

Faculté des bioingénieurs

Evaluation de l'effet biostimulant de consortia microbiens sur le développement du froment d'hiver en fonction de la variété (en serres) et du niveau de fumure organique (au champ)

Auteure : Justine D'Haene

Promoteurs : Pr. Stephan Declerck (UCL/SST/ELIM)
Dr. Brieuc Hardy (CRA-W)

Lecteurs : Dr. Maryline Calonne-Salmon (UCL/SST/ELIM)
Pr. Pierre Bertin (UCL/SST/ELIA)

Année académique 2021-2022

Mémoire de fin d'études présenté en vue de l'obtention du diplôme de
Bioingénieur : Sciences Agronomiques

« Nous n'héritons pas de la terre de nos ancêtres, nous l'empruntons à nos enfants »

Wendell Berry

Remerciements

Ce travail finalise à la perfection ces années d'études riches en rencontres et en apprentissages. Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce mémoire.

En premier lieu, j'aimerais remercier mes promoteurs, Pr. Stephan Declerck pour son accueil au sein du laboratoire et ses réflexions avisées et Dr. Brieuc Hardy pour son expertise, son suivi et ses précieux conseils éclairés.

J'aimerais également remercier mes lecteurs, Dr. Maryline Calonne pour tous ses précieux conseils, son aide au laboratoire et la lecture de ce travail ainsi que Pr. Pierre Bertin pour sa lecture et avoir accepté de faire partie du jury de mon mémoire.

Mes remerciements vont également à toutes les personnes du laboratoire de mycologie de l'UCLouvain et du centre TERRA de Gembloux, plus particulièrement à François Ferrais qui m'a aidée et conseillée avec bonne humeur tout au long de mon travail et Françoise Naveau qui m'a aidée avec gentillesse lors des arrachages et de l'analyse des échantillons. Leur aide a été précieuse et incalculable. Merci également à Félicie Goudot et Adrien Anckaert pour leur temps, leurs aides et leurs remarques avisées sur l'aspect bactérien des consortia.

Je tenais également à remercier le personnel du CRA-W, notamment l'équipe du semis des céréales et l'équipe du suivi de l'essai des Longs Tours, plus particulièrement Johan Verswijvel pour son aide. Je remercie également Hélène van der Smissen pour son aide lors des arrachages et ses recommandations.

Enfin, je remercie et suis infiniment reconnaissante pour l'aide morale et technique que m'a apportée ma famille ainsi qu'Antoine. Leur patience et leur soutien me sont inestimables.

Table des matières

Remerciements	I
Table des matières	III
Liste des figures	VI
Liste des tableaux	VIII
Liste des acronymes	X
Introduction	1
1. Etat de l’art	3
1.1. Le froment	3
1.1.1 Introduction	3
1.1.2 Cycle de développement	4
1.1.3 Importance et enjeux de la filière froment	5
1.2. Les champignons mycorhiziens.....	6
1.2.1. Définition et description.....	6
1.2.2. Cycle de développement	7
1.2.3. Rôles de la symbiose	9
1.2.4. Le phosphore, un élément essentiel aux symbiotes, importance et gestion durable	11
1.3. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR)	13
1.3.1. Définitions et description	13
1.3.2. Les bénéfices et modes d’action des PGPR	13
1.3.3. Azote : sol, plantes, PGPR et apports.....	16
1.4. Biostimulant.....	17
1.4.1. Définitions et généralités.....	17
1.4.2. Interaction CMA-PGPR	18
2. Objectifs et démarche	23
3. Matériel et méthode.....	25
3.1. Expérience en serres	25
3.1.1. Matériel biologique	25
3.1.2. Dispositif expérimental de l’expérience.....	26
3.1.3. Mesures	28
3.2. Expérience au champ.....	32
3.2.1. Matériel biologique	32
3.2.2. Développement de l’enrobage.....	33

3.2.3.	Evaluation de la viabilité des propagules au sein des graines enrobées.....	36
3.2.4.	Site d'étude.....	37
3.2.5.	Mise en place de l'expérience	40
3.2.6.	Stratégie d'échantillonnage	42
3.2.7.	Mesures	42
3.3.	Analyse statistique	43
4.	Résultats	47
4.1.	Expérience en serres	47
4.1.1.	Résultats de l'évaluation de la biomasse végétale aérienne et racinaire	47
4.1.2.	Résultats de l'évaluation des pourcentages de colonisation totale, arbusculaire et vésiculaire	49
4.1.3.	Evolution des densités bactériennes au cours des prélèvements.....	53
4.2.	Expérience en champ.....	55
4.2.1.	Viabilité des propagules contenues dans l'enrobage.....	55
4.2.2.	Nombre de propagules de CMA viables dans le sol	55
4.2.3.	Conditions de croissance de la culture	55
4.2.4.	Résultats de l'évaluation des taux de colonisation totale, arbusculaire et vésiculaire	56
4.2.5.	Evaluation de la dynamique de mycorhization au cours des prélèvements	62
4.2.6.	Rendement en grains	63
5.	Discussion	65
5.1.	Effet des consortia et des variétés sur la croissance du froment en conditions contrôlées	65
5.1.1.	Les consortia microbiens ont un impact nul ou négatif sur la production de biomasse aérienne	65
5.1.2.	Les consortia microbiens ont un impact nul ou positif sur la production de biomasse racinaire	66
5.1.3.	Les biomasses aériennes et racinaires varient largement en fonction des variétés	66
5.1.4.	Décroissance de la population de <i>Bacillus velezensis</i> GA1	67
5.1.5.	Dynamique de la colonisation totale	67
5.2.	Effet des consortia microbiens et des fumures sur la colonisation du froment au champ	69
5.2.1.	La quantité de propagules viables du site est intermédiaire	69

5.2.2.	La colonisation totale est supérieure pour les plantes traitées avec <i>R. irregularis</i> * <i>B. velezensis</i>	69
5.2.3.	Le traitement faible en phosphore disponible favorise la colonisation	70
5.2.4.	Les consortia microbiens n'améliorent pas les rendements en grains.....	71
5.2.5.	Les conditions environnementales influencent le développement du froment et sa colonisation racinaire	71
5.3.	Limites et perspectives	72
Conclusion.....		75
Bibliographie		77
Annexes		97
Annexe 1 : Compléments au matériel et méthode.....		97
Annexe 2 : Compléments aux résultats		98

Liste des figures

Figure 1. Echelle de Zadoks: stades phénologiques du froment d'hiver (Zadoks, 1974).....	4
Figure 2. Structures d'un CMA. Libellés: arbuscule (A), vésicule (V), hyphe de CMA (H)....	7
Figure 3. Représentation schématique de la mise en place d'une mycorhize à arbuscules (Parniske, 2008)	8
Figure 4. Représentation schématique des mécanismes utilisés par les PGPR (Garcia-Fraile et al.,2015).....	14
Figure 5. Représentation schématique du cycle de l'azote simplifié (Hofman et Cleemput, 2004).....	17
Figure 6. Représentation schématique des objectifs du mémoire	24
Figure 7. Représentation schématique du plan expérimental.....	26
Figure 8. Représentation schématique d'un bloc de l'expérience en serres.	27
Figure 9. Représentation d'un échantillon	27
Figure 10. Plan de semis.....	27
Figure 11. Lame destinée à l'observation au microscope	29
Figure 12. Représentation de l'évaluation du taux de colonisation racinaire par les CMA selon la méthode de Mc Gonigle (1990). Illustration tirée du syllabus du laboratoire de Mycologie (UCLouvain)	30
Figure 13. Observation des boîtes de Petri après 48h. A) Colonies de bactéries B) Observation de la fluorescence des bactéries marquées à la GFP au microscope	31
Figure 14. Représentation schématique de l'expérience en champ et des phases nécessaires à sa mise en place.....	32
Figure 15. Etat des semences. A. Avant enrobage, B. Après enrobage et séchage et C. Après enrobage, séchage et passage dans le semoir à grains.....	35
Figure 16. Bétonnière à laquelle un récipient a été fixé	36
Figure 17. Disposition de l'essai historique « matières organiques » situé sur la parcelle des Longs Tours du CRA-W et du "hors essai" disponible pour cette expérience.....	37
Figure 18. Maïs utilisé pour le MPN après 10 semaines de croissance	39
Figure 19. Représentation schématique de l'organisation de l'essai.	40
Figure 20. Semoir à grains utilisé pour le semis	41
Figure 21. Etat de la culture de froment aux quatre dates d'échantillonnages.....	42
Figure 22. Représentation schématique de l'analyse statistique.....	43
Figure 23. Poids sec aérien des variétés de froment non traitées (C0), traitées avec <i>R. irregularis</i> MUCL43194*B. <i>velezensis</i> (C1) et <i>R. irregularis</i> MUCL43194*P. <i>putida</i> BTP1 après 9 semaines de croissance en conditions contrôlées. Les différences significatives entre	

traitements sont représentées par les lettres grecques (α et β) pour le facteur consortium et par les lettres latines en minuscule (a, b et c) pour le facteur variété, selon les tests post-hoc (Tukey) effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements. 48

Figure 24. Dénombrement (CFU/g de racine sèche) de *B. velezensis* GA1 GFP après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment. Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α , β et γ) pour le facteur temps, selon les tests post-hoc effectués de Dunn ($p \leq 0,05$). L'absence d'indications indique l'absence de différences entre traitements. 54

Figure 25. Modélisation de la dynamique des stades phénologiques selon l'outil d'aide à la décision Phénoblé..... 56

Figure 26. Résultats des taux de colonisation totale des racines de froment par le CMA en champ le 11 avril 2022. Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α et β) pour le facteur consortium et par les lettres latines en minuscule (a et b) pour le facteur fumure, selon les tests post-hoc effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements. 58

Figure 27. Résultats des rendements en grains (kg/ha) corrigés à 15 % d'humidité en fonction des fumures et des consortia appliqués en champ. Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α et β) pour le facteur fumure, selon les tests post-hoc effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements. 63

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification du blé tendre (Linné, 1753)	3
Tableau 2. Caractéristiques des variétés de froment d'hiver utilisées pour l'expérience en serres. N.D.=non disponible, Conv.=Conventionnel et AB=Agriculture biologique. La qualité boulangère est caractérisée par 4 niveaux de Q1 à Q4. Une variété classée Q1 possède de bonnes qualités boulangères tandis qu'une variété classée Q4 possède peu de qualités boulangères. Les cotations maladies sont basées sur des observations visuelles pluriannuelles et exprimées sur une échelle de 1 à 9 sur laquelle une cote de 9 est la plus favorable. (Livre Blanc des Céréales, 2020a, 2021a).....	25
Tableau 3. Liste des essais réalisés pour l'enrobage des semences de froment.....	34
Tableau 4. Proportion pour l'enrobage d'un kg de semences de froment. Le consortium 0 correspond aux semences non enrobées. Les consortia 1 et 2 correspondent respectivement à <i>R. irregularis</i> * <i>B. velezensis</i> GA1 et <i>R. irregularis</i> * <i>P. putida</i> BTP1	35
Tableau 5. Mode opératoire des dilutions MPN à répéter 3 fois	39
Tableau 6. Itinéraire phytotechnique de la culture entre le 9 novembre 2021 et le 23 mai 2022	41
Tableau 7. Résultats des poids secs aériens et racinaires du froment après 6, 9 et 12 semaines de croissance en conditions contrôlées. C0 correspond au témoin négatif, C1 au consortium composé de <i>R. irregularis</i> MUCL43194* <i>B. velezensis</i> GA1 et C2 au consortium composé de <i>R. irregularis</i> MUCL43194* <i>P. putida</i> BTP1.....	47
Tableau 8. Résultats des pourcentages de colonisation totale par le CMA mesurés après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment en conditions contrôlées. Les résultats du traitements témoin (C0) n'ont pas été présentés en raison d'une colonisation nulle à tous les pas de temps.	49
Tableau 9. Résultats des pourcentages de colonisation arbusculaire par le CMA mesurés après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment en conditions contrôlées	51
Tableau 10. Résultats des taux de colonisation vésiculaire par le CMA mesurés après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment en conditions contrôlées	52
Tableau 11. Nombre de plantes colonisées (sur 3 répliques) en fonction du facteur de dilution selon la technique MPN pour le sol du hors essai	55
Tableau 12. Nombre le plus probable de propagules de CMA viables par gramme de sol calculé à partir des résultats de l'expérience de dilution selon la technique MPN.....	55
Tableau 13. Résultats des taux de colonisation totale des plantes prélevées en champ lors des quatre campagnes de prélèvements	57
Tableau 14. Résultats des taux de colonisation arbusculaire des plantes prélevées en champ lors des quatre campagnes de prélèvements.....	59

Tableau 15. Résultats des taux de colonisation vésiculaire des plantes prélevées en champ lors des quatre campagnes de prélèvements.....	61
Tableau 16. Résultats des taux de colonisation totale par les CMA en fonction des traitements et du consortium.	62
Tableau 17. Composition et préparation de la solution d'Hoagland (Hoagland et Arnon, 1950)	97
Tableau 18. Composition et préparation du milieu LB (lysogeny broth) avec chloramphénicol	97
Tableau 19. Dénombrement (CFU/g de racine sèche) de <i>B. velezensis</i> GA1 GFP après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment en conditions contrôlées.	98
Tableau 20. Résultats des rendements en grains (kg/ha) corrigés à 15% d'humidité en fonction des fumures et des consortia appliqués en champ.	99
Tableau 21. Résultats des analyses de la qualité des grains en fonction des fumures et des consortia appliqués au champ	100

Liste des acronymes

AIA = Acide indole-3-acétique

ACC = Enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylase

CA = Colonisation arbusculaire

CIPAN = Culture intermédiaire piège à nitrates

CMA = Champignons mycorhiziens à arbuscules

CRA-W = Centre wallon de Recherches agronomiques

CT = Colonisation totale

CV = Colonisation vésiculaire

GFP = Green Fluorescent Protein

K = Potassium

MPN = Most Probable Number

N = Azote

P = Phosphore

PGPR = Plant Growth Promoting Rhizobacteria

P_i = Phosphore inorganique

PMG = Poids de mille grains

PPA= Appareil de pré-pénétration

PPP = Produit phytopharmaceutique

S = Soufre

Zn = Zinc

Introduction

Actuellement, l'humanité fait face à de nombreux défis. D'ici 2050, la population globale devrait augmenter de 30% jusqu'à atteindre 9,2 milliards d'individus. Afin de nourrir cette population, la production alimentaire devrait augmenter de 70%, et cela dans un contexte de changement climatique et de disponibilité limitée en terres agricoles (Popp et al., 2013).

La production de céréales occupe une place importante pour répondre à l'augmentation de la demande en nourriture. Le riz, le blé et le maïs sont les trois commodités principales, apportant plus de 50% des calories consommées par la population mondiale. Une partie non négligeable de la production céréalière est destinée à nourrir le bétail et permet un apport calorique indirect (Awika, 2011).

Au cours de la révolution verte, l'augmentation de rendement a été en partie corrélée à l'utilisation croissante des pesticides et des fertilisants. Leurs avantages sont nombreux : réduction de la main d'œuvre, protection des cultures contre une partie des stress biotiques et abiotiques, sécurité alimentaire, etc. Cependant, les externalités négatives le sont aussi : impact sur la santé humaine et animale, pollutions de l'air, de l'eau et du sol, impacts sur les services écosystémiques et la biodiversité, apparition de résistances, etc. Ils ont un impact sur la santé des sols et celle de la microflore tellurique, éléments clés des écosystèmes agricoles.

Les intrants synthétiques sont généralement considérés comme un élément indispensable à l'agriculture intensive actuelle. La demande mondiale en engrais chimiques a augmenté de 1,9% par an entre 2012 et 2016 (Prashar et Shah, 2016). En 2019, la consommation des trois engrais synthétiques principaux (azote, phosphore et potassium) atteignait 215,37 millions de tonnes. Les engrais phosphatés sont les plus utilisés après les engrais azotés. Sur la totalité des engrais phosphatés utilisés, plus de la moitié serait perdue dans l'environnement amenant les problèmes cités précédemment (Ritchie et Roser, 2013).

L'usage de microorganismes est envisagé comme une des solutions permettant de se diriger vers une agriculture plus durable en diminuant la dépendance aux intrants synthétiques. Le marché des produits de biostimulation et de biocontrôle était estimé à 2,5-3,3 milliards d'euros en 2017 avec une croissance annuelle de 16% (Hardy, s. d.). Au niveau européen, la directive 2009/128/CE « encourage l'utilisation d'approches alternatives » dans le cadre d'une gestion durable des pesticides et des plans d'actions sont mis en place à travers l'Europe pour y arriver (Ravensberg, 2015).

Les agents de biostimulation ou de biocontrôle microbiens peuvent être utilisés seuls ou combinés sous forme de consortia. Utiliser un consortium de deux espèces différentes en tant que biostimulant permet de remplir des fonctions diverses au sein de la rhizosphère et des effets synergiques peuvent être observés. Récemment, des consortia à base d'un champignon mycorhizien à arbuscules (CMA) et d'une rhizobactérie favorisant la croissance des plantes (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria* - PGPR) ont montré des effets intéressants sur la croissance des plantes et la défense contre les pathogènes. (Santoyo et al., 2021).

Bien que le potentiel des agents de biostimulation et de biocontrôle soit de mieux en mieux connu, il existe un manque de connaissances sur leurs contraintes telles que leur efficacité et maintien au champ, leur réponse en fonction des conduites culturales, leur survie une fois formulés, etc.

Le projet MICROSOILSYSTEM prend place dans ce contexte, il a pour objectif la « réduction d'intrants par application de consortia microbiens formulés à finalité biostimulante et de biocontrôle adaptés au fonctionnement des sols en agriculture conventionnelle et de conservation ». Dans le cadre de ce mémoire, l'effet de biostimulation de deux consortia a été évalué sur froment. Un premier consortium était composé de *Rhizophagus irregularis* MUCL 43194 (CMA) et de *Bacillus velezensis* GA1 (PGPR) et un deuxième de ce même CMA et de *Pseudomonas putida* BTP1 (PGPR). L'effet de biostimulation a été évalué en serres sur cinq variétés. Cet effet a également été évalué au champ en agriculture conventionnelle sur trois niveaux de fumures avec des niveaux en phosphore disponible contrastés.

1. Etat de l'art

1.1. Le froment

1.1.1 Introduction

Les premières formes de blé correspondant au blé diploïde (génome AA) et au blé tétraploïde (génome AABB) ont été cultivées il y a environ 10 000 ans. Il y a environ 9000 ans, le blé hexaploïde panifiable (génome AABBDD) a permis le développement de la culture du blé (Shewry, 2009). L'évolution des génomes est en partie influencée par la domestication des espèces. Ainsi, l'apparition du blé hexaploïde (*Triticum aestivum*) a probablement été favorisée à la suite de la domestication de l'espèce *Triticum* par les agriculteurs (Chantret et al., 2005).

Le terme « blé » est un terme générique qui reprend le blé dur tétraploïde (*Triticum durum*) et le blé tendre hexaploïde (*Triticum aestivum*) ainsi que le grain produit par ces céréales. Le terme « froment » correspond uniquement au blé tendre. Le blé tendre et le blé dur sont des espèces du genre *Triticum*, les plus cultivées à travers le monde, correspondant à respectivement environ 95 % et 5% du blé cultivé. Le blé tendre a de nombreuses utilisations mais sert principalement à la production de farine, tandis que le blé dur sert majoritairement à la production de pâtes, couscous ou boulghour (Shewry, 2009).

Le froment est une plante monocotylédone annuelle de la famille des *Poaceae* dont la classification est détaillée dans le Tableau 1 (Linné, 1753).

Tableau 1. Classification du blé tendre (Linné, 1753)

Classification du blé tendre	
Règne	<i>Plantae</i>
Ordre	<i>Poales</i>
Famille	<i>Poaceae</i>
Genre	<i>Triticum</i> L.
Espèces	<i>Triticum aestivum</i>

Une classification supplémentaire permet de séparer le froment d'hiver et de printemps. Le froment de printemps a un faible besoin de vernalisation, son semis peut être effectué de février à début avril et sa récolte a lieu d'août à octobre. Le froment d'hiver a besoin d'une période de vernalisation, c'est-à-dire une exposition pendant une période définie à des températures basses, pour pouvoir faire la transition florale. Il est à noter qu'en plus du besoin ou non de vernalisation, le froment a besoin de jours longs pour effectuer la transition florale. En Belgique, la période de semis idéale du froment d'hiver s'étend du 15 octobre au 15 novembre. Un semis effectué avant le 10 octobre sera qualifié de précoce tandis qu'un semis effectué après le 15 novembre sera qualifié de tardif. Le froment d'hiver a en moyenne un rendement supérieur au froment de printemps en raison de sa période de croissance (Livre Blanc des Céréales, 2017).

Dans le cadre de ce mémoire, le froment d'hiver a été étudié.

Concernant le froment d'hiver, de nombreuses variétés existent. Le choix variétal est une étape importante pour l'agriculteur. Il tient compte de l'itinéraire cultural prévu, du rendement désiré en grains et en pailles, de la sensibilité aux maladies et à la verse et du type de commercialisation désiré (meunerie, fourrage, amidonnerie, etc) (Livre Blanc des Céréales, 2017).

1.1.2 Cycle de développement

Le cycle de développement du froment d'hiver a été décrit par Zadoks et al. (1974) via une échelle des étapes de développement, 100 étapes y sont détaillées. (Figure 1). Cette échelle peut être simplifiée en cinq périodes clés : germination/levée, tallage, montaison, épiaison et maturation (Hyles et al., 2020).

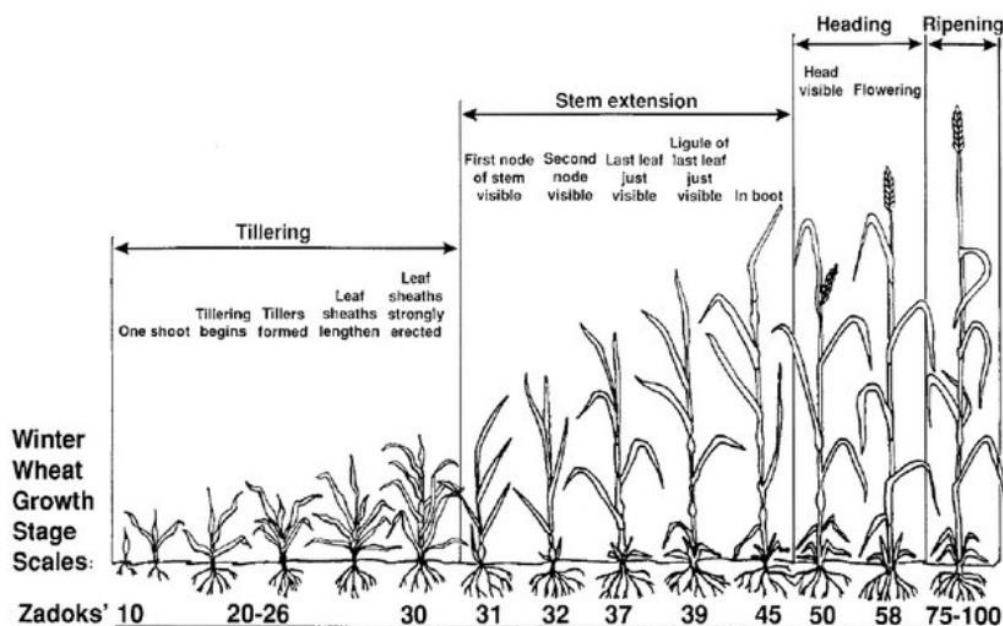


Figure 1. Echelle de Zadoks: stades phénologiques du froment d'hiver (Zadoks, 1974)

La phase de **germination/levée** débute après le semis, après la levée de dormance qui nécessite une phase d'hydratation et une température de base de 0°C. En moyenne, la germination se déclenche après 30 degrés jours¹. Il y a développement d'une racine séminale principale, de deux latérales et du rhizome. La croissance du rhizome est stoppée lorsque son apex atteint une profondeur d'1 à 2 cm. L'émergence de la première feuille, qui perce le coléoptile, sera suivie de l'émergence de la deuxième puis de la troisième feuille. Le rythme d'initiation des feuilles et la phase juvénile sont déterminés par la température du sol, l'apex étant situé dans le sol pendant toute la phase végétative (Abbasdokht, 2011).

La phase de **tallage** débute à la sortie de l'hiver. Les talles sont formées après le développement de trois feuilles visibles sur le maître brin. Les talles sont produites de façon séquentielle à partir des bourgeons situés à l'aisselle des feuilles, sous le niveau du sol. Il y a formation d'un plateau de tallage. Des talles secondaires peuvent également être produites. Le

¹ Degré jour : unité utilisée pour caractériser l'effet des températures au cours du temps sur le développement et la croissance d'une culture. Le degré jour représente, pendant une journée, l'influence, sur le développement d'une culture, d'un degré de température au-dessus de son seuil de développement. (INRA, 2012).

tallage est influencé par de nombreux facteurs : température, lumière, photopériode, nutrition, espacement entre les rangs, etc (Hyles et al., 2020).

La phase de **montaison** débute vers fin avril. L'allongement successif des entre-nœuds permet l'élongation de la tige principale. C'est une phase clé caractérisée par la transition de l'apex de la phase végétative à la phase reproductive. La production de primordia foliaires cesse et il y a différenciation des pièces florales. Lors de la montaison, les besoins nutritifs sont importants. La fin de la montaison est caractérisée par l'apparition de la dernière feuille et le gonflement de l'épi (Hyles et al., 2020).

La phase **d'épiaison** débute vers juin. Elle correspond au moment où la moitié des épis sont à 50% sortis de la gaine de la dernière feuille (Gate, 1995). Ensuite, il y a floraison et fécondation.

La phase **d'arrêt de croissance et de maturation du grain** a lieu en période sèche. Il y a eu remplissage des grains à partir de l'amidon stocké dans les feuilles et les tiges en majeure partie et, en moindre partie, grâce à la photosynthèse nette. Après le stade pâteux (45% d'humidité), le grain entre en phase de maturation. Il atteint son poids sec maximal et perd progressivement en humidité jusqu'à atteindre environ 15% d'humidité à pleine maturité. Il sera récolté à pleine maturité de mi-juillet à mi-septembre en fonction des variétés, des dates de semis et des conditions climatiques (Gate, 1995).

1.1.3 Importance et enjeux de la filière froment

Mondialement, le blé est la céréale la plus produite derrière le maïs. Environ 760 millions de tonnes ont été produites au total en 2020. Les plus gros producteurs de blé sont la Chine, l'Inde et la Russie. Ensemble ils fournissent 41% de la production mondiale totale. L'ensemble de la production des pays de l'Union européenne excède la production de l'Inde. En Belgique, la production était de 1,7 millions de tonnes en 2020 (FAO, 2021).

La majeure partie de la production mondiale est conventionnelle, raisonnée ou intensive. En 2017, le blé en culture bio ne couvrait que 0,19% des surfaces cultivées en blé à l'échelle mondiale (FWA et al., 2019).

A travers le monde, la filière des céréales fait face à des enjeux économiques, sociaux et environnementaux importants. La focalisation sera faite sur la filière à l'échelle wallonne.

Au niveau social et économique, l'enjeu est principalement celui de la rentabilité de la production. Les coûts de production ont augmenté de 20% entre 2011 et 2014. Cette augmentation est en grande partie due à l'augmentation du prix des produits phytopharmaceutiques (PPP) et des engrais. En parallèle, une variabilité du prix de vente a été observée causant, sur la période de 2011 à 2014, une diminution du gain moyen pour les agriculteurs (Antier et al., 2019).

Au niveau environnemental, la réduction des dommages environnementaux de la production agricole est un enjeu clé (Van Stappen, 2013). Les dommages causés par la production de froment en Région wallonne sont en partie dus à la production et l'usage d'engrais minéraux contribuant aux émissions de gaz à effet de serre (GES), à l'acidification

potentielle et à l'eutrophisation potentielle. Les PPP ont également un rôle dans ces dommages en causant des effets toxiques sur l'environnement (Antier et al., 2019).

Dans de nombreux pays, il y a un excès d'azote et de phosphore appliqué sur les surfaces cultivées. Selon West et al. (2014) sur les 17 principales cultures mondiales, il y a un excès d'environ 60% d'azote et 48% de phosphore. La quantité d'éléments excédentaires apportés est calculée comme la différence entre les apports en éléments nutritifs et le prélèvement de ceux-ci lors de la récolte des plantes.

Les pratiques agricoles ne sont pas figées dans le temps et des changements concernant l'utilisation des intrants sont possibles. Par exemple, en Wallonie, de 1995 à 2012, une diminution de 17% des engrais azotés et de 72% du phosphore minéral a été observée (Direction de l'Etat Environnemental, 2014). Pour la filière céréale en Wallonie, des scénarios ont été évalués pour 2050. Le scénario tendanciel, prolonge les tendances actuelles et prédit une diminution de la production céréalière de 10% d'ici 2050 en Wallonie. Ce changement serait accompagné d'une diminution de 12% des engrais minéraux phosphatés et d'une utilisation équivalente des engrais azotés (Antier et al., 2019).

Des études sont effectuées pour plus d'efficacité des engrais grâce à une réflexion sur le type d'engrais appliqué et son application dans l'espace et dans le temps (West et al., 2014). L'utilisation de micro-organismes bénéfiques aux plantes, comme les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) ou les 'rhizobactéries favorisant la croissance des plantes' (PGPR) pourrait permettre de réduire l'application des engrais, en culture biologique ou en culture conventionnelle. Ces microorganismes sont actuellement étudiés et développés comme des éléments clés vers une agriculture plus durable (Sammauria et al., 2020).

Ces deux micro-organismes associés aux racines des plantes ainsi que les bénéfices qu'ils apportent à l'hôte végétal sont décrits ci-dessous.

1.2. Les champignons mycorhiziens

1.2.1. Définition et description

La mycorhize est une association symbiotique entre un champignon mycorhizien et des plantes vasculaires terrestres (Basu et al., 2018). Les champignons réalisant ce type de symbiose sont subdivisés sur base de caractéristiques physio-anatomiques, écologiques et dorénavant moléculaires en deux groupes principaux : les ectomycorhizes et les endomycorhizes. Les ectomycorhizes sont caractérisées par une non-colonisation des cellules racinaires, les structures du champignon ne pénètrent pas dans les cellules végétales. Ces champignons forment des associations avec la plupart des espèces ligneuses. Les endomycorhizes ont la capacité de lyser les parois cellulaires et peuvent pénétrer dans les cellules racinaires. Elles colonisent un grand nombre de plantes telles que les angiospermes, les gymnospermes, les ptéridophytes, etc (Smith et Read, 2008).

Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) font partis des endomycorhizes, ils représentent le type le plus répandu de mycorhizes, pouvant s'associer avec la majorité des espèces agricoles et horticoles. Septante et un pourcent des espèces végétales réalisent naturellement ces associations symbiotiques avec des CMA (Brundrett et Tedersoo, 2018).

L'histoire de la symbiose entre CMA et espèce végétale est ancienne. L'origine des CMA est estimée à 400 millions d'années, ce qui coïncide avec l'apparition des plantes vasculaires terrestres, le rôle des CMA y a certainement été important (Taylor et al., 1995).

La grande majorité des CMA font partie du phylum des *Glomeromycota* contenant 4 ordres : les *Archaeosporales*, les *Diversisporales*, les *Paraglomerales* et les *Glomerales* (Stürmer et Kemmelmeier, 2021). Le CMA étudié dans ce mémoire est *Rhizophagus irregularis* MUCL43194 appartenant à l'ordre des *Glomerales*.

Les CMA sont caractérisés par leurs structures intraracinaires, les arbuscules étant formés dans les cellules du cortex racinaire (Figure 2). Les arbuscules sont des structures d'échanges entre le CMA et l'espèce végétale, ils peuvent prendre différentes formes (type Arum ou Paris). D'autres structures fongiques intraracinaires peuvent être citées : les hyphes intercellulaires et intracellulaires et les vésicules (Figure 2). Les vésicules sont des structures de stockage lipidique, présentes chez 80% des CMA et pouvant être observées entre les cellules racinaires ou à l'intérieur de celles-ci (Smith et Read, 2008). Les CMA forment également des structures extraracinaires telles que les hyphes, les spores et chez certaines espèces, des cellules auxiliaires (Peterson et al., 2004; Smith et Read, 2008). Il est à noter que certaines de ces structures peuvent être confondues avec des structures semblables appartenant à d'autres organismes fongiques ou endophytes tels que les endophytes septés foncés (*Dark septate endophytes*, (Getachew et al., 2019) ou les endophytes fins des racines (*Fine root endophytes*), champignons mycorhiziens à arbuscules appartenant au sous-phylum des Mucoromycotina (Orchard et al., 2017) et récemment renommés *Planticonsortium tenue* (Walker et al., 2018).

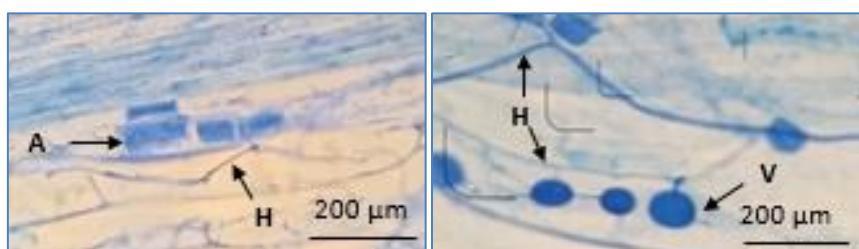


Figure 2. Structures d'un CMA. Libellés: arbuscule (A), vésicule (V), hyphe de CMA (H)

1.2.2. Cycle de développement

Les CMA sont des symbiotes obligatoires qui ne peuvent compléter leur cycle de vie et se reproduire sans une association symbiotique fonctionnelle avec un partenaire photoautotrophe (Giovannetti et al., 2010; Parniske, 2008).

Trois sources majeures d'inoculum sont identifiées pour la colonisation : les spores, les fragments racinaires précédemment colonisés, contenant des vésicules/spores et les hyphes extraracinaires provenant des plantes colonisées (plantes 'donneuses'). Le pourcentage de colonisation est corrélé à la densité de propagules présentes dans le sol mais la contribution de chaque type de propagule dans la colonisation reste difficilement quantifiable car elle varie en fonction des conditions du terrain (Smith et Read, 2008).

Trois phases sont distinctes dans la mise en place de l'association : la phase asymbiotique, la phase pré-symbiotique et la phase symbiotique (Figure 3).

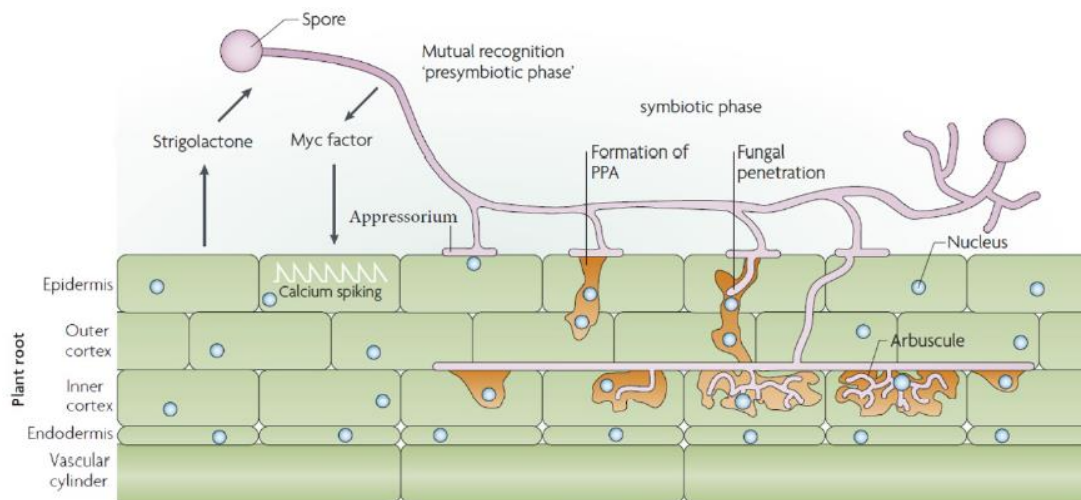


Figure 3. Représentation schématique de la mise en place d'une mycorhize à arbuscules (Parniske, 2008)

a. Phase asymbiotique

La spore présente dans le sol est en dormance ou en quiescence. La dormance est un état caractérisé par une impossibilité de germination due à des facteurs physiologiques et structuraux. La quiescence est un état caractérisé par une impossibilité de germination due à des facteurs environnementaux : physique et chimique (Tommerup, 1983).

La phase pré-symbiotique débute par la germination de la spore influencée par plusieurs facteurs (Giovannetti et al., 2010) :

- Facteurs physico-chimiques : pH, température, humidité, nutriments et matière organique
- La présence ou l'absence de plantes hôtes
- Les microorganismes de l'environnement

La germination est accompagnée par la formation d'un tube germinatif peu ramifié. La suite du développement du CMA dépend de la présence ou non d'un hôte à proximité (Giovannetti et al., 2010).

En absence d'un hôte, on parle alors de phase asymbiotique, le CMA ne poursuivra pas son développement, et ne pourra compléter son cycle de vie. La rétraction du protoplasme et la réallocation des ressources seront alors effectuées. Ce processus peut s'effectuer plusieurs fois (Smith et Read, 2008).

b. Phase pré-symbiotique

En présence d'un hôte, la suite du développement du CMA est stimulée par des métabolites secondaires excrétés par les racines végétales tels que les strigolactones (Akiyama et al., 2005; Besserer et al., 2006). Les strigolactones libérés dans la rhizosphère sont un indicateur de la localisation de l'hôte via un gradient de concentration. Ils induisent la

ramification et la croissance des hyphes (Parniske, 2008). Un échange chimique se met en place induisant des réponses spécifiques à la symbiose dans la racine hôte. Des molécules diffuses sont sécrétées par le CMA, les facteurs Myc. Deux facteurs Myc sont aujourd'hui identifiés : les lipochitooligosaccharides (LCOs) et les chaînes courtes de chitooligosaccharides (Genre et al., 2013; Maillet et al., 2011). Les facteurs Myc induisent chez l'hôte des modifications telles que des oscillations de Ca^{2+} dans les cellules épidermiques des racines et l'expression de certains gènes (Akiyama et al., 2005; Akiyama et Hayashi, 2006; Parniske, 2008).

La phase pré-symbiotique prend fin avec la formation de l'appressorium ou hyphopodium qui est une structure fongique d'ancrage aux cellules racinaires (Parniske, 2008).

c. Phase symbiotique

Quatre ou cinq heures après la formation de l'hyphopodium à la surface de l'épiderme, un appareil de pré-pénétration (PPA) est formé grâce à la migration des noyaux cellulaires végétaux et à une réorganisation des cellules (Figure 3). Le PPA est une structure tubulaire prédéterminant la voie de la croissance hyphale vers les cellules du cortex interne. Les hyphes vont croître en suivant le PPA et, au niveau du cortex interne, il y a formation de structures d'échanges privilégiées, les arbuscules (Figure 2) (Parniske, 2008; Smith et Read, 2008). Les arbuscules ont une durée de vie plus courte que les cellules végétales et sont généralement actifs entre 4 et 5 jours avant d'entrer en sénescence (Javot et al., 2007). Un réseau mycélien extraracinaire dense sera également formé ainsi que des spores et autres structures extraracinaires (Smith et Read, 2008).

1.2.3. Rôles de la symbiose

Pour profiter des bénéfices des CMA, certaines conditions sont requises étant donné que la population diminue avec l'utilisation excessive de produits chimiques, les rotations défavorables, la dégradation du sol, la pollution, etc. (Plenchette et al., 2005). Une gestion adaptée des pratiques agricoles pourrait permettre d'exploiter au mieux les bénéfices des CMA en appliquant, par exemple, une rotation avec des plantes mycotrophes, l'utilisation raisonnée d'intrants chimiques, l'introduction d'inoculants microbiens, etc. (Vosátka et Albrechtová, 2009).

Les principaux bénéfices connus de la symbiose entre la plante et le CMA sont décrits ci-dessous :

a. Approvisionnement en éléments carbonés pour le CMA

La **nutrition en carbone du CMA** provient en totalité ou en grande partie de la plante hôte (Jennings, 1995). Le flux de photoassimilats de la plante hôte est de 4 à 20% plus important vers les racines mycorhizées (Bago et al., 2000; Douds et al., 2000). Annuellement, 5 milliards de tonnes de carbone fluctuent via la symbiose, soulignant l'importance écologique et agricole de la symbiose au niveau mondial (Douds et al., 2000). En réponse à cet approvisionnement en éléments carbonés, le CMA fournit un ensemble de bénéfices à la plante hôte.

b. Amélioration de la nutrition minérale et hydrique chez la plante hôte

L'**amélioration de la nutrition minérale et hydrique** des plantes résulte de différents paramètres. L'augmentation du volume du sol exploré peut expliquer cette amélioration. En effet, les hyphes extraracinaires permettent une exploration au-delà de la rhizosphère allant jusqu'à explorer un volume de sol 40 fois plus important que les racines seules (Giovannetti et al., 2001). Cette exploration du sol décuplée s'explique notamment par le diamètre moyen de 3-4 μm des hyphes de CMA par rapport aux poils absorbants des racines ayant un diamètre en moyenne supérieur à 10 μm . De par leur taille, les hyphes extraracinaires peuvent ainsi coloniser la porosité fine du sol et ainsi occuper des niches non accessibles aux racines (Clark et Zeto, 2000; Smith et Read, 2008).

Cela se traduit généralement par un effet positif sur la croissance de l'hôte et une augmentation du contenu en minéraux (Barea et al., 2008; Cavagnaro et al., 2006; Lambers et al., 2008).

Les structures extraracinaires fongiques prélèvent du phosphore, de l'azote et des oligo-éléments clés tels que le zinc, le fer, le manganèse et le cuivre. L'amélioration de la nutrition phosphatée sera détaillée dans le point 2.2.4. L'azote est préférentiellement prélevé sous forme d'ions NH_4^+ par le CMA et son transport est permis par des transporteurs membranaires (Mustafa, 2015). Les oligo-éléments peu mobiles sont prélevés par les CMA et une augmentation des concentrations en Zn, Cu et Fe a été observée au niveau des parties racinaires de maïs en présence de *R. irregularis* par rapport aux témoins non colonisés (Liu et al., 2000)

c. Impact sur la qualité des sols

Les CMA ont un **impact positif sur la qualité des sols** via leur réseau extraracinaire et la sécrétion d'exsudats. Une meilleure agrégation des particules du sol et une stabilisation des agrégats est observée notamment grâce à la glomaline qui est une glycoprotéine libérée par les CMA (Rillig et al., 2003). Cela permet de réduire les risques d'érosion, de maintenir une structure du sol favorable à la croissance racinaire et de promouvoir une bonne dynamique de l'eau du sol en terme d'infiltration et de rétention (Mardhiah et al., 2016).

d. Atténuation des stress biotiques

De nombreuses études démontrent une augmentation de la **tolérance/résistance d'une plante hôte aux pathogènes fongiques et bactériens** grâce à la symbiose avec un CMA, ce qui explique l'intérêt des CMA en tant qu'agents de biocontrôle (Whipps, 2004). Les CMA ont également un intérêt pour le biocontrôle des nématodes (Schouteden et al., 2015).

Cette augmentation de résistance/tolérance peut s'expliquer par différents processus pouvant agir seuls ou en combinaison (Whipps, 2004). Parmi eux :

- La compétition pour l'espace et les sites de colonisation, pour les nutriments, dont les photoassimilats produits par la plante (Deshmukh et al., 2015; Larran et al., 2016)
- L'induction des mécanismes de résistances systémiques chez la plante (Pozo et Azcón-Aguilar, 2007; Singh et al., 2019)
- La modification de la microflore ayant un effet antagoniste sur les pathogènes racinaires due à une modification des exsudats racinaires (Dalpé, 2005; Harrier et Watson, 2004; Wehner et al., 2010)
- La compensation des dégâts dus aux pathogènes via l'amélioration de la nutrition hydrique et minérale de la plante (Barea et Azcón-Aguilar, 1997; Harrier et Watson, 2004).

e. Atténuation des stress abiotiques

De façon générale, les CMA améliorent la résistance/tolérance des plantes face aux stress abiotiques (Plouznikoff et al., 2016). Les stress abiotiques concernés sont la sécheresse, la salinisation des sols et les polluants tels que les éléments traces métalliques (Alaux, 2020). Différents mécanismes sont impliqués comme l'amélioration de la nutrition, l'accumulation de composés bénéfiques, l'atténuation des stress oxydatifs, la modification de l'architecture végétale, la chélation et l'inactivation des polluants (Plouznikoff et al., 2016).

Au vu de ces bénéfices, les CMA sont considérés comme des outils durables et efficaces, notamment en tant que biostimulants, pour améliorer la tolérance des plantes aux stress abiotiques et assurer un rendement stable dans des conditions de faible apport en N et P (Rouphael et Colla, 2020). Les biostimulants seront développés dans la section 1.4.

1.2.4. Le phosphore, un élément essentiel aux symbiotes, importance et gestion durable

a. Le phosphore dans le sol et son absorption par les plantes

Le phosphore est un élément essentiel pour les plantes (Kruse et al., 2015). Il est présent abondamment dans l'environnement principalement sous forme d'orthophosphate inorganique (P_i). Dans le sol, les anions P_i forment des complexes fortement insolubles avec les oxydes de fer et d'aluminium en conditions acides et précipitent sous forme calcique à des pH alcalins. En conséquence, la meilleure fenêtre de disponibilité du P se situe entre un pH de 6 à 7. Le P

peut également être présent sous forme de phosphate organique (P_o) (Holtan et al., 1988; Javot et al., 2007).

Les plantes prélèvent le P_i principalement sous forme d' $H_2PO_4^-$ et d' HPO_4^{2-} (Bieleski, 1973; Javot et al., 2007). La formation de complexes insolubles avec le fer et l'aluminium particulièrement sur sols acides, le rend peu disponible pour les plantes (Vance et al., 2003). La quantité de P_i disponible dans la solution du sol est faible avec des concentrations de 1-10 mM, généralement limitante pour les plantes (Bieleski, 1973; Vance et al., 2003). De plus, le phosphore est très peu mobile dans le sol en comparaison à d'autres nutriments. Une zone d'épuisement est donc formée rapidement autour de l'épiderme et des poils racinaires à la suite de l'acquisition directe du phosphore par la plante (Shapiro et al., 1960).

Afin de contrer cette faible disponibilité en P_i , les plantes ont mis en place différentes stratégies. Une première stratégie consiste à maximiser l'accès au P_i disponible en augmentant l'interface racine-sol grâce aux poils racinaires et à leur croissance influencée par le gradient en P (Bates et Lynch, 1996; Ma et al., 2001). Une seconde stratégie consiste en la sécrétion d'acides organiques pour solubiliser le P_i et en la sécrétion de phosphatases pour permettre la minéralisation du P_o en P_i . Une troisième stratégie est l'association symbiotique (Javot et al., 2007; Vance et al., 2003).

b. Impact de la symbiose mycorhizienne

L'association symbiotique avec un CMA permet à la plante d'acquérir du P_i . Cela peut s'expliquer par l'exploration plus importante du volume du sol et par le diamètre des hyphes inférieur à celui des racines comme développé dans la section 1.1.3.b.. En plus de ces caractéristiques, les CMA excrètent des molécules d'intérêts afin d'augmenter la disponibilité du P tels que des agents chélateurs sur sol acide ou des molécules permettant l'acidification sur sol neutre ou basique (Grant et al., 2005). La quantité de phosphore fourni par le CMA à la plante est variable d'un faible pourcentage à la totalité du phosphore acquis (Javot et al., 2007).

Le transport de P_i débute avec son prélèvement du sol et la translocation au cytoplasme fongique via des protéines de transport tels que les symporteurs $P_i:H^+$ qui sont principalement présents au niveau des hyphes extraracinaires. Une fois dans le cytosol, ce P_i est transformé en adénosine triphosphate (ATP) dans les mitochondries. Ensuite, cette ATP est accumulée dans les vacuoles fongiques sous forme de granules polyphosphates (poly-P). Il est alors soit stocké sous cette forme, soit utilisé par le CMA, soit transporté vers les arbuscules. Le transport des poly-P vers les hyphes intraracinaires s'effectuerait via un flux cytoplasmique et/ou via un système de vacuoles tubulaires mobiles (32,33). Les mécanismes impliqués dans l'efflux de P_i au niveau des arbuscules sont encore peu connus. La présence de chaînes de poly-P plus courtes dans les racines mycorhizées par rapport aux chaînes présentes dans les hyphes extraracinaires serait due à une hydrolyse par des enzymes fongiques de type phosphatase. Après hydrolyse, des transporteurs permettraient l'export vers le cytosol et une protéine d'efflux le transfère vers l'espace péri-arbusculaire. Différents transporteurs entreraient ensuite en jeu pour effectuer le transport vers les cellules végétales (Ferrol et al., 2019).

c. Impact du phosphore sur la colonisation

Le P a un impact sur la colonisation par le CMA. En effet, lorsque la teneur en P disponible dans la solution du sol augmente, il y a une augmentation du contenu de P dans les cellules végétales et une diminution de la colonisation racinaire est observable. Cela a été montré dans diverses études (Al-Karaki et Clark, 1999; Kahiluoto et al., 2001; Maartensson et Carlgren, 1994). L'hypothèse expliquant cela est le coût en carbone pour la plante, il y aurait un arrêt du transfert de C de la plante vers le CMA lorsque la concentration en P disponible dépasse un certain seuil (Javot et al., 2007; Kahiluoto et al., 2001). La fertilisation phosphatée, même modérée (45 kg/ha/an), a donc un impact sur le taux de colonisation (Kahiluoto et al., 2001).

d. Gestion durable du phosphore

Le P étant un élément limitant et peu disponible pour les plantes, il est généralement appliqué au champ via des fertilisants. Cela pose un problème aussi bien dans les pays en développement que dans les pays développés en raison de la rétention par le sol qui entraîne avec le temps des pertes par érosion hydrique, source d'eutrophisation des milieux aquatiques. De plus, les ressources en phosphate sont limitées et l'utilisation des engrais contenant du P augmente fortement depuis 1960 (Vance, 2001). Une raréfaction de la ressource et un manque d'engrais pourraient toucher l'agriculture d'ici 2060 (Abelson, 1999; Vance et al., 2003). Dès lors, une gestion durable du phosphore est nécessaire (Vance et al., 2003).

1.3. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR)

1.3.1. Définitions et description

Le terme rhizosphère a été défini par Hiltner (1904) comme le « compartiment du sol influencé par les racines ». La rhizosphère est désormais définie comme « le terrain d'action ou d'influence des racines », c'est donc la partie de l'écosystème du sol dans lequel le sol, le microbiote du sol et les racines interagissent (Lynch et al., 2001). La rhizosphère est la zone d'exsudation et de dépôts racinaires, riche en nutriments. Il y aurait, en conséquence, entre 10 et 100 fois plus de bactéries au niveau de la rhizosphère par rapport au sol environnant (Lugtenberg et Kamilova, 2009; Spaepen et al., 2009).

Les rhizobactéries peuvent avoir des effets négatifs, neutres ou positifs sur les plantes (Spaepen et al., 2009). Certaines bactéries, les PGPR, ont une influence positive sur la croissance des plantes de façon directe ou indirecte (Kloepper, 1978). Les PGPR appartiennent à différents genres dont *Bacillus* et *Pseudomonas* (Ahemad et Kibret, 2014; Spaepen et al., 2009).

1.3.2. Les bénéfiques et modes d'action des PGPR

Les bénéfices apportés par les PGPR sont multiples. Ils ont une action favorable sur la croissance des plantes, sur la nutrition minérale, dans la lutte contre les stress abiotiques et biotiques, etc. (García-Fraile et al., 2015; Lugtenberg et Kamilova, 2009). Cela résulte de différents modes d'action pouvant agir seuls ou en combinaison. Les mécanismes permettant ces effets bénéfiques sont classés en deux catégories : promotion directe ou indirecte (Beneduzi et al., 2012). Les rhizobactéries favorisant directement la croissance fournissent à

la plante des composés synthétisés comme des phytohormones ou facilitent l'absorption de nutriments présents dans l'environnement. Les rhizobactéries favorisant indirectement la croissance entraînent des effets nocifs sur les pathogènes via la sécrétion de substances antagonistes ou en induisant une résistance au sein de la plante (Figure 4) (Beneduzi et al., 2012; Glick, 1995).

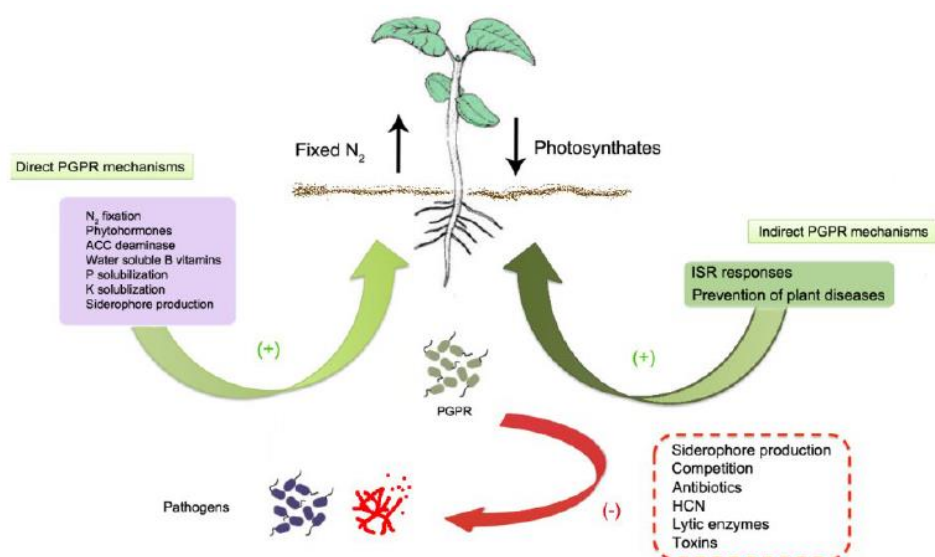


Figure 4. Représentation schématique des mécanismes utilisés par les PGPR (Garcia-Fraile et al., 2015)

a. Production de substances assimilables directement par la plante

Certaines PGPR permettent une **meilleure fixation de l'azote**. En zones tempérées, les céréales sont généralement associées à *Azospirillum*, une PGPR asymbiotique pouvant fixer biologiquement l'azote atmosphérique (N_2) et le réduire en ammoniac (NH_3) grâce au complexe enzymatique nitrogénase. Le NH_3 sera ensuite converti en molécules assimilables par les plantes (Antón, 2006; García-Fraile et al., 2015; Tejera et al., 2005).

De nombreuses rhizobactéries peuvent synthétiser des **phytohormones** ayant un rôle dans la croissance des plantes (auxines, cytokinines, gibbérellines, etc.) (Spaepen, 2015). L'acide indole-3-acétique (AIA) est une phytohormone de la famille des auxines ayant un rôle dans la croissance des plantes. Elle est produite par de nombreuses PGPR dont *Bacillus* et *Pseudomonas* (Maheshwari et al., 2015; Patten et Glick, 1996). La production de l'enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylase (ACC) désaminase permettant d'hydrolyser l'ACC, précurseur de l'éthylène contribuant ainsi à la sénescence des plantes, peut également être citée (García-Fraile et al., 2015).

b. Mobilisation des nutriments

Les PGPR permettent une **meilleure solubilisation et minéralisation du P**. Comme discuté au point 1.1.4., le P présent dans le sol est en grande majorité non disponible pour la plante. C'est pourquoi l'application d'engrais phosphatés chimiques est utilisée en agriculture conventionnelle. Ce P finit également par être indisponible pour la plante dû aux réactions de précipitation (Lindsay et al., 1989; Norrish et Rosser, 1983). A travers le monde, l'efficacité des fertilisants à base de P est inférieur à 25% (Isherwood, 1996). Une alternative est l'utilisation de bactéries solubilisatrices du phosphate (BSP). Différentes souches de *Bacillus* et *Pseudomonas* ont été décrites comme BSP efficaces (Igual et al., 2001). Cette métabolisation en P_i est fonction des métabolites libérés par les PGPR. Les molécules excrétées par les BSP sont généralement des acides organiques tels que des acides gluconiques et cétoniques agissant par chélation (Goldstein, 1995; Whitelaw, 1999). Il peut également y avoir une diminution du pH sur sol basique via l'excrétion de protons/bicarbonates et d'échanges gazeux (O_2/CO_2) (Khan et al., 2009). Les acides inorganiques tel que l'acide chlorhydrique peuvent également avoir un rôle dans la solubilisation du phosphate mais à pH identique, ils sont moins efficaces que les acides organiques (Gyaneshwar et al., 1999).

Des formes insolubles de **potassium (K)** peuvent également être solubilisées grâce aux PGPR. Le K est le 3^{ème} nutriment essentiel pour les plantes après le N et le P (Kalkar, 2014).

Les PGPR ont une action sur le **fer** en produisant des sidérophores. Les sidérophores sont des composés protéiques dont la fonction principale est de chélater le fer ferrique (Fe^{3+}) de l'environnement. Les sidérophores se lient au Fe^{3+} en raison d'une grande affinité avec la molécule. Le Fe^{3+} est absorbé par la bactérie et est réduit en Fe^{2+} au niveau de la membrane bactérienne. La libération du Fe^{2+} dans l'environnement permet de rendre le fer assimilable par les plantes (García-Fraile et al., 2015; Mahanty et al., 2017). Cela peut avoir un effet positif sur la plante et négatif sur les pathogènes. Des souches produisant ces sidérophores utilisées en tant que biofertilisant ont permis d'augmenter la production de carottes, laitues et tomates (Flores-Felix et al., 2013; García-Fraile et al., 2012). Les PGPR peuvent, de cette manière, priver les pathogènes de leur source de Fe, entraînant une augmentation de rendement pour la plante. Les sidérophores peuvent être produits par différents genres dont les *Pseudomonas* et les *Bacillus* (Sharma et al., 2013).

c. Induction des mécanismes de résistance aux stress abiotiques

Certaines souches de PGPR stimulent la tolérance des plantes aux stress abiotiques. Cela concerne entre autre la sécheresse, le stress salin et les stress thermiques (Abd El-Daim et al., 2014; Conrath et al., 2015; García-Fraile et al., 2015; Lugtenberg et Kamilova, 2009; Mishra et al., 2011). La tolérance est le résultat de mécanismes complexes tels que les changements morphologiques et métaboliques (Subiramani et al., 2020).

La tolérance à la sécheresse est stimulée par les PGPR notamment via la production de phytohormones, d'ACC désaminase et d'exopolysaccharides favorisant l'activation de gènes cibles permettant par exemple, une production plus importante d'antioxydants. Ces molécules permettent également une modification morphologique et une croissance continue des racines sous conditions de stress. (Subiramani et al., 2020). La rétention d'eau est améliorée en présence de PGPR (Kasim et al., 2013). *P. putida* améliore le rendement chez certaines brassicacées lors de sécheresse (Arvin et al., 2012).

La tolérance aux stress thermiques est notamment due à la modulation des gènes végétaux. Par exemple, il a été montré que *B. velezensis* modulait les gènes des plantes de blé soumises aux stress thermiques (hautes et basses températures). Une diminution de la production d'« heat shock proteins » est observable à des températures élevées (Abd El-Daim et al., 2019).

Pour le stress salin, *P. putida* Rs-198 a montré des effets positifs sur la germination du coton améliorant la production d'acide indole-acétique, en diminuant l'absorption de Na^+ et en augmentant celle de Ca^{2+} , Mg^{2+} et K^+ (Yao et al., 2010).

d. Atténuation des stress biotiques

Les mécanismes de prévention/résistance induits par la PGPR sont divers. Parmi ceux-ci :

- Induction des mécanismes de résistance chez la plante (« Induced systemic resistance », ISR) (Beneduzi et al., 2012)
- Production de substances antibiotiques. La plupart des *Bacillus spp.* en produisent, agissant aussi bien contre les bactéries et les champignons (Nakano et Zuber, 1990). Par exemple, la croissance de *Gaeumannomyces graminis* var. tritici est inhibée en présence de *Pseudomonas spp.* (Mazzola et al., 1995)
- Production de sidérophores permettant d'entrer en compétition avec les pathogènes pour le fer, limitant leur développement (Beneduzi et al., 2012)
- Production de β -glucanases et de chitinases inhibant la croissance des organismes fongiques (Arora et al., 2008).

Au vu de ces bénéfices, les PGPR sont également considérées comme des outils clés pour une agriculture durable, notamment via leur utilisation en tant que biostimulants (Rouphael et Colla, 2020). Les biostimulants seront développés dans la section 1.4.

1.3.3. Azote : sol, plantes, PGPR et apports

a. L'azote dans le sol et son absorption par les plantes

L'azote est présent dans le sol principalement sous forme de NH_4^+ , NO_3^- , d'urée et de composés azotés organiques. Les transformations et flux d'une forme de N à l'autre sont simplifiées dans le cycle de l'azote du sol (Figure 5). Le changement d'état est principalement médié par les microorganismes et dépend fortement des conditions environnementales (Hofman et Cleemput, 2004).

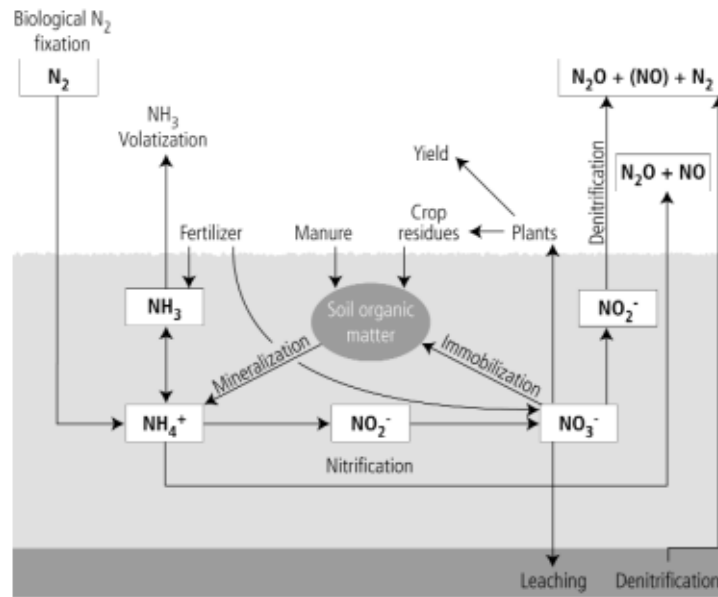


Figure 5. Représentation schématique du cycle de l'azote simplifié (Hofman et Cleemput, 2004)

Les plantes utilisent les NH_4^+ et le NO_3^- pour leur nutrition. La concentration en nutriments à proximité des racines est corrélée au taux de prélèvement par la plante (Hofman et Cleemput, 2004). Le transport vers les cellules racinaires est effectué grâce à deux mécanismes : le flux de masse et le transport par diffusion. Le flux de masse concerne principalement le transport de NO_3^- et est fonction de la quantité d'eau absorbée et de la concentration en nutriments de celle-ci. Le transport par diffusion concerne principalement le NH_4^+ et est fonction du gradient de concentration. La diffusion vers les racines induit une zone de déplétion autour de celles-ci (Barber et Silberbush, 1984; Mengel, 1985).

b. Azote et microorganismes

L'apport d'azote se fait principalement par fertilisation organique, inorganique et par fixation biologique. Les transformations de l'azote dépendent de nombreux microorganismes. La minéralisation des matières organiques contenant de l'azote par les microorganismes permet d'obtenir du NH_4^+ . Le NH_4^+ sera, lors du processus de nitrification, transformé en NO_2^- par les *Nitrosomonas* et le NO_2^- sera converti en NO_3^- par les *Nitrobacter* (Hofman et al., 2001). La fixation biologique est généralement effectuée par les *Rhizobium* vivant en symbiose dans les nodules de légumineuses (Hofman et Cleemput, 2004). Pour les céréales, comme discuté précédemment, c'est généralement *Azospirillum* qui permet de fixer biologiquement l'azote atmosphérique de façon asymbiotique (Antón, 2006; García-Fraile et al., 2015; Tejera et al., 2005).

1.4. Biostimulant

1.4.1. Définitions et généralités

L'utilisation de biostimulants est vu comme une '*innovation majeure permettant de diminuer significativement l'utilisation d'intrants synthétiques tels que les pesticides et les fertilisants*'. Leur utilisation est une des clés vers des systèmes agricoles plus durables (Ramasamy et al., 2011; Rouphael et Colla, 2020).

Les biostimulants végétaux ont été définis de diverses façons au cours du temps. En 2019, une définition a été posée par l'Union Européenne au sein du règlement (UE) 2019/1009 : « *un biostimulant végétal est un produit fertilisant dont la fonction est de stimuler les processus de nutrition végétale indépendamment de la teneur en éléments nutritifs du produit dans le seul but d'améliorer une ou plusieurs des caractéristiques suivantes de la plante ou de la rhizosphère végétale : i) l'efficacité de l'utilisation des éléments nutritifs, ii) la tolérance aux stress abiotiques, iii) les caractéristiques de qualité ou iv) la disponibilité d'éléments nutritifs confinés dans le sol ou la rhizosphère* » (EU, 2019). Les biostimulants végétaux peuvent être classés en 2 catégories : non-microbiens ou microbiens. Les 6 composés non-microbiens aujourd'hui autorisés sont le chitosan, les acides humiques et fulviques, les hydrolysats de protéines, les phosphites, les extraits d'algues et le silicium. Les 3 composés microbiens sont les CMA, les PGPR et *Trichoderma spp.* (Colla et Rouphael, 2015). Dans le cadre de ce mémoire, les CMA et les PGPR en tant que biostimulants seront décrits.

La coopération entre microorganismes est fréquente dans l'environnement, elle permet d'effectuer des tâches complexes (Xu et Yu, 2021). Les biostimulants végétaux composés d'un consortium de microorganismes présentent divers avantages par rapport aux biostimulants composés d'une seule souche. En raison de leurs fonctions multiples, ils sont plus résistants dans l'environnement (Giri et al., 2020). Ensemble, les microorganismes peuvent avoir un effet synergique (Xu et Yu, 2021).

1.4.2. Interaction CMA-PGPR

Les consortia composés de CMA et PGPR ont montré au sein de nombreuses études une amélioration de la qualité du sol, une stimulation de la croissance des plantes et du rendement ainsi qu'une amélioration de l'acquisition en nutriments (Berta et al., 2014; Massa et al., 2020; Raklami et al., 2019). Des effets synergiques sont observés (Santoyo et al., 2021).

Singh et al. (2019) ont inoculé des semences de froment avec un consortium PGPR-CMA, le rendement a été maintenu avec 16% d'engrais azotés et 25% d'engrais phosphatés en moins par rapport au froment non inoculé. L'efficacité agronomique a été augmentée de 23% pour l'apport de N et de 40% pour l'apport de P (Singh et al., 2019). Khan et Zaidi (2007) ont effectué plusieurs co-inoculations avec un CMA et 3 PGPR en champ, sans fertilisation les rendements en grains du froment étaient deux fois plus élevés pour les plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées, les teneurs en N et P des plants étaient également plus élevées pour les plantes inoculées.

a. Mécanismes

Lorsqu'une plante est colonisée par un CMA, il y a une modification de la composition des exsudats racinaires produits par la plante. Cette modification chimique entraîne un changement de la communauté bactérienne présente dans la rhizosphère (Ramamany et al., 2011). Les CMA exsudent également des composés, des bactéries peuvent adhérer aux hyphes de CMA et se nourrir des exsudats fongiques. Certaines bactéries utilisent les hyphes comme vecteur pour se déplacer au sein de la rhizosphère (Bianciotto et al., 1996).

Les PGPR aident à la germination des spores de CMA, à l'extension du mycélium et à la colonisation racinaire (Vosátka et Gryndler, 1999; Xavier et Germida, 2003). Vosatka et Gryndler (1999) ont montré qu'en présence de *P. putida*, la croissance et l'activité de la phosphatase alcaline des hyphes extracellulaires de *Claroideoglomus claroideum* étaient supérieures aux témoins négatifs sur maïs. Sur pomme de terre, la présence de *P. putida* a entraîné une colonisation racinaire du CMA plus importante (Vosátka et Gryndler, 1999). Les mécanismes expliquant la stimulation bactérienne de la colonisation racinaire par les CMA sont encore non élucidés mais certaines hypothèses semblent plausibles. Les bactéries permettraient une perméabilité racinaire plus importante grâce à la synthèse de métabolites. La production d'hormones par les bactéries serait également impliquée dans ce processus (Santoyo et al., 2021). Certaines PGPR produisent également l'enzyme ACC désaminase modulant les concentrations en éthylène au sein de la plante, l'éthylène inhibant la mycorhization à des niveaux de P faibles (Zsögön et al., 2008), tandis qu'une concentration faible en éthylène la favorise à des niveaux de P élevés (Torres de los Santos et al., 2016).

Les polysaccharides extracellulaires sont importants pour l'interaction entre PGPR et CMA. Les polysaccharides extracellulaires bactériens ont un rôle clé dans l'attachement des PGPR aux structures des CMA et aux racines (Bianciotto et al., 2001). Ces polysaccharides ont également un rôle dans la formation du biofilm et dans la protection des bactéries contre la dessiccation (Ophir et Gutnick, 1994).

b. Effets de la co-inoculation

La co-inoculation d'un consortium composé d'un CMA et d'une PGPR peut permettre d'**augmenter la disponibilité en nutriments**. Barea et al. (2002) ont montré que la fixation et le transfert de l'azote permis grâce aux PGPR fixatrices étaient améliorés lorsque les plantes étaient colonisées par un CMA. Les bactéries solubilisatrices de P minéralisent le P entraînant une augmentation locale de sa concentration. Les CMA prélèvent ces ions phosphates et les transmettent à la plante hôte. (Smith et Read, 2008).

Les effets synergiques entre CMA et PGPR permettent d'**augmenter le prélèvement de nutriments**. Le prélèvement de nutriments par les plants de tomates est amélioré pour le Mn, le Zn et le P à la suite d'une inoculation de CMA et de *Pseudomonas spp.* et *B. velezensis* FZB42 (Yusran et al., 2009). Une augmentation significative de la qualité du grain et de son contenu en Fe et P a été démontrée sur du blé pluvial (Roesti et al., 2006).

La bio-inoculation d'un consortium CMA-PGPR augmente la **tolérance aux stress biotiques**. L'inoculation d'un consortium à base de différents CMA, PGPR et champignons antagonistes a montré une réduction plus importante de la population de *Meloidogyne incognita* que les inocula utilisés seuls (Siddiqui et Sayeed Akhtar, 2009).

La **tolérance aux stress abiotiques** est également améliorée. Le stress salin est atténué lors de l'inoculation d'un consortium de *P. mendocina* et *Funneliformis mosseae* grâce à une augmentation de la stabilité des agrégats et des protéines du sol liées à la glomaline en comparaison à l'action des microorganismes appliqués seuls (Kohler et al., 2010). Il a été montré que les polysaccharides excrétés par les bactéries se liaient aux cations

de l'environnement dont le Na^+ , réduisant son prélèvement par la plante. Grâce à la glomaline, les CMA stabilisent les agrégats du sol (Wright et Anderson, 2000), ce qui est bénéfique lors d'un stress salin (Ramasamy et al., 2011). Marulanda et al. (2009) ont montré un effet positif de souches indigènes identifiées comme *P. putida* et *B. megaterium* associées à des *Glomus spp.* sur la croissance des plantes en conditions de sécheresse (Marulanda et al., 2009). L'inoculation de *P. putida* UW4 produisant l'ACC désaminase associée au CMA *Gigaspora rosea* BEG9 a permis d'augmenter la croissance, l'efficacité photosynthétique et l'architecture racinaire de plants de concombres en condition de stress. Ce résultat était différent de celui obtenu avec l'inoculation du consortium où *P. putida* était remplacée par un mutant ne produisant pas d'ACC désaminase. L'étude émet l'hypothèse que l'ACC désaminase produite par la bactérie serait impliquée dans la stimulation de la croissance du CMA ou dans les interactions mycorhiziennes (Gamalero et al., 2008). L'ACC désaminase produite par certaines souches bactériennes permet de prévenir la synthèse excessive d'éthylène par la plante. L'éthylène inhibant la croissance racinaire, des effets bénéfiques sont observés sur les plantes (Glick, 1995). Des niveaux faibles d'éthylène dans la plante sont importants lors de l'exposition au stress salin ou à la sécheresse (Glick, 2004).

c. Les consortia de microorganismes biostimulants : problèmes et défis

Le marché des biostimulants fait face à divers problèmes et défis. La viabilité des propagules, leur efficacité en conditions non contrôlées et le manque de connaissances des impacts sur les communautés microbiennes indigènes peuvent être cités.

▪ Viabilité et/ou établissement des propagules

Les inoculants microbiens doivent survivre à la formulation et au stockage. La survie au champ doit correspondre aux objectifs attendus, une survie excessive au champ peut avoir des effets négatifs car l'inoculum pourrait s'étendre de façon non contrôlée (Kaminsky et al., 2019).

Salomon et al. (2022) ont évalué l'efficacité de 28 inoculants commerciaux composés de CMA. Sur sol non stérile et en serres, seul 1 inoculum sur 25 a entraîné une augmentation de la biomasse végétale. Ils ont pu montrer que 84% des inoculants ne contenaient pas de propagules viables. Les causes sont diverses et sont généralement dues à :

- Une quantité trop faible de propagules
- Des propagules non viables lors de la production ou ne survivant pas au stockage
- Une dormance due au temps de stockage
- Des recommandations de stockage ou d'application non optimales
- Des souches non adaptées à la plante ou au sol
- Des souches non compatibles avec les matériaux présents dans l'inoculum
- Une compétition avec les communautés microbiennes présentes

Shah-Smith et Burns (1997) ont montré que l'enrobage de graines de betteraves avec *P. putida* via deux méthodes commerciales entraînait des pertes d'inoculum actif importantes mais en augmentant la quantité d'inoculum, il fut possible d'atteindre une concentration de 10^7 CFU/graines. La survie de l'inoculum était améliorée avec un stockage à 4°C (Shah-Smith et Burns, 1997). Cela a également été montré dans d'autres études (O'Callaghan et al., 2006). Cependant, des semences enrobées ayant pour but d'être utilisées à grande échelle en agriculture doivent pouvoir être stockées à température ambiante (O'Callaghan, 2016).

- Efficacité des consortia en conditions non contrôlées

Les consortia microbiens sont cités par de nombreuses études comme une option viable vers une agriculture durable (Colla et Rouphael, 2015; Maheshwari et al., 2015; Varinderpal-Singh et al., 2020). Les inoculants microbiens testés dans différentes situations agricoles et différents climats montrent en conditions non contrôlées des effets variables (Sammauria et al., 2020). L'efficacité des inoculants microbiens est difficilement testable sur le terrain et très variable. Les mécanismes d'action expliquant la promotion de la croissance ne sont pas encore tous compris. Des études sont effectuées et leur nombre devrait augmenter permettant d'approfondir les connaissances sur le sujet. (Alori et al., 2017).

- Impacts sur les communautés microbiennes

L'introduction de microorganismes peut modifier les communautés microbiennes de façon positive ou négative (Sharma et al., 2012). Les effets provoqués par l'inoculation de microorganismes sur les populations non-cibles dépendent de nombreux facteurs tels que les caractéristiques du sol, le mode d'application, les conditions environnementales, etc. (Dey et al., 2012).

La majorité des études ont montré des changements mesurables sur les communautés non-cibles du réseau trophiques et de la rhizosphère (De Leij et al., 1995; Roesti et al., 2006; Zhao et al., 2005). L'ampleur de ces changements et l'effet sur les fonctions écosystémiques restent peu connus. Les effets observés sont généralement transitoires et faibles mais certains effets ont été observés au-delà de la saison de culture. Il est crucial d'effectuer des études visant à évaluer les effets non-cibles sur de plus grandes durées et échelles avant d'identifier un bioinoculant comme « sécuritaire » (Sharma et al., 2012).

Ce dernier point ne sera pas abordé dans ce travail de mémoire contrairement à la viabilité des propagules et/ou leur établissement et à l'efficacité des consortia en conditions non contrôlées.

2. Objectifs et démarche

Ce mémoire s'intègre dans le projet MICROSOILSYSTEM. Démarré en 2018 et financé par le Service public de Wallonie (DGO3 - Direction Générale Opérationnelle Agriculture, Ressources naturelles et Environnemental), ce projet a pour objectif la « réduction d'intrants par application de consortia microbiens formulés à finalité biostimulante et de biocontrôle adaptés au fonctionnement des sols en agriculture conventionnelle et de conservation ».

L'objectif principal de ce mémoire est **d'évaluer l'effet biostimulant de consortia bactéries-CMA sur le froment d'hiver** (Figure 6). L'effet de biostimulation de deux consortia sur froment est évalué : un premier consortium composé de *Rhizophagus irregularis* MUCL 43194 (CMA) et de *Bacillus velezensis* GA1 (PGPR) et un deuxième consortium composé de ce même CMA avec *Pseudomonas putida* BTP1 (PGPR).

Trois sous-objectifs sont traités dans ce mémoire :

1. Evaluer les **interactions** des consortia avec 5 **variétés** de froment d'hiver en conditions contrôlées, en serres
2. Développer un **enrobage** permettant un semis classique et une viabilité des propagules au champ
3. Evaluer les **interactions** des consortia avec 3 niveaux de **fumure organique** au champ

Au sein de l'expérience en serres, les cinq variétés testées sont Anapolis, Chevignon, Arminius, Cubitus et Moschus. L'effet des consortia a été testé en conditions contrôlées en fonction des variétés. Selon l'hypothèse émise, certaines variétés pourraient avoir une plus grande affinité avec un des consortia et ainsi développer une réponse différenciée en termes de croissance. Pour déterminer si une différence de réponses entre les variétés est observée, les biomasses aériennes et racinaires sèches ont été mesurées ainsi que le taux de colonisation des racines par les CMA et un comptage de *B. velezensis* GA1 GFP.

En parallèle, l'enrobage développé et testé a été utilisé dans l'expérience en champ permettant d'évaluer l'effet des consortia en conditions non-contrôlées et les interactions des consortia avec trois niveaux de fumure organique choisis sur base de teneurs faible, intermédiaire et élevée en P disponible du sol. Selon l'hypothèse émise, un taux de colonisation plus important pourrait être observé à des niveaux faibles en nutriments et particulièrement en P. Pour déterminer si la fumure organique influence la colonisation racinaire par les CMA, l'évolution du taux de colonisation des racines a été suivi dans le cadre de ce mémoire. Les données de rendement ont été intégrées à ce travail et les données de qualité du grain sont disponibles en annexe 2.

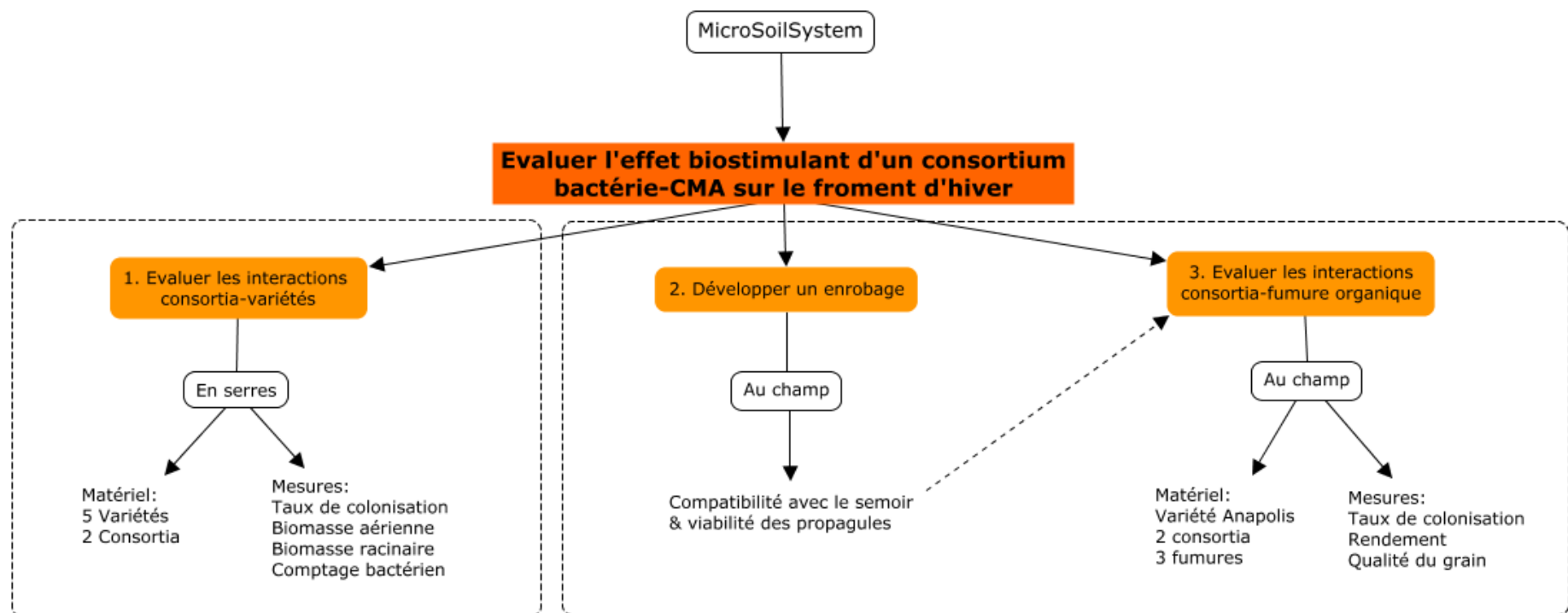


Figure 6. Représentation schématique des objectifs du mémoire

3. Matériel et méthode

3.1. Expérience en serres

Une expérience en serres a été dimensionnée afin d'évaluer l'effet des consortia en conditions contrôlées et les interactions entre les consortia et une sélection de variétés de froment. L'expérience a été menée dans les serres de l'UCLouvain.

3.1.1. Matériel biologique

a. Variétés de froment d'hiver

Cinq variétés de froment d'hiver (*Triticum aestivum* L.) ont été utilisées pour l'expérience en serres : ANAPOLIS, CHEVIGNON, ARMINIUS, CUBITUS et MOSCHUS. Les variétés ont été choisies afin d'obtenir une gamme du point de vue de certaines caractéristiques telles que le rendement, la qualité boulangère, leur tolérance vis-à-vis des maladies² et leur résistance par rapport à la verse (Tableau 2).

Tableau 2. Caractéristiques des variétés de froment d'hiver utilisées pour l'expérience en serres. N.D.=non disponible, Conv.=Conventionnel et AB=Agriculture biologique. La qualité boulangère est caractérisée par 4 niveaux de Q1 à Q4. Une variété classée Q1 possède de bonnes qualités boulangères tandis qu'une variété classée Q4 possède peu de qualités boulangères. Les cotations maladies sont basées sur des observations visuelles pluriannuelles et exprimées sur une échelle de 1 à 9 sur laquelle une cote de 9 est la plus favorable. (Livre Blanc des Céréales, 2020a, 2021a)

Variété	Rendement (%)	Qualité boulangère	Tolérance					Résistance	Type d'agriculture
			Septoriose	Rouille jaune	Rouille brune	Oïdium	Fusariose des épis	Verse	
Anapolis	100	Q2	5,3	8,9	4,9	8,8	6,8	N.A.	Conv.
Chevignon	118	Q4	7,5	8,0	4,9	8,9	8,4	8,6	Conv. & AB
Arminius	96	Q1	6,6	3,8	7,4	7,7	7,6	6,9	AB
Cubitus	109	Q2	7,6	8,0	8,5	N.A.	N.A.	8,9	AB
Moschus	96	Q1	7,2	8,1	5,7	8,3	7,6	N.A.	AB

Les semences utilisées n'ont pas été traitées. Pour cette expérience, 1080 semences de chaque variété ont été nécessaires.

b. Champignon mycorhizien à arbuscules - CMA

La souche de CMA utilisée est *Rhizophagus irregularis* MUCL43194. Elle appartient à l'ordre *Glomerales*, la famille *Glomeraceae*, le genre *Rhizophagus* et l'espèce *irregularis*. La souche a été fournie par la « Glomeromycota *in vitro* Collection » (GINCO) hébergée dans la mycothèque MUCL du laboratoire de mycologie de l'UCLouvain. La souche a été choisie en raison de son potentiel biostimulant. Oliveira et al. (2016) ont montré que l'enrobage de froment avec *R. irregularis* permettait d'augmenter le poids sec des plantes et des épis en conditions de faible fertilisation. De plus, des concentrations supérieures en K, S et Zn ont été mesurées au sein des plantes colonisées (Oliveira et al., 2016).

Dans le cadre de ce mémoire, la production en masse du CMA a été faite en serres sur racines de maïs (*Zea mays* L.). Le substrat utilisé était de la terre de lave stérilisée grâce à deux passages dans l'autoclave à 121°C pendant 15 min. Après neuf semaines de croissance,

² Les cotations maladies sont basées sur des observations visuelles pluriannuelles et exprimées sur une échelle de 1 à 9 sur laquelle une cote de 9 est la plus favorable (Livre Blanc des Céréales, 2020a).

les racines colonisées de maïs ont été utilisées. Des fragments racinaires présentant des structures mycorrhiziennes servant d'inoculum ont été obtenus après découpage grossier aux ciseaux des racines de maïs mycorrhizées et tamisage pour obtenir des fragments inférieurs à 0,5 cm.

c. Bactéries favorisant la croissance des plantes - PGPR

Deux PGPR ont été utilisées dans ce mémoire, *Bacillus velezensis* GA1 GFP et *Pseudomonas putida* BTP1.

Bacillus velezensis GA1 est une bactérie Gram⁺ favorisant la croissance des plantes. La souche utilisée est un mutant portant le gène codant pour la Green Fluorescent Protein (GFP). *Bacillus velezensis* produit plusieurs composés intéressants tels que l'iturine ou la fengycine, deux lipopeptides ayant des propriétés de biocontrôle et de biostimulation (Dunlap et al., 2013; Ongena et Jacques, 2008). Elle permet notamment de réduire l'incidence et la sévérité de *Fusarium graminearum* agent causant la fusariose de l'épi (Khan et al., 2004; Schisler et al., 2002). *Bacillus velezensis* a également montré des effets de biocontrôle sur *Zymoseptoria tritici* agent causant la septoriose du blé (Platel et al., 2022).

Pseudomonas putida BTP1 est une bactérie Gram⁻ abondante dans la rhizosphère. C'est une PGPR stimulant la formation de racines secondaires permettant d'augmenter l'assimilation de nutriments (Molina et al., 2020). La production de la phytohormone AIA par *P. putida* a également un rôle positif sur la croissance des plantes ainsi que la production d'acides organiques et de phosphatases qui permettent de mobiliser le P_i peu soluble, rendant le P disponible pour les plantes (Roca et al., 2013). Elle a également des propriétés de biocontrôle intéressantes, de façon directe via l'induction de la résistance systémique chez la plante (Matilla et al., 2010) et de façon indirecte via la production de sidérophores rendant le fer indisponible pour les phytopathogènes (Molina et al., 2006).

Les bactéries ont été fournies par le laboratoire MiPI (*Microbial Processes and Interactions*) de l'ULiège. Elles ont été fournies sous la forme de deux culots concentrés placés dans deux tubes Falcon® de 50 ml. Chaque culot a été dilué dans 900 ml d'eau déminéralisée permettant d'obtenir une concentration bactérienne de 5*10⁷ CFU/ml.

3.1.2. Dispositif expérimental de l'expérience

a. Mise en place de l'expérience

L'expérience a été mise en place sur une longue table découpée en six blocs afin d'obtenir six répétitions et de tenir compte des potentielles variations des conditions de l'environnement (Figure 7). Les blocs étaient complets et comptaient donc 45 pots (5 variétés x 3 consortia x 3 temps d'arrachages). Au sein de chaque bloc, les pots étaient repartis de façon aléatoire (Figure 8).



Figure 7. Représentation schématique du plan expérimental

V5 B0 T1	V4 B0 T1	V2 B0 T3	V1 B2 T2	V5 B2 T2	V4 B2 T1	V3 B1 T3
V5 B0 T2	V2 B2 T2	V2 B1 T1	V3 B1 T1	V3 B2 T3	V1 B2 T1	V4 B1 T1
V1 B2 T3	V2 B2 T1	V4 B0 T3	V1 B0 T2	V1 B0 T1	V5 B2 T3	V4 B0 T2
V3 B2 T2	V3 B0 T3	V5 B1 T1	V1 B0 T3	V2 B2 T3	V1 B1 T1	V3 B0 T2
V5 B1 T3	V2 B0 T2	V2 B1 T3	V2 B0 T1	V3 B0 T1	V1 B1 T3	V4 B2 T3
	V4 B2 T2	V1 B1 T2	V2 B1 T2	V4 B1 T2	V5 B2 T1	
	V3 B2 T1	V5 B0 T3	V5 B1 T2	V4 B1 T3	V3 B1 T2	

Figure 8. Représentation schématique d'un bloc de l'expérience en serres.
Le code couleur correspond aux différentes variétés.

270 pots ronds³ d'un volume de 1,05L et 270 coupelles d'un diamètre de 17 cm ont donc été utilisés. Une fine couche d'aluminium d'un diamètre inférieur à celui du pot a été placée au fond de chaque pot afin d'éviter la sortie des racines du pot lors de la croissance tout en permettant l'alimentation de la plante par capillarité.

Le substrat était constitué d'un mélange en volume de 50% de sable fin n°4⁴ et de 50% de vermiculite⁵ 0-5 mm. Le mélange a été fait manuellement et placé dans des sacs en polypropylène autoclavables. La stérilisation du substrat a été réalisée par un passage unique à 121°C dans l'autoclave pendant 15 minutes.

Pour les 180 pots contenant les consortia, une première couche de 200 ml de substrat a été déposée sur laquelle 1,2 g de fragments racinaires mycorhizés avec la souche *R. irregularis* MUCL 43194 ont été étalés de façon homogène. Ces fragments racinaires ont été recouverts avec 400 ml de substrat. Pour les 90 pots témoins, aucun inoculum n'a été ajouté, les pots ont été remplis directement avec 600 ml de substrat. Dix trous de 2 centimètres de profondeur ont été faits à équidistance dans chaque pot. Pour les 90 pots correspondant au consortium 1 (*R. irregularis* MUCL 43194**B. velezensis* GA1 GFP), 1 ml de la solution bactérienne a été déposé dans chaque trou de plantation, soit 10 ml au total par pot. Les 90 pots correspondant au consortium 2 (*R. irregularis* MUCL 43194**P. putida* BTP1) ont été traités de manière similaire.

Deux semences ont été déposées dans chaque trou de plantation, correspondant à 20 semences par pot comme illustré en Figure 10. L'objectif était d'obtenir une population de 10 plantes par pot, un éclaircissage a donc été fait une semaine après l'observation du stade de levée.



Figure 9. Représentation d'un échantillon

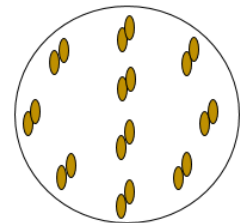


Figure 10. Plan de semis

³ Pots ronds 6° provenant du fournisseur Pöppelmann (référence MXC).

⁴ Sable n°4 provenant du fournisseur Euroquartz (réf. QA-204).

⁵ Vermiculite provenant du fournisseur Pull Rhenen (réf. 8719326164656).

b. Phase de croissance

Les semis ont été effectués le 9 décembre 2022, représentant le premier jour de la phase de croissance. Les pots ont été placés dans un des compartiments des serres de l'UCLouvain. Les données de température et d'hygrométrie y ont été mesurées toutes les dix minutes. Sur la période totale de l'expérience, soit du 9 décembre 2021 au 7 mars 2022, la température moyenne était de $19,3^{\circ}\text{C} \pm 1,4$ et l'hygrométrie de $79\% \pm 0,14$.

Durant les 3 premières semaines de la phase de croissance, les plantes ont été arrosées de façon hebdomadaire avec 200 ml d'eau déminéralisée, versée dans la coupelle de façon à limiter le lessivage des bactéries. Par la suite, 200 ml d'une solution de Hoagland (Annexe 1) ont été appliqués dans les coupelles chaque semaine.

c. Stratégie d'échantillonnage

Trois récoltes ont été effectuées au cours du temps afin d'observer la dynamique de mycorhization et de croissance du froment. Les récoltes ont été effectuées après 6, 9 et 12 semaines de croissance.

Le prélèvement des échantillons débute par une séparation du système racinaire et aérien en coupants à l'aide de ciseaux, au niveau du collet. Les parties aériennes de chaque population d'un pot sont pesées et placées dans des sacs individuels annotés. Un dépotage a lieu afin de récupérer l'ensemble des racines de la population du pot. Le plus gros du substrat est retiré avec précaution à sec. Pour les pots témoins et les pots contenant le consortium 2, les racines sont lavées à l'eau précautionneusement afin d'éliminer les particules de sol qui y sont fixées sans perdre de fragments racinaires. Pour le consortium 1, un quart du système racinaire nettoyé à sec est prélevé, pesé et placé dans un tube Falcon®⁶ de 50 ml annoté contenant 5 ml d'eau physiologique stérilisée, afin de réaliser le dénombrement bactérien. Les $\frac{3}{4}$ restants sont lavés à l'eau puis séchés, pesés et mis dans des sacs en polypropylène annotés avec un code prédéfini.

3.1.3. Mesures

a. Développement de la plante

Le développement des plantes au cours du temps a été mesuré grâce à la biomasse des parties aériennes et racinaires. Les poids frais des parties racinaires et aériennes ont été mesurés directement à la récolte. Les poids secs des échantillons ont été mesurés après séchage à 70°C pendant 5 jours, jusqu'à stabilisation de leurs poids.

⁶ Tubes coniques stériles en polypropylène.

b. Croissance intra-racinaire du CMA

La détermination du taux de colonisation racinaire par le CMA nécessite une réhydratation dans de l'eau déminéralisée pendant 24h des racines préalablement mises à l'étuve pendant 5 jours.

Après réhydratation, les racines sont colorées selon le protocole utilisé par le laboratoire de mycologie de l'UCLouvain. Le procédé de coloration permet de distinguer les cellules fongiques des cellules végétales dans la phase intraracinaire grâce à 3 étapes. La première étape consiste à décolorer les cellules racinaires. Les racines sont immergées pendant 1h15 dans une solution de KOH à 10% (m/v) à 70°C. Les racines sont ensuite rincées abondamment à l'eau. La seconde étape consiste à neutraliser le KOH en immergeant les racines pendant 5 minutes dans une solution d'HCL à 10%. La troisième étape consiste à colorer les racines en les immergeant dans une solution d'HCL (1%) et d'encre Parker Super Quink Permanent (Blue) (2%) pendant 45 minutes à 70°C. Cette dernière étape permet de colorer les structures fongiques. L'encre bleue se fixant préférentiellement aux parois fongiques composées de chitine et de callose qu'aux parois végétales décolorées composées de cellulose et d'hémicellulose (Garbaye, 2013). A la fin du processus, les racines sont rincées à l'eau et placées dans des Falcon® remplis de lactoglycérol permettant la conservation longue durée. Les tubes sont conservés à 4°C jusqu'à observation.

Les fragments racinaires colorés sont observés au microscope selon la méthode de Mc Gonigle et al. (1990). Deux lames de microscope sont préparées par échantillons. Sur chacune des lames, une goutte de glycérol est étalée et 20 fragments racinaires de 1 cm de longueur et homogènes en diamètre sont placés avant d'être recouverts par une lamelle pour les observations (Figure 11).



Figure 11. Lame destinée à l'observation au microscope pour déterminer le taux de colonisation racinaire par le CMA

Le taux de colonisation racinaire de chaque échantillon est évalué selon la méthode de Mc Gonigle (1990) au microscope optique (Olympus BH-2). La méthode consiste à observer au minimum 100 intersections par lame et à compter les différentes structures fongiques qui sont traversées par cette intersection. Pour cette expérience, 200 intersections sont observées par échantillon. Les intersections correspondent à une ligne imaginaire verticale tracée au centre du champ de vision (Figure 12). Sur base de la figure 12, quatre cas de figures peuvent être illustrés.

- En A, aucune structure fongique n'est rencontrée, on compte un négatif.
- En B, des hyphes et une vésicule sont rencontrés, on compte une vésicule.
- En C, une vésicule, un arbuscule et des hyphes sont rencontrés, on comptera un arbuscule et une vésicule.
- En D, étant donné que seuls des hyphes croisent l'intersection, on comptera un hyphe.

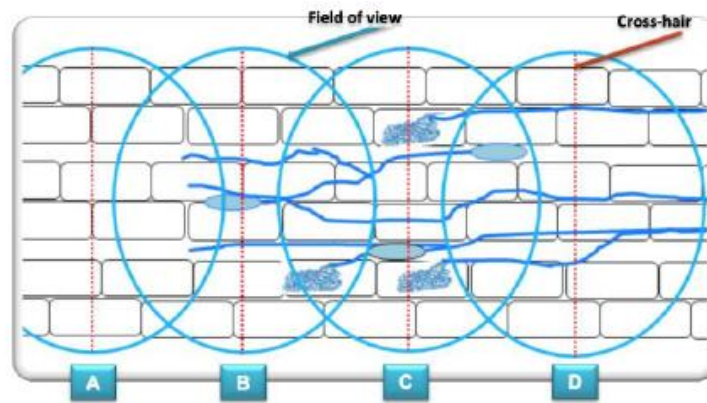


Figure 12. Représentation de l'évaluation du taux de colonisation racinaire par les CMA selon la méthode de Mc Gonigle (1990). Illustration tirée du syllabus du laboratoire de Mycologie (UCLouvain)

Cette méthode permet la quantification en pourcentage des taux de colonisation totale (CT), arbusculaire (CA) et vésiculaire (CV) (Equation 1, 2 et 3).

$$(1) \quad CT = \frac{\text{Observations totales} - \text{Négatifs}}{\text{Observations totales}}$$

$$(2) \quad CA = \frac{\text{Nombre d'arbuscules}}{\text{Observations totales}}$$

$$(3) \quad CV = \frac{\text{Nombre de vésicules}}{\text{Observations totales}}$$

c. Dénombrement de *B. velezensis* GA1

Un quart des racines issues du traitement Consortium 1 a été séparé lors de la récolte des $\frac{3}{4}$ restants pour chaque échantillon. Ces racines ont été nettoyées précautionneusement à sec pour éviter le lessivage des bactéries. Elles ont été placées dans des Falcon® de 50 ml contenant 5 ml d'eau physiologique⁷ et conservées pendant une nuit à 4°C. Pour l'analyse, 5 µl de solution Tween® 80 et une dizaine de billes de verre (5mm de diamètre) ont été ajoutées aux Falcon® contenant les racines. Les racines sont agitées pendant 3 minutes au vortex. Par échantillon, 6 dilutions ont été faites dans de l'eau physiologique à 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6} ml de suspension racinaire/ml dans des tubes Eppendorf® 2 ml. Le processus consiste à mélanger 0,1 ml de suspension vortexée à 0,9 ml d'eau physiologique dans un tube Eppendorf® 2 ml. Une dilution en cascade est ensuite effectuée en prenant 0,1 ml de la solution précédente et en la mélangeant à 0,9 ml d'eau physiologique. Ce processus a été répété 5 fois afin d'obtenir une dilution de 10^{-6} .

⁷ 8,5 g de NaCl par L d'eau déminéralisée

Sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture *Lysogeny Broth* (LB) et du chloramphénicol (5µg/ml) (Annexe 1), 0,1 ml des dilutions à 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6} ml de suspension/ml a été prélevé et déposé sur les boîtes. La suspension a été étalée à l'aide de billes de verre. Les boîtes sont incubées à 27°C pendant 48 heures. La présence de chloramphénicol dans le milieu a permis d'isoler *B. velezensis* GA1 GFP car le mutant est résistant à cet antibiotique. Les colonies présentes après 48h ont été dénombrées et vérifiées à l'aide du microscope (Echo Revolve RVL2-K) (Figure 14). La vérification des bactéries au microscope permet d'observer la fluorescence de *B. velezensis* GA1 GFP et d'écarter toute éventuelle contamination par une autre bactérie résistante à l'antibiotique.

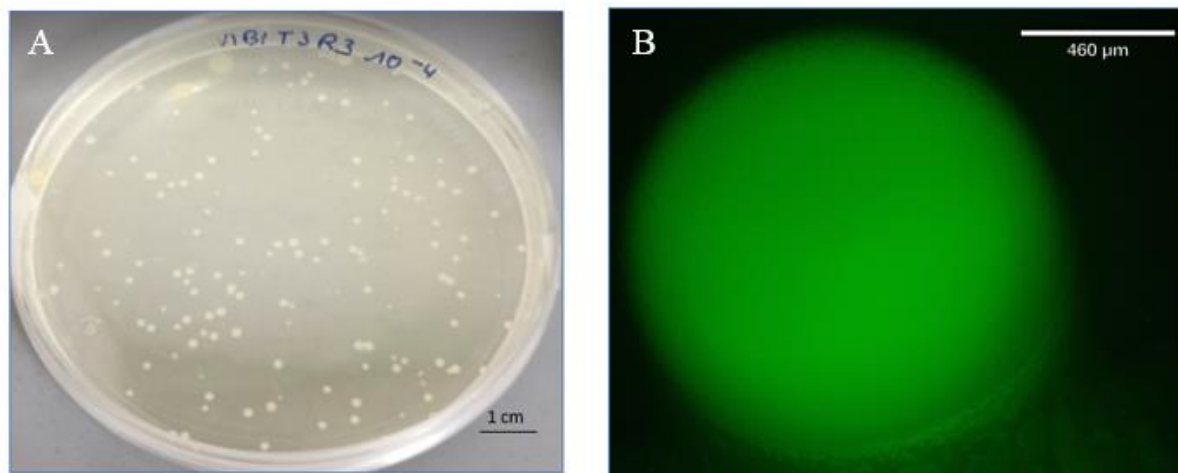


Figure 13. Observation des boîtes de Petri après 48h. A) Colonies de bactéries B) Observation de la fluorescence des bactéries marquées à la GFP au microscope

Les unités formant des colonies (UFC) sont ramenées au gramme de racines pesées préalablement (Équation 4).

$$(4) \quad \frac{UFC}{g \text{ de racines}} = \frac{\left[\text{Nombre de colonies} \times \text{Facteur de dilution} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,1 \text{ ml}} \right]}{\text{Poids sec racinaire}}$$

3.2. Expérience au champ

La Figure 14 présente une ligne du temps qui reprend la chronologie des différentes étapes de préparation, de mise en place et du suivi de l'expérience au champ. Cette expérience a nécessité une phase de développement de l'enrobage, de l'enrobage des semences et du séchage des semences enrobées. L'essai au champ a ensuite été semé en novembre 2021 et échantillonné au cours du printemps 2022. La récolte de l'essai pour la mesure du rendement grains et de la qualité du grain a été effectuée le 2 août 2022.

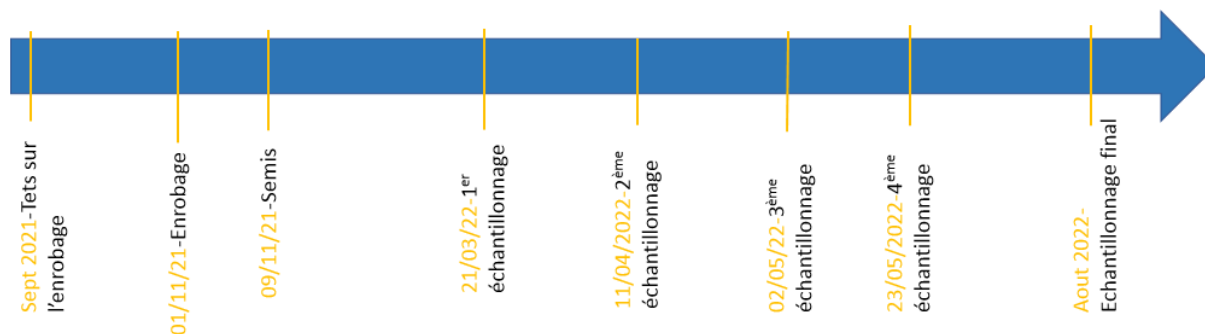


Figure 14. Représentation schématique de l'expérience en champ et des phases nécessaires à sa mise en place

3.2.1. Matériel biologique

a. Froment d'hiver

Triticum aestivum L. cultivar ANAPOLIS a été utilisée pour l'essai en champ. Cette variété a été choisie en raison de son rendement, de sa prédominance en Wallonie au cours des dernières années, et de sa faible sensibilité vis-à-vis de la rouille jaune, de l'oïdium et de la fusariose des épis. En 2019, Anapolis était la variété la plus cultivée en Wallonie et en 2020, la 2^{ème} plus cultivée. Ses cotations maladies⁸ sont de 4,8 pour la rouille brune, 5,4 pour la septoriose, 9 pour la rouille jaune, 8,8 pour l'oïdium, 6,3 pour la fusariose des feuilles et 6,8 pour la fusariose de l'épi. Elle est également peu sensible à la verse et a une bonne capacité de tallage (Livre Blanc des Céréales, 2020a).

Le lot de semences utilisé pour le semis a un poids de 51 g pour mille grains.

b. CMA et PGPR

La souche de CMA utilisée en champ est identique à celle utilisée en serres : *Rhizophagus irregularis* MUCL43194. La souche de PGPR *P. putida* BTP1 est également identique à celle utilisée en serres. La souche de PGPR *B. velezensis* GA1 est également la même que celle utilisée lors de l'expérience en serres mais pour le champ, le mutant possédant le gène codant pour la GFP n'a pas été utilisé afin d'éviter d'appliquer un organisme génétiquement modifié en champ. Le dénombrement des deux PGPR n'est donc pas réalisé lors de l'expérience en champ.

⁸ Les cotations maladies sont basées sur des observations visuelles pluriannuelles et exprimées sur une échelle de 1 à 9 sur laquelle une cote de 9 est la plus favorable (Livre Blanc des Céréales, 2020a).

3.2.2. Développement de l'enrobage

Les différents tests réalisés avaient pour objectif de minimiser l'emploi des différents constituants (1) afin de garder une taille de semence enrobée suffisamment petite pour passer dans un semoir à céréales classique (2) en réduisant les coûts en consommables (3) tout en garantissant une adhérence suffisante de l'enrobage à la semence (4) en ayant un nombre de propagules suffisant par semence individuelle. Pour répondre à ces différents critères, des tests ont été effectués (Tableau 3).

Un enrobage solide a été préféré pour pouvoir y incorporer les propagules de CMA disponibles sous forme de fragments de racines de maïs mycorhizées. L'inoculum bactérien est apporté à l'enrobage sous forme de solution bactérienne.

Le kaolin sert de base solide et a été préféré au sol en raison de sa fabrication industrielle qui rend l'expérience plus facilement reproductible. La gomme arabique et la maltodextrine permettent d'augmenter la résistance de l'enrobage lors des chocs mécaniques.

Les trois premiers essais avaient pour objectif de déterminer le nombre de fragments de racines mycorhizées obtenus par semence (Tableau 3). Les moyennes ont été calculées sur 10 semences enrobées. Le comptage de ces fragments racinaires a été effectué pour chaque semence après dilution de l'enrobage dans 5 ml d'eau déminéralisée.

- Essai 1 : $206 \pm 23,67$ fragments racinaires par semence
- Essai 2 : $105 \pm 18,65$ fragments racinaires par semence
- Essai 3 : $22,7 \pm 5,30$ fragments racinaires par semence

Lors des différents tests, la proportion des matériaux a été modifiée au fur et à mesure, afin d'éviter l'agglomération des semences lors de la fabrication de l'enrobage, et d'assurer une solidité de l'enrobage après séchage de celui-ci (Tableau 3). L'agglomération des semences lors de la fabrication a été catégorisée en 3 niveaux (pour 100g de semences) : (1) élevée - plus de 10 paquets de semences, (2) moyenne - entre 2 et 10 paquets de semences et (3) faible - moins de 2 paquets de semences. La désagrégation après séchage de l'enrobage a été catégorisée en lâchant la semence enrobée à une hauteur de 40 cm sur une surface bétonnée, permettant de déterminer 3 niveaux : (1) 50% ou plus de l'enrobage se sont décrochés de la semence, (2) entre 30 et 50% de l'enrobage se sont décrochés de la semence et (3) moins de 30% de l'enrobage se sont décrochés de la semence.

Tableau 3. Liste des essais réalisés pour l'enrobage des semences de froment

Essais	Semences [g]	Fragments racinaires mycorhizés [g]	Solution bactérienne à 5*10 ⁷ CFU/ml [ml]	Kaolin [g]	Maltodextrine [g]	Gomme arabique [g]	Sol [g]	Amidon [g]	Concentration alginate [%]	Eau déminéralisée [ml]	Commentaire sur la fabrication de l'enrobage *	Commentaire sur la résistance après séchage **
N°1	100	10	/	/	/	/	300	/	/	90	Agglomération moyenne	Désagrégation élevée
N°2	100	5	/	/	/	/	300	/	/	90	Agglomération moyenne	Désagrégation élevée
N°3	100	1	/	/	/	/	300	/	/	80	Agglomération moyenne	Désagrégation élevée
N°4	100	5	/	200	/	/	/	/	/	50	Agglomération moyenne, moindre que pour les essais N°1,2 et 3	Désagrégation élevée
N°5	100	5	/	200	/	20	/	/	/	50	Agglomération élevée	Désagrégation moyenne
N°6	100	5	/	200	/	/	/	60	2	50	Agglomération faible	Désagrégation élevée
N°7	100	5	/	200	20	/	/	60	/	50	Agglomération élevée	Désagrégation moyenne
N°8	100	2,5	25	100	5	/	/	/	/	/	Bonne incorporation des propagules Agglomération faible Rapport solide/liquide trop élevé	Désagrégation moyenne
N°9	100	/	/	75	/	/	/	/	/	25	Agglomération faible	Désagrégation moyenne
N°10	100	/	/	75	/	/	/	/	2	25	Agglomération moyenne	Désagrégation moyenne
N°11	100	/	/	75	/	0,75	/	/	/	25	Agglomération faible	Désagrégation élevée
N°12	100	/	/	75	/	1,5	/	/	/	25	Agglomération faible	Désagrégation élevée
N°13	100	/	/	75	/	5	/	/	/	30	Agglomération moyenne	Désagrégation moyenne
N°14	100	/	/	75	/	2,5	/	/	/	30	Agglomération faible	Désagrégation moyenne
N°15	100	/	/	75	/	2,5	/	/	2	30	Agglomération moyenne	Désagrégation moyenne
N°16	100	/	/	50	/	2,5	/	/	2	30	Agglomération élevée	Désagrégation faible
N°17	100	1	/	70	/	5	/	/	/	40	Agglomération moyenne	Désagrégation moyenne
N°18	100	1	40	70	/	5	/	/	/	/	Présence de bactéries ne modifie pas les conclusions de l'essai n°17	Présence de bactéries ne modifie pas les conclusions de l'essai n°17
N°19	100	1	40	75	/	10	/	/	/	/	Agglomération élevée	Désagrégation moyenne
N°20	100	1	40	75	2	4	/	/	/	/	Agglomération élevée	Désagrégation moyenne
N°21	100	/	/	65	2	2	/	/	/	40	Agglomération moyenne	Désagrégation moyenne
N°22	100	/	/	65	3,5	3,5	/	/	/	35	Agglomération moyenne	Désagrégation moyenne
N°23	100	/	/	60	3	3	/	/	/	30	Agglomération moyenne	Désagrégation faible
N°24	100	/	/	50	4,5	4,5	/	/	/	30	Agglomération élevée	Désagrégation faible
N°25	100	/	/	50	3	3	/	/	/	30	Agglomération moyenne	Désagrégation moyenne
N°26	100	/	/	55	3	3	/	/	/	30	Agglomération moyenne Rapport solide/liquide trop faible	Désagrégation faible
N°27	100	/	/	55	2,5	2,5	/	/	/	25	Agglomération faible	Désagrégation faible
N°28	100	0,427	22,5	56,3	2,25	2,25	/	/	/	/	Agglomération faible	Désagrégation plus faible que l'essai n°27

*L'agglomération est catégorisée en 3 niveaux (pour 100g de semences) : 1. Élevée - plus de 10 paquets de semences 2. Moyenne - entre 2 et 10 paquets de semences 3. Faible - moins de 2 paquets de semences

** La désagrégation après séchage de l'enrobage a été catégorisée en lâchant la semence enrobée à une hauteur de 40 cm sur une surface bétonnée, permettant de déterminer 3 niveaux :

1. 50% ou plus de l'enrobage se sont décrochés de la semence 2. Entre 30 et 50% de l'enrobage se sont décrochés de la semence 3. Moins de 30% de l'enrobage se sont décrochés de la semence

Les différents tests (Tableau 3) ont permis de déterminer les proportions finales nécessaires à l'enrobage d'un kg de semences de froment (Tableau 4).

Tableau 4. Proportion pour l'enrobage d'un kg de semences de froment. Le consortium 0 correspond aux semences non enrobées. Les consortia 1 et 2 correspondent respectivement à *R. irregularis***B. velezensis* GA1 et *R. irregularis***P. putida* BTP1

Consortium	Semences	Kaolin	Fragments racinaires mycorhizés	Eau déminéralisée	Gomme arabique	Maltodextrine	<i>Bacillus velezensis</i> GA1	<i>Pseudomonas putida</i> BTP1
0	1000 g	563 g	0 g	225 ml	22,5 g	22,5 g	0 CFU/ml	0 CFU/ml
1	1000 g	563 g	4,27 g	225 ml	22,5 g	22,5 g	5*10 ⁷ CFU/ml	0 CFU/ml
2	1000 g	563 g	4,27 g	225 ml	22,5 g	22,5 g	0 CFU/ml	5*10 ⁷ CFU/ml

Les trois enrobages du Tableau 4 ont été retenus car le taux d'agglomération était faible lors de la fabrication et la résistance aux chocs mécaniques après séchage à l'air libre était élevée. Un passage des graines enrobées dans le semoir à grains a permis de confirmer qu'une partie de l'enrobage restait fixée aux semences (Figure 15).



Figure 15. État des semences. A. Avant enrobage, B. Après enrobage et séchage et C. Après enrobage, séchage et passage dans le semoir à grains

Le protocole de l'enrobage final est présenté ci-dessous pour 11 kg de semences, quantité nécessaire au semis d'une modalité de l'essai au champ. Les détails de semis sont détaillés dans la section 3.2.4. Un maximum de 2 kg de semences à la fois ont été enrobés pour faciliter la manipulation des semences. L'opération d'enrobage est à répéter 6 fois en veillant au respect des rapports semences : solution d'enrobage.

1. Préparer la solution totale pour 11 kg de semences en versant dans un bœcher de 3 L placé sous agitation, 2,475 L de la solution bactérienne ($C=5 \times 10^7$ CFU/ml), 247,5 g de gomme arabique et 247,5 g de maltodextrine. Laisser sous agitation jusqu'à dilution complète
2. Passer à l'éthanol le récipient de 42 L⁹ et sécher avant de le fixer à la bétonnière. Le récipient de 42 L est fixé au niveau de l'ouverture de la bétonnière (Figure 16). Les matériaux devant être manipulés au cours de la fabrication de l'enrobage, placer le récipient de 42 L permet de ne pas se blesser avec les lames de la bétonnière tout en profitant du mouvement rotatif de celle-ci.
3. Y verser 2 kg de semences (Figure 16)
4. Placer dans un pulvérisateur à main de 1 L, 450 ml de la solution préparée

⁹ ELHO green basics top planter. Diamètre 47 cm. Volume 42 L.

5. Mélanger 1126 g de kaolin et 8,54 g de fragments racinaires mycorhizés dans un récipient séparé
6. Mettre des gants et incorporer petit à petit aux semences placées dans le récipient de 42 L, le mélange préparé en (5) à l'aide d'une cuillère à soupe (précédemment passée à l'éthanol) et la solution (4)
Prendre garde à bien humidifier les semences pour que le kaolin s'y fixe mais sans exagération pour éviter les agglomérations.
Il est important de remuer le mélange tout au long du processus d'incorporation et de décoller les semences et le kaolin adhérent aux parois du récipient de 42 L pour minimiser les pertes.
7. Placer les semences enrobées à sécher à l'air libre pendant 48h au minimum
8. Conserver les semences à température ambiante et à l'abri de l'humidité

Le protocole ci-dessus correspond à l'enrobage pour les consortia 1 et 2. L'enrobage du témoin est effectué sur base du même protocole mais en (1) la solution bactérienne est remplacée par de l'eau déminéralisée et en (6) il n'y a pas d'ajout des fragments racinaires mycorhizés.



Figure 16. Bétonnière à laquelle un récipient a été fixé pour pouvoir manipuler les matériaux en profitant du mouvement rotatif de la bétonnière

3.2.3. Evaluation de la viabilité des propagules au sein des graines enrobées

Afin d'évaluer la viabilité des propagules de CMA au sein des graines enrobées, 33 puits d'une plaque multipuits ont été remplis avec 50 g du substrat composé à 50% en volume de sable et de vermiculite. Quinze graines enrobées avec le consortium 1 ont été semées à 1 cm dans les 15 puits correspondants. L'opération a été répétée avec 15 graines enrobées avec le consortium 2, et 3 graines enrobées sans inoculum (C0). Quatorze semaines après le semis, le taux de colonisation a été déterminé selon les processus décrits dans la section 3.1.3.

Il est à noter que cette expérience a été lancée un mois après l'enrobage des graines en raison d'un manque de temps et que la conservation des graines enrobées a été effectuée sur des plateaux à l'air libre et à température ambiante.

a. Emplacement de l'expérimentation

a. Emplacement de l'expérimentation

L'expérience au champ a été implantée dans le hors essai de l'essai historique « matières organiques » situé sur la parcelle des Longs Tours du Centre de Recherche Agronomique- Wallon (CRA-W) en Belgique (latitude 50° 55' 86'' N, longitude 4° 72' 47'' E) (Figure 17). L'essai historique a été lancé en 1959 et teste 6 modalités de gestion des matières organiques, selon un design en carré latin. Afin d'évaluer l'effet des consortia en conditions non contrôlées et l'interaction consortia-fumure organique. Trois traitements ont été retenus :

- T4 = fumier (teneurs élevées en P disponible)
- T3 = Pailles + Lisier + Culture intermédiaire Piège à Nitrate (CIPAN) (teneurs intermédiaires en P disponible)
- T5 = Pailles (teneurs faibles en P disponible)

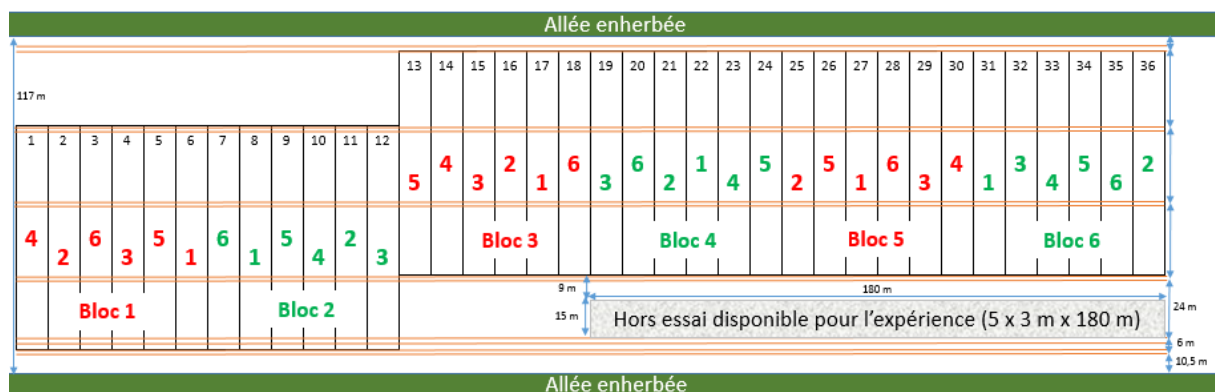


Figure 17. Disposition de l'essai historique « matières organiques » situé sur la parcelle des Longs Tours du CRA-W et du "hors essai" disponible pour cette expérience

Les précédents culturels de cette parcelle au cours des trois dernières années sont :

- En 2019 : Froment
- En 2020 : Escourgeon
- En 2021 : Maïs

b. Détermination du nombre de propagules infectieuses viables de CMA dans le sol de la parcelle

En amont du semis de l'essai, la densité de population des CMA a été évaluée par la technique de *Most Probable Number* (MPN). Cette technique consiste à prélever un échantillon de sol (échantillon composite à travers toutes les modalités de l'essai) et à effectuer une série de dilutions de ce sol avec un substrat stérile sur lesquelles une plante piège (ici *Zea mays* L.) est semée en conditions contrôlées. Les plantes sont récoltées après une durée minimale de 6 semaines. Les racines sont colorées et observées au binoculaire afin de noter le nombre de plantes mycorhizées en fonction des niveaux de dilution. La technique permet de cette manière de prédire le nombre le plus probable de propagules infectieuses de CMA viables par gramme de sol grâce à un modèle mathématique (Jarvis et al., 2010).

▪ Plante piège

La plante piège choisie est *Zea mays* L. car elle a un potentiel de mycorhization élevé avec une diversité de souches de CMA et permet d'observer avec facilité les structures fongiques au microscope (racines fines). Etant donné qu'il y a 10 niveaux de dilution de sol, un témoin et 3 répétitions, 33 semences de maïs sont nécessaires.

▪ Substrat

Les échantillons de sol utilisés pour le MPN ont été prélevés le 30 septembre 2021 lorsque le précédent cultural de l'expérience était encore en place (culture de maïs). Les échantillons ont été prélevés avec des sondes de 2 cm de diamètre sur une profondeur de 0-25 cm. Les échantillons ont été prélevés de manière à englober l'hétérogénéité de la parcelle. Environ 120 échantillons ont été pris sur la longueur de la parcelle en suivant 2 transects éloignés d'une dizaine de mètres. L'ensemble des échantillons mélangés manuellement représente un composite de sol de 21,3 kg. Le composite de sol est conservé 2 mois dans une chambre froide à 8°C.

▪ Mise en place du MPN

Le jour du semis, le composite est sorti de la chambre froide et la moitié (10 kg) est stérilisée grâce à un passage à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Le protocole pour le MPN est un protocole interne au laboratoire de mycologie de l'UCLouvain mais un protocole semblable a été publié par Wilson et Trinick (1983). Trois répliques de 50 g de sol non stérilisé sont placés dans trois puits d'une plaque de culture multipuits¹⁰. La plaque de culture multipuits a été coupée en deux au préalable afin de n'obtenir que 33 puits. Au fond de chaque puits une membrane poreuse a été placée pour éviter le transfert de racines d'un puits à l'autre. Le sol non stérilisé est ensuite dilué avec du sol stérilisé et placé dans 3 autres puits. Une dilution en cascade du substrat est ensuite obtenue en répétant le processus 9 fois. Trois prises de sol stérilisé sont également placées dans 3 puits et servent de témoin négatif. Les mélanges du sol stérile et non stérile sont effectués dans des sacs antistatiques¹¹ pour éviter que les spores ou autres propagules restent dans le sac. Les différentes dilutions et quantités de sol nécessaires sont disponibles dans le tableau 5.

¹⁰ Plaques de culture 66 puits (MULTYRAY 66) d'un volume de 69 ml, fournies par Modiform (référence 1537).

¹¹ Sacs zippés antistatiques fournis par Manutant (référence A172884)

Tableau 5. Mode opératoire des dilutions MPN à répéter 3 fois

Dilution	Facteur de dilution	Sol non stérilisé (g)	Sol stérile (g)	Somme (g)
0	1	50	0	50
1	0,5	25	25	50
2	0,25	12,5	37,5	50
3	0,125	6,25	43,75	50
4	0,0625	3,125	46,87	50
5	0,03125	1,5625	48,4375	50
6	0,015625	0,7813	49,2188	50
7	0,0078125	0,3926	49,6094	50
8	0,00390625	0,1953	49,8047	50
9	0,001953125	0,0977	49,9023	50
Témoin négatif		0	50	50

Au sein de chaque puits, une semence de maïs est semée à 1 cm de profondeur. La plaque multipuits est placée dans un bac (Figure 18). Les plantes ont été arrosées par capillarité chaque semaine pendant 4 semaines avec 600 ml d'eau déminéralisée. Pendant les 6 semaines suivantes, elles ont été arrosées avec 600 ml de solution de Hoagland une fois par semaine.



Figure 18. Maïs utilisé pour le MPN après 10 semaines de croissance

▪ Récoltes et observations

Dix semaines après le semis, les plantes ont été récoltées. Elles ont été coupées au niveau du collet et la partie racinaire a été rincée précautionneusement à l'eau. Chaque échantillon racinaire lavé a été placé dans un Falcon® de 50 ml et immergé avec de l'eau déminéralisée. Les échantillons sont conservés à 4°C jusqu'au moment de la coloration racinaire.

Le protocole de coloration du système racinaire est semblable à celui effectué dans la section 3.1.3.b. La plante piège utilisée étant ici du maïs et non du froment d'hiver, certaines modifications du protocole sont effectuées. La décoloration dans la solution de KOH (10%) dure 45 min, la neutralisation dans la solution d'HCL (1%) dure 1 minute et la coloration dans la solution d'encre dure 30 minutes. La conservation des racines s'effectue de façon identique à la conservation des échantillons de la section 3.1.3.b.

Pour l'observation, les racines colorées sont placées dans un couvercle de boîte de Petri et immergées dans de l'eau claire. Les observations ont été faites à la loupe binoculaire au grossissement 40x. Etant donné que pour l'analyse MPN, c'est la présence ou l'absence de structures mycorhiziennes qui est observée, pour dire qu'un résultat est positif, il est nécessaire d'observer au moins une de ces 3 caractéristiques : présence de vésicules, présence d'arbuscules et/ou présence d'hyphes intraracinaires (Toutenburg, 1971).

▪ Estimation du MPN

Pour déterminer le MPN, un programme utilisant Excel a été mis en libre accès par Jarvis et al. (2010). Cette méthode permet de mettre en évidence le MPN, ses écarts-types et intervalles de confiance. Le programme est basé sur l'utilisation des différentes équations. L'équation 5 permet de déterminer le MPN (Fisher et Yates, 1963) avec x = la moyenne des plantes mycorhizées, a = le facteur de dilution, K = paramètre de Fisher fonction de s et y et s = le nombre de dilution. L'équation 6 permet de calculer l'écart-type du log MPN (Cochran, 1950) avec n = nombre de répliques. L'équation 7 permet de déterminer la valeur du MPN et de son intervalle de confiance à 95% avec $Z_{\alpha/2}$ = Coefficient de confiance, α = degré de confiance et N = taille totale de l'échantillon.

$$(5) \quad \text{Log}_{10} \text{MPN} = x \text{ Log } a - K_{y,s} \quad \text{avec } y = s - x$$

$$(6) \quad \sigma_{\log \text{MPN}} = 0,55 \sqrt{\frac{\log a}{n}}$$

$$(7) \quad \text{MPN} \pm Z_{\alpha/2} \cdot \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$$

3.2.5. Mise en place de l'expérience

Le semis a été effectué en bandes perpendiculairement aux traitements « matières organiques » (Figure 19). Trois bandes tampons de froment d'hiver ont été placées entre l'expérience effectuée dans le cadre de ce mémoire et l'essai historique du CRA-W afin d'éviter toute éventuelle perturbation de celui-ci. Les bandes traitées avec les différents consortia ont été séparées d'une bande de froment non traité pour limiter les effets de bords.

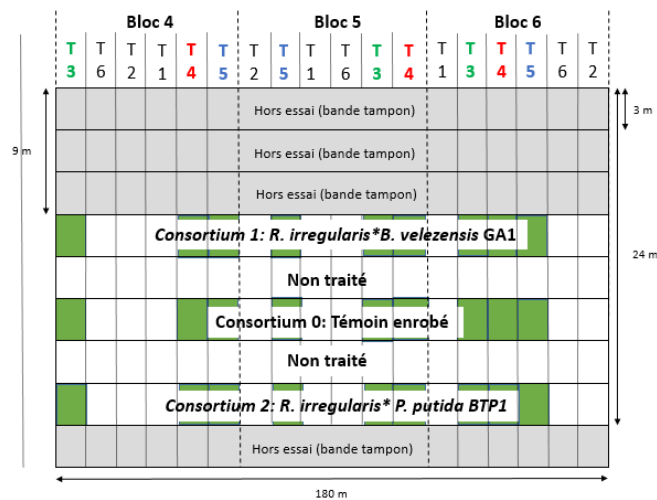


Figure 19. Représentation schématique de l'organisation de l'essai.
Les échantillonnages sont effectués sur les parcelles marquées en vert

Le semis des graines enrobées selon le protocole décrit dans la section 4.2.2. a été effectué le 9 novembre 2021. Cette date est comprise entre le 15 octobre et le 15 novembre qui correspond à la période de semis idéal pour le froment d'hiver en Belgique (Livre Blanc des Céréales, 2017). La densité de semis recommandée est de 300-350 grains/m² entre le 1

novembre et le 10 novembre (Livre Blanc des Céréales, 2021b). Une densité de semis de 325 grains/m² a donc été choisie ici en tenant compte également de la quantité de matériaux limitée pour l'enrobage. La surface de chaque bande étant de 540 m² et le poids de mille grains (PMG) du lot de semences utilisées de 51 g, un poids théorique de 8,951 kg de semences a été nécessaire au semis de chaque modalité de semences enrobées. Onze kg de semences ont été enrobés par bande afin d'avoir une marge de sécurité, soit 33 kg de semences à enrober au total. Le PMG des semences enrobées a été déterminé afin d'adapter le réglage du semoir pour respecter la densité de semis de 325 grains/m².

Le jour du semis, le sol a été préparé par un labour à 27 cm (Charrue Vogel & Noodt, 5 socs) et repris par un vibroculteur sur la poutre avant du tracteur lors du passage de la rotative et du semoir (Khun Venta 3030) (Figure 20). La graine a été semée à environ 3 cm de profondeur.



Figure 20. Semoir à grains utilisé pour le semis

L'itinéraire phytotechnique de la parcelle du 9 novembre au 23 mai, date du dernier prélèvement, est disponible dans le tableau 6. Sur cette période, l'azote a été apporté en trois fractions (59-60-63), un passage avec un herbicide a été effectué, deux passages de régulateurs de croissance ont été faits et la première dose de fongicide a été appliquée. La seconde dose de fongicide sera appliquée au stade dernière feuille.

Tableau 6. Itinéraire phytotechnique de la culture entre le 9 novembre 2021 et le 23 mai 2022

Date	Opération	Machine	Commentaires
9 novembre 2021	Semis	Khun Venta 3030	Préparation de sol le jour-même avec charrue Vogel & Noodt 5 socs et reprise avec vibroculteur frontal lors du semis (rotative + semoir)
11 Mars 2022	Engrais	Kuhn Metris	Sulfazote 28,6% - 59 N/ha
22 Mars 2022	Herbicide	Kuhn Metris	Herbicide: Mesiofis Pro – 0,9 L/ha Herbicide: Broadway – 200 g/ha Adjuvant : Mero (huile de colza) – 1 L/ha
11 Avril 2022	Régulateur de croissance	Kuhn Metris	Cycocel 75 – 1 L/ha
11 Avril 2022	Engrais	Khun Metris	Solution azotée (N39) – 60 N/ha
4 Mai 2022	Régulateur de croissance Fongicides	Khun Metris	Régulateur de croissance : Cycocel 75 – 0,75 L/ha Fongicide : Simveris – 1 L/ha Fongicide : Staveto – 1,5 L/ha
13 Mai 2022	Engrais	Rauch Axis centrifuge	Nitrate d'ammonium 27% - 63 N/ha

Il est à noter qu'une dose de 60 N/ha supplémentaire (solution azotée N39) a été appliquée par erreur le 8 juin 2022. La culture a donc reçu 242 N/ha au total.

3.2.6. Stratégie d'échantillonnage

A partir de fin mars jusque fin mai 2022, quatre échantillonnages ont été effectués à trois semaines d'intervalle. Les prélèvements ont eu lieu le 21 mars, le 11 avril, le 2 mai et le 23 mai (Figure 21).

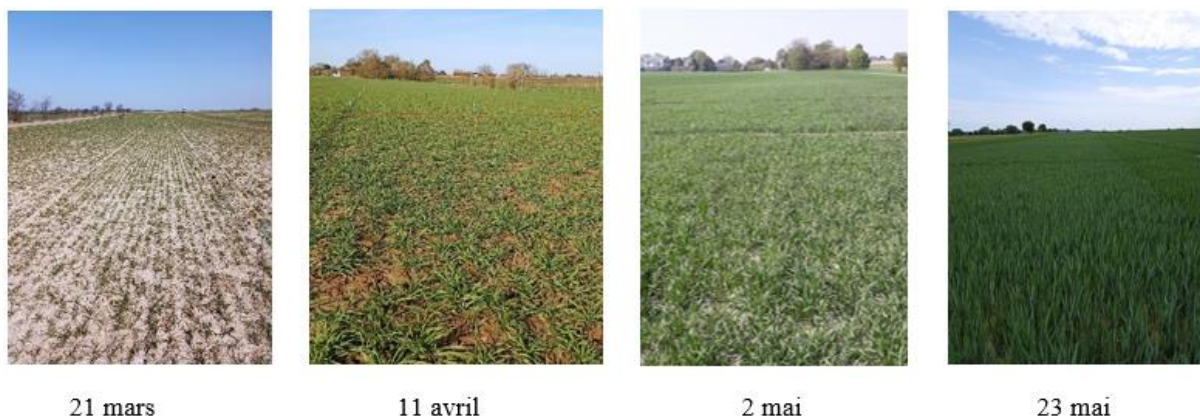


Figure 21. Etat de la culture de froment aux quatre dates d'échantillonnages

L'essai historique possède un design en bloc aléatoire complet, avec les blocs alignés. Le hors essai sur lequel est placée l'expérience en champ est étendu sur 3 blocs de l'essai historique. Trois répétitions sont donc présentes pour chaque traitement. Au total, 27 parcelles sont concernées par la prise de mesures (Figure 19). Sur chacune de ces parcelles, quatre prélèvements de 10 cm³ (10x10x10) de sol et racines ont été effectués à l'aide d'une pelle de repiquage. Les prélèvements sont centrés sur une ligne de semis. Les racines sont délicatement débarrassées de la terre en excès afin de limiter le volume de terre rapporté au laboratoire sans trop endommager le système racinaire.

Le sol résiduel est éliminé par un lavage du système racinaire à l'eau claire, à l'aide d'un jet d'eau. Les racines lavées sont placées dans un Falcon® de 50 ml et immergées dans de l'eau déminéralisée. Elles sont conservées à 4°C pendant une nuit avant d'être colorées.

La moisson de l'essai a été effectuée le 2 août 2022 par une moissonneuse d'essai de marque Wintersteiger d'1m50 de large.

3.2.7. Mesures

Le suivi de l'essai comprend la mesure de trois paramètres : (1) l'évolution du taux de colonisation racinaire par les CMA au cours du temps, (2) le rendement en grains et (3) la qualité du grain. Seuls les deux premiers paramètres sont traités dans le cadre de ce mémoire, les résultats de la qualité du grain sont disponibles, pour information, en Annexe 2.

Pour déterminer le taux de colonisation racinaire, deux phases sont nécessaires : la coloration et l'observation. Ces processus sont identiques à ceux décrits dans la section 3.1.3. Les racines de froment issues du champ sont moins homogènes que celles des plantes cultivées en pots en serres, une attention particulière doit être portée à la fabrication des lames. Sur chaque lame, 1/3 de fragments épais, 1/3 de fragments de diamètre moyen et 1/3 de racines fines sont placés. L'observation des lames au microscope et le comptage des structures fongiques ont été effectués comme décrit dans la section 3.1.3.

Le rendement en grains a été mesuré à l'aide d'une moissonneuse d'essai de marque Wintersteiger d'1m50 de large. Le centre des parcelles d'essai a été récolté dans l'axe du semis, sur toute la longueur de la parcelle. Le rapport entre la masse de l'échantillon de grains prélevé et la surface moissonnée a permis de calculer le rendement brut. L'humidité du grain a été mesurée à l'aide d'un analyseur DICKEY-John, et le rendement a été corrigé à 15 % d'humidité afin d'analyser les résultats.

3.3. **Analyse statistique**

Les données récoltées ont été traitées avec le logiciel RStudio® (R Core Team 2022-Version 4.2.0). Le plan d'analyse statistique est présenté en Figure 22.

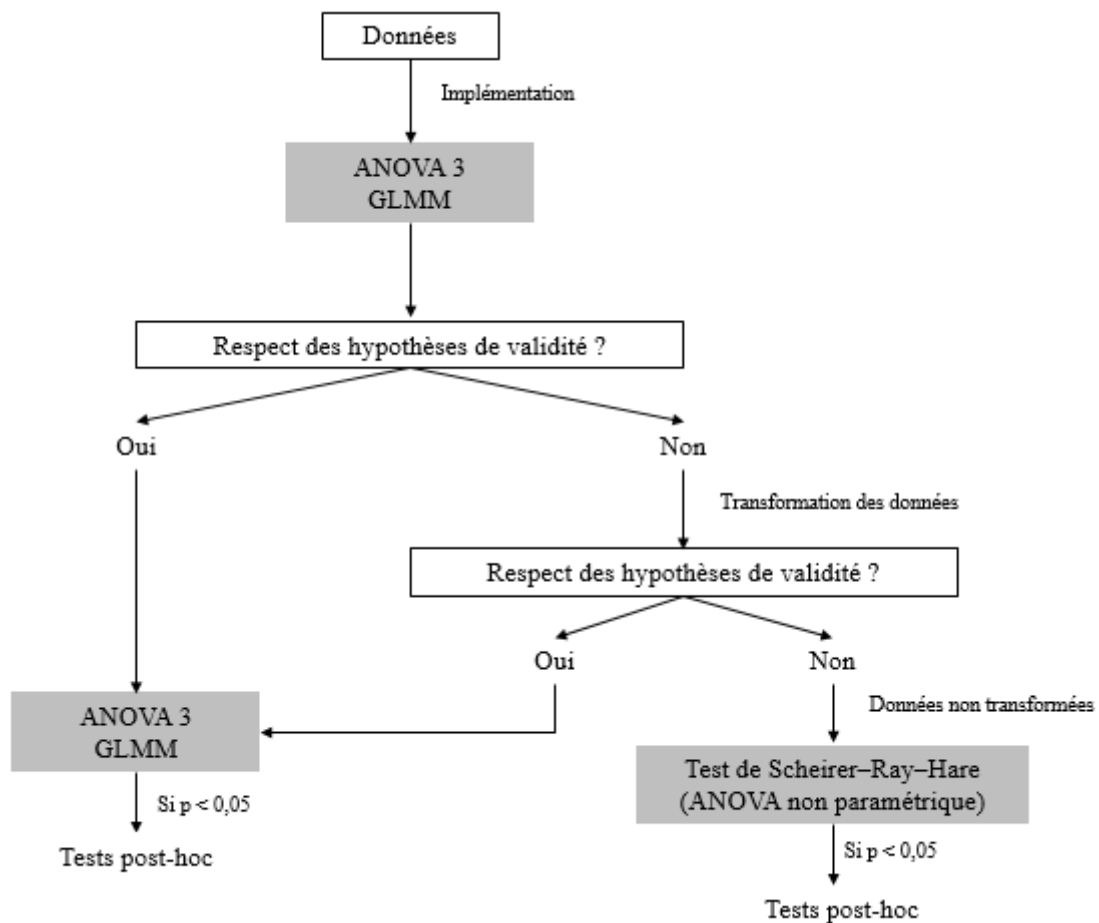


Figure 22. Représentation schématique de l'analyse statistique

a. **ANOVA III – Modèle linéaire mixte**

Dans un premier temps, une analyse statistique de la variance à trois facteurs a été effectuée. L'objectif de l'ANOVA III (ANALYSIS OF VARIANCE), utilisée ici dans le cadre du modèle général linéaire mixte (GLMM), est de déterminer si les facteurs fixes ou leurs interactions ont des effets significatifs sur les variables dépendantes tout en prenant en compte l'effet du facteur aléatoire (Kuznetsova et al., 2017).

Les facteurs fixes de l'expérience consortium*variété en serres sont :

- Le traitement **consortium** contenant trois modalités : C0 (aucun inoculum), C1 (*B. velezensis* GA1 GFP**R. irregularis* MUCL43194) et C2 (*P. putida* BTP1**R. irregularis* MUCL43194)
- Les **variétés de froment** contenant cinq modalités : ANAPOLIS, ARMINIUS, CHEVIGNON, CUBITUS et MOSCHUS

Les facteurs fixes du dénombrement bactérien de l'expérience en serres sont :

- Les **variétés de froment** contenant cinq modalités : ANAPOLIS, ARMINIUS, CHEVIGNON, CUBITUS et MOSCHUS
- Le facteur **temps** contenant trois modalités : 6, 9 et 12 semaines

Les facteurs fixes de l'expérience consortium*fumure en champ sont :

- Le traitement **consortium** contenant trois modalités : C0 (aucun inoculum), C1 (*B. velezensis* GA1 GFP**R. irregularis* MUCL43194) et C2 (*P. putida* BTP1**R. irregularis* MUCL43194)
- Les **fumures organiques** contenant trois modalités : Fumier, Intermédiaire (pailles + lisier + CIPAN) et Pailles

Les facteurs fixes de l'expérience temps*fumure en champ sont :

- Les **fumures organiques** contenant trois modalités : Fumier, Intermédiaire (pailles + lisier + CIPAN) et Pailles
- Le facteur **temps** contenant quatre modalités : 21 mars, 11 avril, 2 mai et 23 mai

Le facteur aléatoire de ces modèles est le **facteur bloc** contenant six modalités pour l'expérience en serres (bloc 1 à bloc 6) et trois modalités pour l'expérience en champ (bloc 4 à 6).

Les données de taux de colonisation totale (CT), arbusculaire (CA) et vésiculaire (CV) ont été transformées afin de supprimer la borne supérieure par la racine carrée du taux et son arcsinus : $\sin^{-1}(\sqrt{CT, CA \text{ ou } CV})$.

Le test de Fisher de l'ANOVA permet de déterminer s'il existe une différence significative ($p\text{-valeur} \leq 0,05$) entre les traitements due à l'un des facteurs fixes et/ou à leurs interactions. Si ce test s'avère significatif, le test post-hoc de Tukey est réalisé en appliquant la correction de Bonferroni.

b. Validité des conditions fondamentales

Trois conditions fondamentales sont à respecter afin de pouvoir utiliser l'ANOVA.

La première condition est l'**indépendance** des observations. Cette condition est respectée car en serres, les populations de plantes étudiées se situent dans des pots individuels, et en champ, les parcelles sont séparées par des bandes tampons. La deuxième

condition est la **normalité des résidus**. Le test d'Anderson-Darling et/ou le diagramme quantile-quantile ont été utilisés pour vérifier cette condition. La troisième condition est l'**homoscédasticité**, l'homogénéité des résidus. Le test de Levene a été utilisé pour vérifier cette condition.

Si une de ces conditions n'était pas respectée, différentes transformations ont été utilisées afin d'entrer dans les conditions fondamentales. Les transformations testées sont les transformations logarithmique, racine carrée et BoxCox (Equation 8). Dans l'équation 8, « y » représente les valeurs transformées, « x » la valeur initiale et « λ » le paramètre à faire varier.

$$(8) \quad y = \frac{x^\lambda - 1}{\lambda}$$

Deux transformations ont été effectuées pour respecter les conditions de validité de l'ANOVA :

- La transformation BoxCox avec $\lambda = -0,5$ pour les données du poids sec racinaire de la sixième semaine de l'expérience en serres
- La transformation BoxCox avec $\lambda = 1,5$ pour les données de colonisation totale de la sixième semaine de l'expérience en serres

Si les trois conditions sont respectées, avec ou sans transformation des données, l'ANOVA III a été réalisée suivie du test post-hoc de Tukey si les résultats de l'ANOVA III affichaient des p-valeurs inférieures à 0,05.

c. Test de Scheirer-Ray-Hare

La validité des conditions fondamentales de l'ANOVA n'a pas pu être respectée, même après transformation des données dans les cas ci-dessous :

- Taux de colonisation arbusculaire et vésiculaire de la sixième semaine de l'expérience en serres
- Taux de colonisation arbusculaire de la douzième semaine de l'expérience en serres
- Dénombrement de *B. velezensis* GA1 après six, neuf et douze semaines
- Taux de colonisation vésiculaire du 21 mars, 11 avril et 2 mai de l'expérience en champ

Le test de Scheirer-Ray-Hare a été utilisé dans ces cas-là. C'est une méthode non paramétrique ne nécessitant pas la normalité des données. Ce test permet de déterminer si deux facteurs et/ou leur interaction ont des effets significatifs ($p \leq 0,05$) sur les variables dépendantes (Scheirer et al., 1976). Si un facteur présente un effet significatif sur la variable dépendante, le test post-hoc de Dunn (non paramétrique) a été réalisé après le test de Scheirer-Ray-Hare. Le facteur bloc n'a pas pu être pris en compte dans ces cas-là, le test de Scheirer-Ray-Hare étant une ANOVA II non paramétrique.

4. Résultats

4.1. Expérience en serres

4.1.1. Résultats de l'évaluation de la biomasse végétale aérienne et racinaire

Les résultats des poids secs aériens (PSA) et racinaires (PSR) après 6, 9 et 12 semaines de croissance sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7. Résultats des poids secs aériens et racinaires du froment après 6, 9 et 12 semaines de croissance en conditions contrôlées. C0 correspond au témoin négatif, C1 au consortium composé de *R. irregularis* MUCL43194*B. velezensis GA1 et C2 au consortium composé de *R. irregularis* MUCL43194*P. putida BTP1

	Semaine 6		Semaine 9		Semaine 12	
Traitement	PS Aérien	PS Racinaire	PS Aérien	PS Racinaire	PS Aérien	PS Racinaire
Consortium						
C0	0,51 ± 0,11	0,19 ± 0,05 αβ	1,51 ± 0,29 α	0,28 ± 0,09 γ	3,52 ± 0,66	1,45 ± 0,42
C1	0,53 ± 0,11	0,24 ± 0,03 α	1,51 ± 0,29 α	0,44 ± 0,08 α	3,55 ± 0,50	1,40 ± 0,33
C2	0,52 ± 0,13	0,18 ± 0,11 β	1,41 ± 0,28 β	0,36 ± 0,15 β	3,50 ± 0,43	1,36 ± 0,29
Variété						
Anapolis	0,54 ± 0,09 b	0,22 ± 0,05 ab	1,51 ± 0,21 b	0,39 ± 0,14 ab	3,66 ± 0,42 b	1,44 ± 0,35 ab
Chevignon	0,46 ± 0,05 c	0,20 ± 0,05 abc	1,31 ± 0,15 c	0,30 ± 0,07 c	3,28 ± 0,28 c	1,40 ± 0,23 b
Arminius	0,68 ± 0,07 a	0,25 ± 0,12 a	1,88 ± 0,19 a	0,44 ± 0,11 a	4,19 ± 0,43 a	1,64 ± 0,41 a
Cubitus	0,37 ± 0,05 d	0,16 ± 0,04 c	1,20 ± 0,11 c	0,31 ± 0,14 c	3,00 ± 0,34 d	1,13 ± 0,24 c
Moschus	0,52 ± 0,04 b	0,19 ± 0,07 bc	1,46 ± 0,20 b	0,33 ± 0,11 bc	3,45 ± 0,31 bc	1,38 ± 0,30 b
Interaction						
Anapolis*C0	0,54 ± 0,11	0,20 ± 0,04	1,57 ± 0,09	0,32 ± 0,08	3,68 ± 0,65	1,48 ± 0,46
Anapolis*C1	0,56 ± 0,10	0,27 ± 0,06	1,57 ± 0,09	0,51 ± 0,16	3,71 ± 0,27	1,42 ± 0,25
Anapolis*C2	0,55 ± 0,05	0,20 ± 0,02	1,46 ± 0,30	0,37 ± 0,11	3,69 ± 0,26	1,47 ± 0,37
Chevignon*C0	0,45 ± 0,04	0,18 ± 0,03	1,34 ± 0,17	0,22 ± 0,05	3,19 ± 0,34	1,48 ± 0,24
Chevignon*C1	0,48 ± 0,05	0,23 ± 0,06	1,34 ± 0,17	0,35 ± 0,06	3,40 ± 0,26	1,40 ± 0,24
Chevignon*C2	0,44 ± 0,05	0,18 ± 0,03	1,25 ± 0,12	0,32 ± 0,30	3,26 ± 0,23	1,31 ± 0,20
Arminius*C0	0,64 ± 0,07	0,24 ± 0,05	1,92 ± 0,14	0,34 ± 0,09	4,31 ± 0,55	1,68 ± 0,56
Arminius*C1	0,73 ± 0,06	0,33 ± 0,18	1,92 ± 0,14	0,53 ± 0,10	4,05 ± 0,49	1,61 ± 0,38
Arminius*C2	0,68 ± 0,07	0,19 ± 0,03	1,80 ± 0,26	0,45 ± 0,06	4,19 ± 0,24	1,64 ± 0,33
Cubitus*C0	0,39 ± 0,05	0,18 ± 0,05	1,20 ± 0,14	0,23 ± 0,08	2,89 ± 0,39	1,08 ± 0,26
Cubitus*C1	0,37 ± 0,03	0,16 ± 0,04	1,20 ± 0,14	0,39 ± 0,20	3,18 ± 0,31	1,12 ± 0,15
Cubitus*C2	0,41 ± 0,06	0,14 ± 0,03	1,20 ± 0,08	0,33 ± 0,35	2,96 ± 0,29	1,18 ± 0,32
Moschus*C0	0,52 ± 0,03	0,16 ± 0,02	1,53 ± 0,18	0,28 ± 0,08	3,54 ± 0,40	1,52 ± 0,35
Moschus*C1	0,52 ± 0,06	0,23 ± 0,11	1,53 ± 0,18	0,41 ± 0,12	3,41 ± 0,21	1,43 ± 0,25
Moschus*C2	0,51 ± 0,05	0,17 ± 0,03	1,33 ± 0,19	0,32 ± 0,08	3,41 ± 0,33	1,21 ± 0,23
Effet p-valeur						
Consortium	0,1580	0,0054	0,0039	<0,0001	0,7958	0,3328
Variété	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Interaction	0,3048	0,6270	0,7693	0,786	0,4613	0,5576
Bloc	<0,0001	0,01681	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α , β et γ) pour le facteur consortium et par les lettres latines en minuscule (a , b , c et d) pour le facteur variété, selon les tests post-hoc effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements.

Après six semaines de croissance, un effet variétal a été observé sur le PSA. La variété Arminius présentait un PSA significativement ($p < 0,0001$) plus élevé que les autres variétés et Cubitus un PSA significativement plus faible. Un effet du consortium et un effet variétal ont été observés sur le PSR. Les plantes traitées avec le consortium 1 (*B. velezensis* GA1* *R.*

irregularis MUCL43194) présentaient un PSR significativement ($p = 0,0023$) plus élevé que les plantes traitées avec le consortium 2 (*P. putida* BTP1* *R. irregularis* MUCL43194). La variété Arminius présentait un PSR significativement plus élevé que Cubitus ($p < 0,0001$) et Moschus ($p = 0,0136$).

Après neuf semaines de croissance, un effet du consortium et un effet variétal ont été observés sur les PSA et PSR. Les plantes traitées ou non avec le consortium 1 avaient un PSA significativement plus élevé que les plantes traitées avec le consortium 2 (Figure 23). La variété Arminius présentait un PSA significativement plus élevé que celui des quatre autres variétés. Chevignon et Cubitus présentaient un PSA significativement inférieur à celui des trois autres variétés (Figure 23). Concernant le PSR, les plantes traitées avec le consortium 1 présentaient une biomasse plus élevée ($p = 0,0001$) que les plantes traitées avec le consortium 2 et les plantes traitées avec le consortium 2 présentaient un PSR plus élevé ($p = 0,0001$) que les plantes non traitées.

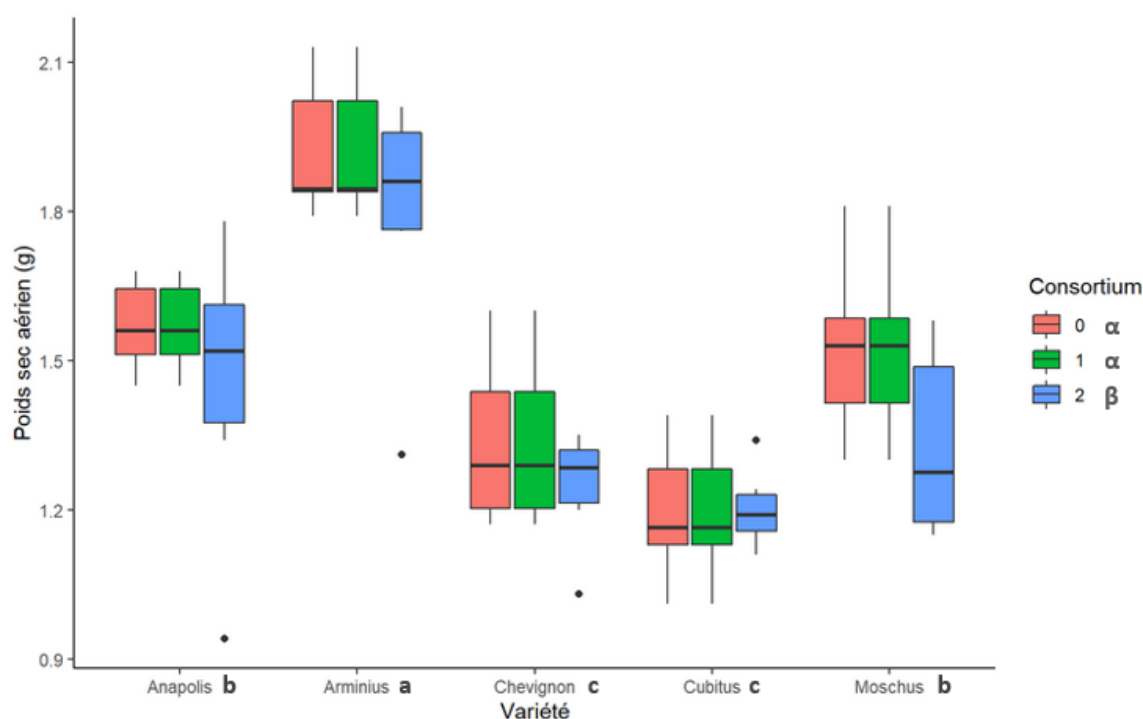


Figure 23. Poids sec aérien des variétés de froment non traitées (C0), traitées avec *R. irregularis* MUCL43194*B. velezensis (C1) et *R. irregularis* MUCL43194**P. putida* BTP1 après 9 semaines de croissance en conditions contrôlées. Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α et β) pour le facteur consortium et par les lettres latines en minuscule (a, b et c) pour le facteur variété, selon les tests post-hoc (Tukey) effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements.

Après douze semaines de croissance, contrairement aux deux prélèvements précédents, plus aucun effet du consortium n'a été observé sur le PSA ou PSR des plantes. En revanche, un effet variétal a été observé sur le PSA avec la variété Arminius qui présentait un PSA significativement plus élevé que les autres variétés et la variété Cubitus présentait un PSA significativement inférieur aux autres variétés. Ces deux variétés présentaient également respectivement un PSR plus élevé et plus faible que les trois autres variétés.

Aucune interaction entre variété et consortium n'a été mise en évidence sur les PSA et PSR des plantes après six, neuf et douze semaines de croissance.

Il faut également noter un effet bloc important sur les PSA et PSR à tous les prélèvements.

4.1.2. Résultats de l'évaluation des pourcentages de colonisation totale, arbusculaire et vésiculaire

a. Résultats des pourcentages de colonisation totale après 6, 9 et 12 semaines

Les résultats des pourcentages de colonisation totale (%CT) par le CMA après six, neuf et douze semaines de croissance sont présentés dans le Tableau 8.

Tableau 8. Résultats des pourcentages de colonisation totale par le CMA mesurés après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment en conditions contrôlées. Les résultats du traitements témoin (C0) n'ont pas été présentés en raison d'une colonisation nulle à tous les pas de temps.

Traitement	Colonisation totale (%)		
	Semaine 6	Semaine 9	Semaine 12
Consortium			
C1	4,76 ± 5,33 β	16,68 ± 7,25 β	65,61 ± 10,38 α
C2	19,83 ± 4,59 α	23,22 ± 4,45 α	59,78 ± 14,76 β
Variété			
Anapolis	14,33 ± 9,54 ab	19,17 ± 6,34 a	63,04 ± 8,30 a
Chevignon	11,17 ± 8,97 ab	23,67 ± 5,42 a	66,63 ± 11,85 a
Arminius	16,08 ± 8,93 a	22,79 ± 4,59 a	70,88 ± 9,44 a
Cubitus	10,17 ± 9,49 b	14,08 ± 6,91 b	47,92 ± 13,55 b
Moschus	9,75 ± 8,08 b	20,04 ± 6,97 a	65,04 ± 9,39 a
Interaction			
Anapolis*C1	6,67 ± 4,76	14,25 ± 3,46 * BC	64,00 ± 6,57
Anapolis*C2	22 ± 6,05	24,08 ± 4,28 *	62,08 ± 10,30
Chevignon*C1	3,58 ± 3,76	23,67 ± 6,85 A	69,50 ± 11,52
Chevignon*C2	18,75 ± 4,99	23,67 ± 4,23	73,75 ± 12,50
Arminius*C1	9,58 ± 7,77	22,00 ± 5,01 AB	72,75 ± 11,13
Arminius*C2	22,58 ± 3,71	23,58 ± 4,45	69,00 ± 7,98
Cubitus*C1	1,25 ± 1,17	9,17 ± 4,60 * C	58,08 ± 10,38
Cubitus*C2	19,08 ± 2,42	19,00 ± 5,10 *	37,75 ± 6,96
Moschus*C1	2,75 ± 3,60	14,33 ± 5,13 * C	63,75 ± 7,88
Moschus*C2	16,75 ± 3,63	25,75 ± 1,61 *	66,33 ± 11,30
Effet : p-valeur			
Consortium	<0,0001	<0,0001	0,0283
Variété	0,0029	<0,0001	<0,0001
Interaction	0,5819	0,0067	0,0881
Bloc	0,5730	1,0000	0,9067

Les différences significatives entre traitements sont représentées par différents symboles. Les différences entre les consortia sont représentées par les lettres grecques (α et β). Les différences entre les variétés sont représentées par les lettres latines en minuscule (a, b et c). Les différences entre les facteurs de l'interaction variété*consortium sont représentées grâce à deux indications : (1) les * indiquent une différence significative entre les interactions avec le consortium 1 et celle avec le consortium 2 au sein d'une variété et (2) les lettres majuscules (A, B et C) indiquent une différence significative entre les interactions avec les variétés et le consortium 1. L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements.

Les pourcentages de CT étaient significativement différents en fonction du consortium. Après six et neuf semaines, les plantes traitées avec le consortium 2 présentaient des %CT significativement plus élevés que les plantes traitées avec le consortium 1 avec des p-valeurs inférieures à 0,0001. En revanche, après douze semaines de croissance, les plantes traitées avec le consortium 1 présentaient un %CT de $65,61 \pm 10,38\%$ significativement supérieur à celui des plantes traitées avec le consortium 2 ($p = 0,0302$).

Le traitement « variété » a eu un effet sur les %CT aux trois temps de prélèvements. Après six semaines, Arminius présentait un pourcentage de CT supérieur à Cubitus ($p = 0,0046$) et à Moschus ($p = 0,0078$). Après neuf et douze semaines, Cubitus présentait des %CT significativement inférieurs aux quatre autres variétés.

Un effet d'interaction a été observé sur la CT après neuf semaines. En effet, les variétés Anapolis, Cubitus et Moschus présentaient des %CT significativement supérieurs lorsqu'elles étaient traitées avec le consortium 2 par rapport au consortium 1.

b. Résultats des pourcentages de colonisation arbusculaire après 6, 9 et 12 semaines

Les résultats des pourcentages de colonisation arbusculaire (%CA) par le CMA après six, neuf et douze semaines de croissance sont présentés dans le Tableau 9.

Tableau 9. Résultats des pourcentages de colonisation arbusculaire par le CMA mesurés après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment en conditions contrôlées

Colonisation arbusculaire (%)			
Traitement	Semaine 6	Semaine 9	Semaine 12
Consortium			
C1	0,02 ± 0,09 β	0,88 ± 1,08 β	9,73 ± 2,52 α
C2	0,35 ± 0,44 α	2,62 ± 1,24 α	5,78 ± 3,15 β
Variété			
Anapolis	0,08 ± 0,19	1,38 ± 1,46 ab	8,79 ± 2,90
Chevignon	0,08 ± 0,19	2,08 ± 1,40 a	9,17 ± 3,79
Arminius	0,17 ± 0,25	2,25 ± 1,53 a	8,79 ± 3,19
Cubitus	0,33 ± 0,49	1,17 ± 1,34 b	4,79 ± 3,51
Moschus	0,25 ± 0,50	1,88 ± 1,43 ab	7,25 ± 2,13
Interaction			
Anapolis*C1	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,38	10,67 ± 0,62
Anapolis*C2	0,17 ± 0,26	2,33 ± 1,54	6,92 ± 1,80
Chevignon*C1	0,00 ± 0,00	1,75 ± 1,75	11,50 ± 3,36
Chevignon*C2	0,17 ± 0,26	2,42 ± 0,97	6,83 ± 2,70
Arminius*C1	0,08 ± 0,20	1,50 ± 1,00	10,08 ± 1,43
Arminius*C2	0,25 ± 0,27	3,00 ± 1,67	7,50 ± 4,05
Cubitus*C1	0,00 ± 0,00	0,08 ± 0,20	7,92 ± 1,32
Cubitus*C2	0,67 ± 0,52	2,25 ± 1,04	1,67 ± 1,37
Moschus*C1	0,00 ± 0,00	0,67 ± 0,26	8,50 ± 2,03
Moschus*C2	0,50 ± 0,63	3,08 ± 0,97	6,00 ± 1,45
Effet : p-valeur			
Consortium	0,0001	<0,0001	0,0001
Variété	0,5197	0,0053	0,0182
Interaction	0,4688	0,0859	0,9133
Bloc	/	0,2645	/

Les différences significatives entre traitements sont représentées par différents symboles. Les différences entre les consortiums sont représentées par les lettres grecques (α et β). Les différences entre les variétés sont représentées par les lettres latines en minuscule (a et b). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements. Lorsqu'une valeur est présente pour l'effet bloc, les tests post-hoc effectués sont des tests de Tukey. Lorsque cette valeur n'est pas présente, l'effet bloc n'a pas pu être pris en compte car les tests post-hoc effectués sont des tests non paramétriques de Dunn.

Un effet consortium a été mis en évidence sur les %CA. Après six et neuf semaines de croissance, les plantes traitées avec le consortium 2 présentaient des %CA significativement supérieurs à ceux mesurés chez les plantes traitées avec le consortium 1. Après douze semaines, ce sont les plantes traitées avec le consortium 1 qui présentaient des taux de CA de $9,73 \pm 2,52\%$ significativement supérieurs aux pourcentages observés au sein des plantes traitées avec le consortium 2 ($p < 0,0001$).

Un effet variétal a été observé sur la CA après neuf et douze semaines. Après neuf semaines, les variétés Arminius et Chevignon présentaient des taux significativement supérieurs aux taux observés pour la variété Cubitus. Après douze semaines, le test de Scheirer-Ray-Hare montrait un effet variétal ($p = 0,0182$). Selon le test post-hoc de Dunn, les

variétés Arminius et Chevignon présentaient des taux de CA supérieurs aux taux observés pour la variété Cubitus avec des p-valeurs de respectivement 0,0533 et 0,0595, c'est-à-dire légèrement supérieurs à la valeur seuil de 0,05.

c. Résultats des pourcentages de colonisation vésiculaire après 6, 9 et 12 semaines

Les résultats des pourcentages de colonisation vésiculaire (%CV) par le CMA après six, neuf et douze semaines de croissance sont présentés dans le Tableau 10.

Tableau 10. Résultats des taux de colonisation vésiculaire par le CMA mesurés après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment en conditions contrôlées

Traitement	Colonisation vésiculaire (%)		
	Semaine 6	Semaine 9	Semaine 12
Consortium			
C1	0,02 ± 0,17 β	0,88 ± 0,66 β	9,73 ± 3,37
C2	0,53 ± 0,75 α	1,78 ± 1,20 α	9,66 ± 3,77
Variété			
Anapolis	0,29 ± 0,72	0,96 ± 1,05	11,08 ± 3,87 ab
Chevignon	0,04 ± 0,14	0,96 ± 0,81	10,71 ± 3,81 ab
Arminius	0,58 ± 0,76	1,04 ± 0,89	13,25 ± 3,63 a
Cubitus	0,13 ± 0,31	0,92 ± 0,94	7,29 ± 2,05 c
Moschus	0,46 ± 0,67	1,83 ± 1,75	9,41 ± 1,48 b
Interaction			
Anapolis*C1	0,08 ± 0,20	0,42 ± 0,59	10,58 ± 3,20
Anapolis*C2	0,50 ± 1,00	1,50 ± 1,18 B	11,58 ± 4,70
Chevignon*C1	0,00 ± 0,00	0,92 ± 0,97	11,83 ± 4,39
Chevignon*C2	0,08 ± 0,20	1,00 ± 0,71 B	9,58 ± 3,11
Arminius*C1	0,17 ± 0,26	0,67 ± 0,75	14,17 ± 3,47
Arminius*C2	1,00 ± 0,89	1,42 ± 0,92 AB	12,33 ± 3,86
Cubitus*C1	0,00 ± 0,00	0,33 ± 0,41 *	8,50 ± 1,14
Cubitus*C2	0,25 ± 0,42	1,50 ± 1,00 * AB	6,08 ± 2,11
Moschus*C1	0,08 ± 0,20	0,17 ± 0,26 *	10,08 ± 1,16
Moschus*C2	0,83 ± 0,75	3,50 ± 0,00 * A	8,75 ± 1,41
Effet : p-valeur			
Consortium	0,0024	<0,0001	0,0565
Variété	0,0545	0,5478	0,0003
Interaction	0,6808	0,0126	0,6203
Bloc	/	0,4266	0,3503

Les différences significatives entre traitements sont représentées par différents symboles. Les différences entre les consortia sont représentées par les lettres grecques (α et β). Les différences entre les variétés sont représentées par les lettres latines en minuscule (a, b et c). Les différences entre les facteurs de l'interaction variété*consortium sont représentées grâce à deux indications : (1) les * indiquent une différence entre les interactions avec le consortium 1 et celle avec le consortium 2 au sein d'une variété et (2) les lettres majuscules en italique (*A* et *B*) indiquent une différence entre les interactions avec les variétés et le consortium 2. L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences significatives entre traitements. Lorsqu'une valeur est présente pour l'effet bloc, les tests post-hoc effectués sont des tests de Tukey. Lorsque cette valeur n'est pas présente, l'effet bloc n'a pas pu être pris en compte car les tests post-hoc effectués sont des tests non paramétriques de Dunn.

Un effet consortium a été mis en évidence sur la CV après six et neuf semaines, les plantes traitées avec le consortium 2 présentaient des %CV significativement supérieurs aux taux comptabilisés sur les plantes traitées avec le consortium 1. Aucun effet consortium n'a

été observé à la douzième semaine, les plantes traitées avec le consortium 1 présentaient des %CV similaires à celles traitées avec le consortium 2.

Un effet variétal a été observé à la douzième semaine, la variété Arminius avec une CV de $13,25 \pm 3,63\%$ présentait des %CV supérieurs à ceux comptabilisés pour Moschus ($p = 0,0267$) et Cubitus ($p < 0,0001$). La variété Cubitus présentait des %CV significativement inférieurs aux quatre autres variétés.

Un effet d'interaction sur la CV a été mis en évidence à la neuvième semaine, les plantes traitées avec le consortium 2 présentaient des pourcentages significativement supérieurs aux plantes traitées avec le consortium 1 pour les variétés Cubitus et Moschus. La variété Moschus traitée avec le consortium 2 présentait des pourcentages significativement supérieurs à Anapolis et Chevignon traitées avec le même consortium.

4.1.3. Evolution des densités bactériennes au cours des prélèvements

Pour rappel, le dénombrement bactérien n'a pu être effectué que sur le consortium 1 car *B. velezensis* GA1 possédait le gène codant pour la « green fluorescent protein » contrairement à *P. putida* BTP1.

Les résultats présentés sur la Figure 24 mettent en évidence une diminution de la concentration bactérienne des plantes traitées avec le consortium 1 au cours des prélèvements. En effet, le facteur temps a un effet significatif sur la quantité de colonies présentes par g de racines ($p < 0,0001$). Après six semaines de croissance, la concentration bactérienne est significativement plus élevée qu'après neuf ($p = 8,03 \cdot 10^{-5}$) et douze semaines ($p = 3,56 \cdot 10^{-17}$). La concentration bactérienne est également supérieure après neuf semaines par rapport à la concentration bactérienne après douze semaines ($p = 8,03 \cdot 10^{-6}$). Les valeurs de CFU/g de racines sèches atteignaient $499,70 \pm 480,37$ après 6 semaines, $29,95 \pm 73,36$ après 9 semaines et $2,50 \pm 1,05$ après 12 semaines. Malgré des concentrations bactériennes faibles par rapport aux deux prélèvements précédents, tous les échantillons analysés en semaine 12 montraient une présence de la bactérie. Aucune différence significative n'a été observée en fonction des variétés ou de l'interaction variété*temps. Le tableau statistique est disponible en Annexe 2.

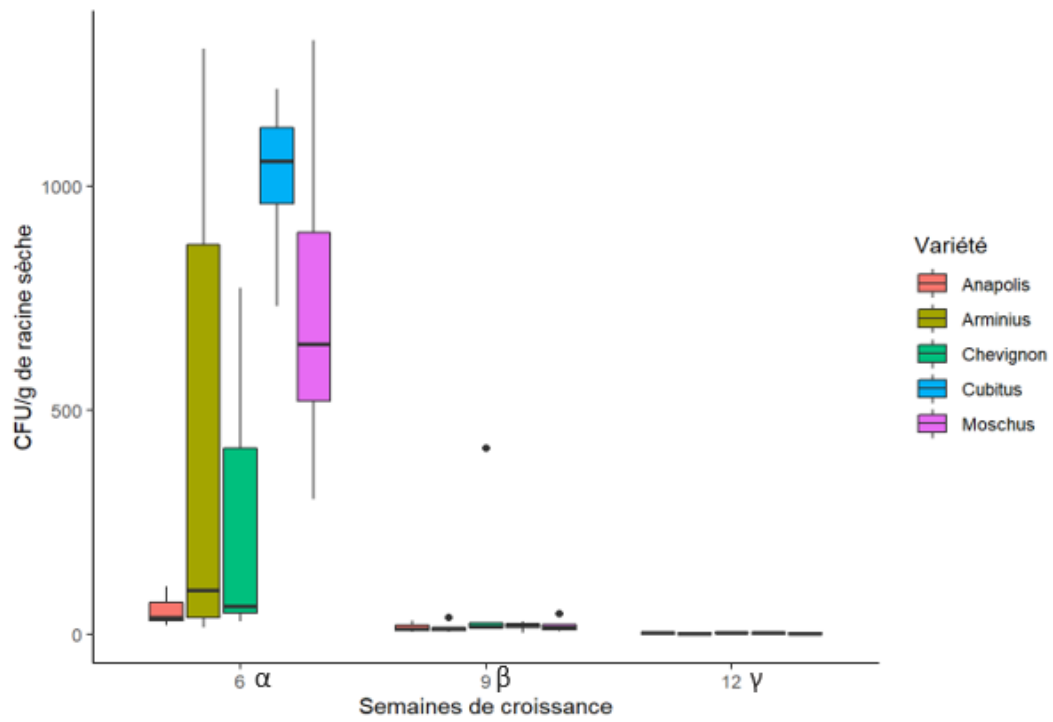


Figure 24. Dénombrement (CFU/g de racine sèche) de *B. velezensis* GA1 GFP après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment. Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α , β et γ) pour le facteur temps, selon les tests post-hoc effectués de Dunn ($p \leq 0,05$). L'absence d'indications indique l'absence de différences entre traitements.

4.2. Expérience en champ

4.2.1. Viabilité des propagules contenues dans l'enrobage

Les résultats issus de l'expérience ayant pour objectif de faire croître les graines enrobées avec les différents traitements (témoin, C1 et C2) ont montré des taux de colonisation de 0% après 14 semaines de croissance. Ils avaient été conservés pendant 4 semaines à l'air libre et à température ambiante.

4.2.2. Nombre de propagules de CMA viables dans le sol

Le tableau 11 présente les résultats de l'expérience MPN. Aucune colonisation racinaire n'a été observée sur le sol stérilisé. Au moins une plante sur 3 a été colonisée jusqu'à la sixième dilution incluse. A des niveaux de dilution plus élevés, aucune plante n'a montré de colonisation racinaire.

Tableau 11. Nombre de plantes colonisées (sur 3 répliques) en fonction du facteur de dilution selon la technique MPN pour le sol du hors essai

Dilution	Facteur de dilution	Nombre de répliques	Nombre de plantes colonisées
0	1,0	3	3
1	0,5	3	3
2	0,25	3	3
3	0,125	3	3
4	0,0625	3	3
5	0,03125	3	1
6	0,015625	3	2
7	0,0078125	3	0
8	0,00390625	3	0
9	0,00195313	3	0
Témoin	0	3	0

Ces valeurs ont été implémentées dans le programme Excel permettant de déterminer le MPN du sol de l'expérience en champ (Jarvis et al., 2010) (Tableau 12). Sur base des données expérimentales, le nombre le plus probable de propagules viables de CMA par g de sol est de 0,29, soit 29 propagules de CMA viables par 100 grammes de sol.

Tableau 12. Nombre le plus probable de propagules de CMA viables par gramme de sol calculé à partir des résultats de l'expérience de dilution selon la technique MPN

MPN par g	$\log_{10}$ MPN	Ecart-type du $\log_{10}$ MPN	Limite inférieure de l'IC à 95%	Limite supérieure de l'IC à 95%
0,29	-0,54	0,17	0,13	0,64

4.2.3. Conditions de croissance de la culture

Les conditions de croissance du froment d'hiver dépendent notamment des conditions météorologiques locales. Etant en conditions non contrôlées, il est nécessaire de vérifier si les conditions sont représentatives des conditions météorologiques moyennes. L'utilisation de l'outil d'aide à la décision PhénoBlé permet de visualiser s'il y a un décalage de croissance des plantes entre l'année courante et une année moyenne du point de vue des conditions météorologiques. Un retard de croissance a eu lieu au début de la culture mais ne s'est pas

prolongé et un rattrapage a été effectué pour finalement être en avance de quelques jours (3 à 7 jours) sur le reste de la saison (Figure 25).

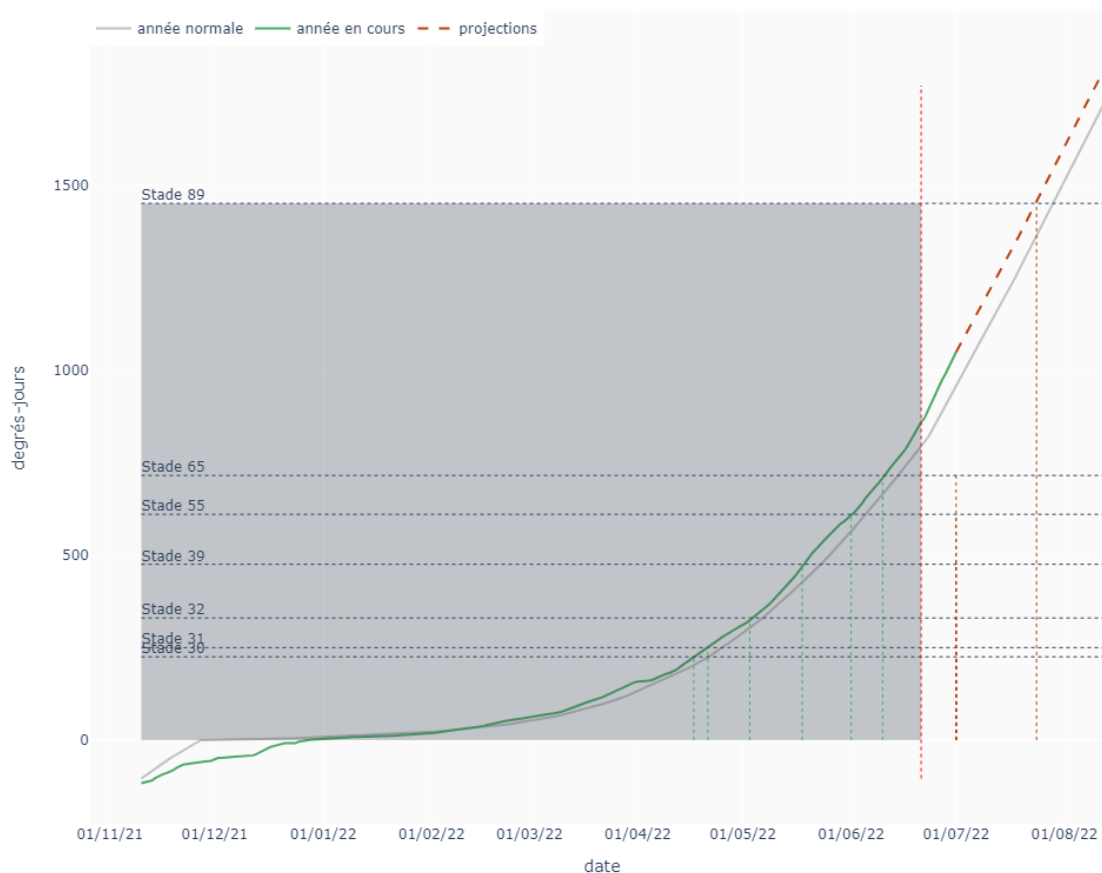


Figure 25. Modélisation de la dynamique des stades phénologiques selon l'outil d'aide à la décision Phénoblé

4.2.4. Résultats de l'évaluation des taux de colonisation totale, arbusculaire et vésiculaire

Sont présentés dans cette section, les résultats des quatre campagnes de prélèvements racinaires (21 mars, 11 avril, 2 mai et 23 mai) en termes de taux de colonisation racinaire de la culture par les CMA.

a. Résultats des pourcentages de colonisation totale les 21 mars, 11 avril, 2 mai et 23 mai 2022

Le Tableau 13 présente les résultats des pourcentages de colonisation totale des plantes prélevées en champ aux quatre campagnes de prélèvements.

Tableau 13. Résultats des taux de colonisation totale des plantes prélevées en champ lors des quatre campagnes de prélèvements

Colonisation totale (%)				
Traitement	21 Mars	11 Avril	2 Mai	23 Mai
Consortium				
C0	9,56 ± 1,16 β	10,44 ± 2,87 β	8,72 ± 1,20 β	10,72 ± 1,37 β
C1	13,78 ± 1,94 α	12,33 ± 1,77 α	11,17 ± 2,65 α	12,56 ± 2,31 α
C2	10,05 ± 2,00 β	12,67 ± 1,90 α	10,5 ± 2,85 α β	10,50 ± 1,62 β
Fumure				
Pailles	11,06 ± 1,67	13,72 ± 1,92 a	12,44 ± 2,73 a	12,72 ± 1,64 a
Intermédiaire	11,78 ± 3,17	10,61 ± 2,55 b	9,11 ± 1,11 b	10,78 ± 1,70 b
Fumier	11,00 ± 2,62	11,11 ± 1,32 b	8,83 ± 1,54 b	10,28 ± 1,84 b
Interaction				
C0*Pailles	9,67 ± 1,15	13,17 ± 2,52	10,00 ± 0,50	11,83 ± 0,58
C1*Pailles	12,50 ± 1,73	13,50 ± 2,18	13,83 ± 3,01	14,83 ± 0,29
C2*Pailles	11,00 ± 0,87	14,50 ± 1,50	13,50 ± 2,65	11,50 ± 0,50
C0*Intermédiaire	9,5 ± 1,50	7,83 ± 1,04	8,33 ± 1,04	10,50 ± 1,32
C1*Intermédiaire	15,33 ± 2,02	12,33 ± 1,76	9,83 ± 0,76	10,50 ± 2,60
C2*Intermédiaire	10,50 ± 2,18	11,67 ± 2,02	9,17 ± 1,26	11,33 ± 1,53
C0*Fumier	9,50 ± 1,32	10,33 ± 2,02	7,83 ± 0,76	9,83 ± 1,53
C1*Fumier	13,50 ± 1,32	11,16 ± 0,76	9,83 ± 1,53	12,33 ± 0,58
C2*Fumier	10,00 ± 3,12	11,83 ± 0,76	8,83 ± 1,89	8,67 ± 0,58
Effet : p-valeur				
Consortium	0,0004	0,0201	0,0174	0,0108
Fumure	0,6499	0,0028	0,0005	0,0030
Interaction	0,5709	0,2251	0,7052	0,0562
Bloc	0,8029	1,0000	1,0000	1,0000

Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α et β) pour le facteur consortium et par les lettres latines en minuscule (a et b) pour le facteur fumure, selon les tests post-hoc de Tukey effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements.

Le 21 mars, seul un effet consortium sur le taux de colonisation totale a été mis en évidence. Les plantes traitées avec le consortium 1 ont montré une CT de $13,78 \pm 1,94$ % significativement supérieur aux taux des plantes traitées avec le consortium 2 ($p = 0,0003$) et des plantes non inoculées ($p = 1,2 \cdot 10^{-6}$).

Le 11 avril, un effet consortium et un effet fumure ont été observés sur le %CT (Figure 26). Un %CT supérieur a été mis en évidence pour le traitement « pailles » (niveau de

P disponible faible) par rapport aux traitements « pailles + lisier + CIPAN » (niveau intermédiaire) et « fumier » (niveau élevé). Concernant l'effet consortium, les plantes traitées avec le consortium 1 présentaient des %CT supérieurs aux plantes non inoculées et aux plantes traitées avec le consortium 2.

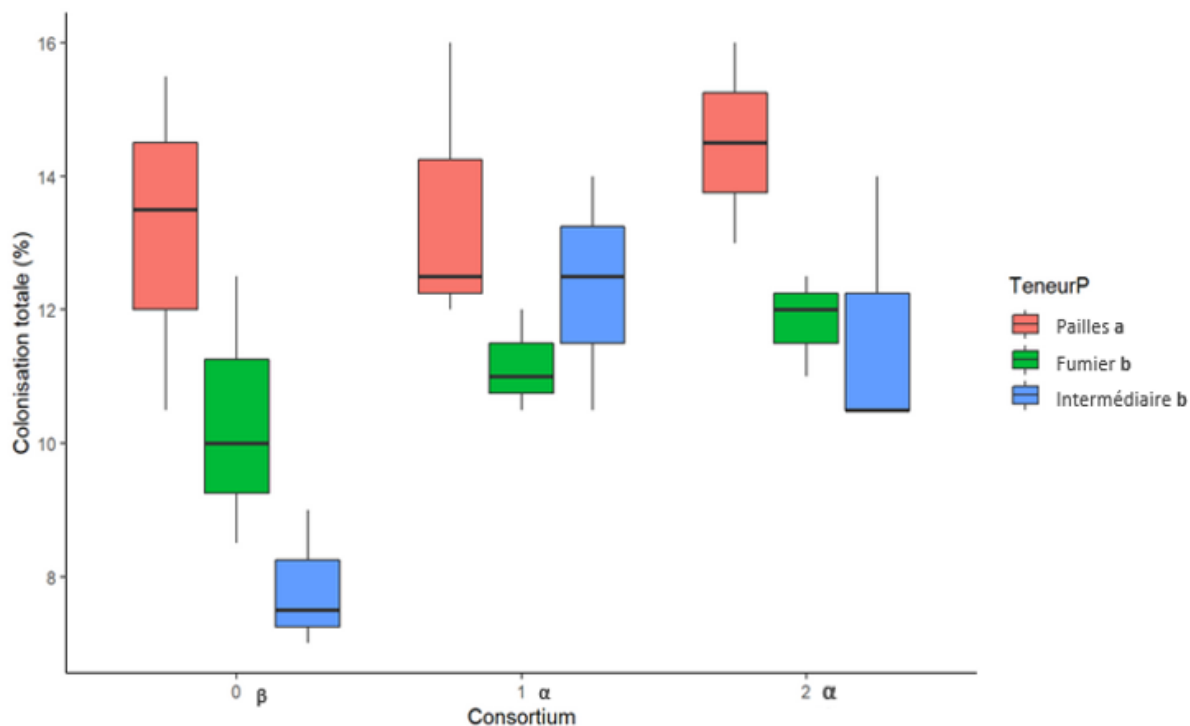


Figure 26. Résultats des taux de colonisation totale des racines de froment par le CMA en champ le 11 avril 2022. Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α et β) pour le facteur consortium et par les lettres latines en minuscule (a et b) pour le facteur fumure, selon les tests post-hoc effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements.

Le 2 mai, un effet consortium a été observé sur le %CT, les plantes traitées avec le consortium 1 avaient un taux de $11,17 \pm 2,65$ % significativement supérieur aux pourcentages observés chez les plantes non inoculées ($p = 0,003$). Un effet fumure a également été observé. Cet effet fumure sur les %CT induit des taux de colonisation supérieur pour les plantes des parcelles traitées avec la paille par rapport aux plantes des parcelles traitées avec le fumier.

Le 23 mai, un effet consortium et un effet fumure ont été mis en évidence sur les %CT. Les plantes traitées avec le consortium 1 présentaient des taux de $12,56 \pm 2,31$ %, significativement supérieurs aux taux observés sur les plantes traitées avec le consortium 2 ($p = 0,0173$) ou non inoculées ($p = 0,0460$). Concernant l'effet fumure, les plantes situées sur les parcelles traitées avec la paille présentaient des taux supérieurs aux deux autres traitements fumures avec des niveaux en P plus élevés.

Aucun effet d'interaction entre consortium et fumure organique n'a été constaté sur les différents pourcentages de colonisation totale.

b. Résultats des pourcentages de colonisation arbusculaire le 21 mars, 11 avril, 2 mai et 23 mai 2022

Le Tableau 14 présente les résultats des pourcentages de colonisation arbusculaire des plantes prélevées en champ aux quatre campagnes de prélèvements.

Tableau 14. Résultats des taux de colonisation arbusculaire des plantes prélevées en champ lors des quatre campagnes de prélèvements

Colonisation arbusculaire (%)				
Traitement	21 Mars	11 Avril	2 Mai	23 Mai
Consortium				
C0	3,44 ± 0,73	2,61 ± 1,41 β	4,5 ± 0,94	4,67 ± 0,66 β
C1	3,83 ± 0,79	3,94 ± 0,77 α	5,39 ± 1,41	5,78 ± 1,23 α
C2	3,17 ± 1,35	3,22 ± 1,40 αβ	5,44 ± 1,31	4,39 ± 0,70 β
Fumure				
Pailles	3,83 ± 0,94	4,22 ± 0,97 a	6,06 ± 1,47 a	5,56 ± 1,01 a
Intermédiaire	3,28 ± 1,18	2,89 ± 1,36 b	4,89 ± 0,93 ab	4,67 ± 1,31 b
Fumier	3,33 ± 0,87	2,67 ± 1,06 b	4,39 ± 0,74 b	4,61 ± 0,96 b
Interaction				
C0*Pailles	3,67 ± 1,04	3,83 ± 1,26	4,83 ± 0,76	5,33 ± 0,58
C1*Pailles	3,67 ± 1,26	4,17 ± 0,76	6,50 ± 1,80	6,67 ± 0,29
C2*Pailles	4,17 ± 0,76	4,67 ± 1,04	6,83 ± 1,15	4,67 ± 0,76
C0*Intermédiaire	3,33 ± 0,58	1,67 ± 1,04	4,67 ± 1,53	4,33 ± 0,58
C1*Intermédiaire	4,17 ± 0,58	4,17 ± 0,76	5,00 ± 0,50	5,67 ± 1,80
C2*Intermédiaire	2,33 ± 1,53	2,83 ± 1,04	5,00 ± 0,87	3,83 ± 0,58
C0*Fumier	3,33 ± 0,76	2,33 ± 1,26	4,00 ± 0,00	4,33 ± 0,29
C1*Fumier	3,67 ± 0,58	3,50 ± 0,87	4,67 ± 1,26	5,67 ± 0,76
C2*Fumier	3,00 ± 1,32	2,17 ± 0,76	4,50 ± 0,50	3,83 ± 0,58
Effet : p-valeur				
Consortium	0,3183	0,0329	0,1393	0,0021
Fumure	0,4376	0,0145	0,0152	0,0175
Interaction	0,3457	0,2856	0,7502	0,2616
Bloc	1,0000	1,0000	1,0000	0,0587

Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α et β) pour le facteur consortium et par les lettres latines en minuscule (a et b) pour le facteur fumure, selon les tests post-hoc de Tukey effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements.

Le 21 mars, aucun effet consortium ou fumure n'a été observé sur les pourcentages de colonisation arbusculaire.

Le 11 avril, un effet consortium et un effet fumure ont été mis en évidence sur les %CA. Les plantes traitées avec le consortium 1 présentaient des %CA de $3,94 \pm 0,77$ % significativement supérieurs aux pourcentages observés pour les plantes non traitées ($p = 0,0143$). Concernant l'effet fumure, les plantes ayant été cultivées sur les parcelles traitées

avec les pailles présentaient des pourcentages significativement supérieurs aux plantes ayant été cultivées sur les parcelles traitées avec « CIPAN + lisier + pailles » ($p = 0,02491$) et aux plantes issues des parcelles traitées avec le fumier ($p = 0,0100$).

Le 2 mai, seul un effet fumure a été mis en évidence sur les %CA. Les plantes issues des parcelles traitées avec les pailles présentaient des %CA de $6,06 \pm 1,47$ % significativement supérieurs aux pourcentages observés pour les plantes issues des parcelles traitées avec le fumier ($p = 0,0017$).

Le 23 mai, un effet consortium et un effet fumure ont été mis en évidence. Les plantes traitées avec le consortium 1 présentaient des %CA significativement supérieurs aux taux des plantes traitées avec le consortium 2 ($p = 0,0003$) et des plantes non traitées ($p = 0,0065$). Concernant le traitement fumure, les taux les plus élevés ont été mis en évidence pour les plantes issues des parcelles traitées avec la paille, significativement supérieurs aux pourcentages observés pour le traitement intermédiaire et pour le traitement fumier.

c. Résultats des pourcentages de colonisation vésiculaire les 21 mars, 11 avril, 2 mai et 23 mai 2022

Le Tableau 15 présente les résultats des pourcentages de colonisation vésiculaire des plantes prélevées en champ aux quatre campagnes de prélèvements.

Tableau 15. Résultats des taux de colonisation vésiculaire des plantes prélevées en champ lors des quatre campagnes de prélèvements

Colonisation vésiculaire (%)				
Traitement	21 Mars	11 Avril	2 Mai	23 Mai
Consortium				
C0	0,05 ± 0,17	0,06 ± 0,16	0,00 ± 0,00	0,44 ± 0,39
C1	0,22 ± 0,44	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,25	0,17 ± 0,35
C2	0,28 ± 0,44	0,17 ± 0,25	0,11 ± 0,22	0,17 ± 0,25
Fumure				
Pailles	0,05 ± 0,17	0,17 ± 0,25	0,22 ± 0,26	0,33 ± 0,43
Intermédiaire	0,39 ± 0,49	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,17	0,28 ± 0,36
Fumier	0,11 ± 0,33	0,06 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,25
Interaction				
C0*Pailles	0,17 ± 0,29	0,17 ± 0,29	0,00 ± 0,00	0,50 ± 0,50
C1*Pailles	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,33 ± 0,58
C2*Pailles	0,00 ± 0,00	0,33 ± 0,29	0,17 ± 0,29	0,17 ± 0,29
C0*Intermédiaire	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,50 ± 0,50
C1*Intermédiaire	0,67 ± 0,58	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
C2*Intermédiaire	0,50 ± 0,50	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,29	0,33 ± 0,29
C0*Fumier	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,33 ± 0,29
C1*Fumier	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,29
C2*Fumier	0,33 ± 0,58	0,17 ± 0,29	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Effet : p-valeur				
Consortium	0,4896	0,1383	0,1912	0,1848
Fumure	0,1385	0,1383	0,0463	0,7441
Interaction	0,2009	0,5873	0,0903	0,6499
Bloc	/	/	/	1,0000

Lorsqu'une valeur est présente pour l'effet bloc, les tests post-hoc effectués sont des tests de Tukey. Lorsque cette valeur n'est pas présente, l'effet bloc n'a pas pu être pris en compte car les tests post-hoc effectués sont des tests non paramétriques de Dunn.

Les 21 mars, 11 avril et 23 mai, aucun effet consortium ou fumure n'a été mis en évidence sur les %CV.

Le 2 mai, un effet fumure a été observé sur les %CV. Une différence significative ($p = 0,0463$) due à l'effet fumure a été mise en évidence lors du test de Scheirer-Ray-Hare, avec la plus grande différence entre les consortia obtenue pour la comparaison « Pailles-Fumier » (p

= 0,0517), cette différence n'est donc pas significative étant donné que la valeur seuil utilisée dans ce travail est de 0,05 mais elle en est proche.

4.2.5. Evaluation de la dynamique de mycorhization au cours des prélèvements

Pour évaluer la dynamique de mycorhization au cours des prélèvements, chaque consortium a été évalué séparément en fonction du temps et de la fumure organique. Les résultats de l'analyse statistique sont présentés dans le Tableau 16.

Tableau 16. Résultats des taux de colonisation totale par les CMA en fonction des traitements et du consortium.

Traitement	Taux de colonisation totale (%)		
	Consortium 0	Consortium 1	Consortium 2
Temps			
21 Mars	9,56 ± 1,16 $\alpha\beta$	13,77 ± 1,98 α	10,50 ± 2,00
11 Avril	10,44 ± 2,87 $\alpha\beta$	12,33 ± 1,77 $\alpha\beta$	12,67 ± 1,90
2 Mai	8,72 ± 1,20 β	11,16 ± 2,65 β	10,50 ± 2,85
23 Mai	10,72 ± 1,37 α	12,56 ± 2,31 $\alpha\beta$	10,50 ± 1,62
Fumure			
Pailles	11,17 ± 1,92 a	13,66 ± 1,95 a	12,63 ± 2,02 a
Intermédiaire	9,04 ± 1,51 b	12,00 ± 2,76 ab	10,67 ± 1,83 b
Fumier	9,38 ± 1,60 b	11,67 ± 1,71 b	9,83 ± 2,08 b
Interaction			
Pailles*21 Mars	9,66 ± 1,15	12,50 ± 1,73	11,00 ± 0,51
Pailles*11 Avril	12,17 ± 2,52	13,50 ± 2,17	14,50 ± 1,50
Pailles*2 Mai	10,00 ± 0,50	13,83 ± 3,01 Y	13,50 ± 2,65
Pailles*23 Mai	11,83 ± 0,58	14,83 ± 0,29 A	11,50 ± 0,50
Intermédiaire*21 Mars	9,50 ± 1,50	15,33 ± 2,02 A	10,50 ± 2,18
Intermédiaire *11 Avril	7,83 ± 1,04	12,33 ± 1,76 AB	11,67 ± 2,02
Intermédiaire *2 Mai	8,33 ± 1,04	9,83 ± 0,76 AB Z	9,17 ± 1,26
Intermédiaire *23 Mai	10,50 ± 1,32	10,50 ± 2,60 B	11,33 ± 1,53
Fumier*21 Mars	9,50 ± 1,32	13,50 ± 1,32	10,00 ± 3,12
Fumier *11 Avril	10,33 ± 2,02	11,17 ± 0,76	11,83 ± 0,76
Fumier *2 Mai	7,83 ± 0,76	9,83 ± 1,53 Z	8,83 ± 1,89
Fumier *23 Mai	9,83 ± 1,53	12,33 ± 0,58 AB	8,67 ± 0,58
Effet : p-valeur			
Temps	0,0226	0,0321	0,0340
Fumure	0,0021	0,0244	0,0023
Interaction	0,8031	0,0294	0,3380
Bloc	1,0000	1,0000	1,0000

Les différences significatives entre traitements sont représentées par (1) les lettres grecques (α et β) pour le facteur temps, (2) les lettres latines en minuscule (a et b) pour le facteur fumure, (3) les lettres majuscules (A et B) pour l'interaction temps au sein du traitement fumure, (4) les lettres majuscules Y et Z pour l'interaction fumure lors du prélèvement du 2 mai et (5) les lettres majuscules en italique (A et B) pour l'interaction fumure lors du prélèvement du 23 mai, selon les tests post-hoc effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différence entre traitements.

Pour les plantes non inoculées, soit le consortium 0, une différence significative sur le %CT a été observée en fonction du facteur temps et du facteur fumure. Le taux de colonisation le plus bas a été mis en évidence lors du prélèvement du 2 mai avec $8,72 \pm 1,20$ %. Pour tous les prélèvements confondus, des %CT significativement supérieurs ont été observés sur les plantes issues des parcelles traitées avec la paille.

Pour les plantes traitées avec le consortium 1, le temps, la fumure organique et l'interaction entre ces deux paramètres ont eu un effet sur les %CT. Pour le facteur temps, une différence significative, entre les résultats obtenus le 21 mars et ceux obtenus le 23 mai, a été mise en évidence, les pourcentages observés le 21 mars étant supérieurs aux pourcentages

relevés le 23 mai ($p = 0,0183$). Les plantes des parcelles traitées avec la paille montrent des %CT significativement plus élevés que les plantes des parcelles traitées avec le fumier ($p = 0,0325$).

Pour les plantes traitées avec le consortium 2, seul un effet fumure a été mis en évidence sur le taux de colonisation. Les plantes ayant été cultivées sur les parcelles traitées avec la paille présentaient également des %CT supérieurs aux pourcentages comptabilisés pour les plantes issues des parcelles traitées avec la fumure intermédiaire ($p = 0,0257$) ou des plantes issues des parcelles traitées avec le fumier ($p = 0,0004$).

4.2.6. Rendement en grains

La figure 27 représente les résultats des rendements en grains obtenus lors de la moisson le 2 août 2022. Le tableau statistique est disponible en Annexe 2.

Un effet fumure a été observé sur le rendement en grains ($p = 0,0159$). Les plantes issues des parcelles traitées avec la paille ont montré un rendement significativement inférieur à celui des plantes traitées avec la fumure intermédiaire (paille + lisier + CIPAN) ($p = 0,0142$) ou avec le fumier ($p = 0,0043$).

Aucun effet du consortium n'a été observé sur le rendement ($p = 0,0696$).

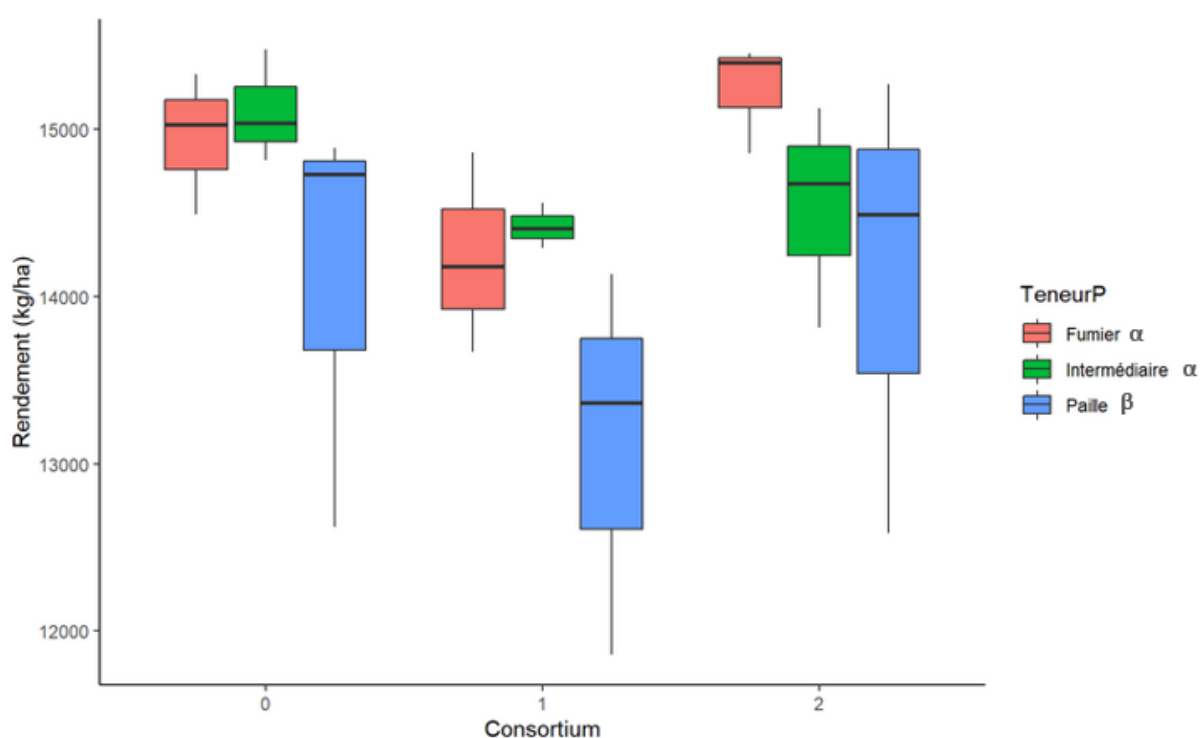


Figure 27. Résultats des rendements en grains (kg/ha) corrigés à 15 % d'humidité en fonction des fumures et des consortia appliqués en champ. Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α et β) pour le facteur fumure, selon les tests post-hoc effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements.

5. Discussion

Les externalités négatives causées par l'usage intensif des produits phytopharmaceutiques (PPP) et des engrais chimiques en agriculture sont connues et largement documentées (Pretty et al., 2001; Ravensberg, 2015; Ritchie et Roser, 2013). Parallèlement, l'occurrence d'événements climatiques extrêmes tels que les épisodes de températures extrêmes, de sécheresse, les inondations, etc augmentent en raison des changements climatiques. Les stress qui en découlent impactent les plantes cultivées et notamment le froment (Kasim et al., 2013).

Une des alternatives à l'usage des PPP et des engrais chimiques est l'utilisation de microorganismes comme les CMA et PGPR qui sont naturellement présents dans les écosystèmes agricoles. L'utilisation de ces microorganismes en consortium permettrait à la fois d'améliorer la tolérance aux stress et d'exercer une action biostimulante sur les plantes.

Les expériences mises en place dans ce mémoire visaient à évaluer l'action biostimulante de deux consortia composés de *R. irregularis* MUCL43194, *B. velezensis* GA1 et *P. putida* BTP1 sur le froment en conditions contrôlées et non contrôlées.

5.1. Effet des consortia et des variétés sur la croissance du froment en conditions contrôlées

5.1.1. Les consortia microbiens ont un impact nul ou négatif sur la production de biomasse aérienne

L'effet du consortium 1 sur les biomasses aériennes du froment était nul lors des trois prélèvements. En revanche, l'effet du consortium 2 était négatif sur les biomasses aériennes à neuf semaines de croissance mais nul en semaines six et douze.

L'impact de la colonisation racinaire par les CMA sur la biomasse aérienne est variable selon les études. Une majorité d'études a montré une augmentation de la biomasse du froment contrairement aux observations faites ici (Pellegrino et al., 2015; Smith & Read, 2008; Treseder, 2013). Cependant, d'autres études ont montré une diminution de la biomasse comme celle observée à neuf semaines avec les plantes traitées avec *R. irregularis* MUCL43194**P. putida* BTP1 (Kahiluoto et al., 2001; Valentine et al., 2001). Cette diminution de biomasse pourrait être due au coût en carbone du CMA et de la bactérie pour la plante (Peng et al., 1993). Le coût relatif en carbone de la colonisation dépend du stade de croissance de la plante et du CMA, ce qui pourrait expliquer la présence de l'effet négatif sur la biomasse aérienne à la neuvième semaine seulement (Eissenstat et al., 1993). L'absence de différences sur les biomasses aériennes entre les témoins et les plantes traitées à tous les autres prélèvements pourrait s'expliquer par les conditions de croissance optimales et la disponibilité suffisante en minéraux fournis par la solution de Hoagland. Les plantes étant non stressées, l'avantage qui aurait pu être apporté par la colonisation n'est pas mis en avant, les bénéfices attendus en termes de biostimulation ont peut-être été compensés par le coût en carbohydrates pour la plante. Cela pourrait expliquer pourquoi aucune différence significative n'est observée entre les plantes témoins et les plantes mycorhizées.

5.1.2. Les consortia microbiens ont un impact nul ou positif sur la production de biomasse racinaire

L'effet des consortia 1 et 2 sur les biomasses racinaires du froment était nul en semaines six et douze mais positif à la semaine neuf avec une biomasse racinaire plus importante pour les plantes mycorhizées par rapport aux plantes non mycorhizées.

L'impact de l'inoculation d'un consortium sur les biomasses racinaires est également variable selon les études. Zhou et al. (2015) n'avaient pas observé d'effet du CMA sur la biomasse racinaire du froment, tandis qu'un effet positif avait été observé suite à l'association d'un CMA et d'une PGPR par Vannini et al. (2021) après sept semaines de croissance. Pour le consortium 2, la diminution de la biomasse aérienne est observée au même moment que l'augmentation de la biomasse racinaire avec des taux de CT de $23,22 \pm 4,45$ %. Cette augmentation pourrait être due à une modification du flux de carbone au sein de la plante, privilégiant un flux vers les racines mycorhizées. Pour le consortium 1, aucune diminution de la biomasse aérienne n'a été observée en même temps que l'augmentation de la biomasse racinaire avec des taux de CT de $16,68 \pm 7,25$ %. On pourrait donc supposer que, malgré une colonisation moins importante pour le consortium 1 par rapport au consortium 2, le flux de carbone vers les racines serait mieux compensé en présence des microorganismes du consortium 1.

5.1.3. Les biomasses aériennes et racinaires varient largement en fonction des variétés

L'effet variétal a eu un impact sur les biomasses racinaires et aériennes lors des trois prélèvements effectués. Ces différences peuvent s'expliquer par les caractéristiques intrinsèques des différentes variétés.

La variété Arminius présentait des biomasses aériennes et racinaires élevées par rapport aux autres variétés. C'est une variété utilisée en agriculture biologique, appréciée pour ses qualités boulangères et sa production de paille. Sa biomasse aérienne élevée peut être expliquée par sa hauteur et son rendement en pailles élevés par rapport aux autres variétés (Livre Blanc des Céréales, 2020b).

La variété Cubitus a montré des biomasses aériennes et racinaires faibles par rapport aux autres variétés. C'est également une variété utilisée en agriculture biologique mais contrairement à Arminius, elle est appréciée pour son rendement. Elle possède une hauteur de paille faible par rapport aux autres variétés utilisées en agriculture biologique et un rendement en paille intermédiaire pouvant expliquer les biomasses aériennes inférieures mesurées lors de cette expérience (Livre Blanc des Céréales, 2020b).

Les autres variétés étudiées dans cette expérience ont montré des biomasses intermédiaires entre Arminius et Cubitus, ce qui est cohérent avec leur rendement en paille intermédiaire (Livre Blanc des Céréales, 2020b, 2021a).

5.1.4. Décroissance de la population de *Bacillus velezensis* GA1

Une décroissance de la population de *B. velezensis* GA1 a été observée avec le temps. La diminution de la population bactérienne aurait pu être causée par un lessivage des bactéries lors de l'arrosage mais les plantes ayant été hydratées par la coupelle, cette hypothèse a été écartée. Trois hypothèses sont donc émises : (1) un effet de dilution des bactéries par rapport au volume racinaire, (2) un environnement peu adapté à la bactérie et (3) une compétition entre *B. velezensis* et *R. irregularis*.

L'effet de dilution pourrait potentiellement être expliqué par une croissance de la population bactérienne inférieure à la croissance du système racinaire, la proportion des colonies bactériennes par gramme de racines diminuerait donc avec la croissance du système racinaire. En effet, le poids sec racinaire a quasiment doublé de la semaine six à la semaine neuf et triplé de la semaine six à la semaine douze. Cependant, de la semaine six à la semaine neuf, le nombre de colonies bactériennes par gramme de racines a été divisé par 16 et de la semaine six à la 12 semaine par 200. L'effet de dilution n'expliquerait donc pas à lui seul la décroissance de la population de *B. velezensis*.

Un environnement non idéal pour la croissance de *B. velezensis* GA1 pourrait également expliquer cette décroissance. Cette bactérie croît lorsque le pH est situé entre 5 et 10 et lorsque les températures sont situées entre 15 et 45°C (Ruiz-García et al., 2005). Ces conditions ont été respectées en serres mais les interactions des bactéries avec les plantes et l'environnement sont complexes. Un et/ou plusieurs des paramètres présents auraient pu freiner le développement de la bactérie et entraîner cette décroissance.

Un effet de compétition entre le CMA et la bactérie pourrait également expliquer cette diminution. Cet effet aurait été faible en semaine six, la colonisation totale des plantes étant de $4,76 \pm 5,33$ %, mais aurait augmenté avec le temps, la colonisation totale étant de respectivement $16,68 \pm 7,25$ % et $65,61 \pm 10,38$ % pour la neuvième et douzième semaine de croissance. Au vu de l'étude menée par Poussart (2022) montrant une compatibilité entre *R. irregularis* et *B. velezensis* GA1, une compétition directe est écartée dans ce cas-ci. L'hypothèse d'une compétition indirecte serait alors plus plausible. Cette compétition indirecte pourrait s'expliquer par un flux de carbone de la plante vers le CMA plus important que le flux de carbone de la plante vers la bactérie. *Bacillus velezensis* GA1 étant présente en quantité sur les hyphes (Poussart, 2022), il pourrait également y avoir une modification du flux de carbone du CMA vers *B. velezensis*, l'association du CMA avec celle-ci diminuant en même temps que l'association du CMA avec la plante croît.

5.1.5. Dynamique de la colonisation totale

Les pourcentages de colonisation totale comptabilisés à six et neuf semaines montrent des pourcentages de colonisation supérieurs pour les plantes traitées avec *R. irregularis***P. putida* BTP1 par rapport aux plantes traitées avec *R. irregularis***B. velezensis* GA1. En revanche, à la douzième semaine, c'est l'inverse qui est observé. Trois hypothèses pourraient être avancées pour expliquer ce phénomène : (1) la stimulation de la colonisation par le CMA grâce à *P. putida* en début de cycle, (2) la stabilisation de la colonisation due à la limitation du

développement racinaire dans l'espace et (3) la compétition entre *B. velezensis* et le CMA qui s'atténue avec la décroissance des bactéries.

L'hypothèse de la stimulation de la colonisation racinaire par le CMA, grâce à la présence de *P. putida*, permettrait d'expliquer l'écart de colonisation à la sixième semaine qui se résorbe au cours des prélèvements suivants. La littérature contient de nombreuses études démontrant l'augmentation de colonisation racinaire par un CMA en présence de *Pseudomonas spp.* Gamalero et al. (2008) ont montré une augmentation de la colonisation des racines de concombres par le CMA *Gigaspora rosae* en présence de *P. putida* après cinq semaines de croissance. Cet effet a également été montré pour d'autres CMA par Meyer et Linderman (1986) et Vosátka et Gryndler (1999). Les mécanismes complexes entraînant cette augmentation de colonisation en présence de *P. putida* ne sont pas encore complètement connus mais l'activité de l'ACC désaminase produite par ces bactéries y aurait un rôle en modulant la synthèse d'éthylène. Certaines *Bacillus spp.* sont également décrites comme des bactéries stimulant la mycorhization. Cependant, les travaux de Houdmont (2020) et van Gansberghe (2021) ne montrent pas d'effets favorables de la présence de *B. velezensis* GA1 sur la colonisation racinaire du froment par *R. irregularis*.

L'hypothèse de la stabilisation de la croissance racinaire pourrait également expliquer cette différence de colonisation totale au cours du temps. Les pots utilisés pour l'expérience en serres avaient un volume de 1,05L et au sein de chaque pot, dix plantes se sont développées. À la douzième semaine, le système racinaire de la population de plantes comblait l'espace disponible au sein du pot, le développement racinaire y était donc restreint, ce qui pourrait limiter la colonisation racinaire par le CMA. Une analyse des pourcentages de colonisation après 15 semaines aurait pu permettre de conclure à une stabilisation de la croissance intraracinaire fongique.

L'hypothèse d'une compétition entre *B. velezensis* et *R. irregularis* permettrait d'expliquer le rattrapage de colonisation racinaire des plantes traitées avec ce consortium par rapport à celles traitées avec *P. putida* et *R. irregularis*. En effet, le rattrapage a été observé à partir de la neuvième semaine, en même temps qu'une importante décroissance de la population bactérienne sur les racines. Le travail d'Houdmont (2020) émettait l'hypothèse d'une compétition pour les nutriments entre ces deux microorganismes. La production de lipopeptides antifongiques par *B. velezensis* GA1 tels que l'iturine ou la fengycine pourrait avoir un effet nuisible sur le CMA. Cependant, le travail de Poussart (2022) montre une compatibilité entre les deux microorganismes et dans la plupart des études, une stimulation de la colonisation racinaire par le CMA en présence *Bacillus spp.* a été montrée (Mamatha et al., 2002; Toro et al., 1997; von Alten et al., 1993).

5.2. Effet des consortia microbiens et des fumures sur la colonisation du froment au champ

5.2.1. La quantité de propagules viables du site est intermédiaire

Le nombre le plus probable de propagules viables de CMA est de 0,29 par g de sol pour le site d'étude utilisé lors de l'expérience au champ. Peu de résultats sont présents dans la littérature pour les sols wallons, il est donc difficile de se faire une idée de la quantité moyenne de propagules viables en Wallonie. Dans son travail, Belvaux (2021) a étudié deux parcelles wallonnes conduites en agriculture conventionnelle présentant des MPN de 0,038 et 0,72 propagules par gramme de sol. Le nombre le plus probable de propagules viables de CMA par g de sol obtenu lors de cette expérience est intermédiaire à ces deux valeurs mais la variabilité au sein de sols wallons semble importante.

Considérant qu'il y a environ 3500 t de sol par ha sur l'épaisseur de la couche de labour (25 cm), soit 350 kg de sol par m², il y aurait eu $0.29 \times 1000 \times 350$, soit près de 100 000 propagules viables de CMA par m² au moment du prélèvement, le 30 septembre 2021. Même s'il est très probable que ce nombre ait diminué entre le prélèvement et le semis de l'essai (le 9 novembre 2021), ce nombre apparaît comme élevé et donc propice à la mycorhization de la culture par des souches de CMA indigènes. Ce résultat peut s'expliquer par un prélèvement de sol ayant eu lieu alors que la culture de maïs précédente était encore en place. Le maïs est connu pour son caractère hautement mycotrophe (An et al., 2010).

5.2.2. La colonisation totale est supérieure pour les plantes traitées avec *R. irregularis*B. velezensis***

Malgré les résultats négatifs issus de l'expérience menée sur les graines enrobées en serres, un effet du consortium a été observé au champ sur la colonisation totale des racines. Les résultats de l'expérience menée en serres ne seront pas pris en compte pour l'interprétation des résultats de l'expérience au champ, en raison des conditions de conservation non optimales durant 1 mois des graines enrobées qui ont pu fausser cette expérience. Néanmoins, ce résultat souligne un point important dans l'optique d'une utilisation généralisée de biostimulants microbiens en vue de diminuer les intrants agricoles : le challenge de la conservation. Les graines enrobées avaient été conservées sur des plateaux à l'air libre et à température ambiante. Les conditions de stockage non optimales sont une des raisons avancées par Salomon et al. (2022) pour expliquer l'inefficacité des inoculants commerciaux composés de CMA. Shah-Smith et Burns (1997) ont montré que la survie des bactéries était améliorée avec un stockage à 4°C.

Le consortium composé de *R. irregularis***B. velezensis* a eu un effet positif sur la colonisation totale par rapport au témoin négatif des quatre prélèvements effectués. En revanche, le consortium composé de *R. irregularis***P. putida* n'a eu un effet positif sur la colonisation totale par rapport au témoin que le 11 avril. Pour les autres prélèvements, les taux de colonisation totale ne sont pas significativement différents de ceux observés pour le témoin.

Il est à noter que l'effet des consortia sur la colonisation totale pourrait être dû à l'effet des deux organismes présents ou à l'effet d'un de ceux-ci. En effet, le type de CMA présent au sein des racines n'a pas pu être identifié pour des raisons techniques lors du comptage. Les CMA comptabilisés pourraient donc aussi bien être *R. irregularis* présent dans l'enrobage ou des CMA indigènes à la parcelle. La présence de PGPR au sein des consortia pourrait avoir stimulé les populations de CMA locales entraînant une augmentation de la colonisation totale (Vosátka & Gryndler, 1999; Xavier & Germida, 2003).

Le consortium composé de *R. irregularis***B. velezensis* pourrait être plus adapté aux conditions locales de la parcelle étudiée que le consortium composé de *R. irregularis***P. putida*, les deux ayant permis la colonisation en serres. Il est à noter que les conditions en serres et au champ étaient fortement différentes, pour les trois premières semaines de croissance la température était de 19,2°C en serres tandis qu'elle était de 5°C au champ. Le succès d'un inoculant dépendrait notamment du type de sol et des conditions de température et d'humidité (Abhilash et al., 2011). Les conditions optimales en champ seraient potentiellement différentes pour les deux souches étudiées. Les inoculants microbiens ont également des efficacités variables en fonction de leur capacité de compétition par rapport aux microorganismes locaux, que cela soit de la compétition directe ou indirecte (Alves et al., 2003). En raison de cette compétition, certains inoculants pourraient avoir plus de mal à survivre ou à se développer. En fonction des souches, plusieurs inoculations sont parfois nécessaires (Hart et al., 2017). *Bacillus velezensis* GA1 produit des composés tels la surfactine, l'iturine A, la fengycine, la bacillibactine (sidérophore) et d'autres composés antimicrobiens et antibiotiques qui en font un agent de biocontrôle intéressant (Arguelles-Arias et al., 2009). *Pseudomonas putida* BTP1 a également des propriétés de biocontrôle en agissant de façon directe, via l'induction de la résistance systémique chez la plante (Matilla et al., 2010) et de façon indirecte, via la production de sidérophores rendant le fer indisponible pour les phytopathogènes (Molina et al., 2006). Ces mécanismes d'action différents, combinés aux conditions locales, pourraient expliquer l'efficacité supérieure du consortium 1 par rapport au consortium 2 en conditions non contrôlées.

5.2.3. Le traitement faible en phosphore disponible favorise la colonisation

Les plantes cultivées sur les parcelles recevant les collets et feuilles de betteraves ainsi que les pailles hachées comme restitution organique présentaient des taux de colonisation totale supérieurs aux traitements « pailles + lisier + CIPAN » et « Fumier ». Ces parcelles présentaient des niveaux de phosphore disponible faibles. De nombreuses études ont montré une augmentation de la colonisation racinaire par les CMA en conditions de faibles teneurs en P disponible dans le sol et une diminution lorsque les teneurs en P étaient élevées (Al-Karaki et Clark, 1999; Kahiluoto et al., 2001; Maartensson et Carlgren, 1994). L'hypothèse principalement avancée serait le coût en carbone du CMA pour la plante. Lorsque les teneurs en P disponible sont faibles, l'association est nécessaire pour la plante tandis que lorsque le P est disponible en quantité suffisante, il y aurait une diminution du transfert de C de la plante vers le CMA (Javot et al., 2007; Kahiluoto et al., 2001). Les pailles étant moins riches en minéraux que le fumier, notamment en azote, cette observation pourrait également être due à une différence de disponibilité en azote. Les CMA joueraient, en plus de leur rôle

d'acquisition et de transfert de phosphore vers la plante, un rôle similaire pour l'azote (Hodge et Storer, 2015). Ces résultats suggèrent que la plante investit d'autant plus dans la symbiose qu'elle a une contrainte à lever en termes de nutrition ou éventuellement d'autres types de stress. En l'absence de contraintes, elle a moins de raison d'investir ses photoassimilats dans la symbiose avec le CMA.

5.2.4. Les consortia microbiens n'améliorent pas les rendements en grains

Malgré un taux de colonisation supérieur, les rendements des plantes inoculées avec *R. irregularis***B. velezensis* n'ont pas été supérieurs aux rendements observés avec les autres traitements. Ces résultats ne corroborent pas avec ceux obtenus dans différentes méta-analyses. En effet, une corrélation a été observée à plusieurs reprises entre des taux de colonisation élevés suite à une inoculation et des rendements supérieurs (Lekberg & Koide, 2005; McGonigle, 1988; Pellegrino et al., 2015). Les résultats observés dans ce travail seraient potentiellement dus à une différence faible entre les taux de colonisation de C1 et le témoin. En effet, lors du dernier prélèvement, le 23 mai, les taux de colonisation totale des plantes traitées avec le C1 étaient de $12,56 \pm 2,31$ %, de $10,50 \pm 1,62$ % pour C2 et de $10,72 \pm 1,37$ % pour les témoins. La différence entre les taux de colonisation était donc inférieure à 3%. Cela pourrait expliquer pourquoi aucune différence n'a été observée sur le rendement.

Ces résultats pourraient également être dus au fait qu'il est généralement difficile d'établir un lien entre mycorhization et rendement. En effet, le rendement obtenu dépend de nombreux facteurs et, l'effet positif de la mycorhization en conditions de champ sur le rendement n'est que rarement observé, même sous des conditions de disponibilité en P limitées (Ryan & Graham, 2018). Ce constat peut s'expliquer par le coût en photosynthate que représente la symbiose mycorhizienne pour la plante, dans un contexte d'agriculture conventionnelle où les services apportés par la mycorhize en termes de résilience face aux stress abiotiques et biotiques seront en grande partie remplacés par la phytotechnie, à savoir la fertilisation et les traitements phytosanitaires. Dans un tel contexte, même si la mycorhization est susceptible d'améliorer la résilience du système et la santé de la plante, l'absence de lien entre mycorhization et rendement peut être observée.

5.2.5. Les conditions environnementales influencent le développement du froment et sa colonisation racinaire

L'outil d'aide à la décision Phénoblé a permis de modéliser la dynamique des stades phénologiques, un retard de croissance a eu lieu à partir de la fin novembre et s'est étendu jusqu'en fin décembre 2021. Ce retard de croissance pourrait être dû aux conditions météorologiques du mois de novembre caractérisé par des précipitations totales de 33,2 mm. Cette valeur est parmi les 3 valeurs les plus faibles observées depuis 1991 (*IRM - Novembre*, 2021).

Les taux de colonisation totale observés le 21 mars 2022 sont proches de 10%, ce qui est une valeur élevée en Belgique à cette période. Dans le réseau de parcelles de froment d'hiver mis en place dans le cadre du projet MicroSoilSystem, aucune mycorhization significative n'a été détectée sur les échantillons prélevés entre le 9 et le 17 mars 2020. Belvaux (2021) avait observé des taux d'environ 5% le 23 mars 2021. Cette différence

pourrait s'expliquer par des températures maximales moyennes de 13,7°C pour le mois de mars, températures faisant parties des 3 valeurs les plus élevées depuis 1991. La durée d'insolation et le rayonnement solaire global présentaient des valeurs moyennes classées comme les valeurs les plus élevées observées depuis 1991 (*IRM - Mars*, 2022).

Les conditions météorologiques locales semblent avoir une influence sur le développement du froment mais également sur les pourcentages de colonisation racinaire par les CMA.

5.3. Limites et perspectives

Il est important de souligner que les expériences réalisées en serres et au champ n'ont pas été réalisées dans des conditions identiques. Premièrement, l'inoculum utilisé a été appliqué différemment. En serres, les racines mycorhizées et la solution bactérienne ont été appliquées directement dans le substrat et non sous forme d'enrobage de semences, comme cela a été fait en champ. Deuxièmement, les plantes en serres ont été placées en pots par population de dix, ce qui a pu créer un manque d'espace vers la fin de l'expérience alors que les plantes en champ ont été semées à densité conseillée par le Livre Blanc des Céréales. Troisièmement, les conditions de température présentes en serres et la durée de l'expérience n'ont pas permis une période de vernalisation et les plantes y sont donc restées au stade végétatif. Une expérience similaire réalisée en écotrons pourrait permettre de comparer plus facilement les résultats de l'expérience en conditions contrôlées ou non.

Lors des deux expériences réalisées, les microorganismes ont été testés systématiquement sous forme de consortium. Cette méthode permet d'avoir une vision globale de l'effet du consortium. Cependant, lors de futurs travaux, il pourrait être intéressant de tester les consortia en parallèle aux microorganismes seuls et ce, afin de déterminer si des effets synergiques ou délétères seraient potentiellement observés lors de l'association en fonction des conditions.

Lors de l'évaluation de la colonisation racinaire selon la méthode de Mc Gonigle (1990), différents biais expérimentaux doivent être pris en compte. Le biais de l'expérimentateur peut être conséquent, c'est pourquoi lors de ce travail, c'est une seule et même personne qui s'est chargée de ces analyses. De plus, l'hétérogénéité de la colonisation et les fragments de racines étudiés sont également des facteurs influençant les résultats obtenus. Pour l'analyse des racines issues du champ, il n'a pas été possible de différencier les CMA observés, une analyse complémentaire pour tracer moléculairement le CMA (Buysens et al., 2017) pourrait permettre d'identifier si les CMA présents sont uniquement les CMA indigènes ou si le CMA inoculé a également colonisé les racines.

Une phase d'amélioration de l'enrobage et des essais supplémentaires pourraient également être réalisés afin d'étudier la quantité d'inoculum présent sur chaque semence, les conditions optimales de conservation ainsi que la viabilité en conditions contrôlées et non contrôlées. L'inoculation n'ayant permis aucun résultat sur le rendement en champ et sur la biomasse aérienne en serres, des concentrations en inoculum supérieures pourraient être testées. Cela permettrait de déterminer si c'est la quantité d'inoculum qui est limitante ou si ce

sont les microorganismes qui ne sont pas adaptés aux conditions étudiées. Il est important d'effectuer ces améliorations et tests en gardant à l'esprit que l'objectif est une utilisation au champ par les agriculteurs avec les moyens qui sont à leur disposition. Par ailleurs, d'autres combinaisons microbiennes pourraient être testées.

Le projet MicroSoilSystem a pour objectif « la réduction d'intrants par application de consortia microbiens, formulés à finalité biostimulante et de biocontrôle, adaptés au fonctionnement des sols en agriculture conventionnelle et de conservation ». Des essais de consortia en conditions de stress abiotiques et biotiques permettraient d'identifier dans quelle situation le consortium est le plus efficace. Il sera donc intéressant de tester les consortia dans un contexte d'agriculture biologique, généralement limitant en N pour la culture et avec des applications de produits de protection des plantes adaptés. Il est plus probable d'observer un effet bénéfique d'un niveau de symbiose mycorhizienne accru dans un tel contexte cultural. De plus, les pratiques culturales ont un impact sur le développement et la viabilité des microorganismes dans le sol (An et al., 2010; Lehman et al., 2012; Säle et al., 2015). Des tests, sur différentes parcelles au sein des fermes, permettraient d'évaluer l'efficacité du consortia en fonction des types d'agriculture, des pratiques culturales et des conditions locales. Les essais qui auront lieu au cours de la saison culturale 2022-2023 permettront de tester le biostimulant dans différents contextes culturels.

Dans la suite du projet MicroSoilSystem, une analyse des impacts de l'inoculation de microorganismes sur les populations locales pourrait également s'avérer utile ainsi qu'une quantification sur la durée du développement de l'inoculum au sein des parcelles. En effet, dans une optique de durabilité, il est nécessaire d'avoir une idée de la perturbation provoquée par l'apport de l'inoculum et des risques de propagation au cours de la saison ou des années.

Conclusion

L'agriculture intensive actuelle est, en grande partie, basée sur l'utilisation d'intrants synthétiques. Ces intrants ont des conséquences non négligeables sur la santé des écosystèmes mais également sur la santé humaine. Une transition vers une agriculture plus durable passe notamment par le développement et l'utilisation d'alternatives à ces intrants synthétiques tout en maintenant une qualité et une quantité de production suffisante pour nourrir une population mondiale grandissante.

L'utilisation de microorganismes est envisagée comme une des alternatives pour diminuer l'utilisation des intrants synthétiques. Les *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) et les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) présents naturellement dans l'environnement sont des organismes clés pour relever les défis actuels du monde agricole. Ils ont montré des effets de biostimulation et de biocontrôle intéressants pour la production végétale. Le projet MicroSoilSystem travaille dans ce sens, en développant des consortia microbiens formulés à finalités biostimulante et de biocontrôle.

L'objectif principal de ce mémoire a été d'évaluer l'effet biostimulant de deux consortia PGPR - CMA sur le froment d'hiver. Un premier consortium était composé de *Rhizophagus irregularis* MUCL 43194 (CMA) et de *Bacillus velezensis* GA1 (PGPR) et un deuxième, de ce même CMA et de *Pseudomonas putida* BTP1 (PGPR). L'effet de biostimulation a été évalué en serres sur cinq variétés (Anapolis, Arminius, Chevignon, Cubitus et Moschus). L'effet des consortia a également été évalué au champ en agriculture conventionnelle en fonction de trois niveaux de fumures présentant des teneurs en phosphore disponible du sol contrastées.

En conditions contrôlées, les consortia microbiens étudiés ont montré des effets nuls ou négatifs sur la biomasse aérienne et nuls ou positifs sur la biomasse racinaire. Aucun effet délétère n'a donc été observé sur les biomasses des plantes traitées, en comparaison aux plantes témoins.

Les résultats obtenus ont montré un effet positif du consortium sur la colonisation racinaire totale en conditions non contrôlées. De plus, des taux de colonisation supérieurs ont également pu être observés pour la modalité de fumure la plus pauvre en phosphore disponible.

Finalement, l'inoculation n'a pas permis d'améliorer ni le rendement au champ ni la biomasse aérienne en conditions contrôlées, ce qui pourrait indiquer que le bénéfice de la mycorhization ne se reflète pas sur la production de biomasse et sur le rendement dans des conditions optimales de croissance en termes d'apport en nutriments et de phytoprotection.

Les résultats obtenus lors de ces expériences ne permettent pas d'identifier d'effets synergiques ou délétères de l'association des microorganismes étudiés. Etant une information clé pour la suite du projet MicroSoilSystem, des études supplémentaires pourraient être effectuées afin d'identifier ces effets.

Ce mémoire permet de souligner les interactions complexes existantes entre plante - PGPR – CMA et le fait qu’elles dépendent fortement des conditions étudiées. Il est important de garder cela à l’esprit, afin de pouvoir développer des alternatives aux intrants synthétiques utilisés par les agriculteurs, dans une optique de transition vers une agriculture plus durable.

Bibliographie

Abbasdokht, H. (2011). *The Effect Of Hydropriming And Halopriming On Germination And Early Growth Stage Of Wheat (Triticum Aestivum L.)*. 16(1), 61-68.

Abd El-Daim, I. A., Bejai, S., & Meijer, J. (2014). Improved heat stress tolerance of wheat seedlings by bacterial seed treatment. *Plant and Soil*, 379(1), 337-350. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2063-3>

Abd El-Daim, I. A., Bejai, S., & Meijer, J. (2019). *Bacillus velezensis* 5113 Induced Metabolic and Molecular Reprogramming during Abiotic Stress Tolerance in Wheat. *Scientific Reports*, 9(1), 16282. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52567-x>

Abelson, P. H. (1999). A Potential Phosphate Crisis. *Science*, 283(5410), 2015-2015. <https://doi.org/10.1126/science.283.5410.2015>

Abhilash, P. C., Srivastava, S., Srivastava, P., Singh, B., Jafri, A., & Singh, N. (2011). Influence of rhizospheric microbial inoculation and tolerant plant species on the rhizoremediation of lindane. *Environmental and Experimental Botany*, 74, 127-130. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.05.009>

Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria : Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>

Akiyama, K., & Hayashi, H. (2006). Strigolactones : Chemical Signals for Fungal Symbionts and Parasitic Weeds in Plant Roots. *Annals of Botany*, 97(6), 925-931. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl063>

Akiyama, K., Matsuzaki, K., & Hayashi, H. (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435(7043), 824-827. <https://doi.org/10.1038/nature03608>

Alaux, P.-L. (2020). *Does the Arbuscular Mycorrhizal Fungus Rhizophagus Irregularis Mitigate Late Blight in Potato Plants?* Presses universitaires de Louvain.

Al-Karaki, G. N., & Clark, R. B. (1999). Mycorrhizal influence on protein and lipid of durum wheat grown at different soil phosphorus levels. *Mycorrhiza*, 9(2), 97-101. <https://doi.org/10.1007/s005720050006>

Alori, E. T., Dare, M. O., & Babalola, O. O. (2017). Microbial Inoculants for Soil Quality and Plant Health. In E. Lichtfouse (Éd.), *Sustainable Agriculture Reviews* (p. 281-307). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48006-0_9

Alves, B. J. R., Boddey, R. M., & Urquiaga, S. (2003). The success of BNF in soybean in Brazil. *Plant and Soil*, 252(1), 1-9. <https://doi.org/10.1023/A:1024191913296>

- An, G.-H., Kobayashi, S., Enoki, H., Sonobe, K., Muraki, M., Karasawa, T., & Ezawa, T. (2010). How does arbuscular mycorrhizal colonization vary with host plant genotype? An example based on maize (*Zea mays*) germplasms. *Plant and Soil*, 327(1), 441-453. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0073-3>
- Antier, C., Petel, T., & Baret, P. (2019). *Etat des lieux et scénarios à horizon 2050 de la filière des céréales en Région wallonne*. 66.
- Antón, M. R. de F. (2006). Fijación biológica de dinitrógeno atmosférico en vida libre. *Fijación de nitrógeno: fundamentos y aplicaciones, 2006, ISBN 84-611-1198-2, págs. 9-16, 9-16*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6516275>
- Arguelles-Arias, A., Ongena, M., Halimi, B., Lara, Y., Brans, A., Joris, B., & Fickers, P. (2009). *Bacillus amyloliquefaciens* GA1 as a source of potent antibiotics and other secondary metabolites for biocontrol of plant pathogens. *Microbial Cell Factories*, 8(1), 63. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-63>
- Arora, N. K., Khare, E., Oh, J. H., Kang, S. C., & Maheshwari, D. K. (2008). Diverse mechanisms adopted by fluorescent *Pseudomonas* PGC2 during the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora capsici*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(4), 581-585. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9505-5>
- Arvin, P., Vafabakhsh, J., Mazaheri, D., Noormohamadi, G., & Azizi, M. (2012). Study of Drought Stress and Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Yield, Yield Components and Seed Oil Content of Different Cultivars and Species of Brassica Oilseed Rape. *Annals of Biological Research*, 3, 4444-4451.
- Awika, J. M. (2011). Major Cereal Grains Production and Use around the World. In *Advances in Cereal Science: Implications to Food Processing and Health Promotion* (Vol. 1089, p. 1-13). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-2011-1089.ch001>
- Bago, B., Pfeffer, P. E., & Shachar-Hill, Y. (2000). Carbon Metabolism and Transport in Arbuscular Mycorrhizas. *Plant Physiology*, 124(3), 949-957.
- Barber, S. A., & Silberbush, M. (1984). Plant Root Morphology and Nutrient Uptake. In *Roots, Nutrient and Water Influx, and Plant Growth* (p. 65-87). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.2134/asaspecpub49.c4>
- Barea, J.-M., Azcón, R., & Azcón-Aguilar, C. (2002). Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81(1-4), 343-351. <https://doi.org/10.1023/a:1020588701325>
- Barea, J.-M., & Azcón-Aguilar, C. (1997). Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6, 457–464. <https://doi.org/10.1007/s005720050147>

- Barea, J.-M., Ferrol, N., Azcón-Aguilar, C., & Azcón, R. (2008). Mycorrhizal symbioses. In P. J. White & J. P. Hammond (Éds.), *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions* (p. 143-163). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8435-5_7
- Basu, S., Rabara, R. C., & Negi, S. (2018). AMF: The future prospect for sustainable agriculture. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102, 36-45. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.11.007>
- Bates, T. R., & Lynch, J. P. (1996). Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability. *Plant, Cell & Environment*, 19(5), 529-538. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1996.tb00386.x>
- Belvaux, E. (2021). *L'influence des traitements de semences sur la dynamique de mycorhization du froment d'hiver*. Prom.:Declerck, Stephan ; Hardy, Brieuc. Faculté des bioingénieurs, Université Catholique de Louvain.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, 35(4), 1044-1051.
- Berta, G., Copetta, A., Gamalero, E., Bona, E., Cesaro, P., Scarafoni, A., & D'Agostino, G. (2014). Maize development and grain quality are differentially affected by mycorrhizal fungi and a growth-promoting pseudomonad in the field. *Mycorrhiza*, 24(3), 161-170. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0523-x>
- Besserer, A., Puech-Pagès, V., Kiefer, P., Gomez-Roldan, V., Jauneau, A., Roy, S., Portais, J.-C., Roux, C., Bécard, G., & Séjalon-Delmas, N. (2006). Strigolactones Stimulate Arbuscular Mycorrhizal Fungi by Activating Mitochondria. *PLOS Biology*, 4(7), e226. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040226>
- Bianciotto, V., Andreotti, S., Balestrini, R., Bonfante, P., & Perotto, S. (2001). Extracellular polysaccharides are involved in the attachment of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium leguminosarum* to arbuscular mycorrhizal structures. *European Journal of Histochemistry*, 45(1), 39-50. <https://doi.org/10.4081/1612>
- Bianciotto, V., Minerdi, D., Perotto, S., & Bonfante, P. (1996). Cellular interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria. *Protoplasma*, 193(1), 123-131. <https://doi.org/10.1007/BF01276640>
- Bialeski, R. L. (1973). Phosphate Pools, Phosphate Transport, and Phosphate Availability. *Annual Review of Plant Physiology*, 24(1), 225-252. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.24.060173.001301>
- Brundrett, M. C., & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4), 1108-1115. <https://doi.org/10.1111/nph.14976>

Buysens, C., Alaux, P.-L., César, V., Huret, S., Declerck, S., & Cranenbrouck, S. (2017). Tracing native and inoculated *Rhizophagus irregularis* in three potato cultivars (Charlotte, Nicola and Bintje) grown under field conditions. *Applied Soil Ecology*, 115, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.03.007>

Cavagnaro, T. R., Jackson, L. E., Six, J., Ferris, H., Goyal, S., Asami, D., & Scow, K. M. (2006). Arbuscular Mycorrhizas, Microbial Communities, Nutrient Availability, and Soil Aggregates in Organic Tomato Production. *Plant and Soil*. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Arbuscular+Mycorrhizas%2C+Microbial+Communities%2C+Nutrient+Availability%2C+and+Soil+Aggregates+in+Organic+Tomato+Production&author=Cavagnaro%2C+T.R.&publication_year=2006

Chantret, N., Salse, J., Sabot, F., Rahman, S., Bellec, A., Laubin, B., Dubois, I., Dossat, C., Sourdille, P., Joudrier, P., Gautier, M.-F., Cattolico, L., Beckert, M., Aubourg, S., Weissenbach, J., Caboche, M., Bernard, M., Leroy, P., & Chalhoub, B. (2005). Molecular Basis of Evolutionary Events That Shaped the Hardness Locus in Diploid and Polyploid Wheat Species (*Triticum* and *Aegilops*). *The Plant Cell*, 17(4), 1033-1045. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.029181>

Clark, R. B., & Zeto, S. K. (2000). Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition*, 23(7), 867-902. <https://doi.org/10.1080/01904160009382068>

Cochran, W. G. (1950). Estimation of bacterial densities by means of the « most probable number ». *Biometrics*. <https://doi.org/10.2307/3001491>

Colla, G., & Rouphael, Y. (2015). Special Issue : Biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 1-134.

Conrath, U., Beckers, G. J. M., Langenbach, C. J. G., & Jaskiewicz, M. R. (2015). Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology*, 53, 97-119. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120132>

Dalpé, Y. (2005). Les mycorhizes : Un outil de protection des plantes mais non une panacée. *Phytoprotection*, 86(1), 53-59. <https://doi.org/10.7202/011715ar>

De Leij, F., Sutton, E. J., Whipps, J. M., Fenlon, J. S., & Lynch, J. M. (1995). Impact of Field Release of Genetically Modified *Pseudomonas fluorescens* on Indigenous Microbial Populations of Wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(9), 3443-3453. <https://doi.org/10.1128/aem.61.9.3443-3453.1995>

Deshmukh, S. K., Verekar, S. A., & Bhave, S. V. (2015). Endophytic fungi : A reservoir of antibacterials. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2014.00715>

Dey, R., Pal, K. K., & Tilak, K. V. B. R. (2012). Influence of Soil and Plant Types on Diversity of Rhizobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 82(3), 341–352. <https://doi.org/10.1007/s40011-012-0030-4>

Direction de l'Etat Environnemental. (2014). « *Les Indicateurs Clés de l'Environnement Wallon 2014 (ICEW 2014)* ». Namur : SPW - DGO3—DEMNA - DEE. <https://issuu.com/terretous/docs/icew2014>

Douds, D., Pfeffer, P., & Shachar-Hill, Y. (2000). *Carbon Partitioning, Cost, and Metabolism of Arbuscular Mycorrhizas*. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0776-3_6

Dunlap, C. A., Bowman, M. J., & Schisler, D. A. (2013). Genomic analysis and secondary metabolite production in *Bacillus amyloliquefaciens* AS 43.3 : A biocontrol antagonist of *Fusarium* head blight. *Biological Control*, 64(2), 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.11.002>

Eissenstat, D. M., Graham, J. H., Syvertsen, J. P., & Drouillard, D. L. (1993). Carbon economy of sour orange in relation to mycorrhizal colonization and phosphorus status. *Annals of Botany*, 71(1), 1–10. <https://doi.org/10.1006/anbo.1993.1001>

EU. (2019). *Regulation of the european parliament and of the council laying down rules on the making available on the market of EU fertilising products and amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and repealing Regulation (EC) No 2003/2003*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=OJ:L:2019:170:TOC>

FAO. (2021). *FAOSTAT*. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>

Ferrol, N., Azcón-Aguilar, C., & Pérez-Tienda, J. (2019). Review : Arbuscular mycorrhizas as key players in sustainable plant phosphorus acquisition: An overview on the mechanisms involved. *Plant Science*, 280, 441–447. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.11.011>

Fisher, R. A., & Yates, F. (1963). *Statistical tables for biological, agricultural and medical research, edited by R.A. Fisher and F. Yates. 6th ed.* Edinburgh: Oliver and Boyd. <https://digital.library.adelaide.edu.au/dspace/handle/2440/10701>

Flores-Felix, J., Menendez, E., & Rivera, L. (2013). Use of *Rhizobium leguminosarum* as a potential biofertilizer for *Lactuca sativa* and *Daucus carota* crops. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jpln.201300116?casa_token=4Tm72c77kTsAAAAA:2oPflciyuQyqBLhtLN4SF9yZ8tfRR2y85uID359BmrpLHq24ScDsEehdUIKCnyZqtF2bPRb-VyYoNcI

FWA, BioWallonie, SPW, & CRA-W. (2019). *Céréales biologiques-Etat des lieux de la filière wallonne*. <https://www.fwa.be/sites/fwa.be/files/2019-09/Rapport%20C%C3%A9rales%20Bassedef.pdf>

- Gamalero, E., Berta, G., Massa, N., Glick, B. R., & Lingua, G. (2008). Synergistic interactions between the ACC deaminase-producing bacterium *Pseudomonas putida* UW4 and the AM fungus *Gigaspora rosea* positively affect cucumber plant growth. *FEMS Microbiology Ecology*, 64(3), 459-467. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00485.x>
- Garbaye, J. (2013). La symbiose mycorhizienne : Une association entre les plantes et les champignons. *La Symbiose Mycorhizienne*, 1-280.
- García-Fraile, P., Carro, L., Robledo, M., Ramírez-Bahena, M.-H., Flores-Félix, J.-D., Fernández, M. T., Mateos, P. F., Rivas, R., Igual, J. M., Martínez-Molina, E., Peix, Á., & Velázquez, E. (2012). Rhizobium Promotes Non-Legumes Growth and Quality in Several Production Steps : Towards a Biofertilization of Edible Raw Vegetables Healthy for Humans. *PLOS ONE*, 7(5), e38122. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038122>
- García-Fraile, P., Menéndez, E., Rivas, R., García-Fraile, P., Menéndez, E., & 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>
- Gate, P. (1995). *Ecophysiologie du blé. Tec & Doc-Lavoisier*.
- Genre, A., Chabaud, M., Balzergue, C., Puech-Pagès, V., Novero, M., Rey, T., Fournier, J., Rochange, S., Bécard, G., Bonfante, P., & Barker, D. G. (2013). Short-chain chitin oligomers from arbuscular mycorrhizal fungi trigger nuclear Ca²⁺ spiking in *Medicago truncatula* roots and their production is enhanced by strigolactone. *New Phytologist*, 198(1), 190-202. <https://doi.org/10.1111/nph.12146>
- Getachew, G., Rewald, B., Godbold, D., & Sandén, H. (2019). Endophytic Fungal Root Colonization of *Eragrostis tef* in Eroded Croplands of the Ethiopian Highlands is Limited by Low Spore Density and Fertilisation. *Agronomy*, 9, 73. <https://doi.org/10.3390/agronomy9020073>
- Giovannetti, M., Avio, L., & Sbrana, C. (2010). Fungal Spore Germination and Pre-symbiotic Mycelial Growth – Physiological and Genetic Aspects. In H. Koltai & Y. Kapulnik (Éds.), *Arbuscular Mycorrhizas : Physiology and Function* (p. 3-32). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6_1
- Giovannetti, M., Fortuna, P., Citernes, A. S., Morini, S., & Nuti, M. P. (2001). The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist*, 151(3), 717-724. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646x.2001.00216.x>
- Giri, S., Shitut, S., & Kost, C. (2020). Harnessing ecological and evolutionary principles to guide the design of microbial production consortia. *Current Opinion in Biotechnology*, 62, 228-238. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.12.012>

Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2), 109-117. <https://doi.org/10.1139/m95-015>

Glick, B. R. (2004). Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. *Advances in Applied Microbiology*, 56, 291-312. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(04\)56009-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(04)56009-4)

Goldstein, A. H. (1995). Recent Progress in Understanding the Molecular Genetics and Biochemistry of Calcium Phosphate Solubilization by Gram Negative Bacteria. *Biological Agriculture & Horticulture*, 12(2), 185-193. <https://doi.org/10.1080/01448765.1995.9754736>

Grant, C., Montreal, M., Plenchette, C., Morel, C., Bittman, C., & Montreal, S. (2005). Soil and fertilizer phosphorus : Effects on plant P supply and mycorrhizal development. *Canadian Journal of Plant Science*, 85. <https://doi.org/10.4141/P03-182>

Gyaneshwar, P., Parekh, L. J., Archana, G., Poole, P. S., Collins, M. D., Hutson, R. A., & Kumar, G. N. (1999). Involvement of a phosphate starvation inducible glucose dehydrogenase in soil phosphate solubilization by *Enterobacter asburiae*. *FEMS Microbiology Letters*, 171(2), 223-229. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13436.x>

Hardy, B. (s. d.). *MICROSOILSYSTEM*. CRA-W | Centre wallon de Recherches agronomiques. Consulté 12 mars 2022, à l'adresse <https://www.cra.wallonie.be/fr/microsoilsystem>

Harrier, L. A., & Watson, C. A. (2004). The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Management Science*, 60(2), 149-157. <https://doi.org/10.1002/ps.820>

Hart, M., Antunes, P., Chaudhary, B., & Abbott, L. (2017). Fungal inoculants in the field : Is the reward greater than the risk? *Functional Ecology*, 1. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12976>

Hodge, A., & Storer, K. (2015). Arbuscular mycorrhiza and nitrogen : Implications for individual plants through to ecosystems. *Plant and Soil*, 386(1), 1-19. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2162-1>

Hofman, G., & Cleemput, O. (2004). *Soil and Plant Nitrogen*.

Hofman, G., Salomez, J., & De Neve, S. (2001). Nitrogen cycle in soil as an integral part of the nitrogen cycle in nature. *The Nitrogen Cycle and Sustainability : A Multidisciplinary Approach : Lectures from the 2nd International Summer School on the Environment*, 19, 147-149. <http://hdl.handle.net/1854/LU-148264>

Holtan, H., Kamp-Nielsen, L., & Stuanes, A. O. (1988). Phosphorus in Soil, Water and Sediment : An Overview. In G. Persson & M. Jansson (Éds.), *Phosphorus in Freshwater Ecosystems* (p. 19-34). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-009-3109-1_3

Houdmont, A. (2020). *Effets d'un champignon mycorhizien à arbuscules et d'une bactérie promotrice de croissance des plantes sur la croissance du froment, Triticum aestivum sous des augmentations de température en écotron*. Prom.:Declerck, Stephan ; Calonne, Maryline. Faculté des bioingénieurs, Université Catholique de Louvain.

Hyles, J., Bloomfield, M., Hunt, J., Trethowan, R., & Trevaskis, B. (2020). Phenology and related traits for wheat adaptation. *Heredity*, 125, 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-0320-1>

Igual, J. M., Valverde Portal, Á., Cervantes, E., & Velázquez, E. (2001). *Phosphate-solubilizing bacteria as inoculants for agriculture : Use of updated molecular techniques in their study*. <https://doi.org/10.1051/agro:2001145>

INRA. (2012). *INRA MIRAJE Glossaire*. <http://www.grignon.inra.fr/economie-publique/MIRAJE/gloss.htm>

IRM - Mars. (2022). KMI. <https://www.meteo.be/fr/climat/climat-de-la-belgique/bilans-climatologiques/2022/mars>

IRM - Novembre. (2021). KMI. <https://www.meteo.be/fr/climat/climat-de-la-belgique/bilans-climatologiques/2021/novembre>

Isherwood, K. F. (1996). The present situation of fertilizer production and use in the world. In C. Rodriguez-Barrueco (Éd.), *Fertilizers and Environment : Proceedings of the International Symposium "Fertilizers and Environment", held in Salamanca, Spain, 26-29, September, 1994* (p. 13-18). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1586-2_3

Jarvis, B., Wilrich, C., & Wilrich, P.-T. (2010). Reconsideration of the derivation of Most Probable Numbers, their standard deviations, confidence bounds and rarity values. *Journal of Applied Microbiology*, 109(5), 1660-1667. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04792.x>

Javot, H., Pumplin, N., & Harrison, M. J. (2007). Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis : Transport properties and regulatory roles. *Plant, Cell & Environment*, 30(3), 310-322. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01617.x>

Jennings, D. H. (1995). *The Physiology of Fungal Nutrition*. Cambridge University Press.

Kahiluoto, H., Ketoja, E., Vestberg, M., & Saarela, I. (2001). Promotion of AM utilization through reduced P fertilization 2. Field studies. *Plant and Soil*, 231(1), 65-79. <https://doi.org/10.1023/A:1010366400009>

Kalkar, S. (2014). Potassium Solubilisers : Occurrence, Mechanism and Their Role as Competent Biofertilizers. *International journal of current micobiology and applied Sciences*, 3(9), 622-629.

- Kaminsky, L. M., Trexler, R. V., Malik, R. J., Hockett, K. L., & Bell, T. H. (2019). The Inherent Conflicts in Developing Soil Microbial Inoculants. *Trends in Biotechnology*, 37(2), 140-151. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.11.011>
- Kasim, W. A., Osman, M. E., Omar, M. N., Abd El-Daim, I. A., Bejai, S., & Meijer, J. (2013). Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(1), 122-130. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9283-7>
- Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, M. S., & Naqvi, S. (2009). Phosphorus solubilizing bacteria : Occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J agric biol sci*, 1(1), 48-58. *J agric biol sci*, 1(1), 48-58.
- Khan, M., & Zaidi, A. (2007). Synergistic Effects of the Inoculation with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and an Arbuscular Mycorrhizal Fungus on the Performance of Wheat. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31(6), 355-362. <https://doi.org/>
- Khan, N. I., Schisler, D. A., Boehm, M. J., Lipps, P. E., & Slininger, P. J. (2004). Field testing of antagonists of Fusarium head blight incited by Gibberella zeae. *Biological Control*, 29(2), 245-255. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(03\)00157-9](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(03)00157-9)
- Kloepper, J. W. (1978). Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. *Proc. of the 4th Internat. Conf. on Plant Pathogenic Bacter*, Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologie, INRA, Angers, France, 1978, 2, 879-882.
- Kohler, J., Caravaca, F., & Roldán, A. (2010). An AM fungus and a PGPR intensify the adverse effects of salinity on the stability of rhizosphere soil aggregates of Lactuca sativa. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(3), 429-434. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.021>
- Kruse, J., Abraham, M., Amelung, W., Baum, C., Bol, R., Kühn, O., Lewandowski, H., Niederberger, J., Oelmann, Y., Rüger, C., Santner, J., Siebers, M., Siebers, N., Spohn, M., Vestergren, J., Vogts, A., & Leinweber, P. (2015). Innovative methods in soil phosphorus research: A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 178(1), 43-88. <https://doi.org/10.1002/jpln.201400327>
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest Package : Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software*, 82, 1-26. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
- Lambers, H., Raven, J. A., Shaver, G. R., & Smith, S. E. (2008). Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(2), 95-103. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.10.008>
- Larran, S., Simon, M. R., Moreno, M. V., Siurana, M. S., & Perello, A. (2016). Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease *Biol. Contr.*, 92 (2016), pp. 17-23, [10.1016/j.biocontrol.2015.09.002](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.09.002).

Lehman, R. M., Taheri, W. I., Osborne, S. L., Buyer, J. S., & Douds, D. D. (2012). Fall cover cropping can increase arbuscular mycorrhizae in soils supporting intensive agricultural production. *Applied Soil Ecology*, 61, 300-304. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.11.008>

Lekberg, Y., & Koide, R. T. (2005). Is plant performance limited by abundance of arbuscular mycorrhizal fungi? A meta-analysis of studies published between 1988 and 2003. *New Phytologist*, 168(1), 189-204. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01490.x>

Lindsay, W. L., Vlek, P. L. G., & Chien, S. H. (1989). Phosphate Minerals. In *Minerals in Soil Environments* (p. 1089-1130). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.2136/sssabookser1.2ed.c22>

Linné, C. von. (1753). *Species plantarum :exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas*.

Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R. I., Ma, B. L., & Smith, D. L. (2000). Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza*, 9(6), 331-336. <https://doi.org/10.1007/s005720050277>

Livre Blanc des Céréales. (2017). *Livre Blanc des Céréales- Dates de semis recommandées et importance du choix de la date de semis*. <https://www.livre-blanc-cereales.be/thematiques/semis/date-de-semis/>

Livre Blanc des Céréales. (2020a). *Edition Septembre 2020*. <https://www.livre-blanc-cereales.be/wp-content/uploads/2020/12/LivreBlanc-sept-2020.pdf>

Livre Blanc des Céréales. (2020b). *Variétés de céréales en agriculture biologique*. 23.

Livre Blanc des Céréales. (2021a). *Edition Septembre 2021*. <https://www.livre-blanc-cereales.be/livre-blanc-cereales-fevrier-2021-introduction/>

Livre Blanc des Céréales. (2021b). *La densité de semis des céréales*. <https://www.livre-blanc-cereales.be/thematiques/semis/densite-de-semis/>

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63(1), 541-556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>

Lynch, J. M., Brimecombe, M. J., & De Leij, F. A. (2001). Rhizosphere. In *ELS*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0000403>

Ma, Z., Bielenberg, D. G., Brown, K. M., & Lynch, J. P. (2001). Regulation of root hair density by phosphorus availability in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell & Environment*, 24(4), 459-467. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00695.x>

Maartensson, A. M., & Carlgren, K. (1994). Impact of phosphorus fertilization on VAM diaspores in two Swedish long-term field experiment. *Agriculture, Ecosystems and*

https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Impact+of+phosphorus+fertilization+on+VAM+diaspores+in+two+Swedish+long-term+field+experiment&author=Maartensson%2C+A.M.+%28Swedish+Univ.+of+Agricultural+Sciences%2C+Uppsala+%28Sweden%29.+Dept.+of+Soil+Sciences%29&publication_year=1994

Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., & Tribedi, P. (2017). Biofertilizers: A potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(4), 3315-3335. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8104-0>

Maheshwari, D. K., Dheeman, S., & Agarwal, M. (2015). Phytohormone-Producing PGPR for Sustainable Agriculture. In D. K. Maheshwari (Éd.), *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem* (p. 159-182). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24654-3_7

Maillet, F., Poinot, V., André, O., Puech-Pagès, V., Haouy, A., Gueunier, M., Cromer, L., Giraudet, D., Formey, D., Niebel, A., Martinez, E. A., Driguez, H., Bécard, G., & Dénarié, J. (2011). Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature*, 469(7328), 58-63. <https://doi.org/10.1038/nature09622>

Mamatha, G., Bagyaraj, D., & Jaganath, S. (2002). Inoculation of field-established mulberry and papaya with arbuscular mycorrhizal fungi and a mycorrhiza helper bacterium. *Mycorrhiza*, 12(6), 313-316. <https://doi.org/10.1007/s00572-002-0200-y>

Mardhiah, U., Caruso, T., Gurnell, A., & Rillig, M. C. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae reduce soil erosion by surface water flow in a greenhouse experiment. *Applied Soil Ecology*, 99, 137-140. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.11.027>

Marulanda, A., Barea, J.-M., & Azcón, R. (2009). Stimulation of Plant Growth and Drought Tolerance by Native Microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from Dry Environments: Mechanisms Related to Bacterial Effectiveness. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(2), 115-124. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9079-6>

Massa, N., Cesaro, P., Todeschini, V., Capraro, J., Scarafoni, A., Cantamessa, S., Copetta, A., Anastasia, F., Gamalero, E., Lingua, G., Berta, G., & Bona, E. (2020). Selected autochthonous rhizobia, applied in combination with AM fungi, improve seed quality of common bean cultivated in reduced fertilization condition. *Applied Soil Ecology*, 148, 103507. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103507>

Matilla, M. A., Ramos, J. L., Bakker, P. A. H. M., Doornbos, R., Badri, D. V., Vivanco, J. M., & Ramos-González, M. I. (2010). *Pseudomonas putida* KT2440 causes induced systemic resistance and changes in Arabidopsis root exudation. *Environmental Microbiology Reports*, 2(3), 381-388. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00091.x>

- Mazzola, M., Fujimoto, D. K., Thomashow, L. S., & Cook, R. J. (1995). Variation in Sensitivity of *Gaeumannomyces graminis* to Antibiotics Produced by Fluorescent *Pseudomonas* spp. And Effect on Biological Control of Take-All of Wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(7), 2554-2559. <https://doi.org/10.1128/aem.61.7.2554-2559.1995>
- Mc Gonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—Arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115(3), 495-501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- McGonigle, T. P. (1988). A Numerical Analysis of Published Field Trials with Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Functional Ecology*, 2(4), 473-478. <https://doi.org/10.2307/2389390>
- Mengel, K. (1985). Dynamics and Availability of Major Nutrients in Soils. In B. A. Stewart (Éd.), *Advances in Soil Science* (p. 65-131). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-5088-3_2
- Meyer, J. R., & Linderman, R. G. (1986). Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and a plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biology and Biochemistry*, 18(2), 185-190. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(86\)90025-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(86)90025-8)
- Mishra, P. K., Bisht, S. C., Ruwari, P., Selvakumar, G., Joshi, G. K., Bisht, J. K., Bhatt, J. C., & Gupta, H. S. (2011). Alleviation of cold stress in inoculated wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings with psychrotolerant *Pseudomonads* from NW Himalayas. *Archives of Microbiology*, 193(7), 497-513. <https://doi.org/10.1007/s00203-011-0693-x>
- Molina, L., Segura, A., Duque, E., & Ramos, J.-L. (2020). Chapter Four—The versatility of *Pseudomonas putida* in the rhizosphere environment. In G. M. Gadd & S. Sariaslani (Éds.), *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 110, p. 149-180). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2019.12.002>
- Molina, M. A., Ramos, J.-L., & Espinosa-Urgel, M. (2006). A two-partner secretion system is involved in seed and root colonization and iron uptake by *Pseudomonas putida* KT2440. *Environmental Microbiology*, 8(4), 639-647. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00940.x>
- Mustafa, G. (2015). *Protection du blé contre l'oïdium par des champignons mycorhiziens à arbuscules : Mécanismes et optimisation* [These de doctorat, Littoral]. <https://www.theses.fr/2015DUNK0388>
- Nakano, M. M., & Zuber, P. (1990). Molecular Biology of Antibiotic Production in *Bacillus*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 10(3), 223-240. <https://doi.org/10.3109/07388559009038209>

- Norrish, K., & Rosser, H. (1983). *Mineral phosphate*. <https://publications.csiro.au/rpr/pub?list=BRO&pid=procite:69c4d448-6be0-4d25-b616-7a6a07fd6dcc>
- O'Callaghan, M. (2016). Microbial inoculation of seed for improved crop performance : Issues and opportunities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(13), 5729-5746. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7590-9>
- O'Callaghan, M., Swaminathan, J., Lottmann, J., Wright, D. A., & Jackson, T. A. (2006). Seed coating with biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113. *New Zealand Plant Protection*, 59, 80-85. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2006.59.4420>
- Oliveira, R. S., Rocha, I., Ma, Y., Vosátka, M., & Freitas, H. (2016). Seed coating with arbuscular mycorrhizal fungi as an ecotechnological approach for sustainable agricultural production of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 79(7), 329-337. <https://doi.org/10.1080/15287394.2016.1153448>
- Ongena, M., & Jacques, P. (2008). Bacillus lipopeptides : Versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16(3), 115-125. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>
- Ophir, T., & Gutnick, D. (1994). A Role for Exopolysaccharides in the Protection of Microorganisms from Desiccation. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(2). <https://doi.org/10.1128/aem.60.2.740-745.1994>
- Orchard, S., Standish, R. J., Dickie, I. A., Renton, M., Walker, C., Moot, D., & Ryan, M. H. (2017). Fine root endophytes under scrutiny : A review of the literature on arbuscule-producing fungi recently suggested to belong to the Mucoromycotina. *Mycorrhiza*, 27(7), 619-638. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0782-z>
- Parniske, M. (2008). Parniske, M. Arbuscular mycorrhiza : The mother of plant root endosymbioses. *Nature Rev. Microbiol.* 6, 763-775. *Nature reviews. Microbiology*, 6, 763-775. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1987>
- Patten, C. L., & Glick, B. R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(3), 207-220. <https://doi.org/10.1139/m96-032>
- Pellegrino, E., Öpik, M., Bonari, E., & Ercoli, L. (2015). Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi : A meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 210-217. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.020>
- Peng, S., Eissenstat, D. M., Graham, J. H., Williams, K., & Hodge, N. C. (1993). Growth Depression in Mycorrhizal Citrus at High-Phosphorus Supply (Analysis of Carbon Costs). *Plant Physiology*, 101(3), 1063-1071. <https://doi.org/10.1104/pp.101.3.1063>

- Peterson, R. L., Massicotte, H. B., & Melville, L. H. (2004). Mycorrhizas : Anatomy and cell biology. *Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20043147914>
- Platel, R., Sawicki, M., Esmaeel, Q., Randoux, B., Trapet, P., El Guilli, M., Chtaina, N., Arnould, S., Bricout, A., Rochex, A., Bourdon, N., Halama, P., Jacquard, C., Barka, E. A., Reignault, P., Magnin-Robert, M., & Siah, A. (2022). Isolation and Identification of Lipopeptide-Producing *Bacillus velezensis* Strains from Wheat Phyllosphere with Antifungal Activity against the Wheat Pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Agronomy*, 12(1), 95. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010095>
- Plenchette, C., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J. M., & Fortin, J. A. (2005). Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(1), 31-40. <https://doi.org/10.4141/P03-159>
- Plouznikoff, K., Declerck, S., & Calonne, M. (2016). *Mitigating Abiotic Stresses in Crop Plants by Arbuscular Mycorrhizal Fungi* (p. 341-400). https://doi.org/10.1007/978-3-319-42319-7_15
- Popp, J., Pető, K., & Nagy, J. (2013). Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 33(1), 243-255. <https://doi.org/10.1007/s13593-012-0105-x>
- Poussart, L.-A. (2022). *Unveiling the compatibility of the interaction between Bacillus velezensis and Rhizophagus irregularis*. <https://matheo.uliege.be/handle/2268.2/13900>
- Pozo, M. J., & Azcón-Aguilar, C. (2007). Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(4), 393-398. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.05.004>
- Prashar, P., & Shah, S. (2016). Impact of Fertilizers and Pesticides on Soil Microflora in Agriculture. In E. Lichtfouse (Éd.), *Sustainable Agriculture Reviews: Volume 19* (p. 331-361). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7_8
- Pretty, J., Brett, C., Gee, D., Hine, R., Mason, C., Morison, J., Rayment, M., Van Der Bijl, G., & Dobbs, T. (2001). Policy Challenges and Priorities for Internalizing the Externalities of Modern Agriculture. *Journal of Environmental Planning and Management*, 44(2), 263-283. <https://doi.org/10.1080/09640560123782>
- Raklami, A., Bechtaoui, N., Tahiri, A., Anli, M., Meddich, A., & Oufdou, K. (2019). Use of Rhizobacteria and Mycorrhizae Consortium in the Open Field as a Strategy for Improving Crop Nutrition, Productivity and Soil Fertility. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.01106>
- Ramasamy, K., Joe, M. M., Kim, K.-Y., Lee, S.-M., Shagol, C., Rangasamy, A., Chung, J.-B., Islam, M. R., & Sa, T.-M. (2011). Synergistic Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production. *Korean*

Journal of Soil Science and Fertilizer, 44(4), 637-649.
<https://doi.org/10.7745/KJSSF.2011.44.4.637>

Ravensberg, W. J. (2015). Commercialisation of Microbes : Present Situation and Future Prospects. In B. Lugtenberg (Éd.), *Principles of Plant-Microbe Interactions : Microbes for Sustainable Agriculture* (p. 309-317). Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_32

Rillig, M. C., Ramsey, P. W., Morris, S., & Paul, E. A. (2003). Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant and Soil*, 253(2), 293-299. <https://doi.org/10.1023/A:1024807820579>

Ritchie, H., & Roser, M. (2013). Fertilizers. *Our World in Data*.
<https://ourworldindata.org/fertilizers>

Roca, A., Pizarro-Tobías, P., Udaondo, Z., Fernández, M., Matilla, M. A., Molina-Henares, M. A., Molina, L., Segura, A., Duque, E., & Ramos, J.-L. (2013). Analysis of the plant growth-promoting properties encoded by the genome of the rhizobacterium *Pseudomonas putida* BIRD-1. *Environmental Microbiology*, 15(3), 780-794. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12037>

Roesti, D., Gaur, R., Johri, B. N., Imfeld, G., Sharma, S., Kawaljeet, K., & 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>

Rouphael, Y., & Colla, G. (2020). Editorial : Biostimulants in Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2020.00040>

Ruiz-García, C., Béjar, V., Martínez-Checa, F., Llamas, I., & Quesada, E. 2005. (2005). *Bacillus velezensis* sp. Nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Vélez in Málaga, southern Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 191-195. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63310-0>

Ryan, M. H., & Graham, J. H. (2018). Little evidence that farmers should consider abundance or diversity of arbuscular mycorrhizal fungi when managing crops. *New Phytologist*, 220(4), 1092-1107. <https://doi.org/10.1111/nph.15308>

Säle, V., Aguilera, P., Laczko, E., Mäder, P., Berner, A., Zihlmann, U., van der Heijden, M. G. A., & Oehl, F. (2015). Impact of conservation tillage and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 38-52. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.005>

Salomon, M. J., Demarmels, R., Watts-Williams, S. J., McLaughlin, M. J., Kafle, A., Ketelsen, C., Soupier, A., Bücking, H., Cavagnaro, T. R., & van der Heijden, M. G. A. (2022).

Global evaluation of commercial arbuscular mycorrhizal inoculants under greenhouse and field conditions. *Applied Soil Ecology*, 169, 104225. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104225>

Sammauria, R., Kumawat, S., Kumawat, P., Singh, J., & Jatwa, T. K. (2020). Microbial inoculants : Potential tool for sustainability of agricultural production systems. *Archives of Microbiology*, 202(4), 677-693. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01795-w>

Santoyo, G., Guzmán-Guzmán, P., Parra-Cota, F. I., Santos-Villalobos, S. de los, Orozco-Mosqueda, M. del C., & Glick, B. R. (2021). Plant Growth Stimulation by Microbial Consortia. *Agronomy*, 11(2), 219. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>

Scheirer, C. J., Ray, W. S., & Hare, N. (1976). The Analysis of Ranked Data Derived from Completely Randomized Factorial Designs. *Biometrics*, 32(2), 429-434. <https://doi.org/10.2307/2529511>

Schisler, D. A., Khan, N. I., & Boehm, M. J. (2002). Biological Control of Fusarium Head Blight of Wheat and Deoxynivalenol Levels in Grain Via Use of Microbial Antagonists. In J. W. DeVries, M. W. Trucksess, & L. S. Jackson (Éds.), *Mycotoxins and Food Safety* (p. 53-69). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0629-4_6

Schouteden, N., De Waele, D., Panis, B., & Vos, C. M. (2015). Arbuscular Mycorrhizal Fungi for the Biocontrol of Plant-Parasitic Nematodes : A Review of the Mechanisms Involved. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2015.01280>

Shah-Smith, D. A., & Burns, R. G. (1997). Shelf-life of a Biocontrol *Pseudomonas putida* Applied to Sugar Beet Seeds Using Commercial Coatings. *Biocontrol Science and Technology*, 7(1), 65-74. <https://doi.org/10.1080/09583159731054>

Shapiro, R., Armiger, W., & Fried, M. (1960). The Effect of Soil Water Movement vs. Phosphate Diffusion On Growth and Phosphorus Content of Corn and Soybeans. *Soil Science Society of America Journal - Wiley Online Library*. <https://doi.org/10.2136/sssaj1960.03615995002400030012x>

Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes : Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1), 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>

Sharma, S., Gupta, R., Dugar, G., & Srivastava, A. K. (2012). Impact of Application of Biofertilizers on Soil Structure and Resident Microbial Community Structure and Function. In D. K. Maheshwari (Éd.), *Bacteria in Agrobiolgy : Plant Probiotics* (p. 65-77). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-27515-9_4

Shewry, P. R. (2009). Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60(6), 1537-1553. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp058>

Siddiqui, Z. A., & Sayeed Akhtar, M. (2009). Effects of antagonistic fungi, plant growth-promoting rhizobacteria, and arbuscular mycorrhizal fungi alone and in combination on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Journal of General Plant Pathology*, 75(2), 144. <https://doi.org/10.1007/s10327-009-0154-4>

Singh, V., Naveenkumar, R., & Muthukumar, A. (2019). *Arbuscular mycorrhizal fungi and their effectiveness against soil borne diseases. Management*, 183, 199. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Arbuscular%20mycorrhizal%20fungi%20and%20their%20effectiveness%20against%20soil%20borne%20diseases&publication_year=2019&author=V.%20Singh&author=R.%20Naveenkumar&author=A.%20Muthukumar

Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis. Third Edition. Academic Press*. <http://www.agrifs.ir/sites/default/files/Sally%20E.%20Smith,%20David%20J.%20Read%20Mycorrhizal%20Symbiosis%20%202008.pdf>

Spaepen, S. (2015). Plant Hormones Produced by Microbes. In B. Lugtenberg (Éd.), *Principles of Plant-Microbe Interactions : Microbes for Sustainable Agriculture* (p. 247-256). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_26

Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2009). Chapter 7 Plant Growth-Promoting Actions of Rhizobacteria. In *Advances in Botanical Research* (Vol. 51, p. 283-320). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(09\)51007-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(09)51007-5)

Stürmer, S. L., & Kimmelmeyer, K. (2021). The Glomeromycota in the Neotropics. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2020.553679>

Subiramani, S., Ramalingam, S., Muthu, T., Nile, S. H., & Venkidasamy, B. (2020). Development of Abiotic Stress Tolerance in Crops by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). In M. Kumar, V. Kumar, & R. Prasad (Éds.), *Phyto-Microbiome in Stress Regulation* (p. 125-145). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2576-6_8

Taylor, T. N., Remy, W., Hass, H., & Kerp, H. (1995). Fossil Arbuscular Mycorrhizae from the Early Devonian. *Mycologia*, 87(4), 560-573. <https://doi.org/10.2307/3760776>

Tejera, N., Lluch, C., Martínez-Toledo, M. V., & González-López, J. (2005). Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere. *Plant and Soil*, 270(1), 223-232. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-1522-7>

Tommerup, I. C. (1983). Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 81(1), 37-45. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(83\)80201-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(83)80201-0)

Toro, M., Azcon, R., & Barea, J. (1997). Improvement of Arbuscular Mycorrhiza Development by Inoculation of Soil with Phosphate-Solubilizing Rhizobacteria To Improve Rock Phosphate Bioavailability ((sup32)P) and Nutrient Cycling. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(11), 4408-4412. <https://doi.org/10.1128/aem.63.11.4408-4412.1997>

Torres de los Santos, R., Molinero Rosales, N., Ocampo, J. A., & García-Garrido, J. M. (2016). Ethylene Alleviates the Suppressive Effect of Phosphate on Arbuscular Mycorrhiza Formation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3), 611-617. <https://doi.org/10.1007/s00344-015-9570-1>

Toutenburg, H. (1971). Fisher, R. A., and F. Yates : Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research. 6th Ed. Oliver & Boyd, Edinburgh and London 1963. X, 146 P. Preis 42 s net. *Biometrische Zeitschrift*, 13(4), 285-285. <https://doi.org/10.1002/bimj.19710130413>

Treseder, K. K. (2013). The extent of mycorrhizal colonization of roots and its influence on plant growth and phosphorus content. *Plant and Soil*, 371(1), 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1681-5>

Valentine, A. J., Osborne, B. A., & Mitchell, D. T. (2001). Interactions between phosphorus supply and total nutrient availability on mycorrhizal colonization, growth and photosynthesis of cucumber. *Scientia Horticulturae*, 88(3), 177-189. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(00\)00205-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(00)00205-3)

Van Stappen, F. (2013). « *Valorisations Food, Feed, Fiber & Fuel : Quelles opportunités pour la filière céréalière wallonne ?* ». <http://valbiom.be/files/library/Docs/Evenements/RB/10RB/Presentations-des-orateurs/20131127-Van-Stappen-10RB-ValBiom.pdf>

Vance, C. P. (2001). Symbiotic Nitrogen Fixation and Phosphorus Acquisition. Plant Nutrition in a World of Declining Renewable Resources. *Plant Physiology*, 127(2), 390-397. <https://doi.org/10.1104/pp.010331>

Vance, C. P., Uhde-Stone, C., & Allan, D. L. (2003). Phosphorus acquisition and use : Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*, 157(3), 423-447. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x>

van Gansberghe, P. (2021). *Effets de Rhizophagus irregularis et de Bacillus velezensis, seuls ou combinés, sur le développement du blé infecté ou non par Zymoseptoria tritici en conditions semi-hydroponiques*. Prom.:Declerck, Stephan ; Calonne, Maryline. Faculté des bioingénieurs, Université Catholique de Louvain.

Vannini, C., Domingo, G., Fiorilli, V., Seco, D. G., Novero, M., Marsoni, M., Wisniewski-Dye, F., Bracale, M., Moulin, L., & Bonfante, P. (2021). Proteomic analysis reveals how pairing of a Mycorrhizal fungus with plant growth-promoting bacteria modulates growth and defense in wheat. *Plant, Cell & Environment*, 44(6), 1946-1960. <https://doi.org/10.1111/pce.14039>

Varinderpal-Singh, Sharma, S., Kunal, Gosal, S. K., Choudhary, R., Singh, R., Adholeya, A., & Bijay-Singh. (2020). Synergistic Use of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, and Spectral Properties for Improving Nutrient Use

Efficiencies in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(1), 14-27. <https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1689259>

von Alten, H., Lindemann, A., & Schönbeck, F. (1993). Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza by fungicides or rhizosphere bacteria. *Mycorrhiza*, 2(4), 167-173. <https://doi.org/10.1007/BF00210586>

Vosátka, M., & Albrechtová, J. (2009). Benefits of Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Sustainable Crop Production. In M. S. Khan, A. Zaidi, & J. Musarrat (Éds.), *Microbial Strategies for Crop Improvement* (p. 205-225). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-01979-1_10

Vosátka, M., & Gryndler, M. (1999). *Treatment with culture fractions from Pseudomonas putida modifies the development of Glomus fistulosum mycorrhiza and the response of potato and maize plants to inoculation*. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(98\)00151-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(98)00151-6)

Walker, C., Gollotte, A., & Redecker, D. (2018). A new genus, Planticonsortium (Mucoromycotina), and new combination (*P. tenue*), for the fine root endophyte, *Glomus tenue* (basonym *Rhizophagus tenuis*). *Mycorrhiza*, 28(3), 213-219. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0815-7>

Wehner, J., Antunes, P. M., Powell, J. R., Mazukatow, J., & Rillig, M. C. (2010). Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas : A role for fungal diversity? *Pedobiologia*, 53(3), 197-201. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2009.10.002>

West, P. C., Gerber, J. S., Engstrom, P. M., Mueller, N. D., Brauman, K. A., Carlson, K. M., Cassidy, E. S., Johnston, M., MacDonald, G. K., Ray, D. K., & Siebert, S. (2014). Leverage points for improving global food security and the environment. *Science*, 345(6194), 325-328. <https://doi.org/10.1126/science.1246067>

Whipps, J. M. (2004). Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1198-1227. <https://doi.org/10.1139/b04-082>

Whitelaw, M. A. (1999). Growth Promotion of Plants Inoculated with Phosphate-Solubilizing Fungi. In D. L. Sparks (Éd.), *Advances in Agronomy* (Vol. 69, p. 99-151). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60948-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60948-7)

Wilson, J. m, & Trinick, M. j. (1983). Factors affecting the estimation of numbers of infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi by the most probable number method. *Australian Journal of Soil Research*. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Factors+affecting+the+estimation+of+numbers+of+infective+propagules+of+vesicular+arbuscular+mycorrhizal+fungi+by+the+most+probable+number+method.&author=Wilson+J.M.&publication_year=1983

- Wright, S. F., & Anderson, R. L. (2000). Aggregate stability and glomalin in alternative crop rotations for the central Great Plains. *Biology and Fertility of Soils*, 31(3), 249-253. <https://doi.org/10.1007/s003740050653>
- Xavier, L. J. C., & Germida, J. J. (2003). Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(3), 471-478. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00003-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00003-8)
- Xu, C., & Yu, H. (2021). Insights into constructing a stable and efficient microbial consortium. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 30, 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2020.12.012>
- Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem, I., & Li, C. (2010). Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *European Journal of Soil Biology*, 46(1), 49-54. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2009.11.002>
- Yusran, Y., Roemheld, V., & Mueller, T. (2009). *Effects of Pseudomonas sp. "Proradix" and Bacillus amyloliquefaciens FZB42 on the Establishment of AMF Infection, Nutrient Acquisition and Growth of Tomato Affected by Fusarium oxysporum Schlecht f.sp. Radicis-lycopersici Jarvis and Shoemaker*. <https://escholarship.org/uc/item/8g70p0zt>
- Zadoks, J. C., Chang, T. T., & Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14(6), 415-421.
- Zhao, Y., Li, W., Zhou, Z., Wang, L., Pan, Y., & Zhao, L. (2005). Dynamics of microbial community structure and cellulolytic activity in agricultural soil amended with two biofertilizers. *European Journal of Soil Biology*, 41(1), 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2005.03.002>
- Zhou, Q., Ravnskov, S., Jiang, D., & Wollenweber, B. (2015). Changes in carbon and nitrogen allocation, growth and grain yield induced by arbuscular mycorrhizal fungi in wheat (*Triticum aestivum* L.) subjected to a period of water deficit. *Plant Growth Regulation*, 75(3), 751-760. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9977-x>
- Zsögön, A., Lambais, M. R., Benedito, V. A., Figueira, A. V. de O., & Peres, L. E. P. (2008). Reduced arbuscular mycorrhizal colonization in tomato ethylene mutants. *Scientia Agricola*, 65, 259-267. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162008000300006>

Annexes

Annexe 1 : Compléments au matériel et méthode

Tableau 17. Composition et préparation de la solution d'Hoagland (Hoagland et Arnon, 1950)

Solution d'Hoagland	
Solution A	Concentration (g/L)
NH ₄ NO ₃	8,00
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	82,60
KNO ₃	35,70
KCl	4,51
K ₂ SO ₄	10,54
Sous agitation mettre 800 ml d'eau déminéralisée et ajouter les éléments de la solution A. Laisser sous agitation jusqu'à dissolution complète. Ajuster le pH à 5,3 et le volume à 1 L avec de l'eau déminéralisée.	
Solution B	Concentration (g/L)
KNO ₃	5,000
KH ₂ PO ₄	2,740
MgSO ₄ .7H ₂ O	12,040
MnSO ₄ .H ₂ O	0,053
H ₃ BO ₃	0,140
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,015
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂ .4H ₂ O	0,008
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,060
Sous agitation mettre 800 ml d'eau déminéralisée et ajouter les éléments de la solution B. Laisser sous agitation jusqu'à dissolution complète. Ajuster le pH à 4,4 et le volume à 1 L avec de l'eau déminéralisée.	
Solution C	Concentration (g/L)
C ₁₀ H ₁₂ FeN ₂ NaO ₈ (Fe-EDTA)	1,90
Sous agitation mettre 800 ml d'eau déminéralisée et ajouter les éléments de la solution C. Laisser sous agitation jusqu'à dissolution complète. Ajuster le volume à 1 L avec de l'eau déminéralisée.	
Pour préparer un litre de solution finale : mélanger 10 ml de Solution A, 10 ml de solution B et 10 ml de solution C dans 800 ml d'eau déminéralisée. Laisser sous agitation jusqu'à homogénéisation. Ajuster le pH à 5,6 et le volume à 1L avec de l'eau déminéralisée.	

Tableau 18. Composition et préparation du milieu LB (lysogeny broth) avec chloramphénicol

Milieu de culture lysogeny broth	
Eléments	Concentration (g/L)
Bouillon LB (Société : Sigma-Aldrich. Référence : 51208-500G-F)	25,00
Agar	16,00
Chloramphénicol	0,5*10 ⁻⁶
Pour la préparation d'un litre de solution : mettre sous agitation 1l d'eau déminéralisée et chauffer à 70°C. Ajouter 25g de bouillon LB et 16g d'agar. Laisser sous agitation jusqu'à dissolution complète. Autoclaver. Après stérilisation, maintenir la préparation à 50°C sous agitation et ajouter le chloramphénicol.	

Annexe 2 : Compléments aux résultats

Tableau 19. Dénombrement (CFU/g de racine sèche) de *B. velezensis* GA1 GFP après 6, 9 et 12 semaines de croissance du froment en conditions contrôlées.

Traitement	CFU/g de racines sèches
Temps	
6 semaines	499,70 ± 480,37 α
9 semaines	29,95 ± 73,36 β
12 semaines	2,50 ± 1,05 γ
Variété	
Anapolis	22,85 ± 28,91
Chevignon	112,27 ± 221,26
Arminius	153,29 ± 387,82
Cubitus	348,26 ± 500,46
Moschus	250,25 ± 401,13
Interaction	
Anapolis*6Sem	51,57 ± 34,13
Anapolis*9Sem	14,49 ± 10,34
Anapolis*12Sem	2,51 ± 0,69
Chevignon*6Sem	249,97 ± 319,51
Chevignon *9Sem	83,75 ± 162,25
Chevignon *12Sem	3,09 ± 1,33
Arminius *6Sem	443,22 ± 599,87
Arminius *9Sem	14,38 ± 11,48
Arminius *12Sem	2,27 ± 0,87
Cubitus *6Sem	1023,93 ± 172,00
Cubitus *9Sem	18,23 ± 8,96
Cubitus *12Sem	2,62 ± 1,13
Moschus *6Sem	729,82 ± 364,32
Moschus *9Sem	18,91 ± 14,43
Moschus *12Sem	2,02 ± 1,13
Effet : p-valeur	
Temps	0,0000
Variété	0,8367
Interaction	0,9813

Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α , β et γ) pour le facteur temps, selon les tests post-hoc effectués de Dunn ($p \leq 0,05$). L'absence d'indications indique l'absence de différences entre traitements.

Tableau 20. Résultats des rendements en grains (kg/ha) corrigés à 15% d'humidité en fonction des fumures et des consortia appliqués en champ.

Traitement	Rendement
Consortium	
C0	14712,82 ± 838,80
C1	13924,93 ± 895,41
C2	14629,36 ± 924,45
Fumure	
Pailles	13771,54 ± 1205,47 b
Intermédiaire	14688,48 ± 495,66 a
Fumier	14807,10 ± 599,90 a
Interaction	
C0*Pailles	14081,43 ± 1266,20
C1*Pailles	13118,12 ± 1158,58
C2*Pailles	14115,06 ± 1380,42
C0*Intermédiaire	15108,79 ± 336,68
C1*Intermédiaire	14419,19 ± 135,01
C2*Intermédiaire	14537,47 ± 665,69
C0*Fumier	14948,25 ± 425,94
C1*Fumier	14237,48 ± 597,59
C2*Fumier	15235,56 ± 330,23
Effet : p-valeur	
Consortium	0,0696
Fumure	0,0159
Interaction	0,7738
Bloc	0,1797

Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (a et b) pour le facteur fumure, selon les tests post-hoc effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'une de ces indications indique l'absence de différences entre traitements

Tableau 21. Résultats des analyses de la qualité des grains en fonction des fumures et des consortia appliqués au champ

Traitement	Protéines (%MS)	P/HL C15 (kg/hl)	HagbergC15 (s)	Zélény (ml)	Z/P
Consortium					
C0	12,87 ± 0,29 β	82,26 ± 0,39	319,60 ± 40,48	35,67 ± 1,00 β	2,77 ± 0,07 α
C1	13,25 ± 0,38 α	81,89 ± 0,34	323,86 ± 42,34	36,37 ± 1,12 β	2,77 ± 0,06 α
C2	12,79 ± 0,35 β	82,08 ± 0,55	318,39 ± 38,14	34,22 ± 1,64 α	2,68 ± 0,10 β
Fumure					
Pailles	13,06 ± 0,38 a	82,11 ± 0,48	332,09 ± 34,92	35,11 ± 1,17 b	2,69 ± 0,08 b
Intermédiaire	12,72 ± 0,40 b	82,10 ± 0,24	312,56 ± 39,38	34,89 ± 1,76 b	2,74 ± 0,08 ab
Fumier	13,13 ± 0,28 a	82,03 ± 0,59	317,20 ± 43,59	36,56 ± 1,42 a	2,79 ± 0,09 a
Interaction					
C0*Pailles	12,89 ± 0,26	82,46 ± 0,57	302,26 ± 29,83	35,00 ± 0,00	2,72 ± 0,05
C1*Pailles	13,33 ± 0,56	81,65 ± 0,28	357,56 ± 7,59 A	36,33 ± 0,58	2,73 ± 0,07
C2*Pailles	12,96 ± 0,18	82,22 ± 0,14	336,46 ± 39,91	34,00 ± 1,00	2,62 ± 0,07
C0*Intermédiaire	12,66 ± 0,35	82,01 ± 0,32	343,31 ± 9,55	35,33 ± 1,15	2,79 ± 0,06
C1*Intermédiaire	13,00 ± 0,26	82,17 ± 0,25	272,81 ± 18,97 B	36,00 ± 1,00	2,77 ± 0,03
C2*Intermédiaire	12,50 ± 0,51	82,13 ± 0,21	321,55 ± 42,93	33,33 ± 2,08	2,67 ± 0,07
C0*Fumier	13,05 ± 0,22	82,31 ± 0,19	313,22 ± 64,95	36,67 ± 0,58	2,81 ± 0,07
C1*Fumier	13,43 ± 0,19	81,87 ± 0,33	341,22 ± 26,22 AB	37,67 ± 1,15	2,81 ± 0,08
C2*Fumier	12,91 ± 0,12	81,92 ± 1,03	297,16 ± 34,68	35,33 ± 1,53	2,74 ± 0,14
Effet : p-valeur					
Consortium	0,0023	0,2554	0,9381	0,0004	0,0039
Fumure	0,0067	0,9234	0,4634	0,0059	0,0095
Interaction	0,9338	0,4334	0,0375	0,9352	0,9274
Bloc	0,0157	1,0000	0,7269	0,1440	0,0133

Les différences significatives entre traitements sont représentées par les lettres grecques (α et β) pour le facteur consortium, par les lettres romaines en minuscules (a et b) pour le facteur fumure et par les lettres romaines majuscules (A et B), selon les tests post-hoc effectués ($p \leq 0,05$). L'absence d'indications indique l'absence de différences entre traitements.

Évaluation de l'effet biostimulant de consortia microbiens sur le développement du froment d'hiver en fonction de la variété (en serres) et du niveau de fumure organique (au champ)

Justine D'Haene

RÉSUMÉ

Dans un contexte de transition écologique et énergétique, le développement d'une agriculture durable nécessite une réduction de l'utilisation des intrants de synthèse. L'utilisation de microorganismes, explorée dans le projet MicroSoilSystem, est une des voies alternatives envisagée pour y parvenir. Celui-ci vise à la réduction des intrants de synthèse par l'application de consortia microbiens. Au cours de ce travail, l'effet biostimulant de deux consortia comprenant un champignon mycorhizien à arbuscules et une bactérie (*Rhizophagus irregularis* MUCL43194/*Bacillus velezensis* GA1 et *R. irregularis* MUCL43194/*Pseudomonas putida* BTP1, respectivement) a été évalué sur le développement du froment d'hiver pour cinq variétés, en conditions de serres, et en fonction du niveau de fumure organique en conditions de champ. L'essai au champ a nécessité le développement d'un enrobage de semences adapté.

En serres, les plantes traitées avec les consortia ont présenté des taux de mycorhization supérieurs par rapport aux plantes non traitées. Au champ, seules les plantes traitées avec le consortium *R. irregularis*/*B. velezensis* ont présenté des taux de mycorhization supérieurs aux témoins. Néanmoins, dans les deux expériences, aucun effet des consortia n'a été observé sur les biomasses aériennes et racinaires ou sur le rendement.

Les résultats obtenus au sein de ce travail soulignent la difficulté d'inoculer les microorganismes via un enrobage de semences et de garantir leur viabilité dans la formulation au cours de la période de conservation. Des recherches approfondies sur le développement de l'enrobage et les modalités de stockage sont nécessaires.

L'essai au champ ayant été mené selon un itinéraire phytotechnique classique en agriculture conventionnelle, il serait intéressant de tester les consortia en agriculture biologique. Les services apportés à la culture par ces microorganismes bénéfiques pourraient, en effet, s'avérer plus marqués dans un contexte limitant en azote disponible et en l'absence d'usage de produits phytosanitaires.