient naturellement sélectionnées (Govindasamy *et al.*, 2010). Les résultats de Zhang *et al.* (2019) indiquent que, la richesse et la diversité des communautés étaient plus élevées pour

les bactéries et plus faibles pour les champignons, en particulier au stade de la maturité du poivron. Les caractéristiques des plantes telles que la perméabilité des feuilles, la mouillabilité, la topographie et les propriétés physicochimiques, les exsudats des racines, la production d'antibiotiques et l'immunité inhérente des plantes à l'invasion par les microorganismes peuvent également jouer un rôle (Dastogeer *et al.*, 2020). L'histoire évolutive des plantes influence la composition taxonomique de la communauté bactérienne associée aux racines (Bouffaud *et al.*, 2016). Le transfert de nutriments des racines des plantes dans la rhizosphère contrôle les interactions plantes-microorganismes et les populations de bactéries ont un rôle fonctionnel au sein des communautés qui permet leur survie (Maheshwari et Dheeman, 2019). Les métabolites primaires, comme les acides aminés et organiques, ainsi que les métabolites secondaires, comme les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes, sont sécrétés par les racines des plantes, et ceux-ci ont été trouvés responsables de la captation et de la promotion des microorganismes bénéfiques tout en affrontant la croissance du microbiome pathogène dans le rhizosphère (Mondal et Baksi, 2022).

Apparemment, les signaux chimiques entre les racines des plantes et les microorganismes influencent la structure et les fonctions de la communauté (Babalola, 2010). Par exemple, l'éthylène produit par les racine d'arachide, en tant que signal gazeux, modifie la composition microbienne et réassemble le réseau de cooccurrence microbienne en déplaçant l'abondance d'une espèce actinobactérienne, *Catenulispora* sp., qui devient une clé de voûte dans la rhizosphère de l'arachide. Le microbiote de la rhizosphère réassemblé fournit plus de nutriments disponibles aux racines et soutient la production de graines (Chen *et al.*, 2020). Les sols peuvent varier en termes de pH, de structure, de texture, de teneur en matière organique, de stabilité des microagrégats et de disponibilité des nutriments. Ces propriétés physico-chimiques des sols peuvent sélectionner directement des microorganismes spécifiques en créant des environnements de niche qui profitent à certains types de microorganismes et influencent la disponibilité des exsudats des racines des plantes affectant le recrutement microbien par la plante (Lareen *et al.*, 2016). Le carbone organique du sol (COS) et la capacité d'échange de cations (CEC) exercent la plus forte influence sur la structure de la communauté bactérienne du sol, qui peut également être influencée par la biogéographie, car la similitude de la communauté bactérienne diminue de manière significative avec l'augmentation de la distance géographique (Catane *et al.*, 2022).

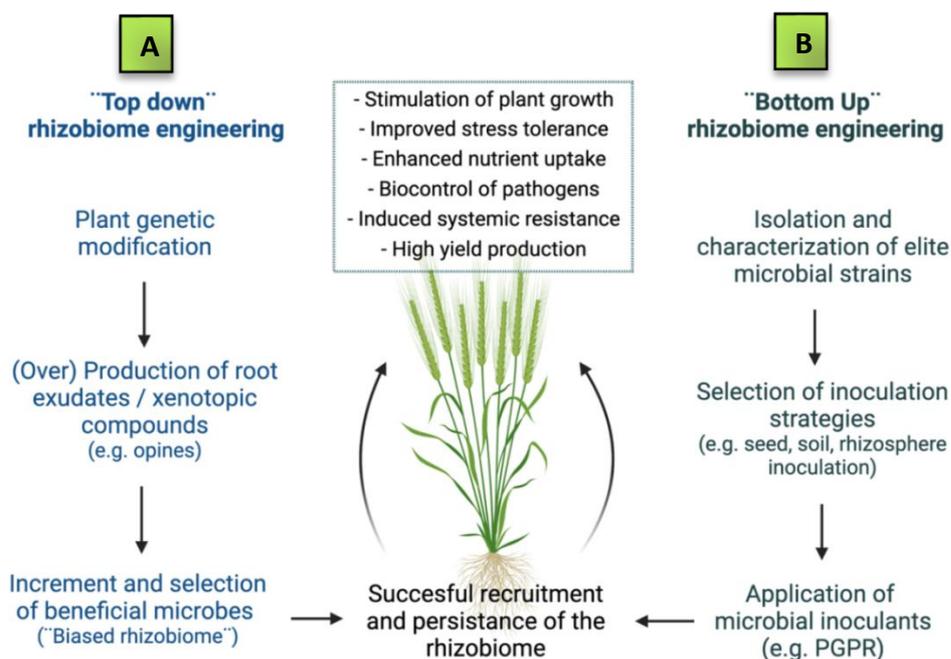
La croissance microbienne dans la rhizosphère peut être limitée par le N et le P disponibles, le compactage du sol a induit une limitation de la croissance des racines et des pousses qui s'est traduite par une diminution de la population et de l'activité microbiennes, la population bactérienne a été stimulée par la diminution de la densité apparente du sol (Canbolat *et al.*, 2006). La teneur en azote ammoniacal du sol est un facteur clé du sol affectant la communauté bactérienne de la rhizosphère des arbres à thé sauvages anciens, ainsi que l'abondance relative de certains phyla/genres bactériens spécifiques tels que les protéobactéries, les actinobactéries, *Chloroflexi*, *Bryobacter* et *Acidibacter* (Zi *et al.*, 2020). L'application à long terme de pesticides chimiques altère fortement, et souvent de façon permanente, la structure de la communauté microbienne rendant impossible une agriculture durable (Mavrodi *et al.*, 2017).



**Fig. 7.** Facteurs influençant les communautés microbiennes de la rhizosphère et interactions positives et négatives qui en résultent (Landa *et al.*, 2013).

### **1. 3. 4. 2. 2. Inoculation bactérienne et interactions PGPR - communauté microbienne du sol**

La plupart des communautés microbiennes peuplant la rhizosphère agissent comme des synergistes qui favorisent la croissance et le développement des plantes, améliorent l'acquisition des nutriments par les plantes et atténuent le stress abiotique en augmentant la tolérance et l'induction des mécanismes de défense des plantes (Ali *et al.*, 2017). Les inoculants peuvent également interférer avec la santé du sol et la composition de la communauté microbienne (Ambrosini *et al.*, 2016). Une attention croissante a été accordée à la façon dont l'inoculation des PGPR affecte la communauté microbienne indigène et l'activité dans le sol rhizosphérique ou le sol en vrac (Kong et Liu, 2022). Dans le sol, les PGPR en particulier, agissent généralement ensemble en groupes ou en consortiums, les consortiums étant chargés de faciliter la croissance des plantes, c'est-à-dire que différentes bactéries au sein des consortiums satisfont différents besoins des plantes (Gamalero *et al.*, 2022). La compétitivité comme condition préalable à l'établissement et à la domination des communautés nécessite une communication coordonnée entre les microorganismes ainsi que la perception et la traduction des signaux environnementaux (Lareen *et al.*, 2016). Les bioinoculants efficaces doivent avoir le potentiel de former des associations avec d'autres microbiomes à proximité, simulant ainsi la forte réticulation structurée dans les sols de la rhizosphère native (Kumar et Dubey, 2020). Les rhizobactéries oligotrophes favorisant la croissance des plantes (PGPR), ainsi que les fractions microbiennes difficiles à cultiver, pourraient être impliquées de manière synergique dans les interactions microbe-microbe et plante-microbe dans la rhizosphère (Kalam *et al.*, 2017). Les résultats de Bianciotto *et al.* (1996) suggèrent que les interactions antagonistes et synergiques entre les champignons AM et les bactéries de la rhizosphère peuvent être médiées par des facteurs solubles ou un contact physique. Le matériel extracellulaire d'origine bactérienne contenant de la cellulose produite autour des bactéries attachées peut médier les interactions fongiques/bactériennes suggérant que les champignons AM sont un véhicule pour la colonisation des racines des plantes par les rhizobactéries du sol.



**Fig. 8.** Modes d'ingénierie du rhizobiome. A : Utilisation de l'ingénierie des plantes pour libérer des inducteurs spécifiques de gènes microbiens et/ou modifier les populations de rhizobiomes (de haut en bas). B : Manipulation du microbiote résident affectant le métabolisme de la plante (ascendant) (Orozco-Mosqueda *et al.*, 2022).

Selon Ju *et al.*(2020), la co-inoculation par *Paenibacillus mucilaginosus* (PGPR) et *Sinorhizobium meliloti* de *Medicago sativa* a amélioré les niveaux de nutriments du sol en régulant l'activité microbienne et la structure de la communauté. Cependant, l'application de ces souches n'a pas affecté les populations de bactéries indigènes bénéfiques de la rhizosphère, y compris les pseudomonades fluorescentes et les souches bactériennes productrices de sidérophores. Les espèces microbiennes résidentes réagissent aux concurrents introduits en modifiant la taille de la niche qui dépend, aussi, de la diversité du microbiome résident (Moore *et al.*, 2022). De nombreux inoculants microbiens dont les PGPR influencent la croissance et le développement du système racinaire par la production de phytohormones et d'autres molécules et augmentent, aussi, les taux d'exsudation des racines qui à leur tour peuvent modifier la communauté microbienne rhizosphérique (Mawarda *et al.*, 2020). Il est nécessaire, donc, d'étudier si l'inoculation des cultures est, effectivement, inoffensive pour la diversité microbienne native du sol ou si les modifications générées par l'inoculation sont temporaires (Di Salvo et García de Salamone, 2019).

### **1. 3. 4. 3. Comment les PGPR peuvent-ils affecter la communauté microbienne ?**

#### **1. 3. 4. 3. 1. Augmentation des exsudats racinaires**

Il est incontestable que l'ensemble de composés chimiques libérés par les racines façonne profondément les structures des communautés microbiennes indigènes (Baetz et Martinoia, 2014; Singh *et al.*, 2020). Car ils agissent comme des substrats et des molécules de signalisation nécessaires à l'établissement d'interactions plante-rhizobactérie (Yadav *et al.*, 2020). En revanche, la rhizosphère est un point chaud d'interactions microbiennes car les exsudats libérés par les racines des plantes sont une source de nourriture principale pour les micro-organismes et une force motrice de leur densité de population et de leurs activités (Raaijmakers *et al.*, 2009). Les micro-organismes peuvent affecter les plantes hôtes, par exemple les exsudats des racines hôtes, qui à leur tour affectent la perméabilité des racines et le métabolisme des racines (Dastogeer *et al.*, 2020). En particulier, les PGPR introduits augmentent les taux d'exsudation des racines qui à leur tour peuvent modifier la communauté microbienne rhizosphérique. Il est aussi clair que les changements dans l'exsudation racinaire induits par les inoculants microbiens modifient indirectement la composition microbienne dans la rhizosphère (Mawarda *et al.*, 2020).

Une corrélation positive entre les profils de la communauté bactérienne et les données sur les plantes pourrait signifier qu'une augmentation du rendement après l'inoculation pourrait avoir une incidence sur la structure de la communauté bactérienne, grâce à un taux d'exsudation accru à des rendements plus élevés (Roesti *et al.*, 2006). Cette opinion a été soutenue par Zuluaga *et al.* (2021), qui a trouvé que l'inoculation avec *Enterobacter* sp. 15S et *Pseudomonas* sp. 16S pourrait modifier les composantes des exsudats radiculaires tels que les flavonoïdes et d'autres composés phénoliques, ce qui modifie le potentiel fonctionnel des communautés bactériennes dans la rhizosphère. De nombreux inoculants microbiens dont les PGPR influencent, en effet, la croissance et le développement du système racinaire par la production de phytohormones et d'autres molécules (Mawarda *et al.*, 2020). Certains microorganismes dans le sol où chez la plante peuvent également absorber certains composés dont les exsudats racinaires et excréter d'autres composés. Les microorganismes telluriques peuvent produire des composés qui affectent la signalisation et le métabolisme des plantes, ce qui conduit à la production de composés dérivés des microorganismes dans les plantes (Dastogeer *et al.*, 2020). En fait, ces microorganismes sont capables de moduler leur expression génétique en fonction des composés sécrétés par les racines des plantes (Ambrosini *et al.*, 2016).

### 1. 3. 4. 3. 2. Quorum sensing

Les micro-organismes coexistent dans des environnements compétitifs avec d'autres espèces, et ils doivent développer différentes stratégies de survie pour rivaliser pour l'espace, les nutriments et les niches écologiques (Pena *et al.*, 2019). Pour qu'un organisme (bénéfique ou pathogène) exerce ses effets, un quorum particulier est requis (Kenneth *et al.*, 2019). La communication entre les cellules bactériennes dépend de la synthèse et de la diffusion de molécules signal qui sont, ensuite, perçues par d'autres membres de la communauté (Lareen *et al.*, 2016). La densité ou la population de cellules microbiennes dans la rhizosphère incite plusieurs micro-organismes à synthétiser des composés de signalisation qui synchronisent leurs expressions génétiques, ce qui définit le quorum sensing (QS) (Faure *et al.*, 2009). Le (QS) est un mécanisme de communication entre bactéries qui permet de contrôler des processus spécifiques, tels que la formation de biofilms, l'expression de facteurs de virulence, la production de métabolites secondaires et les mécanismes d'adaptation au stress tels que les systèmes de compétition bactérienne dont les systèmes de sécrétion (SS) (Pena *et al.*, 2019). La rhizosphère est potentiellement favorable à la signalisation QS, car c'est un habitat spatialement structuré qui est colonisé, à haute densité cellulaire, par diverses populations bactériennes. Des preuves expérimentales appuient cette affirmation (Faure *et al.*, 2009). Le système QS le plus étudié des bactéries Gram négatives est composé d'une molécule de signal extracellulaire appelée auto-inducteur (AI), produite par une synthase AI, et d'une protéine régulatrice de la réponse transcriptionnelle (protéine R) à laquelle l'AI se lie et qui régule l'expression des opérons en aval impliqués dans le QS (Dukare *et al.*, 2022; Rosier *et al.*, 2018). Le QS commence par la libération de petites molécules de signalisation extracellulaires diffusibles qui méditent la communication cellule-cellule appelées auto-inducteurs extracellulaires (agissant comme des molécules signal) dans le milieu environnant (Babalola, 2010; Dukare *et al.*, 2022). Les molécules de signalisation pour les bactéries Gram-négatives sont généralement des lactones d'homosérine acylées (AHL), ces dernières, représentent la molécule de quorum sensing la plus caractérisée est sans doute (Hartmann *et al.*, 2014; Kenneth *et al.*, 2019), et les molécules (AHL) produites par les protéobactéries, qui entrent et sortent de la cellule de manière passive ou active, sont les plus étudiées (Vandana *et al.*, 2021). Alors que, les peptides cycliques comme QS-signaux ne se trouvent que dans les bactéries Gram-positives (Babalola, 2010; Hartmann *et al.*, 2014). Des oligopeptides et des gamma-butyrolactones substituées ont été décrits chez les bactéries Gram-positives (Faure

*et al.*, 2009). De plus, les peptides comme les phéromones agissent également comme des molécules de signalisation QS chez les habitants à Gram positif qui régulent des dizaines de processus cellulaires au niveau intra- et inter-espèces (Mondal et Bakshi, 2022). Les signaux AHL QS montrent des variations dans la longueur et les chaînes latérales d'une structure centrale, et chaque récepteur AHL peut reconnaître une structure AHL spécifique (Faure *et al.*, 2009). Les trois principales étapes de la régulation QS qui semblent être ciblées sont la synthèse des signaux, la stabilité et la détection des signaux (Faure *et al.*, 2009). Il est important de noter que ces activités AHL sont associées à une augmentation des taux d'acide salicylique et d'oxylipine (Lareen *et al.*, 2016). En outre, plusieurs types de micro-organismes libèrent un groupe de composés organiques volatils (COV), qui agissent comme des molécules de signalisation qui se coordonnent entre les expressions géniques intra- et inter-espèces et interfèrent également dans d'autres systèmes QS rhizosphériques (Mondal et Bakshi, 2022). Le rôle des composés volatils dans les environnements rhizosphériques (et non rhizosphériques) a été largement documenté ; ils ont été impliqués dans la signalisation, les sources de nourriture, les antimicrobiens, les répulsifs antiparasitaires et les recruteurs d'organismes bénéfiques (chimioattractants)(Orozco-Mosqueda *et al.*, 2022). D'autres molécules impliquées dans la communication microbienne sont les lipopolysaccharides, qui ont été largement étudiés chez les bactéries bénéfiques (Bactéries lactiques), et dont les fonctions sont diverses, notamment la stimulation de la croissance des plantes, la fonction des biofilms, la communication avec l'environnement, la reconnaissance entre micro-organismes et l'antagonisme vis-à-vis des agents pathogènes (Abdalla *et al.*, 2021).

#### **1. 3. 4. 4. Modes de stimulation de la communauté**

##### **1. 3. 4. 4. 1. Sélection des espèces microbiennes**

Les mécanismes de signalisation complexes parmi les micro-organismes rhizosphériques jouent un rôle clé dans la formation du rhizomicrobiome en sélectionnant des microorganismes spécifiques par le biais de la communication inter- ou intra-espèce (Jamil *et al.*, 2022). La communication microbienne joue un rôle important dans la promotion de l'abondance de certains taxons microbiens associés aux plantes. Par conséquent, les molécules de QS, telles que les N-acyl homosérine lactones (AHL), jouent un rôle important dans cette communication pour réguler et détecter les populations bactériennes dans des environnements tels que la rhizosphère (Santoyo, 2022).

Des études antérieures ont montré que l'inoculation d'espèces uniques peut modifier tout un microbiome associé aux plantes, c'est-à-dire qu'elles stimulent l'abondance de certains genres qui peuvent également exercer des mécanismes directs et indirects qui influencent la croissance et la protection des plantes (Santoyo, 2022). L'introduction de la souche *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN dans les semences de blé de printemps a provoqué des changements dans la composition du microbiome, ainsi les effets observés sur la croissance des plantes pourraient être au moins en partie médiés par l'activité d'autres membres du microbiome (Mitter *et al.*, 2017). L'inoculation de *Acinetobacter pittii* (AP) et *Escherichia coli* (EC) a eu un impact significatif sur la structure de la communauté bactérienne dans le sol de la rhizosphère de *Solanum nigrum* L. (Tab.1), ils ont enrichi les taxons microbiens dominants ayant une fonction de promotion de la croissance des plantes et les taxons clés liés à la mobilisation du Cd dans le sol de la rhizosphère, respectivement (He *et al.*, 2022). De même, l'inoculation avec *Pseudomonas aestus* CMAA 1215<sup>T</sup>, semble modifier l'abondance des différents micro-organismes dans le sol salin (Tab.1), en réduisant/bénéficiant de certains groupes microbiens qui peuvent à leur tour en stimuler d'autres (Vasconcellos *et al.*, 2021).

**Tab. 1.** Exemples des microorganismes affectant la communauté rhizosphérique native

Microorganismes	Plante inoculée	Effets sur la plante	Effet sur la communauté	Référence
<i>Pantoea agglomerans</i> MVC 21	Tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> var. Moneymaker)	Augmentation de la densité des racines latérales, du poids sec des racines et des feuilles	COVs, établir une interaction bénéfique avec <i>P. putida</i> MVC17	(Vasseur-Coronado <i>et al.</i> , 2021)
champignons AM ( <i>Rhizophagus irregularis</i> et avec un mélange d'espèces de AM)	Différents génotypes de petit pois ( <i>Pisum sativum</i> L.)	Non mentionné	Stimulation des bactéries ammonifiantes, phosphates-solubilisantes et les azotobactères diazotrophiques libres	(Kalapchieva <i>et al.</i> , 2023)
<i>Bacillus aryabhattai</i> LAD	Mais ( <i>Zea mays</i> )	Augmentation de la longueur du plant et stimulation du développement racinaire, augmentation de la longueur, de la surface, du volume et du diamètre de la racine principale	Augmentation de l'abondance relative de <i>Bacillus</i> et <i>Burkholderia</i>	(Deng <i>et al.</i> , 2022)
<i>Sinorhizobium</i> sp. A15, <i>Bacillus</i> sp. A28, <i>Sphingomonas</i> sp. A55 et <i>Enterobacter</i> sp. P24	Mais ( <i>Zea mays</i> )	Amélioration significative de la croissance, augmentation significative du rendement en grain jusqu'à 22% à 29%	Augmenter l'abondance de Acidobacteria Sub-group 6, Chloroflexi_KD4-96, et Verrucomicrobiae au niveau de la classe et <i>Mucilaginibacter</i> au niveau du genre	(Chen <i>et al.</i> , 2020)
Consortium de <i>Bacillus cereus</i> AR156, <i>Bacillus subtilis</i> SM21, et <i>Serratia</i> sp. XY21	Poivron ( <i>Capiscium annuum</i> L. var. grossum)	Réduction de la prévalence de la brûlure phytophthoraenne et amélioration de la qualité des fruits et des propriétés du sol	Augmenter l'abondance de <i>Sporichthyx</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Ramlibacter</i> , et <i>Pontibacter</i>	(Zhang <i>et al.</i> , 2019)
<i>Pseudomonas aesus</i> CMAA 1215 <sup>T</sup>	Mais ( <i>Zea mays</i> )	Non mentionné	Augmenter l'abondance de <i>Bacillus</i> , <i>Bryobacter</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , " <i>Candidatus Xiphinematobacter</i> ", et " <i>Candidatus Ulaeobacter</i> ". Diminuer l'abondance de Gammaproteobacteria et Physcisphaerae	(Vasconcellos <i>et al.</i> , 2021)
<i>Paenibacillus</i> sp. RF2, <i>Bacillus</i> sp. RC25 et RC3	<i>Pyrus betulifolia</i>	Amélioration de manière significative les paramètres de croissance multiples	Augmenter l'abondance relative de <i>Ileornella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Pseudoduganella</i> , <i>Lactococcus</i> et genres non classifiés en Rhodocyceae et Comamonadaceae	(Huang <i>et al.</i> , 2022)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 5038 et <i>Bacillus aryabhattai</i> MB35-5	Soja ( <i>Glycine max</i> )	Amélioration significative de l'activité de la nitrogénase des nodules, augmentation de la teneur en azote du sol et augmentation du rendement de la biomasse	Augmenter l'abondance de Betaproteobacteria et <i>Chitinophagia</i> , et diminuer les Actinomycetes	(Xing <i>et al.</i> , 2022)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 5038 et <i>Paenibacillus mucilaginosus</i> 3016			Augmenter l'abondance de Deltaproteobacteria et Gemmatimonadetes	
Consortium de <i>Paenibacillus mucilaginosus</i> et <i>Sinorhizobium meliloti</i>	Luzerne ( <i>Medicago sativa</i> )	Amélioration de la croissance des plantes par augmentation de la concentration en C et en N des sols contaminés par des métaux	Augmenter l'abondance relative de Firmicutes et Acidobacteria	(Ju <i>et al.</i> , 2020)
<i>Pseudomonas stutzeri</i> A1501	Mais ( <i>Zea mays</i> )	Augmentations significatives du poids sec des racines et des feuilles et de la biomasse des plantes (une moyenne de 25,4%)	augmenter la population de diazotrophes indigènes et d'oxydants d'azote et les gènes fonctionnels transcrits	(Ke <i>et al.</i> , 2019)
<i>Acinetobacter pittii</i> (AP), <i>Escherichia coli</i> (EC)	Morelle noire ( <i>Solanum nigrum</i> L.)	Promotion significative de la croissance des plantes et l'accumulation de Cd dans <i>S. nigrum</i> L. de 119 % et 88 %, respectivement	Favoriser fortement l'abondance relative des <i>Acidobacterium</i> -Gp6, <i>Massilia</i> , <i>Gaiella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Nitrospira</i> et <i>Mammoricola</i> .	(He <i>et al.</i> , 2022)

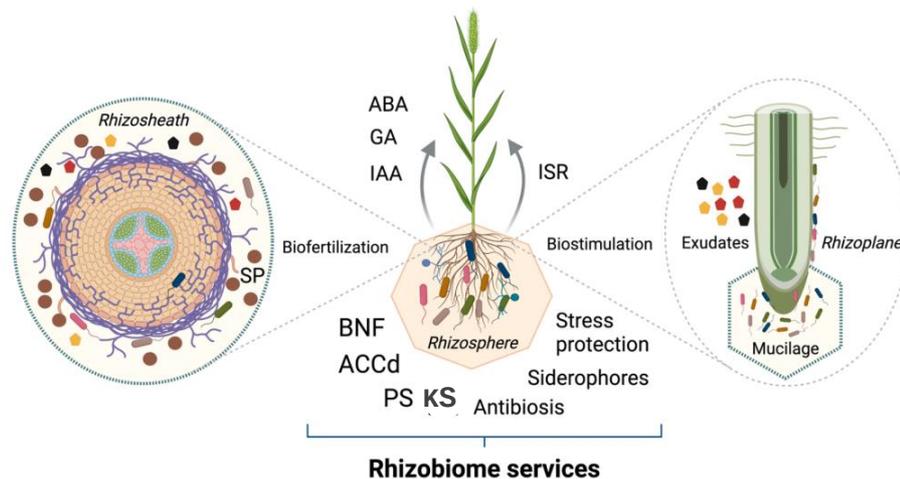
#### 1. 3. 4. 4. 2. Activation des gènes

Les bactéries produiront des composés signal uniques qui, après avoir atteint un seuil critique, induiront l'expression génique codant pour une variété de réponses, à la fois phénotypiques et physiologiques (Gray et Smith, 2005). Certains antibiotiques, lorsqu'ils sont présents à faible concentration, sont impliqués dans la communication microbienne et déclenchent la régulation de l'expression des gènes dans les cellules bactériennes environnantes (Mondal et Baksi, 2022). Néanmoins, de nombreuses bactéries résidentes, y compris éventuellement des bactéries non cultivables, porteront des gènes codant pour des fonctions PGPR communes. Dans le cas des gènes régulés par quorum, tels que ceux pour la production d'antibiotiques et de sidérophores, il existe un large niveau de communication intra et interspécifique entre différentes populations bactériennes (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). Par exemple, l'inoculation avec *Pseudomonas stutzeri* A1501 a considérablement amélioré la croissance du maïs dans des conditions expérimentales de serre. Parallèlement, elle a eu un effet positif sur la population des communautés fixatrices de N<sub>2</sub> et oxydantes de l'ammoniac et sur les transcriptions des gènes fonctionnels dans la rhizosphère (Ke *et al.*, 2019). Les souches inoculées - *Acinetobacter pittii* (AP) et *Escherichia coli* (EC)- régulent l'expression en amont des gènes liés à la mobilité bactérienne, au métabolisme des acides aminés et au métabolisme du carbone au sein de la communauté rhizobactérienne (He *et al.*, 2022). Les résultats de Arashida *et al.*(2019), suggèrent que la croissance de *Bacillus subtilis*, qui s'accompagne généralement d'une consommation d'oxygène, pourrait entraîner une diminution de la concentration en oxygène dissous dans le milieu et contribuer à la croissance, la formation de biofilm, l'expression du gène *nifH*, l'activation de la nitrogénase de *Rhodopseudomonas palustris*, et augmente donc le niveau de N total. Ainsi, Les composés organiques volatiles produits par *Pantoea agglomerans* MVC 21 modulent la libération de sidérophores, la solubilisation du phosphate et du potassium par *Pseudomonas putida* MVC 17. Il convient de noter que les COV produits par *P. agglomerans* MVC 21 ont stimulé la capacité de *Ps. putida* MVC 17 pour augmenter la densité racinaire latérale et le poids sec des racines des plants de tomates. De plus, les COV produits par *P. agglomerans* MVC 21 ont augmenté le poids sec des racines et des feuilles des plants de tomates (Vasseur-Coronado *et al.*, 2021).

De plus, la communication inter- ou intra-espèces entre les microorganismes se produit via le mécanisme de quorum sensing, qui implique une coordination dépendante de la densité cellulaire (Jamil *et al.*, 2022). A une densité de population donnée, les bactéries exercent une action concertée ; les signaux activent des facteurs de transcription qui induisent des gènes spécifiques dans les bactéries. *Pantoea stewartii*, *Pseudomonas aureofaciens* et *Pseudomonas syringae* sont des exemples de rhizobactéries qui utilisent les signaux AHL pour réguler l'expression de traits importants dans l'interaction plante-microorganisme (Babalola, 2010). La synthèse d'AHL dépend de synthases appartenant généralement à deux classes : les homologues LuxI et AinS. La perception du signal repose sur une protéine capteur, un homologue de LuxR, qui est également le régulateur transcriptionnel contrôlant l'expression des gènes régulés par QS (Faure *et al.*, 2009).

### 1. 3. 4. 5. Comment le changement des communautés bactériennes profite-t-il à la plante ?

Un nombre considérable de travaux de recherche ont montré les effets significatifs que les microorganismes affiliés aux plantes pourraient avoir sur la croissance, le développement, la germination efficace des graines, la force des semis, les maladies et la nutrition (Odelade et Babalola, 2019). Les communautés microbiennes associées aux racines ont fait l'objet de nombreuses recherches (Lareen *et al.*, 2016).



**Fig. 9.** Services bénéfiques rendus par le rhizobiome aux plantes où il est associé. (ABA) l'acide abscissique, (AIA) l'acide indole acétique, (GA) l'acide gibbéréllique ; (BNF) la fixation biologique de l'azote ; (ACCd) la production d'ACC désaminase ; (PS) et (KS) la solubilisation des phosphates et du potassium ; (ISR) la résistance systémique induite (Orozco-Mosqueda *et al.*, 2022).

De nombreux auteurs ont suggéré que l'effet positif des bio-inoculants sur la croissance des végétaux pourrait résulter non seulement d'un effet direct des activités PGP, mais

aussi d'une modification indirecte de la communauté bactérienne, et que les bio-inoculants peuvent donc avoir modifié l'équilibre de la communauté bactérienne vers la sélection de populations bénéfiques (Huang *et al.*, 2022; Roesti *et al.*, 2006; Vasconcellos *et al.*, 2021).

La régulation de la structure d'une communauté bactérienne de la rhizosphère en modifiant l'abondance relative de la souche inoculée ou des bactéries liées au cycle C/N, et en augmentant la diversité  $\alpha$  de la communauté bactérienne, peut être un autre mécanisme par lequel les PGPR favorisent la croissance des semis de *Vallisneria natans* (Li *et al.*, 2023). En effet, les échantillons de sol traités par le *Bacillus cereus* AR156, *Bacillus subtilis* SM21, et *Serratia* sp. XY21, étaient dominés par *Burkholderia*, *Comamonas*, *Ramlibacter*, *Sporichthya*, *Achromobacter* et *Pontibacter* (Tab. 1); l'abondance de ces genres était liée au carbone organique total, à l'azote total, à l'azote ammoniacal, au potassium total et aux teneurs en phosphore assimilable (Zhang *et al.*, 2019). La quantité plus élevée d'éléments nutritifs du sol observée dans le traitement de co-inoculation PGPR et *Rhizobium*, était due à la capacité de la co-inoculation à réguler l'activité enzymatique et microbienne du sol associée au cycle des nutriments (Ju *et al.*, 2020).

### **1. 3. 5. Inoculation par consortium**

Les formulations microbiennes peuvent être spécifiques à un organisme ou à un consortium d'organismes (Yadav *et al.*, 2020). Ces dernières années, l'accent a été mis sur l'utilisation de deux micro-organismes ou plus dans le but de maximiser les réponses bénéfiques de croissance des plantes (Maheswari, 2011). La littérature ainsi que des études pratiques suggèrent que la co-inoculation donne de meilleurs résultats chaque fois qu'il existe une relation synergique entre les microorganismes (Akhtar *et al.*, 2013). Si une plus grande diversité est préférée à une seule souche dans une formulation de PGPR, une relation plus symbiotique avec les plantes sera obtenue car certaines aideront à promouvoir la croissance des plantes et d'autres aideront à supprimer la maladie grâce à leurs mécanismes d'action indépendants. Diverses populations microbiennes agissent ensemble comme une communauté et sont essentielles pour l'absorption des nutriments et la suppression d'une maladie particulière (Tabassum *et al.*, 2017). Les résultats de Xing *et al.* (2022), prouvent qu'une variété de PGPR avec des fonctions différentes peut être combinée dans des inoculants bactériens composites de manière à avoir un meilleur effet favorisant la croissance grâce à la synergie de différentes fonctions favorisant la croissance. C'est pourquoi des combinaisons de souches bactériennes bénéfiques qui interagissent de manière synergique sont actuellement conçues et de nombreuses études

récentes montrent une tendance prometteuse dans le domaine de la technologie d'inoculation (Figueiredo *et al.*, 2010). Selon Méndez *et al.*(2021), les plantes inoculées avec un consortium bactérien dans les conditions de serre et de champ était très efficaces contre *Gaeumannomyces graminis* var. tritici Ggt, plus que les souches individuelles. La co-inoculation de bactéries fixatrices de N et solubilisantes de P a un effet positif sur la croissance et le rendement du blé en fournissant une hormone de croissance et en augmentant l'absorption de N et de P par la plante. La co-inoculation améliore également l'état nutritif du sol et fournit ainsi un environnement sain pour la prochaine culture (Akhtar *et al.*, 2013; Bhardwaj *et al.*, 2014).

### **1. 3. 6. Technologie pour l'utilisation des PGPR en agriculture**

Les micro-organismes ont été utilisés comme un outil essentiel dans l'agriculture durable depuis les deux dernières décennies dans diverses parties du monde (Sahoo *et al.*, 2014). L'utilisation de microorganismes bénéfiques comme biofertilisant est devenue une importance primordiale dans l'agriculture pour leur rôle potentiel dans la sécurité alimentaire et la production agricole durable (Bhardwaj *et al.*, 2014). Les bactéries aux avantages multiples peuvent être avantageuses dans l'agriculture commerciale et sont pertinentes pour la bioéconomie (Backer *et al.*, 2018). Plusieurs PGPR sont utilisées dans le monde entier depuis de nombreuses années comme biofertilisants, contribuant à l'augmentation des rendements des cultures et de la fertilité des sols et ayant donc le potentiel de contribuer à une agriculture et une foresterie plus durables (García-Fraile *et al.*, 2015). Les découvertes et la documentation abondent, et toutes pointent vers la nécessité d'exploiter commercialement les PGPR en tant que biofertilisants pour leurs avantages agricoles (Babalola, 2010). L'utilisation de PGPR sous forme de bioinoculant permet de maintenir avec succès la production de rendement agricole et ces produits formulés contiennent des cellules microbiennes vivantes de bioinoculants qui aident également au traitement des semences et améliorent le processus de mobilisation des nutriments par le processus à faible coût (Chaudhary *et al.*, 2020). Au cours du XXe siècle, les PGPR, y compris les rhizobiums et autres bactéries endophytes des racines, ont été progressivement utilisés dans la production agricole (Gray et Smith, 2005). Il a été rapporté que les PGPR utilisés comme biofertilisants jouent un rôle crucial dans le cycle des nutriments et l'amélioration de la productivité des cultures (Singh *et al.*, 2020). Les inventions de la recherche en provenance de Chine, de Russie et de plusieurs autres pays occidentaux ont maintenant prouvé l'utilisation potentielle des PGPR dans la gestion des

maladies des plantes. En Chine, par exemple, les PGPR ont été appliqués avec succès pendant deux décennies sur une superficie de 20 millions d'hectares de différentes plantes cultivées pour le développement commercial (Bhattacharyya et Jha, 2012). Les pratiques agricoles actuelles impliquent les PGPR dans les biofertilisants disponibles dans le commerce pour améliorer le rendement des cultures et réduire l'application d'engrais chimiques (Singh *et al.*, 2020). La commercialisation et l'utilisation futures de bio-inoculants dans le secteur agricole en tant qu'outil alternatif respectueux de l'environnement contribueront à améliorer le rendement des cultures ainsi que l'économie (Vandana *et al.*, 2021).

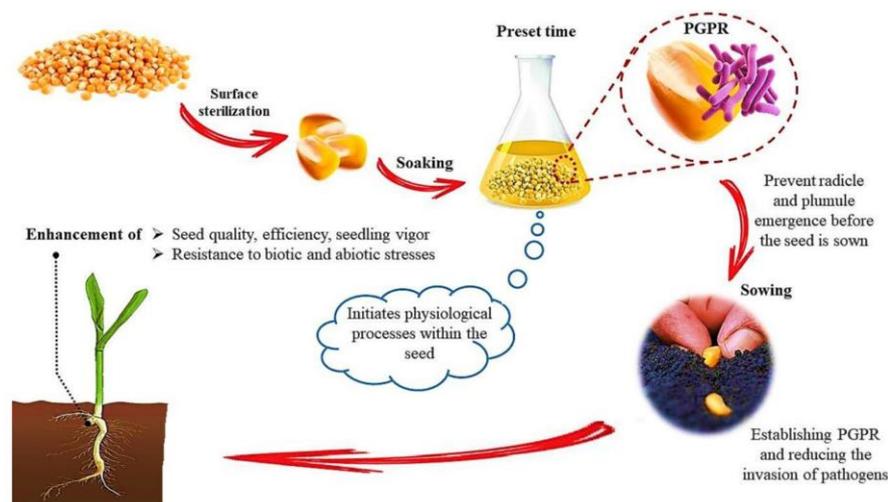
### **1. 3. 6. 1. Biofertilisants**

Les bioengrais sont des mélanges contenant des souches efficaces de micro-organismes, des produits biologiques et des tissus morts de plantes qui apportent des nutriments au sol et aux plantes. Ils améliorent progressivement la fertilité des sols et améliorent le rendement des cultures (Sahoo *et al.*, 2013). Les biofertilisants sont, aussi, des micro-organismes qui, lorsqu'ils sont appliqués sur la graine, la surface de la plante ou le sol, colonisent la rhizosphère ou l'intérieur de la plante et favorisent la croissance en augmentant l'apport ou la disponibilité des nutriments primaires pour la plante hôte (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). D'après Figueiredo *et al.* (2010), les biofertilisants désignent les produits biologiques qui contiennent des micro-organismes apportant des gains directs et indirects au rendement des cultures. Il s'agit de l'application d'inoculants microbiens sur les graines, les surfaces des plantes ou le sol pour coloniser la rhizosphère des racines (Kenneth *et al.*, 2019).

Pour un inoculum de PGPR réussi, la souche sélectionnée doit être capable de coloniser les racines des plantes, peut persister dans la rhizosphère et ne doit pas représenter un risque sanitaire potentiel pour l'environnement et la santé humaine (Tabassum *et al.*, 2017).

Pourtant, à grande échelle les applications de PBM ont été entravées par les quantités élevées d'inoculum par plante ou par zone de culture nécessaire pour réussir la colonisation et par conséquent la faisabilité économique (Rocha *et al.*, 2019). Par ailleurs, l'exploration de formulations qui offrent des densités élevées d'inoculants microbiens avec des taux de survie élevés pendant le stockage constitue une étape cruciale dans l'établissement et le développement d'inoculants bénéfiques (Ma, 2019). Par conséquent, l'application de micro-organismes bénéfiques sur les semences peut remplacer efficacement le besoin d'inocula à grande échelle pour l'application au sol (Fig. 10). À cet égard, ces micro-organismes

peuvent se trouver à l'endroit où les racines des semis sont à coloniser et peuvent affecter les parasites vivants dans le sol en se nourrissant des racines des plantes (Naz *et al.*, 2022), avec un potentiel d'application à grande échelle. De plus, Les micro-organismes bénéfiques pour les plantes (PBM), tels que les rhizobiums, les bactéries et les champignons inoculés sur les graines, peuvent augmenter la germination des graines, la performance des plantes et la tolérance aux stress biotiques (par exemple, agents pathogènes et ravageurs) et abiotiques (par exemple, sel, sécheresse et métaux lourds) tout en réduisant l'utilisation d'intrants agrochimiques (Paravar *et al.*, 2023).

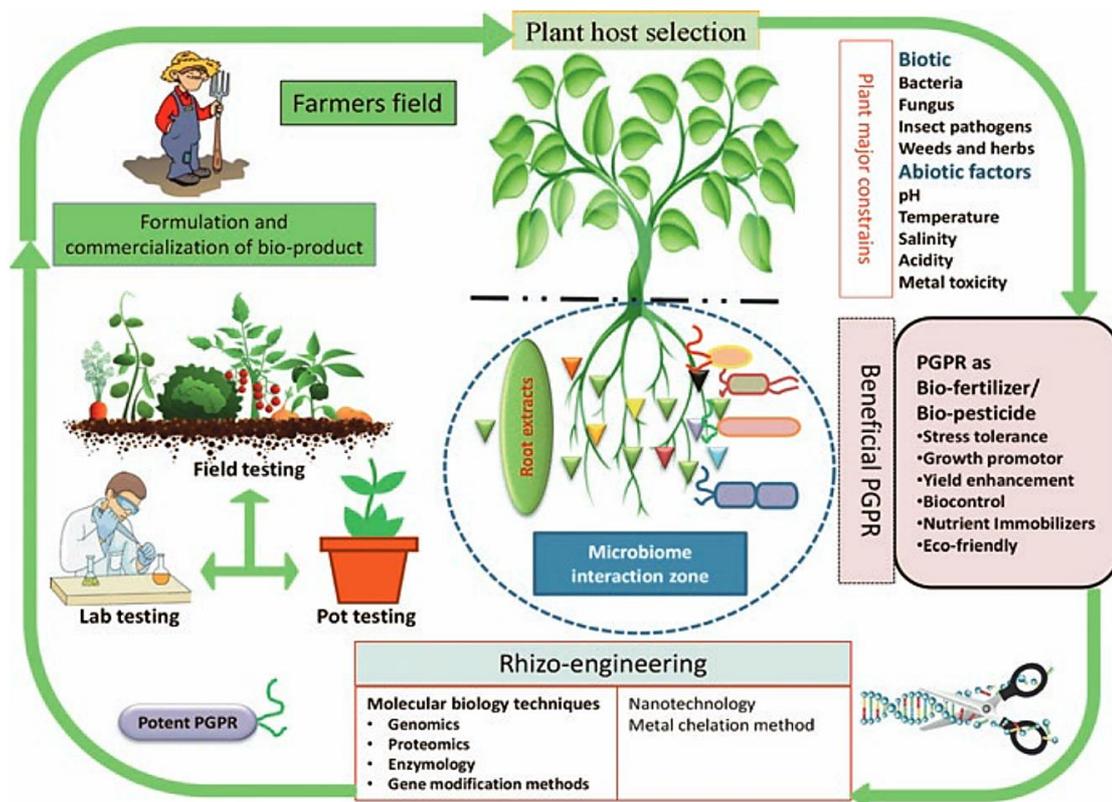


**Fig. 10.** Méthode de traitement des semences par bio-amorçage avec des PGPR (Mitra *et al.*, 2021).

### 1. 3. 6. 2. Bioformulation

La rhizosphère en tant que site enrichi en éléments nutritifs pour les plantes est un environnement hautement compétitif pour les microorganismes (Lareen *et al.*, 2016). L'effet résiduel sur l'assemblage des « rhizomicrobes », c'est-à-dire la prolifération des microorganismes dans, sur ou autour des racines, a des implications importantes pour la co-évolution des interactions plantes-microorganismes dans les écosystèmes naturels. Cela comprend la dispersion des micro-organismes d'une source d'inoculum à la racine en croissance active, la multiplication ou la croissance dans la rhizosphère (Maheshwari et Dheeman, 2019). Pour proliférer et s'établir dans la rhizosphère, les bactéries doivent pouvoir utiliser les rhizodépôts, coloniser efficacement les racines ou les surfaces du sol de la rhizosphère et être capables de rivaliser avec d'autres organismes (Dennis *et al.*, 2010). La bioformulation est définie comme toute substance biologiquement active dérivée de la biomasse microbienne ou d'un produit contenant des microorganismes et leurs métabolites

qui pourrait être utilisée dans la promotion de la croissance des plantes, l'acquisition de nutriments et le contrôle des maladies d'une manière respectueuse de l'environnement (Aamir *et al.*, 2020). De nombreuses bactéries potentiellement utiles rapportées dans la littérature scientifique n'apparaissent jamais sur le marché commercial, peut-être à cause d'une formulation inappropriée (Arora *et al.*, 2010). La bioformulation rhizobactérienne favorisant la croissance des plantes fait référence à des préparations de micro-organismes qui peuvent remplacer partiellement ou complètement la fertilisation chimique, les pesticides, offrent une approche écologiquement durable pour augmenter la production et la santé des cultures (Gupta *et al.*, 2015).



**Fig. 11.** Différents domaines de recherche et applications des PGPR (Kumari *et al.*, 2019).

La formulation doit être économique et présenter une bonne durée de conservation et une forme appropriée pour l'expédition, le stockage et l'application (Figueiredo *et al.*, 2010). En règle générale, elle doit avoir toutes les propriétés souhaitées, notamment une solubilité élevée, une stabilité, une libération contrôlée dans le temps, une efficacité, une écotoxicité moindre, une activité ciblée améliorée avec une concentration efficace, un mode d'administration et d'élimination faciles (Vejan *et al.*, 2019). De plus, la formulation dans des produits à longue durée de conservation est parfois plus problématique pour les bactéries Gram-négatives que pour les bactéries Gram-positives productrices de spores

(Berg, 2009). Explorer des formulations qui permettent des densités élevées d'inoculants microbiens avec des taux de survie élevés pendant le stockage constitue une étape cruciale dans l'établissement et le développement d'inoculants bénéfiques (Ma, 2019). Le succès de toute bioformulation dépend de la longue durée de conservation de l'organisme utilisé et de sa stabilité à différentes températures (Dave *et al.*, 2020).

Aux États-Unis, les organismes actuellement enregistrés pour la lutte biologique et les composés actifs isolés de plantes ou d'autres organismes sont répertoriés à l'adresse <http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/ingredients/index.htm>. Quelques exemples de PGPR et de produits de biocontrôle sont : *Agrobacterium radiobacter* K1026 (Nogall®), *Bacillus pumilus* QST 2808 (Sonata® TM), *B. pumilus* GB34 (YieldShield®), *B. subtilis* GBO3(Kodiak®), *Pantoea agglomerans* C9- 1 (BlightBan C9-1®), *P. agglomerans* E325 (Bloomtime®), *Pseudomonas aureofaciens* Tx-1(Spot-Less®T), *P. syringae* ESC-10 et ESC-11 (Bio-save®), *P. fluorescens* A506 (BlightBan®), *P. chlororaphis* MA 342 (Cedomon®), *Streptomyces griseoviridis* K61 (Mycostop®) et *S. lydicus* WYEC 108 (Actinovate®) (Figueiredo *et al.*, 2010).

**Tab. 2.** Principaux fabricants de biofertilisants à base de microorganismes solubilisant le phosphore (Soumare *et al.*, 2020).

Unité de produit/ comté	Nom du produit	Composant	Forme(s)	Performances déclarées par le fabricant	Références (Web ID)
TNAU Agritech Portal/ INDE	Phosphobacteria et Phosphatika	2 espèces bactériennes et 2 espèces fongiques	Poudre/ Liquide	Augmenter le rendement de 5 à 30 %	<a href="http://agritech.tnau.ac.in">http://agritech.tnau.ac.in</a>
Monarch Bio-Fertilisers and Research Centre/INDE	Phosphobacteria	Bactéries	Poudre	Dissoudre 30–50 kg de phosphore/ hectare	<a href="http://www.monarchbio.co.in/bio_fertilizers.html">http://www.monarchbio.co.in/bio_fertilizers.html</a>
SAFS Organic Enterprises/ INDE	Phosphobacterium	Bactéries	Poudre/ Liquide	Aucune indication	<a href="https://www.indiamart.com/safsorganicenterprises/bio-fertilizer.html#bio-fertilizer-phosphobacterium">https://www.indiamart.com/safsorganicenterprises/bio-fertilizer.html#bio-fertilizer-phosphobacterium</a>
Agro bio tech Research Centre LTD/INDE	Phosphobacteria	<i>Bacillus megaterium</i> var. phosphaticum	Poudre/ Liquide	Aucune indication	<a href="http://www.abtecbiofert.com/products.htm">http://www.abtecbiofert.com/products.htm</a>
Ajay Bio-Tech (Inde) Ltd/Inde	Biophos	Bactéries et Champignons	Poudre (spore)	Aucune indication	<a href="https://www.indiamart.com/safsorganicenterprises/bio-fertilizer.html#bio-fertilizer-phosphobacterium">https://www.indiamart.com/safsorganicenterprises/bio-fertilizer.html#bio-fertilizer-phosphobacterium</a>
International Panaacea Limited /Inde	Phosphofix	Bactéries	Liquide	Réduire de 25 à 30 % les besoins en engrais phosphatés	<a href="https://www.iplbiologicals.com/">https://www.iplbiologicals.com/</a>
Varsha Bioscience And Technology India Private Limited/INDE	Phosphomax	<i>Bacillus megaterium</i>	Poudre	Augmenter le rendement des cultures de 15 à 25 %	<a href="http://www.varshabioscience.com/products/phosphomax.html">http://www.varshabioscience.com/products/phosphomax.html</a>
T. Stanes & company Limited/Inde	Symbion-P	<i>Bacillus megaterium</i> var. phosphaticum	Liquide	Permet d'économiser jusqu'à 50 % sur le coût des engrais chimiques phosphoreux	<a href="http://www.tstanes.com/products-symbion-p.html">http://www.tstanes.com/products-symbion-p.html</a>
Novozymes Biologicals Limited/ Canada	Jumpstart LCO	<i>Penicillium bilaïi</i>	Poudre/ Granulaire	Solubiliser 8,25 kg/ha	<a href="https://www.novozymes.com/en/advance-yourbusiness/agriculture/crop-production/jumpstart">https://www.novozymes.com/en/advance-yourbusiness/agriculture/crop-production/jumpstart</a>
AgriLife/Inde	P Sol B®- BM	<i>Bacillus megaterium</i>	Poudre (spore)	Aucune indication	<a href="http://www.agrilife.in/biofert_i_psolb_bm.htm">http://www.agrilife.in/biofert_i_psolb_bm.htm</a>

L'inoculation des semences avec les PGPR pourrait se faire par trempage, bactérisation des semences ou via un double traitement (Babalola, 2010). De plus, le succès commercial des souches PGPR nécessite une demande économique et viable du marché, une action cohérente et à large spectre, la sécurité et la stabilité, une durée de conservation plus longue, de faibles coûts d'investissement et une disponibilité facile des matériaux de carrier (Bhattacharyya et Jha, 2012). La bioformulation de rhizobactéries favorisant la croissance

des plantes doit être composée d'un matériau de support supérieur possédant les caractéristiques suivantes :

- ✓ une capacité de rétention d'eau élevée,
- ✓ une bonne capacité d'absorption,
- ✓ une stabilité à l'aération,
- ✓ aucune production de chaleur par mouillage,
- ✓ presque stérile,
- ✓ chimiquement uniforme,
- ✓ physiquement uniforme,
- ✓ de nature non toxique,
- ✓ facilement biodégradable,
- ✓ non polluant,
- ✓ presque pH neutre (ou pH facilement ajustable),
- ✓ favorise la croissance et la survie des bactéries (Gupta *et al.*, 2015).

En plus de ces caractéristiques, le support doit être respectueux de l'environnement, sans danger pour les microorganismes, les plantes, les animaux et les humains. Il doit être, aussi, facile à manipuler, à mélanger, à stériliser et à stocker (Yadav *et al.*, 2020).

Les inoculants à base de PGPR sont des formulations contenant une ou plusieurs bactéries bénéfiques dans un matériau support. Les matériaux de support sont utilisés comme véhicules pour les bactéries dans la formulation du biofertilisant. Il existe différents types de substances pouvant être utilisées comme supports, à savoir l'argile, le talc, la tourbe, la vermiculite, la perlite, la bentonite, la zéolite, la terre de diatomées, le son de riz ou de blé, les pastilles de phosphate naturel, le charbon de bois, la terre, la sciure de bois ou le compost (García-Fraile *et al.*, 2015). Les méthodes d'inoculation avec des PGPR à Gram négatif ou à Gram positif nécessitent l'utilisation d'un support pour délivrer l'inoculum dans le sol et permettre le mélange des cellules dans le profil du sol (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). La sélection du matériau support et de la méthode requise pour l'inoculation doit être choisie en fonction de la viabilité du micro-organisme, de sa disponibilité pour les racines des plantes et de l'application réalisable. Les supports protègent, non seulement, les bactéries de la dessiccation, ce qui entraîne une augmentation du taux de survie et de la durée de conservation, mais fournissent également un microenvironnement favorable à la croissance rapide des bactéries après leur libération (Tabassum *et al.*, 2017). Cela peut impliquer des supports à faible coût tels que la tourbe, l'argile calcinée ou les épis de maïs

en poudre qui sont mélangés aux suspensions bactériennes et séchés. Les microbilles d'alginate sont également utilisées et offrent de nombreux avantages en incorporant les cellules dans une matrice protégée, qui se décompose dans le sol et libère lentement les bactéries (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). Les formulations liquides ne sont pas préférées pour la capacité de survie et la propagation des microorganismes ; les matériaux de support solides sont plutôt considérés comme les meilleurs pour les applications sur le terrain. Le pH, la matière organique et le contenu nutritionnel sont considérés comme le choix du support (Tabassum *et al.*, 2017). Les matériaux de support sont généralement destinés à fournir une niche protectrice aux inoculants microbiens dans le sol, soit physiquement, via la fourniture d'une surface protectrice ou d'un espace poreux, soit nutritionnellement, via la fourniture d'un substrat spécifique (Gupta *et al.*, 2015).

Les bactéries peuvent également être lyophilisées et stockées sans support, mais toujours après l'application de cryoprotecteurs tels que le mannitol ou la cellulose microcristalline. L'ajout de sources de carbone ou de protecteurs cellulaires pourrait augmenter la durée de conservation et l'efficacité des biofertilisants (García-Fraile *et al.*, 2015). Enfin, des bactéries peuvent être introduites dans l'eau d'irrigation via un équipement de fermentation sur site (Martínez-Viveros *et al.*, 2010).

Pour l'exploitation commerciale des PGPR en tant que biofertilisant efficace, il est essentiel d'examiner l'interaction de la structure et des fonctions de la communauté microbienne du sol indigène pour les impacts écologiques potentiels. L'impact écologique est un aspect important et essentiel pour l'influence des PGPR sur l'étude de la communauté microbienne pour une utilisation sûre et cohérente des PGPR à grande échelle (Chaudhary *et al.*, 2019).

### **1. 3. 6. 3. Technologie d'enrobage des semences**

Compte tenu des limites d'une population mondiale croissante et du changement climatique, il existe un intérêt croissant pour le développement de pratiques agricoles (par exemple, l'agriculture de précision) seules ou en combinaison avec d'autres outils (par exemple, le traitement des semences) qui peuvent réduire l'utilisation de produits agrochimiques et assurer simultanément la durabilité de l'agriculture, la rentabilité et la sécurité alimentaire (Ma, 2019). Par conséquent, il a été émis l'hypothèse que l'enrobage des semences limitera la croissance des mauvaises herbes et améliorera les performances du riz semé directement en utilisant des agents d'enrobage à faible coût dans des conditions submergées (Javed *et al.*, 2021). L'agent d'enrobage des semences a les caractéristiques de

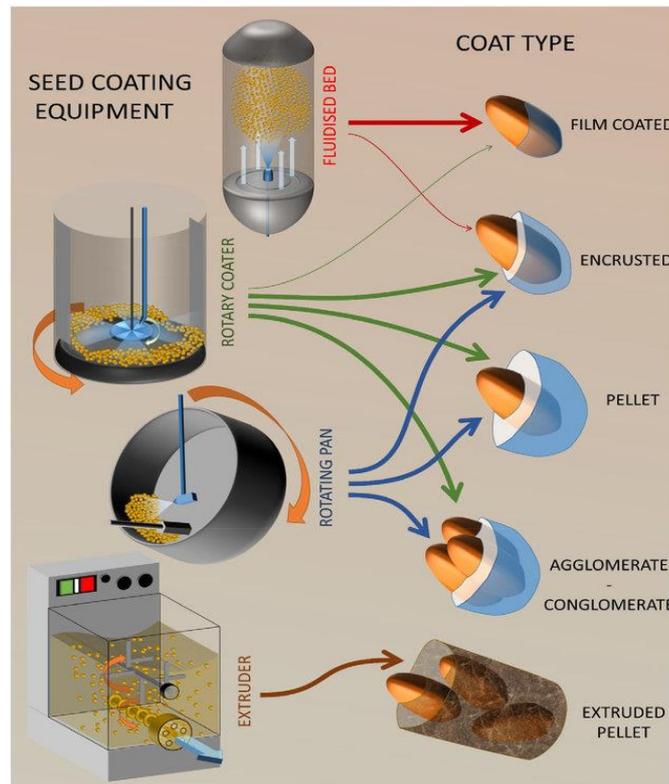
prévention des maladies, d'augmentation du rendement des cultures et de sécurité de l'environnement, ce qui est important dans l'application pratique (Ren *et al.*, 2019).

L'enrobage des semences est une technique consistant à recouvrir les semences d'agents adhésifs pour améliorer les performances des semences et l'établissement des plantes tout en réduisant les coûts de production. Pour répondre aux besoins de développement de l'agriculture de précision, l'enrobage des semences a été largement utilisé dans l'agriculture comme moyen efficace d'atténuer les stress biotiques et abiotiques, améliorant ainsi la croissance, le rendement et la santé des cultures (Ma, 2019).

L'enrobage des graines est une technique dans laquelle un ingrédient actif (par exemple, un inoculant microbien) est appliqué à la surface de la graine à l'aide d'un liant et, dans certains cas, d'une charge qui peut servir de support (Rocha *et al.*, 2019).

En outre, L'enrobage des semences est une technique consistant à recouvrir les semences d'agents adhésifs pour améliorer les performances des semences et l'établissement des plantes tout en réduisant les coûts de production. Pour répondre aux besoins de développement de l'agriculture de précision, l'enrobage des semences a été largement utilisé dans l'agriculture comme moyen efficace d'atténuer les stress biotiques et abiotiques, améliorant ainsi la croissance, le rendement et la santé des cultures (Ma, 2019; Paravar *et al.*, 2023).

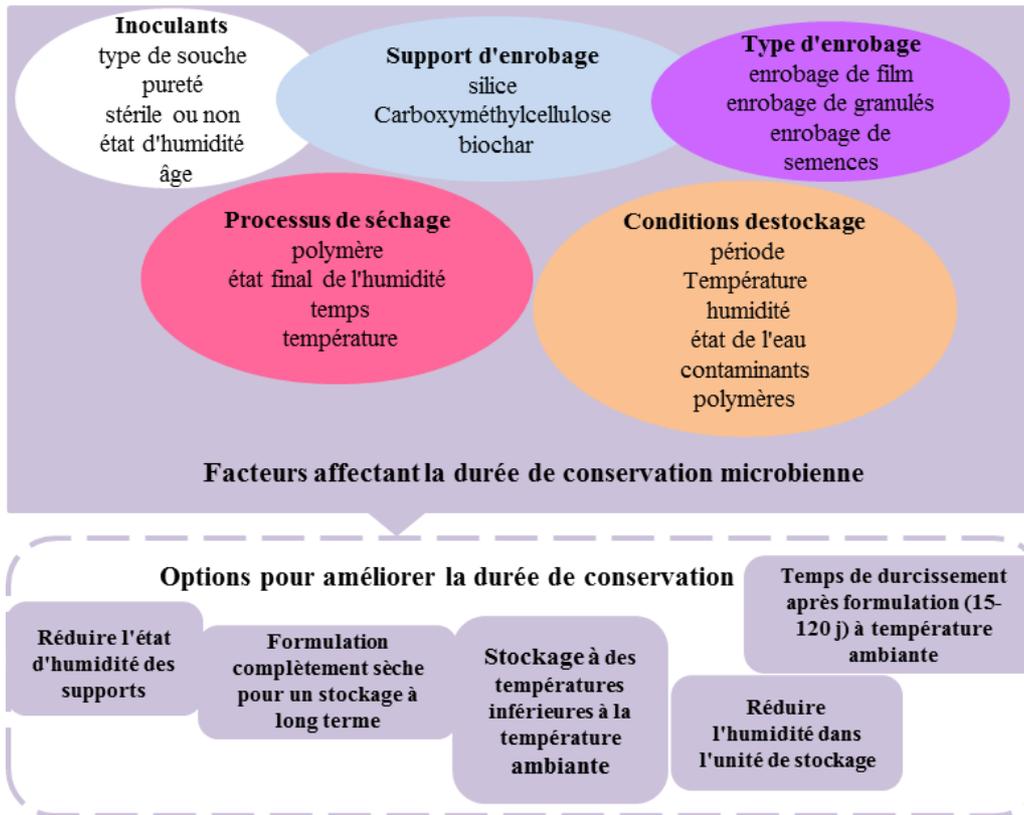
Les principaux types d'enrobages de graines comprennent l'enrobage des graines, le pelliculage et la granulation (Fig. 12), qui peuvent être choisis différemment, selon le but de l'application et le type de graine ou de microorganismes sélectionnés (Rocha *et al.*, 2019).



**Fig. 12.** Exemples d'équipement et de type d'enrobage de semences (Pedrini *et al.*, 2020).

Une meilleure performance des graines de riz enrobées a été associée à une activité anti-oxydante accrue et à une réduction de la teneur en sucre ainsi qu'à une disponibilité accrue d'oxygène dans le riz semé directement dans des conditions submergées. L'augmentation du rendement grâce à l'enrobage des semences a été associée à une croissance réduite des mauvaises herbes, ce qui a entraîné un développement précoce des cultures et des attributs de rendement plus élevés (Javed *et al.*, 2021). L'enrobage des semences est l'un des traitements les plus couramment appliqués dans l'agriculture moderne, mais les implications sur les communautés endophytes des semences sont restées jusqu'à présent inexplorées (Chen *et al.*, 2020). Le revêtement avec PGPR a été couramment utilisé dans des applications commerciales ; les données de cinq expériences sont rapportées pour prouver l'efficacité de l'introduction d'inoculum microbiens et la formation d'une colonisation mycorhizienne via l'enrobage des graines et les effets positifs potentiels des associations microbiennes établies (Vosátka *et al.*, 2020). La faisabilité de l'enrobage des semences avec du PGPB et de l'AMF en tant qu'approche biotechnologique pour améliorer le rendement et la qualité des cultures est soulignée par des preuves expérimentales, bien que les mécanismes par lesquels les plantes orientent la microbiomasse bénéfique pour augmenter la résilience et la croissance face aux stress environnementaux ne soient pas

clairs (Gautam, 2021). Récemment, l'enrobage biologique des semences avec le PGPM est proposé comme une alternative au traitement conventionnel des semences (comme les engrais et les produits de protection) en raison de son innocuité écologique et de ses aspects socio-économiques (Ma, 2019). La sélection du type et de la concentration appropriés de liant et de charge est cruciale pour la germination des graines, le développement des plantes et la viabilité de l'inoculant microbien appliqué. D'autres caractéristiques telles que la disponibilité, le coût, l'origine et les impacts environnementaux doivent également être prises en compte lors du choix des matériaux de revêtement les plus adéquats (Rocha *et al.*, 2019). Les semences enrobées de *Bacillus* sp. qui ont amélioré la croissance, le rendement et l'absorption de nutriments par *Vigna unguiculata*, afin d'améliorer la durabilité de l'agriculture aride, peuvent constituer une approche prometteuse (Gautam, 2021). Des graines de riz enrobées de peroxyde de calcium et de *Bacillus* sp. KS-54 ont montré une émergence significativement améliorée et des valeurs accrues de l'indice d'émergence par rapport aux graines non enrobées (Javed *et al.*, 2021). En raison de ses excellentes caractéristiques de revêtement, de sa biodégradabilité complète et de sa capacité de renouvellement, les agents adhésifs tels que la GA, le CMC et le saccharose sont considérés comme des candidats prometteurs pour les agents adhésifs inoculant les semences (Marwanto *et al.*, 2020). De plus, l'enrobage des graines de soja avec du CMC combiné avec un fongicide, ou sans combinaison, fournit un bon enrobage des grains (de Camargo *et al.*, 2017). Enfin, différents systèmes agricoles devraient considérer l'utilisation de micro-organismes bénéfiques comme une exigence, pour des pratiques agricoles durables. Par exemple, l'inoculation d'agents microbiens ou de consortiums dans les semences avant le semis doit être considérée comme une activité de routine (Santoyo, 2022).



**Fig. 13.** Facteurs affectant la durée de conservation microbienne pendant les opérations commerciales d'enrobage des semences (Ma, 2019).

## **2. Matériel et méthodes**

### **2. 1. Souches bactériennes**

Les souches bactériennes *Pantoea agglomerans* Pa (LMA2) (MUJJ00000000.1) (Cherif-Silini *et al.*, 2019) et *Bacillus thuringiensis* B25 (JX196352) (Cherif-Silini *et al.*, 2016) ont été utilisées dans cette étude. La souche Pa a été initialement isolée de la rhizosphère de champs de blé dur dans la région aride et saline de Bou- Saâda, Algérie (35°23'38" N 4°19'18.1" E, pH 9, conductivité électrique CE = 3,54 ms/cm). La souche B25 a été isolée de la rhizosphère du blé dur dans la région semi-aride nord de Sétif, en Algérie (36°17'40.5" N 25°32.8" E, pH 7,9, CE = 1,3 ms/cm). Les souches ont été sélectionnées comme les meilleurs isolats bactériens avec des activités PGP élevées et testées pour aucun antagonisme entre elles, ce qui permet de les utiliser soit individuellement, soit en combinaison afin de promouvoir de manière synergique la croissance des plantes.

### **2. 2. Matériel végétal**

Les semences de deux génotypes locaux de blé dur, Bousselam (*Triticum durum* L.c.v Bousselam) et Boutaleb (*Triticum durum* L.c.v Boutaleb), ont été utilisées. Leur zone d'adaptation était les hauts plateaux et les plaines intérieures de l'Est algérien. Bousselam (Pedigree : Heider/Marli/Heider-Cro ICD-414-1BLCTR-4AP) est une variété semi-tardive, de hauteur moyenne. Alors que la variété Boutaleb (Pedigree : HEDBA03/OFONTO-DZ-ITGC-SET001-) a un cycle végétatif intermédiaire. Les rendements en grains et en pailles étaient élevés chez les deux variétés et elles présentaient une bonne tolérance aux stress abiotiques (la verse, la sécheresse et le froid) et aux stress biotiques (les maladies fongiques). Ces deux variétés de blé dur ont été aimablement fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) (Sétif, Algérie).

## **2. 3. Effet de l'inoculation bactérienne sur la germination des graines**

Cette expérience a été réalisée pour évaluer les effets des PGPR sur la germination des graines considérée comme la première étape de la croissance des plantes.

### **2. 3. 1. Désinfection des semences**

Les graines ont été désinfectées en surface par immersion successive dans de l'éthanol (70%, 1 mn), puis dans de l'hypochlorite de sodium (2%, 30 mn) et rincer six à sept fois à l'eau distillée stérile (Cherif-Silini *et al.*, 2019).

### **2. 3. 2. Préparation de l'inoculum bactérien et de l'enrobage des semences**

Les souches bactériennes ont été prélevées dans le stock de glycérol et inoculées sur une gélose nutritive à 30°C/24 h. Chaque souche a été inoculée dans un bouillon trypticase soja (TSB) avec une agitation constante à 150 rpm pendant 48h/30°C. Les cultures ont été centrifugées à 3000 rpm pendant 20 minutes. Un culot de chaque souche a été mis en suspension ( $10^8$  UFC/ml) dans une solution stérile de carboxyméthyl cellulose (CMC) à 1%. Pour la préparation du consortium microbien (Pa+B25), les suspensions des deux souches bactériennes ont été mixées à volume égal pour constituer un inoculum contenant  $10^8$ UFC /ml pour chaque souche (Shweta *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2020).

L'enrobage des graines désinfectées de chaque variété de blé a été réalisé par leur immersion pendant 3h/30°C dans la suspension bactérienne à base de CMC à 1% (Khan *et al.*, 2019; Pathania *et al.*, 2020), séchées pendant une nuit dans une hotte à flux laminaire, et stockées à température ambiante, dans un endroit sec et à l'obscurité. Les graines non inoculées et enrobées d'une solution stérile de CMC ont servi de contrôle négatif (Cherif-Silini *et al.*, 2019). La conservation des graines a été réalisée à une température ambiante et à l'abri de la lumière.

### **2. 3. 3. Germination des graines**

La germination a été effectuée sur des graines inoculées et enrobées en triplicata, avec quatre groupes représentant le type de traitement :

- 1- Graines non inoculées (Contrôle),
- 2- Graines inoculées avec Pa,
- 3- Graines inoculées avec B25,
- 4- Graines co-inoculées avec Pa + B25.

La germination a été réalisée sur des graines bactérisées et enrobées qui sont placées sur une double couche de papier Whatman N°40 humide (imbibé par 10 ml d'eau distillée

stérile) dans des boîtes de Pétri stériles. Les boîtes sont incubées pendant 11 jours à une température de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  et à l'abri de la lumière. Lorsque la racine mesurait au moins 3 mm de longueur, les graines ont été considérées comme étant germées. Quatre paramètres étaient enregistrés dans cette expérience : les pourcentages de germination finale (PGF), l'indice de taux de germination (ITG), l'indice de vigueur de la longueur des plantules (IVLP) et l'indice de vigueur en poids des plantules (IVPP). Les PGF ont été déterminés le 11<sup>ème</sup> jour d'incubation (Kerbab *et al.*, 2021). Le test de germination a été réalisé en triplicata.

$$\text{PGF} = \text{Nombre de graines germées} / \text{Nombre total de graines} \times 100$$

$$\text{ITG} = G3/3 + G6/6 + G9/9 \quad (G3, G6 \text{ et } G9 \text{ sont les pourcentages de germination à } 3, 6 \text{ et } 9 \text{ jours})$$

$$\text{IVLP} = \text{Longueur des plantes germées (cm)} \times (\%) \text{ de germination}$$

$$\text{IVPP} = \text{Poids sec des plantes germées (mg)} \times (\%) \text{ germination}$$

## **2. 4. Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance des plantes de blé dur dans un compost stérile**

Pour évaluer l'effet de l'inoculation sur la croissance végétale dans le compost stérile, les graines des deux variétés de blé Bousselam et Boutaleb ont été stérilisées en surface par une solution d'hypochlorite de sodium (2%) pendant 30 mn et rincées plusieurs fois à l'eau distillée stérile. Les graines ont été germées sur du papier Wathman N°40 dans boîtes de Pétri contenant 10 ml d'eau distillée stérile à  $20^\circ\text{C}/48\text{h}$  à l'obscurité. L'inoculation et l'enrobage ont été réalisés comme précédemment pendant 3 h à 150 tr / mn et à  $30^\circ\text{C}$  pour les graines dont la longueur de la racine a atteint 3mm. Les graines non inoculées (Témoin) ont été immergées dans une solution de CMC à 0.5%. Des pots en plastique ( $\varnothing = 10\text{cm}$ ) dont la surface interne est désinfectée avec de l'éthanol à 70% sont remplis de 150g de compost stérilisé à l'autoclave ( $120^\circ\text{C}/1\text{h}$ ) durant 3 jours successifs. Les pots sont divisés en quatre groupes et représentent le type de traitement comme précédemment. Les graines traitées ont été semées (une graine/pot) à une profondeur de 1cm de la surface. L'expérience a été répétée 4 fois et s'est déroulée pendant 75 jours dans une chambre de croissance avec une température moyenne jour/nuit de  $26^\circ\text{C}$  et  $16^\circ\text{C}$ , respectivement, et une photopériode de 16 heures. L'humidité du compost a été ajustée et maintenue ambiante par arrosage avec de l'eau stérile. Au stade de l'épi, les racines et les feuilles ont été collectées. Leurs longueurs et leurs poids frais et sec ont été déterminés. Les dosages des paramètres biochimiques de croissance

(pigments chlorophylliens et sucres totaux) et de stress (proline et malondialdéhyde : MDA) ont été effectués. La survie des bactéries inoculées dans la rhizosphère et leur capacité de colonisation des racines ont été évaluées.

#### **2. 4. 1. Détermination des paramètres morphologiques**

Au stade d'épi, les racines et les tiges ont été récupérées. Leurs longueurs et poids frais et sec (après 72h à 65°C) ont été déterminés.

#### **2. 4. 2. Détermination des paramètres biochimiques**

Les dosages des paramètres biochimiques de croissance (pigments chlorophylliens et sucres totaux) et de stress (proline et de malondialdéhyde : MDA) ont été effectués. La survie des bactéries inoculées dans la rhizosphère et leur capacité de colonisation racinaire ont été évaluées.

##### **2. 4 .2. 1. Chlorophylles et caroténoïdes**

Les chlorophylles a et b et les caroténoïdes ont été déterminés d'après Kerbab et *al.* (2021) ou 0,5g des feuilles de chaque échantillon sont découpées en petits segments (0,5cm) et homogénéisés dans 10ml d'acétone à 80% et conservés à -10°C pendant une nuit. L'extrait organique est centrifugé à 14000rpm/ 5mn et l'absorbance du surnageant est mesurée à 663, 645 et 470 nm pour déterminer les chlorophylles a, b et les caroténoïdes, respectivement.

$$C_a = 12.70 A_{663} - 2.69 A_{645}.$$

$$C_b = 22.90 A_{645} - 4.68 A_{663}.$$

$$C_{a+b} = 20.21 A_{645} + 8.02 A_{663}.$$

$$C_{x+c} = (1000 A_{470} - 1.9 C_a - 63.14 C_b) / 214.$$

$C_a$  : concentration en chlorophylle a ;

$C_b$  : concentration en chlorophylle b ;

$C_{a+b}$  : concentration en chlorophylle totale ;

$C_{x+c}$  : concentration en caroténoïdes.

##### **2. 4. 2. 2. Sucres totaux**

L'extraction des sucres totaux de la matière fraîche foliaire a été réalisée selon le protocole suivant : à 0.1g de feuilles sont additionnés 3ml d'éthanol (80%). Le mélange est incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 48h. Ensuite, il est chauffé à 80°C au bain marie pour évaporer l'éthanol et agité en ajoutant 20ml d'eau distillée.

Les sucres totaux sont déterminés selon la méthode de Dubois et *al.*, (1956). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des sucres. 0,5 ml de l'échantillon est ajouté à 0,5 ml d'une solution de phénol à 5% auxquels sont ajoutés 2,5 ml d'acide sulfurique. La DO est mesuré à 490 nm. Les valeurs obtenues sont traduites en concentrations de glucose par référence à une courbe d'étalonnage préalablement établies. L'ensemble des paramètres biochimiques a été effectué en duplicata.

#### **2. 4. 2. 3. Proline**

L'extraction de la proline des feuilles a été réalisée à froid en mixant des aliquotes de 50 mg de poids frais des feuilles avec 1 ml de solution d'éthanol : eau (40 : 60 v / v) et laissée une nuit à 4 °C. Le mélange est ensuite centrifugé à 14 000 rpm /5 mn. A 500 µl de surnageant sont ajoutés 1000 µl de mélange réactionnel (ninhydrine 1% (p / v) dans de l'acide acétique 60% (v / v)) dans des tubes à bouchon à vis de 1,5 ml chauffés à 95°C/20mn. Le mélange est, ensuite, centrifugé à 10000 rpm/1mn et l'évaluation du contenu foliaire en proline est déterminée à 520 nm en utilisant la proline (5mM) comme solution étalon (Cherif - Silini et al., 2019).

#### **2. 4. 2. 4. Peroxydation des lipides (MDA)**

La peroxydation lipidique dans les feuilles a été déterminée par estimation de la teneur en malondialdéhyde (MDA). En effet, 0,2 g de la matière fraîche coupée en morceaux de 5mm et macérée dans 1ml de l'acide trichloracétique (ATC) (0,1%) et centrifugées (10 000 rpm /5 mn). Ensuite, 0,5 ml du surnageant est ajouté à 2 ml de ATC (20%) contenant 0,5% d'acide thiobarbiturique. Le mélange est chauffé à 95 °C / 30 mn puis refroidi rapidement dans un bain de glace. Le résultat du mélange est centrifugé à 10 000 rpm /15 mn et l'absorbance du surnageant a été mesurée à 532 nm. Les densités ont été corrigées pour éliminer la turbidité non spécifique en soustrayant la DO à 600 nm. La concentration de malondialdéhyde a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction de 155 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (Madhava Rao et Sresty, 2000).

#### **2. 4. 3. Persistance bactérienne dans la rhizosphère**

La persistance bactérienne dans la rhizosphère a été déterminée par un dénombrement (UFC/g) des bactéries cultivables après 75 jours de croissance végétale du blé. 1 g de compost rhizosphérique stérile prélevé en profondeur à 1cm de la surface a été homogénéisé à 10 ml d'eau physiologique stérile pendant 4 à 5 minutes. 0.1 ml de l'échantillon et de chaque dilution décimale allant de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-6</sup> ont été étalés sur la surface

de gélose LB incubée à 30°C/48h (Cherif-Silini *et al.*, 2019). La survie des bactéries testées dans la rhizosphère stérile a été réalisée en duplicata.

#### 2. 4. 4. Colonisation bactérienne endophytique

Pour éliminer les particules du compost adhérentes aux racines, celles-ci ont été mises dans 9 ml d'eau physiologique stérile sous agitation pendant 5 mn à 240 rpm /mn. Ensuite, 1 g de ces racines ont été (i) désinfectées dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1% (1mn) et d'éthanol à 70% (2 mn), (ii) lavées plusieurs fois avec de l'eau distillée stérile, (iii) macérées dans 9 ml d'eau physiologique stérile (10mM) et (iv) broyées à l'aide d'un mortier. 100µl de l'échantillon et de chaque dilution allant de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-6</sup> ont été étalés à la surface du milieu LB en boîtes de Pétri incubées à 30°C/72h. Les dénombrements bactériens ont été exprimés en UFC/g de racines.

### 2. 5. Effet de l'inoculation sur la croissance de la plante de blé dur dans un sol non stérile

Le sol a été prélevé d'un champ situé à l'université de Sétif 1, Algérie (36°12'00.8" N 5°22'08.9" E). L'analyse physico-chimique a été réalisée au laboratoire agronomique Fertial, Annaba, Algérie. Le sol a été classé comme argileux et limoneux, avec une conductivité électrique et un pH de 0,15 mS/cm et 8,34, respectivement. Les teneurs en matière organique facilement disponible, d'azote, de K et de phosphore étaient, respectivement, de 14,1 g/kg, 1,3 g/kg, 183 mg/kg, et 14 mg/kg (Tab.3).

**Tab. 3.** Caractères physico-chimiques du sol

<b>Conductivité (1/5 mS/cm)</b>	0,15	Non salé
<b>pH eau (1/2.5)</b>	8,34	Alcalin
<b>C/N</b>	6,31	Faible
<b>Carbonates</b>	18,84%	188400,00
<b>Matière organique</b>	1,41%	14100,00
<b>Azote total</b>	0,13%	1300,00
	<b>meq/100gr</b>	<b>p.p.m.</b>
<b>Phosphore (Olsen)</b>	0,05	14
<b>Potassium échangeable</b>	0,5	183,8
<b>Magnésium échangeable</b>	5,6	682,2
<b>Calcium échangeable</b>	42,5	8515,0
<b>Sodium échangeable</b>	0,3	66,7

Des pots en plastique (20 cm de diamètre × 18 cm d'hauteur) ont été stérilisés avec une solution d'hypochlorite de sodium à 20%, remplis d'environ de 4 kg de sol préalablement tamisé à travers un maillage de 0,5 cm et séché à l'air. Les graines de blé ont été désinfectées, puis germées et enrobées comme décrit précédemment. Vingt graines ont été semées dans chaque pot. Les traitements suivants avec cinq répétitions et avec deux variétés de blé Bousselam et Boutaleb ont été étudiés. Des graines enrobées avec du CMC inoculées ou non ont été utilisées :

- 1 : Graines non inoculées,
- 2 : graines inoculées avec Pa,
- 3 : graines inoculées avec B25,
- 4 : graines co-inoculées avec Pa et B25,
- 5 : graines inoculées avec FZB42 (Fan *et al.*, 2018) utilisée comme témoin positif.



**Fig. 14.** Remplissage des pots avec du sol et semis des graines de blé traitées.

La croissance végétale a été suivie dans une chambre de croissance contrôlée (photopériode 16/8 h, 12000 Lux et une moyenne de températures diurnes/ nocturnes de 26/16°C). Les plants ont été éclaircis 15 jours après le semis pour maintenir le nombre souhaité uniforme (dix plants par pot) dans chaque pot. Les plantes ont été irriguées deux fois par semaine avec de l'eau potable.

### **2. 5. 1. Paramètres morphologiques**

Après une croissance de 114 jours (du 28 Novembre 2019 à 21 Mars 2020), les plantes, au stade d'épi, ont été récoltées et lavées à l'eau distillée. Les racines et les tiges ont été séparées puis les paramètres de croissance ; longueur des tiges et des racines, poids frais et sec des tiges et des racines ont été mesurés. Ces paramètres ont été réalisés en triplicata.

### **2. 5. 2. Paramètres biochimiques**

Les paramètres biochimiques chlorophylles a et b, caroténoïdes, sucres totaux, proline et MDA ont été déterminées en duplicata, comme décrit précédemment.

### **2. 5. 3. Effet de l'inoculation sur la communauté rhizobactérienne**

#### **2. 5. 3. 1. Dénombrement des rhizobactéries**

Une quantité de 1 g de sol rhizosphérique de blé adhérant étroitement aux racines a été réparti dans 10 ml d'eau physiologique stérile et agité pendant 5 mn. 100µl de l'échantillon et de chaque dilution décimale allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  ont été étalés en duplicata sur milieu Tripticase soja agar (TSA) incubés à 30°C/72 h. Sur la base des caractéristiques morphologiques des colonies, 13 isolats visiblement distincts ont été purifiés et conservés dans des géloses inclinées à 4°C pour une évaluation ultérieure de leur activité PGP.

#### **2. 5. 3. 2. Dénombrement des bactéries endophytes**

Après le prélèvement des plantes, 1g des racines a été conservée à 4°C. Au moment de l'isolement, les racines sont désinfectées à la surface par immersion dans l'éthanol à 70% pendant 1 mn, puis dans l'hypochlorite de sodium à 2% /30 mn et rincées neuf à dix fois à l'eau distillée stérile. Les dernières eaux de rinçage sont ensemencées sur TSA à 30°C/72h. Après broyage et homogénéisation des racines dans 10ml d'eau physiologique stérile, une série de dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-8}$  a été effectuée et 100µl de l'échantillon et de chaque dilution ont été ensemencés et incubés en duplicata, sur TSA et incubées à 30°C/72h. Après dénombrement, six à huit souches sont purifiées par traitement et conservées pour une caractérisation de leur activités PGP (Rabhi *et al.*, 2022).

#### **2. 5. 3. 3. Activités PGP**

Les activités de promotion de la croissance des plantes (PGP *in vitro*) des isolats bactériens ont été déterminées en duplicata, en utilisant des protocoles standards pour la solubilisation des phosphates, la croissance en milieu exempt d'azote (fixation d'azote), la production de sidérophores, la production d'AIA, et l'activité de l'ACC désaminase.

##### **2. 5. 3. 3. 1. Solubilisation du phosphate**

La gélose Pikovskaya contenant du phosphate tricalcique a été utilisée dans cet essai. Un volume de 10 µl de chaque culture bactérienne ont été déposés sur la surface de la gélose PVK et incubés à 30°C pendant 7 jours. L'apparition d'un halo transparent autour de la colonie indique une solubilisation du phosphate (Saidi *et al.*, 2021).

##### **2. 5. 3. 3. 2. Fixation de l'azote**

Le milieu Winogradsky (WS) a été utilisé pour vérifier la capacité des souches bactériennes à se développer sur un milieu exempt d'azote. 10 µl de chaque culture

bactérienne ont été déposés sur la surface de la gélose. L'apparition de colonie visible sur le milieu après 4 jours d'incubation à 30°C, indique la capacité de la souche de croître sur un milieu ne contenant pas d'azote. La réaction de chaque souche bactérienne a été notée positive ou négative dans le test (Rabhi *et al.*, 2022).

#### **2. 5. 3. 3. 3. Production de sidérophores**

Une colonie d'une culture bactérienne fraîche a été diluée dans 7ml d'eau physiologique stérile et vortexée, 20µl de cette suspension ont été transférées dans 1ml de milieu King B et incubé à 30°C/96 h. Les cultures ont été centrifugées à 12000 rpm/ 5 mn et 100µl du surnageant a été mélangé avec 100µl de réactif de CAS (Le complexe tertiaire bromure de chromazurol-S (CAS) / Fe<sup>3+</sup> / hexadécyl triméthyl ammonium a servi d'indicateur) dans un puits de microplaque incubé 30 mn à l'obscurité. Un changement de la couleur bleue du milieu en orange indique la production de sidérophores. La DO a été mesurée par un lecteur de microplaque à 630 nm (Ben Slama *et al.*, 2019).

#### **2. 5. 3. 3. 4. Production de l'AIA**

Un volume de 20 µL de la suspension bactérienne précédente ont été transférés dans 1ml de milieu LB additionné de 2g de tryptophane et incubé à 30°C/96 h. les cultures ont été centrifugées à 12000 rpm/ 5mn. 100µl du surnageant a été transféré dans un puits de microplaque auquel 150µl de réactif de Salkowski a été ajouté, la microplaque est incubée à 30 mn à l'obscurité. L'absorbance a été lue à 490nm ( Romasi et Lee, 2013).

#### **2. 5. 3. 3. 5. Production de l'ACC désaminase**

L'activité ACC désaminase des isolats a été évaluée selon la méthode de Li *et al.*, (2011). Une colonie bactérienne a été cultivée dans 5ml de bouillon LB incubée à 28°C/48h avec agitation 150 rpm/mn. 2ml de chaque culture ont été centrifugées à 8000 rpm /5 mn. Le culot cellulaire a été récupéré lavé deux fois avec 1ml du milieu DF liquide, et re-suspendu dans 2 ml de milieu DF-ACC préparé comme suit : une solution de 0,5 mol/l d'ACC a été stérilisé par filtration sur membrane 0,2 µm, et ajouté dans le milieu minimum DF autoclavé pour obtenir le milieu DF-ACC avec une concentration finale en ACC de 3,0 mmol /l. Après incubation à 28°C/24 h, 1 ml de la culture bactérienne a été centrifugée et 100 µl du surnageant récupéré ont été dilués 10 fois dans de milieu DF liquide sans ACC dans des tubes de 1,5 ml. Ensuite, 60 µl de chaque surnageant ont été mélangés avec 120 µl de réactif de ninhydrine (500 mg de ninhydrine et 15 mg de l'acide ascorbique ont été dissous dans 60 ml d'éthylène glycol, conservé à -20°C et mélangé à 60 ml de tampon

citrate (pH 6,0)). Le mélange réactionnel est chauffé par ébullition pendant 30 mn. Un test qualitatif est réalisé à l'œil nu par comparaison avec le blanc (DF sans inoculation).

## **2. 6. Effet de la conservation sur la survie bactérienne des graines inoculées enrobées**

Pour évaluer l'effet de la durée de conservation sur la survie bactérienne des graines inoculées enrobées, 1g de graine prélevé à différentes périodes de conservation à températures ambiantes (24 h, 45 jours, 7 mois, 13 mois et 21 mois) est mis en suspension dans 10ml d'eau physiologique. 0, 1ml de l'échantillon et de chaque dilution décimale allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  décrit comme précédemment ont été étalés sur la surface de gélose LB. Le dénombrement en UFC/g de graines a été effectué, en duplicata après 48h à 30 °C d'incubation (Cherif-Silini *et al.*, 2019).

## **2. 7. L'analyse statistique**

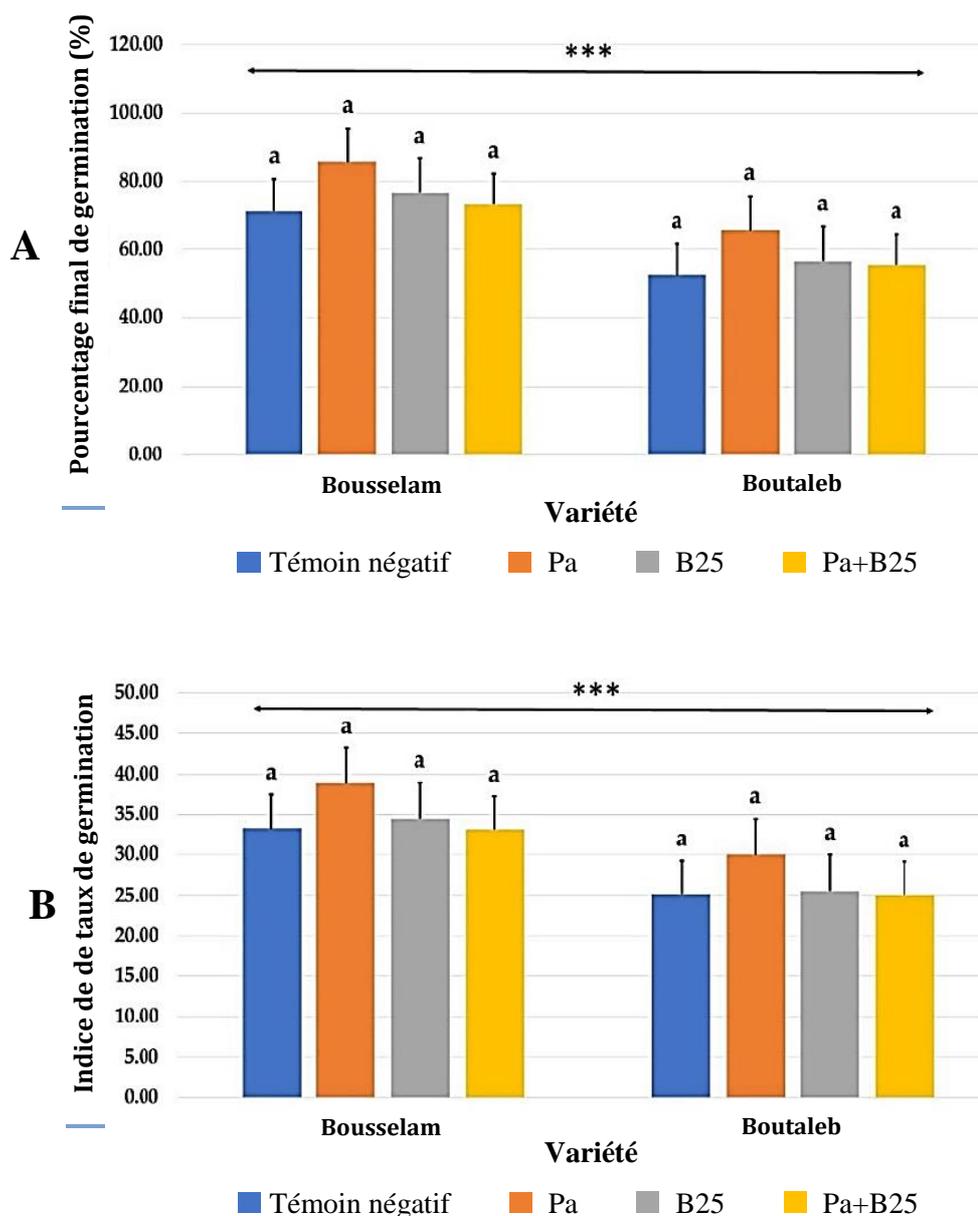
L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) et lorsque des effets significatifs ont été détectés, les groupes ont été comparés à l'aide d'un test HSD de Tukey post-hoc, Le programme statistique utilisé était SPSS Statistics v.22. Les activités PGP des souches bactériennes isolées ont été analysées par des clusters hiérarchiques avec des heatmap créés à l'aide du logiciel OriginLab 2021.

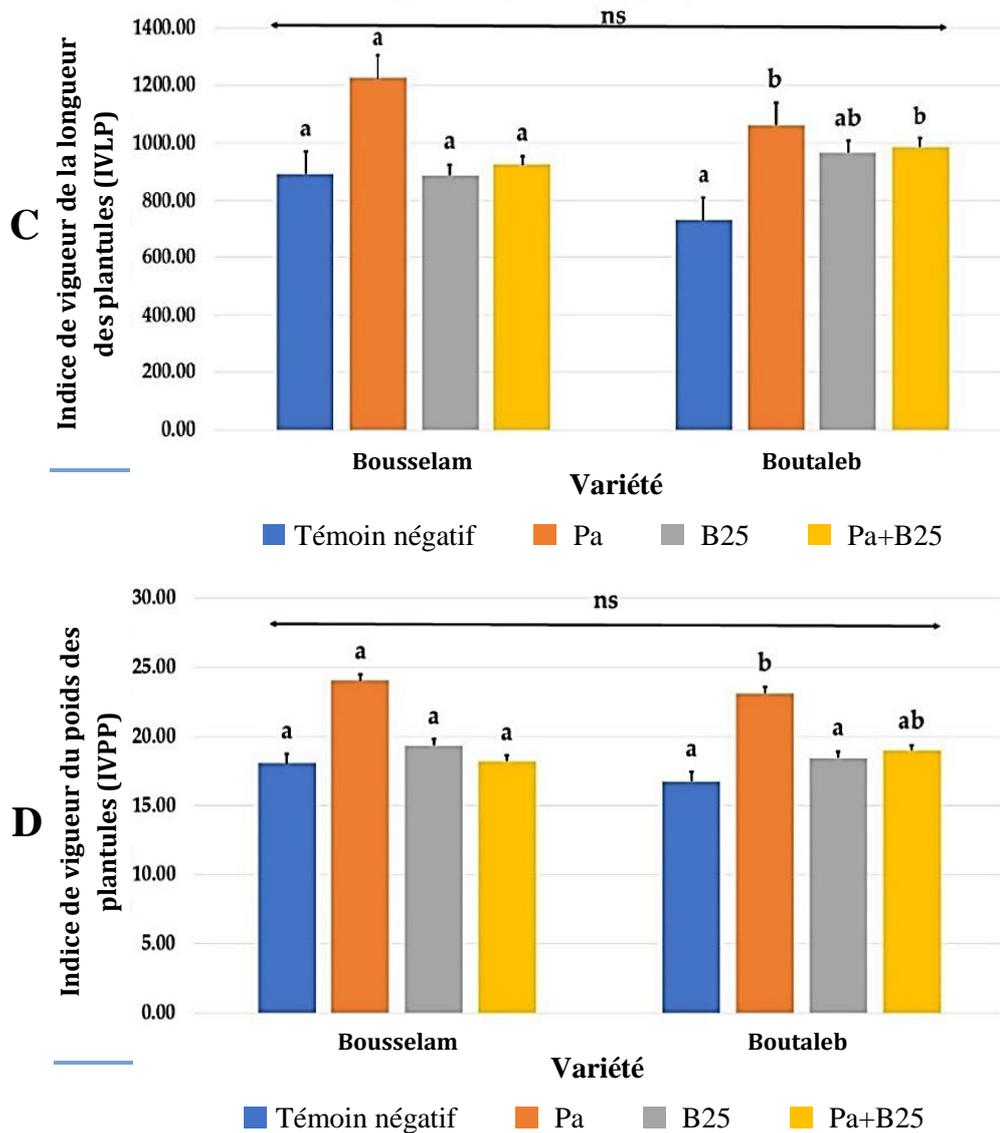
### 3. Résultats et discussion

#### 3. 1. Résultats

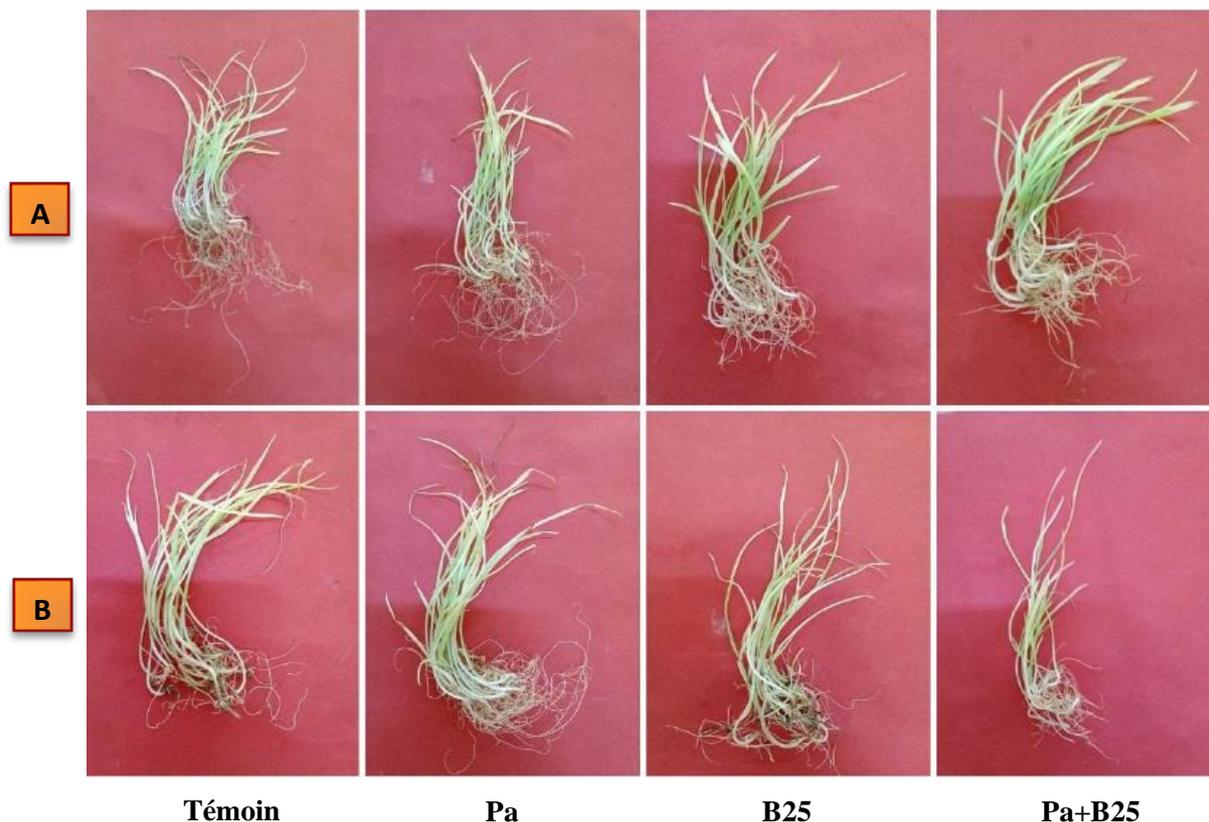
##### 3. 1. 1. Effet de l'inoculation bactérienne sur la germination des graines du blé dur

Le traitement des graines du blé dur avec Pa et B25 n'avait révélé aucun effet significatif sur la germination, sauf sur les indices de vigueur de la longueur (IVLP) et du poids (IVPP) chez Boutaleb, où l'inoculation avec Pa ou en association avec B25 avait montré une augmentation de ces paramètres, (Fig. 15 D).





**Fig. 15.** Effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur (A) le pourcentage final de germination, (B) l'indice de taux de germination (%), (C) l'indice de vigueur de la longueur, et (D) l'indice de vigueur du poids avec les deux variétés Bousselam et Boutaleb. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs de germination en triplicata. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le test HSD de Tukey.



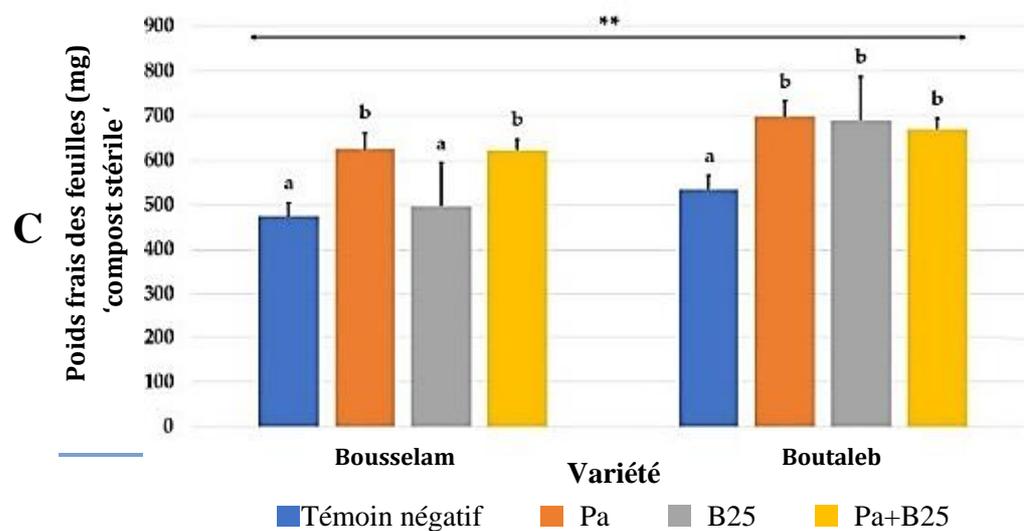
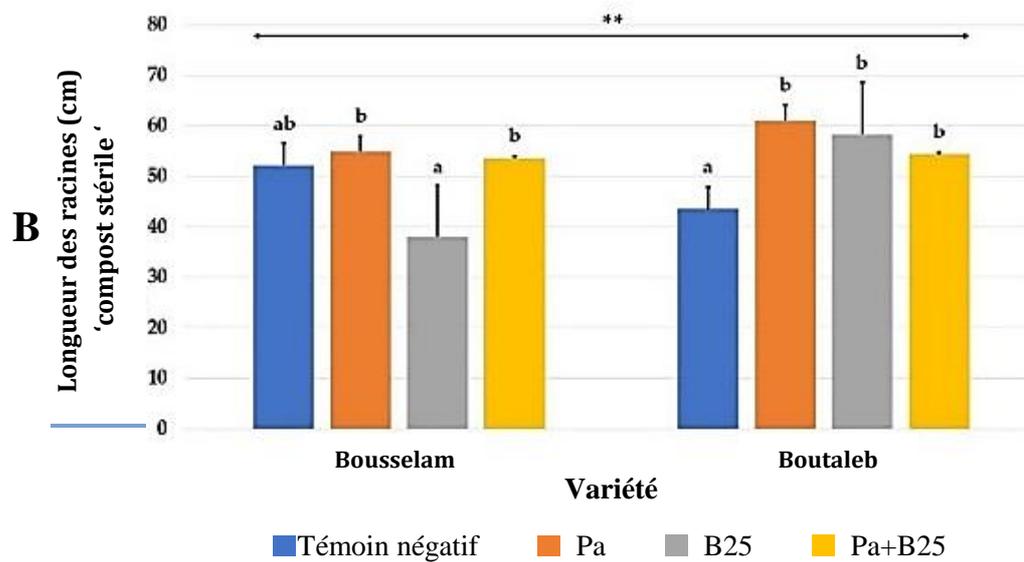
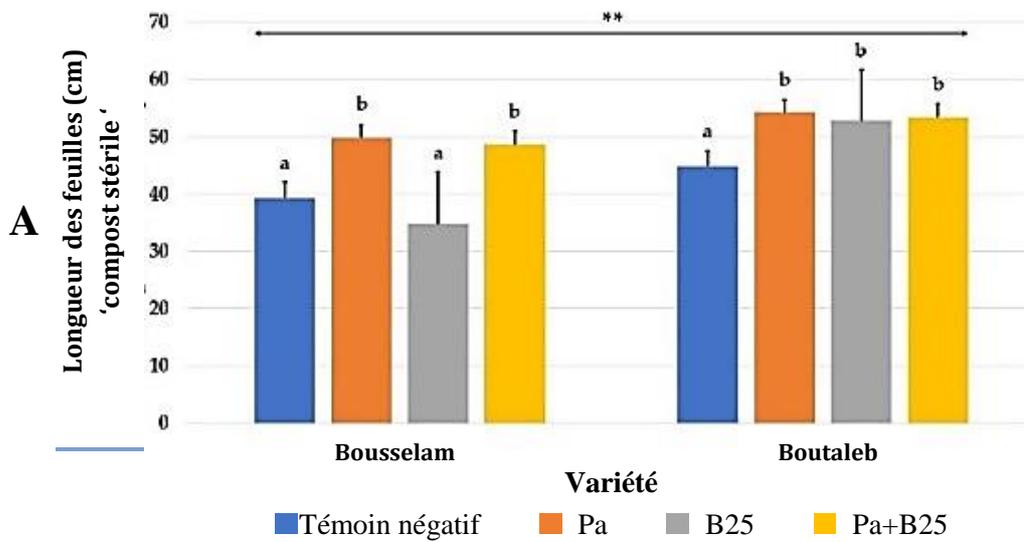
**Fig. 16.** Effet des souches bactériennes sur la germination des graines de blé.  
A : variété Bousselam, B : variété Boutaleb.

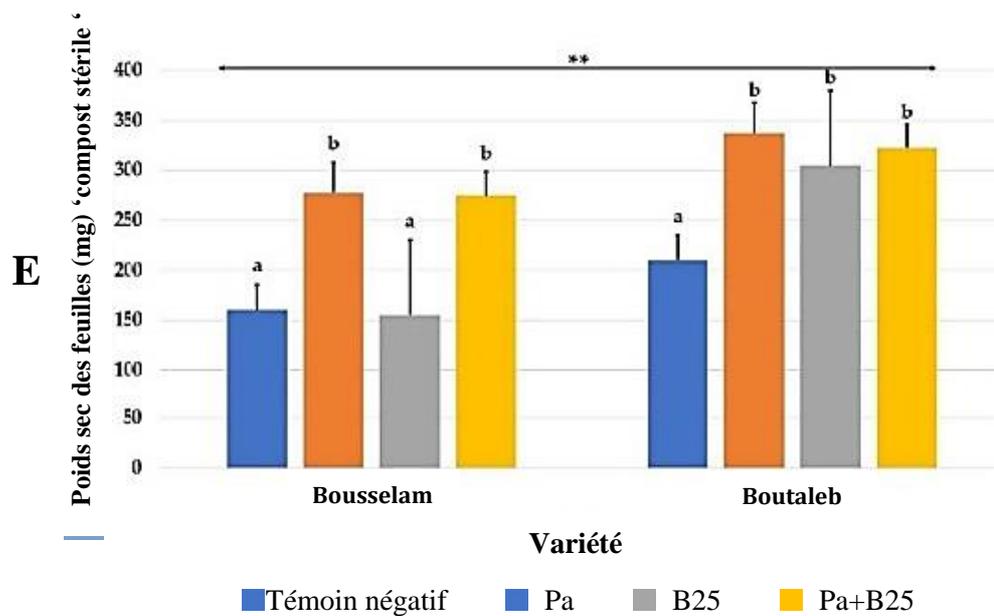
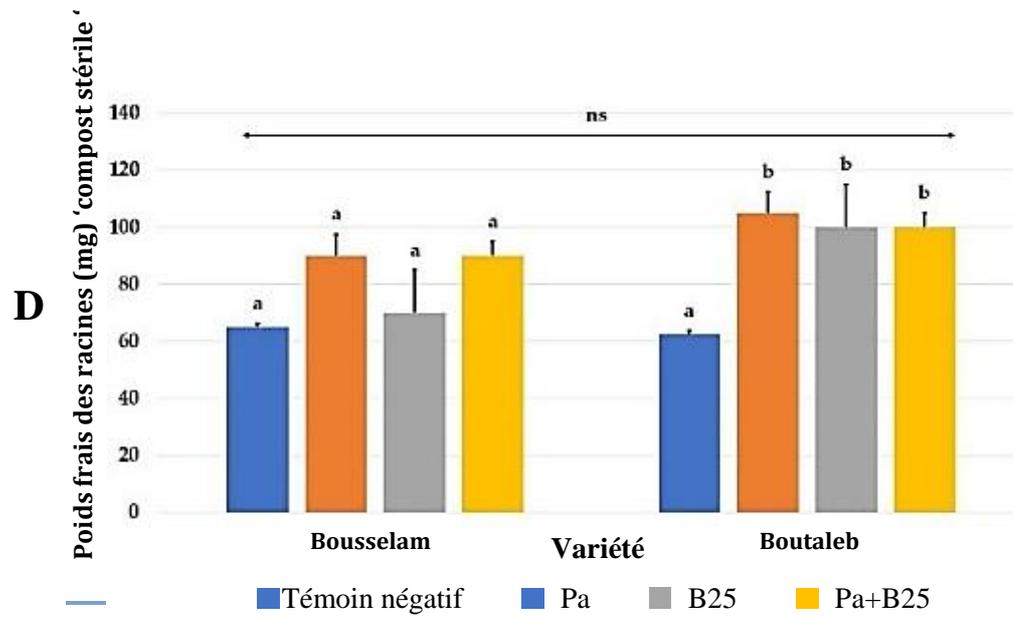
### 3. 1. 2. Effet de l'inoculation sur la croissance végétale du blé

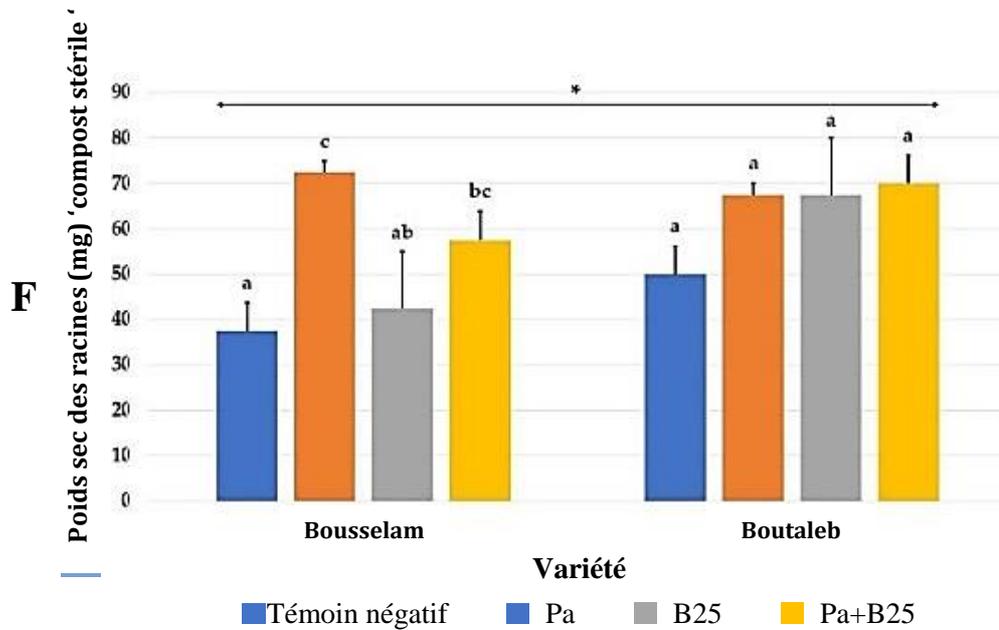
#### 3. 1. 2. 1. Effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur la croissance végétale du blé dur dans le compost stérile

##### 3. 1. 2. 1. 1. Paramètres morphologiques

Les résultats des paramètres morphologiques ont montré que la mono inoculation et la co-inoculation des graines de blé dur, chez les deux variétés dans un compost stérile, entraînent une amélioration de l'ensemble des paramètres morphologiques de la croissance végétale. Celle-ci est visible, essentiellement chez la variété Boutaleb, avec une augmentation de plus de 24,78% dans la longueur des racines, 60% dans le poids frais des racines, et 45% dans le poids sec des feuilles et des racines, (Fig. 17 B, C, D, E et Fig. 18). Alors que chez Bousselam, l'effet de l'inoculation avec B25 a été nul.







**Fig. 17.** Effet de l'inoculation par Pa et/ou B25 sur les paramètres morphologiques des plantes cultivées dans le compost stérile (A) la longueur des feuilles (cm), (B) longueur des racines (cm), (C) poids frais des feuilles (mg), (D) poids frais des racines (mg), (E) poids sec des feuilles (mg), (F) poids sec des racines (mg). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs de 4 réplifications. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le test HSD de Tukey.

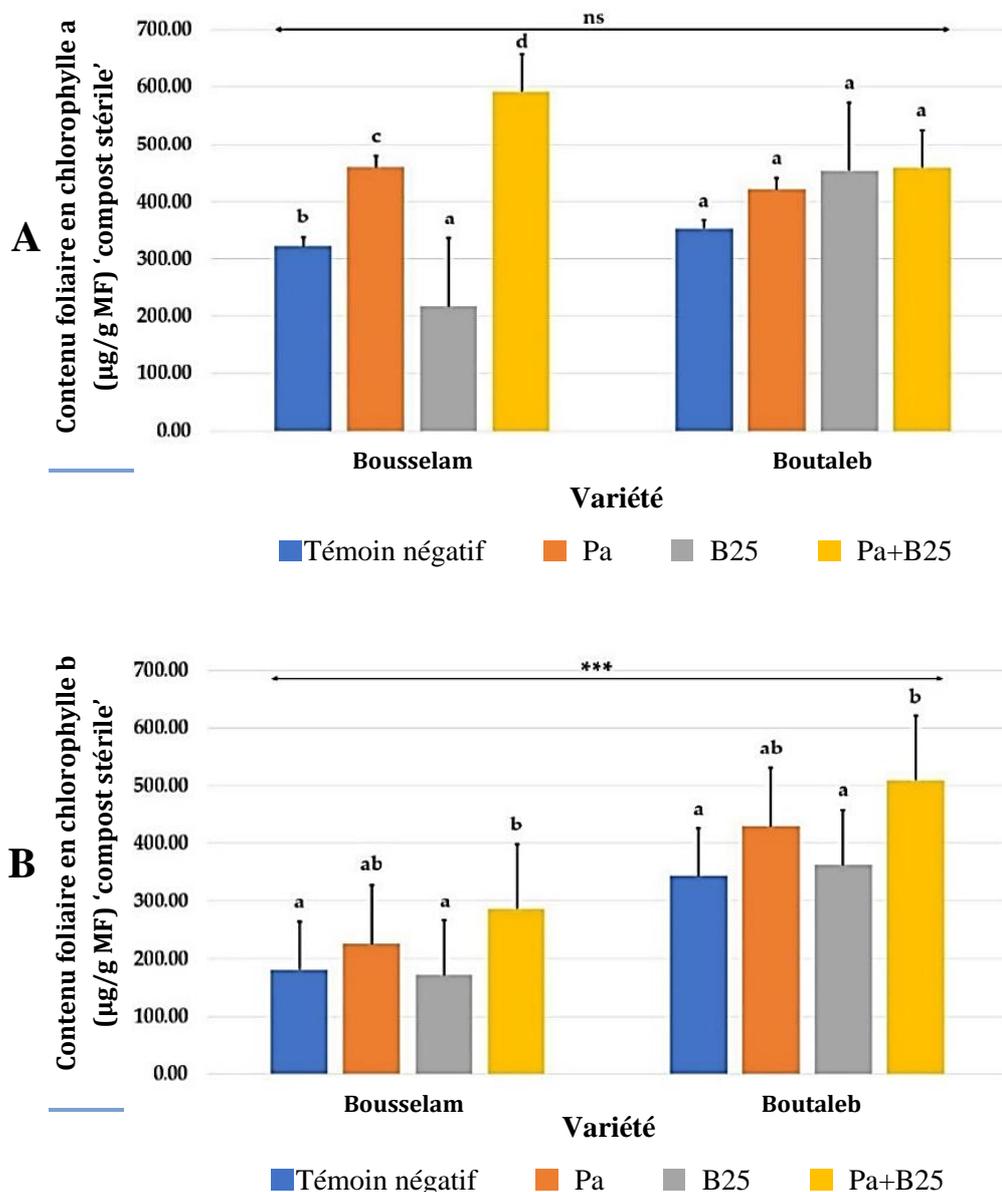


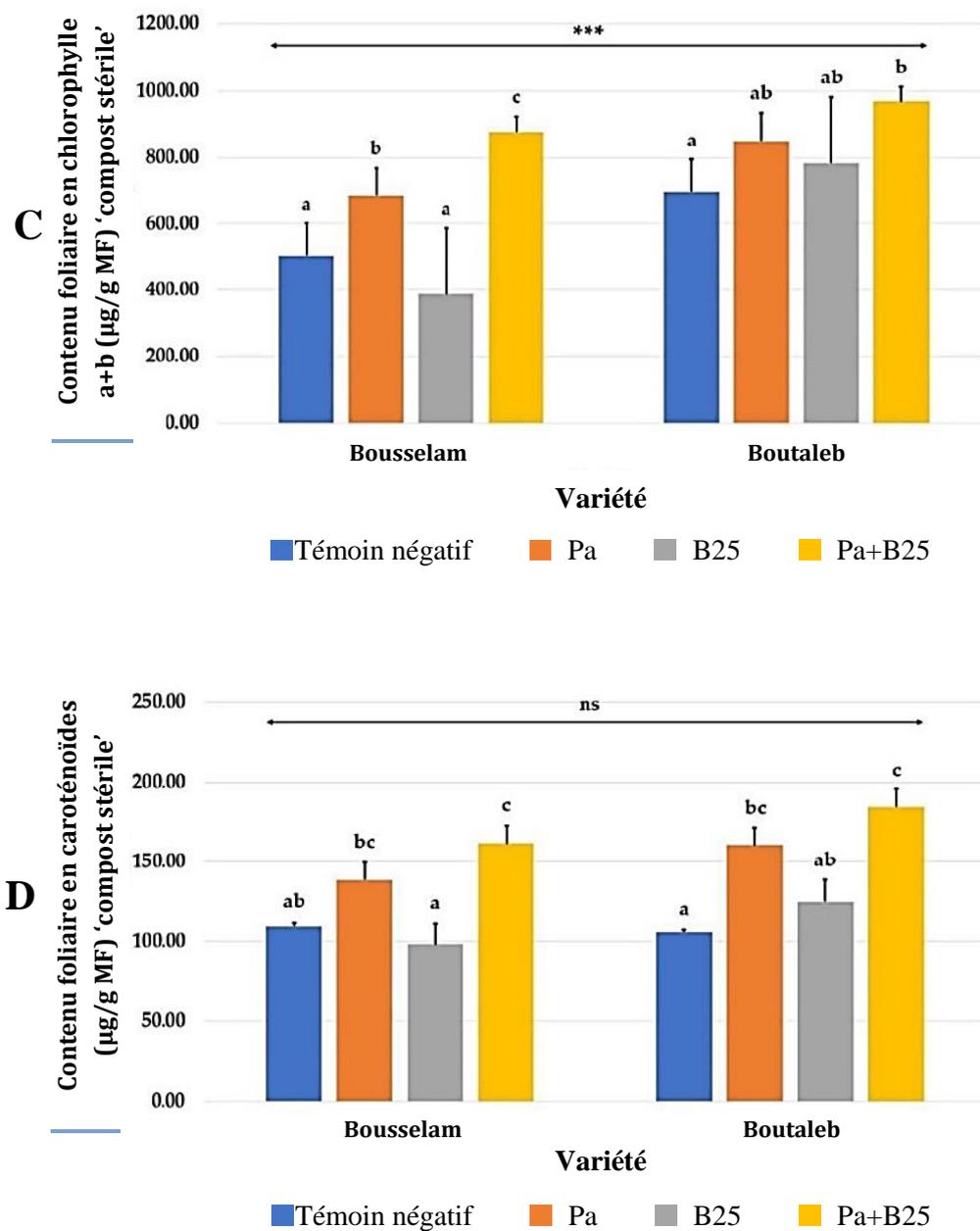
**Fig. 18.** Effet de l'inoculation et de la co- inoculation sur la croissance des plantes cultivées dans le compost stérile. A gauche : Bouselam, à droite : Boutaleb.

### 3. 1. 2. 1. 2. Paramètres biochimiques

#### a) Pigments chlorophylliens

Comparé au témoin, la teneur des pigments chlorophylliens (chlorophylle a, b, totale et caroténoïdes) a augmenté avec l'inoculation par Pa seule ou en co-inoculation avec B25, alors que le traitement par B25 semble avoir un effet non significatif sur la teneur de ces pigments, (Fig. 19). Chez la variété Boussemam, des augmentations significatives de 83,75% de la chlorophylle a, et de 74,17% de la chlorophylle totale ont été enregistrées dans le cas de la co-inoculation, (Fig. 19 A et C). La teneur en caroténoïdes a, aussi, été améliorée sous l'effet de ce traitement chez Boussemam et Boutaleb avec des taux de 46,63%, et de 74,16%, respectivement (Fig. 19 D).



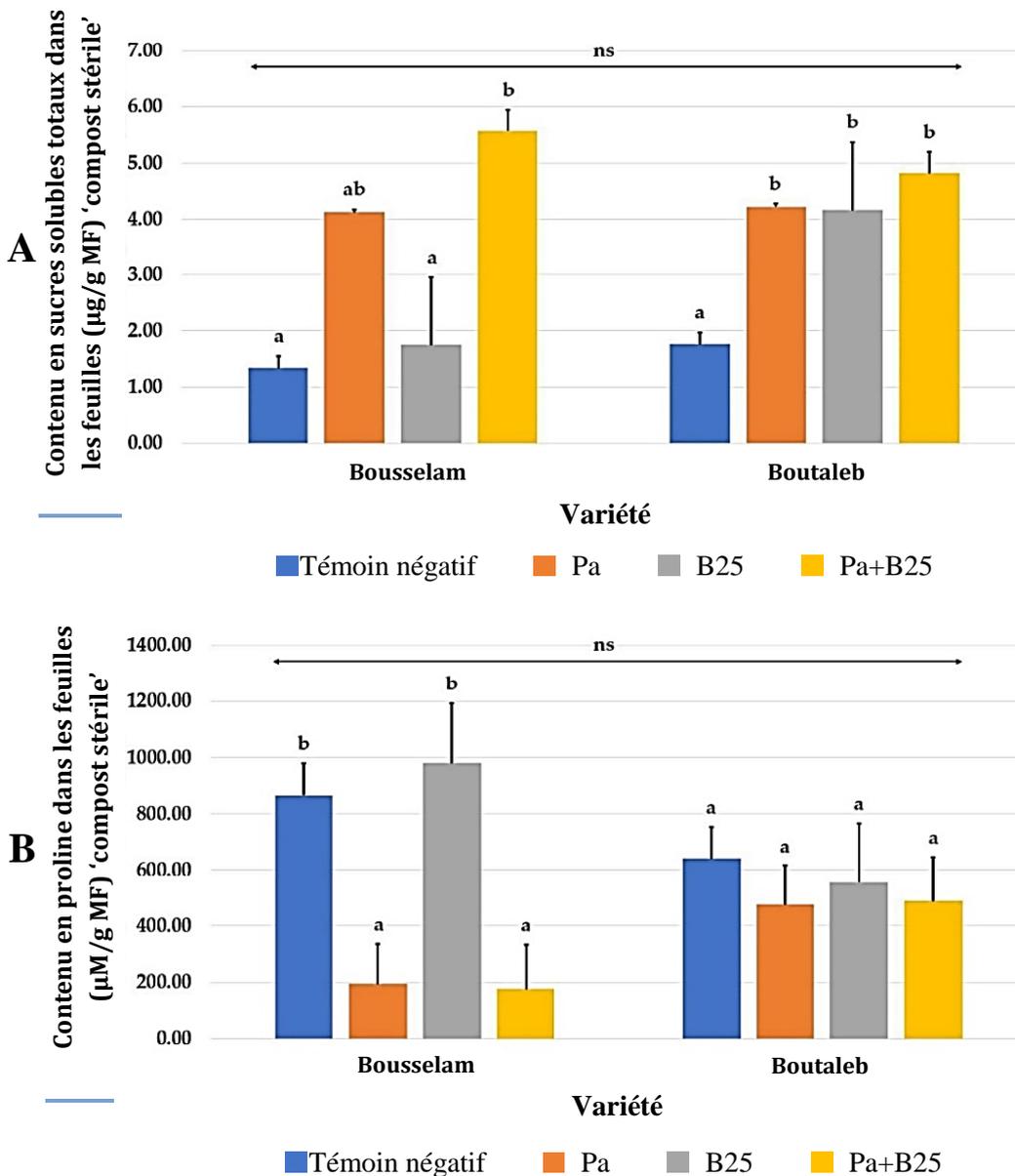


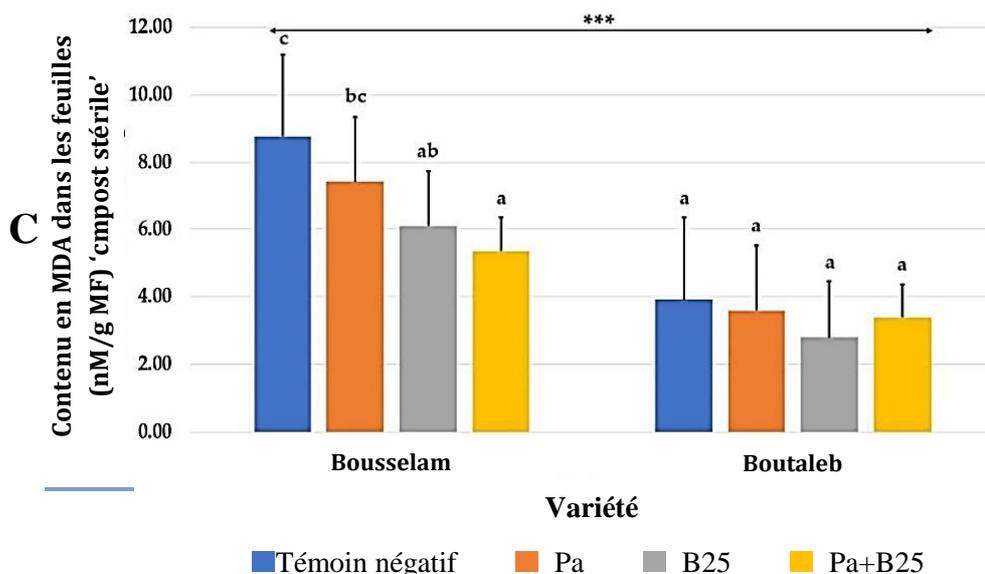
**Fig. 19.** Effet des souches bactériennes sur les pigments chlorophylliens des plantes cultivées dans le compost stérile (A) chlorophylle a (µg/g MF), (B) chlorophylle b (µg/g MF), (C) chlorophylle a+b (µg/g MF), et (D) Caroténoïdes (µg/g MF). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs de duplicata. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le test de HSD de Tukey.

## b) Sucres totaux, proline et MDA

L'effet de l'inoculation sur le contenu foliaire en sucres totaux est variable selon la variété de blé, il s'est manifesté par une élévation notable dans les feuilles des plantes indifféremment traitées par Pa, B25 et la co-inoculation chez Boutaleb. Alors que chez Bousselam, seule Pa seule ou en association avait un impact positif (Fig. 20 A).

L'effet de l'inoculation des graines sur les indicateurs biochimiques de stress chez les deux variétés de blé semble mitigé. En effet, Les variations du contenu foliaire en proline et en MDA suite à l'inoculation des graines sont observées uniquement chez Bousselam ou on a remarqué des diminutions significatives de la MDA lors des différents traitements, et de la proline lorsque Pa en mono-inoculation ou en co-inoculation avec B25 sont utilisées (Fig. 20 C).



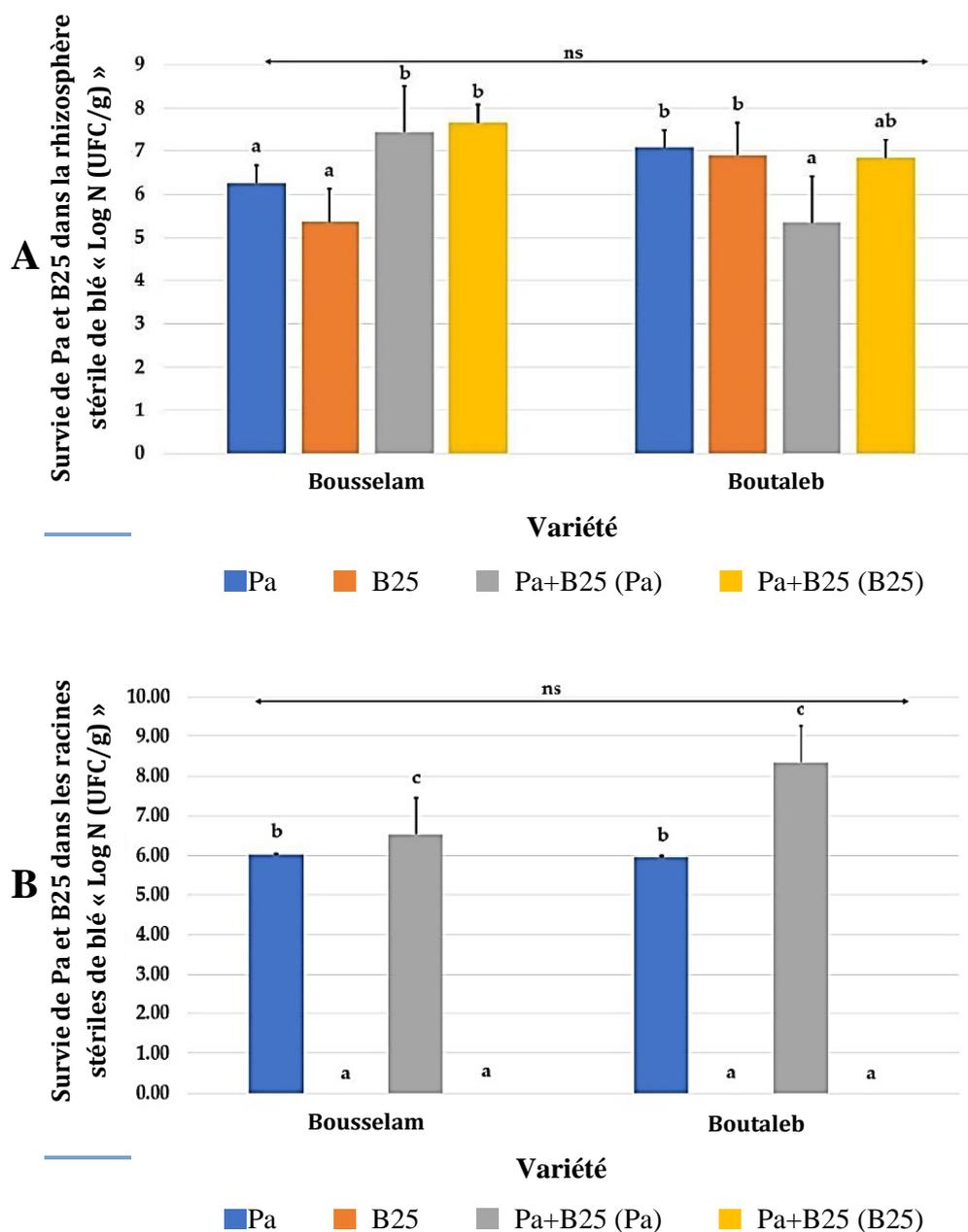


**Fig. 20.** Effet des souches bactériennes sur le contenu en (A) sucres solubles totaux ( $\mu\text{g/g}$  MF), (B) proline ( $\mu\text{M/g}$  MF), et (C) MDA ( $\text{nM/g}$  MF) dans les plantes cultivées dans le compost stérile. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs en duplicata. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le test HSD de Tukey.

Les effets de l'inoculation des graines sur les indicateurs biochimiques de stress chez les deux variétés de blé semblaient mitigés. En effet, des variations de teneurs en proline foliaires et en MDA suite à l'inoculation des graines n'ont été observées que chez Bousselam. Des diminutions de la proline ont été constatées lorsque la souche Pa en mono-inoculation ou en co-inoculation avec la souche B25 a été utilisée (Fig. 20 B) et en MDA au cours des différents traitements (Fig. 20 C).

### 3. 1. 2. 1. 3. Survie bactérienne dans la rhizosphère stérile

Après 75 jours de croissance végétale, La survie bactérienne de Pa et de B25 dans la rhizosphère des deux variétés de blé a été appréciable. Les dénombrements de Pa en mono et en co-inoculation ont été de l'ordre de  $1,80 \times 10^6$  UFC /g et  $2,91 \times 10^7$  UFC /g dans la rhizosphère de Bousselam, (Fig. 21 A), et de l'ordre de  $1,19 \times 10^7$  UFC /g et  $2,30 \times 10^5$  UFC /g dans la rhizosphère de Boutaleb, (Fig. 21 A). Ainsi pour B25 prise individuellement ou en association avec Pa, les dénombrements ont été de l'ordre de  $2,10 \times 10^5$  ;  $4,73 \times 10^7$  et  $7,86 \times 10^6$  ;  $6,91 \times 10^6$  UFC/g dans le sol rhizosphérique de Bousselam et de Boutaleb, respectivement. Alors qu'à l'intérieur des racines, seule Pa existait à des teneurs de  $1,08 \times 10^6$  et  $3,50 \times 10^6$  dans les racines de Bousselam et de  $9,33 \times 10^5$  UFC/g et  $2,22 \times 10^8$  UFC/g  $10^6$  dans les racines de Boutaleb. Contrairement à B25, Pa a été capable de coloniser les racines et semble être une bactérie endophyte.

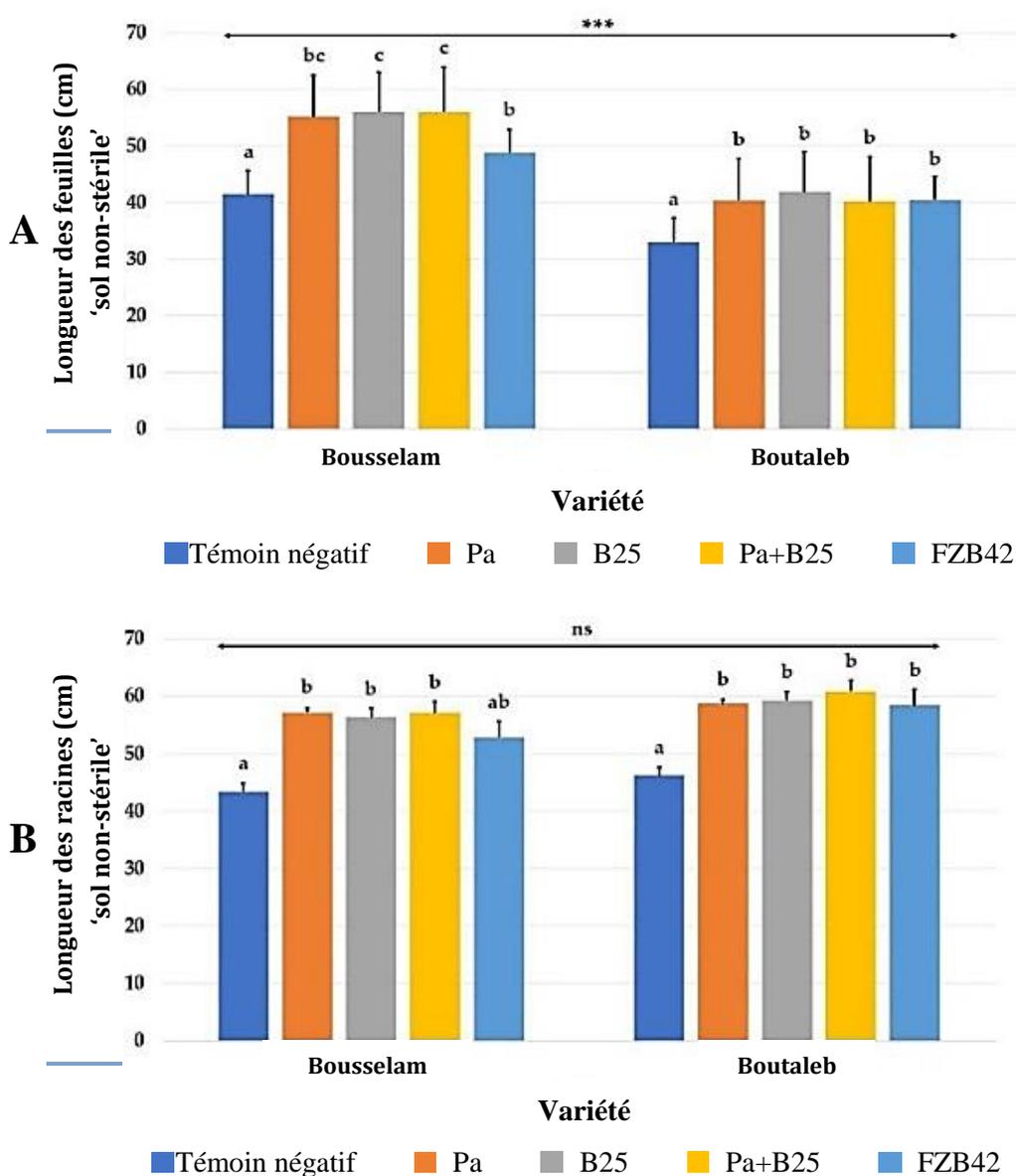


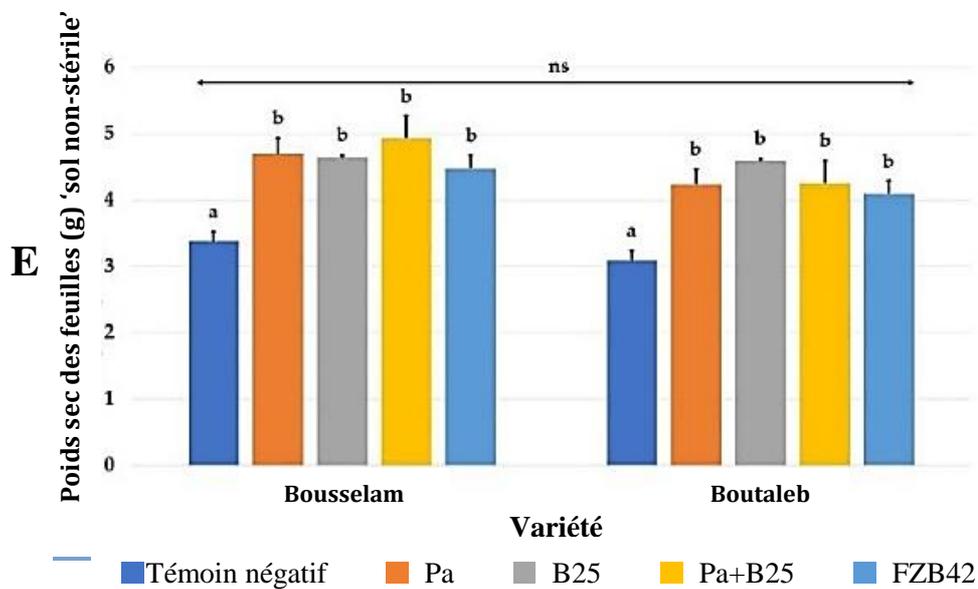
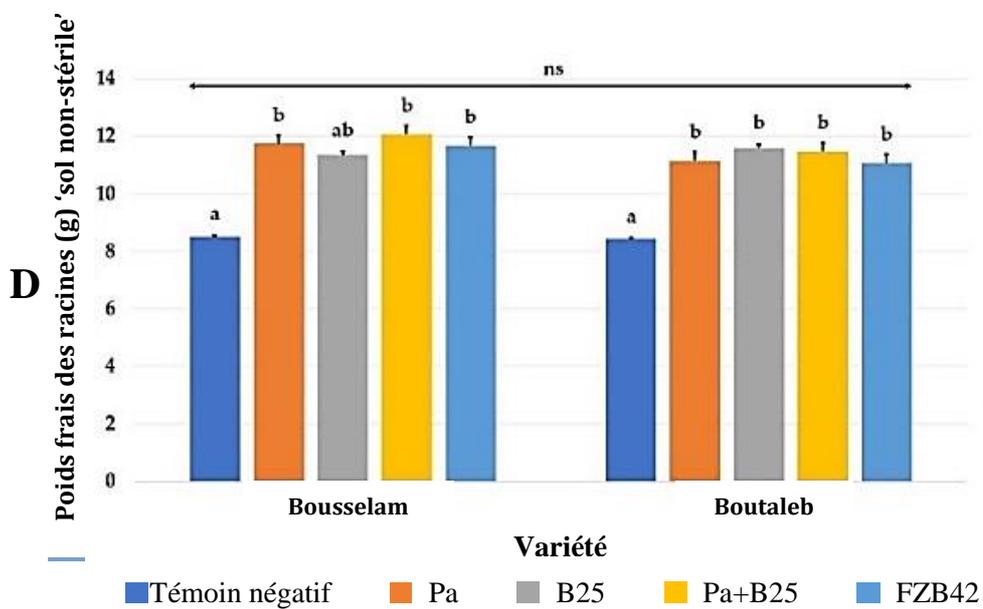
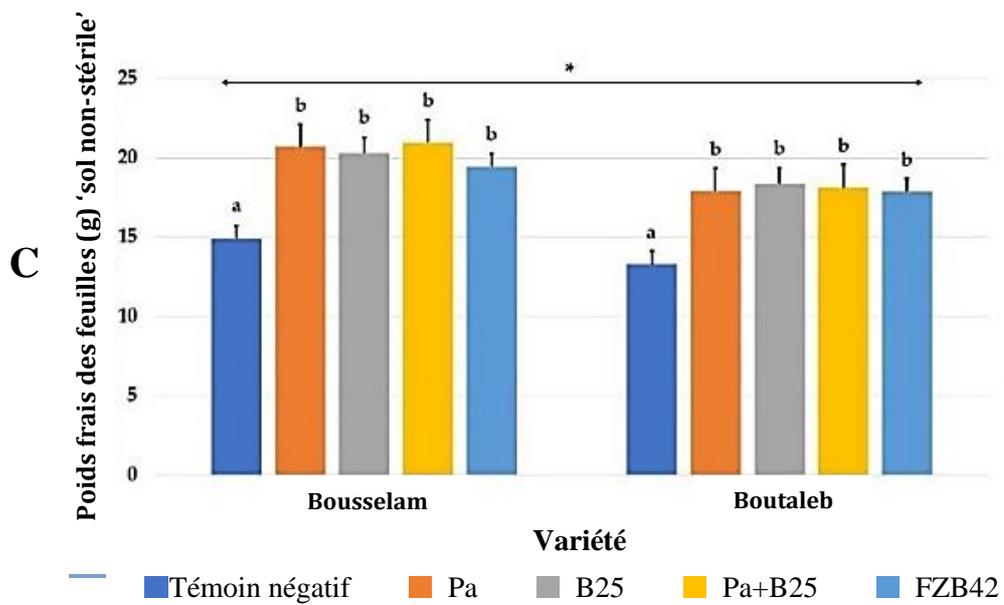
**Fig. 21.** Survie bactérienne dans la rhizosphère et dans les racines « Log N (UFC/g) » (A) variété Bousselam, (B) variété Boutaleb. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs en duplicata. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le test HSD de Tukey.

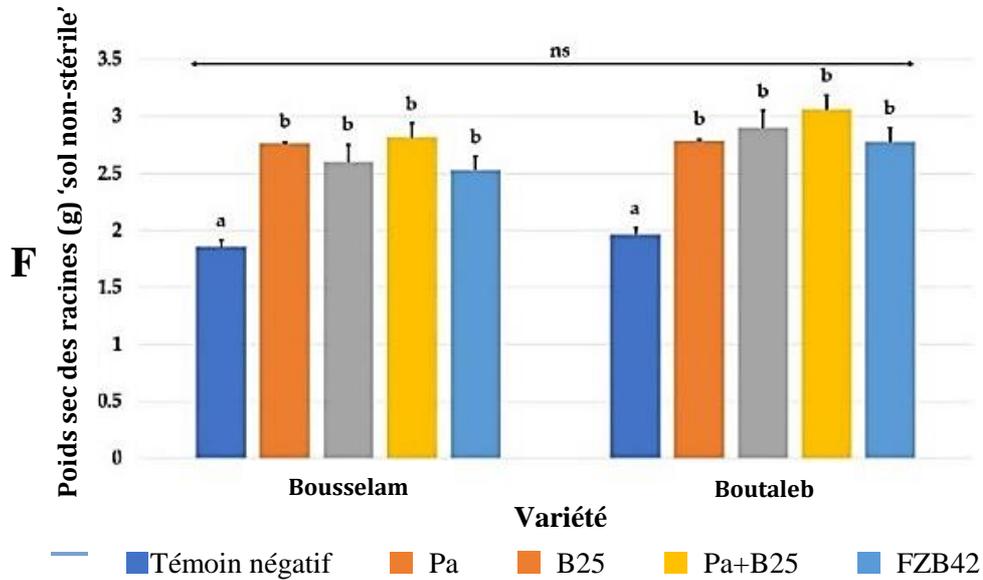
### 3. 1. 2. 2. Effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur la croissance des plantes du blé dur dans un sol non stérile

#### 3. 1. 2. 2. 1. Paramètres morphologiques

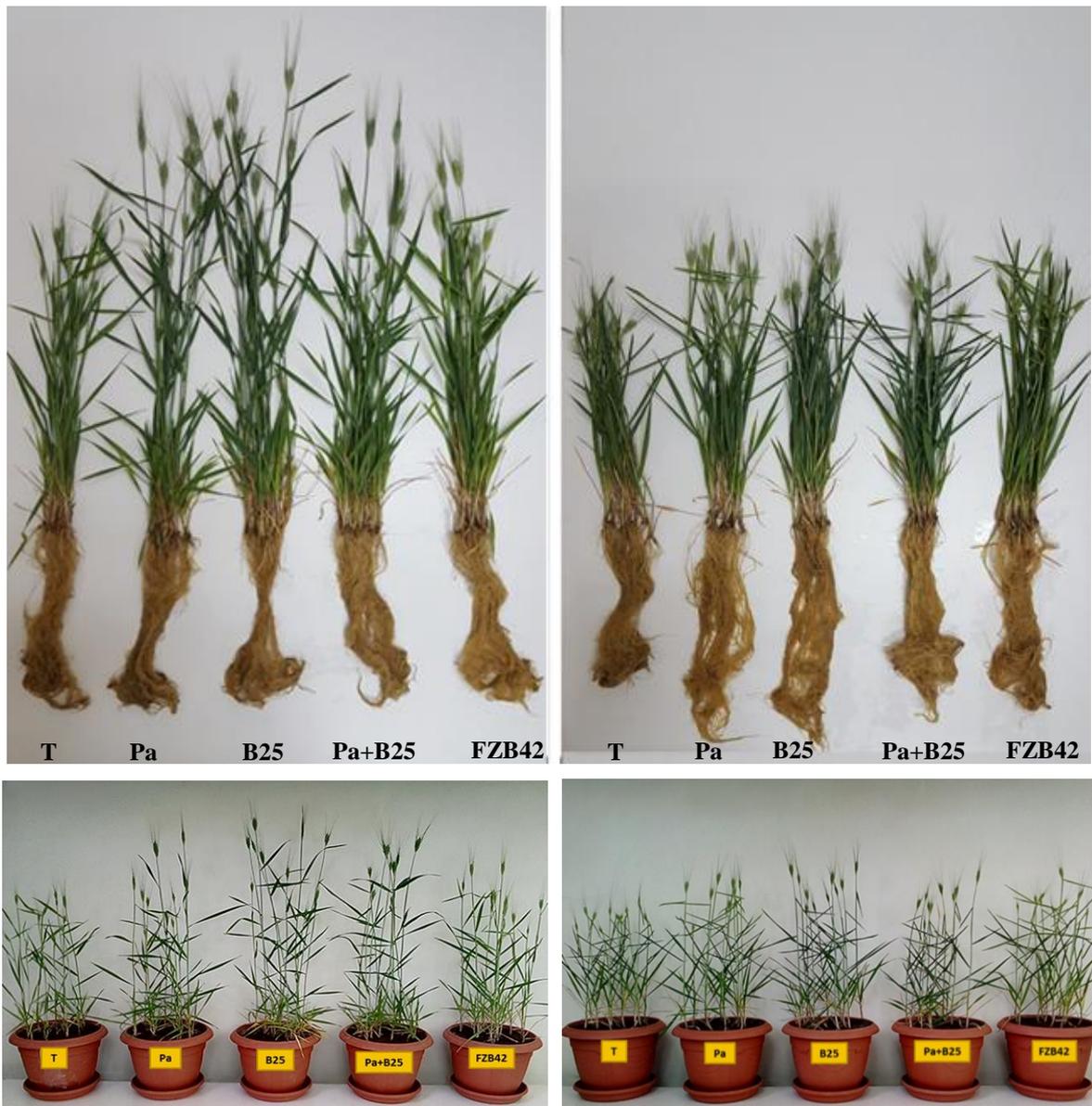
Comparativement au compost, dans le sol non stérile, l'analyse de la variance des poids frais et secs des racines et des feuilles, de l'allongement racinaire et de la hauteur de la plante a montré que tous les traitements de l'inoculation augmentaient significativement ces paramètres chez les deux variétés de blé qui semblaient répondre de la même manière (Fig. 22 et 23). Cette augmentation dépassait 22% pour la longueur foliaire et racinaire, (Fig. 22 A et B), et 30% pour le poids frais des feuilles et des racines de Bousselam, lors de l'inoculation avec Pa, B25 ou la co-inoculation (Fig. 22 C et D).







**Fig. 22.** Effet des souches bactériennes sur les paramètres morphologiques des plantes cultivées dans le sol non stérile (A) la longueur des feuilles (cm), (B) la longueur des racines (cm), (C) poids frais des feuilles (mg), (D) poids frais des racines (mg), (E) poids sec des feuilles (mg), (F) poids sec des racines (mg). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs en triplicata. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le test HSD de Tukey.

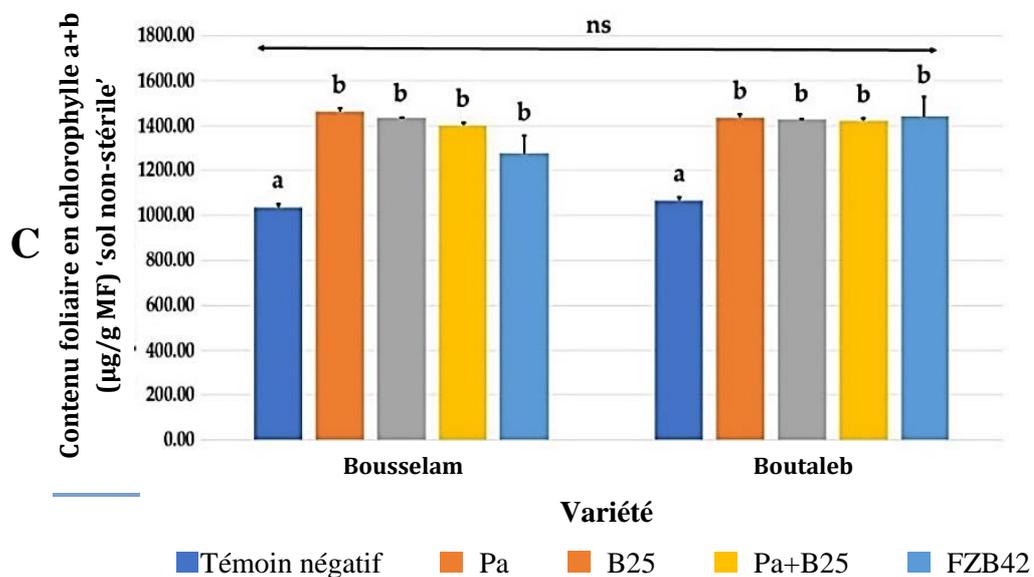
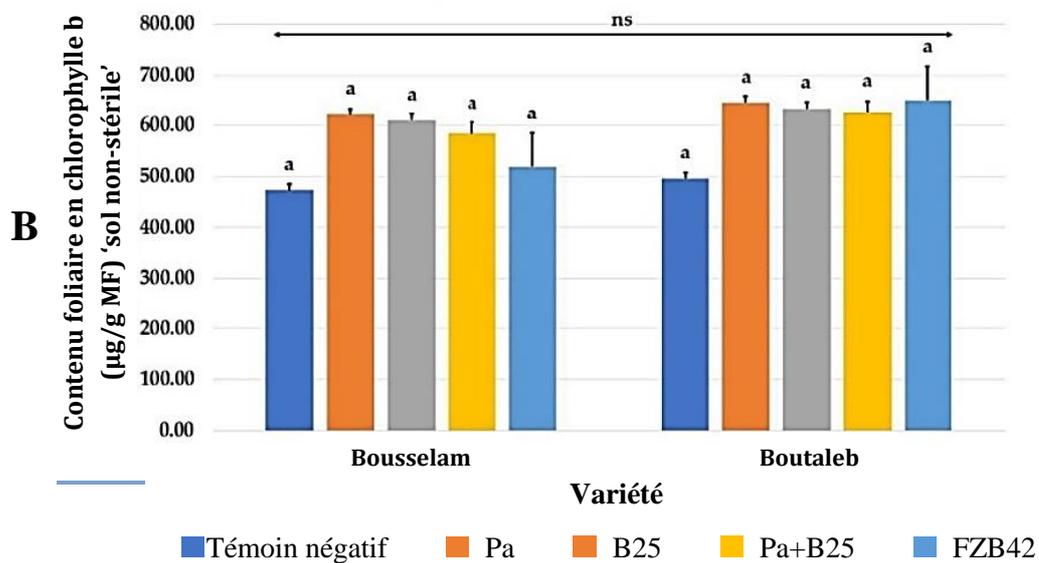
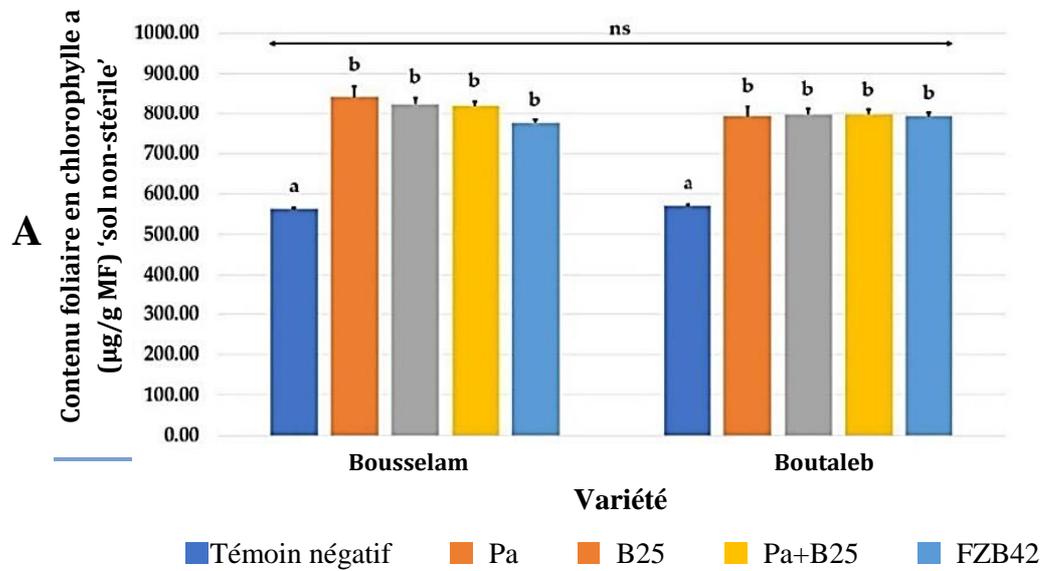


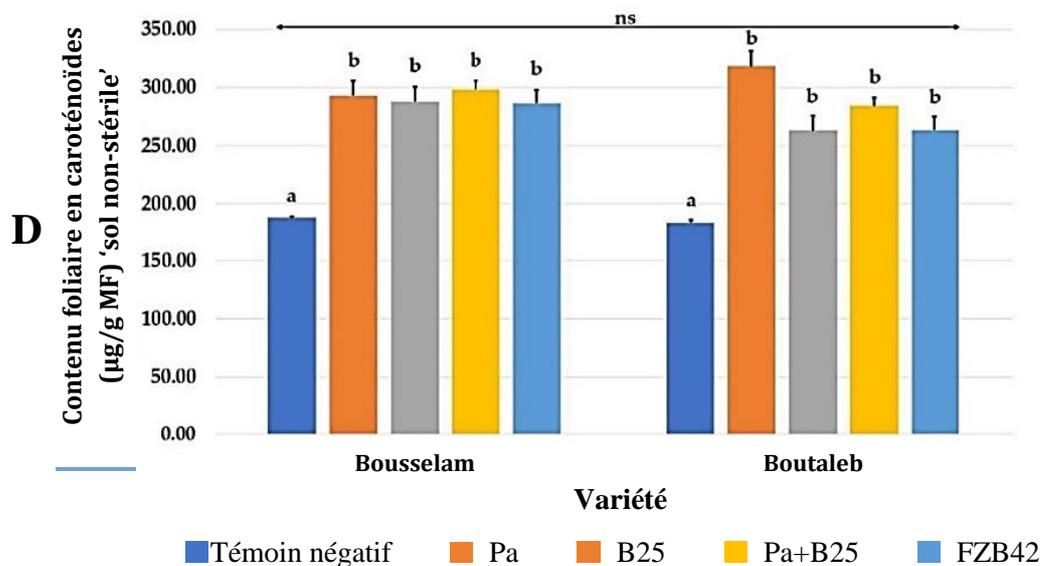
**Fig. 23.** Effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur la croissance végétale des plantes cultivées dans le sol non stérile. A gauche : Bousselam, à droite : Boutaleb.

### 3. 1. 2. 2. 2. Paramètres biochimiques

#### a) Pigments chlorophylliens

L'inoculation bactérienne améliorait les teneurs en pigments chlorophylliens, une augmentation significative a été constatée dans la chlorophylle a, la chlorophylle totale et les caroténoïdes (Fig. 24 A, C et D). Pa s'est avérée la plus performante. L'effet de la variété sur la chlorophylle n'est pas significatif.

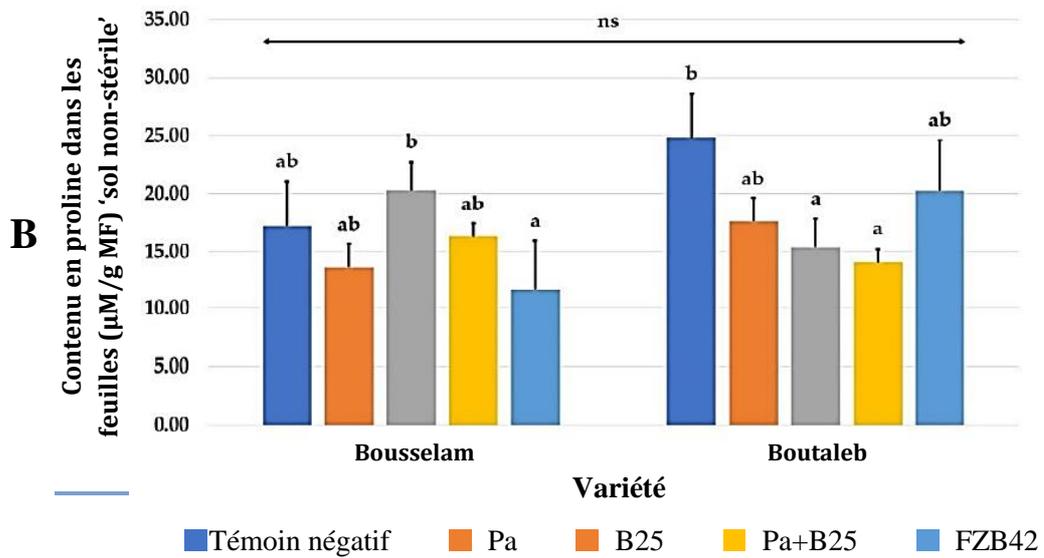
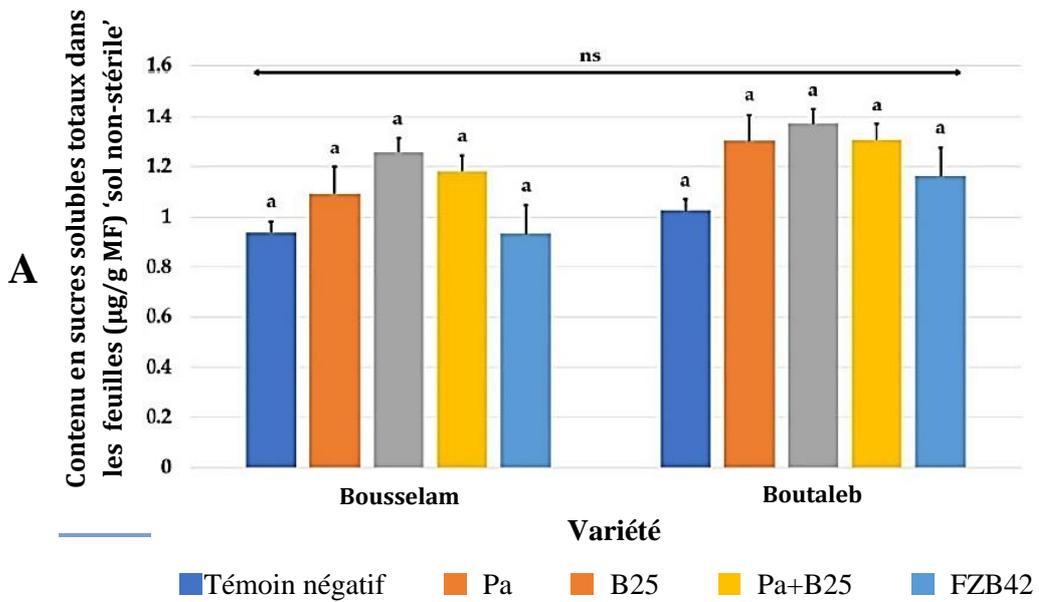


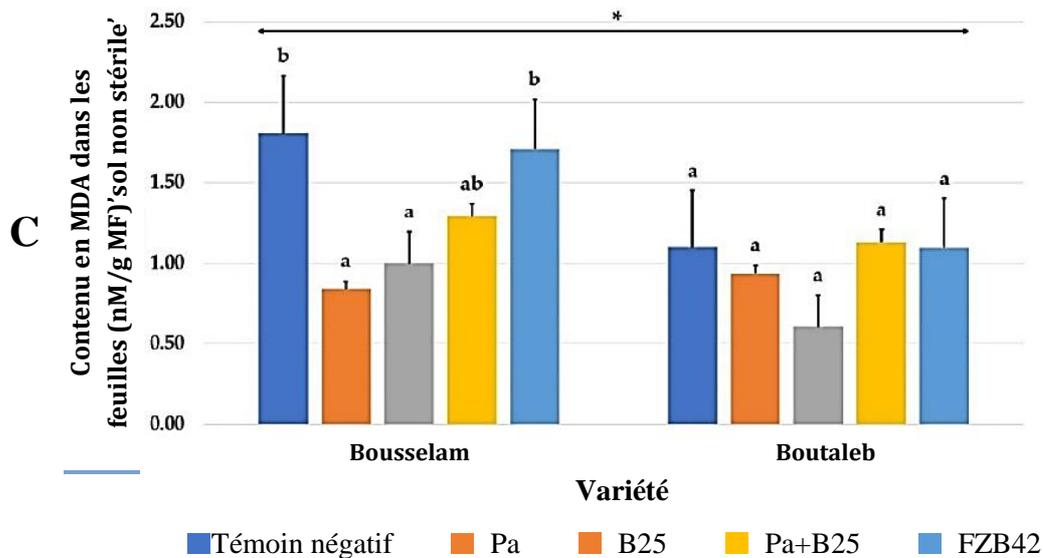


**Fig. 24.** Effet des souches bactériennes sur le contenu en pigments chlorophylliens des plantes cultivées dans le sol non stérile (A) chlorophylle a (µg/g MF), (B) chlorophylle b (µg/g MF), (C) chlorophylle a+b (µg/g MF), et (D) caroténoïdes (µg/g MF). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs en duplicata. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le test HSD de Tukey.

### b) Sucres totaux, proline et MDA

L'inoculation n'avait aucun effet significatif sur le contenu foliaire en sucres totaux chez les deux variétés de blé (Fig. 25 A). Concernant, les résultats de la teneur des feuilles en proline, ils ont été mitigés et variables selon la variété de blé étudiée, FZB42 était efficace sur Bousselam. Alors que chez Boutaleb, la diminution de la proline était observée chez les différents traitements d'inoculation (Fig. 25 B). La teneur en MDA sous l'effet du traitement a été variable, selon la variété utilisée, elle a été inchangée chez Boutaleb, mais, elle diminuait fortement sous Pa, B25 et la co-inoculation chez Bousselam (Fig. 25 C).



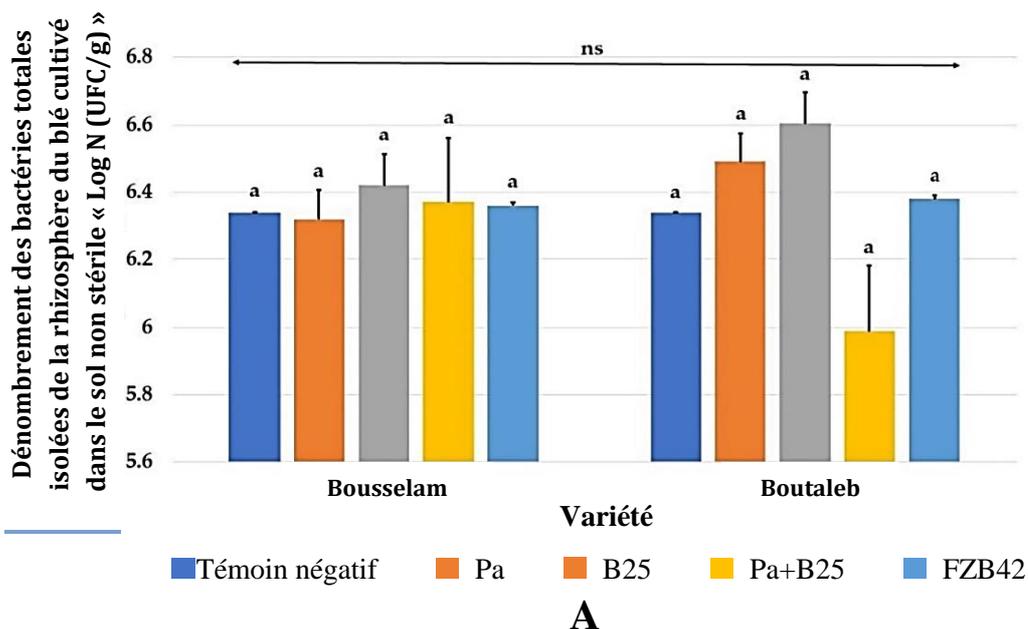


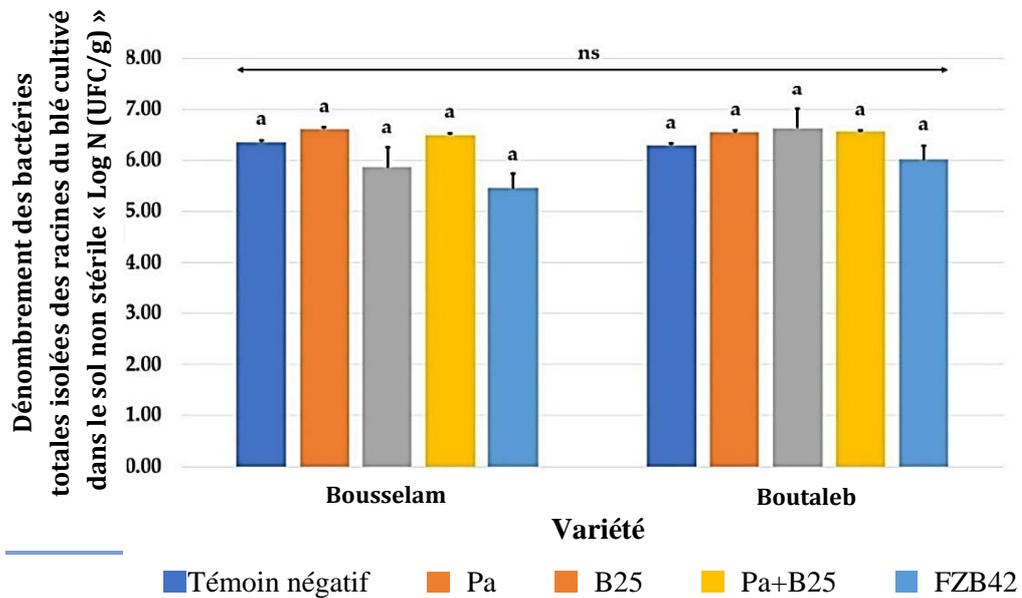
**Fig. 25.** Effet des souches bactériennes sur le contenu en : (A) sucres solubles totaux ( $\mu\text{g/g}$  MF), (B) proline ( $\mu\text{M/g}$  MF), et (C) MDA ( $\text{nM/g}$  MF) dans les feuilles de blé cultivé dans le sol non stérile. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs en duplicata. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le HSD de Tukey.

### 3. 1. 2. 2. 3. Effet de l'inoculation sur la communauté rhizobactérienne et endophyte

#### a) Communauté bactérienne cultivable totale

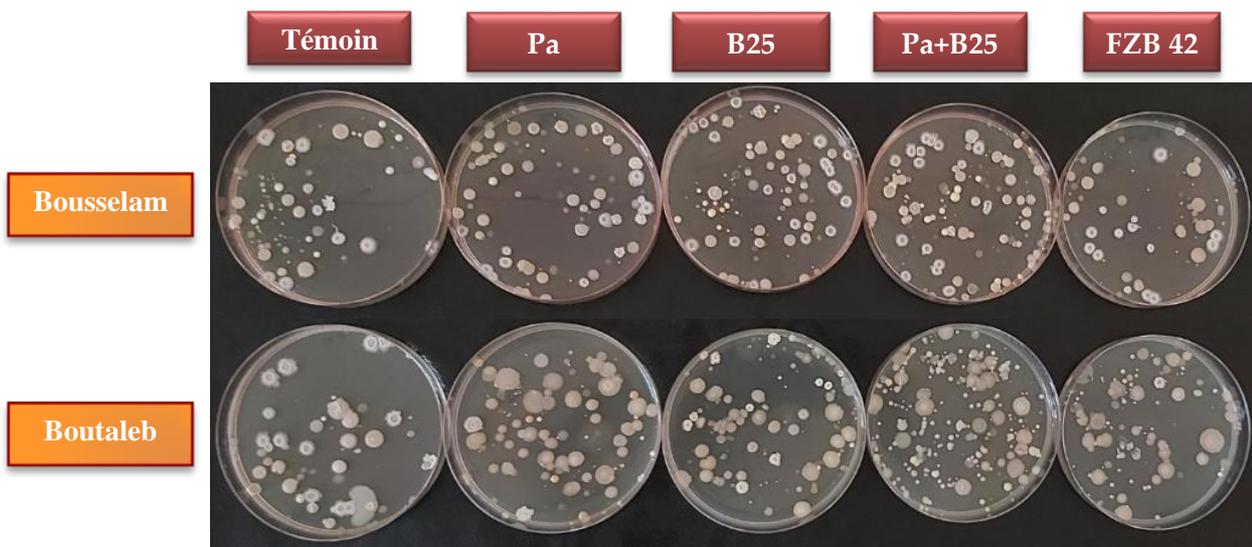
L'évaluation de la densité bactérienne de la flore totale isolée de la rhizosphère et des endophytes de blé sous l'effet de l'inoculation n'a révélé aucun changement chez les deux variétés (Fig. 26). Les dénombrements ont été de l'ordre de  $10^5$  à  $10^6$  UFC/g de sol ou de racines pour les bactéries rhizosphériques et les endophytes.



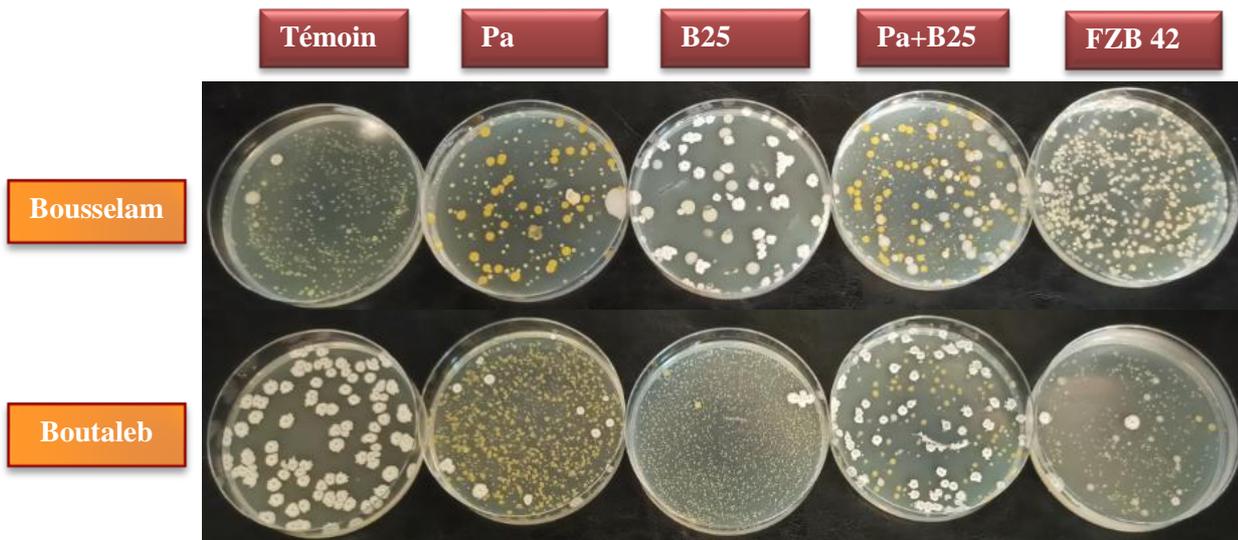


**B**

**Fig. 26.** Dénombrement des bactéries totales isolées de la rhizosphère et des racines du blé cultivé dans le sol non stérile « Log N (UFC/g) » (A) variété Bousselam, (B) variété Boutaleb. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs en duplicata. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le test HSD de Tukey.



**A**

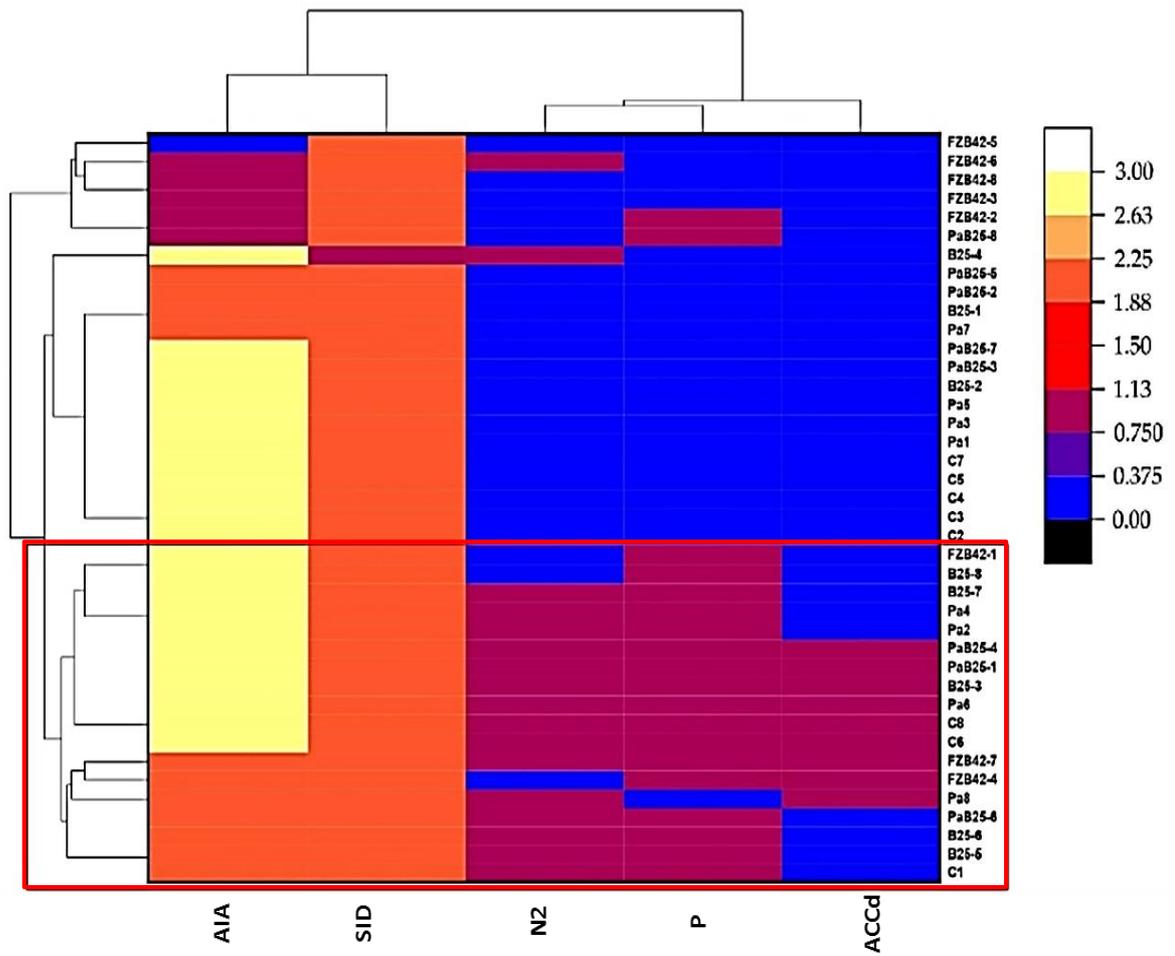


## B

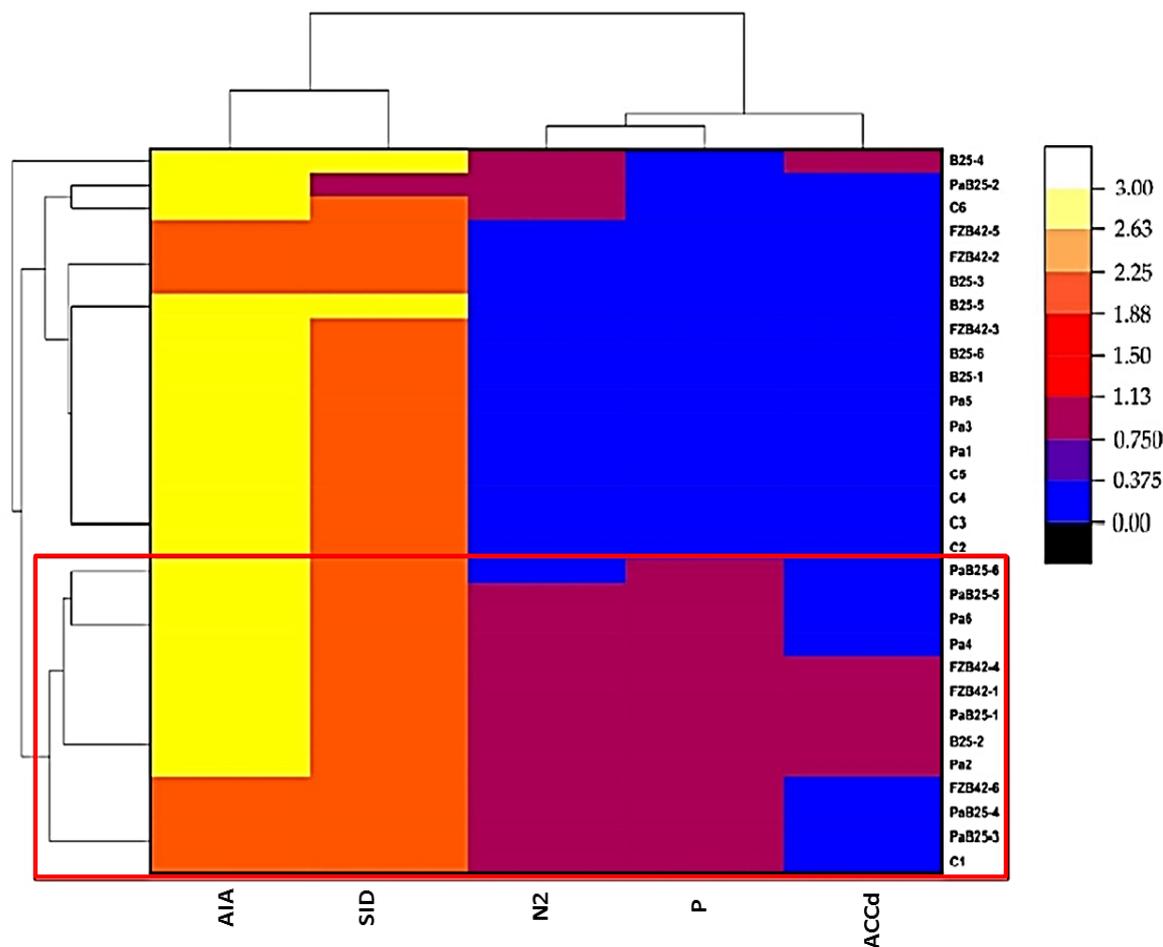
**Fig. 27.** Colonies bactériennes après étalement sur milieu TSA. A : colonies isolées de la rhizosphère non stérile, B : colonies isolées des racines de blé cultivé dans le sol non stérile

### b) Communauté PGPR cultivable

Un ensemble de 40 isolats endophytes des racines de Bousselam ont révélé que parmi eux, 15 possédant l'ensemble des activités PGP à savoir la fixation de  $N_2$ , la production d'AIA, de sidérophores et d'ACC désaminase sont ceux dont les plantes sont inoculées par des PGPR soit B25 (n=5), Pa (n=4), Pa+B25 (n=3), FZB42 (n= 3). Seules 3 isolats sont des endophytes des plantes non inoculées (Fig. 28 A). Alors que chez Boutaleb, un total de 30 isolats dont 6 isolats par traitement ont été évalués pour leurs activités PGP. 13 isolats avaient les capacités de fixation d'azote, de solubilisation, de production de sidérophores, de l'IAA et de l'ACC désaminase dont 5 souches isolées des racines inoculées par Pa+B25, 3 des racines inoculées par Pa et FZB, et une seule souche isolée à partir des racines inoculées par B25 et des racines non inoculées, (Fig. 28 B).



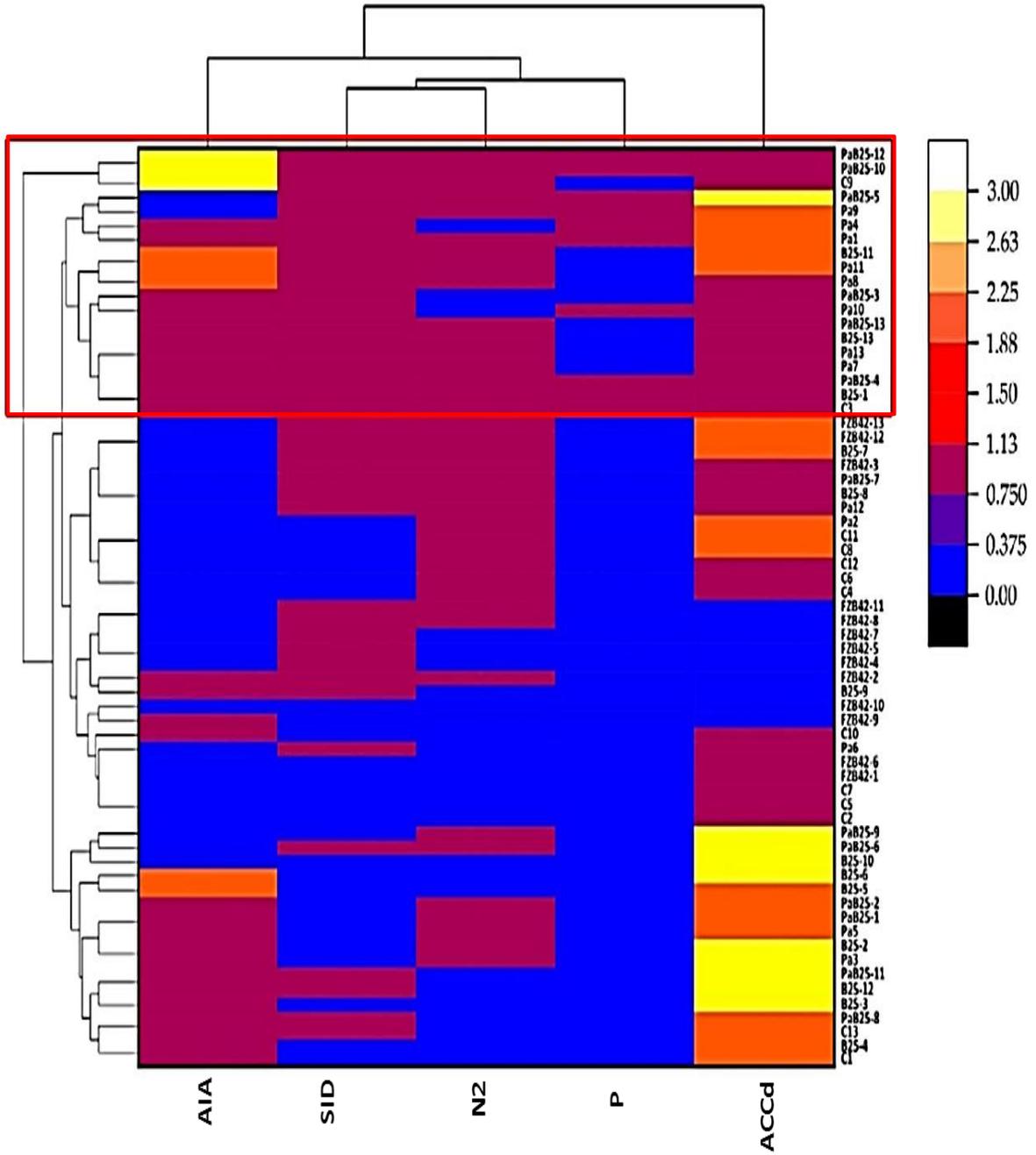
A



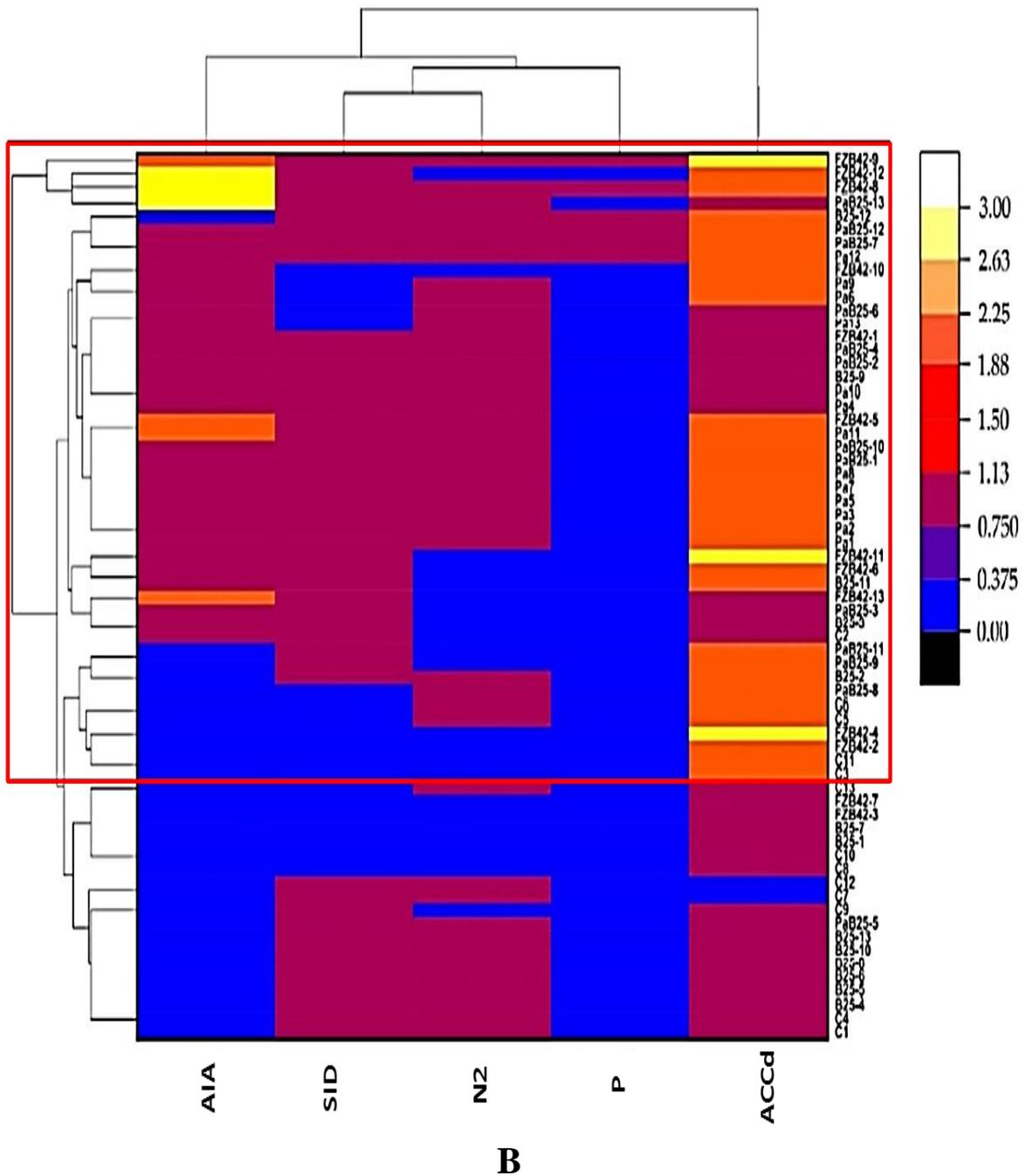
## B

**Fig. 28.** Analyse des Clusters et heatmap des bactéries endophytes des racines de blé dur non-inoculé (C), inoculé avec Pa (Pa), B25(B25), FZB42 (FZB42) et Pa + B25 (Pa + B25) et l'expression de leurs activités PGP (AIA : production d'acide indole acétique, SID : production de sidérophores, N<sub>2</sub> : fixation d'azote, P : solubilisation du phosphate et ACCd : production de l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique désaminase). (A) Variété Bousselam; (B) Variété Boutaleb.

Contrairement aux isolats endophytes des racines des deux variétés de blé, Bousselam et Boutaleb, le nombre d'isolats rhizosphériques était plus important (n = 13) pour chaque traitement. Les souches exprimant les meilleures activités PGP provenaient de plantes inoculées avec Pa, B25, et FZB42, ou co-inoculées avec Pa + B25, dont 17 souches de la variété Bousselam et 35 de la variété Boutaleb (Fig. 29A et B).



A



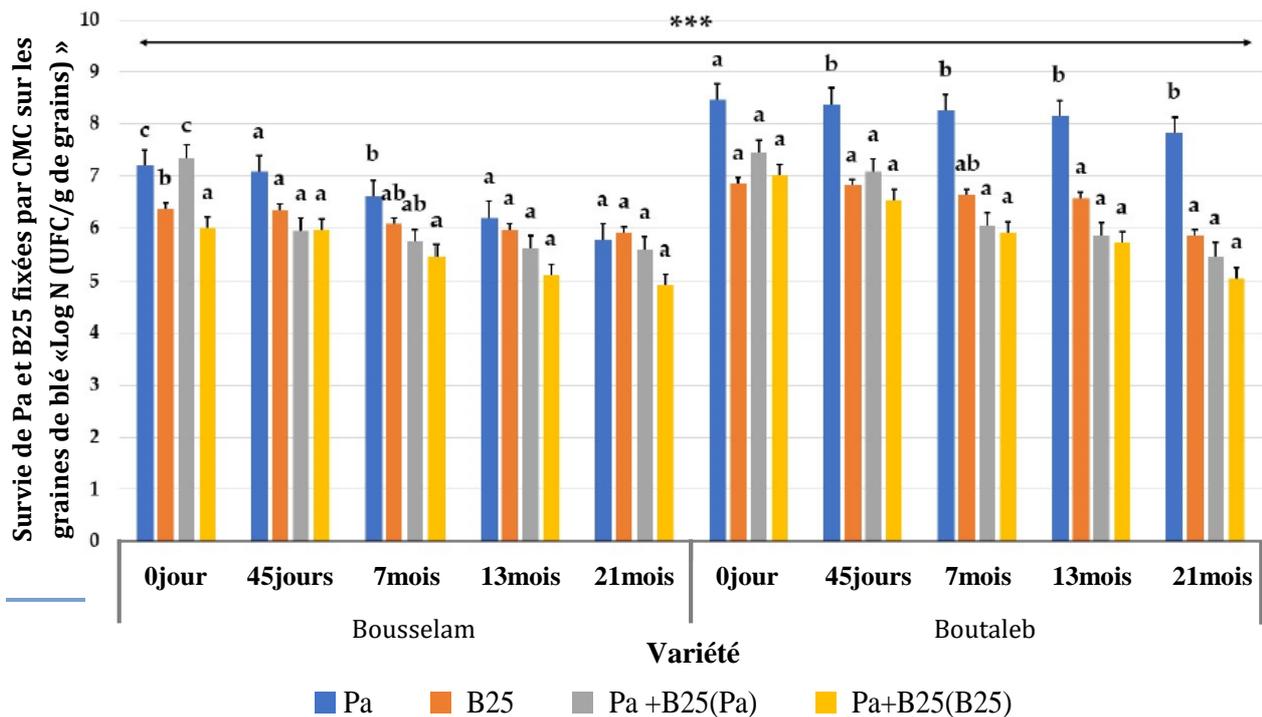
**Fig. 29.** Analyse des Clusters et heatmap des bactéries isolées de la rhizosphère du blé dur non-inoculé (C), inoculé avec Pa (Pa), B25(B25), FZB42 (FZB42) et Pa + B25 (Pa + B25) et l'expression de leurs activités PGP (AIA: production d'acide indole acétique, SID: production de sidérophores, N2: fixation d'azote, P: solubilisation du phosphate et ACCd: production de l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique désaminase). (A) Variété Bousselam; (B) Variété Boutaleb.

### 3. 1. 3. Effet du stockage sur la survie bactérienne des semences enrobées

Chez les graines des deux variétés de blé enrobées avec de la carboxyméthyl cellulose (CMC) et inoculées, le nombre initial de bactéries des deux souches, soit individuellement soit en consortium, était de l'ordre de  $10^6$  à  $10^8$  UFC/g de semences. La souche Pa semble

être la plus stable lors du stockage des graines à température ambiante dans les deux cas. En effet, chez la variété Bousselam, les dénombrements de la souche Pa à T = 0 (0 jours) étaient de  $1,56 \times 10^7$  UFC/g en mono-inoculation, et de  $2,24 \times 10^7$  UFC/g en co-inoculation. Après 21 mois, elles atteignaient respectivement  $6,05 \times 10^5$  et  $3,80 \times 10^5$  UFC/g (Fig. 30). Sur les semences de la variété Boutaleb, le nombre initial était de  $2,92 \times 10^8$  UFC/g en mono-inoculation, et de  $2,79 \times 10^7$  UFC/g en consortium. Après 21 mois, ce nombre a atteint  $6,70 \times 10^7$  et  $3 \times 10^5$  UFC/g, consécutivement (Fig. 30).

Concernant la souche B25, sa densité bactérienne sur graines de Bousselam, au départ, était d'environ  $2,3 \times 10^6$  UFC/g et  $7 \times 10^6$ . A 21 mois, les dénombrements de la souche B25 atteignaient  $7,95 \times 10^5$  et  $7 \times 10^5$  UFC/g dans les cas de deux variétés. Cependant, en consortium, la souche B25 avait une densité initiale de  $1,04 \times 10^6$  sur les semences de la variété Bousselam, et de  $9,90 \times 10^6$  UFC/g sur les semences de la variété Boutaleb. Après 21 mois, le nombre de cellules a diminué à  $8,55 \times 10^4$  et  $1,13 \times 10^5$  UFC/g pour les deux variétés, respectivement (Fig. 30).



**Fig. 30.** Survie de Pa et B25 fixées par CMC sur les graines de blé « Log N (UFC/g de grains) » à gauche : variété Bousselam, à droite : variété Boutaleb. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne d'erreur standard des valeurs en duplicata. Les barres étiquetées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre les traitements en utilisant le test HSD de Tukey. Dans chaque groupe de barres, les barres étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes les unes des autres selon le HSD de Tukey.

### 3. 2. Discussion

Dans cette étude, l'effet de l'inoculation par des PGPR sur l'amélioration de la croissance végétale du blé dur a été déterminé à différents stades de croissance. Les inoculants bactériens peuvent être très prometteurs par l'augmentation de traits bénéfiques induisant des dynamiques dans la communauté microbienne du sol pour le bon fonctionnement des écosystèmes végétaux.

L'analyse de la germination de deux variétés de blé dur Bousselam et Boutaleb a été suivie après traitement des graines par l'enrobage au CMC avec les bactéries Pa, B25 et leur combinaison (Pa+B25). L'effet de l'inoculation n'a révélé aucun impact significatif sur les paramètres de germination, à l'exception des index de vigueur de la longueur et du poids sec des racines et des feuilles de la variété Boutaleb, qui ont été stimulés significativement suite à l'inoculation et à la co-inoculation par rapport au témoin non inoculé. Des résultats similaires ont montré que le pourcentage de germination n'a pas été influencé mais d'autres paramètres ont été affectés suite à l'inoculation par des souches de *Bacillus sphaericus* et de *Rhizobium* (Mia *et al.*, 2012). Le pourcentage de germination n'a pas été influencé par l'apport des PGPR cela est dû au fait que les graines peuvent germer sans aucun problème étant donné qu'elles ne sont soumises à aucun stress. Le bioamorçage des semences avant la phase de germination est une méthode utilisée pour améliorer la germination des graines dans des conditions optimales ou de stress stressantes (Jisha *et al.*, 2013), l'impact positif de l'amorçage s'est avéré plus prononcé sous stress que les échantillons témoins (Ashraf et Foolad, 2005). Ainsi d'autres études sur le traitement des semences de blé dur avec des souches bactériennes de *Bacillus atropheus* et leurs combinaisons ont révélé une amélioration notable des paramètres de germination sous stress salin (Kerbab *et al.*, 2021). De plus, selon Shweta *et al.* (2008), des souches de *Pseudomonas fluorescens* utilisées comme inoculants de l'arachide, ont amélioré la germination jusqu'à 15 % et 30 % sous stress biotique. L'amélioration de l'émergence et la vigueur des semis grâce à l'inoculation de PGPR sont une condition préalable pour un meilleur établissement des semis. La vigueur et la viabilité des graines sont des éléments importants qui influent sur l'établissement des semis, la croissance et la productivité des cultures (McDonald et Copeland, 1997). L'indice de vigueur détermine l'état de santé du semis et par la suite la productivité de la plante. Plus l'indice de vigueur est élevé, meilleur sera le rendement de la plante.

Dans un autre aspect de l'étude et afin de tester l'effet direct des souches bactériennes sur la croissance végétale du blé dur, les graines enrobées ont été semées dans le compost stérile, et en conditions d'asepsie. L'inoculation a eu une influence significative sur la croissance et le développement des plants contrairement à la germination. En effet, les paramètres de croissance (longueur racinaire et foliaire, poids frais foliaire et racinaire et poids sec foliaire) de la variété Boutaleb inoculé avec Pa et B25 en mono et en co-culture sont améliorés. Au contraire, chez la variété Bousselam l'inoculation par la souche Pa seul ou en consortium a eu un effet positif significatif sur l'ensemble des paramètres morphologiques, à l'exception du poids frais racinaire. La réponse immédiate à l'inoculation du sol avec des PGPR varie considérablement selon la bactérie (agent PGP), l'espèce végétale, le type de sol, la densité de l'inoculum et les conditions environnementales (Arora *et al.*, 2010). Les PGPR doivent posséder des caractéristiques spécifiques pour leur utilisation comme un bioinoculant efficace. Ils devraient pouvoir survivre dans le sol, compatible avec la culture sur laquelle ils sont inoculés, et interagir avec la microflore indigène du sol et les facteurs abiotiques (Basu *et al.*, 2021).

L'augmentation de la croissance végétale en conditions stériles est due aux activités PGP des deux souches Pa et B25. L'utilisation de souches avec de multiples traits PGP devrait aider à augmenter la productivité des cultures sur une base durable (Bal *et al.*, 2013). Basé sur leur activité métabolique et leur diversité fonctionnelle, les PGPR ont un effet bénéfique sur la croissance de la plante. Ils aident à la promotion de la croissance des plantes par la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate et la production de phytohormones essentielles telles que l'acide indole acétique (IAA), l'acide abscisique, la cytokinine, etc. (Vandana *et al.*, 2021). La souche Pa de *P. agglomerans* produit à la fois les sidérophores et l'AIA et s'est avérée efficace dans la solubilisation du phosphate, la fixation de l'azote et dans la production de l'ACC désaminase, le  $\text{NH}_3$  et l'acide cyanhydrique. La souche B25 de *Bacillus thuringiensis* est, aussi, capable de fixer l'azote et de produire le  $\text{NH}_3$ , l'ACC désaminase, les sidérophores, et une faible quantité d'AIA en plus de l'activité antifongique contre plusieurs champignons phytopathogènes. La production d'AIA a un effet en cascade sur le développement de la plante en raison de sa capacité à influencer la croissance des racines, qui, à son tour, affecte l'absorption des nutriments et finalement la productivité de la plante (Anwar *et al.*, 2018). Cette phytohormone est impliquée dans l'élargissement, la division, la différenciation des tissus et les réponses à la lumière et à la gravité des cellules végétales (Cherif-Silini *et al.*, 2021).

Cependant la réponse des génotypes à l'inoculation est un autre paramètre à considérer. La capacité de production intrinsèque de la souche est sous l'influence des facteurs environnementaux (Valdebenito *et al.*, 2006). Une amélioration significative de la croissance des semis par l'inoculation des graines par Pa a attribué cet effet à la production de phytohormones bactériennes. L'inoculation augmente le poids frais et sec des pousses de plus de 30% et 60% respectivement après enrobage des graines de Bousselam et de Boutaleb avec cette souche semée dans du compost stérile. Dans une étude similaire, les graines de blé dur de la variété Waha traitées avec Pa directement sans substrat d'enrobage cultivées dans des pots de sable ont augmenté les mêmes paramètres de 6,66 % et 23,25 % respectivement (Cherif-Silini *et al.*, 2019). Cette différence de croissance serait probablement due à la richesse du substrat mais également à l'impact positif de l'amorçage. Les paramètres biochimiques tels que la chlorophylle et les sucres totaux sont, aussi, améliorés. L'inoculation par des PGPR améliore la teneur en chlorophylle chez le riz (Bal *et al.*, 2013) et le blé (Laid *et al.*, 2016). Alors que les facteurs de stress proline et MDA sont réduits. L'inoculation du tournesol (*Helianthus annuus*) par des PGPR a montré des effets inhibiteurs sur la proline (62 %), la peroxydation lipidique (64 %) et sur l'activité des enzymes antioxydantes (67 %) (Khan *et al.*, 2018). De plus, des semis de blé (*Triticum aestivum* L.) inoculés avec *Bacillus subtilis* 10-4 ont été caractérisés par une diminution du niveau d'accumulation de proline et de MDA induites par le stress (Lastochkina *et al.*, 2017). De même, *Pseudomonas putida* MTCC5279 a amélioré le stress hydrique des plantes de pois chiche (*Cicer arietinum*) en modulant l'intégrité de la membrane, l'accumulation d'osmolytes (proline, glycine bêtaïne) et la capacité de piégeage des ROS (Backer *et al.*, 2018). Alors que l'effet de *Pantoea alhagi* LTYR-11ZT a entraîné une accumulation accrue de sucres solubles, une diminution de l'accumulation de proline et de malondialdéhyde (MDA) et une diminution de la dégradation de la chlorophylle dans les feuilles de blé sous stress hydrique (Chen *et al.*, 2017).

Les résultats de dénombrement des souches Pa et B25 présentent dans la rhizosphère du compost stérile après 75 jours de culture de la plante, ont montré une survie de plus de  $10^5$  UFC/g des deux bactéries soit en mono ou en co-culture chez les deux variétés de blé. Ce qui démontre l'accompagnement bactérien de la plante durant toute la période de la croissance végétale. Il est évident que les souches Pa et B25 sont capables de survivre dans un sol stérilisé et de concurrencer d'autres microorganismes dans la rhizosphère racinaire non stérile. La survie des souches dans la rhizosphère jusqu'à 75 jours représente un

avantage supplémentaire, qui permet aux plantes de profiter au maximum de la relation symbiotique avec l'hôte et à long terme. L'échec des PGPR dans le sol est un problème majeur en raison de leur non-survie et de leurs effets insuffisants sur les plantes cultivées (Baliyan *et al.*, 2018). La réponse des cultures aux biofertilisants appliqués peut être très lente et parfois vaine car l'inoculum mettra du temps à se concentrer et à coloniser les racines (Basu *et al.*, 2021). En effet, le maintien d'une activité suffisante d'une population d'inoculants sur une période prolongée après la libération représente souvent le principal obstacle à l'utilisation réussie des microorganismes comme agents PGP Arora *et al.*, 2010). Un bioinoculant n'est absolument pas efficace s'il atteint un seuil minimal (Sahu et Brahmprakash, 2016). Il est concevable que le processus de colonisation soit orchestré par le quorum sensing (QS) bactérien (Soluch *et al.*, 2021). Une fois qu'une souche microbienne bénéfique a été en mesure de coloniser une plante hôte, elle pourrait être en mesure d'afficher un large éventail d'activités contribuant à l'aptitude de la plante (Arora *et al.*, 2010). *Pantoea agglomerans* Pa est présente à l'intérieur des racines des deux variétés de blé, et possède la capacité de coloniser les racines et d'être endophyte. L'omniprésence de *P. agglomerans* en tant que bactérie colonisatrice de la plante suggère qu'une association à long terme de *P. agglomerans* avec des plantes hôtes est bien établie (Soluch *et al.*, 2021). Quecine *et al.*, 2012 a démontré que *P. agglomerans* 33.1, qui était auparavant isolé à partir de plants d'eucalyptus, était capable de se développer dans les semis de canne à sucre après une colonisation systémique. L'analyse de la microflore racinaire du soja et du blé a montré la dominance de *Pantoea* spp., *Paraburkholderia* spp. et *Pseudomonas* spp. (Yadav *et al.*, 2020). Les souches de *Pantoea agglomerans*, isolées en tant que diazotrophes endophytes dominants à partir des graines du riz d'eau profonde, ont déjà été signalées comme des bactéries anaérobies fixatrices d'azote. L'analyse histochimique de la plantule cultivée en culture hydroponique a montré que *Pantoea agglomerans* colonisait la surface racinaire, les poils absorbants, la coiffe racinaire, les points d'émergence latérale des racines, le cortex racinaire et la région stélaire (Verma *et al.*, 2001). Plusieurs autres travaux ont confirmé que le genre *Pantoea* était représenté parmi les endophytes des plantes, comme le blé (Amellal *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2017), le riz (Feng *et al.*, 2003), la canne à sucre (Loiret *et al.*, 2004), la patate douce (Asis et Adachi, 2003).

*Bacillus* spp. sont parmi les genres ayant le plus grand potentiel de survie en raison de leur capacité de formation de spores, augmentant ainsi l'adaptation des souches à la formulation

commerciale et à l'application sur le terrain. Les *Bacillus* sont préférés comme PGPR disponibles dans le commerce en raison de la stabilité de l'inoculant et de la facilité de stockage du produit inoculant (Yadav *et al.*, 2020). Ils sont utilisés comme biofertilisants pour augmenter la productivité et la durabilité des cultures économiques (Modi et Jha, 2022). Ils protègent la plante de plusieurs conditions de stress par l'ISR, la formation de biofilm, la sécrétion de lipopeptides, de sidérophores et d'exopolysaccharides. Ils agissent, aussi, comme un agent dénitrifiant efficace dans l'agroécosystème et maintiennent la santé du sol grâce à des technologies d'assainissement respectueuses de l'environnement (Mahapatra *et al.*, 2022).

Enfin dans un dernier aspect, l'étude est menée sur la croissance végétale du blé dur dans un sol non stérile, en utilisant les mêmes traitements bactériens (Pa, B25 et Pa+B25) mais en testant en plus la souche *B. velezensis* FZB42 (Fan *et al.*, 2018) comme témoin positif. Tous les traitements bactériens augmentent significativement les paramètres morphologiques et biochimiques de deux variétés en comparaison du témoin non inoculé. La longueur foliaire et racinaire, le poids frais et le poids sec, ainsi le contenu en chlorophylle sont améliorés par l'inoculation. La combinaison Pa+B25 représente le meilleur traitement chez les deux génotypes de blé, suivi par l'inoculation avec Pa, puis B25 chez Bousselam. Au contraire, Boutaleb répond mieux à l'inoculation avec B25 par rapport Pa. Il été remarqué que Pa et B25 et plus particulièrement le consortium Pa+B25 sont des bio-inoculants plus efficaces dans l'amélioration des paramètres morphologiques de la croissance végétale du blé que la souche FZB42. L'application de consortium de PGPR pour la bactérisation des semences a montré une meilleure amélioration de la croissance du plant de blé que l'inoculation d'une seule souche de PGPR (Kumar *et al.*, 2018). Le traitement avec un mélange de souches de PGPR (*Pseudomonas fluorescens*) a favorisé la croissance des plantes en termes d'augmentation de la hauteur des plantes et du nombre de talles, et finalement du rendement en grains. Les augmentations moyennes de rendement pour les souches séparés étaient de 17,7 % et de 25,9 % en cas de mélange (Nandakumar *et al.*, 2001). Les effets synergiques de l'inoculation de PGPR entraînent une augmentation de la teneur en micronutriments des plants de blé, ce qui pourrait être dû à un effet positif améliorant la translocation des micronutriments des sols aux plantes (Ashok Kumar *et al.*, 2017).

La réponse de blé à l'inoculation par Pa et B25 était variable selon les variétés, la différence de la réponse peut être une conséquence de la spécificité de la plante hôte. Les

interactions des plantes avec les PGPR dépendent fortement du génotype de la plante (Valente *et al.*, 2019). Le riz réagit à des bactéries écologiquement distinctes en modifiant sa teneur en flavonoïdes et en dérivés d'acide hydroxycinnamique (Chamam *et al.*, 2015). D'autres études révèlent la variation de la structure de la communauté microbienne principalement basée sur la nature génotypique de l'espèce végétale et également sur sa situation géographique (Yadav *et al.*, 2020). Il est maintenant certain que le génotype végétal joue un rôle crucial dans l'assemblage et la fonction des microbiomes rhizosphériques et dans la sélection des bactéries ayant un potentiel PGP (Arif *et al.*, 2020).

L'amélioration de la croissance végétale chez les plantes inoculées peut être un résultat des activités PGP directes des souches utilisées. Comme elle peut résulter de la stimulation de la communauté bactérienne bénéfique de la rhizosphère par les souches PGPR inoculés (Roesti *et al.*, 2006).

La différence de la densité des bactéries cultivables dans les sols inoculés et non inoculés n'est pas significative. La densité de la communauté microbienne reflète une plus grande stabilité écologique de la rhizosphère (Thébault et Fontaine, 2010). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Chaudhary *et al.* (2019), qui ont constaté que la densité de la communauté microbienne du sol n'a pas été significativement affectée par l'inoculation bactérienne. Cela est dû à la structure de la communauté rhizobactérienne qui est fortement influencée par l'âge de la plante. L'inoculum des souches PGPR présent sur les graines peut modifier l'équilibre de la communauté bactérienne aux premiers stades de la croissance de la plante (Roesti *et al.*, 2006). La population bactérienne totale était élevée à 30 jours après la plantation et diminuait avec l'âge de la plante (Farzana *et al.*, 2020).

Une corrélation positive entre les profils de la communauté bactérienne et les données sur les plantes pourrait signifier qu'une augmentation du rendement des plantes après l'inoculation pourrait affecter la structure de la communauté bactérienne, par une augmentation du taux d'exsudation à des rendements plus élevés. Dans cette étude, l'inoculation augmente le nombre de souches endophytes et rhizosphériques cultivables ayant des activités PGP (population PGP) par rapport au témoin, chez les deux variétés de blé. Le nombre maximum de souches ayant une meilleure activité PGP sont isolées de la rhizosphère inoculée par Pa, suivi par la rhizosphère inoculée avec le consortium Pa+B25, chez les deux variétés de blé, puis celle inoculée par B25 et FZB42. De même chez les

endophytes, les racines des plantes inoculées hébergent un nombre de souches possédant des activités PGP supérieures à celle du témoin.

Nos bio-inoculants peuvent donc avoir modifié l'équilibre de la communauté bactérienne vers la sélection de populations bénéfiques (Roesti *et al.*, 2006). Les rhizobactéries inoculées ont probablement induit les hormones de croissance et d'autres métabolites qui ont encouragé la prolifération d'autres bactéries indigènes. L'inoculation de *Klebsiella* peut probablement améliorer la croissance des racines et augmenter la sécrétion d'exsudats racinaires (Farzana *et al.*, 2020). L'inoculation avec *Azospirillum lipoferum* CRT1 a affecté la taille et la composition taxonomique des communautés fonctionnelles impliquées dans la fixation de l'azote (*nifH*) ou la désamination de l'ACC (*acdS*) (Renoud *et al.*, 2022). La structure de la communauté bactérienne du sol due à l'application du *Bacillus thuringiensis* KNU-07 a été considérablement modifiée après six semaines après l'inoculation et a augmenté la croissance des plants de poivron (Jo *et al.*, 2020).

Ainsi, différentes espèces végétales ou génotypes peuvent recruter un microbiote spécifique grâce à des différences dans la morphologie des racines et les modèles d'exsudation des racines (Philippot *et al.*, 2013). De plus, la composition des exsudats racinaires et la structure de la communauté microbienne associée aux racines sont fortement affectées par le stade de croissance de la plante. La colonisation précoce de la rhizosphère pourrait induire de grandes différences dans la structure de la communauté de la rhizosphère, et donc affecter la croissance des plantes (Werner et Kiers, 2015). Ce processus appelé effet prioritaire (Fukami, 2015) est dû aux avantages que les premiers colonisateurs peuvent utiliser l'espace et les ressources plus tôt que d'autres micro-organismes et/ou produire des barrières physiques et/ou des antibiotiques qui ralentissent la colonisation de la plante par des micro-organismes ultérieurs (Wei *et al.*, 2015). Le microbiote fonctionnel peut être hérité verticalement à travers les graines (Lemanceau *et al.*, 2017), ou horizontalement via l'environnement. La diversification bactérienne résulte de leur capacité à effectuer un transfert latéral de gènes entre des groupes phylogénétiques disparates (McDonald et Currie, 2017). Le nombre croissant de bibliothèques de cultures microbiennes peuvent proliférer rapidement et avoir des taux de mutation élevés (Denamur et Matic, 2006; Mahapatra *et al.*, 2020). Des microorganismes individuels de la même espèce pourraient potentiellement porter des dotations génétiques et donc des caractéristiques fonctionnelles différentes (Sergaki *et al.*, 2018).

Explorer des formulations qui fournissent une densité cellulaire élevée d'inoculants microbiens et des taux de survie pendant le stockage est donc une étape cruciale vers la production d'inoculants réussis (Gautam, 2021). La viabilité de Pa et de B25 enrobés de CMC sur des semences de blé a été testée pour une durée de conservation de 21 mois, à température ambiante. La charge bactérienne initiale de Pa et de B25 était plus de  $10^7$  et  $10^6$ , respectivement. Après 45 jours, la biomasse bactérienne reste quasiment la même, surtout en mono-culture. Une légère diminution à  $10^6$  de la mono culture, et  $10^5$  de la co-culture a été observée après 7 et 13 mois de conservation. Le nombre de cellules viables dans les formulations était compris entre  $8,55 \times 10^4$  et  $6,70 \times 10^7$  UFC/g de graines pendant 21 mois, avec une baisse de 1 à 2 log<sub>10</sub>.

Des résultats similaires ont été observés durant la conservation de la co-culture *Pantoea ananatis* et *Pseudomonas fluorescens* et ont montré une viabilité soutenue et les dénombrements ont diminué légèrement mais restent de l'ordre de  $10^6$  après 55 et 70 jours de stockage (Anwar *et al.*, 2018). Les bactéries ont montré une bonne capacité de survie durant le stockage. *Bacillus amyloliquefaciens*, et *Bacillus pumilus* pouvaient survivre également dans les bioformulations de sciure de bois, de balle de riz, et de poudre de talc à une densité de  $7,0 \times \log_{10}$  UFC/ml jusqu'à 9 mois (Chakraborty *et al.*, 2013).

Les souches bactériennes enrobées individuellement étaient plus stables et survivent mieux en comparaison avec la co- culture. Ces résultats sont opposés avec ceux de Anwar *et al.*, (2018) qui montrent que la bioformulation de la co-culture CPP-2 (*Pantoea ananatis*+*Pseudomonas fluorescens*) s'est avérée légèrement plus stable et viable par rapport aux souches bactériennes individuelles. Ces résultats documentent sans ambiguïté que les souches Pa et B25 peuvent être efficacement enrobées sur les graines à l'aide de CMC et peuvent survivre sur les graines plus d'un an à température ambiante.

## 4. Conclusion

Cette étude a clairement montré que l'inoculation par enrobage des graines de blé dur avec les souches bactériennes Pa et B25, seules ou en combinaison, et le CMC comme support adhésif, avait des effets positifs significatifs sur les paramètres de croissance des plantes. Ces bio-inoculants ont considérablement amélioré la vigueur des graines, la biomasse et l'allongement des feuilles et des racines des deux variétés de blé.

De plus, la bio-formulation avec le CMC a conféré la capacité de survie exceptionnelle de ces bactéries sur les graines et dans la rhizosphère du compost stérile. D'autre part, dans le sol, ces PGPR ont affecté le microbiome en favorisant la communauté bactérienne bénéfique rhizosphérique et endophyte du blé. Ceci suggère la nécessité de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de promotion de la croissance des plantes induits par ces PGPR dans la rhizosphère. Ainsi, les interactions à trois voies entre les inoculums de PGPR, le microbiome natif de la rhizosphère et les racines des plantes doivent être étudiées de manière intégrative pour comprendre le processus favorisant la croissance des plantes et faciliter l'application de ces PGPR en tant que composant fiable pour la gestion d'une agriculture durable.

Les résultats obtenus en laboratoire sur le compost stérile ou dans le sol non stérile méritent donc des expérimentations plus vastes en plein champs et dans les conditions naturelles.

Des recherches supplémentaires sont, aussi, nécessaires pour étudier l'influence de ces souches sur la communauté viable non cultivable en utilisant la métagénomique, et mettre en évidence le mécanisme et les molécules intervenant dans la stimulation de la communauté bactérienne.

En espérant l'amélioration de la technologie dans le développement d'une recherche et d'un développement réussis, l'utilisation des PGPR deviendra sûrement une réalité et jouera un rôle déterminant dans les processus cruciaux qui assurent la stabilité et la productivité des agro-écosystèmes, nous conduisant ainsi vers un système agricole idéal.

## Références bibliographiques

- Aamir, M., Rai, K. K., Zehra, A., Dubey, M. K., Kumar, S., Shukla, V. et Upadhyay, R. S. (2020). Microbial bioformulation-based plant biostimulants: a plausible approach toward next generation of sustainable agriculture. Dans Kumar, A. et Radhakrishnan, E. K. (dir.), *Microbial Endophytes* (p. 195-225). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819654-0.00008-9>
- Abdalla, A. K., Ayyash, M. M., Olaimat, A. N., Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Shah, N. P. et Holley, R. (2021). Exopolysaccharides as antimicrobial agents: mechanism and spectrum of activity. *Frontiers in Microbiology*, **12**, 664395. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.664395>
- Agarwal, P. K., Agarwal, P., Reddy, M. K. et Sopory, S. K. (2006). Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Reports*, **25**(12), 1263-1274. <https://doi.org/10.1007/s00299-006-0204-8>
- Aghbashlo, M., Hosseinzadeh-Bandbafha, H., Shahbeik, H. et Tabatabaei, M. (2022). The role of sustainability assessment tools in realizing bioenergy and bioproduct systems. *Biofuel Research Journal*, **9**(3), 1697-1706. <https://doi.org/10.18331/BRJ2022.9.3.5>
- Agnolucci, M., Palla, M., Cristani, C., Cavallo, N., Giovannetti, M., De Angelis, M., Gobetti, M. et Minervini, F. (2019). Beneficial plant microorganisms affect the endophytic bacterial communities of durum wheat roots as detected by different molecular approaches. *Frontiers in Microbiology*, **10**, 2500. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02500>
- Agoussar, A. et Yergeau, E. (2021). Engineering the plant microbiota in the context of the theory of ecological communities. *Current Opinion in Biotechnology*, **70**, 220-225. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.06.009>
- Agrawal, R., Verma, A. et Satlewal, A. (2018). Bioprospecting PGPR microflora by novel immunobased techniques. Dans Prasad, R., Tuteja, N. et Gill, S. S. (dir.), *Crop Improvement Through Microbial Biotechnology* (p. 465-478). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63987-5.00024-4>
- Akhtar, N., Arshad, I., Shakir, M. A., Qureshi, M. A., Sehrish, J. et Ali, L. (2013). Co-inoculation with *Rhizobium* and *Bacillus* sp. to improve the phosphorus availability and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences*, **23**(1), 190-197.
- Alawiye, T. T. et Babalola, O. O. (2019). Bacterial diversity and community structure in typical plant rhizosphere. *Diversity*, **11**(10), 179. <https://doi.org/10.3390/d11100179>
- Ali, M. A., Naveed, M., Mustafa, A. et Abbas, A. (2017). The good, the bad, and the ugly of rhizosphere microbiome. Dans Kumar, V., Kumar, M., Sharma, S. et Prasad, R. (dir.), *Probiotics and Plant Health* (p. 253-290). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-3473-2\\_11](https://doi.org/10.1007/978-981-10-3473-2_11)
- Ali, S. Z., Sandhya, V., Grover, M., Linga, V. R. et Bandi, V. (2011). Effect of inoculation with a thermotolerant plant growth promoting *Pseudomonas putida* strain AKMP7 on growth of wheat (*Triticum* spp.) under heat stress. *Journal of Plant Interactions*, **6**(4), 239-246. <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.545147>
- Ambrosini, A., de Souza, R. et Passaglia, L. M. P. (2016). Ecological role of bacterial inoculants and their potential impact on soil microbial diversity. *Plant and Soil*, **400**(1-2), 193-207. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2727-7>
- Amellal, N., Burtin, G., Bartoli, F. et Heulin, T. (1998). Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea agglomerans* strain and its effect on rhizosphere soil aggregation. *Applied and Environmental Microbiology*, **64**(10), 3740-3747.
- Anwar, M. S., Paliwal, A., Firdous, N., Verma, A., Kumar, A. et Pande, V. (2018). Co-culture development and bioformulation efficacy of psychrotrophic PGPRs to promote growth and development of Pea (*Pisum sativum*) plant. *The Journal of General and Applied Microbiology*, **65**(2), 88-95. <https://doi.org/10.2323/jgam.2018.05.007>
- Arashida, H., Kugenuma, T., Watanabe, M. et Maeda, I. (2019). Nitrogen fixation in *Rhodospseudomonas palustris* co-cultured with *Bacillus subtilis* in the presence of air. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **127**(5), 589-593. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.10.010>

- Arif, I., Batool, M. et Schenk, P. M. (2020).** Plant microbiome engineering: expected benefits for improved crop growth and resilience. *Trends in Biotechnology*, **38**(12), 1385-1396. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.04.015>
- Arora, N. K., Khare, E. et Maheshwari, D. K. (2010).** Plant growth promoting rhizobacteria: constraints in bioformulation, commercialization, and future strategies. Dans Maheshwari, D. K. (dir.), *Plant Growth and Health Promoting Bacteria* (vol. 18, p. 97-116). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_5)
- Ashraf, M. et Foolad, M. R. (2005).** Pre-sowing seed treatment—a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. Dans Sparks, D. (dir.), *Advances in Agronomy* (vol. 88, p. 223-271). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)88006-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)88006-X)
- Asis, C. A. et Adachi, K. (2003).** Isolation of endophytic diazotroph *Pantoea agglomerans* and nondiazotroph *Enterobacter asburiae* from sweetpotato stem in Japan. *Letters in Applied Microbiology*, **38**(1), 19-23. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01434.x>
- Babalola, O. O. (2010).** Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology Letters*, **32**(11), 1559-1570. <https://doi.org/10.1007/s10529-010-0347-0>
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S. et 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*, **9**, 17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Baetz, U. et Martinoia, E. (2014).** Root exudates: the hidden part of plant defense. *Trends in plant science*, **19**(2), 90-98.
- Bal, H. B., Nayak, L., Das, S. et Adhya, T. K. (2013).** Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. *Plant and Soil*, **366**(1-2), 93-105. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1402-5>
- Baliyan, N., Dheeman, S., Maheshwari, D. K., Dubey, R. C. et Vishnoi, V. K. (2018).** Rhizobacteria isolated under field first strategy improved chickpea growth and productivity. *Environmental Sustainability*, **1**(4), 461-469. <https://doi.org/10.1007/s42398-018-00042-0>
- Bandiera, O., Elsayed, A., Smurra, A. et Zipfel, C. (2022).** Young adults and labor markets in Africa. *Journal of Economic Perspectives*, **36**(1), 81-100. <https://doi.org/10.1257/jep.36.1.81>
- Bannari, A. et Al-Ali, Z. M. (2020).** Assessing climate change impact on soil salinity dynamics between 1987–2017 in arid landscape using landsat TM, ETM+ and OLI data. *Remote Sensing*, **12**(17), 2794. <https://doi.org/10.3390/rs12172794>
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S. et El Enshasy, H. (2021).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, **13**(3), 1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Bechtaoui, N., Rklami, A., Benidire, L., Tahiri, A., Göttfert, M. et Oufdou, K. (2020).** Effects of PGPR co-inoculation on growth, phosphorus nutrition and phosphatase/phytase activities of faba bean under different phosphorus availability conditions. *Polish Journal of Environmental Studies*, **29**(2), 1557-1565. <https://doi.org/10.15244/pjoes/110345>
- Belaouni, H. A., Bendaha, M. E. A., Benattia, H., Medouh, M., Berini, K. I., Ben Ahmed, S. et Zitouni, A. (2023).** Alleviation of salt stress in winter wheat by *Pantoea* spp. endophytes isolated from spontaneous desert plants of the Sahara. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 1-22. <https://doi.org/10.1080/03235408.2023.2165431>
- Ben Slama, H., Cherif-Silini, H., Chenari Bouket, A., Qader, M., Silini, A., Yahiaoui, B., Alenezi, F. N., Luptakova, L., Triki, M. A., Vallat, A., Oszako, T., Rateb, M. E. et Belbahri, L. (2019).** Screening for *Fusarium* antagonistic bacteria from contrasting niches designated the endophyte *Bacillus halotolerans* as plant warden against *Fusarium*. *Frontiers in Microbiology*, **9**, 3236. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03236>
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J. et Bakker, P. A. H. M. (2012).** The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, **17**(8), 478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>

- Berg, G. (2009).** Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **84**(1), 11-18. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2092-7>
- Berg, G., Zachow, C., Müller, H., Philipps, J. et Tilcher, R. (2013).** Next-generation bio-products sowing the seeds of success for sustainable agriculture. *Agronomy*, **3**, 648-656. <https://doi.org/10.3390/agronomy3040648>
- Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K. et Tuteja, N. (2014).** Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*, **13**(1), 66. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-66>
- Bhattacharyya, P. N. et Jha, D. K. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **28**(4), 1327-1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Bianciotto, V., Minerdi, D., Perotto, S. et Bonfante, P. (1996).** Cellular interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria. *Protoplasma*, **193**(1-4), 123-131. <https://doi.org/10.1007/BF01276640>
- Bouffaud, M.-L., Renoud, S., Moëgne-Loccoz, Y. et Muller, D. (2016).** Is plant evolutionary history impacting recruitment of diazotrophs and *nifH* expression in the rhizosphere? *Scientific Reports*, **6**(1), 21690. <https://doi.org/10.1038/srep21690>
- Canbolat, M. Y., Bilen, S., Çakmakçı, R., Şahin, F. et Aydın, A. (2006).** Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *Biology and Fertility of Soils*, **42**(4), 350-357. <https://doi.org/10.1007/s00374-005-0034-9>
- Carillo, P., Mastrolonardo, G., Nacca, F., Parisi, D., Verlotta, A. et Fuggi, A. (2008).** Nitrogen metabolism in durum wheat under salinity: accumulation of proline and glycine betaine. *Functional Plant Biology*, **35**(5), 412. <https://doi.org/10.1071/FP08108>
- Catania, V., Bueno, R. S., Alduina, R., Grilli, E., La Mantia, T., Castaldi, S. et Quatrini, P. (2022).** Soil microbial biomass and bacterial diversity in southern European regions vulnerable to desertification. *Ecological Indicators*, **145**, 109725. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109725>
- Cavicchioli, R., Ripple, W. J., Timmis, K. N., Azam, F., Bakken, L. R., Baylis, M., Behrenfeld, M. J., Boetius, A., Boyd, P. W., Classen, A. T., Crowther, T. W., Danovaro, R., Foreman, C. M., Huisman, J., Hutchins, D. A., Jansson, J. K., Karl, D. M., Koskella, B., Mark Welch, D. B., ... Webster, N. S. (2019).** Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. *Nature Reviews Microbiology*, **17**(9), 569-586. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0222-5>
- Chakraborty, U., Chakraborty, B. N., Chakraborty, A. P., Sunar, K. et Dey, P. L. (2013).** Plant growth promoting rhizobacteria mediated improvement of health status of tea plants. *Indian Journal of Biotechnology*, **12**, 20-31.
- Chalise, D., Kumar, L. et Kristiansen, P. (2019).** Land degradation by soil erosion in Nepal: a review, **3**, 18. <https://doi.org/10.3390/soilsystems3010012>
- Chamam, A., Wisniewski-Dyé, F., Comte, G., Bertrand, C. et Prigent-Combaret, C. (2015).** Differential responses of *Oryza sativa* secondary metabolism to biotic interactions with cooperative, commensal and phytopathogenic bacteria. *Planta*, **242**(6), 1439-1452. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2382-5>
- Chandran, H., Meena, M. et Swapnil, P. (2021).** Plant growth-promoting rhizobacteria as a green alternative for sustainable agriculture. *Sustainability*, **13**(19), 10986. <https://doi.org/10.3390/su131910986>
- Chaparro, J. M., Sheflin, A. M., Manter, D. K. et Vivanco, J. M. (2012).** Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biology and Fertility of Soils*, **48**(5), 489-499. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0691-4>
- Chaudhary, D. R., Rathore, A. P. et Sharma, S. (2019).** Effect of halotolerant plant growth promoting rhizobacteria inoculation on soil microbial community structure and nutrients. *Applied Soil Ecology*, **150**, 103461. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103461>

- Chaudhary, T., Dixit, M., Gera, R., Shukla, A. K., Prakash, A., Gupta, G. et Shukla, P. (2020).** Techniques for improving formulations of bioinoculants. *3 Biotech*, **10**(5), 199. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02182-9>
- Chavula, P., Njau, J. et Mohammed, Y. (2019).** influence of climate change on plant disease development and emergence of new plant diseases in the African context: a review. *International Journal of Academic and Applied Research*, **3**(7), 4.
- Chen, C., Xin, K., Liu, H., Cheng, J., Shen, X., Wang, Y. et Zhang, L. (2017).** *Pantoea alhagi*, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat. *Scientific Reports*, **7**(1), 41564. <https://doi.org/10.1038/srep41564>
- Chen, L., Hao, Z., Li, K., Sha, Y., Wang, E. T., Sui, X., Mi, G., Tian, C. F. et Chen, W. (2020).** Effects of growth-promoting rhizobacteria on maize growth and rhizosphere microbial community under conservation tillage in northeast China. *Microbial Biotechnology*, **14**. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13693>
- Chen, X., Krug, L., Yang, M., Berg, G. et Cernava, T. (2020).** Conventional seed coating reduces prevalence of proteobacterial endophytes in *Nicotiana tabacum*. *Industrial Crops and Products*, **155**, 112784. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112784>
- Chen, Y., Bonkowski, M., Shen, Y., Griffiths, B. S., Jiang, Y., Wang, X. et Sun, B. (2020).** Root ethylene mediates rhizosphere microbial community reconstruction when chemically detecting cyanide produced by neighbouring plants. *Microbiome*, **8**(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0775-6>
- Cherif-Silini, H., Silini, A., Chenari Bouket, A., Alenezi, F. N., Luptakova, L., Bouremani, N., Nowakowska, J. A., Oszako, T. et Belbahri, L. (2021).** Tailoring next generation plant growth promoting microorganisms as versatile tools beyond soil desalinization: a road map towards field application. *Sustainability*, **13**(8), 4422. <https://doi.org/10.3390/su13084422>
- Cherif-Silini, H., Silini, A., Yahiaoui, B., Ouzari, I. et Boudabous, A. (2016).** Phylogenetic and plant-growth-promoting characteristics of *Bacillus* isolated from the wheat rhizosphere. *Annals of Microbiology*, **66**(3), 1087-1097. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1194-6>
- Cherif-Silini, H., Thissera, B., Bouket, A. C., Saadaoui, N., Silini, A., Eshelli, M., Alenezi, F. N., Vallat, A., Luptakova, L. et Yahiaoui, B. (2019).** Durum wheat stress tolerance induced by endophyte *Pantoea agglomerans* with genes contributing to plant functions and secondary metabolite arsenal. *International journal of molecular sciences*, **20**(16), 3989. <https://doi.org/10.3390/ijms20163989>
- Choudhary, M., Meena, V. S., Yadav, R. P., Parihar, M., Pattanayak, A., Panday, S. C., Mishra, P. K., Bisht, J. K., Yadav, M. R., Nogia, M., Samal, S. K., Ghasal, P. C., Choudhary, J. et Choudhary, M. (2019).** Does PGPR and mycorrhizae enhance nutrient use efficiency and efficacy in relation to crop productivity? Dans Maheshwari, D. K. et Dheeman, S. (dir.), *Field Crops: Sustainable Management by PGPR* (vol. 23, p. 45-68). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-30926-8\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-30926-8_3)
- CNCC. (2009).** *Bulletin des variétés céréales*. Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plants. Batna. 96 p.
- CNCC. (2015).** *Bulletin des variétés de céréales autogames*. Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plants. Algérie. 254 p.
- Dastogeer, K. M. G., Tumpa, F. H., Sultana, A., Akter, M. A. et Chakraborty, A. (2020).** Plant microbiome—an account of the factors that shape community composition and diversity. *Current Plant Biology*, **23**, 100161. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100161>
- Dave, K., Gothwal, R., Singh, M. et Joshi, N. (2020).** Facets of rhizospheric microflora in biocontrol of phytopathogen *Macrophomina phaseolina* in oil crop soybean. *Archives of Microbiology*, **203**(2), 405-412. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02046-z>
- de Camargo, F. R. T., Silva, I. L., Barros, P. J. R., Ascheri, D. P. R., Rodovalho, R. S., Bellizzi, N. C., Ascheri, J. L. R., Teixeira, I. R., Devilla, I. A. et de Campos, A. J. (2017).** Physiological quality of soybean seeds treated with carboxymethyl cellulose and fungicide. *American Journal of Plant Sciences*, **08**(11), 2748-2757. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.811185>
- Denamur, E. et Matic, I. (2006).** Evolution of mutation rates in bacteria. *Molecular Microbiology*, **60**(4), 820-827. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05150.x>

- Deng, C., Zhang, N., Liang, X., Huang, T. et Li, B. (2022).** *Bacillus aryabhattai* LAD impacts rhizosphere bacterial community structure and promotes maize plant growth. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **102**(14), 6650-6657. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12032>
- Dennis, P. G., Miller, A. J. et Hirsch, P. R. (2010).** Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *FEMS Microbiology Ecology*, **72**(3), 313-327. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00860.x>
- Di Salvo, L. P. et García de Salamone, I. E. (2019).** PGPR inoculation and chemical fertilization of cereal crops, how do the plants and their rhizosphere microbial communities' response? Dans Singh, D. P., Gupta, V. K. et Prabha, R. (dir.), *Microbial Interventions in Agriculture and Environment* (p. 123-148). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8383-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8383-0_4)
- Dubey, A., Malla, M. A., Khan, F., Chowdhary, K., Yadav, S., Kumar, A., Sharma, S., Khare, P. K. et Khan, M. L. (2019).** Soil microbiome: a key player for conservation of soil health under changing climate. *Biodiversity and Conservation*, **28**(8-9), 2405-2429. <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01760-5>
- Dubois, Michel., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. et Smith, Fred. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, **28**(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Dukare, A., Mhatre, P., Maheshwari, H. S., Bagul, S., Manjunatha, B. S., Khade, Y. et Kamble, U. (2022).** Delineation of mechanistic approaches of rhizosphere microorganisms facilitated plant health and resilience under challenging conditions. *3 Biotech*, **12**(3), 1-33. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03115-4>
- Fan, B., Wang, C., Song, X., Ding, X., Wu, L., Wu, H., Gao, X. et Borriss, R. (2018).** *Bacillus velezensis* FZB42 in 2018: the Gram-positive model strain for plant growth promotion and biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, **9**, 2491. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02491>
- FAO. (2018).** *Transformer l'alimentation et l'agriculture pour réaliser les ODD*. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. 71 p.
- FAO. (2020).** *La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture 2020*. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. 199 p. <https://doi.org/10.4060/cb1447fr>
- FAO. (2022).** *Employment indicators 2000–2019. Global and regional trends*. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. <https://www.fao.org/3/cb8333en/cb8333en.pdf>
- Farzana, Y., Radziah, O. et Maziz, M. N. H. (2020).** Yield and nutrient content of sweet potato in response of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation and N fertilization, **13**(1), 6.
- Fasusi, O. A., Cruz, C. et Babalola, O. O. (2021).** Agricultural sustainability: microbial biofertilizers in rhizosphere management. *Agriculture*, **11**(2), 163.
- Faure, D., Vereecke, D. et Leveau, J. H. J. (2009).** Molecular communication in the rhizosphere. *Plant and Soil*, **321**(1-2), 279-303. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9839-2>
- Feng, Y., Shen, D., Dong, X. et Song, W. (2003).** In vitro symplasmata formation in the rice diazotrophic endophyte *Pantoea agglomerans* YS19. *Plant and soil*, **255**(2), 435-444.
- Figueiredo, M. do V. B., Seldin, L., de Araujo, F. F. et Mariano, R. de L. R. (2010).** Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications. Dans Maheshwari, D. K. (dir.), *Plant Growth and Health Promoting Bacteria* (vol. 18, p. 21-43). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_2)
- Fondi, M., Karkman, A., Tamminen, M. V., Bosi, E., Virta, M., Fani, R., Alm, E. et McInerney, J. O. (2016).** “Every gene is everywhere but the environment selects”: global geolocalization of gene sharing in environmental samples through network analysis. *Genome Biology and Evolution*, **8**(5), 1388-1400. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw077>
- Fróna, D., Szenderák, J. et Harangi-Rákos, M. (2019).** The challenge of feeding the world. *Sustainability*, **11**(20), 5816. <https://doi.org/10.3390/su11205816>
- Fukami, T. (2015).** Historical contingency in community assembly: integrating niches, species pools, and priority effects. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, **46**, 1-23.

- Gamalero, E., Bona, E. et Glick, B. R. (2022).** Current techniques to study beneficial plant-microbe interactions. *Microorganisms*, *10*(7), 1380. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071380>
- Gangwar, M., Rani, S. et Sharma, N. (2012).** Diversity of endophytic Actinomycetes from wheat and its potential as plant growth promoting and biocontrol agents. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology*, *3*(1), 8.
- Garbowski, T., Bar-Michalczyk, D., Charazińska, S., Grabowska-Polanowska, B., Kowalczyk, A. et Lochyński, P. (2023).** An overview of natural soil amendments in agriculture. *Soil and Tillage Research*, *225*, 105462. <https://doi.org/10.1016/j.still.2022.105462>
- García-Fraile, P., Menéndez, E. et Rivas, R. (2015).** Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioengineering*, *2*(3), 183-205. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2015.3.183>
- Gautam, N. (2021).** Seed coating with beneficial microbes for precision farming. *International Journal of Modern Agriculture*, *10*(1), 6.
- Gilbert, G. S., Parke, J. L., Clayton, M. K. et Handelsman, J. (1993).** Effects of an introduced bacterium on bacterial communities on roots. *Ecology*, *74*(3), 840-854. <https://doi.org/10.2307/1940810>
- Giraldo, P., Benavente, E., Manzano-Agugliaro, F. et Gimenez, E. (2019).** Worldwide research trends on wheat and barley: a bibliometric comparative analysis. *Agronomy*, *9*(7), 352. <https://doi.org/10.3390/agronomy9070352>
- Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Magheshwaran, V., Kumar, U., Bose, P., Sharma, V. et Annapurna, K. (2010).** *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: potential PGPR for sustainable agriculture. Dans Maheshwari, D. K. (dir.), *Plant Growth and Health Promoting Bacteria* (vol. 18, p. 333-364). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_15)
- Gowtham, H. G., Singh, S. B., Shilpa, N., Aiyaz, M., Nataraj, K., Udayashankar, A. C., Amruthesh, K. N., Murali, M., Poczai, P., Gafur, A., Almalki, W. H. et Sayyed, R. Z. (2022).** Insight into recent progress and perspectives in improvement of antioxidant machinery upon PGPR augmentation in plants under drought stress: a review. *Antioxidants*, *11*(9), 1763. <https://doi.org/10.3390/antiox11091763>
- Gray, E. J. et Smith, D. L. (2005).** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, *37*(3), 395-412. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.030>
- Greve, P., Roderick, M. L., Ukkola, A. M. et Wada, Y. (2019).** The aridity index under global warming. *Environmental Research Letters*, *14*(12), 124006. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab5046>
- Gu, Y., Banerjee, S., Dini-Andreote, F., Xu, Y., Shen, Q., Jousset, A. et Wei, Z. (2022).** Small changes in rhizosphere microbiome composition predict disease outcomes earlier than pathogen density variations. *The ISME Journal*, 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01290-z>
- Gupta, A., Bano, A., Rai, S., Dubey, P., Khan, F., Pathak, N. et Sharma, S. (2021).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a sustainable agriculture to rescue the vegetation from the effect of biotic stress: a review. *Letters in Applied NanoBioScience*, *10*(3), 2459-2465. <https://doi.org/10.33263/LIANBS103.24592465>
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K. et Singh, V. (2015).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, *7*(2). <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>
- Gupta, G. S. (2019).** Land degradation and challenges of food security. *Review of European Studies*, *11*(1), 63. <https://doi.org/10.5539/res.v11n1p63>
- Gusain, P. et Bhandari, B. (2019).** Rhizosphere associated PGPR functioning. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *8*(5), 1181-1191.
- Gyaneshwar, P., Kumar, G. N., Parekh, L. J. et Poole, P. S. (2002).** Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. Dans Adu-Gyamfi, J. J. (dir.), *Food Security in Nutrient-Stressed Environments: Exploiting Plants' Genetic Capabilities* (p. 133-143). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-1570-6\\_15](https://doi.org/10.1007/978-94-017-1570-6_15)

- Hartmann, A., Rothballer, M., Hense, B. A. et Schröder, P. (2014).** Bacterial quorum sensing compounds are important modulators of microbe-plant interactions. *Frontiers in Plant Science*, **5**, 1-4. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2014.00131>
- He, T., Xu, Z.-J., Wang, J.-F., Wang, F.-P., Zhou, X.-F., Wang, L.-L. et Li, Q.-S. (2022).** Improving cadmium accumulation by *Solanum nigrum* L. via regulating rhizobacterial community and metabolic function with phosphate-solubilizing bacteria colonization. *Chemosphere*, **287**, 132209. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132209>
- Hossain, A., Krupnik, T. J., Timsina, J., Mahboob, M. G., Chaki, A. K., Farooq, M., Bhatt, R., Fahad, S. et Hasanuzzaman, M. (2020).** Agricultural land degradation: processes and problems undermining future food security. Dans Fahad, S., Hasanuzzaman, M., Alam, M., Ullah, H., Saeed, M., Ali Khan, I. et Adnan M. (dir.), *Environment, Climate, Plant and Vegetation Growth* (p. 17-61). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-49732-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-49732-3_2)
- Huang, Z., Ruan, S., Sun, Y., Cheng, X., Dai, J., Gui, P., Yu, M., Zhong, Z. et Wu, J. (2022).** Bacterial inoculants improved the growth and nitrogen use efficiency of *Pyrus betulifolia* under nitrogen-limited conditions by affecting the native soil bacterial communities. *Applied Soil Ecology*, **170**, 104285. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104285>
- ITGC. (2006).** *Guide des principales variétés de de céréales à paille en Algérie (blé dur blé tendre, orge et avoine)*. Institut Technique des Grandes Cultures. Algérie. p 151. <https://www.itgc.dz/?product=guide-2>
- ITGC. (2019).** *Guide des variétés des céréales nouvellement inscrites en Algérie*. Institut Technique des Grandes Cultures. Algérie. p 254.
- Jamil, F., Mukhtar, H., Fouillaud, M. et Dufossé, L. (2022).** Rhizosphere signaling: insights into plant-rhizomicrobiome interactions for sustainable agronomy. *Microorganisms*, **10**(5), 899. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050899>
- Javed, T., Afzal, I. et Mauro, R. P. (2021).** Seed coating in direct seeded rice: an innovative and sustainable approach to enhance grain yield and weed management under submerged conditions. *Sustainability*, **13**(4), 2190. <https://doi.org/10.3390/su13042190>
- Jisha, K. C., Vijayakumari, K. et Puthur, J. T. (2013).** Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiologiae Plantarum*, **35**(5), 1381-1396. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1186-5>
- Jo, H., Tagele, S. B., Pham, H. Q., Kim, M.-C., Choi, S.-D., Kim, M.-J., Park, Y.-J., Ibal, J. C., Park, G.-S. et Shin, J.-H. (2020).** Response of soil bacterial community and pepper plant growth to application of *Bacillus thuringiensis* KNU-07. *Agronomy*, **10**(4), 551. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040551>
- Ju, W., Jin, X., Liu, L., Shen, G., Zhao, W., Duan, C. et Fang, L. (2020).** Rhizobacteria inoculation benefits nutrient availability for phytostabilization in copper contaminated soil: Drivers from bacterial community structures in rhizosphere. *Applied Soil Ecology*, **150**, 103450. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103450>
- Jung, B. K., Khan, A. R., Hong, S.-J., Park, G.-S., Park, Y.-J., Kim, H.-J., Jeon, H.-J., Khan, M. A., Waqas, M., Lee, I.-J., Lee, S.-E. et Shin, J.-H. (2017).** Quorum sensing activity of the plant growth-promoting rhizobacterium *Serratia glossinae* GS2 isolated from the sesame (*Sesamum indicum* L.) rhizosphere. *Annals of Microbiology*, **67**(9), 623-632. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1291-1>
- Kalam, S., Das, S. N., Basu, A. et Podile, A. R. (2017).** Population densities of indigenous *Acidobacteria* change in the presence of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in rhizosphere. *Journal of Basic Microbiology*, **57**(5), 376-385. <https://doi.org/10.1002/jobm.201600588>
- Kalapchieva, S., Tringovska, I., Bozhinova, R., Kosev, V. et Hristeva, T. (2023).** Population response of rhizosphere microbiota of garden pea genotypes to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**(2), 1119. <https://doi.org/10.3390/ijms24021119>
- Ke, X., Feng, S., Wang, J., Lu, W., Zhang, W., Chen, M. et Lin, M. (2019).** Effect of inoculation with nitrogen-fixing bacterium *Pseudomonas stutzeri* A1501 on maize plant growth and the microbiome indigenous to the rhizosphere. *Systematic and Applied Microbiology*, **42**(2), 248-260. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2018.10.010>

- Kenneth, O. C., Nwadike, E. C., Kalu, A. U. et Unah, U. V. (2019).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a novel agent for sustainable food production. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, **14**(1), 35-54. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2019.35.54>
- Kerbab, S., Silini, A., Chenari Bouket, A., Cherif-Silini, H., Eshelli, M., El Houda Rabhi, N. et Belbahri, L. (2021).** Mitigation of NaCl stress in wheat by rhizosphere engineering using salt habitat adapted PGPR halotolerant bacteria. *Applied Sciences*, **11**(3), 1034. <https://doi.org/10.3390/app11031034>
- Khan, N., Bano, A. et Babar, M. D. (2019).** The stimulatory effects of plant growth promoting rhizobacteria and plant growth regulators on wheat physiology grown in sandy soil. *Archives of microbiology*, **201**(6), 769-785. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01644-w>
- Khan, N., Zandi, P., Ali, S., Mehmood, A., Adnan Shahid, M. et Yang, J. (2018).** Impact of salicylic acid and PGPR on the drought tolerance and phytoremediation potential of *Helianthus annuus*. *Frontiers in Microbiology*, **9**, 2507. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02507>
- Kogan, F. (2019).** Food security: the twenty-first century issue. Dans *Remote Sensing for Food Security* (p. 9-22). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-96256-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-96256-6_2)
- Kong, Z. et Liu, H. (2022).** Modification of rhizosphere microbial communities: a possible mechanism of plant growth promoting rhizobacteria enhancing plant growth and fitness. *Frontiers in Plant Science*, **13**, 920813. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.920813>
- Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P., McKenna, B. A. et Lombi, E. (2019).** Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environment International*, **132**, 105078. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105078>
- Koul, B., Singh, S., Dhanjal, D. et Singh, J. (2019).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs): a fruitful resource. Dans Singh, D. P. et Prabha, R. (dir.), *Microbial Interventions in Agriculture and Environment* (p. 83-127). Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-32-9084-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-32-9084-6_5)
- Kumar, Ashok, Maurya, B. R., Raghuvanshi, R., Meena, V. S. et Tofazzal Islam, M. (2017).** Co-inoculation with *Enterobacter* and rhizobacteria on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.) in the alluvial soil under indo-gangetic plain of India. *Journal of Plant Growth Regulation*, **36**(3), 608-617. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9663-5>
- Kumar, Ashwani et Dubey, A. (2020).** Rhizosphere microbiome: Engineering bacterial competitiveness for enhancing crop production. *Journal of Advanced Research*, **24**, 337-352. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.04.014>
- Kumar, M., Mishra, S., Dixit, V., Kumar, M., Agarwal, L., Chauhan, P. S. et Nautiyal, C. S. (2016).** Synergistic effect of *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* ameliorates drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Signaling & Behavior*, **11**(1), e1071004. <https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1071004>
- Kumar, P., Thakur, S., Dhingra, G. K., Singh, A., Pal, M., Harshvardhan, K., Dubey, R. C. et Maheshwari, D. (2018).** Inoculation of siderophore producing rhizobacteria and their consortium for growth enhancement of wheat plant. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **15**, 264-269. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.019>
- Kumari, B., Mallick, M. A., Solanki, M. K., Solanki, A. C., Hora, A. et Guo, W. (2019).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): modern prospects for sustainable agriculture. Dans Ansari, R. A. et Mahmood, I. (dir.), *Plant Health Under Biotic Stress* (p. 109-127). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-6040-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-13-6040-4_6)
- Laid, B., Kamel, K., Mouloud, G., Manel, S., Walid, S., Amar, B., Hamenna, B. et Faiçal, B. (2016).** Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on In vitro bread wheat (*Triticum aestivum* L.) growth parameters and biological control mechanisms. *Advances in Microbiology*, **6**(9), 677-690. <https://doi.org/10.4236/aim.2016.69067>
- Landa, B., Montes-Borrego, M. et Navas Cortés, J. (2013).** Use of PGPR for controlling soilborne fungal pathogens: assessing the factors influencing its efficacy. Dans Maheshwari, D. K. (dir.), *Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management* (p. 259-292). [https://doi.org/10.1007/978-3-642-33639-3\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-33639-3_10)
- Lareen, A., Burton, F. et Schäfer, P. (2016).** Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes. *Plant molecular biology*, **90**(6), 575-587.

- Lastochkina, O., Pusenkova, L., Yuldashev, R., Babaev, M., Garipova, S., Blagova, D., Khairullin, R. et Aliniaiefard, S. (2017).** Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity. *Plant Physiology and Biochemistry*, **121**, 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.020>
- Lemanceau, P., Blouin, M., Muller, D. et Moëgne-Loccoz, Y. (2017).** Let the core microbiota be functional. *Trends in Plant Science*, **22**(7), 583-595. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.04.008>
- Leridon, H. (2020).** World population outlook: Explosion or implosion? *Population Societies*, **573**(1), 1-4.
- Li, Q., Chen, J., Wu, L., Luo, X., Li, N., Arafat, Y., Lin, S. et Lin, W. (2018).** Belowground interactions impact the soil bacterial community, soil fertility, and crop yield in maize/peanut intercropping systems. *International journal of molecular sciences*, **19**(2), 622.
- Li, Y., Liu, X., Li, Q., Guo, Y., Zhang, Y., Wang, C., Zhou, Q. et Wu, Z. (2023).** PGPR promotes the recovery of submerged macrophytes via indigenous microbiome modulations under combined abiotic stress. *Water*, **15**(3), 590. <https://doi.org/10.3390/w15030590>
- Li, Z., Chang, S., Lin, L., Li, Y. et An, Q. (2011).** A colorimetric assay of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) based on ninhydrin reaction for rapid screening of bacteria containing ACC deaminase. *Letters in applied microbiology*, **53**(2), 178-185. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03088.x>
- Ling, N., Wang, T. et Kuzyakov, Y. (2022).** Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nature Communications*, **13**(1), 836. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28448-9>
- Loiret, F. G., Ortega, E., Kleiner, D., Ortega-Rodés, P., Rodes, R. et Dong, Z. (2004).** A putative new endophytic nitrogen-fixing bacterium *Pantoea* sp. from sugarcane. *Journal of applied microbiology*, **97**(3), 504-511.
- Lucy, M., Reed, E. et R. Glick, B. (2004).** Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, **86**(1), 1-25. <https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000024903.10757.6e>
- Ma, M., Jiang, X., Wang, Q., Guan, D., Li, L., Ongena, M. et Li, J. (2018).** Isolation and identification of PGPR strain and its effect on soybean growth and soil bacterial community composition. *Int. J. Agric. Biol.*, **20**(6), 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34183-3>
- Ma, Y. (2019).** Seed coating with beneficial microorganisms for precision agriculture. *Biotechnology Advances*, **37**(7), 107423. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107423>
- Madhava Rao, K. V. et Sresty, T. V. S. (2000).** Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Science*, **157**(1), 113-128. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00273-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00273-9)
- Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharjee, P., Das, B., Ghosh, A. et Tribedi, P. (2016).** Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, **24**. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8104-0>
- Mahapatra, S., Yadav, R. et Ramakrishna, W. (2022).** *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: Dr. Jekyll and Mr. Hyde. *Journal of Applied Microbiology*, **132**(5), 3543-3562. <https://doi.org/10.1111/jam.15480>
- Mahapatra, S., Rayanoothala, P., Solanki, M. K. et Das, S. (2020).** Wheat microbiome: present status and future perspective. Dans Solanki, M. K., Kashyap, P. L. et Kumari, B. (dir.), *Phytobiomes: Current Insights and Future Vistas* (p. 191-223). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-3151-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3151-4_8)
- Maheshwari, D. K. (dir.). (2011).** *Bacteria in Agrobiology: Plant Growth Responses*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-20332-9>
- Maheshwari, Dinesh Kumar et Dheeman, S. (dir.). (2019).** *Field Crops: Sustainable Management by PGPR* (vol. 23). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-30926-8>
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G. et Mora, M. L. (2010).** Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of soil science and plant nutrition*, **10**(3), 293-319. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000100006>

- Marwanto, Handajaningsih, M. et Murcitra, B. G. (2020).** Seed coating formulations for improving rhizobia survival, growth, and grain yield of common bean. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, **10**(3), 1263. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.10.3.5121>
- Mavrodi, D. V., Yang, M., Mavrodi, O. V. et Wen, S. (2017).** Management of soilborne plant pathogens with beneficial root-colonizing *Pseudomonas*. Dans Singh, H. B., Sarma, B. K. et Keswani, C. (dir.), *Advances in PGPR research* (p. 147-164). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781786390325.0147>
- Mawarda, P. C., Le Roux, X., Dirk van Elsas, J. et Salles, J. F. (2020).** Deliberate introduction of invisible invaders: A critical appraisal of the impact of microbial inoculants on soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, **148**, 107874. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107874>
- McDonald, B. R. et Currie, C. R. (2017).** Lateral gene transfer dynamics in the ancient bacterial genus *Streptomyces*. *MBio*, **8**(3), e00644-17. <https://doi.org/10.1128/mBio.00644-17>
- McDonald, M. B. et Copeland, L. O. (1997).** *Seed Production Principles and practice*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4074-8>
- Méndez, I., Fallard, A., Soto, I., Tortella, G., de la Luz Mora, M., Valentine, A. J., Barra, P. J. et Duran, P. (2021).** Efficient biocontrol of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat: using bacteria isolated from suppressive soils. *Agronomy*, **11**(10), 2008. <https://doi.org/10.3390/agronomy11102008>
- Mia, M. B., Shamsuddin, Z. H. et Mahmood, M. (2012).** Effects of rhizobia and plant growth promoting bacteria inoculation on germination and seedling vigor of lowland rice. *African Journal of Biotechnology*, **11**(16), 3758-3765. <https://doi.org/10.5897/AJB09.1337>
- Milner, G. R. et Boldsen, J. L. (2023).** Population trends and the transition to agriculture: Global processes as seen from North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **120**(4), e2209478119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2209478119>
- Mitra, D., Mondal, R., Khoshru, B., Shadangi, S., Mohapatra, P. et Panneerselvam, P. (2021).** Rhizobacteria mediated seed bio-priming triggers the resistance and plant growth for sustainable crop production. *Current Research in Microbial Sciences*, **2**, 100071. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100071>
- Mitter, B., Pfaffenbichler, N., Flavell, R., Compant, S., Antonielli, L., Petric, A., Berninger, T., Naveed, M., Sheibani-Tezerji, R. et Von Maltzahn, G. (2017).** A new approach to modify plant microbiomes and traits by introducing beneficial bacteria at flowering into progeny seeds. *Frontiers in Microbiology*, **8**, 11.
- Modi, K. et Jha, S. (2022).** *Bacillus* consortia as a sustainable approach for plant growth promotion in rice (*Oryza sativa* L.). *Curr. Agric*, **39**, 28-49.
- Mondal, S. et Baksi, S. (2022).** Signalling of rhizosphere microbiomes: benign and malign borders. Dans, Arora, N. K. et Bouizgarne, B. (dir.), *Microbial BioTechnology for Sustainable Agriculture Volume 1* (p. 237-260). Springer Nature Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-4843-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-16-4843-4_7)
- Moore, J. A. M., Abraham, P. E., Michener, J. K., Muchero, W. et Cregger, M. A. (2022).** Ecosystem consequences of introducing plant growth promoting rhizobacteria to managed systems and potential legacy effects. *New Phytologist*, **234**(6), 1914-1918. <https://doi.org/10.1111/nph.18010>
- Morcillo, R. J. L. et Manzanera, M. (2021).** The effects of plant-associated bacterial exopolysaccharides on plant abiotic stress tolerance. *Metabolites*, **11**(6), 337. <https://doi.org/10.3390/metabo11060337>
- Nandakumar, R., Babu, S., Viswanathan, R., Sheela, J., Raguchander, T. et Samiyappan, R. (2001).** A new bio-formulation containing plant growth promoting rhizobacterial mixture for the management of sheath blight and enhanced grain yield in rice, *BioControl* **46**, 493-510.
- Naz, R., Asif, T., Mubeen, S. et Khushhal, S. (2022).** Seed application with microbial inoculants for enhanced plant growth. Dans Seymen, M., Kurtar, E. S., Erdinc, C., et Kumar, A. (dir.), *Sustainable Horticulture* (p. 333-368). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91861-9.00008-2>
- Nihorimbere, V., Ongena, M., Smargiassi, M. et Thonart, P. (2011).** Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **15**(2), 327-337.
- Nuttall, J. G., O'Leary, G. J., Panozzo, J. F., Walker, C. K., Barlow, K. M. et Fitzgerald, G. J. (2017).** Models of grain quality in wheat—A review. *Field Crops Research*, **202**, 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.12.011>

- Nysssölä, A., Suhonen, A., Ritala, A. et Oksman-Caldentey, K.-M. (2022). The role of single cell protein in cellular agriculture. *Current Opinion in Biotechnology*, *75*, 102686. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102686>
- Odelade, K. A. et Babalola, O. O. (2019). Bacteria, fungi and archaea domains in rhizospheric soil and their effects in enhancing agricultural productivity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*(20), 3873. <https://doi.org/10.3390/ijerph16203873>
- Omrán, E.-S. E. et Negm, A. (2020). Impacts of pesticides on soil and water resources in Algeria. Dans Negm, A. M., Bouderbala, A., Chenchouni, H. et Barceló D. (dir.), *Water Resources in Algeria - Part I* (vol. 97, p. 69-91). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-2020-4\\_68](https://doi.org/10.1007/978-3-319-2020-4_68)
- Ons, L., Bylemans, D., Thevissen, K. et Cammue, B. P. A. (2020). Combining biocontrol agents with chemical fungicides for integrated plant fungal disease control. *Microorganisms*, *8*(12), 1930. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121930>
- Orozco-Mosqueda, M. d. C., Fadji, A. E., Babalola, O. O., Glick, B. R. et Santoyo, G. (2022). Rhizobiome engineering: unveiling complex rhizosphere interactions to enhance plant growth and health. *Microbiological Research*, *263*, 127137. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127137>
- Paravar, A., Piri, R., Balouchi, H. et Ma, Y. (2023). Microbial seed coating: An attractive tool for sustainable agriculture. *Biotechnology Reports*, *37*, e00781. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2023.e00781>
- Pathania, P., Bhatia, R. et Khatri, M. (2020). Cross-competence and affectivity of maize rhizosphere bacteria *Bacillus* sp. MT7 in tomato rhizosphere. *Scientia Horticulturae*, *272*, 109480. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109480>
- Pawlak, K. et Kolodziejczak, M. (2020). The role of agriculture in ensuring food security in developing countries: considerations in the context of the problem of sustainable food production. *Sustainability*, *12*(13), 5488. <https://doi.org/10.3390/su12135488>
- Pedrini, S., Balestrazzi, A., Madsen, M. D., Bhalsing, K., Hardegree, S. P., Dixon, K. W. et Kildisheva, O. A. (2020). Seed enhancement: getting seeds restoration-ready. *Restoration Ecology*, *28*(S3). <https://doi.org/10.1111/rec.13184>
- Pena, R. T., Blasco, L., Ambroa, A., González-Pedrajo, B., Fernández-García, L., López, M., Bleriot, I., Bou, G., García-Contreras, R., Wood, T. K. et Tomás, M. (2019). Relationship between quorum sensing and secretion systems. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 1100. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01100>
- Pequeno, D. N. L., Hernández-Ochoa, I. M., Reynolds, M., Sonder, K., MoleroMilan, A., Robertson, R. D., Lopes, M. S., Xiong, W., Kropff, M. et Asseng, S. (2021). Climate impact and adaptation to heat and drought stress of regional and global wheat production. *Environmental Research Letters*, *16*(5), 054070. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/abd970>
- Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P. et Van Der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, *11*(11), 789-799.
- Pimentel, D. (2006). Soil erosion: a food and environmental threat. *Environment, development and sustainability*, *8*(1), 119-137.
- Podile, A. R., Vukanti, R. V. N. R., Sravani, A., Kalam, S., Dutta, S., Durgeshwar, P. et Papa Rao, V. (2014). Root colonization and quorum sensing are the driving forces of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for growth promotion. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, *80*(2), 407. <https://doi.org/10.16943/ptinsa/2014/v80i2/55117>
- Polisetty, K. et Paidipati, K. K. (2020). Statistical assessment of trend analysis on production of wheat crop over India. *Sarhad Journal of Agriculture*, *36*(1), 178-184. <https://doi.org/10.17582/journal.sja/2020/36.1.178.184>
- Prakash, J. et Arora, N. (2019). Development of *Bacillus safensis*-based liquid bioformulation to augment growth, stevioside content, and nutrient uptake in *Stevia rebaudiana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *36*(8), 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2783-x>
- Prosekov, A. Y. et Ivanova, S. A. (2018). Food security: the challenge of the present. *Geoforum*, *91*, 73-77. <https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2018.02.030>

- Quecine, M. C., Araújo, W. L., Rossetto, P. B., Ferreira, A., Tsui, S., Lacava, P. T., Mondin, M., Azevedo, J. L. et Pizzirani-Kleiner, A. A. (2012). Sugarcane growth promotion by the endophytic bacterium *Pantoea agglomerans* 33.1. *Applied and Environmental Microbiology*, **78**(21), 7511-7518.
- Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C. et Moëgne-Loccoz, Y. (2009). The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil*, **321**(1-2), 341-361. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9568-6>
- Rabhi, N. E. H., Cherif-Silini, H., Silini, A., Alenezi, F. N., Chenari Bouket, A., Oszako, T. et Belbahri, L. (2022). Alleviation of salt stress via habitat-adapted symbiosis. *Forests*, **13**(4), 586. <https://doi.org/10.3390/f13040586>
- Rad, A. K., Zarei, M., Astaikina, A., Streletskii, R. et Etesami, H. (2022). Effects of microbial inoculants on growth, yield, and fruit quality under stress conditions. Dans Seymen, M., Kurtar, E. S., Erdinc, C., et Kumar, A. (dir.), *Sustainable Horticulture* (p. 1-38). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91861-9.00014-8>
- Rana, K. L., Kour, D., Kaur, T., Negi, R., Devi, R., Yadav, N., Rai, P. K., Singh, S., Rai, A. K. et Yadav, A. (2022). Endophytic nitrogen-fixing bacteria: Untapped treasurer for agricultural sustainability. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, **11**(2), 75-93.
- Ren, X. X., Chen, C., Ye, Z. H., Su, X. Y., Xiao, J. J., Liao, M., et Cao, H. Q. (2019). Development and application of seed coating agent for the control of major soil-borne diseases infecting wheat. *Agronomy*, **9**(8), 413. <https://doi.org/10.3390/agronomy9080413>
- Renoud, S., Abrouk, D., Prigent-Combaret, C., Wisniewski-Dyé, F., Legendre, L., Moëgne-Loccoz, Y. et Muller, D. (2022). Effect of inoculation level on the impact of the PGPR *Azospirillum lipoferum* CRT1 on selected microbial functional groups in the rhizosphere of field maize. *Microorganisms*, **10**(2), 325. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020325>
- Ritchie, H. et Roser, M. (2013). Land Use. *Our World in Data*. <https://ourworldindata.org/land-use>
- Rocha, I., Ma, Y., Souza-Alonso, P., Vosátka, M., Freitas, H. et Oliveira, R. S. (2019). Seed coating: a tool for delivering beneficial microbes to agricultural crops. *Frontiers in Plant Science*, **10**, 1357. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01357>
- Rodriguez, P. A., Rothballer, M., Chowdhury, S. P., Nussbaumer, T., Gutjahr, C. et Falter-Braun, P. (2019). Systems biology of plant-microbiome interactions. *Molecular plant*, **12**(6), 804-821.
- Roesti, D., Gaur, R., Johri, B., Imfeld, G., Sharma, S., Kawaljeet, K. et Aragno, M. (2006). Plant growth stage, fertiliser management and bio-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. *Soil Biology and Biochemistry*, **38**(5), 1111-1120. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.09.010>
- Romasi, E. F. et Lee, J. (2013). Development of Indole-3-Acetic Acid-Producing *Escherichia coli* by functional expression of IpdC, AspC, and Iad1. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, **23**(12), 1726-1736. <https://doi.org/10.4014/jmb.1308.08082>
- Rosier, A., Medeiros, F. H. V. et Bais, H. P. (2018). Defining plant growth promoting rhizobacteria molecular and biochemical networks in beneficial plant-microbe interactions. *Plant and Soil*, **428**(1-2), 35-55. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3679-5>
- Sabeti, M., Tahmasebi, P., Ghehsareh Ardestani, E. et Nikookhah, F. (2019). Effect of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on the seed germination, seedling growth and photosynthetic pigments of *Astragalus caragana* under drought stress. *Journal of Rangeland Science*, **9**(4), 364-377.
- Sahoo, R. K., Ansari, M. W., Pradhan, M., Dangar, T. K., Mohanty, S. et Tuteja, N. (2014). Phenotypic and molecular characterization of native *Azospirillum* strains from rice fields to improve crop productivity. *Protoplasma*, **251**(4), 943-953. <https://doi.org/10.1007/s00709-013-0607-7>
- Sahoo, R. K., Bhardwaj, D. et Tuteja, N. (2013). Biofertilizers: a sustainable eco-friendly agricultural approach to crop improvement. Dans Tuteja, N. et Singh Gill, S. (dir.), *Plant Acclimation to Environmental Stress* (p. 403-432). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5001-6\\_15](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5001-6_15)

- Sahu, P. K. et Brahmaprakash, G. P. (2016).** Formulations of biofertilizers – approaches and advances. Dans Singh, D., Singh, H., Prabha, R. *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*, 179-198. Springer, New Delhi. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2644-4\\_12](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2644-4_12)[https://doi.org/10.1007/978-81-322-2644-4\\_12](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2644-4_12)
- Saidi, S., Cherif-Silini, H., Chenari Bouket, A., Silini, A., Eshelli, M., Luptakova, L., Alenezi, F. N. et Belbahri, L. (2021).** Improvement of *Medicago sativa* crops productivity by the co-inoculation of *Sinorhizobium meliloti*-actinobacteria under salt stress. *Current Microbiology*, **78**(4), 1344-1357. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02394-z>
- Santoyo, G. (2022).** How plants recruit their microbiome? New insights into beneficial interactions. *Journal of Advanced Research*, **40**, 45-58. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.11.020>
- Sergaki, C., Lagunas, B., Lidbury, I., Gifford, M. L. et Schäfer, P. (2018).** Challenges and approaches in microbiome research: from fundamental to applied. *Frontiers in Plant Science*, **9**, 1205. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01205>
- Shaharoon, B., Naveed, M., Arshad, M. et Zahir, Z. A. (2008).** Fertilizer-dependent efficiency of Pseudomonads for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied Microbiology and Biotechnology*, **79**(1), 147-155. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1419-0>
- Shivran, A. C., Shekhawat, K. S., Sastry, E. V. D. et Rajput, S. S. (2013).** Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) coated bioformulations on fenugreek, *J. Seed Spices*, **3**(1), 16-19.
- Shweta, B., Maheshwari, D. K., Dubey, R. C., Arora, D. S., Bajpai, V. K. et Kang, S. C. (2008).** Beneficial effects of fluorescent pseudomonads on seed germination, growth promotion, and suppression of charcoal rot in groundnut (*Arachis hypogea* L.). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, **18**(9), 1578-1583.
- Singh, T. B., Sahai, V., Goyal, D., Prasad, M., Yadav, A., Shrivastav, P., Ali, A. et Dantu, P. K. (2020).** Identification, characterization and evaluation of multifaceted traits of plant growth promoting rhizobacteria from soil for sustainable approach to agriculture. *Current Microbiology*, **77**(11), 3633-3642. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02165-2>
- Soluch, R., Hübler, N. F., Romero Picazo, D., Özkurt, E., Stukenbrock, E. H. et Dagan, T. (2021).** Colonization dynamics of *Pantoea agglomerans* in the wheat root habitat. *Environmental Microbiology*, **23**(4), 2260-2273. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15430>
- Soumare, A., Boubekri, K., Lyamlouli, K., Hafidi, M., Ouhdouch, Y. et Kouisni, L. (2020).** From isolation of phosphate solubilizing microbes to their formulation and use as biofertilizers: status and needs. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **7**, 425. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00425>
- Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R. et Mahmood, I. (2020).** *Azotobacter*: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **27**(12), 3634-3640. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.004>
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M. S., Shahid, N. et Aaliya, K. (2017).** Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, **121**, 102-117. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.030>
- Thakur, J. K., Paul, S., Booragamakalappalli Subbarayappa, M. et Rathi, M. S. (2019).** Influence of aromatic hydrocarbons on growth, plant growth promoting activities and survival in soil of *Azotobacter chroococcum* strain JL104. *Bioremediation Journal*, **23**(2), 94-106. <https://doi.org/10.1080/10889868.2019.1605975>
- Thébault, E. et Fontaine, C. (2010).** Stability of ecological communities and the architecture of mutualistic and trophic networks. *Science*, **329**(5993), 853-856.
- Tsatsakis, A. M., Nawaz, M. A., Tutelyan, V. A., Golokhvast, K. S., Kalantzi, O.-I., Chung, D. H., Kang, S. J., Coleman, M. D., Tyshko, N., Yang, S. H. et Chung, G. (2017).** Impact on environment, ecosystem, diversity and health from culturing and using GMOs as feed and food. *Food and Chemical Toxicology*, **107**, 108-121. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.06.033>
- UN. (2022).** *World Population Prospects 2022: Summary of Results*. United Nations. New York. p 38.

- Valdebenito, M., Crumbliss, A. L., Winkelmann, G. et Hantke, K. (2006).** Environmental factors influence the production of enterobactin, salmochelin, aerobactin, and yersiniabactin in *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *International Journal of Medical Microbiology*, **296**(8), 513-520. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.06.003>
- Valente, J., Gerin, F., Le Gouis, J., Moëgne-Loccoz, Y. et Prigent-Combaret, C. (2019).** Ancient wheat varieties have a higher ability to interact with plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant, Cell & Environment*, **43**(1), 246-260. <https://doi.org/10.1111/pce.13652>
- Vandana, U. K., Rajkumari, J., Singha, L. P., Satish, L., Alavilli, H., Sudheer, P. D. V. N., Chauhan, S., Ratnala, R., Satturu, V., Mazumder, P. B. et Pandey, P. (2021).** The endophytic microbiome as a hotspot of synergistic interactions, with prospects of plant growth promotion. *Biology*, **10**(2), 101. <https://doi.org/10.3390/biology10020101>
- Vandenkoornhuysse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Van, A. L. et Dufresne, A. (2015).** The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist*, **206**(4), 1196-1206. <https://doi.org/10.1111/nph.13312>
- Vasconcellos, R. L. F., Romagnoli, E. M., Taketani, R. G., Santos, S. N., Zucchi, T. D. et Melo, I. S. (2021).** Impact of inoculation with *Pseudomonas aestus* CMAA 1215T on the non-target resident bacterial community in a saline rhizosphere soil. *Current Microbiology*, **78**(1), 218-228. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02285-9>
- Vasseur-Coronado, M., Vlassi, A., Boulois, H. D. du, Schuhmacher, R., Parich, A., Pertot, I. et Puopolo, G. (2021).** Ecological role of volatile organic compounds emitted by *Pantoea agglomerans* as interspecies and interkingdom signals. *Microorganisms*, **9**(6), 1186. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061186>
- Vejan, P., Khadiran, T., Abdullah, R., Ismail, S. et 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. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1659330>
- Verma, S. C., Ladha, J. K. et Tripathi. (2001).** Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology*, **91**(2-3), 127-141. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00333-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00333-9)
- Vosátka, M., Rocha, I., Ma, Y., Švecová, E. B. et Oliveira, R. (2020).** Microbial seed coating as a tool to enhance crop growth and stress tolerance. *Acta Horticulturae*, (1273), 401-408. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1273.52>
- Wang, J., Li, R., Zhang, H., Wei, G. et Li, Z. (2020).** Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. *BMC Microbiology*, **20**(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-1708-z>
- Wang, X., Kang, M., Sun, H., de Reffye, P. et Wang, F.-Y. (2022).** DeCASA in AgriVerse: parallel agriculture for smart villages in Metaverses. *IEEE/CAA Journal of Automatica Sinica*, **9**(12), 2055-2062. <https://doi.org/10.1109/JAS.2022.106103>
- Wei, Z., Yang, T., Friman, V.-P., Xu, Y., Shen, Q. et Jousset, A. (2015).** Trophic network architecture of root-associated bacterial communities determines pathogen invasion and plant health. *Nature Communications*, **6**(1), 8413. <https://doi.org/10.1038/ncomms9413>
- Werner, G. D. et Kiers, E. T. (2015).** Order of arrival structures arbuscular mycorrhizal colonization of plants. *New Phytologist*, **205**(4), 1515-1524.
- Xing, P., Zhao, Y., Guan, D., Li, L., Zhao, B., Ma, M., Jiang, X., Tian, C., Cao, F. et Li, J. (2022).** Effects of *Bradyrhizobium* co-inoculated with *Bacillus* and *Paenibacillus* on the structure and functional genes of soybean rhizobacteria community. *Genes*, **13**(11), 1922.
- Xun, F., Xie, B., Liu, S. et Guo, C. (2014).** Effect of plant growth-promoting bacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on oats in saline-alkali soil contaminated by petroleum to enhance phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, **22**(1), 598-608. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3396-4>
- Yadav, A. N., Singh, J., Rastegari, A. A. et Yadav, N. (dir.). (2020).** *Plant Microbiomes for Sustainable Agriculture* (vol. 25). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-38453-1>

- Zhang, L.-N., Wang, D.-C., Hu, Q., Dai, X.-Q., Xie, Y.-S., Li, Q., Liu, H.-M. et Guo, J.-H. (2019).** Consortium of plant growth-promoting rhizobacteria strains suppresses sweet pepper disease by altering the rhizosphere microbiota. *Frontiers in Microbiology*, **10**. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01668>
- Zhang, X., Li, B., Zhang, Z., Chen, Y. et Tian, S. (2020).** Antagonistic yeasts: a promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. *Journal of Fungi*, **6**(3), 158. <https://doi.org/10.3390/jof6030158>
- Zhang, Y., Gao, X., Shen, Z., Zhu, C., Jiao, Z., Li, R. et Shen, Q. (2019).** Pre-colonization of PGPR triggers rhizosphere microbiota succession associated with crop yield enhancement. *Plant and Soil*, **439**(1-2), 553-567. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04055-4>
- Zheng, W., Zeng, S., Bais, H., LaManna, J. M., Hussey, D. S., Jacobson, D. L. et Jin, Y. (2018).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) reduce evaporation and increase soil water retention. *Water Resources Research*, **54**(5), 3673-3687. <https://doi.org/10.1029/2018WR022656>
- Zi, H., Jiang, Y., Cheng, X., Li, W. et Huang, X. (2020).** Change of rhizospheric bacterial community of the ancient wild tea along elevational gradients in Ailao mountain, China. *Scientific Reports*, **10**(1), 9203. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66173-9>
- Zuluaga, M. Y. A., Milani, K. M. L., Miras-Moreno, B., Lucini, L., Valentinuzzi, F., Mimmo, T., Pii, Y., Cesco, S., Rodrigues, E. P. et Oliveira, A. L. M. de. (2021).** Inoculation with plant growth-promoting bacteria alters the rhizosphere functioning of tomato plants. *Applied Soil Ecology*, **158**, 103784. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103784>

## Annexes

### Annexe 1 : Fiche variétale du blé dur

**Espèce: Blé dur**

**Variété: BOUSSELAM**

Origine : Algérie

Année d'inscription 2000

Pedigree : Heider/Marli/Heider-Cro ICD

-414-1BLCTR-4AP

Obtenteur : ITGC Sétif

Demandeur : ITGC

Zones d'adaptation : Nord hauts- plateaux et plaines interieures.



#### Résistance

Au froid	Bonne
A la verse	Bonne
A la sécheresse	Bonne
Egrenage	Résistante

#### Résistance aux maladies

Rouille jaune	Résistante
Rouille brune	Résistante
Rouille noire	Résistante
Piétin échaudage	Résistante
Piétin verse	Résistante
Oïdium	Résistante
Septoriose	Moyenne
Fusariose	Résistante



#### Conditions techniques

Date de semis	Novembre- début Décembre
Dose de semis (Kg/ha)	130-150
Fertilisation (U/ha)	
Azotée	46 à 70
Phosphatée	46
Potassique	46

#### Productivité

Rendement en grain optimal 38 qx/ha

#### Caractéristiques Qualitatives

Poids de mille grains	Elevé
Qualité de la semoule	Bonne



(CNCC, 2009, 2015; ITGC, 2006).

## Annexe 2 : Fiche variétale du blé dur

Espèce: Blé dur

Variété: BOUTALEB

Année d'inscription 2016

Pedigree : HEDBA03/OFANTO-DZ-ITGC-SET-001-2004/2005-15-15-05

Obtenteur : ITGC

Zones d'adaptation : hauts plateaux et plaines intérieures Est.

Boutaleb est une variété végétative intermédiaire, à fort tallage et à port demi-dressé.



### Résistance

Au froid	Tolérante
A la verse	Résistante
A la sécheresse	Tolérante
Egrenage	Résistante



### Résistance aux maladies

Rouille jaune	Tolérante
Rouille brune	Tolérante
Rouille noire	Tolérante
Piétin échaudage	Tolérante
Piétin verse	Tolérante
Oïdium	Tolérante
Septoriose	Tolérante
Tache auréolée	Tolérante
Fusariose	Tolérante

### Conditions techniques

Date de semis	Novembre-début décembre
Dose de semis (Kg/ha)	130-150
Fertilisation (U/ha)	
Azotée	46 à 70
Phosphatée	46
Potassique	46



### Productivité

Rendement en grain optimal	50.41 qx/ha
----------------------------	-------------

### Caractéristiques Qualitatives

Poids de mille grains	Elevé
Qualité de la semoule	Bonne



(ITGC, 2019).

### **Annexe 3 : Milieu Trypticase de soja (Fluka)**

Peptone tryptique de caséine	.....	17 g
Peptone papainique de soja	.....	5 g
NaC	.....	15 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	.....	2,5 g
Glucose	.....	5 g
Agar-agar	.....	12 g
Eau distillée q.s.p	.....	1000ml

### **Annexe 4 : Composition du Milieu Pikovskaya PVK (solubilisation du phosphate)**

D – Glucose	.....	10 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	.....	0.5 g
NaCl	.....	0.2 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	.....	0.1 g
KCl	.....	0.2 g
Extrait de levure	.....	0,5 g
MnSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	.....	0.002 g
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	.....	0.002 g
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	.....	5 g
Eau distillée q. s. p	.....	1000 ml

### **Annexe 5 : Composition du Milieu Winogradsky WS (fixation d'azote)**

#### **Solution stock (g /l)**

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	.....	50,0 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	.....	25,0 g
NaCl	.....	25,0 g
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	.....	1,0 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	.....	1,0 g
MnSO <sub>4</sub> . 4H <sub>2</sub> O	.....	1,0 g
Eau distillée q. s. p	.....	1000 ml

pH: 7,2 ajusté avec du NaOH

### Préparation du Milieu Winogradsky exempté d'azote

solution stock	.....	5 ml
D Glucose	.....	0,5 g
CaCO <sub>3</sub>	.....	0,1 g
Eau distillée q. s. p	.....	1000 ml

pH: 6,2 ajusté avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

### Annexe 6 : Composition du Milieu King B

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	.....	1,5 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	.....	1,5 g
Peptone	.....	20 g
Glycérol	.....	10ml
Eau distillée q. s. p	.....	1000 ml

### Annexe 7 : Composition du Milieu Dworkin et Foster (DF)

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	.....	4 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	.....	6 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	.....	0.2 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	.....	1 mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	.....	10 µg
MnSO <sub>4</sub>	.....	10 µg
ZnSO <sub>4</sub>	.....	70 µg
CuSO <sub>4</sub>	.....	50 µg
MoO <sub>3</sub>	.....	10 µg
Glucose	.....	2 g
Acide gluconique	.....	2 g
Acide citrique	.....	2 g
Eau distillée q.s.p	.....	1000ml

2.0 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ou 3mM d'Aminocyclopropane l carboxylate ACC comme source de d'azote selon les cas.

### Annexe 8 : Composition du Milieu Luria-Bertani (LB)

Tryptone	.....	10 g
Extrait de levure	.....	5 g
NaCl	.....	5 g
Eau distillée q.s.p	.....	1000 ml

### Annexe 9 : Solution Chrome Azurol S (CAS)

- Mettre 6 ml de HDTMA (Hexamethylammoniumbromure) 10mM dans une éprouvette de 100 ml et diluer à 50 ml avec de l'eau désionisée. (1)
- Mélanger 1,5 ml de  $\text{FeCl}_3^+$  (1mM  $\text{FeCl}_3^+ \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ; 10 mM HCL) et 7,5 ml de CAS 2mM. (2)
- Ajouter (2) à (1).
- Dissoudre 4,307 g de piperazine anhydre dans de 1 'eau et ajouter 6,25 ml de HCL 12 M (Solution tampon pH = pKa = 5.6).
- Ajouter la solution tampon et continuer avec de l'eau jusqu'à 100 ml.

### Annexe 10 : Réactif de Salkowski

- 50ml d'acide perchlorique 35% et,
- 1ml de  $\text{FeCl}_3$  à 0.5 M
- Quelques gouttes d'acide ortho-phosphorique.

### Annexe 11 : Activités PGP des isolats bactériennes

#### a. Rhizosphère Bousselam

Activités Souches	AIA	Sidérophores	N2	PVK	ACC
RBC1	5,07576	55,77235	-	-	-
RBC2	4,21717	32,76422	-	-	-
RBC3	9,04040	41,95121	+	+	+
RBC4	4,72222	39,43089	-	+	-
RBC5	2,47475	26,42276	-	-	-
RBC6	1,41414	48,86178	-	+	-
RBC7	3,58586	31,54471	-	-	-
RBC8	4,16667	65,20324	-	+	-

<b>RBC9</b>	18,88889	33,25203	+	+	-
<b>RBC10</b>	5,83333	30,00000	-	-	-
<b>RBC11</b>	3,23232	53,57723	-	+	-
<b>RBC12</b>	3,05556	23,08943	-	+	-
<b>RBC13</b>	5,93434	56,82926	+	-	-
<b>RBPa1</b>	8,58586	52,33129	+	+	+
<b>RBPa2</b>	4,26768	55,21473	-	+	-
<b>RBPa3</b>	7,47475	71,78861	-	+	-
<b>RBPa4</b>	6,23737	52,84552	+	-	+
<b>RBPa5</b>	8,45960	69,67479	-	+	-
<b>RBPa6</b>	4,92424	49,01841	+	-	-
<b>RBPa7</b>	9,29293	42,57669	+	+	-
<b>RBPa8</b>	11,81818	48,28221	+	+	-
<b>RBPa9</b>	1,33838	60,92025	+	+	+
<b>RBPa10</b>	8,13131	47,97547	+	-	+
<b>RBPa11</b>	11,11111	59,38651	+	+	-
<b>RBPa12</b>	4,41919	48,46626	+	+	-
<b>RBPa13</b>	5,85859	26,87117	+	+	-
<b>RBB251</b>	8,73737	46,06557	+	+	+
<b>RBB252</b>	8,00505	76,39343	-	+	-
<b>RBB253</b>	6,23737	75,98359	-	-	-
<b>RBB254</b>	9,77273	55,57376	-	-	-
<b>RBB255</b>	10,15152	69,99999	-	-	-
<b>RBB256</b>	10,80808	81,55736	-	-	-
<b>RBB257</b>	4,57071	65,98360	+	+	-
<b>RBB258</b>	2,85354	41,31147	+	+	-
<b>RBB259</b>	5,65657	17,78688	+	-	-
<b>RBB2510</b>	2,27273	70,65573	-	-	-
<b>RBB2511</b>	12,07071	56,14753	+	+	-
<b>RBB2512</b>	5,25253	83,93441	+	-	-
<b>RBB2513</b>	6,13636	46,06557	+	+	-
<b>RPAB251</b>	5,78283	54,26229	-	+	-
<b>RPAB252</b>	5,80808	56,22950	-	+	-
<b>RPAB253</b>	6,48990	21,06557	+	-	-
<b>RPAB254</b>	9,01515	44,34426	+	+	+
<b>RPAB255</b>	4,79798	79,83605	+	+	+
<b>RPAB256</b>	0,73232	70,98360	+	+	-
<b>RPAB257</b>	3,38384	45,32786	+	+	-
<b>RPAB258</b>	5,32828	68,93442	+	-	-

<b>RBPAB259</b>	4,67172	70,16392	-	+	-
<b>RBPAB2510</b>	19,39394	32,86885	+	+	+
<b>RBPAB2511</b>	5,42929	74,42622	+	-	-
<b>RBPAB2512</b>	16,99495	39,50819	+	+	+
<b>RBPAB2513</b>	5,55556	44,99999	+	+	-
<b>RBFZB1</b>	3,76263	34,65982	-	-	-
<b>RBFZB2</b>	6,03535	2,31065	+	+	-
<b>RBFZB3</b>	2,77778	21,95122	+	+	-
<b>RBFZB4</b>	3,40909	15,46855	+	-	-
<b>RBFZB5</b>	1,94444	8,98588	+	-	-
<b>RBFZB6</b>	4,46970	23,36329	-	-	-
<b>RBFZB7</b>	3,33333	15,27599	+	-	-
<b>RBFZB8</b>	2,82828	12,13094	+	+	-
<b>RBFZB9</b>	5,40404	13,02952	-	-	-
<b>RBFZB10</b>	1,66667	16,23877	-	-	-
<b>RBFZB11</b>	0,83333	17,77920	+	+	-
<b>RBFZB12</b>	1,76768	53,59435	+	+	-
<b>RBFZB13</b>	4,26768	50,89859	+	+	-

#### b. Rhizosphère Boutaleb

Activités Souches	AIA	Siderophores	N2	PVK	ACC
<b>RBOC1</b>	4,16667	36,64955	+	+	-
<b>RBOC2</b>	5,42929	45,44287	+	-	-
<b>RBOC3</b>	2,19697	51,54043	-	-	-
<b>RBOC4</b>	1,86869	33,76123	+	+	-
<b>RBOC5</b>	3,45960	57,44544	-	+	-
<b>RBOC6</b>	4,36869	52,31065	-	+	-
<b>RBOC7</b>	1,79293	19,96149	+	+	-
<b>RBOC8</b>	4,72222	22,91399	-	-	-
<b>RBOC9</b>	1,13636	39,60205	+	-	-
<b>RBOC10</b>	2,39899	30,55199	-	-	-
<b>RBOC11</b>	2,02020	55,64826	-	-	-
<b>RBOC12</b>	2,75253	14,95507	+	+	-
<b>RBOC13</b>	1,74242	42,81129	-	+	-
<b>RBOPa1</b>	8,05556	62,56720	+	+	-
<b>RBOPa2</b>	8,10606	61,89516	+	+	-
<b>RBOPa3</b>	8,45960	62,16398	+	+	-
<b>RBOPa4</b>	8,18182	45,96774	+	+	-
<b>RBOPa5</b>	5,73232	53,42742	+	+	-
<b>RBOPa6</b>	7,44950	60,14785	-	+	-
<b>RBOPa7</b>	6,31313	62,56720	+	+	-
<b>RBOPa8</b>	8,10606	59,20699	+	+	-

<b>RBOPa9</b>	8,43434	58,60215	-	+	-
<b>RBOPa10</b>	5,68182	45,36290	+	+	-
<b>RBOPa11</b>	10,20202	52,88978	+	+	-
<b>RBOPa12</b>	5,73232	57,19086	+	+	+
<b>RBOPa13</b>	5,75758	23,85753	-	+	-
<b>RBOB251</b>	4,59596	32,93011	-	-	-
<b>RBOB252</b>	2,39899	51,34409	+	+	-
<b>RBOB253</b>	6,21212	35,61828	+	-	-
<b>RBOB254</b>	3,18182	32,93011	+	+	-
<b>RBOB255</b>	2,55051	38,84409	+	+	-
<b>RBOB256</b>	2,97980	23,99194	+	+	-
<b>RBOB257</b>	1,66667	46,16935	-	-	-
<b>RBOB258</b>	0,98485	40,12097	+	+	-
<b>RBOB259</b>	5,17677	20,69892	+	+	-
<b>RBOB2510</b>	1,71717	29,83871	+	+	-
<b>RBOB2511</b>	6,56566	55,24193	+	-	-
<b>RBOB2512</b>	4,24242	53,69624	+	+	+
<b>RBOB2513</b>	0,93434	32,45968	+	+	-
<b>RBOPAB251</b>	5,88384	53,36021	+	+	-
<b>RBOPAB252</b>	5,60606	41,59946	+	+	-
<b>RBOPAB253</b>	5,07576	41,53226	+	-	-
<b>RBOPAB254</b>	5,45455	38,77688	+	+	-
<b>RBOPAB255</b>	4,41919	30,51075	+	+	-
<b>RBOPAB256</b>	5,88384	40,18817	-	+	-
<b>RBOPAB257</b>	6,54040	65,05376	+	+	+
<b>RBOPAB258</b>	4,64647	54,30107	-	+	-
<b>RBOPAB259</b>	4,11616	60,88710	+	-	-
<b>RBOPAB2510</b>	5,65657	69,75806	+	+	-
<b>RBOPAB2511</b>	3,66162	58,46774	+	-	-
<b>RBOPAB2512</b>	8,93939	62,16398	+	+	+
<b>RBOPAB2513</b>	25,17677	48,85753	+	+	-
<b>RBOFZB1</b>	5,73232	38,70968	+	+	-
<b>RBOFZB2</b>	4,92424	69,75806	-	-	-
<b>RBOFZB3</b>	4,11616	44,62366	-	-	-
<b>RBOFZB4</b>	4,97475	73,79032	-	-	-
<b>RBOFZB5</b>	11,31313	69,89247	+	+	-
<b>RBOFZB6</b>	6,51515	66,59946	+	-	-
<b>RBOFZB7</b>	2,75253	49,05914	-	-	-
<b>RBOFZB8</b>	15,73232	55,37634	+	+	+
<b>RBOFZB9</b>	10,70707	71,30376	+	+	+
<b>RBOFZB10</b>	5,47980	60,28226	-	-	-
<b>RBOFZB11</b>	8,53535	82,39247	+	-	-
<b>RBOFZB12</b>	19,59596	69,95968	+	-	-
<b>RBOFZB13</b>	10,95960	23,45430	+	-	-

### c. Endophytes Bousselam

Activités Souches	AIA	Sidérophores	N2	PVK	ACC
<b>EBC1</b>	5,42929	51,99302	+	-	-
<b>EBC2</b>	5,60606	54,38465	+	-	-
<b>EBC3</b>	7,75253	53,88640	-	-	-
<b>EBC4</b>	6,59091	45,01744	+	+	-
<b>EBC5</b>	4,97475	55,50573	-	-	-
<b>EBC6</b>	6,16162	64,57399	+	+	-
<b>EBC7</b>	12,32323	50,87195	-	+	-
<b>EBC8</b>	5,63131	56,47733	-	-	-
<b>EBPa1</b>	6,96970	59,34230	-	-	-
<b>EBPa2</b>	7,82828	65,99402	-	-	-
<b>EBPa3</b>	16,13636	57,17489	+	+	-
<b>EBPa4</b>	6,99495	52,51619	-	+	-
<b>EBPa5</b>	15,22727	54,35974	+	+	+
<b>EBPa6</b>	17,37374	60,96163	+	+	+
<b>EBPa7</b>	8,00505	57,29945	-	-	-
<b>EBPa8</b>	4,82323	54,95765	-	+	+
<b>EBB251</b>	6,06061	63,52765	-	-	-
<b>EBB252</b>	7,37374	66,24315	+	+	-
<b>EBB253</b>	10,58081	67,91231	+	+	-
<b>EBB254</b>	10,00000	50,14948	+	-	-
<b>EBB255</b>	5,20202	50,22421	+	+	-
<b>EBB256</b>	10,27778	51,02142	+	-	-
<b>EBB257</b>	6,11111	69,80568	+	+	+
<b>EBB258</b>	4,89899	53,76183	-	-	-
<b>EBPAB251</b>	15,80808	56,30294	+	+	-
<b>EBPAB252</b>	9,82323	82,85999	+	+	+
<b>EBPAB253</b>	11,13636	59,14300	+	+	+
<b>EBPAB254</b>	13,51010	58,34579	+	+	+
<b>EBPAB255</b>	7,32323	50,37369	+	+	-
<b>EBPAB256</b>	9,11616	90,25909	+	+	+
<b>EBPAB257</b>	23,18182	60,63777	-	-	-
<b>EBPAB258</b>	5,47980	53,13901	-	+	-
<b>EBFZB1</b>	19,89899	51,94320	-	+	-
<b>EBFZB2</b>	5,30303	50,24913	-	+	-
<b>EBFZB3</b>	6,84343	53,43797	-	-	-
<b>EBFZB4</b>	12,39899	50,74738	-	+	+
<b>EBFZB5</b>	4,19192	57,49875	-	-	-
<b>EBFZB6</b>	7,67677	58,64474	+	-	-
<b>EBFZB7</b>	10,02525	56,67663	+	+	+
<b>EBFZB8</b>	6,81818	51,52965	-	-	-

#### d. Endophytes Boutaleb

Activités Souches	AIA	Siderophores	N2	PVK	ACC
<b>EBOC1</b>	12,42424	51,12108	+	+	-
<b>EBOC2</b>	16,99495	61,93323	-	-	-
<b>EBOC3</b>	18,25758	55,55556	-	-	-
<b>EBOC4</b>	18,73737	53,41305	-	-	-
<b>EBOC5</b>	16,54040	54,38465	-	-	-
<b>EBOC6</b>	15,30303	52,88989	+	+	+
<b>EBOPa1</b>	15,27778	64,00100	-	-	-
<b>EBOPa2</b>	26,11111	57,22471	+	+	+
<b>EBOPa3</b>	15,88384	63,62730	-	-	-
<b>EBOPa4</b>	16,41414	54,21026	+	+	-
<b>EBOPa5</b>	16,08586	66,11858	-	-	-
<b>EBOPa6</b>	16,21212	60,73742	+	+	-
<b>EBOB251</b>	16,56566	57,82262	-	-	-
<b>EBOB252</b>	15,95960	55,65521	+	+	+
<b>EBOB253</b>	13,53535	62,10762	-	-	-
<b>EBOB254</b>	14,41919	59,04335	+	-	+
<b>EBOB255</b>	13,93939	57,42402	-	-	-
<b>EBOB256</b>	19,21717	58,29596	-	-	-
<b>EBOPAB251</b>	23,43434	50,49826	+	+	+
<b>EBOPAB252</b>	15,37879	37,79273	+	-	-
<b>EBOPAB253</b>	14,41919	52,00050	+	+	-
<b>EBOPAB254</b>	13,63636	55,38117	+	+	-
<b>EBOPAB255</b>	23,66162	58,59492	+	+	-
<b>EBOPAB256</b>	15,20202	55,35625	-	+	-
<b>EBOFZB1</b>	16,01010	50,24913	+	+	+
<b>EBOFZB2</b>	13,56061	56,10364	-	-	-
<b>EBOFZB3</b>	17,44949	50,14948	-	-	-
<b>EBOFZB4</b>	15,20202	53,53762	+	+	+
<b>EBOFZB5</b>	14,01515	55,03239	-	-	-
<b>EBOFZB6</b>	10,42929	58,44544	+	+	-

## Article

# Semi-Arid-Habitat-Adapted Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria Allows Efficient Wheat Growth Promotion

Nora Saadaoui <sup>1</sup>, Allaoua Silini <sup>1</sup>, Hafsa Cherif-Silini <sup>1</sup>, Ali Chenari Bouket <sup>2</sup>, Faizah N. Alenezi <sup>3</sup>, Lenka Luptakova <sup>4</sup>, Sarah Boulahouat <sup>1</sup> and Lassaad Belbahri <sup>5,\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Applied Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Natural and Life Sciences, Ferhat Abbas University, Setif 19000, Algeria

<sup>2</sup> East Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Centre, Plant Protection Research Department, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tabriz 5355179854, Iran

<sup>3</sup> Marine Biodiscovery Centre, Department of Chemistry, University of Aberdeen, Old Aberdeen, Aberdeen AB24 3UE, UK

<sup>4</sup> Department of Biology and Genetics, Institute of Biology, Zoology and Radiobiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, 04181 Kosice, Slovakia

<sup>5</sup> Laboratory of Soil Biology, University of Neuchâtel, 11 Rue Emile Argand, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland

\* Correspondence: lassaad.belbahri@unige.ch

**Abstract:** Plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) introduced into agricultural ecosystems positively affect agricultural production and constitute an ecological method for sustainable agriculture. The present study demonstrated the effects of two PGPR, *Pantoea agglomerans* strain Pa and *Bacillus thuringiensis* strain B25, on seed germination, on the plant growth of two durum wheat varieties, Boussemel and Boutaleb, and on the frequency of the cultivable beneficial bacterial community. The bacterial strains were used as seed primers (individually or in consortia) by coating them with carboxymethyl cellulose (CMC 1%). The effect of PGPR was negligible on germinative ability but improved seed vigor in the Boutaleb variety after inoculation with the Pa strain alone or in combination with the B25 strain. The results showed that the germination capacity depends on the wheat variety. It seemed to be better in the Boussemel variety. Analysis of the results of morphological plant parameters in sterile compost after 75 days under controlled conditions (16 h light, 26/16 °C day/night) showed a significant improvement in plant growth in both wheat varieties with the Pa strain alone or in combination. Chlorophyll (a, and total), carotenoid, and total soluble sugars were significantly increased, while proline and MDA were strongly reduced by inoculation of the Boussemel variety. Bacterial survival of the Pa and B25 strains in the rhizosphere of sterile compost was appreciable ( $10^5$ – $10^7$  CFU/g) for both the Pa and B25 strains. Only the Pa strain was endophytic and able to colonize roots. Contrary to sterile compost, the different inoculation treatments in natural soil (after 114 days) significantly improved all morphological parameters and chlorophyll pigments in both wheat varieties. The reduction of proline contents at the leaf level was observed with Pa, mainly in Boussemel. Bacterial densities of the rhizosphere and endophyte cultivable communities did not differ significantly. However, the number of cultivable beneficial bacteria isolated from roots and rhizosphere with multiple PGP traits was significantly increased. Bacterial survival of CMC-coated seed inoculum was appreciable and remained constant, especially for the Pa strain, during 21 months at room temperature. Based on these results, the PGPR used after seed priming would be a feasible and sustainable strategy to improve soil fertility and promote growth of durum wheat in stressful and non-stressful environments.

**Keywords:** PGPR; durum wheat; rhizosphere engineering; germination; plant growth; biopriming

**Citation:** Saadaoui, N.; Silini, A.; Cherif-Silini, H.; Bouket, A.C.; Alenezi, F.N.; Luptakova, L.; Boulahouat, S.; Belbahri, L. Semi-Arid-Habitat-Adapted Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria Allows Efficient Wheat Growth Promotion. *Agronomy* **2022**, *12*, 2221. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092221>

Academic Editor: Sergio Molinari

Received: 27 August 2022

Accepted: 14 September 2022

Published: 18 September 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

By the middle of the 21st century, the world's population could increase by 26%, adding two billion to the current seven point six billion. Estimates show that to feed nine point five billion people, agriculture would need to produce 60–70% more grain [1]. United Nations organizations predict continued population growth, and by 2050 this figure is expected to be between 8.3 and 10.9 billion people, while current trends indicate a larger version [2]. Meanwhile, world grain trade in 2017/2018 fell by around 5 million tons (1.2%) to 391 million tons, which was the first reduction in four years [2].

Current agricultural practices, such as the addition of fertilizers, pesticides, and animal waste, have adverse effects on the environment, as they heavily pollute air, soil, and water resources and decrease the biological diversity of ecosystems.

It is therefore necessary to develop new farming strategies [3]. The rising cost of fertilizers and the demand for pesticide-free foods has led to the search for an alternative approach that could alleviate the problem [4]. Modern agriculture offers the potential to sustainably feed the growing world population. So far, genetically modified (GM) products have increased yields and reduced the use of pesticides. Nevertheless, GM products are controversial among policy makers, scientists, and consumers regarding their possible environmental, ecological, and health risks [5].

For the past decades, the response of plant crops to inoculation by plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) has been studied in numerous experiments carried out around the world in fields and in greenhouses. PGPR are able to exert a beneficial effect on different stages of plant growth. They increase germination percentage, seedling vigor, emergence, root and stem development, total plant biomass, seed weight, early flowering, and fruit and seed yields [6]. Seed vigor and viability are important elements that influence seedling establishment, growth, and crop productivity [7]. Additionally, seed inoculation with PGPR is a promising technology for seed treatment to suppress diseases caused by plant pathogens. PGPR increase germination and seedling vigor at very high rates by reducing the incidence of seed mycoflora [8]. Several studies have mentioned the beneficial effects of bacterial strains on the germination of different plant species under optimal conditions, but especially under stress conditions [9].

PGPR are considered a component for maintaining adequate plant nutrition. PGPR may promote nutrient uptake, thereby reducing the need for fertilizer application and preventing the accumulation of nitrates and phosphates in agricultural soils [10]. The beneficial effect of inoculation on the microbial population may be direct, through an increased supply of available phosphate (P) and nitrogen (N), or indirect, through changes in the growth rate and metabolic activities of crops [11]. Based on the data obtained, it is evident that inoculation resulted in significant increases in the yields of different crops, under different conditions [12]. Treatments with PGPR can affect the growth and yield of a wide range of crops such as cereals or legumes [13,14]. A large number of bacteria, such as *Bacillus* spp., *Azospirillum* spp., *Pseudomonas* spp., *Azotobacter* spp., *Pantoea* spp., and others, have significantly improved wheat yield parameters [15–18].

Understanding the integration of bacterial strains in the rhizosphere and the mechanisms of their interactions is a key element in improving and stimulating plant growth. Microbiomes associated with plant roots have attracted particular attention in recent years [19,20]. Numerous studies have shown that plant-associated microbiota play an important role in plant growth and development and are able to provide plant protection against pathogens and various abiotic stresses [21,22]. The plant microbiome supplies the host plant with additional gene pools and is therefore often referred to as the second plant genome [23].

Understanding the fate of this microbiota is fundamental to developing smart farming practices. Rhizospheric microbiomes are regulated by root exudates, plant genotype selection, and environmental adoption. Thus, the plant microbiome must have an ability to interact with beneficial microbes from natural soil microbiota or microbial inoculants

because the agronomic response to inoculation also depends on native microbial communities [24]. The question is whether inoculation can lead to changes in community structure by increasing the plant-growth-promoting and disease-suppressing functions of the resident community [25]. A growing number of researchers are recognizing the effects of exogenous inoculants, not only on promoting plant root growth, but also on protecting roots from disease damage by regulating the rhizosphere microbiota from the seedling stage. Plants have important regulatory effects on the formation of the microbial structure of the rhizosphere by excreting different root exudates at different growth stages [26]. Plants have the ability to modify the soil environment by secreting bio-active molecules into the rhizosphere to alter the edaphic conditions of the soil microbiota [27]. Thus, different plant species or genotypes can recruit specific microbiota through differences in root morphology and root exudation patterns [21]. In addition, the composition of root exudates and the structure of the microbial community associated with the roots are strongly affected by the growth stage of the plant [28]. An active early-stage rhizosphere microbial community is an important stage of community diversity and succession during the growth period of the whole plant [29,30]. Then, inoculation with *Azospirillum lipoferum* CRT1 affected the size and taxonomic composition of the functional communities involved in nitrogen fixation and ACC deamination [31]. Similarly, inoculation of barley seeds (*Hordeum vulgare*) by *Bacillus* increased the total number of bacteria and the population of phosphate-solubilizing bacteria [14]. Bio-inoculants by PGPR or arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) induced a significant modification of the structure of the wheat bacterial community [32]. Soybean inoculation with *Paenibacillus mucilaginosus* decreased bacterial richness and diversity but also favored specific micro-organisms through selectivity and enrichment of root exudates. Additionally, many bacterial classes and genera, which were associated with symbiotic nitrogen fixation, plant growth promotion, biological control, and soil activity enhancement, were overrepresented [33]. Besides growth parameters, defense enzymes, soil enzymes, and microbial diversity were significantly modulated in plants inoculated individually and in consortia with *Pseudomonas putida* NBR1RA and *Bacillus amyloliquefaciens* NBRISN13 [34].

The present study was designed to evaluate the role of PGPR on the improvement of morphological and biochemical parameters of durum wheat at the germination and plant-growth stages. Two durum wheat varieties were used by bio-priming the seeds with a carboxymethylcellulose (CMC) coating. These PGPR *Pantoea agglomerans* strain Pa and *Bacillus thuringiensis* strain B25 were used as seed primers in two common strategies (single strains and consortium). These PGPR were tested at the germination stage, then under axenic conditions (sterile compost) to explore their ability to survive in the rhizosphere, and finally in natural soil to assess their impact on plant growth and the beneficial bacterial community of wheat. Further, these PGPR were also tested for their ability to survive on the coated seeds during storage.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Bacterial Strains

The bacterial strains *Pantoea agglomerans* Pa (LMA2) (MUJJ00000000.1) [18] and *Bacillus thuringiensis* B25 (JX196352) [35] were used in this study. Strain Pa was originally isolated from the rhizosphere of durum wheat fields in the arid and saline region of Bou-Saâda, Algeria (35°23'38" N 4°19'18.1" E, pH 9, electrical conductivity (EC) = 3.54 ms/cm). Strain B25 was isolated from the rhizosphere of durum wheat in the semi-arid region north of Sétif, Algeria (36°17'40.5" N 25°32.8" E, pH 7.9, EC = 1.3 ms/cm). The strains were selected as the best bacterial isolates with high PGP activities and tested for none antagonism between them, allowing to use them either individually or in combination in order to synergistically promote plant growth.

## 2.2. Plant Material

The seeds of two local durum wheat genotypes, Bousselam (*Triticum durum* L.c.v Bousselam) and Boutaleb (*Triticum durum* L.c.v Boutaleb), were used. Their area of adaptation were the high plateaus and the interior plains of eastern Algeria. Bousselam variety (Pedigree: Heider/Marli/Heider-Cro ICD-414-1BLCTR-4AP) was a semi-late variety, with medium height. Boutaleb variety (Pedigree: HEDBA03/OFONTO-DZ-ITGC-SET001-) has an intermediate vegetative cycle. The grain and straw yields were high in both wheat varieties, and they presented good tolerance to abiotic stresses (lodging, drought, and cold) and biotic stresses (fungal diseases). They were kindly provided by the Technical Institute of Field Crops (Sétif, Algeria).

## 2.3. Effect of Bacterial Inoculation on Seed Germination

The experiment was performed to evaluate the effects of the PGPR on seed germination, which is considered the first step of plant growth.

### 2.3.1. Seed Disinfection

The seeds were disinfected on the surface by successive immersion in ethanol (70%, 1 min), then in sodium hypochlorite (2%, 30 min) and rinsed several times with sterile distilled water [18].

### 2.3.2. Preparation of Bacterial Inoculum and Seed Coating

The bacterial strains were taken from the glycerol stock and inoculated onto nutrient agar at 30 °C/24 h. Each strain was inoculated in trypticase soy broth (TSB) with constant shaking at 150 rpm for 48 h/30 °C. The cultures were centrifuged at 3000 rpm for 20 min. A pellet of each strain was suspended in 1% sterile carboxymethyl cellulose (CMC) solution at 10<sup>8</sup> CFU/mL. For preparation of microbial consortia, the mixture of bacterial strains was prepared by mixing individual bacterial inocula at equal volume to form a suspension containing the cells of each strain. The sterilized seeds were then carefully coated with homogenized CMC containing bacterial cells, shaken for 3 h/30 °C, air-dried overnight under aseptic conditions in a laminar air flow, and stored at room temperature in the dark. Un-inoculated seeds coated in sterile CMC solution served as a negative control [18].

### 2.3.3. Seed Germination

Germination was carried out on bacterized and coated seeds in triplicate, with four groups representing the type of treatment:

- T1: Un-inoculated seeds (Control)
- T2: Seeds inoculated with Pa
- T3: Seeds inoculated with B25
- T4: Seeds co-inoculated with Pa + B25

Thirty seeds from each treatment were placed in Petri dishes on a double layer of filter paper soaked with 10 mL of sterile distilled water. The plates were incubated in the dark at 25 ± 2 °C. The germinated seeds were counted every three days (3, 6, and 9 days). When the radicle was at least 3 mm long, the seeds were considered to be germinated. The incubation was maintained over 11 days. Four parameters were recorded from this experiment: final germination percentage (FGP), germination rate index (GRI), seedling length vigor index (SLVI), and seedling weight vigor index (SWVI) and were calculated as described by Kerbab et al. [14].

$$\text{FGP} = \text{Number of seeds germinated} / \text{Total number of seeds} \times 100$$

$$\text{GRI} = G3/3 + G6/6 + G9/9 \quad (G3, G6, \text{ and } G9 \text{ were germination percentages at 3, 6, and 9 days})$$

$$\text{SLVI} = \text{Seedling length (cm)} \times (\%) \text{ germination}$$

$$\text{SWVI} = \text{Seedling dry weight (mg)} \times (\%) \text{ germination}$$

#### 2.4. Effect of Bacterial Inoculation on Plant Growth of Durum Wheat in Sterile Compost

To evaluate the effect of inoculation on plant growth in sterile compost, the wheat seeds of Bousselam and Boutaleb varieties, sterilized as previously, were germinated on filter paper in Petri dishes containing 10 mL of sterile distilled water at 20 °C/48 h in the dark. When radicle length reached 3 mm, inoculation and coating in CMC solution were performed as described before. Un-inoculated seeds (control) were immersed in a 1% sterile CMC solution. Plastic pots ( $\varnothing = 10$  cm) disinfected with a sodium hypochlorite solution were filled with 150 g of compost sterilized at 120 °C/1 h for 3 successive days. The pots were divided into four groups representing the type of treatment as previously. The treated seeds were sown (one seed/pot) at a depth of 1 cm from the surface. The experiment was repeated 4 times and was conducted for 75 days in a growth chamber with an average day/night temperature of 26 °C and 16 °C, respectively, and 16 h light photoperiod. The humidity of the compost was adjusted and kept constant by watering with sterile water. At the ear stage, roots and shoots were collected. Their lengths and fresh and dry weight were determined. Dosages of biochemical parameters of growth (chlorophyll pigments and total sugars) and stress (proline and malondialdehyde: MDA) were carried out. The survival of the inoculated bacteria in the rhizosphere and their capacity for root colonization were evaluated.

##### 2.4.1. Measurement of Morphological Parameters

After 75 days of growth, the plants were harvested and washed with distilled water. Roots and shoots were separated. Lengths of shoots and roots (cm) and fresh and dry weight (after 72 h at 65 °C) of shoots and roots (g) were measured. Morphological measurements were performed four times.

##### 2.4.2. Measurement of biochemical parameters

###### Chlorophylls and Carotenoids

Chlorophylls a and b and carotenoids were performed according to Kerbab et al. [14]. An amount of 0.5 g of the leaves of each sample was cut into small segments (0.5 cm), homogenized in 10 mL of 80% acetone, and stored at −10 °C overnight. The organic extract was centrifuged at 14,000 rpm/5 min and the absorbance of the supernatant was measured by spectrophotometer at OD 663, 645, and 470 nm to determine chlorophylls a (Chl<sub>a</sub>), b (Chl<sub>b</sub>), and carotenoids, respectively.

$$\text{Chl}_a = 12.70 A_{663} - 2.69 A_{645}$$

$$\text{Chl}_b = 22.90 A_{645} - 4.68 A_{663}$$

$$\text{Chl}_{a+b} = 20.21 A_{645} + 8.02 A_{663}$$

$$\text{Carotenoids} = (1000 A_{470} - 1.9 \text{ Chl}_a - 63.14 \text{ Chl}_b)/214$$

###### Total Sugars

The extraction of total sugars from the fresh leaf material was carried out according to the following protocol: 3 mL of ethanol (80%) was added to 0.1 g of leaves. The mixture was incubated at room temperature in the dark for 48 h. Then, the mixture was heated at 80 °C in a water bath to evaporate the ethanol, then 20 mL of distilled water was added. Total sugars were determined according to Dubois et al.'s [36] method. The reaction mixture had contained 0.5 mL of the sample, 0.5 mL of a phenol solution (5%), and 2.5 mL of concentrated sulfuric acid. The color intensity proportional to sugars concentration was

measured by spectrophotometer at OD 490 nm. The values obtained were translated into glucose concentrations by reference to a previously established calibration curve. All biochemical parameters were performed in duplicate.

#### Proline

Leaf proline extraction was performed by cold mixing 50 mg aliquots of fresh leaf weight with 1 mL of ethanol:water (40:60 *v/v*) solution and left overnight at 4 °C. The mixture was then centrifuged at 14,000 rpm/5 min. An amount of 500 µL of the supernatant was added to 1000 µL of the reaction mixture (1% (*w/v*) ninhydrin in 60% (*v/v*) acetic acid) in 1.5 mL screw cap tubes and heated at 95 °C/20 min. The mixture was then centrifuged at 10,000 rpm and the evaluation of the leaf proline content was determined at OD 520 nm using proline (5 mM) as a standard solution [18].

#### Lipid Peroxidation (MDA)

Lipid peroxidation in leaves was determined by estimation of malondialdehyde (MDA) content. Indeed, 0.2 g of the fresh material was cut into 5 mm pieces and macerated in 1 mL of trichloroacetic acid (0.1%) and centrifuged (10,000 rpm/5 min). An amount of 0.5 mL of the supernatant was added to 2 mL of TCA (20%) containing 0.5% thiobarbituric acid. The mixture was heated at 95 °C/30 min and then rapidly cooled in an ice bath. The mixture was centrifuged at 10,000 rpm/15 min and the absorbance of the supernatant was measured at OD 532 nm. the OD was corrected to remove non-specific turbidity by subtracting the OD 600 nm. The MDA concentration was calculated using the extinction coefficient of 155 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> [37].

#### 2.4.3. Bacterial Survival in the Rhizosphere

Bacterial persistence in the rhizosphere was determined by counting (CFU/g) culturable bacteria after 75 days of wheat plant growth. An amount of 1 g of sterile rhizospheric compost taken from the surface of roots was homogenized with 10 mL of sterile physiological water for 5 min. A serial dilution of up to 10<sup>-6</sup> of the samples was spread on the surface of TSA medium and incubated at 30 °C/48 h [18]. The survival of the bacteria expressed in CFU/g of soil was carried out in duplicate.

#### 2.4.4. Endophytic Colonization

Endophytic bacteria detection was performed by washing the roots from adhering compost by stirring at 300 rpm/5 min. The roots were disinfected at the surface by immersion in 70% ethanol/1 min, then in 2% sodium hypochlorite/30 min and rinsed several times with sterile distilled water. To check the efficiency of root disinfection, the final washing water was spread on TSA agar and the plates were incubated at 30 °C/48 h. An amount of 1 g of sterilized roots was macerated in 10 mL of sterile physiological water and ground using a mortar. A serial dilution of up to 10<sup>-6</sup> of the samples was spread on the surface of TSA medium and incubated at 30 °C/48 h. Bacterial counts were expressed in CFU/g of roots and carried out in duplicate.

#### 2.5. Effect of Inoculation on Durum Wheat Plant Growth in Non-Sterile Soil

The soil was taken from a field located at the University of Sétif 1, Algeria (36°12'00.8" N 5°22'08.9" E). The physicochemical analysis was carried out at the Fertial agronomic laboratory, Annaba, Algeria. The soil was classified as clayey and loamy, with electrical conductivity and pH of 0.15 mS/cm and 8.34, respectively. The contents of readily available organic matter, nitrogen, K, and phosphorus were, respectively, 14.1 g/kg, 1.3 g/kg, 183 mg/kg, and 14 mg/kg.

Plastic pots (20 cm in diameter × 18 cm in height), disinfected with a sodium hypochlorite solution, were filled with approximately 4 kg of soil that was previously sieved through a 0.5 cm mesh and air-dried. Wheat seeds were disinfected, germinated, and

coated as previously described. Twenty seeds were sown in each pot. The treatments were carried out in five repetitions for each wheat variety, Bousselam and Boutaleb. Five treatments were performed as follows: (1) seeds not inoculated, (2) seeds inoculated with Pa, (3) seeds inoculated with B25, (4) seeds co-inoculated with Pa and B25, and the last treatment, (5) the seeds were inoculated with the bacterium *Bacillus velezensis* FZB 42 [38] used as a positive control.

Plant growth was monitored in a controlled growth chamber (16 h light photoperiod, 26/16 °C day/night temperatures). Plants were thinned 15 days after sowing to maintain the desired uniform number (ten seedlings per pot) in each pot. The plants were irrigated twice a week with potable water. After growing for 114 days (from 28 November 2019 to 21 March 2020), the plants, at the ear stage, were harvested and washed with distilled water. Roots and shoots were separated, and growth parameters (morphological and biochemical) were measured.

#### 2.5.1. Determination of Morphological Parameters

Lengths of shoots and roots (cm), and fresh and dry weights (after 72 h at 65 °C) of shoots and roots (g) were measured. Morphological measurements were performed in triplicate.

#### 2.5.2. Biochemical Parameters

Biochemical parameters: chlorophylls a and b, carotenoids, total sugars, proline, and MDA contents were determined in duplicate, as described previously.

### 2.6. Effect of Inoculation on the Rhizobacterial Community

#### 2.6.1. Enumeration of Rhizobacteria

Wheat rhizospheric soil (1 g) adhering tightly to the roots was homogenized in 10 mL of sterile physiological water and shaken for 5 min. An amount of 100 µL of the sample and of each decimal dilution ranging from  $10^{-1}$  to  $10^{-6}$  was spread out in duplicate on TSA medium and incubated at 30 °C/72 h. Bacterial counts were expressed in CFU/g soil and performed in duplicate. Based on the morphological characteristics of the colonies, 13 visibly distinct isolates were purified and stored in agar slants at 4 °C for further evaluation of their PGP activities.

#### 2.6.2. Enumeration of Endophytic Bacteria

The roots were disinfected as described previously. An amount of 1 g of disinfected roots was ground and homogenized in 10 mL of sterile physiological water. A serial dilution of up to  $10^{-6}$  of the samples was spread on the surface of a TSA medium and incubated at 30 °C/72 h. Bacterial counts were expressed in CFU/g of roots and performed in duplicate. From six to eight strains were purified and stored for characterization of their PGP activities.

### 2.7. PGP Activities

This assay was performed in order to evaluate the impact of the bacterial inoculation on the improvement of PGP traits of rhizospheric and endophytic bacterial communities. The PGP activities of all the isolates were determined in vitro in duplicate, using standard protocols for phosphate solubilization, nitrogen-free growth (nitrogen fixation), siderophore and IAA production, and ACC deaminase activity.

#### 2.7.1. Phosphate Solubilization

Phosphate solubilization was determined by culturing the isolates in the Pikovskaya's agar (PVK) medium [39]. An amount of 10 µL of each bacterial culture was spotted on the PVK agar surface and incubated at 30 °C for 7 days. The development of clear zones around the colonies were considered as positive phosphate solubilizers [13].

### 2.7.2. Nitrogen Fixation

Nitrogen fixation was tested on Winogradsky (WS) solid medium without nitrogen. An amount of 10  $\mu\text{L}$  of each bacterial culture was spotted on the agar medium surface. The growth of a visible colony on the medium after 4 days of incubation at 30  $^{\circ}\text{C}$  indicated the ability of the strain to fix nitrogen. The reaction of each bacterial strain was rated positive or negative in the test [40].

### 2.7.3. Production of Siderophores

Bacterial isolates were screened for siderophore production using Chrome Azurol S (CAS) medium [41]. Fresh bacterial culture (100  $\mu\text{L}$ ) was transferred into 10 mL of iron-restricted King's B medium and incubated at 30  $^{\circ}\text{C}/96$  h. The cultures were centrifuged at 12000 rpm/5 min and 100  $\mu\text{L}$  of the supernatant was mixed with 100  $\mu\text{L}$  of CAS reagent in a microplate well and incubated for 30 min in the dark. A change in the blue color of the medium to orange indicates the production of siderophores. OD 630 nm was measured by a microplate reader and the percentage of siderophore units was estimated using the formula:

$$\text{Decolorization (\%)} = [(Ar - As)/Ar] \times 100$$

where Ar is the absorbance of the reference sample and As is the absorbance of the sample. The color changes from blue to orange according to the amount of siderophores produced.

### 2.7.4. IAA Production

Indole-3-acetic acid (IAA) production was evaluated by culturing bacterial isolates in Luria–Bertani broth supplemented with tryptophan (2 g/L). Fresh bacterial culture (100  $\mu\text{L}$ ) was transferred into 10 mL of LB medium and incubated at 30  $^{\circ}\text{C}/96$  h. The cultures were centrifuged at 12,000 rpm/5 min, then 100  $\mu\text{L}$  of the supernatant was transferred in a microplate well and 150  $\mu\text{L}$  of Salkowski reagent (50 mL, 35% of perchloric acid, and 1 mL  $\text{FeCl}_3$  0.5 M solution) was added. The microplate was incubated for 30 min in the dark. The absorbance was read at 490 nm. IAA concentrations ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) were determined by a calibration curve of pure IAA [42].

### 2.7.5. ACC Deaminase Production

1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase activity of the isolates was evaluated according to Li et al.'s [43] method, using the nitrogen-free DF medium [44]. A bacterial colony was cultured in 5 mL of LB broth incubated at 28  $^{\circ}\text{C}/48$  h with shaking at 150 rpm. Then, 2 mL of each culture was centrifuged at 8000 rpm/5 min. The cell pellet was recovered, washed twice with 1 mL of DF liquid medium, and suspended in 2 mL of DF-ACC medium (DF medium amended with ACC at 3.0 mmol/L as sole nitrogen source). After incubation at 28  $^{\circ}\text{C}/24$  h, 1 mL of the bacterial culture was centrifuged and 100  $\mu\text{L}$  of the recovered supernatant was diluted 10 times in liquid DF medium without ACC in 1.5 mL tubes. Then, 60  $\mu\text{L}$  of each supernatant was mixed with 120  $\mu\text{L}$  of ninhydrin reagent (500 mg of ninhydrin and 15 mg of ascorbic acid were dissolved in 60 mL of ethylene glycol, stored at  $-20$   $^{\circ}\text{C}$ , and mixed with 60 mL of citrate buffer (mol/L, pH 6.0)). The reaction mixture was heated by boiling for 30 min. The qualitative test was appreciated with the naked eye by comparison with DF solution without inoculation. A bacterial isolate, which makes a deeper color of supernatant compared with that of the DF-ACC medium without inoculation, was considered as an ACC-utilizing bacterial isolate.

### 2.8. Effect of Storage on Bacterial Survival of Coated Seeds

To evaluate the effects of the shelf life on the bacterial survival of the coated seeds, 1 g of seed, taken at different periods of storage at ambient temperature (24 h, 45 days, and 7, 13, and 21 months), was suspended in 10 mL of physiological water. Bacterial counting was performed in duplicate on TSA surface medium at 30 °C/48 h, as described previously. The bacterial enumeration was expressed in CFU/g of seeds.

### 2.9. Statistical analysis

The statistical analysis of the data was performed using analysis of variance (ANOVA) and when significant effects were detected, the groups were compared using a post hoc Tukey's HSD test. The level of significance used for all statistical tests was 5% ( $p < 0.05$ ). The statistical program used was IBM SPSS Statistics v.22.

## 3. Results

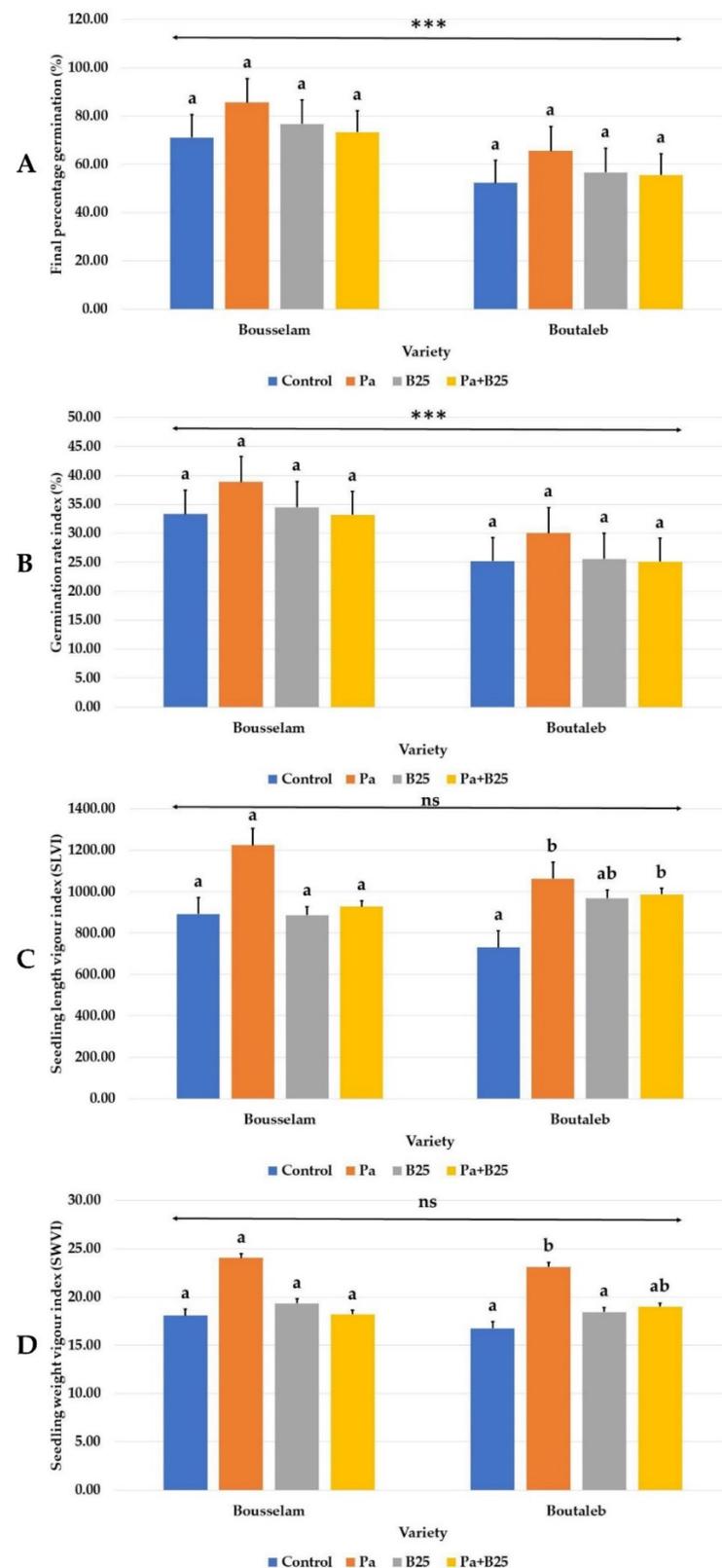
### 3.1. Effect of Bacterial Inoculation on Seed Germination

The inoculation of two varieties of wheat with the Pa, B25, or Pa + B25 strains did not induced any significant changes in the final percentage and the seed germination index (Figures 1A,B and 2), but it did allow a significant increase in vigor index of length (SLVI) (Figure 1C) and weight (SWVI) (Figure 1D). This was observed only in the Boutaleb variety, when the seeds were treated with the Pa strain alone or in combination with B25 strain. Concerning the varietal response of wheat to germination, a better germination capacity of inoculated and non-inoculated seeds was observed in the Bousselam variety (Figure 1A,B).

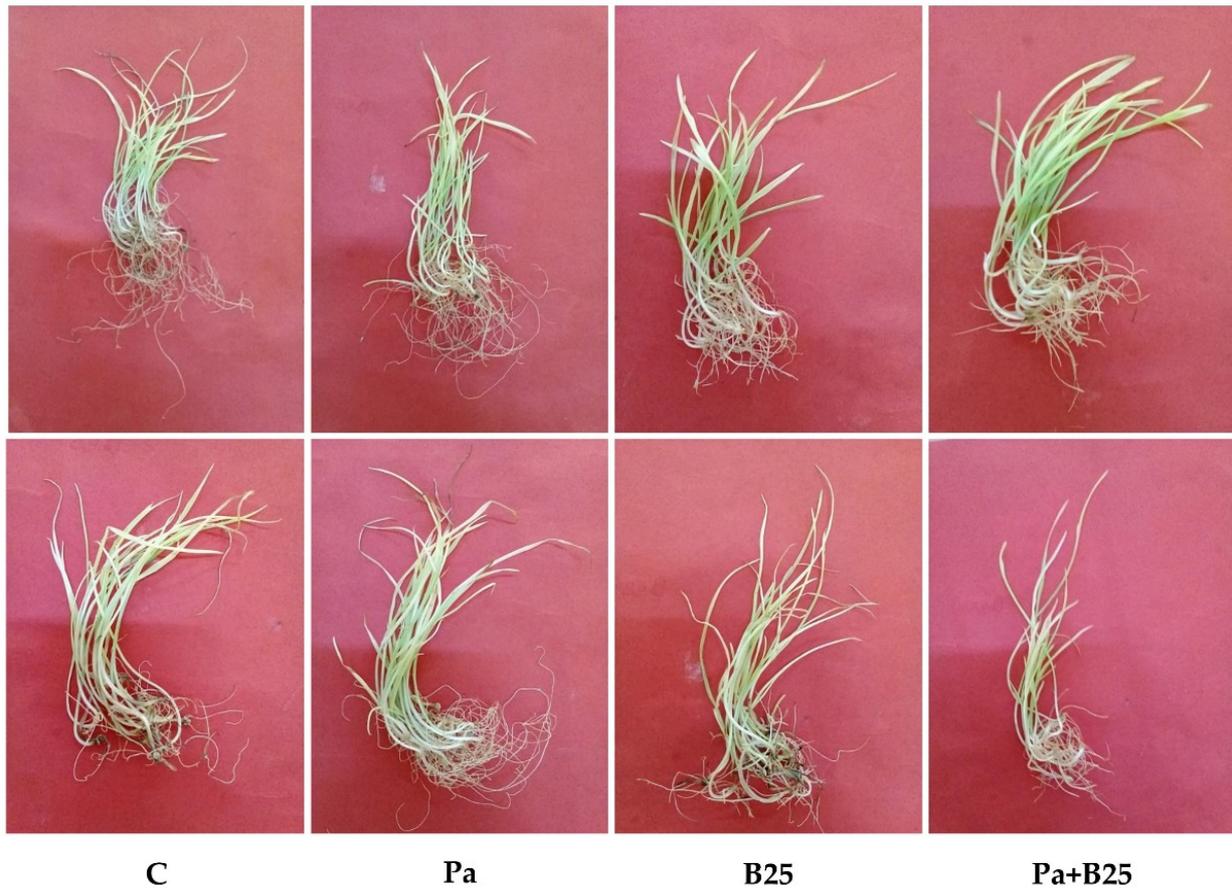
### 3.2. Effect of Bacterial Inoculation on Plant Growth of Wheat in Sterile Compost

#### 3.2.1. Morphological Parameters

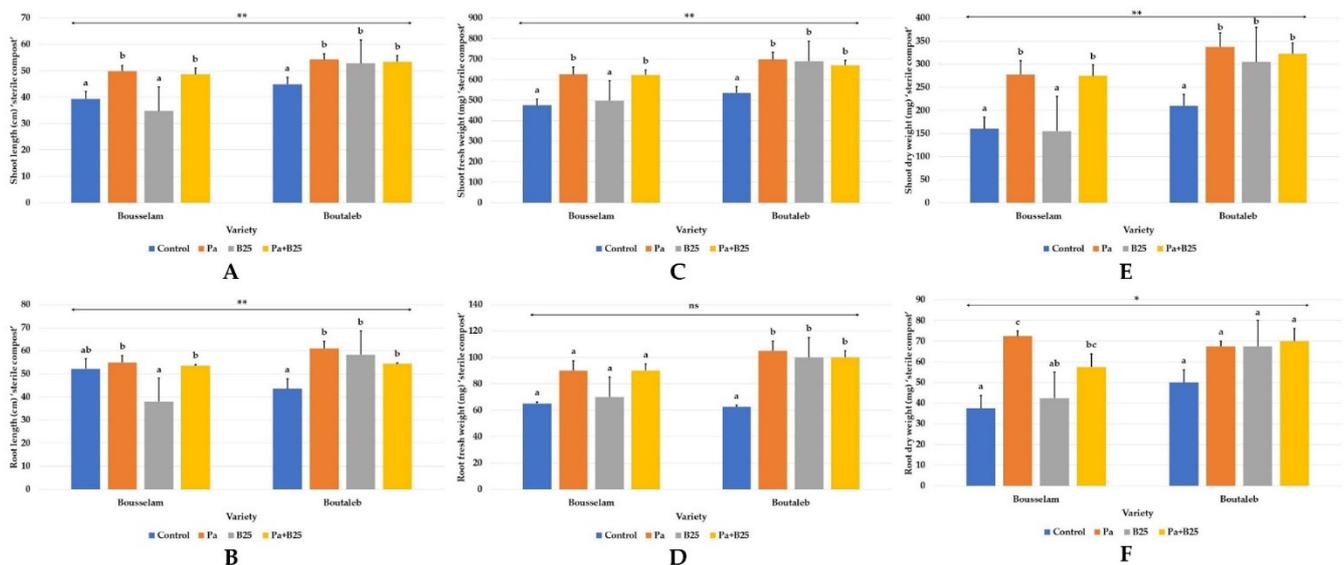
Analysis of the results of fresh and dry weights of roots and leaves, root elongation, and height of the plant showed that bacterial inoculation or co-inoculation led to a significant improvement in all these parameters for the two wheat varieties, with the exception of B25 in Bousselam variety (Figures 3A–F and 4).



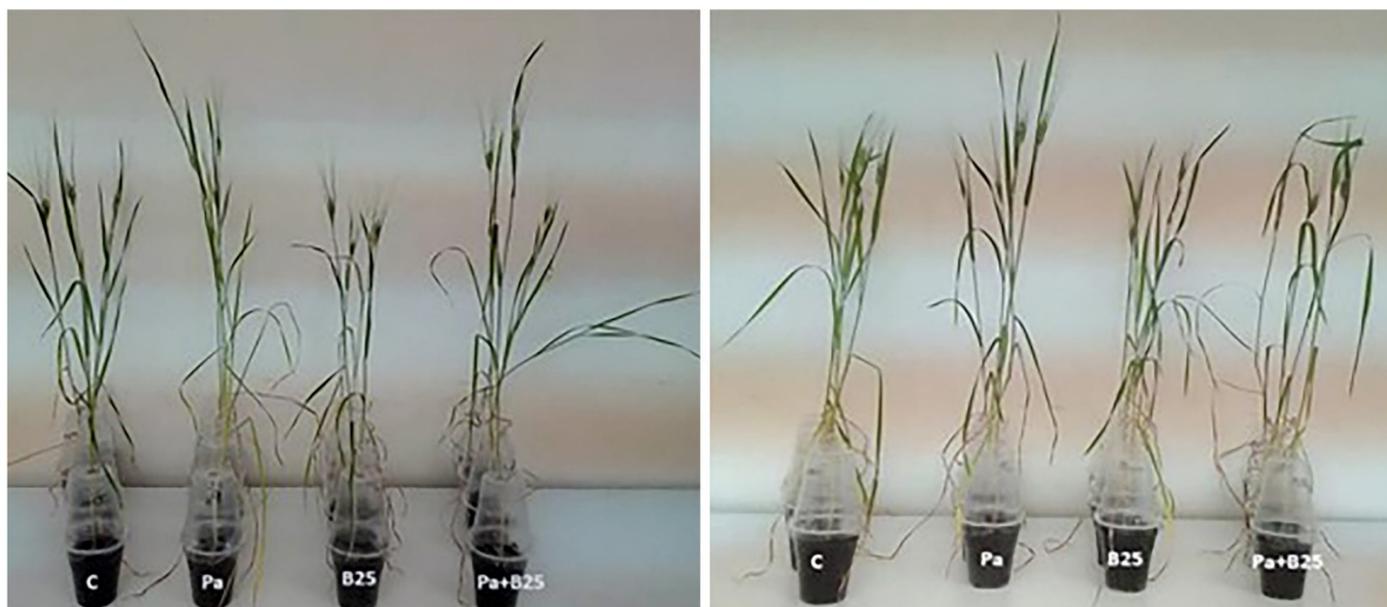
**Figure 1.** Effect of bacterial inoculation on (A) final percentage germination (%), (B) germination rate index (%), (C) seedling length vigor index, and (D) seedling weight vigor index of the two wheat varieties, Bouselam and Boutaleb. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey's multiple comparison post-test. Significant differences are displayed as: \*\*\*  $p < 0.001$ . ns: non-significant.



**Figure 2.** Effect of bacterial inoculation on in vitro wheat seedling germination. Top: Bousselam variety. Bottom: Boutaleb variety.



**Figure 3.** Effect of bacterial inoculation on (A,B) shoot and root length (cm), (C,D) shoot and root fresh weight (g), and (E,F) shoot and root dry weight of wheat plants grown in sterile compost of Bousselam and Boutaleb varieties. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey’s multiple comparison post-test. Significant differences are displayed as: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ . ns: non-significant.

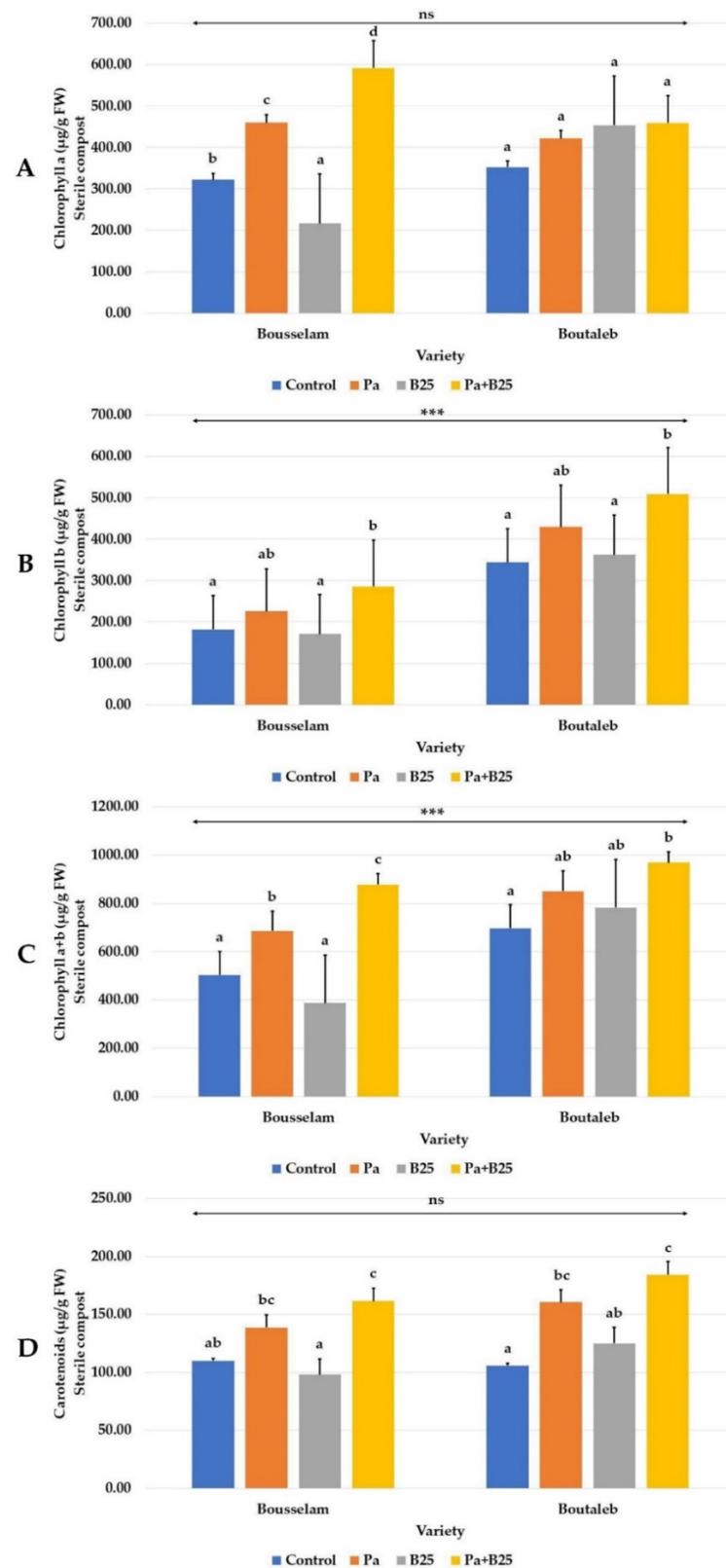


**Figure 4.** Effect of bacterial inoculation on in vitro wheat plants grown in sterile compost. Left: Bousselam variety. Right: Boutaleb variety.

### 3.2.2. Biological Parameters

#### Chlorophyll Pigments

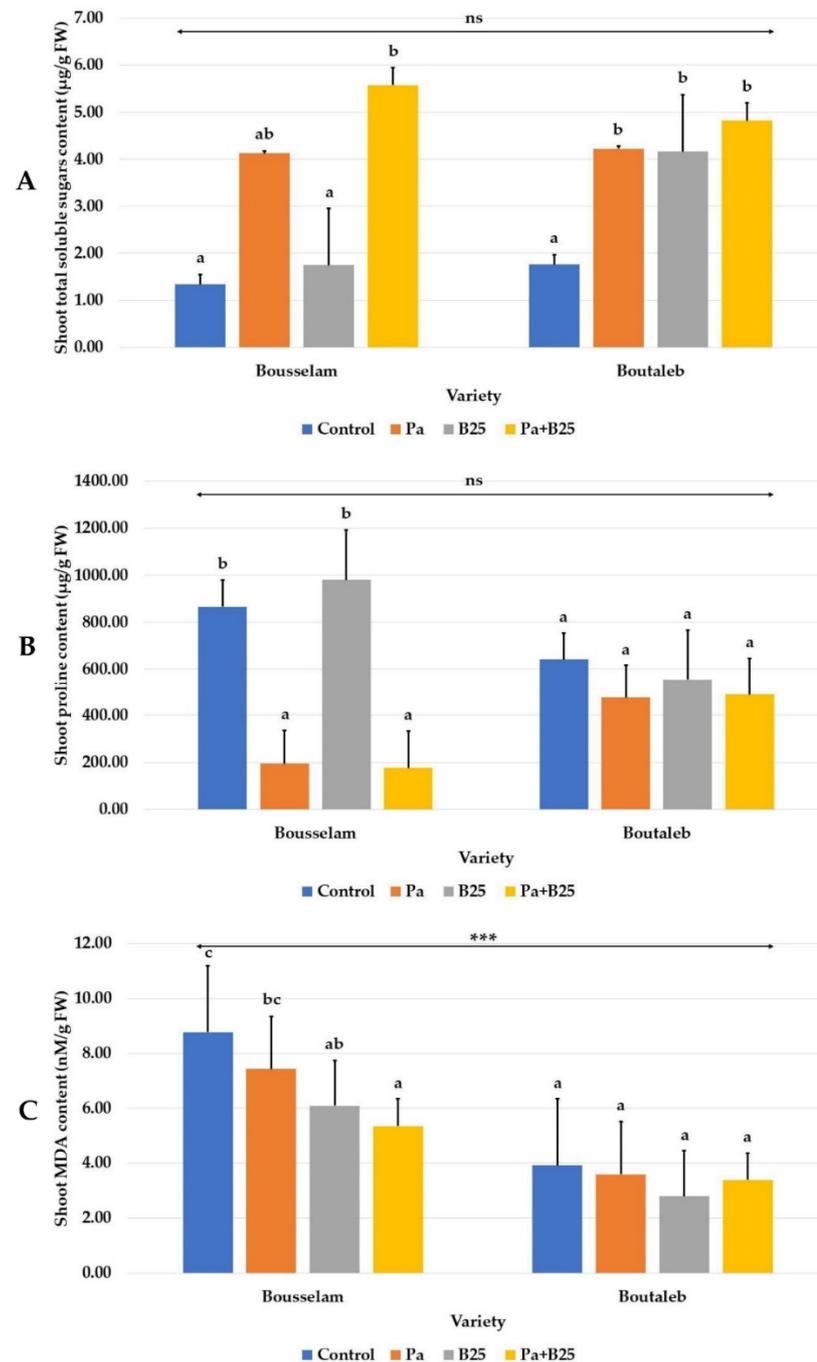
Compared to the control, the content of chlorophyll pigments (chlorophyll a, b, total, and carotenoids) increased with Pa strain inoculation alone or in co-inoculation with B25 strain, while B25 strain treatment seemed to have a non-significant effect on the content of these pigments, (Figure 5). In the Bousselam variety, a significant increase of 83.75% in chlorophyll a and 74.17% in total chlorophyll was recorded in the case of co-inoculation (Figure 5A,C). The content of carotenoids was also improved under this treatment in Bousselam and Boutaleb varieties, with rates of 46.63%, and 74.16%, respectively (Figure 5D). Significant differences between wheat varieties were observed only for chlorophylls b and total.



**Figure 5.** Effect of bacterial inoculation on (A) chlorophyll a ( $\mu\text{g/g FW}$ ), (B) chlorophyll b ( $\mu\text{g/g FW}$ ), (C) chlorophyll a + b ( $\mu\text{g/g FW}$ ), and (D) carotenoid ( $\mu\text{g/g FW}$ ) contents of wheat plants grown in sterile compost of Bousselam and Boutaleb varieties. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey's multiple comparison post-test. Significant differences are displayed as: \*\*\*  $p < 0.001$ . ns: non-significant.

## Total Sugars, Proline, and MDA

The effect of inoculation on leaf total sugar content was variable depending on the wheat variety and was manifested by a significant increase in leaves of plants treated with Pa or B25 strains or with co-inoculation in the Boutaleb variety. In Bousselam variety, only the Pa strain alone or in combination had a positive impact (Figure 6A).

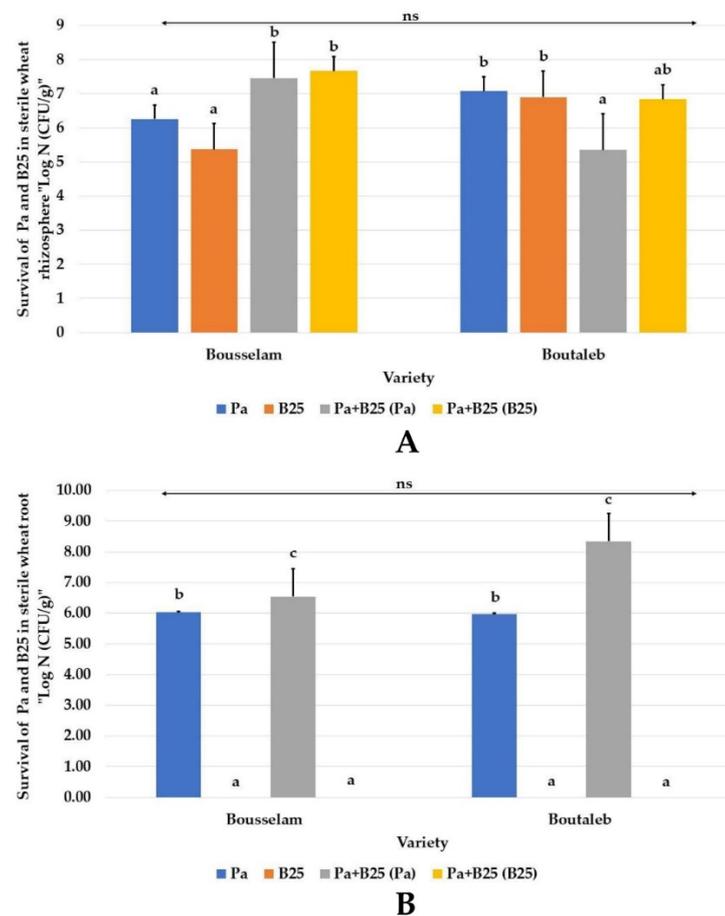


**Figure 6.** Effect of bacterial inoculation on (A) shoot total soluble sugars content ( $\text{mg/g FW}$ ), (B) shoot proline content ( $\mu\text{g/g FW}$ ), and (C) shoot malondialdehyde (MDA) content ( $\mu\text{M/g FW}$ ) of wheat plants grown in sterile compost of Bousselam and Boutaleb varieties. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey's multiple comparison post-test. Significant differences are displayed as: \*\*\*  $p < 0.001$ . ns: non-significant.

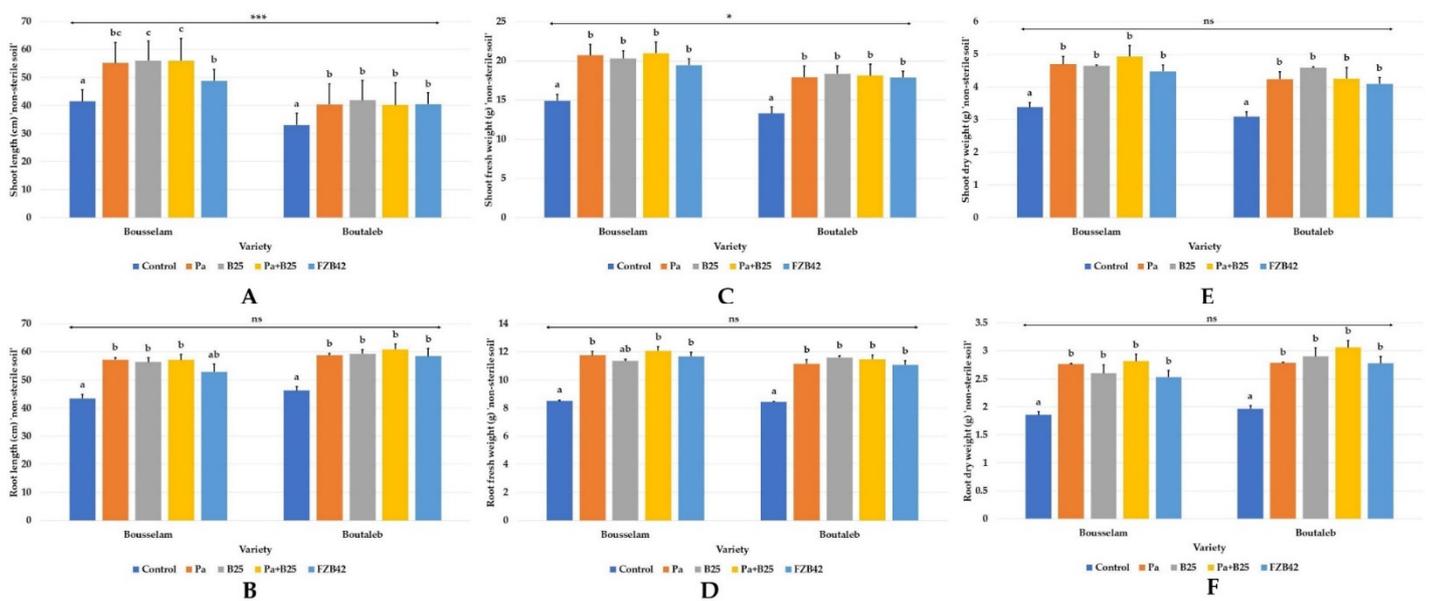
The effects of seed inoculation on biochemical indicators of stress in both wheat varieties appeared to be mixed. Indeed, variations in leaf proline and MDA content following seed inoculation were observed only in the Bousselam variety. Decreases in proline were noticed when the Pa strain in mono-inoculation or co-inoculation with B25 strain were used (Figure 6B) and in MDA during the different treatments (Figure 6C).

### 3.2.3. Bacterial Survival in Sterile Rhizosphere

After 75 days of plant growth, bacterial survival of the Pa and B25 strains in the rhizosphere of both wheat varieties was appreciable. The enumeration of the Pa strain in mono- and co-inoculation was about  $1.8 \times 10^6$  CFU/g and  $2.91 \times 10^7$  CFU/g in the rhizosphere of the Bousselam variety, (Figure 7A), and about  $1.19 \times 10^7$  CFU/g and  $2.30 \times 10^5$  CFU/g in the rhizosphere of the Boutaleb variety, (Figure 8B). Thus, for the B25 strain, taken individually or in association with the Pa strain, the enumerations were about  $2.10 \times 10^5$ ;  $4.73 \times 10^7$  and  $7.86 \times 10^6$ ;  $6.91 \times 10^6$  CFU/g in the rhizospheric soil of the Bousselam and Boutaleb varieties, respectively. Inside the roots, only the Pa strain existed at levels of  $1.08 \times 10^6$  and  $3.50 \times 10^6$  in Bousselam variety roots and  $9.33 \times 10^5$  CFU/g and  $2.22 \times 10^8$  CFU/g in Boutaleb variety roots. Unlike B25, the Pa strain was able to colonize roots and appeared to be an endophytic bacterium.



**Figure 7.** Survival of bacteria, Pa and B25 (Log N(CFU/g)), in (A) rhizosphere and (B) roots of wheat plants of the Bousselam and Boutaleb varieties, grown in sterile compost inoculated with Pa, B25, and Pa + B25. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey's multiple comparison post-test. ns: non-significant.

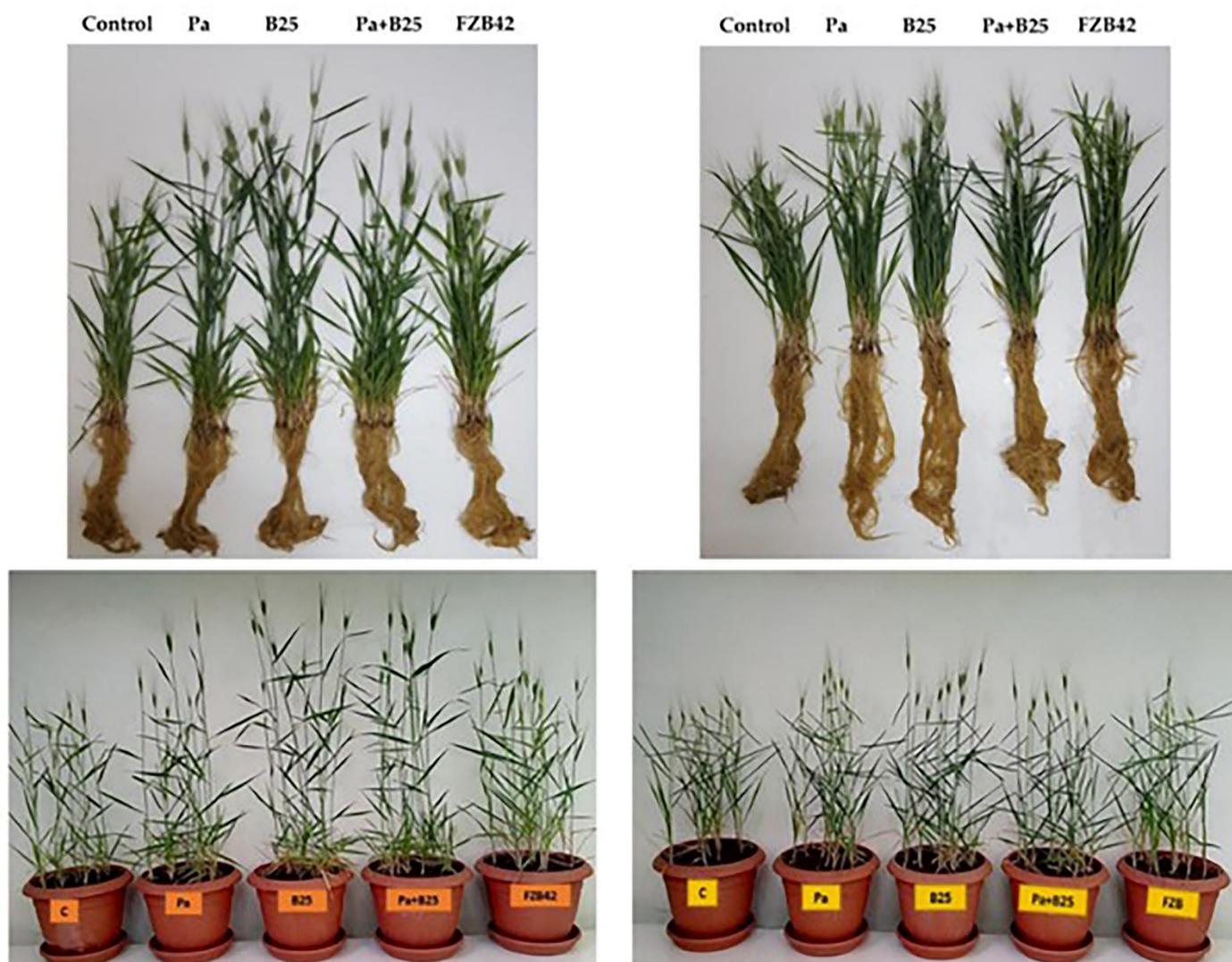


**Figure 8.** Effect of bacterial inoculation on (A,B) shoot and root length (cm), (C,D) shoot and root fresh weight (g), and (E,F) shoot and root dry weight of wheat plants grown on non-sterile soil of Bousselam and Boutaleb varieties. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey's multiple comparison post-test. Significant differences are displayed as: \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$ . ns: non-significant.

### 3.3. Effect of Inoculation and Co-Inoculation on Durum Wheat Plant Growth in non-Sterile Soil

#### 3.3.1. Morphological Parameters

Compared to sterile compost, in non-sterile soil, inoculation in all treatments significantly improved the morphological growth parameters in both wheat varieties (Figures 8 and 9) but with greater increases in plant height (Figure 8A,B) and root fresh weight (Figure 8C,D) in the Bousselam variety.

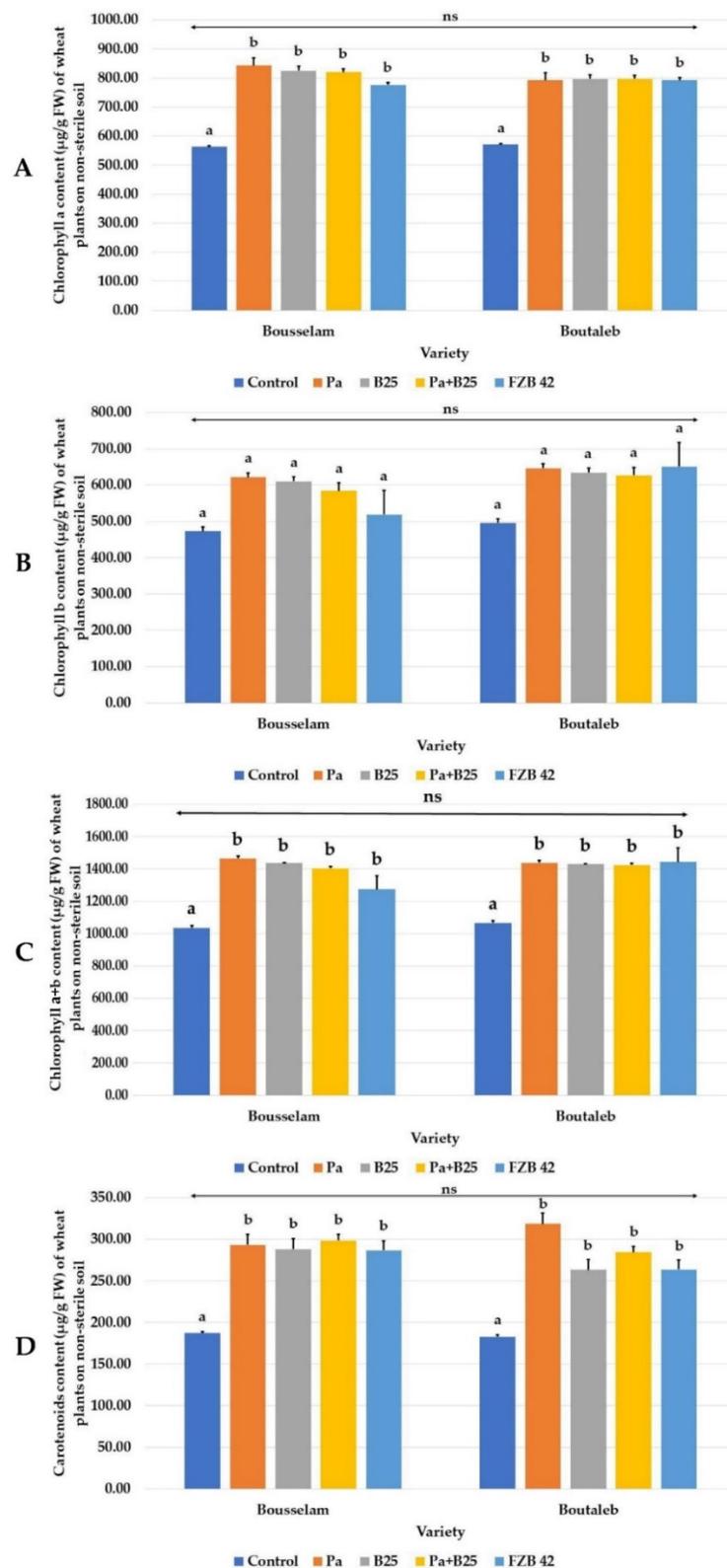


**Figure 9.** Effect of bacterial inoculation on *in vitro* wheat plants grown on non-sterile soil. Left: Bousselam variety. Right: Boutaleb variety.

### 3.3.2. Biochemical Parameters

#### Chlorophyll Pigments

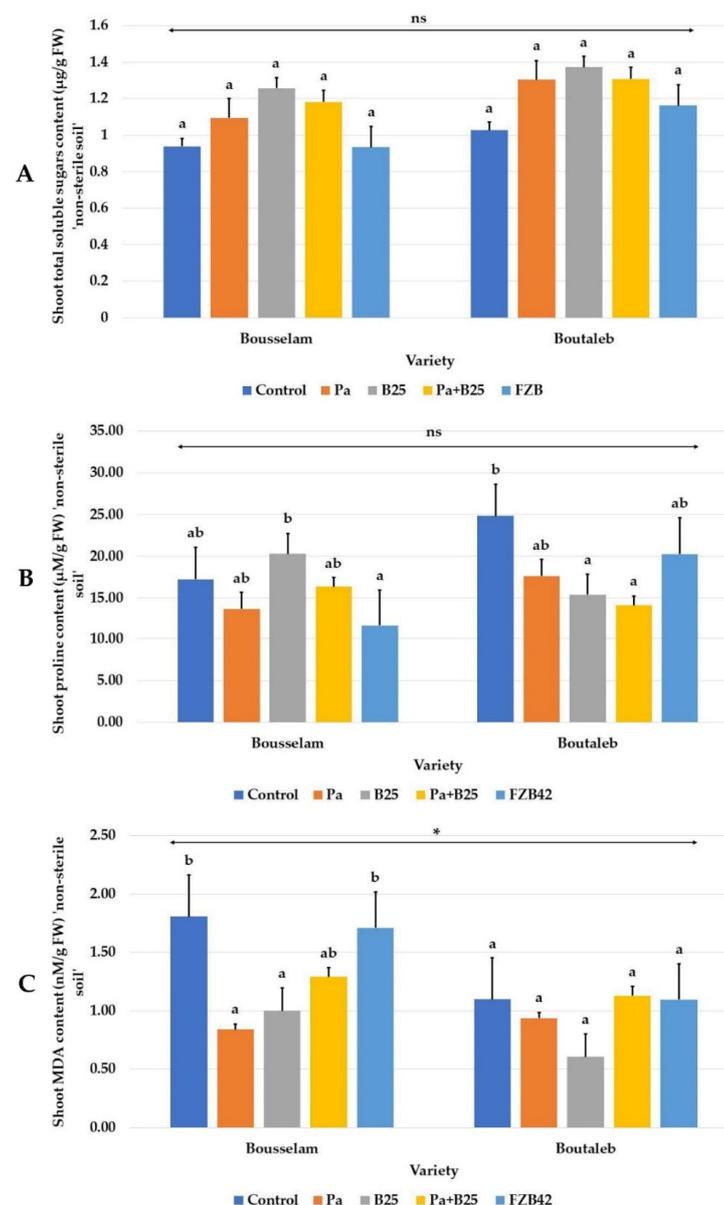
Bacterial inoculation resulted in significant increases in chlorophyll pigment levels, but the Pa strain performed best (Figure 10A–D). It should be noted that the effect of the variety on these biochemical parameters was not detectable.



**Figure 10.** Effect of bacterial inoculation on (A) chlorophyll a ( $\mu\text{g/g}$  FW), (B) chlorophyll b ( $\mu\text{g/g}$  FW), (C) chlorophyll a + b ( $\mu\text{g/g}$  FW), and (D) carotenoid ( $\mu\text{g/g}$  FW) contents of wheat plants grown on non-sterile soil of Bousselam and Boutaleb varieties. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey’s multiple comparison post-test. ns: non-significant.

### Total Sugars, Proline, and MDA

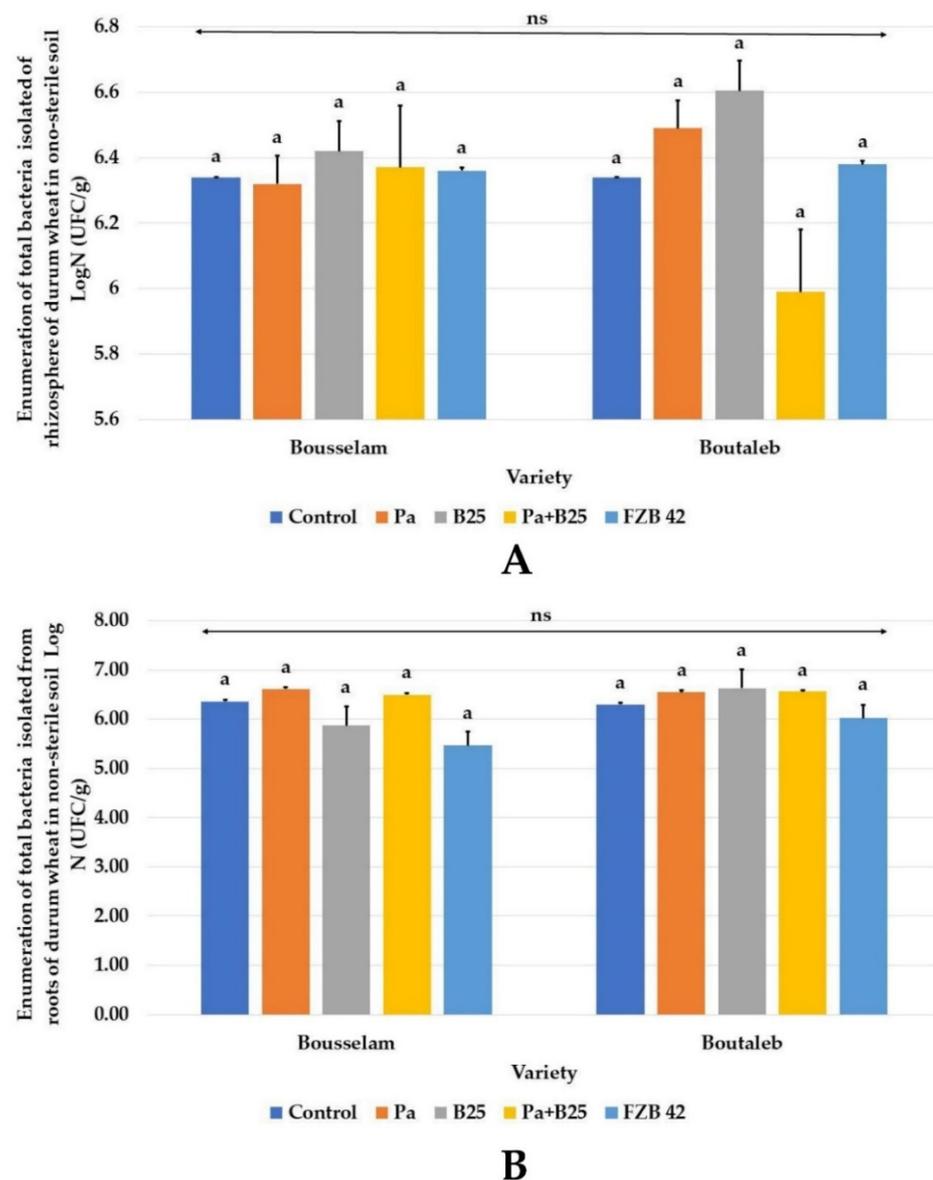
Inoculation had no significant effect on leaf total sugar content in either wheat variety (Figure 11A). Regarding leaf proline content, the results were mixed and variable depending on the wheat variety studied. A significant reduction in the concentration of this amino acid was obtained only with the FZB42 strain in the Boussemam variety, whereas in Boutaleb variety, this reduction was observed following the effect of the different inoculation treatments (Figure 11B). As for the leaf content in MDA, it was variable and depended on the variety used; it remained unchanged in the Boutaleb variety but decreased strongly in the Boussemam variety under the effects of the Pa and B25 strains, alone or in combination (Figure 11C).



**Figure 11.** Effect of bacterial inoculation on (A) shoot total soluble sugars content (mg/g FW), (B) shoot proline content ( $\mu\text{g/g FW}$ ), and (C) shoot malondialdehyde (MDA) content ( $\mu\text{M/g FW}$ ) of wheat plants grown on non-sterile soil of Boussemam and Boutaleb varieties. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey's multiple comparison post-test. Significant differences are displayed as: \*  $p < 0.05$ . ns: non-significant.

### 3.3.3. Effect of Inoculation on the Rhizobacterial and Endophyte Community Total Cultivable Bacterial Community

Evaluation of the total cultivable bacterial density of rhizospheric and endophyte communities of wheat roots under the effect of Pa, B25, FZB42, or Pa + B25 strains compared to that of non-inoculated plants revealed no significant differences in the two wheat varieties (Figure 12). Enumerations of total bacteria were in the range of  $10^5$  to  $10^6$  CFU/g of soil or root for rhizospheric bacteria and endophytes.

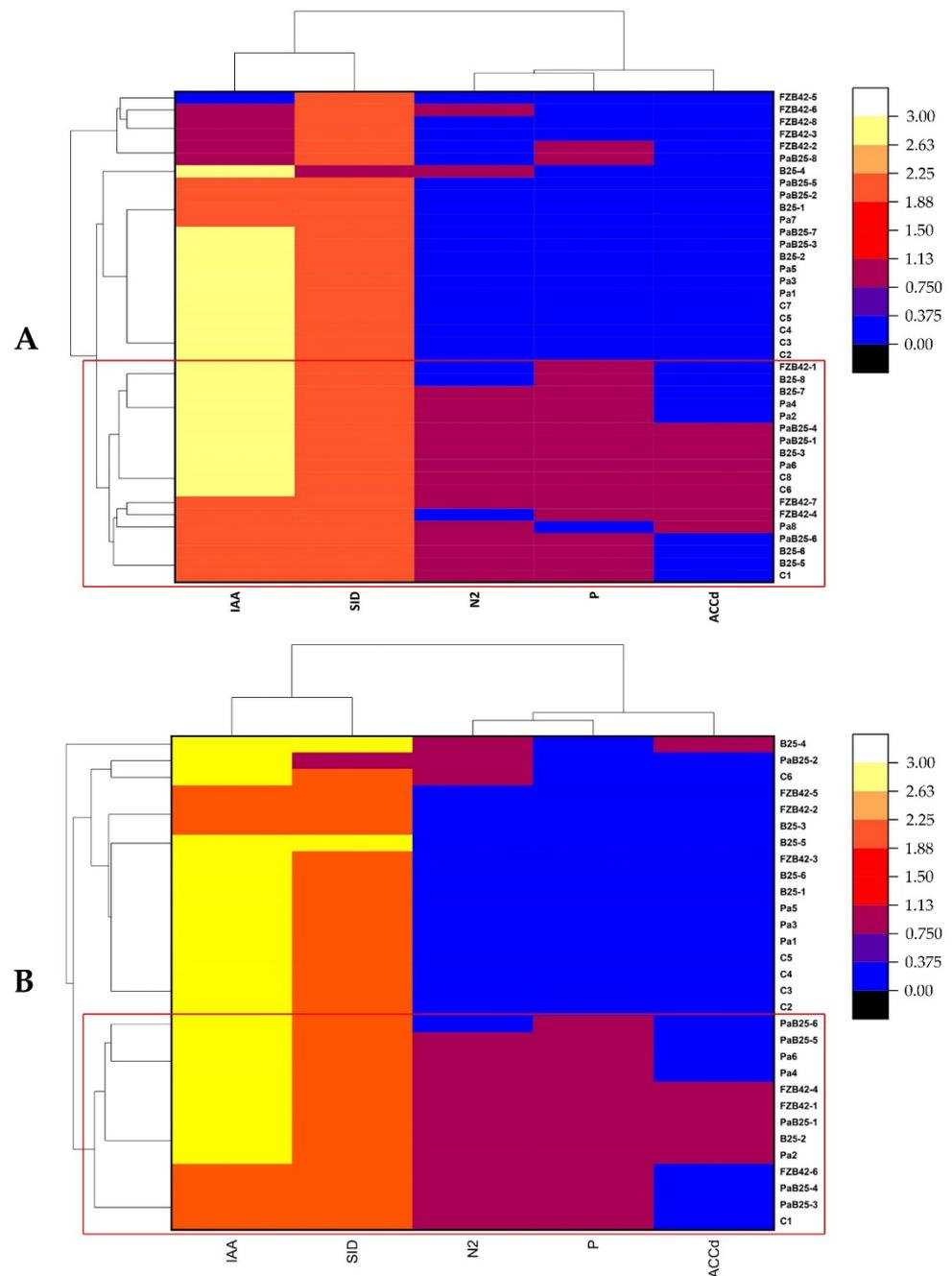


**Figure 12.** Enumeration of total bacteria isolates (Log N(CFU/g)) from **(A)** rhizosphere and **(B)** roots of wheat plants of Boussemam and Boutaleb varieties, grown in non-sterile soil inoculated with Pa, B25, Pa + B25 and FZB42. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey's multiple comparison post-test. ns: non-significant.

### 3.3.4. Cultivable PGPR Community

A set of 40 endophytic isolates from the roots of the Boussemam variety revealed that, among them, 15 isolates possessed all PGP activities—namely  $N_2$  fixation, IAA, siderophore, and ACC deaminase production. These isolates came from plants inoculated with PGPRs, namely B25 (n = 5), Pa (n = 4), and Pa + B25 (n = 3), FZB42 (n = 3). Only three

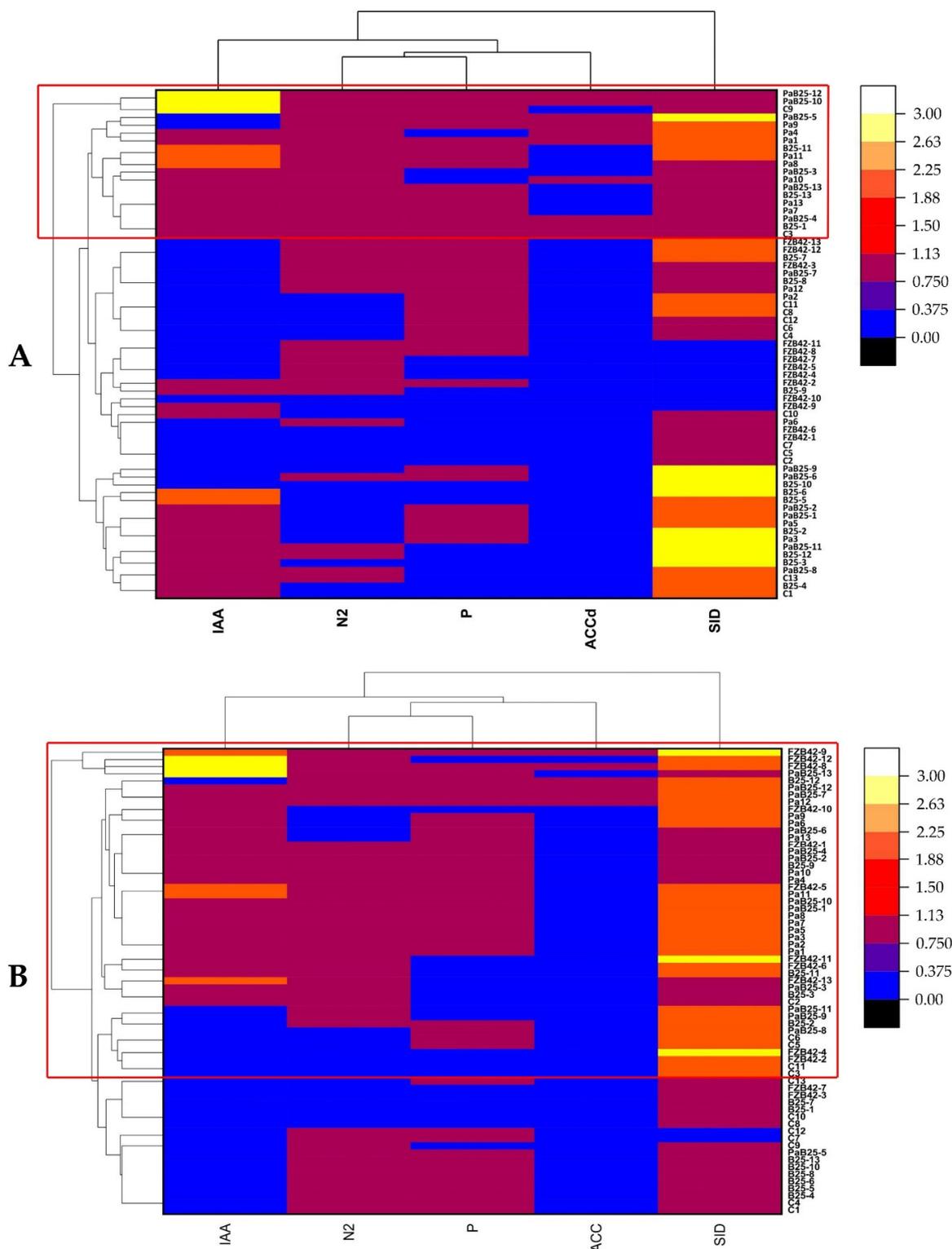
isolates were endophytes from non-inoculated plants (Figure 13 A). In the Boutaleb variety, a total of 30 isolates, including 6 isolates per treatment, were evaluated for their PGP activities. Thirteen isolates had all the PGP abilities, including five strains isolated from Pa + B25 inoculated roots, three from Pa and FZB42 inoculated roots, and only one strain isolated from B25 inoculated roots and non-inoculated roots (Figure 13B).



**Figure 13.** Clusters and heat map of endophytic bacteria from the durum wheat roots inoculated with Pa, B25, FZB42, and Pa + B25 and the expression of their PGP activities (IAA: indole acetic acid production, SID: siderophore production, N<sub>2</sub>: nitrogen fixation, P: phosphate solubilization, and ACCd: 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase production). (A) Bousselam variety; (B) Boutaleb variety.

In contrast to the endophytic isolates from the roots of the two wheat varieties, Bousselam and Boutaleb, the number of rhizospheric isolates was greater ( $n = 13$ ) for each treatment. Strains expressing the best PGP activities came from plants inoculated with Pa,

B25, and FZB42, or co-inoculated with Pa + B25, including 17 strains from the Boussemam variety and 35 from the Boutaleb variety (Figure 14A,B).

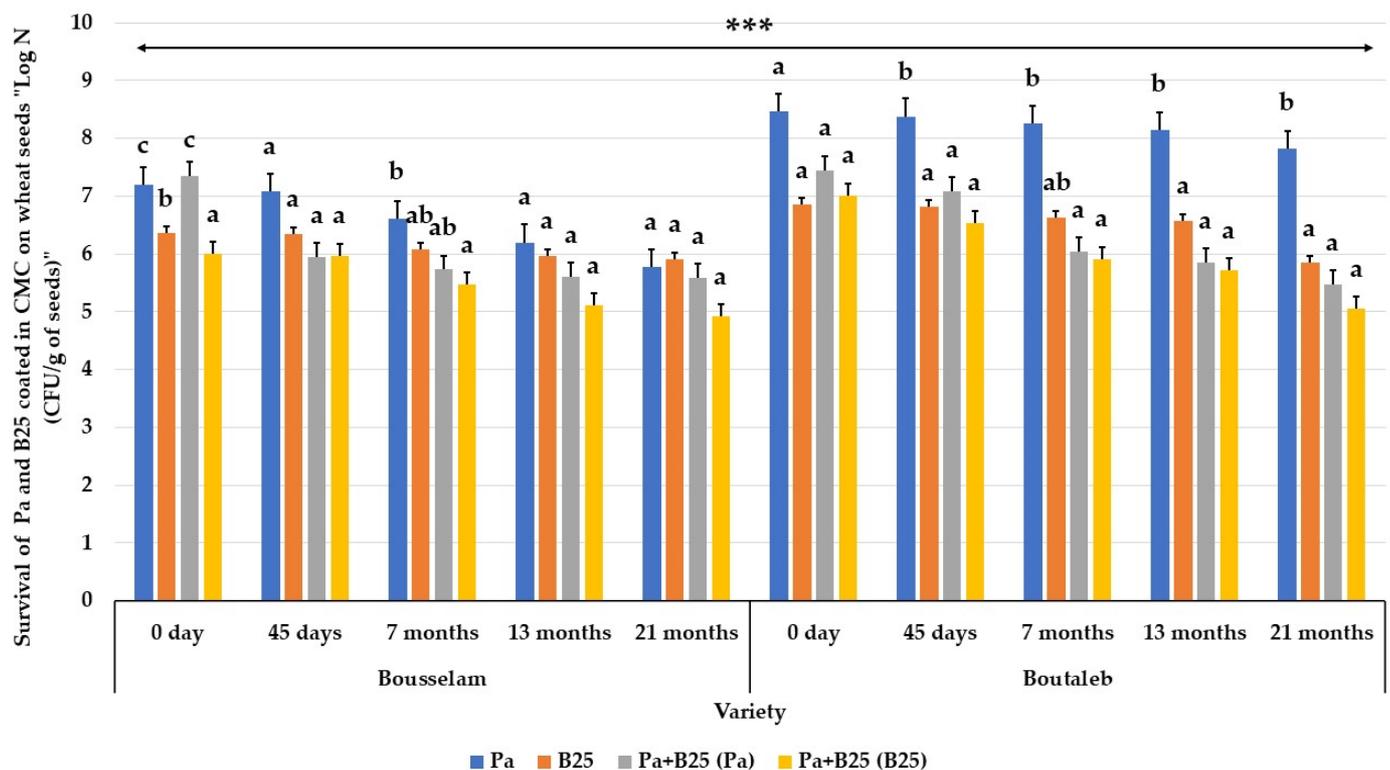


**Figure 14.** Clusters and heat map of bacteria isolated from rhizosphere of durum wheat inoculated with Pa, B25, FZB42, and Pa + B25 and the expression of their PGP activities (IAA: indole acetic acid production, SID: siderophore production, N<sub>2</sub>: nitrogen fixation, P: phosphate solubilization, and ACCd: 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase production). (A) Boussemam variety; (B) Boutaleb variety.

### 3.4. Effect of Storage on Bacterial Survival of Coated Inoculated Seeds

In both wheat varieties, the initial bacterial number of the two strains encapsulated with carboxymethyl cellulose (CMC), either individually or in consortium, was in the range of  $10^6$  to  $10^8$  CFU/g of seeds. The Pa strain appeared to be the more stable during seed storage at room temperature in both cases. Indeed, in the Bousselam variety, the enumerations of the Pa strain at T = 0 (0 days) were  $1.56 \times 10^7$  CFU/g in the mono-inoculation, and  $2.24 \times 10^7$  CFU/g in the co-inoculation. After 21 months, they reached  $6.05 \times 10^5$  and  $3.80 \times 10^5$  CFU/g, respectively (Figure 15). On seeds of the Boutaleb variety, the initial number was  $2.92 \times 10^8$  CFU/g in mono-inoculation, and  $2.79 \times 10^7$  CFU/g in consortium. After 21 months, this number reached  $6.70 \times 10^7$  and  $3 \times 10^5$  CFU/g, consecutively (Figure 15).

Concerning strain B25, its bacterial density on Bousselam seeds, at the beginning, was about  $2.3 \times 10^6$  CFU/g and  $7 \times 10^6$ . At 21 months, the B25 strain enumeration counts reached  $7.95 \times 10^5$  and  $7 \times 10^5$  CFU/g in both varieties. However, in consortium, the B25 strain had an initial density of  $1.04 \times 10^6$  on Bousselam variety seeds, and  $9.90 \times 10^6$  CFU/g on Boutaleb variety seeds. After 21 months, the number of cells decreased to  $8.55 \times 10^4$  and  $1.13 \times 10^5$  CFU/g for the two varieties, respectively (Figure 15).



**Figure 15.** Survival of bacteria, Pa and B25 strains (Log N(CFU/g)), in wheat seeds coated with CMC priming with Pa, B25, and Pa + B25 at different period (0, 45 days and 7, 13, and 21 months) of storage. The bar plots represent the mean  $\pm$  standard error of three different experiments. IBM SPSS Statistics v.24 was used to perform statistical analysis, using a two-way ANOVA and Tukey's multiple comparison post-test. Significant differences are displayed as: \*\*\*  $p < 0.001$ .

## 4. Discussion

In this study, the effects of PGPR inoculation on improving durum wheat plant growth was determined at different growth stages. Bacterial inoculants can be very promising by increasing beneficial traits and inducing dynamics in the soil microbial community for the proper functioning of agro-ecosystems.

The analysis of the germination of two varieties of durum wheat, Bousselam and Boutaleb, followed after treatment of the seeds by coating with CMC and with the bacteria Pa, B25, and their combination (Pa + B25). The effects of the inoculation did not reveal any significant impact on the germination parameters, except for the vigor indexes of length and dry weight of roots and leaves of the Boutaleb variety, which were significantly stimulated compared to the control. Similar results showed that the germination percentage was not influenced, but other parameters were affected following inoculation with strains of *Bacillus sphaericus* and *Rhizobium* [45]. The germination percentage was not influenced by the contribution of PGPR due to the fact that the seeds can germinate without any problem since they are not subjected to any stress. Seed bio-priming before the germination phase is a method used to improve seed germination under optimal or stressful conditions [46]. The positive impact of priming was found to be more pronounced under stress than in control samples [47]. Thus, other studies on the treatment of durum wheat seeds with bacterial strains of *Bacillus atropheus* and their combinations revealed a significant improvement in germination parameters under salt stress [14]. Moreover, according to Shweta et al. [48], strains of *Pseudomonas fluorescens*, used as groundnut inoculants, improved germination by up to 15% and 30% under biotic stress. Improved emergence and seedling vigor through PGPR inoculation is a prerequisite for better seedling establishment. Seed vigor and viability are important factors influencing seedling establishment, growth, and crop productivity [49]. The vigor index determines the health of the seedling and subsequently the productivity of the plant. The higher the vigor index, the better the yield of the plant.

In another aspect of the study and in order to test the direct effects of the bacterial strains on the plant growth of durum wheat, the coated seeds were sown in sterile compost under aseptic conditions. Inoculation had a significant influence on the growth and development of seedlings, unlike germination. Indeed, the growth parameters (root and leaf length, leaf and root fresh weight, and leaf dry weight) of the Boutaleb variety inoculated with Pa and B25 strains in mono- and co-cultures were improved. On the contrary, in the Bousselam variety, inoculation with the Pa strain alone or in consortium had a significant positive effect on all the morphological parameters, with the exception of root fresh weight. The immediate response to soil inoculation with PGPR varies widely depending on the bacterium, plant species, soil type, inoculum density, and environmental conditions [50]. PGPR must possess specific characteristics for their use as an effective bio-inoculant. They should be able to survive in the soil, compatible with the crop they are inoculated on, and interact with native soil microflora and abiotic factors [51].

The increase in plant growth under sterile conditions is due to the PGP activities of the two strains, Pa and B25. The use of strains with multiple PGP traits should help increase crop productivity on a sustainable basis [52]. Based on their metabolic activity and functional diversity, PGPR have a beneficial effect on plant growth. They help in the promotion of plant growth through nitrogen fixation, phosphate solubilization, and the production of essential plant hormones such as indole acetic acid (IAA), abscisic acid, cytokinin, etc. [53]. The *Pantoea agglomerans* strain, Pa, produced both siderophores and IAA and was found to be effective in phosphate solubilization, nitrogen fixation and in the production of ACC deaminase,  $\text{NH}_3$ , and HCN. The *Bacillus thuringiensis* strain, B25, was also able to fix nitrogen and produce  $\text{NH}_3$ , ACC deaminase, siderophores, and a small amount of IAA in addition to anti-fungal activity against several phytopathogenic fungi. IAA production has a cascading effect on plant development due to its ability to influence root growth, which in turn affects nutrient uptake and, ultimately, plant productivity [54]. This phytohormone is involved in tissue enlargement, division, differentiation, and plant cell responses to light and gravity [55].

However, the response of genotypes to inoculation is another parameter to consider. The intrinsic production capacity of the strain is under the influence of environmental factors [56]. A significant improvement in seedling growth by seed inoculation with the Pa strain attributed this effect to the production of bacterial phytohormones. Inoculation

increases the fresh and dry weight of shoots by more than 30% and 60%, respectively, after Bousselam and Boutaleb seeds coated with this strain were sown in sterile compost. In a similar study, Waha variety durum wheat seeds, treated with the Pa strain directly without a coating substrate and grown in sand pots, increased the same parameters by 6.66% and 23.25%, respectively [18]. This difference in growth would probably be due not only to the richness of the substrate but also to the positive impact of priming.

Biochemical parameters such as chlorophyll and total sugars were also improved. PGPR inoculation improves chlorophyll content in rice [52] and wheat [57]. While proline and MDA stressors were reduced. Inoculation of sunflowers (*Helianthus annuus*) with PGPR showed inhibitory effects on proline (62%), lipid peroxidation (64%), and anti-oxidant enzyme activity (67%) [58]. In addition, wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings inoculated with *Bacillus subtilis* 10-4 were characterized by a decrease in the level of stress-induced proline and MDA accumulation [59]. Similarly, *Pseudomonas putida* MTCC5279 ameliorated water stress in chickpea (*Cicer arietinum*) plants by modulating membrane integrity, osmolyte accumulation (proline, glycine betaine), and ROS scavenging capacity [60]. The effects of *Pantoea alhagi* LTYR-11ZT resulted in increased accumulation of soluble sugars, decreased proline and MDA accumulation, and decreased chlorophyll degradation in wheat leaves under water stress [61].

The enumeration results of the Pa and B25 strains present in the rhizosphere of sterile compost after 75 days of culture showed the survival of more than  $10^5$  CFU/g of the two bacteria (either in mono- or in co-culture) in the two wheat varieties. This demonstrated the bacterial support of the plant throughout the period of plant growth. It is evident that the Pa and B25 strains are able to survive in sterilized soil and compete with other microorganisms in the non-sterile root rhizosphere. The survival of the strains in the rhizosphere for up to 75 days represents an additional advantage, which allows the plants to take maximum advantage of the symbiotic relationship with the host and in the long term. Failure of PGPR in soil is a major problem due to their non-survival and insufficient effects on crop plants [62]. Crop response to applied bio-fertilizers can be very slow and sometimes unsuccessful as the inoculum will take time to concentrate and colonize the roots [51]. Indeed, maintaining sufficient activity of an inoculant population over an extended period after release often represents the main obstacle to the successful use of microbes as PGP agents [50]. A bio-inoculant is absolutely not effective if it reaches a minimum threshold [63]. It is conceivable that the colonization process is orchestrated by bacterial quorum sensing (QS) [64]. Once a beneficial microbial strain has been able to colonize a host plant, it might be able to display a wide range of activities, contributing to plant fitness [50]. The Pa strain was present inside the roots of both wheat varieties and has the ability to colonize the roots and be endophytic. The ubiquity of *P. agglomerans* as a plant-colonizing bacterium suggests that its long-term association with host plants is well established [64]. Quecine et al. [65] demonstrated that *P. agglomerans* 33.1, which was previously isolated from eucalyptus plants, was able to grow in sugarcane seedlings after systemic colonization. Analysis of the root microflora of soybeans and wheat showed the dominance of *Pantoea* spp., *Paraburkholderia* spp., and *Pseudomonas* spp. [66]. Strains of *P. agglomerans*, isolated as dominant endophyte diazotrophs from the seeds of deep-sea rice, have previously been reported as nitrogen-fixing anaerobic bacteria. Histochemical analysis of the hydroponically grown seedling showed that *P. agglomerans* colonized the root surface, root hairs, root cap, lateral root emergence points, root cortex, and stellate region [67]. Several other works have confirmed that the genus *Pantoea* is represented among plant endophytes, such as wheat [18,61,68], rice [69], sugarcane [70], and sweet potatoes [71].

*Bacillus* spp. are among the genera with the greatest potential for survival. Their ability to form spores thus increases the adaptation of strains to commercial formulation and application in the field. *Bacillus* are preferred as the commercially available PGPR due to the stability of inoculant and the ease of storage of the inoculant product [66]. They are used as bio-fertilizers to increase the productivity and sustainability of economic crops [72]. They protect the plant from several stress conditions through ISR, bio-film formation,

secretion of lipopeptides, siderophores, and exopolysaccharides. They also act as an effective denitrifying agent in the agro-ecosystem and maintain soil health through environmentally friendly remediation technologies [73].

Finally in a last aspect, the study was carried out on the plant growth of durum wheat in a non-sterile soil, using the same bacterial treatments (Pa, B25, and Pa + B25) but also testing the strain *B. velezensis* FZB42 [38] as a positive control. All the bacterial treatments significantly increased the morphological and biochemical parameters of the two wheat varieties compared to the un-inoculated control. Leaf and root length, fresh and dry weight, as well as chlorophyll content were improved by inoculation. It has been noticed that the Pa and B25 strains and the Pa + B25 consortium were effective bio-inoculants in improving the morphological parameters of wheat plant growth. Consortium application or single strain of PGPR for seed bacterization showed improvement in wheat plant growth [74]. The synergistic effects of PGPR inoculation led to an increase in the micro-nutrient content of wheat plants, which could be due to a positive effect enhancing the translocation of micronutrients from soils to plants [75].

The response of wheat to inoculation with Pa and B25 strains was variable between varieties; the difference in response may be a consequence of the specificity of the host plant. Plant interactions with PGPR strongly depend on the plant genotype [76]. Rice responds to ecologically distinct bacteria by altering its content of flavonoids and hydroxycinnamic acid derivatives [77]. Other studies reveal the variation in microbial community structure mainly based on the genotypic nature of the plant species and also on its geographical location [66]. It is now certain that plant genotype plays a crucial role in the assembly and function of rhizospheric microbiomes and in the selection of bacteria with PGP potential [78].

Improved plant growth in inoculated plants may be a result of the direct PGP activities of the strains used, as it may result from the stimulation of the beneficial rhizospheric bacterial community by PGPR strain inoculation [32].

The difference in the density of culturable bacteria in inoculated and non-inoculated soils was not significant. The density of the microbial community reflects a greater ecological stability of the rhizosphere [79]. These results were comparable to those obtained by Chaudhary et al. [80], who found that soil microbial community density was not significantly affected by bacterial inoculation. This is due to the structure of the rhizobacterial community, which is strongly influenced by the age of the plant. The inoculum of PGPR strains present on the seeds can alter the balance of the bacterial community in the early stages of plant growth [32]. The total bacterial population was high 30 days after planting and decreased with plant age [81].

A positive correlation exists between bacterial community profiles and plant data. An increase in plant yield after inoculation could affect the structure of the bacterial community through an increase in the rate of exudation at higher yields.

In this study, the inoculation increased the number of cultivable endophytic and rhizospheric strains having PGP activities compared to the control in the two wheat varieties. The maximum number of strains having the most PGP activity were isolated from the rhizosphere inoculated with the Pa strain, followed by the rhizosphere inoculated with the consortium Pa + B25 strains, in the two wheat varieties, then inoculated with the B25 and FZB42 strains. Similarly, in the endophytes, the roots of the inoculated plants harbor a number of strains possessing PGP activities greater than the control. Our bio-inoculants may therefore have altered the balance of the bacterial community towards the selection of beneficial populations [32]. The inoculated rhizobacteria likely induced growth hormones and other metabolites that encouraged the proliferation of other native bacteria. Microbial consortia acting in synergistic way have the potential to establish novel microbial communities in the rhizosphere and may result in new PGP effects [82]. According to Farzana et al. [81], *Klebsiella* inoculation can probably improve root growth and increase the secretion of root exudates. Inoculation with *Azospirillum lipoferum* CRT1 affected the size and taxonomic composition of functional communities involved in nitrogen fixation

(nifH) or ACC deamination (acdS) [31]. The structure of the soil bacterial community due to the application of *Bacillus thuringiensis* KNU-07 was significantly changed after six weeks post inoculation and increased the growth of pepper plants [83].

Thus, different plant species or genotypes can recruit specific microbiota through differences in root morphology and root exudation patterns [21]. In addition, the composition of root exudates and the structure of the root-associated microbial community are strongly affected by the growth stage of the plant. Early colonization of the rhizosphere could induce large differences in the structure of the rhizosphere community, and therefore affect plant growth [84]. This process, called the priority effect [85], is due to the advantages that early colonizers often have because they can use space and resources earlier than other micro-organisms and/or because they can produce physical barriers and/or antibiotics that slow the colonization of the plant by subsequent micro-organisms [86]. Functional microbiota can be inherited vertically through seeds [87], or horizontally through the environment. Bacterial diversification results from their ability to perform lateral gene transfer between disparate phylogenetic groups [88]. The growing number of microbial culture libraries can proliferate rapidly and have high mutation rates [89,90]. Individual microbes of the same species could potentially carry different genetic endowments and therefore different functional characteristics [91].

Exploring formulations that provide high cell densities of microbial inoculants and survival rates during storage is therefore a crucial step towards producing successful inoculants [92]. The viability of CMC-coated Pa and B25 strains on wheat seeds was tested for a shelf life of 21 months at room temperature. The initial bacterial load of Pa and B25 strains was more than  $10^7$  and  $10^6$ , respectively. After 45 days, the bacterial bio-mass remains almost the same, especially in monoculture. A slight decrease to  $10^6$  in the monoculture and  $10^5$  in the co-culture was observed after 7 and 13 months of storage. The number of viable cells in the formulations ranged from  $8.55 \times 10^4$  to  $6.7 \times 10^7$  CFU/g seed for 21 months, with a decline of 1 to 2 log<sub>10</sub>.

Similar results were observed during storage of the *P. ananatis* and *P. fluorescens* co-culture and showed sustained viability—counts decreased slightly but remained around  $10^6$  after 55 and 70 days of storage [54]. The bacteria showed good survival capacity during storage. *Bacillus amyloliquefaciens* and *B. pumilus* could also survive in sawdust, rice husks, and talcum powder bio-formulations at a density of  $7.0 \times \log_{10}$  CFU/mL for up to 9 months [93].

Individually coated bacterial strains were more stable and survived better compared to co-cultures. These results are in contrast with those from Anwar et al. [54], which showed that the bio-formulation of the co-culture CPP-2 (*P. ananatis* + *P. fluorescens*) was found to be slightly more stable and viable compared to the individual bacterial strains. These results unambiguously document that the strains Pa and B25 can be efficiently encapsulated on seeds using CMC and can survive on seeds for over a year at room temperature.

## 5. Conclusions

This study clearly showed that the bio-priming inoculation of durum wheat seeds with the bacterial strains Pa and B25, either alone or in combination, had significant positive effects on the plant growth parameters of durum wheat. These bio-inoculants significantly improved seed vigor, bio-mass, and leaf and root elongation in both wheat varieties. In addition, bio-formulation with CMC conferred the exceptional survival capacity of these bacteria to the seeds and into the rhizosphere of sterile compost. On the other hand, in the soil, these PGPR affected the microbiome by increasing the beneficial bacterial community of wheat. This suggests the need to better understand the mechanisms of the underlying plant growth promotion induced by these PGPR in the rhizosphere. Thus, the three-way interactions between PGPR inoculums, the native rhizosphere microbiome, and plant roots need to be studied in an integrative manner to understand the plant-

growth-promoting process and facilitate the application of these PGPR as a reliable component for managing sustainable agricultural systems.

**Author Contributions:** Conceptualization, N.S., A.S., H.C.-S., and L.B.; methodology, N.S., A.S., H.C.-S., L.L., S.B., and L.B.; software, A.C.B.; validation, N.S., A.S., H.C.-S., and L.B.; formal analysis, N.S., A.S., H.C.-S., A.C.B., and L.B.; investigation, N.S., A.S., H.C.-S., A.C.B., F.N.A., L.L., and L.B.; resources, F.N.A. and L.B.; data curation, N.S., S.B., and A.C.B.; writing—original draft preparation, N.S., A.S., and H.C.-S.; writing—review and editing, A.C.B., L.B., and H.C.-S.; visualization, L.L., A.S., H.C.-S., and L.B.; supervision, A.S., H.C.-S., and L.B.; project administration, A.S., H.C.-S., and L.B.; funding acquisition, L.B. and F.N.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Kogan, F. Food Security: The Twenty-First Century Issue. In *Remote Sensing for Food Security*; Sustainable Development Goals Series; Springer: Cham, Switzerland, 2019. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-96256-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-96256-6_2).
2. Prosekov, A.Y.; Ivanova, S.A. Food security: The challenge of the present. *Geoforum* **2018**, *91*, 73–77. <https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2018.02.030>.
3. Ma, Y. Seed coating with beneficial microorganisms for precision agriculture. *Biotechnol. Adv.* **2019**, *37*, 107423. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107423>.
4. Kong, Z.; Liu, H. Modification of Rhizosphere Microbial Communities: A Possible Mechanism of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Enhancing Plant Growth and Fitness. *Front. Plant Sci.* **2022**, *13*, 920813. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.920813>.
5. Tsatsakis, A.M.; Nawaz, M.A.; Tutelyan, V.A.; Golokhvast, K.S.; Kalantzi, O.-I.; Chung, D.H.; Kang, S.J.; Coleman, M.D.; Tyshko, N.; Yang, S.H.; et al. Impact on environment, ecosystem, diversity and health from culturing and using GMOs as feed and food. *Food Chem. Toxicol.* **2017**, *107*, 108–121. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.06.033>.
6. Panke-Buisse, K.; Poole, A.C.; Goodrich, J.K.; Ley, R.E.; Kao-Kniffin, J. Selection on soil microbiomes reveals reproducible impacts on plant function. *ISME J.* **2015**, *9*, 980–989. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.196>.
7. Shah, A.; Subramanian, S.; Smith, D.L. Seed Priming with *Devosia* sp. Cell-Free Supernatant (CFS) and Citrus Bioflavonoids Enhance Canola and Soybean Seed Germination. *Molecules* **2022**, *27*, 3410. <https://doi.org/10.3390/molecules27113410>.
8. Nezarat, S.; Gholami, A. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pak. J. Biol. Sci.* **2009**, *12*, 26–32. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.26.32>.
9. Kaymak, H.C.; Guvenc, I.; Yarali, F.; Donmez, M.F. The effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (*Raphanus sativus* L.) seeds under saline conditions. *Turk. J. Agric. Forest.* **2009**, *33*, 173–179.
10. Yang, J.; Klopper, J.W.; Ryu, C.M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* **2009**, *14*, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>.
11. Canbolat, M.Y.; Bilen, S.; Çakmakçı, R.; Şahin, F.; Aydın, A. Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *Biol. Fertil. Soils* **2006**, *42*, 350–357. <https://doi.org/10.1007/s00374-005-0034-9>.
12. Coban, O.; de Deyn, G.B.; van der Ploeg, M. Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. *Science* **2022**, *375*, abe0725. <https://doi.org/10.1126/science.abe0725>.
13. Saidi, S.; Cherif-Silini, H.; Chenari Bouket, A.; Silini, A.; Eshelli, M.; Luptakova, L.; Alenezi, F.N.; Belbahri, L. Improvement of *Medicago sativa* Crops Productivity by the Co-inoculation of *Sinorhizobium meliloti*–Actinobacteria Under Salt Stress. *Curr. Microbiol.* **2021**, *78*, 1344–1357. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02394-z>.
14. Kerbab, S.; Silini, A.; Chenari Bouket, A.; Cherif-Silini, H.; Eshelli, M.; El Houda Rabhi, N.; Belbahri, L. Mitigation of NaCl Stress in Wheat by Rhizosphere Engineering Using Salt Habitat Adapted PGPR Halotolerant Bacteria. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 1034. <https://doi.org/10.3390/app11031034>.
15. Khan, N.; Bano, A.; Babar, M.D. The stimulatory effects of plant growth promoting rhizobacteria and plant growth regulators on wheat physiology grown in sandy soil. *Arch. Microbiol.* **2019**, *201*, 769–785. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01644-w>.
16. Sumbul, A.; Ansari, R.A.; Rizvi, R.; Mahmood, I. Azotobacter: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi J. Biol. Sci.* **2020**, *27*, 3634–3640. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.004>.

17. Cakmakci, R.; Turan, M.; Kitir, N.; Gunes, A.; Nikerel, E.; Ozdemir, B.S.; Yildirim, E.; Olgun, M.; Topcuoglu, B.; Tufenkci, S.; et al. The role of soil beneficial bacteria in wheat production: A review. *Intech Open* **2017**, *7*, 115–149. <https://doi.org/10.5772/67274>.
18. Cherif-Silini, H.; Thissera, B.; Chenari Bouket, A.; Saadaoui, N.; Silini, A.; Eshelli, M.; Alenezi, F.N.; Vallat, A.; Luptakova, L.; Yahiaoui, B. Durum Wheat Stress Tolerance Induced by Endophyte *Pantoea agglomerans* with Genes Contributing to Plant Functions and Secondary Metabolite Arsenal. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 3989. <https://doi.org/10.3390/ijms20163989>.
19. Fitzpatrick, C.R.; Copeland, J.; Wang, P.W.; Guttman, D.S.; Kotanen, P.M.; Johnson, M.T.J. Assembly and ecological function of the root microbiome across angiosperm plant species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, E1157–E1165. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717617115>.
20. Chen, S.; Waghmode, T.R.; Sun, R.; Kuramae, E.E.; Hu, C.; Liu, B. Root-associated microbiomes of wheat under the combined effect of plant development and nitrogen fertilization. *Microbiome* **2019**, *7*, 136. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0750-2>.
21. Philippot, L.; Raaijmakers, J.M.; Lemanceau, P.; van der Putten, W.H. Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* **2013**, *11*, 789–799.
22. Zhang, Y.; Gao, X.; Shen, Z.; Zhu, C.; Jiao, Z.; Li, R.; Shen, Q. Pre-colonization of PGPR triggers rhizosphere microbiota succession associated with crop yield enhancement. *Plant Soil* **2019**, *439*, 553–567. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04055-4>.
23. Berendsen, R.L.; Pieterse, C.M.J.; Bakker, P.A.H.M. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* **2012**, *17*, 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>.
24. Di Salvo, L.P.; García de Salamone, I.E. PGPR Inoculation and Chemical Fertilization of Cereal Crops, How Do the Plants and Their Rhizosphere Microbial Communities' Response? In *Microbial Interventions in Agriculture and Environment*; Singh, D.P., Gupta, V.K., Prabha, R., Eds.; Springer Singapore: Singapore, 2019; pp. 123–148. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8383-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8383-0_4).
25. Martínez-Viveros, O.; Jorquera, M.A.; Crowley, D.E.; Gajardo, G.; Mora, M.L. Mechanisms and Practical Considerations Involved in Plant Growth Promotion by Rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2010**, *10*, 293–319. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000100006>.
26. Liu, W.; Jiang, Y.; Su, Y.; Smoak, J.M.; Duan, B. Warming Affects Soil Nitrogen Mineralization via Changes in Root Exudation and Associated Soil Microbial Communities in a Subalpine Tree Species *Abies fabri*. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2022**, *22*, 406–415. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00657-z>.
27. Hu, L.F.; Robert, C.A.M.; Cadot, S.; Zhang, X.; Ye, M.; Li, B.B.; Manzo, D.; Chervet, N.; Steinger, T.; van der Heijden, M.G.A.; et al. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 2738. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05122-7>.
28. Schlemper, T.R.; Leite, M.F.A.; Lucheta, A.R.; Shimels, M.; Bouwmeester, H.J.; van Veen, J.A.; Kuramae, E.E. Rhizobacterial community structure differences among sorghum cultivars in different growth stages and soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2017**, *93*, 1–11.
29. Smalla, K.; Wieland, G.; Buchner, A.; Zock, A.; Parzy, J.; Kaiser, S.; Roskot, N.; Heuer, H.; Berg, G. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: Plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Appl. Environ. Microbiol.* **2001**, *67*, 4742–4751. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4742-4751.2001>.
30. Macdonald, L.M.; Paterson, E.; Dawson, L.A.; McDonald, A.J.S. Short-term effects of defoliation on the soil microbial community associated with two contrasting *Lolium perenne* cultivars. *Soil Biol. Biochem.* **2004**, *36*, 489–498. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.11.001>.
31. Renoud, S.; Abrouk, D.; Prigent-Combaret, C.; Wisniewski-Dyé, F.; Legendre, L.; Moëgne-Loccoz, Y.; Muller, D. Effect of Inoculation Level on the Impact of the PGPR *Azospirillum lipoferum* CRT1 on Selected Microbial Functional Groups in the Rhizosphere of Field Maize. *Microorganisms* **2022**, *10*, 325. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020325>.
32. Roesti, D.; Gaur, R.; Johri, B.; Imfeld, G.; Sharma, S.; Kawaljeet, K.; Aragno, M. Plant growth stage, fertilizer management and bio-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. *Soil Biol. Biochem.* **2006**, *38*, 1111–1120. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.09.010>.
33. Ma, M.; Jiang, X.; Wang, Q.; Guan, D.; Li, L.; Ongena, M.; Li, J. Isolation and Identification of PGPR Strain and its Effect on Soybean Growth and Soil Bacterial Community Composition. *Int. J. Agric. Biol.* **2018**, *20*, 1289–1297. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34183-3>.
34. Kumar, M.; Mishra, S.; Dixit, V.; Kumar, M.; Agarwal, L.; Chauhan, P.S.; Nautiyal, C.S. Synergistic effect of *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* ameliorates drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Signal. Behav.* **2016**, *11*, e1071004. <https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1071004>.
35. Cherif-Silini, H.; Silini, A.; Yahiaoui, B.; Ouzari, I.; Boudabous, A. Phylogenetic and plant-growth-promoting characteristics of *Bacillus* isolated from the wheat rhizosphere. *Ann. Microbiol.* **2016**, *66*, 1087–1097. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1194-6>.
36. Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Rebers, P.A.; Smith, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* **1956**, *28*, 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
37. Rekik, I.; Chaabane, Z.; Missaoui, A.; Chenari Bouket, A.; Luptakova, L.; Elleuch, A.; Belbahri, L. Effects of untreated and treated wastewater at the morphological, physiological and biochemical levels on seed germination and development of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), alfalfa (*Medicago sativa* L.) and fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *J. Hazard. Mater.* **2017**, *326*, 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.12.033>.

38. Fan, B.; Wang, C.; Song, X.; Ding, X.; Wu, L.; Wu, H.; Gao, X.; Borriss, R. *Bacillus velezensis* FZB42 in 2018: The Gram-Positive Model Strain for Plant Growth Promotion and Biocontrol. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 2491. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02491>.
39. Pikovskaya, R.I. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* **1948**, *17*, 362–370.
40. Rabhi, N.E.H.; Cherif-Silini, H.; Silini, A.; Alenezi, F.N.; Chenari Bouket, A.; Oszako, T.; Belbahri, L. Alleviation of Salt Stress via Habitat-Adapted Symbiosis. *Forests* **2022**, *13*, 586. <https://doi.org/10.3390/f13040586>.
41. Schwyn, B.; Neilands, J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* **1987**, *160*, 47–56.
42. Slama, H.; Cherif-Silini, H.; Chenari Bouket, A.; Qader, M.; Silini, A.; Yahiaoui, B.; Alenezi, F.N.; Luptakova, L.; Triki, M.A.; Vallat, A.; et al. Screening for *Fusarium* Antagonistic Bacteria from Contrasting Niches Designated the Endophyte *Bacillus halotolerans* as Plant Warden Against *Fusarium*. *Front. Microbiol.* **2019**, *9*, 3236. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03236>.
43. Li, Z.; Chang, S.; Lin, L.; Li, Y.; An, Q. A colorimetric assay of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) based on ninhydrin reaction for rapid screening of bacteria containing ACC deaminase. *Lett. Appl. Microbiol.* **2011**, *53*, 178–185. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03088.x>.
44. Dworkin, M.; Foster, J. Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. *J. Bacteriol.* **1958**, *75*, 592–603.
45. Mia, M.B.; Shamsuddin, Z.H.; Mahmood, M. Effects of rhizobia and plant growth promoting bacteria inoculation on germination and seedling vigor of lowland rice. *Afr. J. Biotechnol.* **2012**, *11*, 3758–3765. <https://doi.org/10.5897/AJB09.1337>.
46. Jisha, K.; Vijayakumari, K.; Puthur, J.T. Seed priming for abiotic stress tolerance: An overview. *Acta Physiol. Plant.* **2013**, *35*, 1381–1396.
47. Ashraf, M.; Foolad, M.R. Pre-sowing seed treatment—A shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Adv. Agron.* **2005**, *88*, 223–271.
48. Shweta, B.; Maheshwari, D.K.; Dubey, R.C.; Arora, D.S.; Bajpai, V.K.; Kang, S.C. Beneficial Effects of Fluorescent *Pseudomonads* on Seed Germination, Growth Promotion, and Suppression of Charcoal Rot in Groundnut (*Arachis hypogea* L.). *J. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *18*, 1578–1583.
49. McDonald, M.B.; Copeland, L.O. *Seed Production: Principles and Practices*; Chapman and Hall: New York, NY, USA, 1997; pp. 757.
50. Arora, N.K.; Khare, E.; Maheshwari, D.K. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Constraints in Bioformulation, Commercialization, and Future Strategies. In *Plant Growth and Health Promoting Bacteria, Microbiology Monographs*; Maheshwari, D.K., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2010; pp. 97–116. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_5).
51. Basu, A.; Prasad, P.; Das, S.N.; Kalam, S.; Sayyed, R.Z.; Reddy, M.S.; El Enshasy, H. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability* **2021**, *13*, 1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>.
52. Bal, H.B.; Nayak, L.; Das, S.; Adhya, T.K. Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. *Plant Soil* **2013**, *366*, 93–105. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1402-5>.
53. Vandana, U.K.; Rajkumari, J.; Singha, L.P.; Satish, L.; Alavilli, H.; Sudheer, P.D.V.N.; Chauhan, S.; Ratnala, R.; Satturu, V.; Mazumder, P.B.; et al. The Endophytic Microbiome as a Hotspot of Synergistic Interactions, with Prospects of Plant Growth Promotion. *Biology* **2021**, *10*, 101. <https://doi.org/10.3390/biology10020101>.
54. Anwar, S.; Paliwal, A.; Firdous, N.; Verma, A.; Kumar, A.; Pande, V. Co-culture development and bioformulation efficacy of psychrotrophic PGPRs to promote growth and development of Pea (*Pisum sativum*) plant. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **2018**, *65*, 88–95. <https://doi.org/10.2323/jgam.2018.05.007>.
55. Cherif-Silini, H.; Silini, A.; Chenari Bouket, A.; Alenezi, F.N.; Luptakova, L.; Bouremani, N.; Nowakowska, J.N.; Oszako, T.; Belbahri, L. Tailoring Next Generation Plant Growth Promoting Microorganisms as Versatile Tools beyond Soil Desalinization: A Road Map towards Field Application. *Sustainability* **2021**, *13*, 4422. <https://doi.org/10.3390/su13084422>.
56. Valdebinito, M.; Crumbliss, A.L.; Winkelman, G.; Hantke, K. Environmental factors influence the production of enterobactin, salmochelin, aerobactin and yersinianbactin in *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *Int. J. Med. Microbiol.* **2006**, *296*, 513–520.
57. Laid, B.; Kamel, K.; Mouloud, G.; Manel, S.; Walid, S.; Amar, B.; Hamenna, B.; Faïçal, B. Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on In Vitro Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Growth Parameters and Biological Control Mechanisms. *Adv. Microbiol.* **2016**, *6*, 677–690. <https://doi.org/10.4236/aim.2016.69067>.
58. Khan, N.; Zandi, P.; Ali, S.; Mehmood, A.; Adnan Shahid, M.; Yang, J. Impact of Salicylic Acid and PGPR on the Drought Tolerance and Phytoremediation Potential of *Helianthus annuus*. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 2507. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02507>.
59. Lastochkina, O.; Pusenkova, L.; Yuldashev, R.; Babaev, M.; Garipova, S.; Blagova, D.; Khairullin, R.; Aliniaiefard, S. Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity. *Plant Physiol. Biochem.* **2017**, *121*, 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.020>.

60. Backer, R.; Rokem, J.S.; Ilangumaran, G.; Lamont, J.; Praslickova, D.; Ricci, E.; Subramanian, S.; Smith, D.L. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Front. Plant Sci.* **2018**, *9*, 17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>.
61. Chen, C.; Xin, K.; Liu, H.; Cheng, J.; Shen, X.; Wang, Y.; Zhang, L. *Pantoea alhagi*, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 41564. <https://doi.org/10.1038/srep41564>.
62. Baliyan, N.; Dheeman, S.; Maheshwari, D.K.; Dubey, R.C.; Vishnoi, V.K. Rhizobacteria isolated under field first strategy improved chickpea growth and productivity. *Environ. Sustain.* **2018**, *1*, 461–469. <https://doi.org/10.1007/s42398-018-00042-0>.
63. Sahu, P.K.; Brahma Prakash, G.P. Formulations of Biofertilizers—Approaches and Advances. In *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*; Singh, D., Singh, H., Prabha, R., Eds.; Springer: New Delhi, India, 2016. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2644-4\\_12](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2644-4_12).
64. Soluch, R.; Hübler, N.F.; Romero Picazo, D.; Özkurt, E.; Stukenbrock, E.H.; Dagan, T. Colonization dynamics of *Pantoea agglomerans* in the wheat root habitat. *Environ. Microbiol.* **2021**, *23*, 2260–2273. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15430>.
65. Quecine, M.C.; Araújo, W.L.; Rossetto, P.B.; Ferreira, A.; Tsui, S.; Lacava, P.T.; Mondin, M.; Azevedo, J.L.; Pizzirani-Kleiner, A.A. Sugarcane growth promotion by the endophytic bacterium *Pantoea agglomerans* 33.1. *Appl. Environ. Microbiol.* **2012**, *78*, 7511–7518.
66. Yadav, A.N.; Singh, J.; Rastegari, A.A.; Yadav, N. *Plant Microbiomes for Sustainable Agriculture, Sustainable Development and Biodiversity*; Springer: Cham, Switzerland, 2020. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-38453-1>.
67. Verma, S.C.; Ladha, J.K.; Tripathi, A.K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *J. Biotechnol.* **2001**, *91*, 127–141. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00333-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00333-9).
68. Amellal, N.; Burtin, G.; Bartoli, F.; Heulin, T. Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea agglomerans* strain and its effect on rhizosphere soil aggregation. *Appl. Environ. Microbiol.* **1998**, *64*, 3740–3747.
69. Feng, Y.; Shen, D.; Dong, X.; Song, W. In vitro symplasmata formation in the rice diazotrophic endophyte *Pantoea agglomerans* YS19. *Plant Soil* **2003**, *255*, 435–444.
70. Loiret, F.G.; Ortega, E.; Kleiner, D.; Ortega-Rodés, P.; Rodes, R.; Dong, Z. A putative new endophytic nitrogen-fixing bacterium *Pantoea* sp. from sugarcane. *J. Appl. Microbiol.* **2004**, *97*, 504–511.
71. Asis, C.A.; Adachi, K. Isolation of endophytic diazotroph *Pantoea agglomerans* and non-diazotroph *Enterobacter asburiae* from sweet potato stem in Japan. *Lett. Appl. Microbiol.* **2003**, *38*, 19–23. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01434.x>.
72. Modi, K.; Jha, S. *Bacillus consortia* as a Sustainable Approach for Plant Growth Promotion in Rice (*Oryza Sativa* L.). *Curr. Agric.* **2022**, *39*, 28–49.
73. Mahapatra, S.; Yadav, R.; Ramakrishna, W. *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: Dr. Jekyll and Mr. Hyde. *J. Appl. Microbiol.* **2022**, *132*, 3543–3562. <https://doi.org/10.1111/jam.15480>.
74. Kumar, P.; Thakur, S.; Dhingra, G.K.; Singh, A.; Pal, M.; Harshvardhan, K.; Dubey, R.C.; Maheshwari, D. Inoculation of Siderophore producing rhizobacteria and their consortium for growth enhancement of wheat plant. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2018**, *15*, 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.019>.
75. Kumar, A.; Maurya, B.R.; Raghuvanshi, R.; Meena, V.S.; Tofazzal Islam, M. Co-inoculation with *Enterobacter* and *Rhizobacteria* on Yield and Nutrient Uptake by Wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Alluvial Soil Under Indo-Gangetic Plain of India. *J. Plant Growth Regul.* **2017**, *36*, 608–617. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9663-5>.
76. Valente, J.; Gerin, F.; le Gouis, J.; Moëne-Loccoz, Y.; Prigent-Combaret, C. Ancient wheat varieties have a higher ability to interact with plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Cell Environ.* **2019**, *43*, 246–260. <https://doi.org/10.1111/pce.13652>.
77. Chamam, A.; Wisniewski-Dyé, F.; Comte, G.; Bertrand, C.; Prigent-Combaret, C. Differential responses of *Oryza sativa* secondary metabolism to biotic interactions with cooperative, commensal and phytopathogenic bacteria. *Planta* **2015**, *242*, 1439–1452. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2382-5>.
78. Arif, I.; Batool, M.; Schenk, P.M. Plant Microbiome Engineering: Expected Benefits for Improved Crop Growth and Resilience. *Trends Biotechnol.* **2020**, *38*, 1385–1396. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.04.015>.
79. Thébault, E.; Fontaine, C. Stability of ecological communities and the architecture of mutualistic and trophic networks. *Science* **2010**, *329*, 853–856.
80. Chaudhary, D.R.; Rathore, A.P.; Sharma, S. Effect of halotolerant plant growth promoting rhizobacteria inoculation on soil microbial community structure and nutrients. *Appl. Soil. Ecol.* **2020**, *150*, 103461. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103461>.
81. Farzana, Y.; Radziah, O.; Maziz, M.N.H. Yield and Nutrient Content of Sweet Potato in Response of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Inoculation and N Fertilization. *Jordan J. Biol. Sci.* **2020**, *13*, 117–122.
82. Tabacchioni, S.; Passato, S.; Ambrosino, P.; Huang, L.; Caldara, M.; Cantale, C.; Hett, J.; del Fiore, A.; Fiore, A.; Schlüter, A.; et al. Identification of Beneficial Microbial Consortia and Bioactive Compounds with Potential as Plant Biostimulants for a Sustainable Agriculture. *Microorganisms* **2021**, *9*, 426. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020426>.
83. Jo, H.; Tagele, S.B.; Pham, H.Q.; Kim, M.-C.; Choi, S.-D.; Kim, M.-J.; Park, Y.-J.; Ibal, J.C.; Park, G.-S.; Shin, J.-H. Response of Soil Bacterial Community and Pepper Plant Growth to Application of *Bacillus thuringiensis* KNU-07. *Agronomy* **2020**, *10*, 551. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040551>.
84. Werner, G.D.A.; Kiers, E.T. Order of arrival structures arbuscular mycorrhizal colonization of plants. *New Phytol.* **2015**, *205*, 1515–1524.

85. Fukami, T. Historical contingency in community assembly: Integrating niches, species pools, and priority effects. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **2015**, *46*, 1–23.
86. Wei, Z.; Yang, T.; Friman, V.P.; Xu, Y.; Shen, Q.; Jousset, A. Trophic network architecture of root-associated bacterial communities determines pathogen invasion and plant health. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8413.
87. Lemanceau, P.; Blouin, M.; Muller, D.; Moënne-Loccoz, Y. Let the Core Microbiota Be Functional. *Trends Plant Sci.* **2017**, *22*, 583–595. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.04.0>.
88. McDonald, B.R.; Currie, C.R. Lateral gene transfer dynamics in the ancient bacterial genus *Streptomyces*. *MBio* **2017**, *8*, e00644-17. <https://doi.org/10.1128/mBio.00644-17>.
89. Denamur, E.; Matic, I. Evolution of mutation rates in bacteria. *Mol. Microbiol.* **2006**, *60*, 820–827.
90. Mahapatra, S.; Rayanoothala, P.; Solanki, M.K.; Das, S. Wheat Microbiome: Present Status and Future Perspective. In *Phytobiomes: Current Insights and Future Vistas*; Solanki, M.K., Kashyap, P.L., Kumari, B., Eds.; Springer: Singapore, 2020; pp. 191–223. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-3151-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3151-4_8).
91. Sergaki, C.; Lagunas, B.; Lidbury, I.; Gifford, M.L.; Schafer, P. Challenges and approaches in microbiome research: From fundamental to applied. *Front. Plant Sci.* **2018**, *9*, 1205. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01205>.
92. Gautam, N. Seed Coating with Beneficial Microbes for Precision Farming. *Int. J. Mod. Agric.* **2021**, *10*, 6.
93. Chakraborty, U.; Chakraborty, B.N.; Chakraborty, A.P.; Sunar, K.; Dey, P.L. Plant growth promoting rhizobacteria mediated improvement of health status of tea plants. *Indian J. Biotechnol.* **2013**, *12*, 20–31.

**ملخص :** البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات (PGPR) هي بكتيريا خارجية يتم إدخالها في النظم البيئية الزراعية وهي تؤثر بشكل إيجابي على نمو النبات وتمثل بديل إيكولوجي لاستخدام المواد الكيميائية في الإنتاج الزراعي. تسلط هذه الدراسة الضوء على تأثير سلالتين من PGPR *Pantoea agglomerans* Pa و *Bacillus thuringiensis* B25 بشكل فردي أو متحدة على نمو صنفين من القمح القاسي بوسلام و بوطالب ، وعلى تكوين مجتمع البكتيريا الجذرية القابلة للزراعة وتنوعها ووظائفها. تم إجراء التلقيح عن طريق طلاء البذور بكاربوكسي ميثيل السليلوز. تم تقييم بقاء السلالات، على البذور، أثناء التخزين، في التربة الجذرية وفي الجذور. أظهرت النتائج أن الإنبات لم يتأثر بالتلقيح، بينما تحسنت الموصفات المورفو-بيوكيميائية بالتلقيح، في السماد المعقم، حيث لوحظت زيادات بأكثر من 24.78% في طول الجذور، 60% في الوزن الحي للجذور و 45% في الوزن الجاف لأوراق وجذور بوطالب. تمت زيادة محتويات الكلوروفيل أ ، الكلوروفيل الإجمالي والكاروتينويدات بشكل معتبر، خصوصا في بوسلام. بينما تم تقليل تلك الخاصة بالبرولين و MDA بشكل كبير تحت تأثير التلقيح في نفس الصنف. في التربة غير المعقمة ، أدى التلقيح بالسلالات Pa و B25 إلى تحسين طول الأوراق والجذور بأكثر من 22% ، والوزن الحي للأوراق والجذور بنسبة 30% في بوسلام. كما أدى التلقيح إلى زيادة محتوى أصباغ الكلوروفيل والسكريات الكلية في كلا الصنفين ، وخفض معدل البرولين و MDA في أوراق بوسلام. كان تأثير التلقيح والتلقيح المشترك على الكثافة البكتيرية للمجتمع القابل للزراعة ضئيلاً ، في حين تم تحسين تنوع البكتيريا الجذرية و البكتيريا الباطنية ذات أنشطة PGP ( إنتاج AIA ، ACC désaminase ، و Siderophores ، تثبيت النيتروجين وإذابة الفوسفات) بشكل ملحوظ.

**الكلمات المفتاحية :** PGPR ؛ التلقيح؛ القمح القاسي؛ ؛ الإنبات؛ نمو النبات؛ طلاء البذور.

**Résumé :** Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) sont des bactéries exogènes introduites dans les écosystèmes agricoles agissant positivement sur le développement des plantes et constituent une alternative écologique à l'utilisation de produits chimiques dans la production agricole. La présente étude met en évidence l'effet de deux souches PGPR *Pantoea agglomerans* Pa et *Bacillus thuringiensis* B25 individuellement ou en consortium sur la croissance de deux variétés de blé dur Bousselam et Boutaleb, et sur la composition, la diversité et la fonctionnalité de la communauté bactérienne de la rhizosphère cultivable. L'inoculation a été effectuée par l'enrobage des graines avec le carboxyméthyl cellulose. La survie des souches, sur les graines, durant la conservation, dans la rhizosphère et dans les racines a été évaluée. Les résultats ont montré que la germination n'était pas affectée par l'inoculation, alors que, les paramètres morfo-biochimiques sont améliorés par l'inoculation, dans le compost stérile, où des augmentations de plus de 24,78% dans la longueur des racines, 60% dans le poids frais des racines et 45% dans le poids sec des feuilles et des racines de Boutaleb ont été observés. Les teneurs en pigments chlorophylliens a, totale et caroténoïdes ont été augmentées significativement, essentiellement chez Bousselam. Alors que celles de la proline et de la MDA ont été réduites fortement sous l'effet de l'inoculation chez la même variété. Dans le sol non stérile, l'inoculation avec les souches Pa et B25 a amélioré les longueurs foliaire et racinaire de plus de 22%, et le poids frais des feuilles et des racines de 30% chez Bousselam. L'inoculation a augmenté aussi la teneur des pigments chlorophylliens et des sucres totaux chez les deux variétés, et a diminué le taux de proline et de la MDA dans les feuilles de Bousselam. L'effet de l'inoculation et de la co-inoculation sur la densité bactérienne de la communauté cultivable était négligeable, alors que la diversité de la population rhizobactérienne et endophyte ayant des activités PGP (production AIA, ACC désaminase et siderophores, fixation d'azote et solubilisation des phosphates) a été significativement améliorée.

**Mots clés :** PGPR; inoculation; blé dur; germination; croissance des plantes; enrobage des graines.

**Abstract :** Plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are exogenous bacteria introduced into agricultural ecosystems that positively affect plant development and are an ecological alternative to the use of chemicals in agricultural production. This study highlights the effect of two PGPR strains *Pantoea agglomerans* Pa and *Bacillus thuringiensis* B25 individually or in consortium on the growth of two durum wheat varieties Bousselam and Boutaleb, and on the composition, the diversity and functionality of the bacterial community of the cultivable rhizosphere. Inoculation was carried out by coating the seeds with cellulose carboxymethyl. The survival of strains on seeds during storage in the rhizosphere and in roots was assessed. The results showed that germination was not affected by inoculation, while morfo-biochemical parameters are improved by inoculation, in a sterile compost, where increases of more than 24.78% in root length, 60% in the fresh weight of the roots and 45% in the dry weight of the leaves and roots of Boutaleb were observed. Chlorophyll a, total and carotenoïdes pigment levels were significantly increased, mainly in Bousselam. While those of proline and MDA were greatly reduced by inoculation in the same variety. In non-sterile soil, inoculation with Pa and B25 strains improved leaf and root lengths by more than 22%, and fresh leaf and root weight by 30% in Bousselam. Inoculation also increased chlorophyll pigments and total sugars in both varieties, and decreased proline and MDA levels in Bousselam leaves. The effect of inoculation and co-inoculation on the bacterial density of the cultivable community was negligible, while the diversity of the rhizobacterial and endophyte population with PGP activities (AIA production, ACC deaminase and siderophores, nitrogen fixation and phosphate solubilization) has been significantly improved.

**Keywords :** PGPR; inoculation; durum wheat; germination; plant growth; seed coating.