

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Biotechnologies Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement
Structure de Recherche : Laboratoire de Microbiologie et de Biologie Moléculaire
Discipline : Biologie
Spécialité : Biotechnologie Microbienne et Biologie Moléculaire

Présentée et soutenue le 30/09/23 par :
El Houcine AIT-OUAKRIM

Production d'inoculum à base de bactéries solubilisatrices de phosphate et applications biotechnologiques pour la valorisation des déchets miniers de phosphate au Maroc

JURY

Cherkaoui EL MODAFAR	PES, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech	Président
Imane WAHBY	PH, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Rapporteuse/Examinatrice
Leila MEDRAOUI	PH, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Rapporteuse/Examinatrice
Abdelilah MEDDICH	PES, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech	Rapporteur/ Examineur
Allal DOUIRA	PES, Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences de Kenitra	Examineur
Saad IBNSOUDA KORAICHI	PES, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Examineur
Abdelkarim FILALI-MALTOUF	PES, Expert, Académie Hassan II des Sciences et Techniques de Rabat	Co-Directeur de thèse
Bouchra BELKADI	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Directrice de Thèse

Année Universitaire : 2023/2024

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Biotechnologies Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement
Structure de Recherche : Laboratoire de Microbiologie et de Biologie Moléculaire
Discipline : Biologie
Spécialité : Biotechnologie Microbienne et Biologie Moléculaire

Présentée et soutenue le 30/09/23 par :
El Houcine AIT-OUAKRIM

Production d'inoculum à base de bactéries solubilisatrices de phosphate et applications biotechnologiques pour la valorisation des déchets miniers de phosphate au Maroc

JURY

Cherkaoui EL MODAFAR	PES, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech	Président
Imane WAHBY	PH, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Rapporteuse/Examinatrice
Leila MEDRAOUI	PH, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Rapporteuse/Examinatrice
Abdelilah MEDDICH	PES, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech	Rapporteur/ Examineur
Allal DOUIRA	PES, Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences de Kenitra	Examineur
Saad IBNSOUDA KORAICHI	PES, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Examineur
Abdelkarim FILALI-MALTOUF	PES, Expert, Académie Hassan II des Sciences et Techniques de Rabat	Co-Directeur de thèse
Bouchra BELKADI	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Directrice de Thèse

Année Universitaire : 2023/2024

DEDICACES

A mes chers parents

Mon défunt cher père Lehcen et ma chère mère Fatima

Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur ma reconnaissance et mon profond amour. Je mets entre vos mains, le fruit de longues années d'études. Chaque ligne de cette thèse, chaque mot et chaque lettre vous exprime ma profonde gratitude pour votre grand soutien, dévouements exemplaires et les énormes sacrifices que vous m'avez consentis tout au long de ma vie.

A mes sœurs Zahra, Fatima et Khadija,

A mes frères Mohammed, Ambarek, Abdellah et Mustapha,

Merci de m'avoir donné tant d'affection et de m'avoir soutenue tout le long de mes études. Qu'il soit pour vous le témoignage de ma grande reconnaissance pour vos conseils, amour, encouragements, prières, aide et soutien permanent.

A ma grand-mère Azzou

Je n'oublierai jamais vos prières et vos bénédictions qui m'ont été d'un grand secours pour mener à bien ce long parcours. Que dieu vous donne une longue et joyeuse vie. Respect, gratitude, reconnaissance sont les moindres sentiments que je peux vous témoigner

A mes chers amis et collègues de laboratoire de microbiologie et biologie moléculaire

Merci pour votre soutien et votre compréhension face à mes sautes d'humeur. Vous avez été une bonne compagnie tout au long de la préparation de ma thèse.

A mon cher Professeur FILALI-MALTOUF Abdelkarim et ma chère professeur Mme Guetari Mounira,

Je souhaite exprimer ma gratitude sincère pour vos encouragements, votre confiance et votre soutien constant. Veuillez recevoir ici l'expression de mon profond respect pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. J'espère être à la hauteur de vos attentes.

A Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Que Dieu vous accorde santé et prospérité !

E.H. AIT OUAKRIM

EH

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire de la Faculté des Sciences de Rabat. Il a été supervisé pendant deux années académiques, de 2018-2019 à 2019-2020, par le Professeur **Abdelkarim Filali-Maltouf**, et pendant trois ans de 2020-2021 à 2022-2023, par le Professeur **Bouchra Belkadi**.

Ce travail a été réalisé dans le cadre du projet de recherche autour des phosphates 'APPHOS – financé par l'OCP (Fondation OCP, R&D OCP, Université Mohammed VI Polytechnique, Centre National de Recherche Scientifique et Technique CNRST, Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de la Formation des Cadres MESRSFC), intitulé 'Procédés biotechnologiques pour la valorisation des boues et des déchets miniers de phosphate: Formulation d'un Phospho-compost bio-fertilisant pour application directe en agriculture productive et respectueuse de l'environnement » (Réf. BIOMOD- 01/2017).

Au terme de ce travail, il m'est particulièrement agréable de remercier et d'exprimer ma reconnaissance envers un grand nombre de personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à sa réalisation et m'ont permis de progresser dans cette phase délicate.

Je remercie profondément Monsieur **Abdelkarim FILALI-MALTOUF**, Professeur de l'enseignement supérieur retraité à la Faculté des Sciences Rabat, expert à l'académie Hassan II, de m'avoir accueilli au sein de son équipe, lorsqu'il était encore directeur du LMBM. Je vous remercie pour vos conseils prodigués, votre aide précieuse et votre disponibilité. Mes vives reconnaissances pour m'avoir fait bénéficier de votre expérience et de votre rigueur scientifique et professionnelle. Merci pour les nombreuses discussions scientifiques constructives autour de mon sujet de thèse qui m'ont été précieuses pour l'avancement de mon travail. Je vous remercie pour tous les efforts que vous avez fournis pour me permettre de réaliser ce travail dans les meilleures conditions. Veuillez cher professeur bien trouver et accepter mes sincères remerciements pour votre temps, votre bienveillance, gentillesse et surtout votre engagement quasi paternel à mes côtés tout au long de ces années.

J'aimerais également exprimer mes remerciements les plus profonds à ma directrice de thèse Mme **Bouchra BELKADI** professeur à la Faculté des Sciences de Rabat pour sa bienveillance, son soutien et son aide à l'élaboration et le suivi de ce projet malgré ses nombreuses occupations. Je vous remercie pour vos encouragements, vos conseils et vos qualités pédagogiques et scientifiques. Ce fut et ça reste un réel plaisir de travailler à vos côtés.

Mes remerciements les plus chaleureux à Monsieur **Abdelghani CHAKHCHAR**, professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech, pour son précieux apport et son implication dans la correction et l'amélioration de la qualité de mes publications scientifiques, malgré ses nombreuses

occupations. Je lui suis infiniment reconnaissant pour ses remarques avisées et professionnelles qui ont permis d'améliorer ce travail, ainsi que pour son soutien constant en vue de la réussite de cette thèse.

Je tiens tous d'abord à exprimer mes sincères sentiments de gratitude et de remerciement au coordinateur de projet **APPHOS** Monsieur **El Modafar Cherkaoui** professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech, qui m'a donné la chance de travailler dans le cadre de ce projet et pour sa confiance et son aide. Je le remercie également pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Je remercie également Mme **Imane WAHBY**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, d'avoir acceptée d'être le rapporteur de mon travail de thèse. Veuillez chère professeur bien trouver et accepter mes sincères remerciements pour votre temps et votre bienveillance.

Je remercie profondément ma chère professeur Mme **Leila MEDRAOUI**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, d'avoir acceptée d'être le rapporteur de mon travail en dépit de ses tâches multiples. Je vous remercie pour votre soutien et vos encouragements tout au long de ma thèse. Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements les plus sincères et ma profonde gratitude.

J'exprime également mes remerciements à Monsieur **Abdelilah MEDDICH**, professeur à la Faculté des Sciences et techniques de Marrakech, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être rapporteur de cette thèse. Je le remercie pour le temps qu'il a consacré à évaluer ce travail et je tiens à lui exprimer toute ma gratitude.

Mes remerciements les plus chaleureux à Monsieur **Allal DOUIRA**, Professeur à la Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail de Kénitra, qui m'a fait l'insigne honneur d'être examinateur de ce travail. Je tiens également à exprimer ma profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'il a porté à cette thèse, le temps qu'il a consacré à sa lecture, ainsi que pour leurs suggestions et remarques judicieuses.

Mes plus vifs remerciements s'adressent également à Monsieur **Saad IBNSOUDA KORAICHI** de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner et de juger ce travail. Je tiens à vous remercier ma gratitude pour l'expertise et les conseils que vous m'avez apportés.

RESUME

Le Maroc possède la plus grande réserve de phosphate, constituant environ 75 % de la réserve mondiale estimée. Cependant, le processus de traitement de la roche phosphatée génère d'importants sous-produits, notamment les boues de lavage phosphatées, qui renferment des quantités substantielles de phosphore sous une forme insoluble. Ces boues phosphatées sont stockées dans de grands bassins couvrant de grandes surfaces et leur accumulation pose un problème de capacité de stockage. Par conséquent, le recyclage des boues phosphatées est obligatoire afin de consommer les quantités produites chaque année. Les boues phosphatées peuvent être réutilisées comme source de phosphore pour les plantes. Cependant, Les plantes n'utilisent que les ions orthophosphates primaires et secondaires chargés négativement (H_2PO_4^- et HPO_4^{2-}) comme nutriments. Par contre, la plupart du phosphore dans les boues existe sous diverses formes insolubles. Ce qui nécessite une mobilisation des formes insolubles sous une forme pouvant être assimilée par les plantes. Cette mobilisation peut être assurée par différents microorganismes notamment les bactéries solubilisatrices de phosphate (BSP). Notre étude s'insère dans ce contexte et se propose d'étudier l'apport des souches bactériennes capables de solubiliser les phosphates comme solution innovante pour l'enrichissement du phospho-compost et l'amélioration de ses performances. Dans la présente étude, nous avons constitué une collection de 87 isolats bactériens, dont 56 proviennent de la rhizosphère de l'olivier et 31 ont été isolés à partir de boues phosphatées. L'analyse génétique montre une diversité de genres et d'espèces avec la présence de trois phylums : *Firmicutes*, *Proteobacteria* et *Actinobacteria* avec une dominance du genre *Bacillus*. Ces isolats bactériens ont montré diverses activités de promotion de la croissance des plantes, ainsi que des activités de contrôle des stress biotiques et abiotiques. De plus, toutes les souches sélectionnées peuvent solubiliser la roche phosphatée, avec des concentrations de phosphate soluble allant jusqu'à 227 $\mu\text{g/mL}$. Au total, six souches bactériennes, dont trois provenant de la rhizosphère de l'olivier (*Pseudomonas moraviensis* HFBPR01, *Bacillus aryabhattai* HFBPR04 et *Bacillus cereus* HFBPR40) et trois de la boue phosphatée (*Brevibacterium frigoritolerans* HFBP01, *Bacillus vallismortis* HFBP15 et *Streptomyces venezuelae* HFBP26) ont été choisies pour des tests d'inoculation. Ces souches ont montré une solubilisation efficace de la boue phosphatée et une activité de biocontrôle contre divers pathogènes fongiques. L'inoculation simple par la souche HFBP26, le consortium C1 (HFBPR01, HFBPR04 et HFBPR40) et le consortium C2 (HFBP01, HFBP15 et HFBP26) a prouvé une augmentation significative de la biomasse sèche des pousses de haricot. La combinaison de HFBP01 et HFBP15 a montré une augmentation importante de la biomasse sèche racinaire. L'application des boues de lavage des phosphates dans le sol améliore sa composition minérale, en particulier les teneurs en phosphores assimilable et totale. L'utilisation du consortium bactérien C3 (C1+C2) a considérablement amélioré la biodisponibilité du phosphore et du potassium, entraînant une meilleure croissance des plantes dans un sol enrichi de 5 % de boue phosphatée.

Mots-clés : Boue de phosphate, Valorisation Bactéries solubilisatrices de phosphate, Promotion de la croissance des plantes, séquençage d'ARNr 16S, inoculation.

ABSTRACT

Morocco holds the largest phosphate reserve, constituting approximately 75% of the estimated world reserve. However, the process of processing phosphate rock generates significant by-products, including phosphate wash sludges, which contain substantial amounts of insoluble phosphorus. These phosphate sludges are stored in large basins covering extensive areas, and their accumulation poses a storage capacity problem. Therefore, the recycling of phosphate sludges is mandatory to consume the quantities produced annually. Phosphate sludges can be reused as a source of phosphorus for plants. However, plants only use negatively charged primary and secondary orthophosphate ions (H_2PO_4^- and HPO_4^{2-}) as nutrients. In contrast, most of the phosphorus in sludges exists in various insoluble forms, which requires mobilizing the insoluble forms into a form that can be assimilated by plants. This mobilization can be ensured by various microorganisms, especially phosphate-solubilizing bacteria (PSB). Our study fits into this context and aims to investigate the contribution of bacterial strains capable of solubilizing phosphates as an innovative solution for enhancing phosphate compost and improving its performance. In this study, we assembled a collection of 87 bacterial isolates, with 56 originating from the olive tree rhizosphere and 31 isolated from phosphate sludges. Genetic analysis shows a diversity of genera and species with the presence of three phyla: *Firmicutes*, *Proteobacteria*, and *Actinobacteria*, with a dominance of the genus *Bacillus*. These bacterial isolates exhibited various activities promoting plant growth as well as activities related to biotic and abiotic stress control. Furthermore, all selected strains were capable of solubilizing phosphate rock, with soluble phosphate concentrations reaching up to 227 $\mu\text{g/mL}$. In total, six bacterial strains, three from the olive tree rhizosphere (*Pseudomonas moraviensis* HFBPR01, *Bacillus aryabhatai* HFBPR04, and *Bacillus cereus* HFBPR40) and three from phosphate sludges (*Brevibacterium frigoritolerans* HFBP01, *Bacillus vallismortis* HFBP15, and *Streptomyces venezuelae* HFBP26), were chosen for inoculation tests. These strains demonstrated effective solubilization of phosphate sludges and exhibited biocontrol activity against various fungal pathogens. Single inoculation with strain HFBP26, consortium C1 (HFBPR01, HFBPR04, and HFBPR40), and consortium C2 (HFBP01, HFBP15, and HFBP26) proved to significantly increase the dry biomass of bean shoots. The application of phosphate wash sludges to the soil improved its mineral composition, particularly in terms of assimilable and total phosphorus content. The use of bacterial consortium C3 (C1+C2) significantly enhanced the availability of phosphorus and potassium, leading to improved plant growth in soil enriched with 5% phosphate sludges.

Keywords: Phosphate sludge, Valorization, Phosphate-solubilizing bacteria, Plant growth promotion, 16S rRNA sequencing, Inoculation.

LISTE DES ABREVIATIONS

ACC	: Aminocyclopropane-1-carboxylate
ACS	: Aminocyclopropane-1- carboxylate synthase
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AIA	: Acide indole-3-acétique
Al	: Aluminium
ANOVA	: Analyse de la variance
ARS /RSA	: Résistance systémique acquise
AS/SA	: Acide salicylique
BLP	: Boues de lavage des phosphates
BSP	: Bactéries solubilisatrices de phosphate
C1, C2 et C3	: Consortium 1, 2 et 3
Ca	: Calcium
Ca ²⁺	: Ion de calcium
CFU	: Unité formant colonie
CK	: Cytokinines
Cu	: Cuivre
Fe ³⁺	: Ion trivalent du fer
GA	: Gibbérellines
H ₂ SO ₄	: Acide sulfurique
HCL	: Acide chlorhydrique
HCN	: Cyanure d'hydrogène
ISR	: résistance systémique Induite
JA	: Acide jasmonique
K	: Potassium
KCL	: Chlorure de potassium
LOX	: Lipoxygénase
mL	: Millilitre
mM	: Millimolaire
Mn	: Manganèse
N	: Azote
Na ²⁺	: Ion sodium
NaCl	: Chlorure de sodium
NSAP	: Phosphatases acides non spécifiques
OCP	: Office chérifien des phosphates
P	: Phosphore
PGPR	: Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes
PSB	: Phosphate Splibilizing bacteria
Pi	: Phosphate inorganique
Po	: Phosphate organique
ppm	: Parties par million
PS	: Boue de phosphate
ROS	: Espèces réactives de l'oxygène
RP	: Roche phosphatée
S	: Sol pauvre
TCP	: Phosphate tricalcique
µg	: Microgramme
µl	: Microlitre
°C	: Degré celsius

LISTE DES TABLEAUX

Article 1 :

Tableau 1: In vitro characterization of salt, temperature, and pH tolerance of the 24 isolated PSBs strains from the Moroccan phosphate sludge	52
Tableau 2: In vitro characterization of heavy metal (Fe, Pb, Zn, and Cu) resistance of the 24 isolated PSBs strains from the Moroccan phosphate sludge.....	53
Tableau 3: In vitro biochemical characterization of plant growth-promoting activities of the 24 isolated PSBs strains from the Moroccan phosphate sludge.....	54
Tableau 4: In vitro quantitative biochemical characterization (phosphate sludge solubilization and IAA and siderophore production) of the best three selected PSBs (HFBP01, HFBP015 and HFBP26)	54
Tableau 5: Direct and indirect antifungal effect in vitro of the best three selected PSBs (HFBP01, HFBP015 and HFBP26) on the radial growth of <i>F. oxysporum</i> and <i>B. cinerea</i>	20
Tableau 6: Production index of IAA and siderophores and TCP solubilization index of of the 24 isolated PSBs strains from the Moroccan phosphate sludge	58

Article 2:

Tableau 1: Tolerance to temperature, salinity and pH variation in the 24 PSB strains isolated from the rhizosphere of <i>Olea europaea</i> grown in phosphate sludge.	72
Tableau 2: In vitro solubilization capacity of different P sources: tricalcium phosphate (TCP), rock phosphate (RP), and phosphate sludge (PS) by three selected PSB strains in PVK liquid medium.	72
Tableau 3: P solubilization capacity in PVK broth and pH change for the 24 PSB strains isolated from the rhizosphere of <i>Olea europaea</i> grown in phosphate sludge..	72
Tableau 4: In vitro Quantitative and qualitative estimation of indole acetic acid (IAA) in IAA-producing PSB strains isolated from the rhizosphere of <i>Olea europaea</i> grown in phosphate sludge.....	72
Tableau 5: In vitro production of hydrocyanic acid (HCN), cellulase and chitinase in solid medium by the 24 PSB strains isolated from the rhizosphere of <i>Olea europaea</i> grown in phosphate sludge.....	73
Tableau 6: Antifungal effects of the volatile and diffusible extracellular metabolites of the three selected strains on the radial growth of <i>Fusarium oxysporum</i> and <i>Verticillium dahliae</i>	58

Article 3:

Tableau 1: Experimental Design.....	86
Tableau 2: Physical and chemical characteristics of different substrates used.....	88
Tableau 3: Dynamics of assimilable phosphorus in the soil under different treatments.	89
Tableau 4: Effect of soil enrichment with phosphate sludge and PSB consortia on tomato shoot length during 10 weeks of the growing period.	91
Tableau 5: Effect of soil enrichment with phosphate sludge and PSB consortia on tomato flowering percentage.....	92
Tableau 6: Content of phosphorus (P) and potassium (K) in both tomato leaves and roots under different combinations of treatments (phosphate sludge (PS) and PSB consortia (C)).....	94

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Répartition spatiale des gisements de phosphate au Maroc.....	5
Figure 2: stockage des déchets miniers de phosphate Khouribga Maroc.....	7
Figure 3: Effet de phospho-compost combiné avec un inoculum endomycorhizien sur la croissance et le développement des plantes (Maïs, Tomate et Haricot).....	14
Figure 4: Mécanismes de promotion de la croissance des plantes par les bactéries solubilisatrices de phosphate	17
Figure 5: mécanismes de solubilisation du phosphate organique et inorganique par les bactéries solubilisatrices de phosphate	20
Figure 6: Différents effets des phytohormones produites par les PGPR pour induire des changements dans la croissance des plantes	26
Figure 7: L'ACC désaminase produit par PGPR diminue le niveau d'éthylène dans les plantes en transformant l'ACC en ammoniacque et en α -kétobutyrate. Un certain nombre de PGPR peuvent également fournir de l'IAA aux plantes pour favoriser davantage leur croissance	30
Figure 8: L'amélioration de la croissance des plantes en présence des PGPR sous stress par les métaux lourds	39
Figure 9: Mécanismes de résistance aux métaux développés par les bactéries (A) ; Principales familles de transporteurs impliqués dans la résistance aux métaux lourds (B) ; M représente le cation métallique	40

PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

Articles soumis et publiés

- **Ait-Ouakrim, E.H.**, Chakhchar, A., El Modafar, C., Douira, A., Amir, S., Ibensouda-Koraichi, S., Belkadi, B., Filali-Maltouf, A., 2023a. *Valorization of Moroccan phosphate sludge through isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and assessment of their growth promotion effect on phaseolus vulgaris*. Waste biomass valorization. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02054-2>
- **Ait-Ouakrim, E.H.**, Chakhchar, A., El Modafar, C., Douira, A., Amir, S., Ibensouda-Koraichi, S., Belkadi, B., Filali-Maltouf, A., 2023b. *Assessment of potent phosphate-solubilizing bacteria isolated from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge and their effect on common bean growth*. Geomicrobiol. J. 1–13. <https://doi.org/10.1080/01490451.2023.2218839>
- Lahsini, A.I., Sallami, A., **Ait-Ouakrim, E.H.**, El khedri, H., Obtel, M., Douira, A., El Modafar, C., Benkerroum, N., Talbi, C., Chakhchar, A., Filali-Maltouf, A., 2022. *Isolation and molecular identification of an indigenous abiotic stress-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria from the rhizosphere of the olive tree in southern Morocco*. Rhizosphere 23, 100554. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100554>
- **Ait-Ouakrim, E.H.**, Oulad Ziane, S., Chakhchar, A., ETTAKI, I., El Modafar, C., Douira, A., Amir, S., Ibensouda-Koraichi, S., Belkadi, B., Filali-Maltouf, A., 2023. *Enhancing Soil Fertility, Phosphorus Uptake and Growth Promotion of Tomato Plant, Using Moroccan Phosphate Sludge combined with phosphate solubilizing bacteria consortia* (Soumis).

Communications scientifiques:

- **Ait-Ouakrim, E.H.**, Filali-Maltouf, A. Valorisation des déchets de phosphates et applications biotechnologiques en agriculture. Première édition des doctoriales du centre BIOBIO à l'université Mohammed V, Faculté des Sciences, du 25 au 26 Décembre 2018, Rabat, Maroc. (**Affichée**)
- **Ait-Ouakrim, E.H.**, Mekkaoui, S., Ibnsouda Koraichi S., Amir, S., Moukhli, A., Elmodafar C., Filali-Maltouf, A. Caractérisation physiologique et moléculaire des bactéries isolées à partir des boues de lavage de phosphate. Cinquième congrès international “Biotechnologies Microbiennes et opportunités de développement socio-économique” (BIOMIODS) à l'université Al Akhawayn, du 16 au 18 Octobre 2019, Ifrane, Maroc. (**Orale**)
- **Ait-Ouakrim, E.H.**, Filali-Maltouf, A. Évaluation de l'effet des bactéries solubilisatrices de phosphate isolées de la rhizosphère de l'olivier cultivé sur des boues de phosphate sur la croissance de haricot. Première édition des doctoriales du Centre des études doctorales Sciences et Technologies à l'université Mohammed V, Faculté des Sciences, du 19 au 22 Juillet 2022, Rabat, Maroc. (**Orale**)
- **Ait-Ouakrim, E.H.**, Filali-Maltouf, A. Valorization of Moroccan Phosphate Sludge Through Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria and Assessment of Their Growth Promotion Effect on *Phaseolus vulgaris*. Deuxième édition des doctoriales du Centre des études doctorales Sciences et Technologies à l'université Mohammed V, Faculté des Sciences, du 15 au 20 Mai 2023, Rabat, Maroc. (**Orale**)
- **Ait-Ouakrim, E.H.**, Oulad-Ziane, S., Ettaki, I., Elmodafar C., Belkadi, B., Filali-Maltouf. A. Role of PSB in phosphorus uptake from phosphate sludge, promotion of growth and stimulation of natural defenses on tomato plants. Premier Congrès international des oasis et du palmier dattier (CIO), Ouarzazate (Morocco), 29-30 Mai 2023.

SOMMAIRE

DEDICACES	I
AVANT-PROPOS	II
RESUME	IV
ABSTRACT.....	V
LISTE DES ABREVIATIONS.....	VI
LISTE DES TABLEAUX.....	VII
LISTE DES FIGURES.....	VIII
PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES.....	IX
SOMMAIRE	XI
INTRODUCTION GENERALE.....	1
PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
<i>Chapitre I : Industrie minière de phosphate et impacts sur l'environnement</i>	<i>4</i>
I. Types et cadre général de minerais de phosphate au Maroc	4
II. Déchets miniers de phosphate et impacts sur l'environnement	6
III. Gestion et valorisation des déchets miniers	7
III.1. Gestion et valorisation <i>in situ</i>	7
III.2. Gestion et valorisation <i>ex situ</i>	8
IV. Conclusion	9
<i>Chapitre II : Applications biotechnologiques pour la valorisation des boues de lavage de phosphates</i>	<i>9</i>
I. Phospho-compost : production typologie et applications	10
II. Amélioration des performances d'un phospho-compost par les microorganismes.....	11
II.1. Champignons mycorhiziens	12
II.2. Bactéries promotrices de la croissance des plantes	14
<i>Chapitre III : Processus et mécanismes mis en œuvre par les bactéries biofertilisantes.....</i>	<i>16</i>
I. Fixation d'azote	18
II. Solubilisation du phosphate	19
II.1. Solubilisation du phosphate organique	20
II.2. Solubilisation du phosphate inorganique	22
III. Solubilisation du potassium	24
IV. Production d'hormones de croissance	25
IV.1. Production de l'Acide Indole Acétique (AIA)	26
IV.2. Cytokinines	27
IV.3. Gibbérellines.....	28
V. Production d'aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase	29
VI. Biocontrôle	31

VI.1. Production des sidérophores	31
VI.2. Production du cyanure d'hydrogène (HCN)	32
VI.3. Production des enzymes lytiques	32
VI.4. Production d'antibiotiques	33
VII. Induction de la résistance systémique (ISR) chez les plantes.	34
VIII. Tolérance aux stress environnementaux	35
VII.2. Tolérance à la salinité	35
VIII.2. Résistance à la température.....	37
VIII.3. Résistance aux métaux lourds.....	38
PARTIE II : METHODOLOGIE ET RESULTATS.....	41
<i>CHAPITRE I : Bactéries solubilisatrices du phosphate et promotion de la croissance de l'haricot.....</i>	<i>41</i>
I. Introduction	41
II. Article I: Valorization of Moroccan phosphate sludge through isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and assessment of their growth promotion effect on Phaseolus vulgaris.....	43
II.1. Présentation de l'article 1	43
II.2. Synthèse du 1er article	62
III. Article II: Assessment of potent phosphate-solubilizing bacteria isolated from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge and their effect on common bean growth	64
III.1. Présentation du 2ème article	64
III.2. Synthèse du 2ème article.....	81
<i>CHAPITRE II : Stimulation de la croissance de la tomate par les bactéries solubilisatrices du phosphate</i>	<i>84</i>
I. Introduction	84
II. Présentation de l'article 3	84
III. Synthèse.....	100
PARTIE III : DISSCUSSION GENERALE, CONCLUSION ET PERSPERCTIVES	103
I. DISSCUSSION GENERALE.....	103
II. CONCLUSION GENERALE ET PERSPERCTIVES	111
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	114

INTRODUCTION GENERALE

L'industrie minière du phosphate joue un rôle important dans le développement socioéconomique des pays dotés de ressources minières exploitables (Limpitlaw et Hoadley, 2006; Pimentel et al., 2016) dont le Maroc est l'un des principaux producteurs mondiaux de phosphate. Cependant, l'extraction du phosphate génère des quantités énormes de déchets miniers tels que les roches résiduelles, les résidus de concentrateur et les boues de laveries de phosphates qui restent accumulées et non valorisées (Daafi et al., 2014; Hakkou et al., 2016). D'un point de vue économique et environnemental, l'un des grands problèmes actuels est le traitement des volumes importants de déchets produits continuellement par les activités industrielles (Ouakibi et al., 2013). Pour gérer les déchets de l'industrie minière du phosphate, le Maroc a mis en place plusieurs mesures réglementaires et des normes environnementales. Les sociétés minières sont tenues de mettre en œuvre des pratiques de gestion des déchets conformes aux normes internationales, notamment en termes de stockage et de traitement des résidus miniers.

L'exploitation et la valorisation des boues de laveries des phosphates pourront jouer un rôle important dans l'économie du pays. L'une des initiatives visant à valoriser ces boues est leur utilisation dans le domaine agricole sous forme de phospho-compost afin de contribuer à résoudre les problèmes de carences en phosphore des sols et d'améliorer la production agricole. Le compostage en présence de résidus organiques, facilement biodégradables, peut entraîner l'existence de nombreux types de bactéries et de champignons capables de produire un grand nombre d'acides organiques et de substances humiques butyrique qui ont un effet physio-agronomique direct sur les plantes (Hameeda et al., 2008; Taktek et al., 2015).

Le phospho-compost pourra être amélioré en utilisant les microorganismes solubilisant le phosphate. Les bactéries et les champignons mycorrhiziens à arbuscules solubilisant le phosphate, fréquents dans les sols, probablement au niveau des boues des phosphates, et dans les rhizosphères des espèces végétales, peuvent être utilisés dans la correction de cette carence en phosphore (Singh et Kapoor, 1999). En effet, ces microorganismes, meilleurs candidats écologiques pour la nutrition des plantes par le phosphore (Sharma et al., 2007), possèdent des aptitudes de solubilisation du phosphate et la capacité de convertir les composés phosphatés insolubles présent dans le sol à des formes solubles utilisables par les plantes (Pradhan et Sukla, 2006; Timofeeva et al., 2022).

Les bactéries du sol jouent un rôle crucial dans les écosystèmes terrestres et la survie des êtres vivants en raison de leur présence massive, de leur capacité de multiplication rapide et de leur

contribution essentielle aux réactions biochimiques. Elles représentent une part importante de la biodiversité du sol et sont impliquées dans de nombreux processus clés. Certaines bactéries présentes dans la rhizosphère, appelées PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ou rhizobactéries favorisant la croissance des plantes, constituent une composante essentielle du système sol-plante. Elles interagissent activement et efficacement dans la rhizosphère, régulent le développement et le rendement des plantes grâce à divers processus.

Parmi les PGPR on trouve des bactéries dites solubilisatrices de phosphate (BSP), ces bactéries jouent un rôle essentiel dans la solubilisation de phosphate et la fertilité du sol et par conséquent favorisent la croissance des plantes via différents mécanismes (Timofeeva et al., 2022).

En raison de toutes ces considérations, le groupe OCP s'est lancé un projet de recherche intitulé « Procédés biotechnologiques pour la valorisation des boues et des déchets miniers de phosphate : Formulation d'un Phospho-compost bio-fertilisant pour application directe en agriculture productive et respectueuse de l'environnement » (Réf. BIOMOD- 01/2017). Ce projet ayant pour objectif global la valorisation des déchets provenant de l'exploitation des mines de phosphate (déchets miniers et boues de laveries) par le développement d'un phospho-compost biofertilisant via l'utilisation de procédés biotechnologiques impliquant des microorganismes tels que les champignons mycorhiziens et les bactéries rhizosphériques.

Le présent projet s'appuie sur un consortium constitué de 6 équipes nationales présentant des compétences multidisciplinaires complémentaires (compostage, microbiologie, mycologie, agronomie, biochimie, biotechnologie) mises en synergie pour répondre à une problématique sociétale. Cette initiative est une première pour le secteur minier Marocain et pourrait bien servir de référence en matière de gestion des rejets miniers pour l'ensemble de l'industrie minière du pays. Cette approche biotechnologique permettra aux exploitants agricoles, aux industriels et aux collectivités de répondre à l'évolution des politiques environnementales, en préservant la ressource en eau tout en recyclant les déchets organiques et phosphatés.

L'objectif de ce travail de thèse est de développer un inoculum bactérien, à base de bactéries solubilisatrices de phosphate isolées à partir des boues de lavage de phosphate, pour améliorer les performances et la qualité d'un phospho-compost.

Dans le cadre de cet objectif global, des objectifs spécifiques ont été fixés :

- (i) Isolement, et caractérisation biochimique et moléculaire des bactéries solubilisatrices des phosphates naturels, ainsi que l'étude de leur tolérance aux différents stress abiotiques ;
- (ii) constitution d'une collection de bactéries (rhizosphériques et non rhizosphériques) solubilisatrices de phosphate à partir des boues de lavage de phosphate ;

(iii) étude des activités biologiques bénéfiques pour les plantes (solubilisation de phosphate, production de phytohormones, production des siderophores et autres...).

(iv) sélection de souches PGPR performantes en vue d'inoculation de plantes ;

(v) évaluation de l'effet de l'inoculation sur la croissance de plantes modèles (haricot et tomate) par des souches sélectionnées.

Ce travail de thèse est subdivisé en trois grandes parties :

- ✓ La première partie est consacrée à une étude bibliographique et est composée de trois chapitres. Le premier chapitre présente l'industrie minière de phosphate et ses impacts sur l'environnement. Le deuxième chapitre traite des applications biotechnologiques pour la valorisation des boues de lavage de phosphates. Enfin, la troisième partie est dédiée aux processus et mécanismes mis en œuvre par les bactéries biofertilisantes.
- ✓ La deuxième partie de ce document présente les approches méthodologiques et les résultats obtenus. Elle est subdivisée en deux chapitres principaux. Le premier chapitre s'intéresse à l'isolement et à la caractérisation des bactéries solubilisatrices de phosphates à partir des boues phosphatées et de la rhizosphère de l'olivier planté sur les boues de phosphate. Il évalue également leur effet de promotion de la croissance sur le haricot blanc (*P. vulgaris*). Les résultats de la recherche présentés dans cette partie ont fait l'objet de deux publications scientifiques distinctes. La première publication s'intitule "Valorization of Moroccan phosphate sludge through isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria and assessment of their growth promotion effect on *Phaseolus vulgaris*". La deuxième publication, est intitulée "Assessment of potent phosphate-solubilizing bacteria isolated from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge and their effect on common bean growth". Le deuxième chapitre se concentre sur la valorisation des boues de lavage en tant que biofertilisant en les associant à des consortiums de bactéries solubilisatrices du phosphate capables de solubiliser leurs phosphates résiduels pour stimuler la croissance de la tomate. Ce chapitre a fait l'objet de la troisième publication intitulée "Valorization of phosphate sludge and its bacterial biomass as a potential bioformulation for improving tomato growth".

- ✓ La troisième partie est consacrée à la conclusion générale et aux perspectives.

Au terme de cette étude, nous proposons une collection de bactéries bénéfiques ayant des capacités de solubilisation de phosphate et une tolérance aux différents stress environnementaux, susceptibles d'améliorer les performances d'un phospho-compost en vue de valorisation des déchets miniers de phosphate au Maroc.

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Industrie minière de phosphate et impacts sur l'environnement

L'industrie minière contribue de façon très importante au développement socioéconomique de chaque pays doté de ressources minières exploitables (Limpitlaw et Hoadley, 2006; Pimentel et al., 2016). Elle permet d'exploiter les ressources minérales à travers une série d'étapes de prospection d'exploration, de construction de l'usine d'exploitation, et de production de l'élément de valeur commerciale. Cette exploitation génère des quantités importantes des rejets ayant un impact potentiellement négatif sur l'environnement (Agboola et al., 2020; Jawadand and Randive, 2021). L'entreprise minière doit donc mettre en œuvre des plans de restauration et de réaménagement du site minier afin de réduire son empreinte écologique (McCullough et al., 2018; Young et al., 2022). L'exploitation des gisements de phosphates n'est pas sans effet sur l'environnement et la santé des populations. En effet, les différentes étapes d'extraction, de préparation et de valorisation des phosphates, génèrent divers problèmes (liquides, gazeux, solides et sonores) ayant des impacts directs sur les milieux naturels et la santé des populations. Le gouvernement des pays développés incite les entreprises minières selon des réglementations sévères à accorder une attention exceptionnelle à la gestion des rejets miniers qui peuvent avoir un impact négatif sur l'environnement et l'être humain (Young et al., 2022).

I. Types et cadre général de minerais de phosphate au Maroc

Le Maroc possède la plus grande réserve de phosphate, soit environ 75 % de la réserve mondiale estimée (Cooper et al., 2011; Walan et al., 2014). Il représente ainsi les deux tiers de la réserve mondiale du phosphate, environ 50 Milliards de tonnes (El Bamiki et al., 2021). L'industrie minière de phosphate a contribué depuis longtemps au développement économique du Maroc. Ce secteur est l'une des principales sources de revenus des exportations marocaines, représentant plus de 30 % des exportations totales. En 2021, il a employé plus de 42 000 personnes (Centre marocain de conjoncture, 2023). Bien que le Maroc exploite une grande variété des produits (fer, plomb, zinc, cuivre, argent, or, nickel, baryum, manganèse et fluor), c'est l'exploitation des phosphates qui prédomine le secteur minier au Maroc (90%) avec une production de 38 millions de tonnes de phosphate brute en 2021 sur une production minière totale évaluée à 41 millions de tonnes, et contribue à environ 21,10% des exportations

nationales pour une contre-valeur de 55.40 milliards de DH (Ministère de la Transition Énergétique et du Développement Durable, 2023).

Les ressources en phosphate au Maroc se répartissent en quatre principaux bassins phosphatés (Figure 1). Le premier bassin d'Ouled Abdoun qui se situe à 120 km au Sud-Est de Casablanca, limité par la plaine de kasbet tadla à l'Est, le massif des rhamna à l'Ouest, khouribga au Nord et oued Oum-Er-Rebia au Sud. Le deuxième, est le bassin Gantour, qui comprend deux centres miniers, l'un à l'Yousseoufia et l'autre à Benguerir ; il est situé entre les massifs des Rhamna au Nord et les jbilel au Sud, à l'Ouest il est limité par les collines de Mouissat et il se prolonge à l'Est jusqu'aux rives de Tessaout. Le troisième bassin est celui de Meskala, qui se situe à environ 150 Km au Sud de l'Yousseoufia ; il est limité par la plaine alluviale de Mejjate, à l'Ouest par la plaine d'Essaouira et au sud par le Haut Atlas occidental. Le dernier bassin est le bassin d'Oued Eddahab, qui se situe à 100 km au Sud-Est de la ville de Laâyoune dans la région du BouKraa et compris entre la dorsale Rguibat et l'Océan Atlantique (Choubert and Faure-Muret, 1960) .

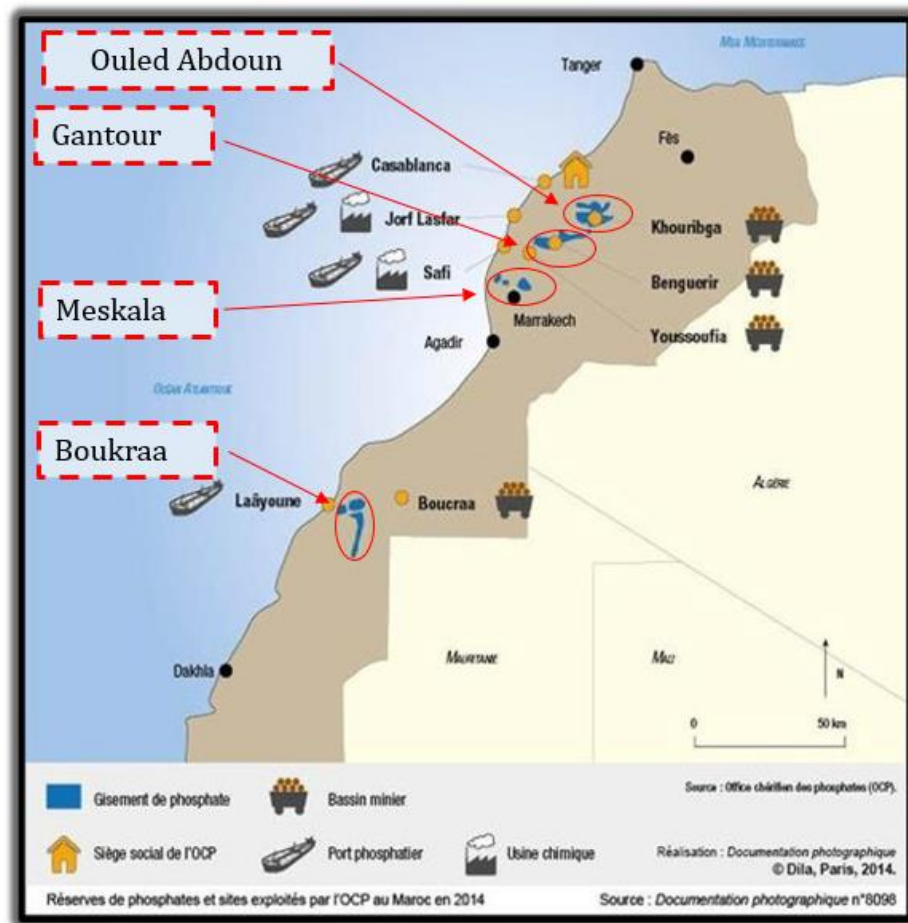


Figure 1: Répartition spatiale des gisements de phosphate au Maroc (Choubert and Faure-Muret, 1960; Cooper et al., 2011).

II. Déchets miniers de phosphate et impacts sur l'environnement

L'industrie minière partout dans le monde est souvent critiquée pour la génération de quantités importantes des rejets ayant un impact potentiellement négatif sur l'environnement (Hamdane et al., 2023). L'exploitation des mines de phosphates génère des milliers de tonnes de terres phosphatées ainsi que de boues de laveries de phosphates représentant la partie sans valeur commerciale de la roche extraite et qui restent accumulées et non valorisées, le phosphate qu'elles contiennent, complexé à d'autres éléments, ne peut être assimilé directement par les plantes. En approchant de la ville centrale de Khouribga, le visiteur voit d'énormes montagnes de résidus de phosphate racontant une histoire d'un siècle d'exploitation de phosphate qui a permis à cette petite ville de contribuer d'une façon très importante à l'économie marocaine. Ces rejets miniers sont entreposés dans des empilements de stériles d'exploitation et dans des parcs à résidus et peuvent être origine de la dégradation de l'environnement.

Dans le but d'un développement durable des mines et une protection de l'environnement, le gouvernement marocain a adopté un projet de loi relatif à la législation minière (**N° 33-13**) basé sur **le dahir du 9 rajab 1370 (16 avril 1951)** portant règlement minier (Atillah et al., 2018). Ce projet de loi vise à permettre au secteur minier de jouer un rôle efficace dans l'économie nationale et de contribuer au développement durable des régions minières. Il permet Aussi pour l'enrichissement et/ou la valorisation des masses constituées de rejets et déchets de produits de mines provenant des opérations d'extraction, de traitement et de valorisation de ces produits. La loi comprend également des dispositions relatives à l'étude d'impact environnemental et aux plans d'abandon pour les activités de recherche et d'exploitation minière, ainsi que pour la recherche et l'exploitation des cavités.

Au Maroc, les minerais de phosphates génèrent des quantités importantes de déchets phosphatés le grand problème qui se pose à propos de ces sous-produits de phosphate est la gestion de son stockage. Les boues de lavage des phosphates sont parmi les sous-produits générés au cours de l'exploitation des mines de phosphate, ce sont des particules fines, dégagées au cours du processus d'enrichissement du minerai de phosphate. Ce dernier consiste principalement à séparer la fluorapatite des gangues associées (Argiles, calcaire, silicate etc.) à travers différentes étapes successives : broyage, criblage, lavage puis flottation. C'est durant l'opération du lavage que sont générées les boues des phosphates (Loutou et al., 2013a; Benbrik et al., 2020a).

Généralement les boues des phosphates sont stockées dans des bassins de stockage de grande superficie, souvent à l'air libre et finissent avec le temps par former des digues (Figure 2), ce qui provoque la défiguration du paysage et la réduction de la terre arable (Hakkou et al., 2016). Les boues de lavage des phosphates ne sont pas polluantes, ainsi elles ne présentent pas d'effets négatifs sur les eaux de surface ou les eaux souterraines (Harech et al., 2021). Cependant, leur recyclage s'avère indispensable pour résoudre les problèmes liés à la gestion de leur stockage. La composition chimique et minéralogique des boues montre qu'elles contiennent 44 % de phosphate sous forme fluorapatite, 17% de quartz, 15% de calcite, 7% de dolomite, et 7% d'argile smectique, par conséquent, elles peuvent être exploitées dans différents domaines tels que le domaine agricole ou industriel (Hakkou et al., 2016).



Figure 2: Stockage des déchets miniers de phosphate Khouribga Maroc : photos prises sur site.

III. Gestion et valorisation des déchets miniers

Compte tenu des altérations causées par les rejets miniers, il est impératif de mettre en place une gestion maîtrisée pour répondre à cette problématique et limiter les impacts environnementaux qui se produisent. Trouver des solutions pour réutiliser et recycler les déchets miniers est très important en raison de multiples incitations réglementaires et économiques. Dans cette perspective, leur réutilisation comme matière première dans les différents domaines est une solution environnementale prometteuse. En effet, on distingue des méthodes de gestion et de valorisation des rejets miniers qui se font sur le site minier lui-même (Gestion au niveau locale) et d'autres à l'extérieur du site minier (Gestion En dehors du site minier) dépendamment des propriétés de chaque type de rejet.

III.1. Gestion et valorisation *in situ*

La gestion sur site des résidus peut se traduire par un certain nombre de mesures, de précaution et de pratiques de gestion mises en œuvre par les compagnies minières dans le but de réduire l'impact environnemental de ces résidus. Il est important de faire la distinction entre les méthodes de gestion des stériles, des effluents des concentrateurs et des boues de traitement des eaux acides.

Les stériles miniers sont couramment utilisés pour construire les digues, les routes, les bassins de résidus, le remblayage des sites, le remplissage des excavations souterrain et les fosses à ciel ouvert (Benzaazoua et al., 2006; Ritcey, 2005). Les effluents de l'usine de concentration peuvent être désacidifiés à l'aide de la désulfuration environnementale (Benzaazoua et al., 2008), pour éliminer les sulfures, et leur utilisation par la suite pour la préparation des remblais en pate cimentée, comme composante de recouvrements (barrière d'oxygène, géomembranes ou géocomposite bentonitique) afin d'empêcher le drainage miner acide. Ils sont également retraités et valorisés pour extraire les éléments de valeur commerciale qui demeurent dans ces résidus. D'autres méthodes ont été également développées pour traiter les boues de lavage proviennent des stations de traitement. Elles peuvent être recyclées pour récupérer des métaux ayant une valeur commerciale ou bien utilisées comme amendements dans les recouvrements ou dans les remblais (pentes). Cependant, il convient de noter que la plupart de ces méthodes de gestion des boues sont encore au stade expérimental (Aubé and Zinck, 1999; Zinck and Griffith, 2013; Zinck and Aube, 2000). Plusieurs recherches dans ce sens sont en cours de développement et d'amélioration avant de passer à l'échelle industrielle.

III.2. Gestion et valorisation ex situ

A ce jour, les déchets miniers au Maroc ont été principalement utilisés au niveau du site même. Leur réutilisation en dehors du site minier est très rare. Plusieurs études ont été réalisées au Maroc dont l'objet est de valoriser ces rejets miniers de phosphates dans différents domaines, afin de trouver des alternatives de gestion durables. Dans ce contexte, Hakkou et al. (2016) ont étudié La composition hydrogéologique des échantillons de roches calcaires et des boues de phosphate provenant de des bassins de stockage appartenant à l'usine de phosphate (Gantour, Youssoufia) et la mine de phosphate de Benguéir, les résultats ont montré que ces rejets miniers peuvent être utilisés comme composante des couvertures de stockage pour la réhabilitation des sites industriels. Une autre étude menée par Boutaleb et al. (2020), dont l'objectif est d'étudier une voie de valorisation du stérile d'exploitation des phosphates comme matière première alternative dans l'industrie céramique. Les résultats de cette étude ont montré que l'utilisation de 20 % et 50 % de stérile de phosphate mélangé avec des argiles locales abondantes permet de produire des carreaux céramiques conformes aux exigences mécaniques applicables, et que la réutilisation des rejets de phosphate dans le domaine de la céramique peut constituer l'un des moyens de gestion et de valorisation conjuguant les aspects écologiques et économiques. Une autre utilisation des stériles miniers est reportée dans l'étude menée par Borja et al. (2022) où des stériles phosphatés abondants dans différentes régions du Maroc sont étudiés en tant que

matériaux candidats pour le remplacement partiel ou entier des minéraux industriels conventionnellement utilisés pour la fabrication de la céramique. Les résultats ont révélé que, les tuiles à base de 100% de stériles phosphatés ont montré d'excellentes propriétés mécaniques en matière de compression et elles peuvent être utilisées dans les tuiles murales traditionnelles dites « Zellige » au Maroc. Egalement Loutou et al. (2019) ont étudié la possibilité de valoriser et recycler les boues de phosphate comme matière première pour la fabrication de filtres à membrane en céramique à partir d'argile micacée naturelle et de sous-produit industriel (boues de phosphate). Les résultats des essais de filtration ont montré que les filtres à membrane à base de boues de phosphate et d'argile peuvent être utilisés dans le traitement des effluents textiles. De plus, ces matériaux membranaires peuvent être utilisés comme supports de la membrane de microfiltration. Les boues de phosphate peuvent être utilisées aussi comme granulat léger en jardinage et en hydroponique après transformation thermique (Loutou et al., 2013).

IV. Conclusion

En général, l'utilisation des rejets miniers en dehors du site minier est un concept qui devient de plus en plus intéressant surtout avec l'apparition de nouvelles réglementations à travers le monde qui mettent l'accent sur la gestion efficace et durable de tous types de déchets. Le Maroc produit des grandes quantités des déchets miniers, y compris des millions de tonnes de boues de lavage des phosphates (BLP). Ces boues, très peu valorisées actuellement au Maroc, sont stockées dans bassins de résidus et générant des frais économiques liés à l'acquisition et l'immobilisation du terrain et au processus de suivi de leur stockage. Cependant, le phosphate contenu dans ces boues est un élément nutritif essentiel pour la croissance des plantes. Ces boues pourraient donc être combinées avec des déchets organiques biodégradables et le compost résultant pourrait ensuite additionner aux sols qui ont besoin de matière organique et de phosphore. Il s'agit donc d'une solution écologique simple et durable.

Chapitre II : Applications biotechnologiques pour la valorisation des boues de lavage de phosphates

Le compostage de boues de lavage de phosphates avec des résidus organiques (phospho-compost) associés à un apport de microorganismes solubilisateurs de phosphates organiques et minérales (mycorhizes et bactéries) augmente grandement l'efficacité agronomique des phosphates naturels (Singh and Amberger, 1991; Singh and Kapoor, 1999). Ainsi, la rhizosphère des plantes renferme une très grande diversité de microorganismes (bactéries, champignons) dont certains sont capables de libérer du Pi à partir de formes de phosphates

minérales (Rodríguez and Fraga, 1999; Khan et al., 2009; Zaidi et al., 2009; Xiao et al., 2010; Lahsini et al., 2022; Hazzoumi et al., 2022; Tariq and Ahmed, 2022; Timofeeva et al., 2022; Yadav et al., 2023). Les bactéries rhizosphériques sont capables de solubiliser et mobiliser le phosphate par production d'acides organiques. Pour leur part, les champignons mycorhiziens peuvent avoir accès au phosphore contenu dans l'apatite en excréant des acides organiques, en particulier de l'acide oxalique en plus de la solubilisation du phosphate organique via des phosphatases.

I. Phospho-compost : production typologie et applications

Le compostage est un processus biologique de décomposition et de transformation de la matière organique végétale et animale en conditions aérobies en un produit final stable riche en composés humiques appelé le compost (Quadar et al., 2023). Il fait intervenir de nombreux micro-organismes (bactéries, champignons, actinomycètes, algues et protozoaires), qui en présence de la matière organique et de l'oxygène, produisent une montée en température, une perte en eau, une minéralisation en CO₂ et une production de substances humiques, qui peuvent être utilisées sur les sols sans impacts négatifs sur l'environnement (Ho et al., 2022). Le processus de compostage de la matière organique passe généralement par trois phases : une phase mésophile où les microorganismes se multiplient à des températures qui varient entre 20 et 45°C en présence des sucres simples et des acides aminés libres. Une phase thermophile durant cette phase la température peut monter jusqu'à 75°C, ce qui va induire une dégradation massive de la matière organique avec dégagement de CO₂, une perte en azote minéralisé sous forme d'ammoniac et une évaporation d'eau, par conséquent un assèchement du compost. Finalement une phase de maturation où les microorganismes mésophiles colonisent à nouveau le compost et attaquent les polymères (lignine, tanins,...) avec l'apparition progressive des éléments de l'humus jusqu'à la constitution du compost mature, qu'on peut utiliser comme source d'éléments nutritifs pour les plantes ou comme amendements pour améliorer le rendement des sols pauvres en éléments nutritifs.

Le compostage est l'une des principales stratégies de gestion et valorisation fréquemment utilisées pour éliminer en toute sécurité les grandes quantités de déchets générés par les activités humaines dans le monde entier (Marchettini et al., 2007). En effet le compostage en tant que choix de valorisation des déchets présente de nombreux avantages notamment, le coût faible, l'écologisation des déchets, la protection de l'environnement et son potentiel pour garantir un avenir sûr et durable (Haggar, 2010). Beaucoup de travaux ont été faits à l'échelle internationale au sujet du compostage, ces travaux s'intéressent essentiellement au développement et

l'optimisation des procédés de compostage, l'évaluation de qualité du compost, sa stabilité, son pouvoir fertilisant et ses intérêts agronomiques (Fagnano et al., 2011; Chia et al., 2020). Mais très peu d'études ont été faites sur la valorisation des boues de lavage des phosphates dans le domaine agronomique par la production d'un phospho-compost biofertilisant. Récemment, les chercheurs scientifiques au Maroc sont penchés sur l'étude des déchets miniers de phosphate comme source de phosphate à utiliser pour résoudre les problèmes liés d'une part à l'utilisation des engrais phosphatés chimiques et d'autre part à la gestion et la valorisation des quantités énormes des déchets produites chaque année biofertilisant (Benbrik et al., 2020b; El Maaloum et al., 2020a; El Gabardi et al., 2021a; Anli et al., 2022; Chtouki et al., 2022; Benbrik et al., 2021a). Bien que le compostage des déchets phosphatés offre un grand potentiel d'exploitation à grande échelle, les principaux facteurs contrôlant la qualité du phospho-compost et les mécanismes qui les sous-jacents sont en cours d'étude.

Le phospho-compost est un fertilisant écologique non toxique qui pourrait être préparé en mélangeant les déchets agricoles, les bouses de bétail, les herbes hachées, les résidus de culture et les feuilles de plantes avec de la roche phosphatée ou bien de la boue de lavage de phosphates à des concentrations bien définie. L'utilisation de phospho-compost sur des sols dégradés par des éléments nutritifs acides contribue grandement à réduire les taux élevés d'application d'engrais chimiques sur ces sols fragiles. Le phospho-compost permettra non seulement de réduire les carences en P, d'améliorer l'absorption de P et le rendement cultures, mais constitue également un moyen économique de recycler les déchets et de protéger l'environnement contre la pollution associée à l'élimination irresponsable des déchets agricoles bruts un moyen économique de recycler les déchets et de protéger l'environnement contre la pollution (Jai, 2016). Il permet aussi de favoriser la croissance de la microflore bénéfique du sol, ce qui améliore le rendement des cultures sans faire recours aux engrais chimiques, qui entraînent à long terme une diminution de la matière organique, une acidification des sols et tant d'autres facteurs entraînant une réduction du rendement des cultures (Chtouki et al., 2022).

II. Amélioration des performances d'un phospho-compost par les microorganismes

Le phospho-compostage est une technique prometteuse qui consiste à améliorer l'efficacité agronomique des phosphates naturels en les compostant avec des résidus organiques. Ce processus permet d'augmenter la libération de phosphore à partir des phosphates naturels par les micro-organismes qui jouent un rôle très important dans la libération de phosphore à partir des phosphates naturels grâce à la production d'acides organiques et la sécrétion d'enzymes, ce

qui rend le phosphore disponible pour les plantes. Les micro-organismes sont les acteurs clés de la décomposition des composants organiques dans le compost. Environ 95% de l'activité biologique du compost est due aux bactéries, champignons et aux actinomycètes (Mustin, 1987). Les bactéries et les champignons interviennent davantage dans la phase mésophile pour augmenter la température, tandis que les actinomycètes sont plus actifs pendant la phase thermophile.

II.1. Champignons mycorhiziens

Les champignons mycorhiziens sont des organismes qui établissent des relations symbiotiques avec les racines des plantes. Ces microorganismes colonisent le système racinaire de la plante hôte et élargissent la zone d'absorption des nutriments en interagissant avec leur système racinaire. Grâce à un réseau d'hyphes les champignons mycorhiziens peuvent parcourir des distances beaucoup plus longues que les racines des plantes, ce qui leur permet d'accéder à des nutriments inaccessibles et d'améliorer l'absorption des nutriments du sol pour les plantes, en retour ils reçoivent les glucides produits par la photosynthèse pour compléter leur cycle de vie. Les champignons mycorhiziens peuvent également aider les plantes à faire face à divers stress environnementaux, tels que la sécheresse, les températures extrêmes, les métaux lourds, les maladies et les pathogènes. Plusieurs types des mycorhizes sont distingués selon les caractères morphologiques, écologique et moléculaires (Peyronel, 1969; Smith and Read, 2010), on distingue trois principaux types d'associations mycorhiziennes: les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les ectendomycorhizes (Peyronel, 1969; Brundrett, 2002, 2004; Smith and Read, 2010).

Les champignons mycorhiziens jouent un rôle important dans le prélèvement et le transport de nutriments très peu mobiles dans le sol vers les plantes principalement le phosphore (Bolan, 1991; Duponnois et al., 2005; Gianinazzi-Pearson et al., 1994; Lambers et al., 2008; Rhodes and Gerdemann, 1975). Ce nutriment est souvent lié à d'autres éléments sous des formes peu disponibles pour les plantes en raison du pH du sol. L'amélioration de l'acquisition des nutriments inorganiques par les champignons mycorhiziens concerne également l'azote, le potassium, le magnésium, le sodium, le soufre, le bore, le brome, le chlorure, le cuivre, le chrome, le césium, le cobalt, le fer, le molybdène, le manganèse, le nickel, le silicium et le zinc (Cardoso et al., 2006; Caris et al., 1998; Duponnois and Bâ, 1999; Guether et al., 2009; He and Nara, 2007; Liu et al., 2002; Nogueira et al., 2004; Smith and Read, 2010; Sorensen et al., 2005). Plusieurs études, ont montré que les champignons mycorhiziens jouent un rôle important dans la décomposition et la minéralisation des matières organiques végétales et la mobilisation

des nutriments nécessaires pour la croissance et le développement des plantes hôtes (Cao et al., 2022; Gobat et al., 2003; Hazzoumi et al., 2022; Hodge, 2000; Lambers et al., 2008; Tarafdar and Rao, 1997).

L'utilisation des champignons mycorhiziens pour la valorisation des déchets miniers de phosphate est une approche prometteuse pour la gestion durable des résidus miniers tout en améliorant la qualité du sol et en fournissant des avantages écologiques et économiques en réduisant les coûts liés au stockage et à l'élimination des déchets miniers. En effet, les champignons mycorhiziens ont la capacité de coloniser les racines des plantes en formant des structures appelées mycéliums qui augmentent la surface d'absorption des racines et facilitent l'absorption des nutriments du sol.

Les boues solides de laverie des phosphates renferment une diversité très importante de champignons endomycorhiziens arbusculaires (ElGabardi et al., 2019a). Ces champignons peuvent aider à améliorer la qualité du phospho-compost en renforçant sa structure et en facilitant la circulation de l'eau et l'absorption du phosphore contenu dans les déchets miniers par les plantes ce qui permet de mieux valoriser ces déchets. L'étude menée par (El Gabardi et al., 2021b) a montré que l'utilisation d'un mélange de phospho-compost à 5% et d'un inoculum endomycorhizien induit une amélioration significative de la croissance de la tomate. Cette amélioration s'est traduite par une augmentation de la hauteur des plants, le nombre de feuilles et de fleurs, ainsi que le rendement en fruits par plante. D'autre part l'effet du phospho-compost et des boues des laverie de phosphates combinés ou non avec un inoculum endomycorhizien sur l'amélioration des paramètres agronomiques des plants de Maïs a été testé par (El Gabardi et al., 2020), et les résultats obtenus montrent que l'addition d'une faible dose (5%) de phospho-compost au substrat de culture, combiné avec un inoculum endomycorhizien présente un effet positif sur la croissance et le développement des plants de maïs. Une autre étude menée par (Gabardi et al., 2019) pour étudier l'effet de différentes doses de phospho-compost (2,5 %; 5 %; 7,5 %; 10 %) sur la croissance et le développement des plants de haricot, ainsi que la capacité de mycorhization des semis de haricot par les champignons endomycorhiziens contenus dans les boues phosphatées. Les résultats de cette étude montrent que les doses de 2,5% et 5% sont les plus favorables à la croissance et au développement des plantes. Ces doses ont amélioré significativement les paramètres de la croissance des plantes de haricot comparativement aux plantes témoin. Cependant, les valeurs des différents paramètres enregistrés diminuent chez les plantes cultivées sur le substrat de culture amendé par des doses de 7,5 et 10% de phospho-compost. Les plants de haricot ont contracté une association avec des mycorhizes arbusculaires de différentes structures, et les concentrations de spores les plus

élevées ont été observées dans les racines des plantes poussant sur des substrats contenant des doses de 2,5 et 5 % de phospho-compost.



Figure 3: Effet de phospho-compost combiné avec un inoculum endomycorhizien sur la croissance et le développement des plantes (Maïs, Tomate et Haricot) ((El Gabardi et al.,2021).

Les résultats de ces études montrent que l'application de phospho-compost combiné avec des champignons endomycorhiziens peut être bénéfique pour la croissance et le développement des plants, ainsi que pour la capacité de mycorhization des semis par les champignons endomycorhiziens contenus dans les boues phosphatées. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer les effets à long terme de l'application de phospho-compost sur la croissance et le développement des plantes, ainsi que sur la qualité des récoltes.

En conclusion, l'application d'une dose appropriée de phospho-compost combiné avec les champignons mycorhiziens stimule la croissance et le développement des plantes en augmentant l'apport en phosphore disponible dans le sol. Cependant, une concentration excessive de phospho-compost peut avoir l'effet inverse et entraîne une réduction de la croissance des plantes. Il est donc important de trouver le bon dosage de phospho-compost pour obtenir les meilleurs résultats en matière de croissance des plantes. Cela dépendra de divers facteurs tels que le type de sol, le type de culture et la quantité de nutriments nécessaire pour soutenir la croissance des plantes (Chliyah and Benkirane, 2019; El Gabardi et al., 2021a 2021b).

II.2. Bactéries promotrices de la croissance des plantes

Les bactéries jouent un rôle crucial dans l'écosystème et la survie des êtres vivants en raison de leur présence massive, de leur capacité de multiplication rapide et de leur contribution essentielle aux réactions biochimiques. En effet, dans un gramme de sol, les bactéries se comptent par millions avec une quantité de 10^8 – 10^9 bactéries/g du sol (Bhattarai, 2015). Ces bactéries ne sont pas réparties uniformément dans le sol, elles sont plus abondantes près des racines des plantes et dans les zones riches en matière organique (Kour et al., 2019). Les

rhizobactéries sont des bactéries qui vivent en association avec les racines des plantes et ont besoin de composés organiques comme source d'énergie, ce qui en fait des organismes hétérotrophes. Elles tirent parti de plusieurs types de matières organiques provenant de la plante, notamment les cellules corticales et épidermiques des racines, les polysaccharides du mucilage racinaire, ainsi que les sucres, les acides aminés et autres composés organiques présents dans les exsudats racinaires. Elles sont des hétérotrophes typiques (Campbell and Greaves, 1990).

Certaines rhizobactéries, appelées PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), ou bien les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes, ont été définies de différentes façons par différents auteurs. Bishnoi (2015) a défini les PGPR comme une vaste collection de bactéries du sol qui sont des composantes importantes des systèmes sol-plantes, dans lesquelles elles interagissent activement et efficacement dans la rhizosphère, régulant le développement et le rendement des plantes par divers processus. Les PGPR sont aussi appelées rhizobactéries favorisant la santé des végétaux ou rhizobactéries favorisant les nodules (Hayat et al., 2010), et peuvent être classées en deux groupes en fonction de leur habitat, à savoir ; iPGPR (bactéries symbiotiques), qui résident à l'intérieur des cellules végétales, génèrent des nodules et sont confinés à des structures spécifiques, et ePGPR (rhizobactéries libres), qui vivent à l'extérieur des cellules végétales, ne produisent pas de nodules, mais stimulent néanmoins le développement des plantes (Gray and Smith, 2005).

Parmi les PGPR on trouve des bactéries dites solubilisatrices de phosphate (BSP), ces bactéries jouent un rôle fondamental dans la solubilisation de phosphate et la fertilité du sol et par conséquent favorisent la croissance des plantes via différents mécanismes (Timofeeva et al., 2022). Elles peuvent stimuler la croissance des plantes, à la fois directement et indirectement (Silva et al., 2023). Les BSP sont utilisées comme biofertilisants depuis les années 1950, car elles sont plus efficaces dans la solubilisation du phosphore que les champignons (Ingle and Padole, 2017). Parmi l'ensemble de la population microbienne du sol, les BSP représentent 1 à 50 %, tandis que les champignons solubilisant du phosphore ne représentent que 0,1 à 0,5 % du potentiel de solubilisation du P (Timofeeva et al., 2022). En plus de *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Bacillus*, de nombreuses bactéries appartenant aux genres *Enterobacter*, *Serratia*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, , , *Chryseobacterium* et *Erwinia*, ont été signalées pour leur capacité à solubiliser le phosphate et à favoriser la croissance de nombreuses cultures (Abdel-Rahman et al., 2017; Sang et al., 2018;

Z. Jiang et al., 2019; Blanco-Vargas et al., 2020; Mendoza-Arroyo et al., 2020; You et al., 2020; Patel et al., 2021; Damo et al., 2022; Devi et al., 2022; Kaur et al., 2022).

Plusieurs chercheurs à travers le monde ont évalué l'impact de l'utilisation combinée de phospho-compost et de BSP sur la productivité des plantes ainsi que sur la disponibilité et l'absorption du phosphore par les plantes. Les travaux récents de (Senthilvalavan et al. (2022) montrent que l'ajout de BSP améliore significativement la solubilisation du phosphore contenu dans le phospho-compost, favorisant ainsi son absorption et sa disponibilité à long terme pour les plantes. Benbrik et al. (2020) ont mené des expériences pour étudier l'effet de quatre souches BSPs, ainsi que leur consortium, sur la croissance des plantes de Maïs cultivées sur un sol pauvre en phosphate et enrichi avec différentes concentrations de boues de phosphate allant de 0% à 100%. Les résultats obtenus révèlent que l'association de la boue de phosphate et des BSPs stimule de manière significative la croissance des plantes. De plus, la combinaison de boue de phosphate à 40% inoculé par le consortium bactérien conduit au meilleur rendement en termes de croissance des plantes de maïs, avec une augmentation significative de la hauteur de la plante, de la biomasse aérienne et de la biomasse racinaire par rapport à un sol pauvre en phosphore. Dans une autre étude, l'amendement du sol déficient en phosphore avec du phospho-compost enrichi par les PGPR augmente considérablement la productivité du sol et la croissance des plantes de Maïs, de haricot et de la tomate par rapport aux témoins non inoculés. Cette amélioration est observée dans la hauteur des plantes, le nombre de feuilles, le nombre de fruits, la biomasse fraîche et sèches des trois plantes étudiées. Simultanément, l'inoculation par le consortium PGPR a augmenté l'absorption de P et de K dans les tiges et la disponibilité de P et de K dans le sol (Benbrik et al., 2021a).

L'utilisation de la boue de phosphate marocain combinée aux bactéries solubilisant les phosphates est une approche novatrice et écologique importante pour favoriser la croissance des plantes et améliorer la fertilité des sols pauvres. Cependant, ces résultats ne sont qu'indicatifs et nécessitent des expérimentations sur le terrain pour confirmation et pour générer des recommandations à l'attention de la communauté agricole.

Chapitre III : Processus et mécanismes mis en œuvre par les bactéries biofertilisantes

Les biofertilisants peuvent être définis comme des produits qui contiennent des microorganismes vivants lorsqu'ils sont appliqués aux semences ou à la surface des plantes ou le sol, ils colonisent la rhizosphère ou l'intérieur de la plante et favorisent la croissance des

plantes en augmentant l'approvisionnement ou la disponibilité des éléments nutritifs essentiels pour la plante hôte.

Les mécanismes directs impliqués dans la croissance des plantes par les bactéries comprennent la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate, la production de phytohormones biologique, comme l'AIA (acide indole 3-acétique), qui joue un rôle important dans le développement des racines et la formation des poils, et donc dans la croissance des plantes (Zhang et al., 2022) ; de l'ACC désaminase, qui est le précurseur direct de l'éthylène, cette enzyme joue un rôle important dans la régulation de niveau de l'éthylène, rétabli ainsi un système racinaire sain nécessaire pour faire face au stress de l'environnement (Glick and Nascimento, 2021); et la production des sidérophores qui sont responsables de la séquestration du fer (Upadhyay and Chauhan, 2022). Tandis que les mécanismes indirects font appel aux caractéristiques bactériennes qui interfèrent avec la fonction des microorganismes phytopathogènes. Elles comprennent l'utilisation des sidérophores, L'ACC désaminase, les antibiotiques, les enzymes dégradant la paroi cellulaire, la compétition sur les nutriments, la production de cyanure d'hydrogène (HCN) et la résistance systémique induite (Olanrewaju et al., 2017) (Figure 4).

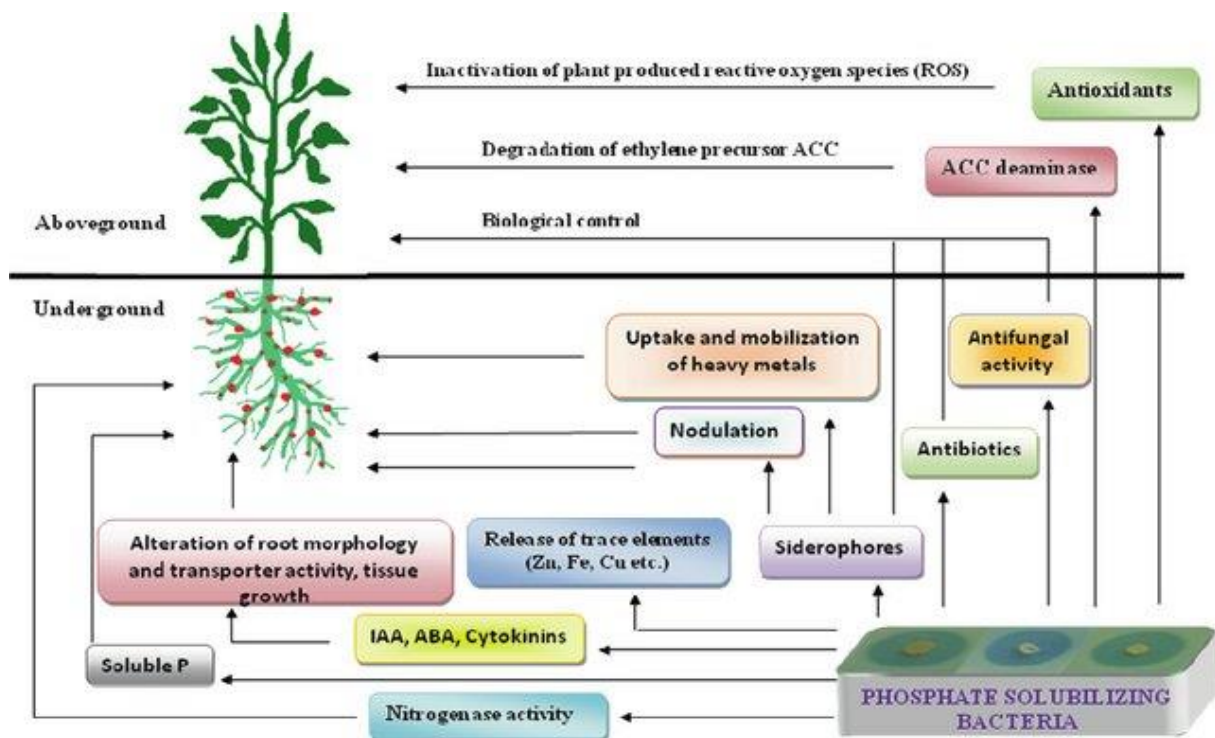


Figure 4: Mécanismes de promotion de la croissance des plantes par les bactéries solubilisatrices de phosphate (Olanrewaju et al., 2017).

De nombreuses Bactéries solubilisatrices de phosphate présentent fréquemment une ou plusieurs de ces caractéristiques susmentionnées dans la figure 4, ce qui donne lieu à un spectre diversifié de BSP, dont les activités varient en fonction des conditions environnementales et du sol (Ferreira et al. 2019 ; Tapia-Torres and Morón-Cruz 2019 ; Vishwakarma et al. 2020 ; Jiménez-Mejía et al. 2022).

I. Fixation d'azote

L'azote (N) est un élément nutritif clé dans le développement des plantes, l'azote demeure l'élément essentiel pour toutes les formes de vie et le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes (Ahemad and Kibret, 2014; Gopalakrishnan et al., 2015; Dahal et al., 2017). Malgré le fait qu'il constitue environ 78 % de l'atmosphère terrestre, cette forme d'azote gazeux N_2 reste indisponible pour les plantes, c'est-à-dire qu'elle ne peut être absorbée par les plantes, qu'après avoir été transformée en ammoniac (Olanrewaju et al., 2017). Malheureusement, aucune espèce végétale n'est capable de fixer le diazote atmosphérique et de le dépenser directement pour sa croissance. Ainsi, l'azote atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par fixation biologique de l'azote qui transforme l'azote en ammoniac par des micro-organismes fixant l'azote en utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase (Gaby & Buckley, 2012). Certaines bactéries sont capables de fixer le dioxyde d'azote (en convertissant l'azote atmosphérique en ammonium) et de fournir de l'azote aux plantes (Harindintwali et al., 2022; Qiyu et al., 2022). Plusieurs genres, dont *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Azorhizobium* et *Rhizobium*, sont connus pour favoriser la croissance des plantes par la fixation de l'azote. Dans la catégorie des bactéries fixatrices d'azote, certaines vivent librement et n'ont pas besoin d'hôte pour effectuer le processus (par exemple ; *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Microbacterium*, *Bacillus*, *Klebsiella* et *Stenotrophomonas*), tandis que d'autres sont symbiotiques et fixent l'azote uniquement en association avec certaines plantes, comme les légumineuses (par exemple ; *Rhizobium* et *Azorhizobium*) (Ha et al., 2018; Hnini et al., 2022; Nagatani et al., 1971; Wang et al., 2017). Il a été prouvé dans plusieurs études que l'inoculation par des bactéries fixatrices d'azote contribue à l'assimilation de l'azote et l'amélioration de la croissance des plantes, conduisant à un meilleur rendement. À titre d'exemple, (Bargaz et al. (2018) ont rapporté que l'inoculation des graines des légumineuses avec des bactéries fixatrices d'azote déclenche la croissance des plantes par la fixation d'azote, la solubilisation du phosphore et la production d'hormones favorisant la croissance des plantes.

II. Solubilisation du phosphate

Le phosphore (P) est le nutriment le plus limitant pour la croissance et le développement des plantes (Gupta et al., 2021; Yadav et al., 2020). Il joue un rôle important dans pratiquement tous les principaux processus métaboliques de la plante, y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse des macromolécules et la respiration (Gupta et al., 2012, 2021). Dans le sol, cet élément est abondamment disponible sous deux formes principales : les formes minérales (phosphate inorganique P_i) et les formes organiques (P_o). Le P_i minéral provient de l'altération des roches phosphatées, il représente environ 35 à 70 % du P total dans le sol, les apatites, la strengite et la variscite sont les principaux minéraux du P (Gupta et al., 2014). Tandis que le P_o résulte de la dégradation des végétaux par la faune et la flore du sol. Il représente généralement environ 30 à 50% du P total dans le sol (Alori et al., 2017).

Malgré le grand réservoir de phosphore dans le sol, seule une très faible quantité est disponible pour les plantes (Ahemad and Kibret, 2014). En effet, les plantes ne les utilisent que sous deux formes : (a) les ions monobasiques et (b) les ions dibasiques (Bhattacharyya and Jha, 2012). Il a également été signalé qu'en raison de la conversion rapide du phosphore en complexes insolubles de différents oxydes et hydroxydes métalliques, la plupart des sols cultivables sont déficitaires en phosphates disponibles (Sandilya et al., 2018). Ces formes de P présentent différents niveaux de disponibilité pour les plantes. Certaines formes se retrouvent très peu en solution dans le sol, d'autres formes ne vont migrer que très lentement de la phase solide vers la solution du sol ; alors que d'autres ne peuvent être libérées que suite à l'activité d'organismes vivants (minéralisation, solubilisation). Seul le phosphore en solution dans l'eau du sol peut être prélevé par les racines des plantes sous ses formes solubles du type monobasique et dibasique ($H_2PO_4^-$ - ou HPO_4^{2-}) (Gopalakrishnan et al., 2015; Gupta et al., 2014).

Par ailleurs, l'assimilation du phosphore par la plante est contrôlée par ses besoins, par l'activité et la morphologie de son système racinaire, par la disponibilité du P dans le sol et aussi par la présence de micro-organismes dans la rhizosphère des plantes. Ces derniers étant capables de mobiliser le phosphore peu mobile et non disponible du sol, leur exploitation dans le but de minimiser l'utilisation des engrais phosphatés est très considérée par la communauté scientifique. Dans ce sens, les recherches scientifiques se sont dirigées vers l'exploitation des bactéries Solubilisatrices de Phosphate, qui sont capables de convertir le phosphore insoluble en une forme accessible et facilement assimilable par les plantes (Ahemad and Kibret, 2014; Gupta et al., 2014; Rfaki et al., 2020).

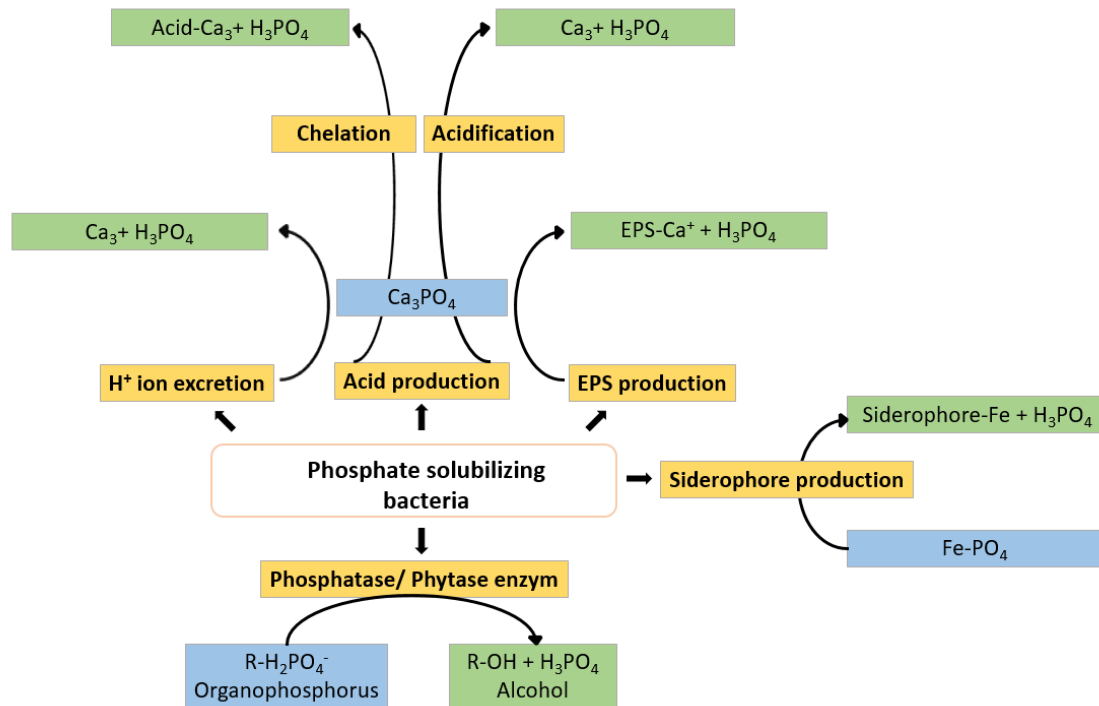


Figure 5: Mécanismes de solubilisation du phosphate organique et inorganique par les bactéries solubilisatrices de phosphate (Prabhu et al., 2019).

II.1. Solubilisation du phosphate organique

La teneur en phosphore organique du sol peut atteindre 30 à 50 % de la quantité totale (Ibrahim et al., 2022), le phosphore organique du sol se trouvant principalement sous forme de phosphate d'inositol (phytate du sol) (Plassard et al., 2015). D'autres composés organiques du phosphore ont été signalés, notamment : phosphomonoesters, phosphodiester, phospholipides, acides nucléiques et phosphotriesters (Alori et al., 2017; Behera et al., 2014). De plus, de grandes quantités de phosphonates xénobiotiques (pesticides, détergents, antibiotiques et ignifugeants) qui sont régulièrement rejetées dans l'environnement contiennent également du P organique (K. Mahmud et al., 2021). La plupart de ces composés organiques ont un poids moléculaire élevé et résistent à l'hydrolyse chimique (Peña-Fernández et al., 2022). Ces composés doivent être convertis en phosphates ioniques solubles (P_i , HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$) ou en phosphates organiques de faible poids moléculaire pour qu'ils soient absorbés par les plantes (Peix et al., 2001).

Plusieurs groupes d'enzymes sécrétées par les microorganismes solubilisant le phosphate participent au processus de minéralisation du phosphate (Elhaisoufi et al., 2021; Timofeeva et al., 2022). Les premiers groupes d'enzymes sont ceux qui déphosphorylisent les liaisons phosphore-ester ou liaisons phosphoanhydride des composés organiques. Il s'agit de phosphatases acides non spécifiques (NSAPs). Les phosphomonoestérases, aussi appelées

phosphatases sont les enzymes les plus étudiées parmi ces NSAPs libérés par les PSM (Nannipieri et al., 2011). Ces enzymes peuvent être des phosphomonoestérases acides ou alcalines (Jorquera et al., 2011). Le pH des sols possédant une activité phosphatase a été signalé comme étant un pH acide à neutre, indiquant que les phosphatases acides jouent un rôle majeur dans ce processus (Schnug and Haneklaus, 2016). Il a été prouvé que les BSP améliorent la solubilisation des composés phosphatés insolubles par la libération des acides organiques et des enzymes phosphatases. *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus wiedmannii*, *Bacillus siamensis*, *Burkholderia paludis*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia contaminans*, *Burkholderia cepacia* and *Paenibacillus sp.* ont été rapporté comme étant des BSP solubilisant le phosphate minéral par la production d'enzymes phosphatases (Chawngthu et al., 2020).

La phytase est une autre enzyme impliquée dans la minéralisation du P organique. Cette enzyme est responsable de la libération du phosphore contenu dans les composés organiques du sol (graines de plantes et pollen) qui sont stockés sous forme de phytate (polyphosphate inositol) (Alori et al., 2017). Bien que les plantes ne puissent pas obtenir le phosphore directement du phytate, la présence de Bactéries solubilisatrices de phosphate dans le sol peut compenser l'incapacité des plantes à obtenir des phosphates directement du phytate grâce à la production des phytases (Timofeeva et al., 2022). Les phytates sont synthétisés par les plantes et représentent une quantité très importante (60% à 80%) de phosphore organique dans le sol (Lim et al., 2007). Cependant, les liaisons ester dans l'acide phytique sont assez stables et leur dégradation naturelle est pratiquement impossible. Les BSP jouent un rôle important dans le processus de recyclage du phosphore par la minéralisation du phytate via la production des enzymes phytases (Jorquera et al., 2008; Timofeeva et al., 2022). Le phytate peut être complètement hydrolysé avec la formation d'un inositol et de six molécules de phosphate inorganique, ou partiellement avec la formation de faibles isomères de polyphosphate d'inositol et de phosphates inorganiques (Rao et al., 2009).

Plusieurs bactéries ont montré leur capacité à solubiliser les phytates, par la production des enzymes phytases, parmi eux, on trouve les genres *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Xanthomonas* (Jorquera et al., 2008), *Achromobacter* et *Tetrathiobacter* (Kumar et al., 2013), *Bacillus*, *Shewanella*, *Pedobacter* et *Janthinobacterium* (Timofeeva et al., 2022). La solubilisation des phytates via l'utilisation des phosphatases acides a été également découverte chez *Klebsiella aerogenes* (Richardson and Hadobas, 1997), *Enterobacter*, *Pantoea* et *Pseudomonas* (Jorquera et al., 2008), *Burkholderia cepacia* (Rodríguez et al., 2000), *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, et *Serratia*

marcenscens (Timofeeva et al., 2022). Bien que *P. sonchi* SBR5 possède certaines de ces enzymes associées à la solubilisation du phosphate, aucune activation des gènes correspondants n'a été observée lorsque l'expression différentielle des gènes a été analysée dans des conditions de solubilisation du phosphate (Brito et al., 2020).

II.2. Solubilisation du phosphate inorganique

Au cours des dernières années, de nombreuses études ont été réalisées sur les caractéristiques et les mécanismes de solubilisation du phosphore par les BSP. En effet les BSP sont capables de dissoudre les phosphates insolubles en sécrétant des acides organiques de faible poids moléculaire (Patel et al., 2008). Dans les sols alcalins, les phosphates peuvent précipiter pour former des phosphates de calcium, leur solubilité augmentant avec une diminution du pH du sol. Les BSP augmentent la disponibilité du phosphore en sécrétant des acides organiques qui causent une diminution du pH du sol (Son et al., 2006; Vijayakumar and Rajasekharan, 2016). L'augmentation du pH du sol entraîne l'apparition de formes divalentes et trivalentes de phosphore inorganique : HPO_4^{2-} et PO_4^{3-} (Kalayu, 2019).

Les acides organiques sont produits dans l'espace périplasmique par oxydation directe (Zhao et al., 2014). La libération de ces acides organiques par les bactéries s'accompagne généralement d'une diminution du pH. cependant, il n'y a pas de corrélation entre le pH et la quantité de phosphore solubilisé (Lahsini et al., 2022).

L'efficacité de la solubilisation dépend de la force et de la nature des acides. Les acides di et tri-carboxyliques sont plus efficaces que les acides monobasiques et aromatiques, et les acides aliphatiques sont plus efficaces dans la solubilisation des phosphates que les acides phénoliques, citriques et fumariques. Parmi les acides organiques qui solubilisent les phosphates, on trouve principalement les acides citriques, lactiques, glycoliques, oxaliques, glyconiques, acétiques, maliques, fumariques, succiniques, tartriques, maloniques, glutariques, propioniques, butyriques, glyoxaliques et adipiques (Chawngthu et al., 2020; Elhaissofi et al., 2021; Timofeeva et al., 2022) avec l'acide gluconique et l'acide 2-ceto-gluconique étant les agents solubilisant les plus courants pour les phosphates minéraux.

Les acides organiques sont synthétisés suite au métabolisme du carbone (Y. Wang et al., 2021), la production de ces acides est étroitement liée à la concentration de phosphate soluble. Il a été prouvé que la production d'acides comme l'acide gluconique et l'acide pyruvique par les BSP est significativement affectée par la concentration de phosphate soluble (Buch et al., 2008; Zeng et al., 2016). La conversion du glucose en acides organiques par les cellules des bactéries solubilisatrices de phosphate (BSP) est plus élevée en cas de déficience

en phosphate que lorsque le phosphate est abondant. Cela suggère que la concentration de phosphate soluble contrôle la production des acides organiques impliqués dans la solubilisation du phosphate minéral par les BSP (Buch et al., 2008). En effet, en cas de déficience en phosphate, on observe une augmentation de la sécrétion d'acide gluconique, qui est causée par un changement dans la voie métabolique prédominante du glucose, passant de la phosphorylation à l'oxydation directe. (Buch et al., 2008). Cet acide est un acide organique efficace impliqué dans la solubilisation des phosphates minéraux chez *Serratia marcescens* (Ben Farhat et al., 2013) et *Erwinia herbicola* (Liu et al., 1992). D'autres mécanismes sont impliqués dans la solubilisation du phosphate minéral par les microorganismes à savoir ; la production des acides inorganiques (l'acide sulfurique, l'acide nitrique, et l'acide carbonique). Cependant, l'efficacité de la contribution des acides inorganiques dans la libération des orthophosphates semble moins efficace que celle des acides organiques (Vazquez et al., 2000). Les acides inorganiques sont produits par des bactéries nitrifiantes et sulfo-oxydantes lors de l'oxydation de composés sulfurés azotés ou inorganiques. Les acides inorganiques produits réagissent avec les phosphates insolubles et les convertissent en formes solubles (Prabhu et al., 2019).

Les substances chélatantes jouent également un rôle important dans la solubilisation du phosphate. Les acides comme l'acide 2-céto-gluconique, l'acide humique et l'acide fulvique sont connus comme des chélateurs de cations comme le calcium, le fer et l'aluminium. Ils sont efficaces dans la solubilisation du phosphate inorganique complexé avec le calcium, le fer et l'aluminium (Sperber, 1958; Katznelson and Bose, 1959; Mehmood et al., 2022). Ces acides sont libérés par les micro-organismes lors de la dégradation des débris végétaux (Stevenson and Cole, 1999).

L'acidification du milieu due à l'excrétion de protons H^+ a été signalée aussi comme un autre mécanisme de solubilisation inorganique des phosphates (Prabhu et al., 2019). L'excrétion de H^+ provient de l'assimilation de NH_4^+ (Timofeeva et al., 2022), de la production respiratoire de H_2CO_3 (Rawat et al., 2020), et de l'extrusion des anions d'acides organiques (Maharana and Dhal, 2022). Rodríguez et Fraga (1999) ont montré que la libération des protons H^+ à la surface externe en échange de l'absorption de cations ou la translocation de H^+ par ATPase pourrait constituer d'autres moyens de solubilisation des phosphates minéraux.

III. Solubilisation du potassium

Le potassium (K) est le troisième macronutriment majeur après l'azote et le phosphore. Il est l'un des principaux nutriments essentiels pour toutes les plantes (Raza et al., 2021). Il joue un rôle majeur dans l'activation de plusieurs processus métaboliques, y compris la synthèse des protéines, la photosynthèse, l'activation enzymatique, le transport de l'eau et des nutriments dans les plantes par le xylème et la synthèse de l'amidon (Johnson et al., 2022). Il joue également un rôle dans l'amélioration de la durée de conservation des cultures et de la résistance aux maladies (Kanda et al., 2022). Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles, plus de 90% du potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux silicatés (Samantray et al., 2022). De plus, en raison d'une application d'engrais déséquilibrée, la carence en potassium devient l'une des principales contraintes de la production agricole. En l'absence d'une quantité adéquate de potassium, les plantes peuvent présenter plusieurs problèmes tels qu'un développement racinaire insuffisant, une croissance lente, la production de petites graines et une faible productivité (Nosheen et al., 2021). Cela a mis l'accent sur la recherche d'une autre source indigène de potassium afin de maintenir ces niveaux dans les sols et de soutenir la production agricole organique. Soumare et al. (2023). Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes sont capables de solubiliser la roche potassique grâce à la production et à la sécrétion d'acides organiques tels que l'acide citrique, tartrique, oxaliques, 2-cétogluconique, propionique, malique, gluconique, succinique, et l'acide fumarique (Vaghela et Gohel, 2023). Parmi ces acides, les acides gluconiques, oxaliques, 2-cétogluconiques et succiniques sont les plus efficaces impliqués dans la solubilisation du K insoluble (Meena et al., 2016). Les PGPR telles que *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Bacillus edaphicus*, *Bacillus mucilaginosus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus sp.* et *Pseudomonas* peuvent libérer le K à partir de minéraux rocheux (comme le mica, l'illite, le feldspath et l'orthoclase) par la production d'acides organiques comme l'acide oxalique, citrique, fumarique et tartrique (Aloo et al., 2020; Meena et al., 2016; Soumare et al., 2023). De plus, l'inoculation de plants de blé et de maïs avec *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus mucilaginosus* et *Rhizobium* conduit à une mobilisation beaucoup plus élevée du potassium à partir des déchets de mica (Meena et al., 2016). Il a été rapporté que la solubilisation des déchets de mica par *B. mucilaginosus* et *B. edaphicus* est associée à la production d'acide citrique, tartrique et oxalique (Basak and Biswas, 2009). Ces acides sont des sources d'ions H⁺ capables de dissoudre le phosphate minéral et le rendre disponible pour la plante.

En plus de la production d'acide organique, il existe d'autres mécanismes par lesquels les bactéries solubilisent le K inorganique, comme la production de siderophores, les

exopolysaccharides, la sécrétion de composés phénoliques, des substances humiques et la complexation entre divers ions métalliques comme le Ca, Al et le fer (Soumare et al., 2023). De ce fait, l'application de bactéries solubilisant le potassium comme biofertilisant pour l'amélioration de l'agriculture peut réduire l'utilisation de produits agrochimiques et soutenir la production de cultures respectueuses de l'environnement (Aloo et al., 2020; Meena et al., 2016; Nosheen et al., 2021; Soumare et al., 2023; Vaghela and Gohel, 2023).

IV. Production d'hormones de croissance

Les phytohormones ou régulateurs de croissance des plantes sont essentiellement des substances synthétisées par les plantes qui agissent comme des molécules de signalisation et qui, à de très faibles concentrations, influencent divers processus physiologiques chez les plantes, tels que l'allongement cellulaire, la dominance apicale, la différenciation tissulaire, la division cellulaire et la communication intracellulaire (Cassán et al., 2014). Selon leur composition structurelle et leur réponse aux processus physiologiques qui se déroulent dans les plantes, ils sont divisés en cinq catégories principales : (1) les auxines, (2) les gibbérellines, (3) les cytokinines, (4) l'éthylène et (5) l'acide abscissique (Figure 6). Dans des conditions environnementales défavorables, les plantes maintiennent souvent leurs niveaux d'hormones endogène pour contrer les effets négatifs des conditions stressantes (Chen et al., 2022; Llanes et al., 2016).

La production de phytohormones est répandue parmi les bactéries associées aux plantes et au sol. Les réponses hormonales sont essentielles pour la croissance et le développement des plantes et pour atténuer les conditions de stress biotiques et abiotiques (Khan et al., 2020; Wahab et al., 2022). Parmi ces hormones, on retrouve les auxines, les gibbérellines et les cytokinines, qui jouent un rôle important dans les processus de développement des plantes et exercent une régulation de la croissance en situation de stress (Pal et al., 2023). Ci-dessous, nous aborderons brièvement certaines phytohormones produites par les bactéries et leur rôle dans la régulation du développement des plantes.

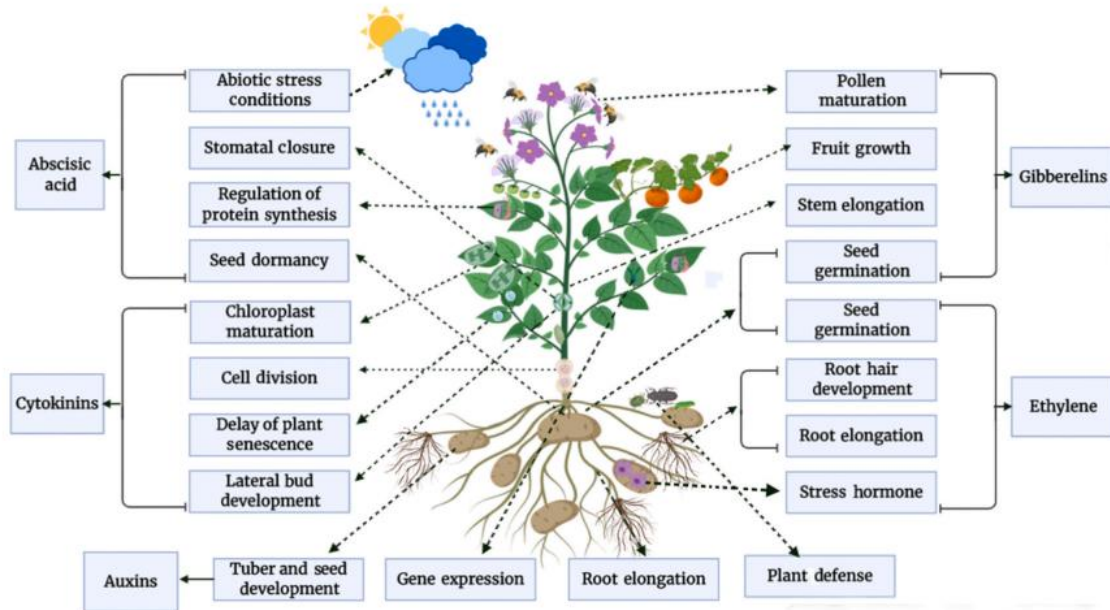


Figure 6: Différents effets des phytohormones produites par les PGPR pour induire des changements dans la croissance des plantes (Khattoon et al., 2020).

IV.1. Production de l'Acide Indole Acétique (AIA)

Historiquement, l'auxine synthétisée par les PGPRs est considérée comme le principal mécanisme utilisé par les bactéries pour faciliter la croissance des plantes. De plus, parmi les auxines biologiquement actives, la plupart de la littérature scientifique se concentre sur l'acide indole-acétique (AIA), de sorte que les termes AIA et auxine sont souvent utilisés de façon interchangeable (Orozco-Mosqueda et al., 2023).

L-tryptophane est un précurseur important pour la production d'AIA par les bactéries (Wagi and Ahmed, 2019). La première étape de cette voie est la conversion catalysée par l'aminotransférase du tryptophane en indole-3-pyruvate. Dans la deuxième étape, l'indole-3-pyruvate est converti en AIA en présence d'une monooxygénase contenant de la flavine (Matthes et al., 2019). En outre sur la base d'une combinaison d'études biochimiques et génétiques il existe quatre voies majeures dépendantes du tryptophane sont impliquées dans la synthèse microbienne de l'AIA ; ces voies sont nommées en fonction de leur composé intermédiaire : la voie de l'indole-3-acétamide, la voie de l'indole-3-acétonitrile, la voie de l'indole-3-tryptamine et la voie de l'indole-3-acide pyruvique qui représente la principale voie de production d'AIA chez les PGPR (Liu et al., 2016; Imada et al., 2017; Orozco-Mosqueda et al., 2023).

L'AIA favorise un large éventail de caractéristiques de croissance des plantes, y compris la croissance des racines et des pousses, l'élargissement des cellules, la colonisation bactérienne des racines, la différenciation des tissus vasculaires, la résistance aux agents pathogènes, la

stimulation de la division cellulaire et l'allongement des tiges et des racines (Du et al., 2020; Nascimento et al., 2020). Il a été rapporté que 90% des gènes liés à la croissance des racines sont régulés positivement par les auxines sur la base de l'analyse des données de séquençage du transcriptome (Zhang et al., 2018). De surcroît, la production d'AIA est l'un des mécanismes utilisés par le PGPB pour solubiliser le phosphate inorganique et le rendre assimilable par les plantes (Alemneh et al., 2020).

L'AIA se trouve couramment dans les plantes sous des formes conjuguées et inactives, la forme conjuguée représentant généralement environ 75% de l'AIA total dans les plantes. D'autre part une très grande proportion (~ 80-90%) des PGPB identifiées synthétisent de l'AIA, tels que *Acetobacter*, *Actinobacter*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bradyrhizobium*, *Serratia*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Kebssiella*, *Mesorhizobium*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Rouxiiella*, *Enterobacter*, et *Agrobacterium* (Duca et al., 2018, 2014; Oleńska et al., 2020; Patten et al., 2013; Tabassum et al., 2017).

IV.2. Cytokinines

Les cytokinines (CK) sont des dérivés des purines, dont la structure ressemble à celle de l'adénine (Liu et al., 2019). La forme la plus courante de cytokinine dans les plantes est la zéatine, isolée pour la première fois à partir de *Zea mays* (maïs) dans les années 1950 (Orozco-Mosqueda et al., 2023).

Les cytokinines jouent un rôle important dans de nombreux aspects de la croissance et du développement des plantes. Ils favorisent la division cellulaire ou la cytokinèse, régulent la dominance apicale en réponse aux stimuli environnementaux, contribuent à la germination des graines, augmentent la surface racinaire en favorisant l'allongement des racines adventives et latérales, et la formation de nodules. Les cytokinines interviennent dans le développement du système vasculaire en maintenant l'activité des méristèmes des racines et des pousses, la différenciation du xylème et du chloroplaste, la transition vers la phase de croissance reproductive, le développement des fleurs et des fruits, l'embryogenèse, la sénescence des feuilles, la signalisation nutritionnelle, les interactions plante-pathogène, ainsi que le transfert du signal des racines vers les pousses en cas de stress environnemental (Aloni et al., 2006; Arkhipova et al., 2007; Osugi and Sakakibara, 2015; Akhtar et al., 2020; Orozco-Mosqueda et al., 2023).

Basé sur des données biochimiques et des séquences d'ADN, en plus des cytokinines synthétisées par les plantes, certaines bactéries peuvent synthétiser des cytokinines, notamment

la zéatine, la zéatine riboside et l'isopentényladénine (Forni et al., 2017). Sa production a été enregistrée chez plusieurs espèces bactériennes à savoir *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Paenibacillus* et *Pseudomonas*. Il a été constaté que dans les conditions *in vitro*, en moyenne 90 % des bactéries de la rhizosphère synthétisent et libèrent des promoteurs de croissance de type cytokinines (Oleńska et al., 2020; Swarnalakshmi et al., 2020). La capacité de PGPR à synthétiser les cytokinines a été beaucoup moins étudiée que sa capacité à produire des auxines, bien que pratiquement toutes les revues de PGPR aient abordé la production microbienne de cytokinines. L'équilibre entre les niveaux d'auxine et de cytokinine est généralement considéré comme un régulateur clé de l'organogenèse des plantes et de la structure des racines. Comme certains PGPR sont capables d'induire ces deux hormones le rapport entre l'auxine et la cytokinine dans les tissus peut être important pour déterminer la réponse des plantes à l'inoculation par les rhizobactéries (Kudoyarova et al., 2019).

IV.3. Gibbérellines

Les gibbérellines ou l'acide gibbérellique (GA) sont des composés di-terpénoïdes tétracycliques, qui forment une très grande famille de composés apparentés comprenant environ 126 composés connus. Cependant, seuls quatre membres de cette famille semblent avoir une activité biologique. Les gibbérellines biologiquement actives sont GA1, GA3, GA4 et GA7. La gibbérelline GA3 est la forme la plus courante de cette hormone végétale. D'autres gibbérellines (inactives) peuvent être impliquées dans la biosynthèse ou la dégradation des gibbérellines actives (Yamaguchi, 2008; Swarnalakshmi et al., 2020; Orozco-Mosqueda et al., 2023).

Les gibbérellines sont impliquées dans plusieurs processus physiologiques de développement chez les plantes. Ce sont des régulateurs clés de la formation et la croissance des organes reproducteurs et de la maturation des fruits et des graines viables (Plackett and Wilson, 2017). Elles régulent positivement la division et l'élongation cellulaire, stimulent la croissance de l'hypocotyle, de la tige, des feuilles, la croissance des racines et la prolifération des poils absorbants (Yamaguchi, 2008; Martínez et al., 2016; Binenbaum et al., 2018). Les gibbérellines agissent ainsi comme des molécules de signalisation pour la plante hôte dans des conditions de stress et de non-stress (Goswami and Deka, 2020). Elles sont capables à la fois de stimuler la germination des graines et de l'inhiber à température élevée (Urbanova and Leubner-Metzger, 2016).

Semblable aux auxines et aux cytokinines, la production de GA n'est pas limitée aux plantes mais se produit également couramment chez les champignons et les bactéries.

Cependant, la fonction des GA dans ces organismes n'est pas bien connue ; elles peuvent agir comme facteurs de signalisation pour les plantes hôtes, par exemple dans l'association symbiotique des Rhizobiaceae avec les légumineuses (Ryan et al., 2017a; Ryan et al., 2017b; Nett et al., 2022) En effet, le premier rapport sur la caractérisation des gibbérellines chez les bactéries a été porté sur des cultures gnotobiotiques de *Rhizobium meliloti*, dans lesquelles la présence de GA1, GA4, GA9 et GA20 a été détectée (Atzorn et al., 1988). À partir de ce temps-là, la synthèse de GA a été confirmée dans de nombreux genres bactériens, notamment *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Diazotrophicus*, *Herbaspirillum*, *seropedicae*, *Bacillus*, *Azospirillum*, et *Rhizobia* (Gutiérrez-Mañero et al., 2001; Ryan S. Nett et al., 2017; Nagel et al., 2018; Nett et al., 2022).

Le GA3 est le plus souvent produit par des bactéries, cette phytohormone protège les plantes du stress biotique et abiotique en modulant les niveaux d'antioxydants par la diminution de la superoxyde dismutase, des flavonoïdes et des scavangers des radicaux (Goswami and Deka, 2020). Les gibbérellines produites par les bactéries, stimulent l'absorption d'ions calcium et d'autres nutriments qui sont efficaces pour moduler le stress salin en réduisant la peroxydation des membranes lipidiques (Carlson et al., 2020).

De nombreux rapports ont confirmé que la gibbérelline produite par les bactéries stimule la croissance, le rendement et la tolérance des plantes aux stress abiotiques (Lee et al., 2015; Kang et al., 2017; Revolti et al., 2018; Kang et al., 2019).

V. Production d'aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase

L'éthylène est une hormone végétale qui favorise le mûrissement des fruits ainsi que plusieurs autres réactions physiologiques au cours du cycle de vie des plantes. Dans la voie de biosynthèse de l'éthylène, la S-adénosylméthionine (S-AdoMet) est convertie par la 1-aminocyclopropane-1- carboxylate synthase (ACS) en 1- aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) (Figure 7), le précurseur immédiat de l'éthylène qui se synthétise en excès dans les plantes soumises à un stress hydrique et salin, provoquant une cascade d'effets néfastes qui retardent la croissance des plantes par obstruction de la germination des graines et du développement des racines (Vurukonda et al., 2015; Chandra et al., 2021).

En conditions de stress salin et hydrique, diverses bactéries peuvent interférer avec l'activité de l'ACC en produisant de l'ACC désaminase, qui abaisse le niveau d'éthylène par décomposition de la molécule d'ACC en α -ketobutyrate et en ammonium en fournissant l'azote

et l'énergie nécessaires à la croissance des plantes, ainsi il favorise l'élongation des racines ce qui améliore l'absorption de l'eau (Etesami et al., 2020).

Sous stress hydrique, la souche *Achromobacter piechaudii* ARV8 produit de l'ACC désaminase, ce qui entraîne une augmentation significative du poids frais et sec des plants de tomate et de poivron (Vurukonda et al., 2015). De plus, certaines souches de *Bacillus amyloliquefaciens* et *Agrobacterium fabrum* ont montré leurs capacités à améliorer le rendement du blé par la production de l'ACC désaminase, que ce soit lors d'une inoculation simple ou d'une co-inoculation (Zafar-ul-Hye et al., 2019).

Des études ont montré que les rhizobactéries vivant dans des zones avec des ressources en eau limitées et des périodes de sécheresse répétées ont une plus grande capacité à s'adapter au stress hydrique et à améliorer la croissance des plantes par rapport à celles isolées dans des zones où l'eau est abondante (Vurukonda et al., 2015). En ce qui concerne le stress salin, plusieurs bactéries telles que *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Variovorax paradoxus*, *Enterobacter sp.*, *Arthrobacter sp.* et *Bacillus sp.* ont montré leurs capacités à réduire les niveaux d'éthylène dans les plantes (Etesami et al., 2020). Par exemple, l'inoculation de l'arachide avec *Pseudomonas fluorescens*, de la tomate avec *Streptomyces sp.*, du blé avec *Serratia sp.* et du pois avec *Arthrobacter protophormiae* a montré un pouvoir protecteur des plantes contre le stress, grâce à la production d'ACC désaminase (Saber Rish et al., 2021).

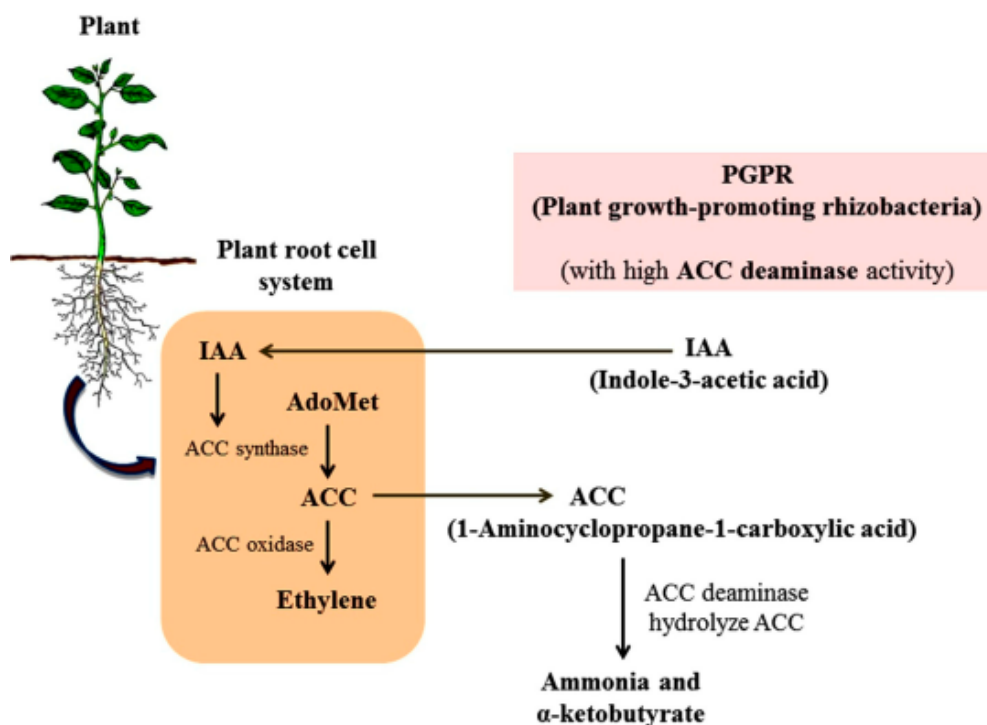


Figure 7: Rôle des PGPR dans la régulation de l'éthylène et la croissance des plantes (Chandra et al., 2021)

VI. Biocontrôle

VI.1. Production des sidérophores

Le fer est un cofacteur nécessaire à la croissance des organismes vivants. Il existe sous deux états en solution aqueuse, Fe^{2+} et Fe^{3+} , cependant les formes Fe^{3+} ne peuvent pas être utilisées par les plantes ou les microorganismes, car elles créent des oxydes et des hydroxydes insolubles, limitant ainsi leur biodisponibilité (Kumar and Meena, 2019). Les sidérophores sont des molécules organiques de faible poids moléculaire (500 à 1500 Da) dotées de chaînes latérales et de groupes fonctionnels capables de fixer les ions ferriques. Ils ont une affinité élevée pour les ions ferriques (Fe^{3+}), qui sont générés par les microbes et les plantes en réponse à des conditions de carence en fer (Wang et al., 2022). Les sidérophores chélatent le fer ferrique dans l'environnement entourant la zone de sécrétion; la reconnaissance des complexes sidérophores de Fe par les protéines des récepteurs membranaires facilite l'absorption du fer dans les cellules microbiennes et végétales (Al-Karablieh et al., 2022). Il existe une très grande diversité de sidérophores bactériens avec plus de 500 types identifiés à ce jour, de structures chimiques différentes. Ils se répartissent en quatre familles principales selon le groupe fonctionnel caractéristique impliquées dans la chélation du fer, les hydroxamates, les catécholates, les carboxylates et les phénolates (Bellavita et al., 2023). La plupart des sidérophores bactériens sont des catécholates (centérobactine), et certaines sont des carboxylates (rhizobactine) et des hydroxamates (ferrioxamine B). Cependant, il existe aussi certains types de sidérophores bactériens qui contiennent un mélange des principaux groupes fonctionnels (pyoverdine) (Ahmed and Holmström, 2014). En tant que principale classe de sidérophores, les hydroxymates sont produits par les bactéries telles que : *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Micrococcus luteus*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Methylobacterium zatmanii*, *Streptomyces coelicolor*, *Yersinia pestis* et *Halorubrum saccharovorum*, les Catécholates sont produits par : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus thuringiensis*, *Vibrio cholera*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Paracoccus denitrificans* et *Aeromonas hydrophila*. Tandis que les Carboxylates sont produits par : *Rhizobium meloti*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus aureus*, *Halococcuss accharolyticus*, *Halorubrum saccharovorum*, *Haloterrigena turkmenica* et *Halogeometricum* sp. (Patra et al., 2017).

La production des sidérophores est une stratégie efficace utilisée par les bactéries, les champignons et les plantes pour surmonter le manque en fer et lutter contre les pathogènes du sol. La stabilité des complexes sidérophores-fer est un facteur important de l'efficacité des

sidérophores. L'application des microorganismes bactéries et champignons ayant la capacité de produire les sidérophores devient une stratégie économiquement précieuse pour remédier à la carence en fer, améliorer la croissance des plantes et réduire les pertes causées par les microorganismes pathogènes.

VI.2. Production du cyanure d'hydrogène (HCN)

Le cyanure d'hydrogène (HCN) est parmi les métabolites secondaires produits par certaines bactéries du sol, par exemple *Pseudomonas sp*, *Bacillus sp* et *Sphingobacterium sp*. Le précurseur de la production microbienne de HCN dans la rhizosphère est l'acide aminé glycine, qui est présent dans l'eau interstitielle du sol et dans les exsudats racinaires (Sehrawat et al., 2022). L'HCN est considéré comme étant un agent de biocontrôle potentiel en raison de son effet toxique contre les agents pathogènes, il interfère avec la respiration cellulaire chez les eucaryotes en inhibant l'activité du cytochrome C oxydase dans les mitochondries. Il se lie également à plusieurs autres métalloprotéines et les désactive (Singh et al., 2019). Cette inhibition de la respiration aérobie en bloquant la chaîne de transport des électrons mitochondriaux entraîne une hypoxie histotoxique, qui augmente l'acidose de la réduction anaérobie du pyruvate en acide lactique. La cyanogenèse bactérienne est généralement présente dans certaines bactéries de genre *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Chromobacterium*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Rhizobium* et cyanobactéries (Sehrawat et al., 2022). D'autre part, Rijavec et Lapanje (2016), ont signalé que l'HCN contribue à l'amélioration de la nutrition des plantes, car il a l'aptitude de chélater les ions métalliques ce qui aide indirectement à l'augmentation de la biodisponibilité de certains nutriments notamment le phosphore.

VI.3. Production des enzymes lytiques

Les enzymes lytiques telles que la chitinase, la pectinase, la cellulase, β -1,3-glucanase, la peroxydase, la protéase, phénylalanine ammonia lyase, et la lipase sécrétées par une variété de microorganismes bactéries et champignons perturbent la fonctionnalité des agents pathogènes en hydrolysant la chitine, la pectine et la cellulose (Aioub et al., 2022; Asril et al., 2022; Khalil et al., 2022; Patra et al., 2017; Santoyo et al., 2021; Swiontek Brzezinska et al., 2014; Vivekananthan et al., 2004). Les enzymes lytiques jouent un rôle pivot dans la suppression directe des agents phytopathogènes, ce qui conduit à la réduction des dommages aux plantes (Dimkić et al., 2022). La chitinase et la β -1,3-glucanase dégradent la paroi fongique et entraînent la lyse cellulaire. En outre, les oligomères de chitine et de glucane libérés lors de

la dégradation de la paroi cellulaire fongique, par l'action d'enzymes lytiques, agissent comme des éliciteurs qui déclenchent divers mécanismes de défense chez les plantes (Gajera et al., 2013; Saravanakumar et al., 2007). C'est le cas de *B. thuringiensis* UM96, une bactérie rhizosphérique qui produit la chitinase contre l'agent pathogène *B. cinerea* responsable de la moisissure grise (Santoyo et al., 2021).

L'amélioration de la croissance par l'activité enzymatique est un mécanisme utilisé par les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes. Grâce à l'activité de ces enzymes, les PGPR jouent un rôle très important dans la promotion de la croissance des plantes, en particulier pour les protéger des stress biotiques et abiotiques en supprimant les champignons pathogènes (Odhiambo, 2022). Parmi ces bactéries ; *P. fluorescens*, *B. megaterium*, *B. subtilis* et *B. cereus* avec leurs produits métaboliques ont montré un effet significatif dans la lutte contre la pourriture des racines et les maladies du flétrissement chez les plantes de la fève causées par *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* et par conséquent, favorisent la croissance des plantes de la fève (Khalil et al., 2022).

VI.4. Production d'antibiotiques

Les PGPR produisent une multitude de métabolites secondaires pouvant lutter contre les agents nuisibles présents dans la rhizosphère, surtout les antibiotiques (Chowdhury et al., 2020). Parmi les trois groupes majeurs d'antibiotiques produits par la plupart des PGPR, les polycétides tels que le 2,4-Di-acétyl Phloroglucinol, qui est produit par de nombreuses souches bactériennes telles que *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* et *Serratia*, via la condensation de trois molécules d'acétyl-CoA et une de malonyl-CoA sous l'action de l'enzyme polycétide synthase (Kenawy et al., 2019). Il a des effets antibactériens, antifongiques, antihelminthiques et phytotoxiques (Gouda et al., 2016; Kenawy et al., 2019). Le second groupe inclus les composés azotés hétérocycliques comme la phénazine et ses dérivés, rencontrés généralement chez les espèces *pseudomonas* sp, *Streptomyces* sp et *Alcaligenes* sp. Ils présentent un effet antifongique contre *Fusarium* sp, *Rhizoctonia* sp, *Pythium ultimum*, *Phytophthora* sp, *Alternaria panax*, *Colletotrichum* sp, *Cochliobolus miyabeanus* et *Botrytis cinerea* (Wang et al., 2021). Les lipopeptides qui sont en général sous forme cyclique ou linéaire, constituent le troisième, groupe d'antibiotiques produits par les PGPR. Ils sont souvent isolés à partir de *pseudomonas* sp et *Bacillus* sp, à titre d'exemple, la surfactine (Pršić and Ongena, 2020). Ces lipopeptides cycliques produit par *Bacillus* sp, agissent en formant des pores et en perturbant la membrane cellulaire des agents pathogènes

grâce à leur structure amphiphilique qui leur permet de s'insérer dans la bicouche lipidique de la membrane plasmique (Pršić and Ongena, 2020).

VII. Induction de la résistance systémique (ISR) chez les plantes.

Depuis la découverte en 1991 que les microbes non pathogènes dans la rhizosphère peuvent déclencher la résistance systémique (Wei et al., 1991), une multitude d'études se sont penchées dans le mécanisme moléculaire derrière ce phénomène. La résistance systémique induite ISR est un état de défense, dans lequel il permet aux plantes de répondre plus efficacement à l'infection par un agent pathogène, étant donné qu'il y a un changement dans la réponse physiologique et métabolique de la plante, contre plusieurs agents pathogènes (Messa, 2021). La ISR peut-être déclenchée par les PGPR soit par renforcement de l'intégrité structurale (physique et résistance mécanique) de la paroi cellulaire ou en modifiant les réactions physiologiques et biochimiques de l'hôte, les PGPR activent le système de défense de la plante à travers différentes étapes et voies, et sont améliorées après interaction avec l'agent pathogène (Ramamoorthy et al., 2001). Ce phénomène mène à la production de signaux chimiques de défense comme la chitinase, la peroxydase et les inhibiteurs de la protéinase (Kannoja et al., 2019; Messa, 2021). Elle a été rapportée que la communication croisée entre la plante et les PGPR qui déclenchent la ISR réduit la sensibilité de la plante aux attaques par les pathogènes (Grover et al., 2021; Mitra et al., 2020). De nombreuses espèces de PGPR, en particulier *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Burkholderia*, *Kluyvera*, *Serratia*, *Flavomonas*, *Curtobacterium* et *rhizobium* ont été signalées pour jouer un rôle important dans la promotion de la croissance des plantes grâce au contrôle biologique d'un large éventail de phytopathogènes, en déclenchant la résistance systémique lorsqu'elles sont localisées dans la rhizosphère des plantes (Grover et al., 2021; Meena et al., 2020; Vallad and Goodman, 2004; Volpiano et al., 2019). Les protéines PR (Pathogenesis Related) ont été définies à l'origine comme des protéines qui s'accumulent à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules végétales après interaction avec un agent pathogène (Han et al., 2023; Luo et al., 2023). Cependant, le terme a été étendu à d'autres protéines également impliquées dans les mécanismes de défense mais exprimées de manière constitutive, telles que l'enzyme phénylalanine ammonia lyase (PAL) ou la lipoxygénase (LOX) (Akram et al., 2008; Tajik et al., 2019). La PAL est une enzyme clé de la voie des phénylpropanoïdes, elle est impliquée dans les réponses de défense des cellules végétales (Tajik et al., 2019). Cette enzyme conduit, entre autres, à la synthèse de l'acide salicylique (SA), molécules formant la lignine, ou à la synthèse de précurseurs utilisés par

d'autres voies métaboliques pour produire des phytoalexines (Tajik et al., 2019; Kobyletska et al., 2022). La LOX est impliquée dans la conversion des composés lipidiques, Elle joue un rôle important dans la gestion des interactions plante - agent pathogène, en activant des mécanismes de réponse et de défense tels que la génération de dommages à la membrane, la production de molécules signale (l'acide jasmonique) et la synthèse de substances fongitoxiques via la voie de l'oxylipine (Leone et al., 2006; Ongena et al., 2007; Akram et al., 2008; Singh and Singh, 2018). Ces enzymes permettent donc la production de métabolites qui sont directement toxiques pour le pathogène mais peuvent également indirectement ralentir sa progression en favorisant la mort cellulaire en endommageant les membranes cellulaires (Suresh et al., 2022; Alijani et al., 2023).

VIII. Tolérance aux stress environnementaux

Bien que des avancées aient été réalisées dans le domaine de la technologie agricole afin d'augmenter la production alimentaire, les contraintes environnementales abiotiques perturbent encore la productivité agricole. Les principaux stress abiotiques dans le monde sont la sécheresse, la salinité, la température (y compris le changement climatique global), la carence minérale, la toxicité des métaux lourds, etc. Les stress abiotiques et biotiques jouent un rôle essentiel dans la régulation de la productivité des cultures. Les facteurs de stress abiotiques, tels que la sécheresse prolongée, les précipitations excessives, les inondations et les effets néfastes des vagues de chaleur et du froid, connaîtront une augmentation future en raison des changements climatiques.

Les plantes adaptent plusieurs stratégies d'adaptation nécessaires pour faire face aux contraintes environnementales. L'évolution de meilleures variétés de cultures capables de surmonter les stress biotiques et abiotiques s'avère très importante. Cependant, le développement de nouvelles variétés contre les stress abiotiques est un processus long. Les stratégies alternatives sont donc nécessaires pour lutter contre les stress environnementaux. Les mécanismes de lutte biologique comme l'utilisation de microbes bénéfiques peuvent jouer un rôle important dans la lutte contre les stress abiotiques. Ces micro-organismes peuvent accroître la tolérance des plantes aux stress biotiques et abiotiques.

VII.2. Tolérance à la salinité

Les conditions de stress salin (salinité et sodicité) représentent une menace majeure pour les cultures, ils sont responsables d'une baisse du rendement annuel de 4 à 6,5 % à l'échelle mondiale. Dans les sols touchés par le sel, une forte concentration d'ions de sodium et de chlorure influent sur la disponibilité et l'absorption des nutriments essentiels aux racines des

plantes (Chakraborty et al., 2016), ce qui entraîne une perte d'éléments nutritifs, de mauvaises caractéristiques du sol et un déséquilibre des éléments nutritifs essentiels, et par conséquent, une réduction de la productivité des cultures (Pandey, 2020; Breš et al., 2022).

En plus de ce qui améliore l'absorption des nutriments, la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphore et d'autres éléments essentiels, les PGPR peuvent protéger les plantes contre les effets nocifs des stress environnementaux, y compris les inondations, la sécheresse, la salinité, les métaux lourds et les phytopathogènes (Tank and Saraf, 2010). Les PGPR peuvent augmenter la tolérance des plantes à la salinité, agissant principalement par l'accumulation d'osmolytes, ce qui améliore l'absorption des nutriments, la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphore et d'autres éléments essentiels (Vocciante et al., 2022).

Plusieurs travaux ont signalé que les bactéries isolées des environnements semi-arides arides ou salins sont capables de survivre à des concentrations salines inhibitrices par rapport à celles isolées d'habitats non salins (Rabhi et al., 2022). Ainsi, les travaux de (Habib et al., 2016) sur des rhizobactéries isolées du sol salin ont révélé que des bactéries sélectionnées pour leurs activités PGP ont montré des propriétés importantes de tolérance au sel. Ces bactéries ont été identifiées comme *Enterobacter sp.* et *Bacillus megaterium*. D'autres études ont également montré que des souches bactériennes isolées du sol alcalin peuvent solubiliser les phosphates à des concentrations élevées de sel et des pH et des températures élevées (Johri et al., 1999; Nautiyal et al., 2000; Behbahani and Behbahani, 2009). La capacité des BSP à résister aux conditions environnementales défavorables telles que la salinité élevée, le pH élevé / bas et la température élevée est non seulement importante pour leur survie dans les sols agricoles, mais peut aussi être considérée comme un critère de sélection pour un biofertilisant (Johri et al., 1999). La capacité de solubilisation du phosphate et de produire d'autres traits PGP en présence de concentrations élevées de sel a été étudiée par plusieurs chercheurs. en effet, l'augmentation de la concentration de NaCl, induit une augmentation du taux de solubilisation de phosphate par les bactéries (Jha et al., 2013; Edulamudi et al., 2014; Khan et al., 2019; Srivastava and Srivastava, 2020; Mishra et al., 2021; Rabhi et al., 2022). De nombreux microorganismes du sol capables de tolérer la présence de sel même à des concentrations élevées ont été identifiés et caractérisés. Ces bactéries appartenant principalement aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Streptomyces* et *Ochromobactrum*, tolérant jusqu'à 150 g/L de NaCl (Zhang et al., 2018; Vocciante et al., 2022), ce qui les rend d'excellents candidats pour alléger le stress salin des plantes.

VIII.2. Résistance à la température

Parmi les facteurs de stress abiotiques, le stress thermique est décrit comme l'un des principaux facteurs limitants la croissance des cultures à l'échelle mondiale, en effet les températures élevées ou basses provoquent une série d'événements en cascade physiologiques, moléculaires et biochimiques qui finissent par réduire le rendement des cultures (Mitra et al., 2021; Shaffique et al., 2022). Parmi tous les stress abiotiques, le stress thermique a l'effet le plus dévastateur sur le métabolisme et la croissance des plantes. En effet, le stress thermique augmente la morbidité et la mortalité des plantes et détériore leur qualité et si la durée du stress thermique augmente, il peut provoquer des changements irréversibles, tels que la destruction cellulaire, dans les cellules végétales (Mitra et al., 2021; dos Santos et al., 2022; Haider et al., 2022; Perrella et al., 2022). Assurer le rétablissement et la survie des plantes devient un défi majeur (Memmott et al., 2007; Drake, 2014; Trivedi et al., 2022). De plus, vu que le réchauffement de la planète s'aggrave au quotidien, il est urgent de mettre en place des stratégies pour améliorer la thermotolérance des plantes. Diverses mesures peuvent être prises pour minimiser le stress thermique. En outre, les bactéries sont des éléments vivants fondamentaux sur Terre qui assurent la durabilité des plantes contre divers stress tout en fournissant des nutriments essentiels et en renforçant leur résistance contre les maladies (Meena et al., 2017; Zia et al., 2021; Tanaka and Houtan, 2022). L'application microbienne est une technique avancée, acceptée à l'échelle mondiale, respectueuse de l'environnement et durable qui utilise les bactéries pour atténuer les effets létaux du stress environnementaux. Les interactions plantes-bactéries améliorent l'accessibilité des plantes aux matières organiques. Elles jouent également un rôle important dans l'agriculture et l'écologie durables. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes améliorent en synergie la croissance des plantes en produisant des phytohormones, en minimisant les niveaux de stress et en améliorant l'état nutritionnel des plantes (Ahmad et al., 2018; Curá et al., 2017; Mitra et al., 2021; Sarikhani et al., 2019). Il est donc important d'exploiter la communauté microbienne qui contribue à fournir aux plantes une résistance contre les différents stress environnementaux. Seules quelques études au Maroc ont signalé des interactions plantes-bactéries dans la lutte contre le stress thermique dans les plantes.

Les chercheurs s'intéressent de plus en plus à l'utilisation de microorganismes bénéfiques pour minimiser les effets liés au stress thermique. Les interactions complexes entre les plantes et les microbes permettent d'atténuer le stress thermique. Ces interactions sont favorisées par la production de phytohormones, de sidérophores, d'expression génétique, d'osmolytes et de composés volatils dans les plantes (Shaffique et al., 2022). Elles permettent l'amélioration de

l'activité antioxydante et l'accumulation d'osmolytes compatibles tels que la proline, la glycine bêtaïne, le sucre soluble et le tréhalose, et enrichissent l'état nutritionnel des plantes stressées (Anli et al., 2020; Shekhawat et al., 2022). (Chang and Yang, 2009) ont rapporté que les souches bactériennes telles que *Streptomyces thermonitrifica*, *Streptococcus thermophiles*, *B. licheniformis*, *B. smithii*, et *B. coagulans* ont la capacité de solubiliser le phosphate et effectué la fixation de l'azote à des hautes températures. En outre, plusieurs souches de rhizobium fixatrices d'azote et thermotolérantes peuvent synthétiser des protéines de choc thermique (Goyal et al., 2021; Moynihan et al., 2022). Dans une autre étude l'inoculation des plates de soja par une souche thermotolérante de *Bradyrhobium japonicum* améliore l'absorption d'azote et de la production de matière sèche des plantes de soja (Asadi Rahmani et al., 2009).

VIII.3. Résistance aux métaux lourds

Depuis plusieurs décennies, les activités humaines engendrent une production de plus en plus importante de produits chimiques et de pesticides, potentiellement toxiques, peuvent être déversés accidentellement ou non dans l'environnement. Plusieurs techniques de traitement ont vu le jour afin de tenter de restaurer les sites pollués classés dangereux pour les écosystèmes et la santé humaine. Ces techniques emploient des procédés mécaniques, physiques, chimiques et biologiques afin d'éliminer les contaminations (Khan et al., 2004). La bioremédiation des métaux lourds est considérée comme la méthode la plus efficace pour éliminer les métaux toxiques, car il s'agit d'une technique naturelle, respectueuse de l'environnement, peu coûteuse et largement approuvée. L'une de ces technologies est l'utilisation de bactéries pour la biorestauration des métaux lourds, ce qui est essentiel compte tenu du changement climatique mondial et de l'utilisation excessive d'engrais dans les sols agricoles (Tiwari and Lata, 2018). Bien que les PGPR soient généralement utilisées pour promouvoir la croissance des plantes et lutter contre leurs maladies, une grande attention a été portée récemment à la bioremédiation par les PGPR. En effet, la compétence de la phytoremédiation peut être améliorée en développant l'association des plantes avec des bactéries résistantes aux métaux lourds (Zhuang et al., 2007). Les PGPR jouent un rôle essentiel dans l'adaptation de la plante hôte à des environnements contaminés par des métaux lourds. En effet, ces microorganismes impliquent des mécanismes pour la prévention de la toxicité de la plante grâce à la sécrétion de nombreux composés, tels que les phytohormones, l'ACC désaminase et les sidérophores (Figure 8). Elles peuvent également faciliter la réduction de la phytotoxicité des métaux par la biosorption, de grandes quantités de métaux lourds peuvent être adsorbées par les cellules microbiennes (Shinwari et al., 2015, 2019).

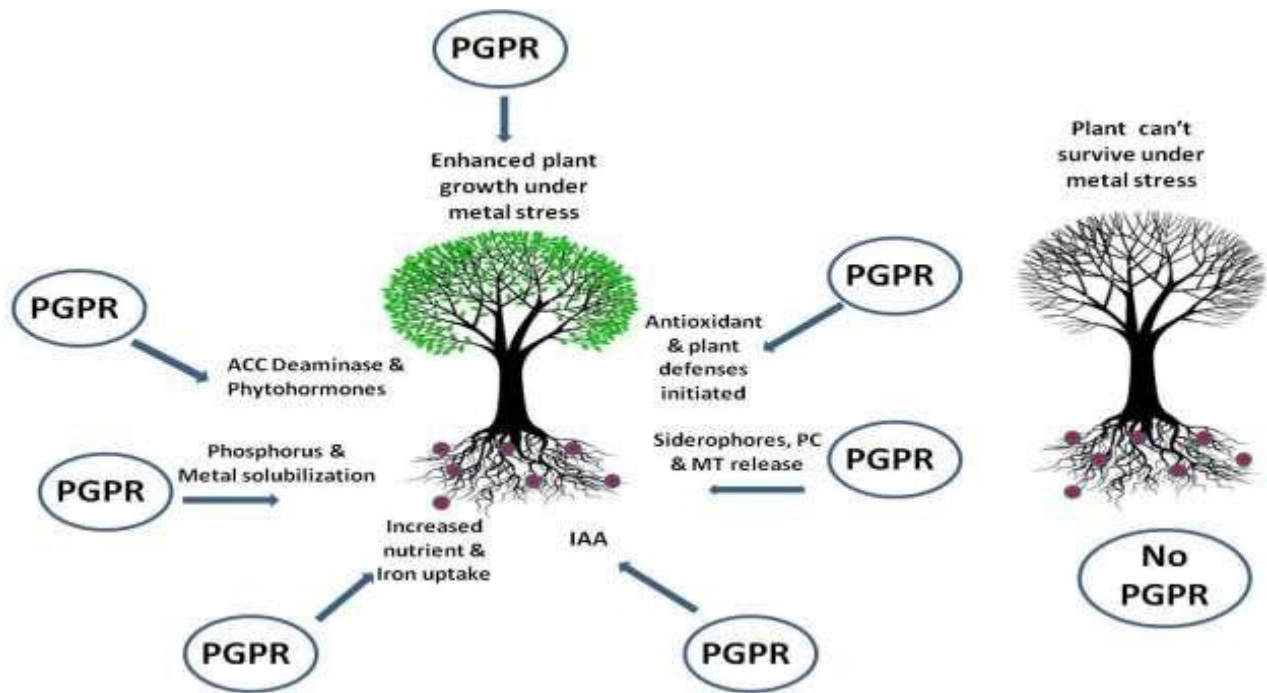


Figure 8: L'amélioration de la croissance des plantes en présence des PGPR sous stress par les métaux lourds (Shinwari et al., 2015).

La tolérance et/ou la résistance aux métaux lourds chez les microorganismes est une condition nécessaire à leur utilisation dans les sols contaminés par les métaux lourds afin de réduire la mobilité de ces derniers. Bien que les métaux toxiques réduisent la diversité bactérienne de 99,9 % (Gans et al., 2005; Jing et al., 2007), certaines bactéries ont démontré une résistance aux métaux dans l'environnement dans lequel elles vivent, comme l'eau, le sol et les eaux usées industrielles et municipales (Bruins et al., 2000). Les bactéries développent la résistance aux métaux lourds par le biais d'une variété de mécanismes à médiation chromosomique, transposon et plasmidique. Il existe des systèmes de résistance pour les métaux nutritifs essentiels et pour les métaux non essentiels qui n'ont aucun rôle biologique. (Bruins et al., 2000; Etesami, 2018).

Les mécanismes impliqués dans la résistance bactérienne aux métaux sont résumés schématiquement dans la figure 9. Les sept mécanismes de résistance aux métaux connus chez les bactéries sont les suivants : l'exclusion du métal via une barrière de perméabilité ; la séquestration extracellulaire du métal via une liaison protéine/chélateur ; la séquestration intracellulaire du métal via une liaison protéine/chélateur ; la détoxification enzymatique du métal vers une forme moins toxique ; le transport actif du métal ; la tolérance passive ; et la réduction de la sensibilité du métal (Choudhary et al., 2017; Etesami, 2018; Ahemad, 2019). Les bactéries peuvent posséder un ou plusieurs de ces mécanismes de résistance. Cependant, la

présence de pompes ATPase sélectives des ions est le mécanisme de résistance aux métaux le plus fréquemment rencontré chez les bactéries (Etesami, 2018).

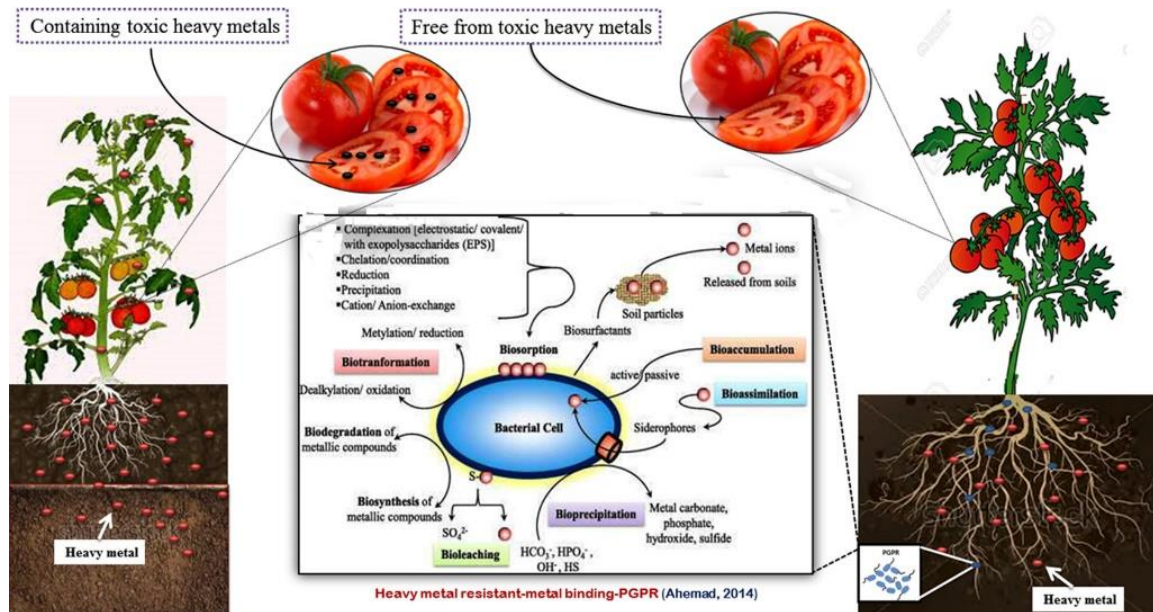


Figure 9: Mécanismes de résistance aux métaux développés par les bactéries (A) ; Principales familles de transporteurs impliqués dans la résistance aux métaux lourds (B) ; M représente le cation métallique (Etesami, 2018).

PARTIE II : METHODOLOGIE ET RESULTATS

CHAPITRE I : Bactéries solubilisatrices du phosphate et promotion de la croissance de l'haricot

I. Introduction

Le Maroc recèle une richesse inestimable en phosphate naturel, ce qui lui permet d'être le premier exportateur de phosphate (P) et de ses dérivés, avec 30% du marché mondial (Hakkou et al., 2016). Cependant, la production de phosphate génère des quantités importantes de boues d'extraction qui sont entreposées à ciel ouvert dans des bassins de décantation. Au fil du temps, ces boues s'accumulent en formant des digues qui altèrent le paysage et les terres cultivables (Benbrik et al., 2020a; El Maaloum et al., 2020). L'exploitation et la valorisation des boues de laverie de phosphates pourraient jouer un rôle essentiel dans l'économie du pays. L'une des initiatives prometteuses consiste à utiliser ces boues dans le secteur agricole sous forme de phospho-compost, visant ainsi à résoudre les problèmes de carence en phosphore des sols et à améliorer la productivité agricole (Benbrik et al., 2021). Les microorganismes solubilisant le phosphate, fréquents dans les sols et les rhizosphères des espèces végétales, peuvent être utilisés dans la correction de cette carence en phosphore (Singh et Kapoor, 1999). En effet, il a été démontré que les bactéries sont des meilleures candidates écologiques pour la nutrition des plantes par le phosphore (Sharma et al., 2007), car, elles possèdent des aptitudes de solubilisation du phosphate et la capacité de convertir les composés phosphatés insolubles présent dans le sol via différents mécanismes d'action à des formes solubles utilisable par les plantes (Pradhan et Sukla, 2006). Par ailleurs, la rhizosphère d'olivier est une source riche en micro-organismes qui favorisent la croissance de la plante et sa tolérance aux différents défis environnementaux (Cheba et Abdelzaher, 2020; Dede et al., 2020; Gómez-Godínez et al., 2021; Lahsini et al., 2022). En effet, les racines des plantes produisent une variété de substances organiques qui enrichissent la rhizosphère et favorisant la croissance des plantes et fournissent de l'énergie aux microorganismes du sol (Omotayo et Babalola, 2021). Parmi ces microorganismes, les bactéries solubilisatrices de phosphate (PSB), qui sont un type de communauté bactérienne qui peuvent interférer directement ou indirectement avec les réponses des plantes aux contraintes environnementales (Alori et al., 2017).

Récemment, l'utilisation de BPS comme biofertilisant a pris de l'ampleur pour surmonter le problème de la carence en P pour les plantes et ainsi réduire l'utilisation d'engrais chimiques qui ont un impact négatif sur l'environnement (Manzoor et al., 2017; Kalayu, 2019; Maçik et al., 2020; Soumare et al., 2023). Ces bactéries peuvent soutenir la fertilité du sol et la productivité des cultures, même dans des

conditions environnementales difficiles, y compris les stress biotiques et abiotiques (Alori et al., 2017; Rawat et al., 2020; K. Mahmud et al., 2021; Soumare et al., 2023). Il a été rapporté dans le monde entier que l'utilisation des inoculums à base de BSP augmente la croissance et le rendement de plusieurs cultures (K. Mahmud et al., 2021). Au Maroc, des essais similaires d'inoculation ont été menés à l'aide de BSP isolés à partir de la roche phosphatée, qui ont montré des effets positifs sur la productivité des plantes (Benbrik et al., 2020a; El Maaloum et al., 2020a; Rfaki et al., 2020; Benbrik et al., 2021a; Azaroual et al., 2022). De plus, l'application de la boue de phosphate en combinaison avec des BSP dans des sols à faible teneur en phosphore entraîne une augmentation significative du rendement de différentes cultures, telles que le maïs (Benbrik et al., 2020b), le haricot (Benbrik et al., 2021a) et la tomate (Benbrik et al., 2021a; El Maaloum et al., 2020a).

Compte tenu de ce qui précède, plusieurs objectifs ont été fixés :

- Obtenir une collection bactérienne des boues de lavage de phosphate (rhizosphériques et non rhizosphériques) et analyser la diversité moléculaire de ces bactéries,
- Etudier leurs activités biologiques potentiellement bénéfiques pour les plantes (solubilisation de phosphate, production de phytohormones, production des siderophores et autres...)
- Evaluer le potentiel de l'inoculation par des souches élites sur la croissance de haricot vert (*P. vulgaris* L.), l'une des légumineuses les plus importantes au monde pour la consommation humaine directe.

Les résultats de la recherche présentés dans cette partie, ont fait l'objet de deux publications scientifiques distinctes.

La première publication s'intéresse à l'isolement et la caractérisation des bactéries solubilisatrices de phosphates à partir des boues phosphatées et l'évaluation de leur effet de promotion de la croissance sur *P. vulgaris*. Elle s'intitule "Valorization of Moroccan phosphate sludge through isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria and assessment of their growth promotion effect on *Phaseolus vulgaris*".

La deuxième publication est intitulée "Assessment of potent phosphate-solubilizing bacteria isolated from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge and their effect on common bean growth".

II. Article I: Valorization of Moroccan phosphate sludge through isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and assessment of their growth promotion effect on *Phaseolus vulgaris*

II.1. Présentation de l'article 1



Valorization of Moroccan Phosphate Sludge Through Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria and Assessment of Their Growth Promotion Effect on *Phaseolus vulgaris*

El Houcine Ait-Ouakrim¹ · Abdelghani Chakhchar^{2,3} · Cherkaoui El Modafar² · Allal Douira⁴ · Soumia Amir² · Saad Ibensouda-Koraichi⁵ · Bouchra Belkadi¹ · Abdelkarim Filali-Maltouf¹

Received: 30 July 2022 / Accepted: 16 January 2023
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2023

Abstract

Purpose Mining activities generate considerable quantities of wastes that are usually accumulated in the open air, and form dykes that disfigure the landscape and arable land. The present study aims to isolate and select the phosphate solubilizing bacteria (PSBs) from Phosphate Solid Sludge to improve the agronomic efficacy of phosphate bio-fertilizers.

Methods Thirty-one bacterial strains were isolated from the Moroccan phosphate sludge, from which 24 were retained after molecular phylogenetic analysis of 16S rRNA sequences and characterized biochemically, phenotypically, and genotypically. Strains with the best plant growth-promoting and tolerance to abiotic stress traits were therefore reselected for the biocontrol test against *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea* and inoculation trials of *Phaseolus vulgaris*.

Results The 24 selected strains have significantly different abilities to solubilize Moroccan rock phosphate, and the quantity of soluble phosphate varied between 3.25 and 140 µg/ml. Out of 24 selected PSBs, 33% were positive in tricalcium phosphate solubilization with a solubilization index ranging from 1.8 to 3.5. Furthermore, the selected strains could produce phytohormone (indole acetic acid), siderophores, hydrogen cyanide, and lytic enzymes (cellulase and chitinase). The majority of PSBs strains were resistant to extreme abiotic stresses (salinity, high temperature, and pH change) and tolerant to heavy metals (Fe, Zn, Cu, and Pb). Exhibiting the best results, the strains HFBP01, HFBP15, and HFBP26 identified as *Brevibacterium frigoritolerans*, *Bacillus valismortis*, and *Streptomyces venezuelae*, respectively, showed a significant in vitro antagonistic

✉ Abdelghani Chakhchar
chakhchar.ckr@gmail.com

¹ Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Centre de Biotechnologie Végétale et Microbienne Biodiversité et Environnement, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat, Morocco

² Centre d'Agrobiotechnologie et Bioingénierie, Unité de Recherche Labellisée CNRST (AgroBiotech-URL-CNRST 05), Faculté des Sciences et Techniques, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Morocco

³ Laboratoire Interdisciplinaire de Recherche en Bio-ressources, Environnement et Matériaux, Ecole Normale Supérieure de Marrakech, Université Cadi Ayyad, 40000 Marrakech, Morocco

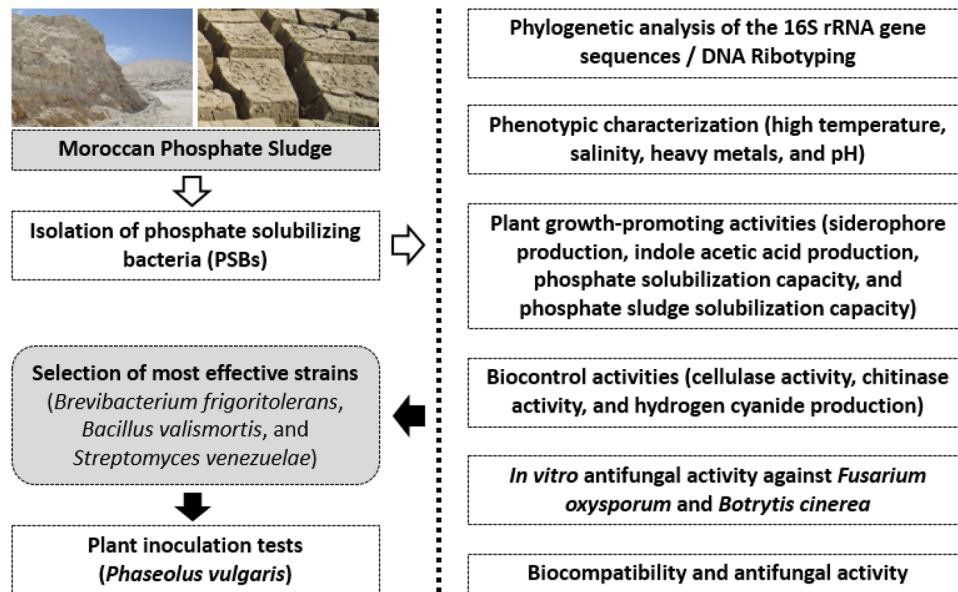
⁴ Laboratoire des Productions Végétales, Animales et Agro-industrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kenitra, Morocco

⁵ Laboratoire de Biotechnologie Microbienne et Molécules Bioactives, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Morocco

activity of about 50% and 34% against *F. oxysporum* and *B. cinerea*, respectively. Individual inoculation of *P. vulgaris* plants by HFBP26 and combined by HFBP01-HFBP15-HFBP26 consortium significantly increased shoot dry biomass by about 73.6% and 70.6%, respectively. The most significant root dry biomass increase was observed under inoculation by HFBP01-HFBP15 (5.2-fold).

Conclusion The three isolated PSBs from phosphate sludge could be used as potential biofertilizer candidates to increase plant productivity. Field-testing with the potential use of phosphate sludge will further elucidate their effects on plant growth.

Graphical Abstract



Keywords Phosphate sludge · Phosphate solubilizing bacteria · Plant growth-promoting · 16S rRNA sequences · *Phaseolus vulgaris* · Inoculation

Statement of Novelty

Valorization of Moroccan phosphate sludge impoundments by selecting the most efficient phosphate solubilizing bacteria (bacterial biomass) to be used as potential biofertilizer candidates to increase plant productivity.

Introduction

Morocco conceals inestimable wealth in natural phosphate, this allows it to be the leading exporter of phosphate (P) and its derivatives, with 30% of the world market [1]. Indeed, phosphate demand is satisfied by a few countries, five of which control 85% of the world's phosphate rock reserves (70% by Morocco, alone) [2]. Its production and valorization chain generate significant amounts of mining sludge stored in tailings ponds, usually accumulated in the open air, and end up forming dykes that disfigure the landscape and arable land. Recovery of phosphate mining waste (mining

waste and phosphate-laundersed sludge) and its reuse in the agricultural sector as phosphate biofertilizers, containing different types of beneficial microorganisms, could play an important role in solving soil phosphorus deficiency problems and improving agricultural production [3]. Generally, in agriculture, manufactured water-soluble P fertilizers such as superphosphates are frequently advised and recommended to treat P deficiencies, but as the majority of developing nations imports them, they are often in limited supply and require a significant financial investment from farmers with limited resources. Additionally, the intensification of agricultural output in these nations demands the addition of P to both raise crop productivity and to ameliorate the P status of the soil in order to prevent further soil degradation. Hence, it is crucial to investigate alternative P sources. Recycling phosphate sludge is mandatory to exploit optimally the quantities generated each year and integrate it into a circular economy. The reuse of phosphate sludge as a phosphate rock by-product has the potential to be sustainable and low-cost, especially where available locally, and has

been demonstrated to be an agronomically and economically sound alternative to the more expensive superphosphates [4]. In addition and according to a recent study of projected soil P losses, agricultural soils will lose 4–19 kg of P per year globally, with average P losses through water erosion accounting for more than 50% of all P losses [5]. Due to both P immobilization and environmental losses, farmers are required to apply twice as much or more P fertilizers than are actually required to achieve optimal yields. This indicates that global P fertilizer demand is likely to rise whereas P supply decline. Given that P fertilizers cost about US\$ 400 per ton, approximately US\$ 400 to US\$ 1.6 billion are annually lost with P fertilizers in crops all over the world [6]. This definitely means a significant rise in food prices for consumers. Faced with this issue, phosphate sludge is therefore a real and reliable alternative source of phosphorus for agriculture [3]. This phosphorus exists in various insoluble forms [1], while plants absorb readily available P pools as primary and secondary orthophosphate (H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , HPO_4^{3-}) [7]. Increasing its bioavailability requires the intervention of microorganisms including several Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) genera, which have the potential to mobilize insoluble forms of inorganic phosphates sources to soluble and assimilated forms for plants [7, 8].

Current agricultural production systems require high amounts of P fertilizers, however, the large estimated part (> 70%) of the excess P added by fertilizers remains in the soil in forms not readily available to crops whereas only a small part (~ 20%) of the annual P applied through fertilizers is directly available to the plant [9]. For this reason, several authors have reported using soil microorganisms for the solubilization of insoluble phosphate compounds by transforming unavailable P into plant-available forms as an alternative strategy to chemical fertilizers and a key to potentially exploiting their impact on agriculture [7, 10, 11]. Indeed, Phosphate Solubilizing Bacteria (PSBs) have mechanisms of P mobilization, through which they could supply adequate bioavailable P to plants by mobilizing bio-unavailable P in soil [11]. Bacterial genera like *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Kushneria*, *Paenibacillus*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Microbacterium*, *Bradyrhizobium*, and *Thiobacillus* are reported to be among the most powerful P-solubilizers bacteria in the soil [11–13]. PGPBs including PSBs mediate plant growth performance through direct and indirect mechanisms, which influence the plant growth activity and biological control of plant pathogens, respectively [11, 14]. Their direct mechanism refers to nutrient mobility *via* the solubilization of phosphate, zinc, potassium, etc. and to phyto-stimulation by phytohormone production, while the indirect mechanism involves the production of hydrogen cyanide

(HCN), antibiotic, siderophores, lytic enzymes, etc. [7, 10, 11].

In recent years, the use of PSBs as biofertilizers has gained momentum to overcome the phosphate deficiency problem for plants and thereby reduce the use of chemical fertilizers that negatively impact the environment [8–10, 15, 16]. Bio-solubilization of phosphate led to the design and formulation of biofertilizers with eco-friendly, cost-effective, and easy attributes to promote agricultural production. These biofertilizers can sustain soil fertility and crop productivity, even under challenging environments, including abiotic and biotic stresses [8–11, 14, 17]. The antagonistic activity of PSBs to mitigate biotic stress in plants is mainly due to the release of biocontrol active agents that have antipathogenic action [10]. Nonetheless, their abiotic stress adaptive mechanisms consist essentially to promote plant growth by acting as biostimulants, affecting soil agglomeration, and improving nutrient availability [11]. It has been worldwide reported that the implementation of PSBs inoculum increases the growth and yield of several crops [11]. In Morocco, inoculation trials using efficient PSBs isolated from the natural rock phosphate soils revealed a positive effect on the sustainable productivity of plants, including wheat [18, 19]. In addition, the application of phosphate sludge in combination with effective selected PSBs in poor soil has significantly increased the yield of different crops, such as *Zea mays* [3], *P. vulgaris* [20], and *Solanum lycopersicum* [20, 21].

Given the above background, our specific goals were: (i) to isolate and identify PSBs from the Moroccan phosphate sludge, (ii) to study their ability to recover phosphorus from the phosphate sludge under *in vitro* conditions, (iii) to characterize the multi-plant growth-promoting traits of bacterial isolates inhabiting the Moroccan phosphate sludge, and (iv) to assess its inoculation effect on common bean (*P. vulgaris* L.) plants growth, as one of the most important edible grain legumes worldwide for direct human consumption.

Materials and Methods

Sample Collection and Isolation of Phosphate Solubilizing Bacteria

This study was conducted in the phosphate mine located near Khouribga city in northeast Morocco (32° 44' 51.4" N 6° 50' 56.5" W). Samples from a phosphate sludge dated 1998 were collected and brought to the laboratory in sterile bags and stored at room temperature until their use. The bacteria were isolated by dilution method by suspending 1 g of phosphate sludge in 9 ml of a sterile saline solution (0.9% (w/v) NaCl in distilled water [22]). The mixture was then

stirred for 1 h at room temperature for homogenization of the soil particles. The homogenous soil suspension was fourfold serially diluted with the same sterile saline solution, and 0.1 ml of each dilution was spread onto a modified Pikovskaya agar medium (10.0 g glucose, 0.5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.5 g yeast extract, 0.2 g NaCl, 0.2 g KCl, 0.002 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.005 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1000 ml distilled water, 15.0 g agar, pH 6.8, and 5.0 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ as a phosphorus source). Three replicates for each dilution were made. The media was supplemented with cycloheximide (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) to prevent the growth of fungi. The seeded agar plates were incubated for 7 days at 28 °C and the colonies that developed have been isolated.

The purification of the isolates was performed by successful transplanting in Petri dishes containing Nutrient Broth (NB) medium. Once purified, the isolates were planted in a Nutrient Broth liquid medium and were incubated for 24 h at 28 °C. This first screening made it possible to isolate 31 isolates. Each isolate was coded and stored in 40% (w/v) of glycerol at −80 °C.

Chemical Analysis of Phosphate Sludge

Phosphate sludge pH was measured in water soil suspension (2:1 in volume) by a pH meter. Total potassium, nitrogen, and phosphorus were measured using a continuous-flow analyzer (San++ Automated Wet Chemistry Analyzer -SKLARR).

Genetic Characterisation

DNA Extraction, PCR 16S rRNA Amplification, and Sequencing

The genomic DNA was extracted according to the conventional phenol-chloroform protocol [23]. The quantity of DNA was determined by using a NanoDrop spectrophotometer (NanoDrop ND2000/2000c, Thermo Fisher Scientific, United States). The 16S rRNA gene was amplified by Polymerase chain reaction (PCR) method, using the two universal primers fD1 and rD1 as indicated earlier [24]. The PCR was carried out for 35 cycles (95 °C for 10 s, 56 °C for 40 s, and 72 °C for 2 min), with a final elongation step at 72 °C for 4 min, PCR was performed using a MyTaq Mix, following manufacturer's specifications (Bioline Reagents Ltd.). PCR products were analyzed by horizontal electrophoresis in 1% agarose (Bioline) gels stained with ethidium bromide (EtBr) to a final concentration of 0.4% (p/w) (usually 2.5 ml of lab stock solution per 100 ml gel) in 100 ml of Tris-acetate-EDTA (TAE) buffer at 80 V for 45 min. The profiles were photographed with ENDURO GDS Gel Documentation System. The amplified DNA samples were sent to the

sequencing service at the functional genomics platform of the Technical Support Unit for Scientific Research, CNRST in Rabat-Morocco. The sequences obtained were compared to those from GenBank using the BLASTN program [25]. They were aligned with Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA X software) [26]. Distances calculated according to Kimura's two-parameter model [27], were used to infer phylogenetic trees with the neighbor-joining analysis [28]. The strain *Thermotoga maritima* MSB-8 (NR 029163.2) was used as an external reference taxon in the construction of the phylogenetic trees.

DNA Ribotyping

For amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA), each purified PCR amplified product was separately digested with four restriction endonucleases EcoRI, HaeIII, MboII, and Sau3AI, (PromegaCorp. Madison WI, USA), following the manufacturer's instructions. Digested DNA was separated by horizontal electrophoresis in a 1.5% (w/v) agarose gel (Bioline) prepared with TAE buffer. Electrophoresis was carried out at 70 V for 2 h. The gels were stained with ethidium bromide to a final concentration of 0.4% (w/v), visualized under UV radiation, and photographed with a digital camera. An *in silico* ARDRA with 32 restriction enzymes was also performed using the Silent Mutator program. The 16S rDNA sequences were introduced for isolated strains and *Thermotoga maritima* MSB-8 (NR 029163.2) as an out-group. The sequences of our strains were restricted with the enzymes AatII, AclI, AflII, AgeI, ApaI, AseI, BglII, BspEI, BspHI, BsrGI, BssHII, BstBI, EagI, EcoRI, EcoRV, FspI, HaeIII, HpaI, KpnI, MboII, Sau3AI, NaeI, NheI, PmlI, PstI, SacI, SacII, SmaI, SnaBI, SphI, SspI, and StuI. The choice of the 32 enzymes was based on the results obtained with the Restriction Comparator program [29]. The Silent Mutator software [30], was used to scan through the sequences and recognize sites for each restriction enzyme. Then a database containing the concatenated sequences was built and, finally, the STATISTICA 6.1 software was used to generate a dendrogram of similarities based on UPGMA analysis.

Phenotypic Characterization

Tests were performed in agar plates, which were inoculated with 10 μl of bacterial culture (10^8 CFU/ml grown in Trypticase yeast broth (TY) for 24 h). All treatments were applied with three replications and incubated at 28 °C for 7 days.

Temperature, Salt, and pH Tolerance Assay

For temperature tolerance, inoculated plates were incubated at, 28, 30, 35, 40, 45, 50, 55, and 60 °C. Sodium chloride (NaCl) tolerance was determined at 0 to 2052 mM of NaCl

after 7 days of incubation at 28 °C [31]. The ability of strains to grow on acidic or basic media was determined on a solid TY medium whose pH had been adjusted and buffered to 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, and 9, as described by Zerhari et al. [32].

Heavy Metals Tolerance Assay

The intrinsic heavy metal resistance of the strains was determined on the TY agar medium. For this purpose, we prepared different media containing TY medium amended with each of the following heavy metals at the mentioned concentrations (in $\mu\text{g ml}^{-1}$): Pb-acetate (500, 1500, and 2000), CuCl_2 (200, 500, and 1000), ZnCl_2 (500, 1500, and 2500) and FeCl_3 (500, 1000 and 2000). The strains were streaked on different solid media, and the Petri plates were incubated at 28 °C for 4 days. The growth of the strains was considered a positive reaction.

Plant Growth-Promoting Activities

Siderophore Production

The production of siderophore was carried out on a solid Luria-Bertani (LB) medium, added to the CAS solution (Chrome Azurol S) and mixed with the ferric solution (1 mM FeCl_3 , 6H₂O + 10 mM HCl), and hexadecyltrimethylammonium solution (HDTMA) [33]. The mixture (CAS reagent + Fe (III) + HDTMA) was autoclaved separately from the LB medium. The developing orange halos around the bacterial strains after incubation were considered a positive sign for siderophore production. The color change is due to the transfer of ferric ions from the CAS-Fe-HDTMA complex to siderophores. For quantitative siderophores production, bacterial cultures were carried out in an iron-deficient medium (g/L): K_2HPO_4 (0.5), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.2), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1.0), sodium glutamate (1.0), NaCl, (0.1) and mannitol (10.0), and incubated in a 180 rpm shaking incubator at 28° C for 7 days. After incubation, bacterial cultures were centrifuged at 10,000 rpm for 10 min, cell pellets were discarded and the supernatant was used to estimate siderophore production. To 0.5 ml of this supernatant, the same volume (0.5 ml) of CAS reagent was added. After 20 min at room temperature, the optical density was spectrophotometrically measured at 630 nm (Spectrophotometer: Thermo Scientific, Evolution 201). Three replicates were performed for each bacterial strain and a control tube (uninoculated broth) was prepared and maintained in the same conditions. Siderophores produced by strains were expressed in percent siderophore unit (PSU) which was calculated according to the following formula [33] :

Siderophore production (PSU) = $((\text{Ar} - \text{As})/\text{Ar} \times 100)$, where Ar: absorbance of reference (CAS solution and

uninoculated broth) and As: absorbance of the sample (CAS solution and cell-free supernatant of sample).

Indole Acetic acid Production (IAA)

The isolated strains were inoculated in LB medium amended with L-tryptophane and then incubated at 28 °C for 3 days. IAA produced is detected qualitatively by placing a Whatman filter soaked with Salkowski's reagent on the LB Medium plate containing the bacterial culture and incubated for 30 min in the dark [34]. The presence of the IAA is manifested by the appearance of a pink halo around the colony.

Nonetheless, to quantitatively estimate the IAA production, the bacterial strains were grown in a 7 ml LB medium added with 0.5 mg/ml of L-tryptophane, and incubated for 48 h at 28° C in a shaking incubator at 180 rpm. After incubation, the culture was centrifuged at 10,000 g for 10 min and the supernatant was filter-sterilized through a 0.22 μm Millipore filter. To 1 ml of this supernatant, 1 ml of Salkowski reagent (0.5 M ferric chloride and 35% perchloric acid) was added and then the mixture was held in the dark at room temperature for 30 min. After that, the optical density was measured spectrophotometrically at 540 nm to determine the IAA concentration by reference to a standard curve. Three replicates were performed for each bacterial strain.

Qualitative and Quantitative Test of Phosphate Solubilization

The bacterial strains were tested qualitatively for their ability to solubilize tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] on solid modified Pikovskaya Medium (PVK) [35]. The ability to solubilize inorganic phosphate was indicated by the appearance of a clear halo around the bacterial strains after incubation at 28 °C for 7 days. The phosphate solubilization index (PSI) was measured using the following formula: $\text{PSI} = [\text{Diameter of the clear zone (colony + halo zone)} (\text{mm}) / \text{Diameter of the colony} (\text{mm})]$.

The quantitative test was performed in Erlenmeyer flasks containing 100 ml of liquid PVK medium, supplemented with 0.05 g of Moroccan rock phosphate (RP) as a source of phosphate, the initial optical density of inoculum is 0.05. Three replicates were performed for each isolate. The inoculum was incubated at 28 °C on a rotatory shaker at 180 rpm. Sterile PVK broth without inoculation served as a baseline control. The pH of the culture broth was measured after 48 h with a pH meter. Bacterial cells and other insoluble materials were removed by centrifugation at 13,000×g for 10 min, and the resulting supernatant was filtered through a 0.22 μm filter. The concentration of soluble P in the supernatant was measured using the Vanadate-Molybdate method [36]. The reaction mixture of the assay comprises 1 ml of supernatant

and 1 ml of Vanadate-Molybdate reagent. To determine the amount of soluble phosphate, a curve standard was carried out with a series of soluble phosphate concentrations (KH_2PO_4).

Phosphate Sludge Solubilization

The PVK liquid medium was used to evaluate the phosphate sludge solubilization activity of the bacterial strains, where the tricalcium phosphate was replaced by washed prepared phosphate sludge as described by Benbrik et al. [3]. Phosphate solubilizing activity in liquid media was determined in the same conditions of the culture and soluble phosphate assay method. The pH of the medium was also determined at the end of the incubation.

Biocontrol Activities

Cellulase Activity

A volume of 5 μl of each strain culture was deposited onto a Reese medium containing 1% of carboxymethylcellulose (CMC) as described by Pandey et al. [37]. After incubation at 28 °C for 48 h, all the plates were stained with 1% (w/v) Congo-red solution for 15 min and discolored with 1 M NaCl for 15 min. The appearance of degradation zones around the colony is due to hydrolyze of CMC by bacterial strains. Three replicates were considered for each bacterial strain.

Chitinase Activity

Chitin Medium was prepared by mixing 2 g of colloidal chitin with LB medium and 15 g of agar in 1000 ml of distilled water [38]. The bacterial strains were screened for chitin hydrolysis by spotting 5 μl of each strain culture on the Petri dishes and incubated at 28 °C for 5 days. The appearance of a clear halo around the bacterial colony is due to chitin hydrolysis by the isolated strains. Three replicates were considered for each bacterial strain.

Producing Hydrogen Cyanide (HCN)

To estimate HCN production, 5 μl of bacterial culture was deposited on an LB medium supplemented with 4.4 g/l of glycine. Filter paper discs (9 cm diameter), soaked in 2% sodium carbonate in 0.5% picric acid solution, were placed on the lid of each Petri dish [39]. The plates were sealed with parafilm and incubated at 28 °C. Change in color from yellow to orange or brown was taken as an indication of HCN production. Three replicates were considered for each bacterial strain.

Biocompatibility and Antifungal Activity

To determine the biocompatibility of the selected strains, Petri dishes were prepared such that each strain was streaked in a straight line while the test strains were streaked perpendicular to this strain. The plates were incubated for 48 h at 28 °C. The inhibition of growth of the test strain at the intersection was considered a bio-incompatible strain.

In vitro antifungal activity against *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea* was performed using a potato dextrose agar (PDA) medium [40] with three replicates were considered for each bacterial strain. These two species were chosen because they are among the main fungal pathogens associated with different plant diseases in Morocco and elsewhere. For direct antifungal effect, a mycelial disk (5 mm diameter) of the pathogen was taken from a 5-day actively growing culture on a PDA medium and was placed at the center of the plate. Then, the bacterial strains were deposited 2.5 cm away from the mycelia disk and the plates were incubated at 28 °C. A control plate was inoculated only by a fungal pathogen. Furthermore, the effect of volatile compounds (indirect antifungal effect) produced by the selected isolates against *F. oxysporum* and *B. cinerea* was achieved by placing a mycelial disc of the pathogen in the middle of the Petri dish containing PDA, while the bacterial isolate was streaked on the opposite Petri dish. The antagonistic activity was observed after 7 days and the growth inhibition of the pathogen was measured using the following formula: $\text{PI} = (\text{R1} - \text{R2})/\text{R1} \times 100$ (Where PI = percent growth inhibition, R1 = radial growth of the pathogen in control (mm), R2 = radial growth of the pathogen in treatment (mm)).

Plant Inoculation Tests

Three strains showing the best results were hence selected for inoculation experiments of *P. vulgaris* plants under glass-house conditions. The bacterial inoculum was prepared in the nutrient medium and incubated at 28 °C in an orbital shaking incubator at 180 rpm for 24 h. The cells were harvested at 12,000 g for 15 min and the resultant cell pellet was suspended in sterile water to achieve a density equivalent to 10^8 CFU ml^{-1} , at OD_{600} . For the preparation of microbial consortia, the three selected isolates were prepared by inoculating overnight grown bacterial suspensions in a nutrient medium.

Phaseolus vulgaris seeds were disinfected on the surface, by soaking in ethanol 70% for 1 and 5 min in a sodium hypochlorite solution (5%), followed by several rinses in distilled sterile water. The seeds were then germinated on an agar medium (7 g/l) in sterile Petri dishes. After five days of germination, the sprouted seeds were transferred into plastic pots (10 cm in diameter and 20 cm in depth) containing

sterile sand (one seedling per cell). Regarding the inoculation procedure, common bean seedlings were inoculated with 1 ml of the bacterial suspension at the time of transplantation and 15 days after transplantation by inoculating the root area. A volume of 1 ml of physiological saline water was added to the negative controls (uninoculated). Each treatment was replicated six times, including the control. Trays were kept in a glasshouse under natural light with day/night temperatures of 27/21 °C and a photoperiod of 16 h/8 h and watered with Hoagland and Arnon nutritive mineral solution that contained a natural phosphate powder (fine grinding of rock phosphate from Khouribga mine, Morocco) as the P source. The stimulatory effect of the isolates on the vegetative growth parameters of *P. vulgaris* plants was assessed after 45 days of growth, by measuring the length of shoots and roots using a ruler graduated in millimeters and their dry biomass with a precision balance scale.

Statistical Analysis

The quantitative results were subjected to the analysis of variance (ANOVA) to test the statistical differences between different bacterial strains according to the parameters studied. Means were compared at the 5% significance level using Tukey's post hoc test. Statistical analyses were conducted using SPSS, version 25 for Microsoft Windows.

Results

Chemical Properties of Phosphate Sludge

The chemical analysis of phosphate sludge revealed that it contains 8.7 mg/g total phosphorus, 7.5 mg/g total potassium, and 1.9 mg/g total nitrogen; and has a neutral pH of about 7.2.

Phylogenetic Analysis of the 16S rRNA Gene Sequences

The 31 bacterial isolates collected from the phosphate sludge were grown in a PVK agar medium. To identify these isolates, 16S rRNA sequence and ARDRA analysis were performed. Results allowed the selection and identification of only 24 strains after the elimination of pathogenic strains and taking into account duplicated strains. Based on 16S rRNA gene sequencing and the constructed phylogenetic tree, these strains were grouped into two main clusters (Fig. 1). The first cluster (CL1) corresponded to Firmicutes phylum, mainly represented by the *Bacillus* genus, such that the species *Brevibacterium frigoritolerans* was previously

reidentified as a *Bacillus frigoritolerans*. However, both species *Bacillus aryabhattai* and *Bacillus simplex* have been recently reclassified as *Priestia aryabhattai* and *Peribacillus simplex*, respectively. The CL2 consisted of five genera, namely *Streptomyces*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter*, *Pseudarthrobacter*, *Nocardioides*, and *Microbacterium*, all of which belong to the phylum Actinobacteria. Concerning the distribution of bacterial Phyla in phosphate sludge, Firmicutes was the dominant phylum with 14 bacterial strains out of a total of 24 identified (58.3%) (Fig. 1). The confirmation of species/genus level of identification of bacterial strains was achieved through BLAST analysis data of the 16S rRNA gene sequences, which showed that the rate of similarity ranged from 97 to 100% with the database sequences. The gene bank accession number of our 24 strains is presented in the phylogenetic tree (Fig. 1).

DNA Ribotyping

The dendrogram generated through the ARDRA assay, using restriction enzymes, revealed that the 24 strains were delineated into three main groups (I, II, and III), corresponding to three different ribotypes at 30% similarity (Fig. 2). Groups I, II, and III contained 3, 7, and 14 bacterial strains, respectively (Fig. 2). The digestion profiles obtained in vitro, using the restriction enzymes from the amplified 16S rDNA gene of the strains, were in good agreement with the expected theoretical restriction profiles. The ARDRA method with four restriction enzymes, including EcoRI, HaeIII, MboII, and Sau3AI used for the bacterial strains in this study fully confirmed the data obtained by computer analysis. The identification and classification at the level of genus and species with the ARDRA method were supported by sequencing the 16S-rRNA gene from the 24 bacterial strains (Figs. 1 and 2).

Phenotypic Characterization

The isolated bacteria showed a great variation in tolerance to salinity, high temperature, and pH change (Table 1). Results obtained revealed that 91.7% (22 of 24) of strains can tolerate NaCl concentrations beyond 1026 mM, of which 63.6% (14 of 22) developed in concentrations ranging from 1026 to 1539 mM and only 36.4% (8 of 22) grew under very-high NaCl concentrations (> 1539 mM) (Table 1). Except for the HBP03 strain, all isolated bacterial strains were able to grow at temperatures ranging from 45 to 50 °C, indicating that these bacteria are thermotolerant, with four strains (HFBP02, HFBP04, HFBP20, and HFBP26) tolerating high temperatures (55 °C) (Table 1). As for pH, all tested bacterial strains were able to grow to pH levels ranging from 6 to 9. However, at pH 5, 79.2% (19 of 24) of the strains were

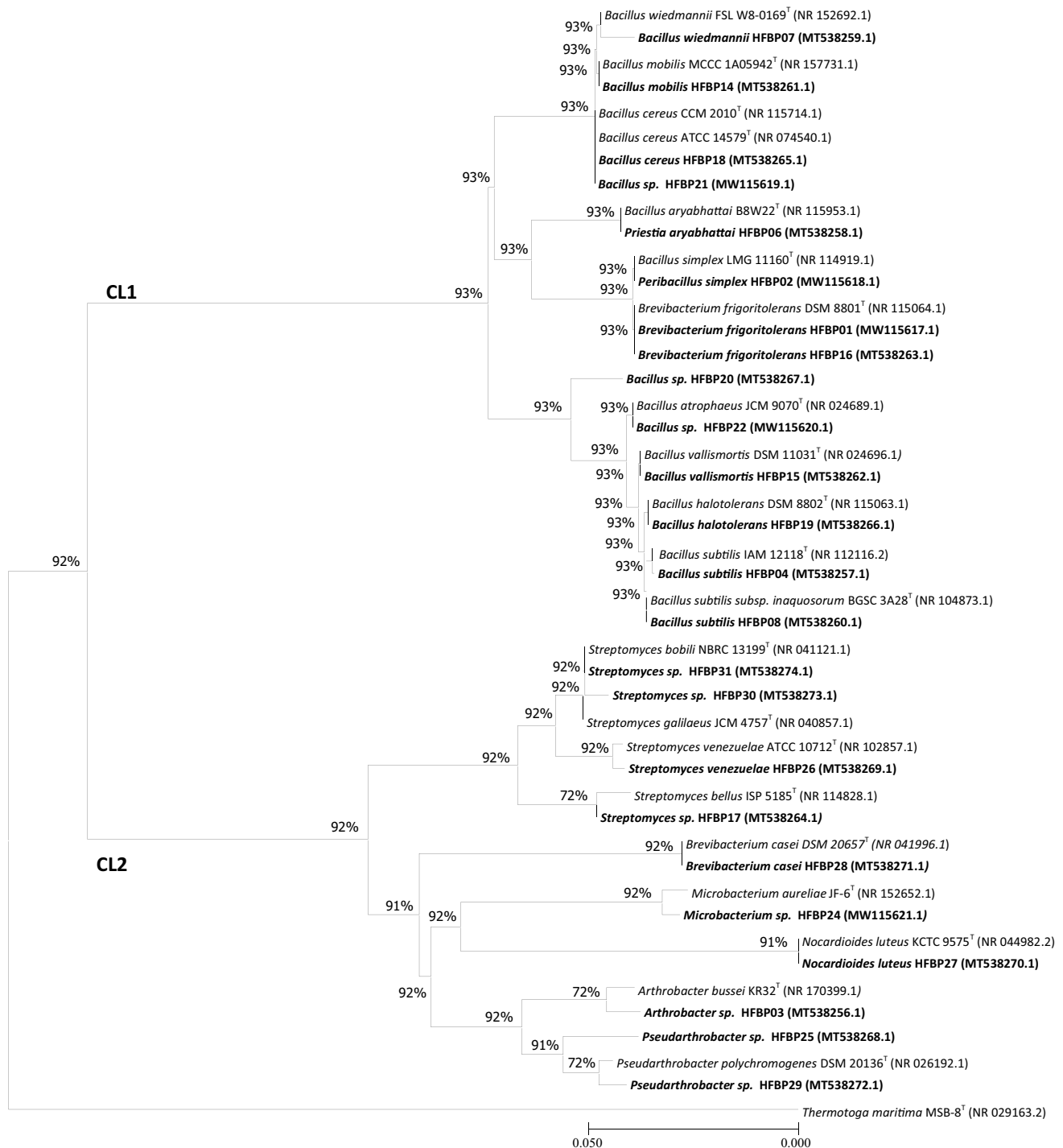


Fig. 1 Neighbor-joining phylogenetic tree based on partial 16S rRNA gene sequences of the 24 isolated strains from the Moroccan phosphate sludge. The analysis was based on 1467 nucleotides. Strains are

denoted in bold. Bootstrap values are given as percentages derived from 1000 replications. The tree is rooted with *Thermotoga maritima* MSB-8

developed in the incubation medium, while only 41.7% (10 of 24) were grown at a pH of 4.5 (Table 1).

The 24 bacterial strains showed differential tolerance to the heavy metals (Table 2). Most strains are more tolerant to lead and iron than to zinc and copper. Twenty out of 24

strains (83.3%) tolerated the high tested concentration of Pb (2500 µg/ml) and 91.6% (22 of 24) were tolerant to iron at 1000 µg/ml, of which only 4 strains were able to develop at the high test concentration (2000 µg/ml). Nonetheless, these strains showed sensitivity to zinc and copper, such

Fig. 2 ARDRA ribotypes of the 24 isolated PSBs strains from the Moroccan phosphate sludge. The 16S rDNA of these strains was digested with 32 restriction enzymes

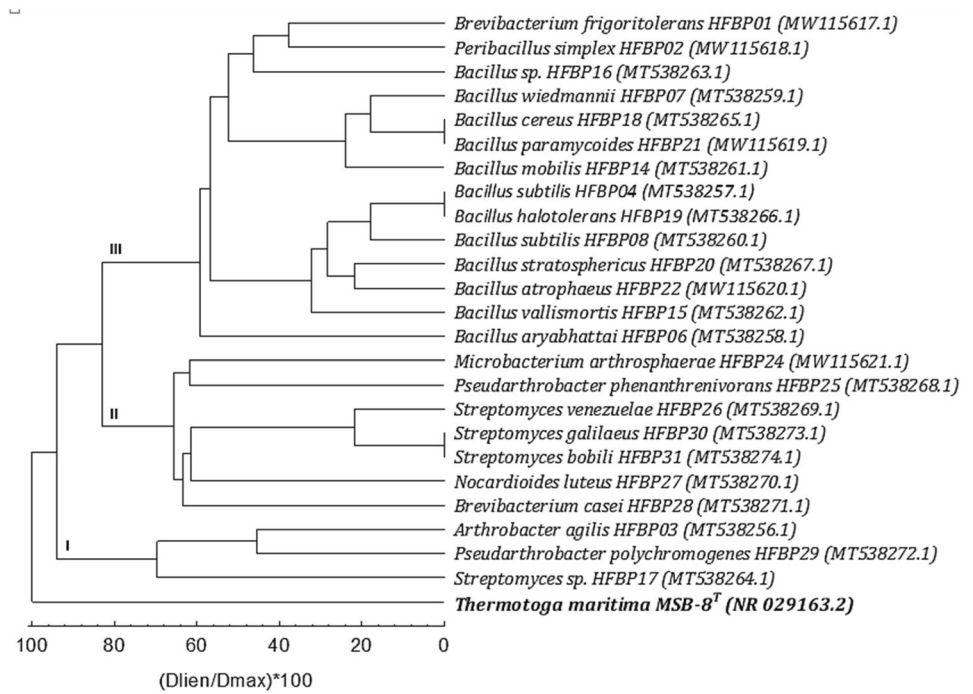


Table 1 In vitro characterization of salt, temperature, and pH tolerance of the 24 isolated PSBs strains from the Moroccan phosphate sludge

Strains	Salt tolerance NaCl (mM)	Temperature tolerance (°C)	pH tolerance					
			4.5	5	6	7	8	9
HFBP01	1368	50	+	+	+	+	+	+
HFBP02	1368	55	+	+	+	+	+	+
HFBP03	1368	35	+	+	+	+	+	+
HFBP04	1368	55	+	+	+	+	+	+
HFBP06	2052	50	–	+	+	+	+	+
HFBP07	1026	50	–	+	+	+	+	+
HFBP08	1026	45	–	+	+	+	+	+
HFBP14	1539	50	+	+	+	+	+	+
HFBP15	1197	45	–	+	+	+	+	+
HFBP16	2052	50	+	+	+	+	+	+
HFBP17	1881	50	–	+	+	+	+	+
HFBP18	1026	50	–	+	+	+	+	+
HFBP19	1539	45	+	+	+	+	+	+
HFBP20	1539	55	+	+	+	+	+	+
HFBP21	1197	50	+	+	+	+	+	+
HFBP22	1539	50	–	+	+	+	+	+
HFBP24	1197	50	–	+	+	+	+	+
HFBP25	2052	50	+	+	+	+	+	+
HFBP26	2052	55	–	–	+	+	+	+
HFBP27	2052	45	–	–	+	+	+	+
HFBP28	342	50	–	–	+	+	+	+
HFBP29	342	50	–	–	+	+	+	+
HFBP30	1710	50	–	–	+	+	+	+
HFBP31	2052	50	–	+	+	+	+	+

Table 2 In vitro characterization of heavy metal (Fe, Pb, Zn, and Cu) resistance of the 24 isolated PSBs strains from the Moroccan phosphate sludge

Strains	Metal content ($\mu\text{g ml}^{-1}$)											
	Fe			Zn			Cu			Pb		
	500	1000	2000	500	1500	2500	200	500	1000	1000	1500	2500
HFBP01	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP02	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP03	+	+	–	–	–	–	+	–	–	+	+	+
HFBP04	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
HFBP06	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP07	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP08	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HFBP14	+	+	–	+	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP15	+	+	–	+	+	+	–	–	–	+	+	+
HFBP16	+	+	–	+	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HFBP18	+	+	–	+	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP19	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
HFBP21	+	+	–	+	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP22	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP24	+	+	–	+	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP25	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
HFBP26	+	+	+	+	+	–	+	–	–	+	+	+
HFBP27	+	+	–	–	–	–	+	–	–	+	+	+
HFBP28	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–
HFBP29	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
HFBP30	+	+	–	+	–	–	+	+	–	+	+	+
HFBP31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

that only 4 strains could grow at 1500 and 2500 $\mu\text{g/ml}$ Zn and 3 strains at 500 and 1000 $\mu\text{g/ml}$ Cu (Table 2). Of the 24 bacterial strains tested, three strains (HFBP08, HFBP17, and HFBP31) are distinguished by their tolerance to the four heavy metals studied at high concentrations (Table 2).

Plant Growth–Promoting Activities

The PGP activities of the bacteria strains isolated from the Moroccan phosphate sludge were evaluated quantitatively and qualitatively by testing several biochemical parameters (Table 3). Results revealed that 45.8% (11 of 24) of the bacterial strains can be considered IAA producers, 83.3% (20 of 24) produced HCN and only 5 strains produced the siderophores. Both HFBP15 and HFBP26 strains were distinguished by the highest production index of IAA (2.78 and 2.87, respectively) and siderophores (2.56 and 2.67, respectively) (annexed Table 1). In addition, some isolated strains were able to produce cellulase (6 strains) and chitinase (4 strains) enzymes. The highest enzyme activity of these two enzymes was recorded in strains belonging to the

Bacillus genus (HFBP04, HFBP14, and HFBP16) for cellulase and the *Streptomyces* genus for chitinase (HFBP17) (Table 3). As regards qualitative test for phosphate solubilization, eight out of 24 isolated phosphate sludge strains were capable to solubilize tricalcium phosphate on a solid PVK medium, of which both HFBP15 and HFBP26 strains showed the highest phosphate solubilizing potential with a solubilization index of 3.5 (annexed Table 1). However, the quantitative test revealed that all strains solubilized rock phosphate with significant interspecific differences (Table 3). This qualifies them as potential phosphate solubilizing bacteria (PSBs). The rock phosphate solubilization capacity ranged from 3.25 to 140 $\mu\text{g/ml}$, with the two strains HFBP29 and HFBP30 having the highest solubilizing activity (125 and 140 $\mu\text{g/ml}$, respectively). Moreover, an inverse correlation ($r = -0.49$) was observed between the pH and P-solubilization. The high-recorded levels of solubilized phosphate were associated with a decrease in the pH medium, which varied between 4.28 and 6.05. According to these multi-trait plant growth-promoting activities (Table 3), we selected the best three bacterial

Table 3 In vitro biochemical characterization of plant growth-promoting activities of the 24 isolated PSBs strains from the Moroccan phosphate sludge

Strains	Rock phosphate solubilization		Qualitative TCP solubilization	IAA production	Siderophore production	HCN production	Cellulase production	Chitinase production
	P (µg/ml)	Medium pH of						
HFBP01	57.67 ± 0.33hi	4.93	++	+++	–	+	–	–
HFBP02	59.07 ± 0.50ghi	4.60	–	++	–	+	+	+
HFBP03	78.70 ± 4.72f	4.28	–	+	–	++	–	–
HFBP04	45.50 ± 1.80jk	4.98	–	++	–	++	+++	–
HFBP06	19.70 ± 0.30n	5.31	–	++	–	+	–	–
HFBP07	41.75 ± 0.43k	4.97	++	+	–	+	–	–
HFBP08	58.42 ± 0.52hi	5.06	–	–	++	+++	–	–
HFBP14	67.58 ± 0.51 g	4.56	–	–	–	+++	+++	++
HFBP15	63.08 ± 0.88gh	5.03	+++	+++	+++	++	–	–
HFBP16	89.17 ± 3.49e	4.71	–	–	++	+++	+++	–
HFBP17	55.33 ± 1.15i	4.98	+	–	–	+	–	+++
HFBP18	23.83 ± 0.29mn	5.03	–	–	–	+++	+	–
HFBP19	58.83 ± 1.76ghi	4.61	–	–	–	++	–	–
HFBP20	57.82 ± 0.18hi	4.74	++	–	–	–	–	–
HFBP21	47.17 ± 1.26j	4.64	++	–	–	+++	+	–
HFBP22	31.92 ± 1.12 L	4.97	++	–	+	+	–	++
HFBP24	24.92 ± 0.43 m	5.54	–	++	–	+	–	–
HFBP25	114.66 ± 1.54c	4.58	–	–	–	–	–	–
HFBP26	95.00 ± 0.20d	4.86	+++	+++	+++	+++	–	–
HFBP27	41.50 ± 0.50k	4.97	–	++	–	++	–	–
HFBP28	60.00 ± 0.60hi	6.05	–	–	–	–	–	–
HFBP29	125.00 ± 0.30b	4.83	–	–	–	–	–	–
HFBP30	140.00 ± 1.00a	4.66	–	–	–	++	–	–
HFBP31	3.25 ± 0.23o	5.51	–	+++	–	+	–	–

Means within a column flanked by the same letter are not significantly different at 5% (Tukey test). +++ Strong activity. ++ Moderate activity. + Weak activity. – No activity

Table 4 In vitro quantitative biochemical characterization (phosphate sludge solubilization and IAA and siderophore production) of the best three selected PSBs (HFBP01, HFBP015 and HFBP26)

	Phosphate sludge solubilization P(µg/ml)	IAA production (µg/ml)	Siderophore production (psu) %
HFBP01	52.21 ± 2.45b	4.14 ± 0.33c	25.45 ± 6.56b
HFBP15	47.60 ± 0.91c	7.80 ± 0.31b	27.88 ± 5.17b
HFBP26	60.30 ± 1.50a	8.60 ± 0.30a	66.36 ± 4.81a

strains HFBP01, HFBP15, and HFBP26 corresponding to *Brevibacterium frigoritolerans*, *Bacillus vallismortis*, and *Streptomyces venezuelae*, respectively, for further analysis. A quantitative evaluation of these elite strains confirmed that they produce IAA and siderophores and solubilize phosphate sludge (Table 4). Statistical analysis showed

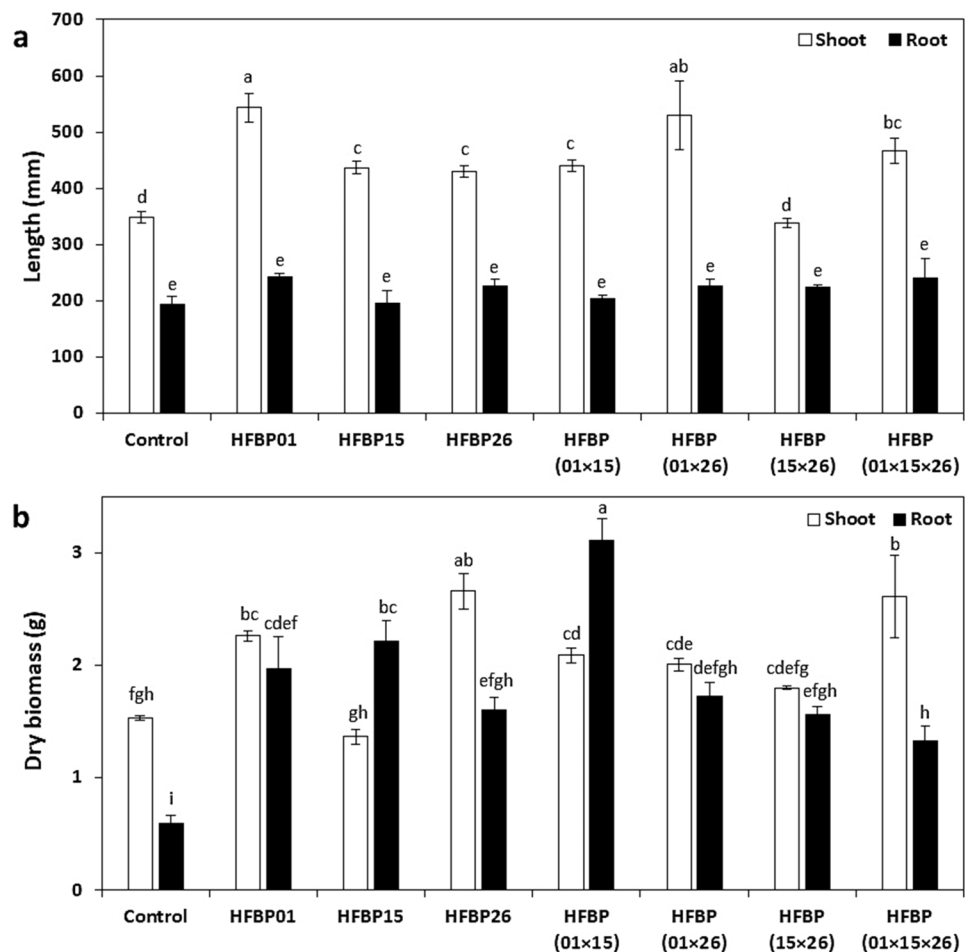
Table 5 Direct and indirect antifungal effect in vitro of the best three selected PSBs (HFBP01, HFBP015 and HFBP26) on the radial growth of *F. oxysporum* and *B. cinerea*

	Phytopathogen inhibition (%)			
	<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Botrytis cinerea</i>	
	Direct	Indirect	Direct	Indirect
HFBP01	3.57c	19.05a	15.15b	10.61b
HFBP15	50.60a	14.29ab	33.33a	33.33a
HFBP26	44.05b	9.52b	34.85a	27.27a

that the HFBP26 strain (*Streptomyces venezuelae*) is significantly the most efficient and effective strain among the three in terms of these three PGP activities (Table 4).

Note: Values (means of three replicates ± SD) with distinct letters are significantly different at 5% according to Tukey's test.

Fig. 3 Effect of phosphate solubilizing bacteria (PSBs) inoculation on the shoot and root length (**A**) and dry biomass (**B**) of *P. vulgaris* plants. Three selected PSBs (HFBP01, HFBP015 and HFBP26) were tested either individually or in a consortium. Values (means of six replicates $\pm$ SD) with distinct letters are significantly different at 5% according to Tukey's test



Biocompatibility and Antifungal Activity

The result of the biocompatibility test between the three selected strains showed no negative interaction since all the strains were biocompatible with each other. Nonetheless, the test of in vitro biocontrol ability against *F. oxysporum* and *B. cinerea* showed that the three selected strains HFBP01 (*B. frigiditolerans*), HFBP15 (*B. vallismortis*), and HFBP26 (*S. venezuelae*) significantly inhibited the pathogen development (Table 5). The highest inhibition rate against *F. oxysporum* was obtained with *B. vallismortis* (50.60%) and *B. frigiditolerans* (19.05%) under direct and indirect tests, respectively; while against *B. cinerea*, it was recorded with the both *B. vallismortis* (33.33% under both tests) and *S. venezuelae* (34.85 and 27.27% under direct and indirect test, respectively). Indeed, the strain HFBP15 (*B. vallismortis*) exhibited the best antifungal activity among the three strains evaluated (Table 5).

Note: Values (means of three replicates $\pm$ SD) with distinct letters are significantly different at 5% according to Tukey's test.

Inoculation of *P. vulgaris* plants

results of the inoculation test (Fig. 3) showed that the length and dry biomass of the inoculated *P. vulgaris* plants varied by strain and bacterial combination. After 45 days of the inoculation, the length of shoot significantly increased, compared to control, especially under individual (HFBP01; 55.9%) and combined inoculation (HFBP01-HFBP26; 52.2% and HFBP01-HFBP15-HFBP26; 33.9%). However, the root length was not significantly affected (Fig. 3A). As for dry biomass, a significant increase in both shoot and root of inoculated plants was recorded in comparison with the controls (Fig. 3B). The highest increase of shoot dry biomass was observed under individual inoculation by HFBP01 (47.9%) and HFBP26 (73.6%), as well as under combined

inoculation by HFBP01-HFBP15-HFBP26 (70.6%). Nonetheless, both individual and combined inoculation tests, especially by HFBP01 and HFBP15, significantly improved the root dry biomass. The most significant increase was observed under the inoculation test by HFBP01 (3.3-fold), HFBP15 (3.7-fold), and HFBP01-HFBP15 (5.2-fold). According to the inoculation test and growth parameters variation, the three strains tested HFBP01, HFBP15 and, HFBP26 corresponding to *B. frigoritolerans*, *B. vallismortis*, and, *S. venezuelae*, respectively, are effective in promoting plant growth either by inoculating them individually or in a consortium.

Discussion

For decades, mining activities have increased the amount of phosphate waste produced, as well as the sludge generated by phosphate washing, which still accumulates without being recycled. These wastes were often considered to hurt the environment [41]. However, the recovery of phosphate sludge and its use in agriculture as phospho-compost could potentially improve the phosphorus-deficient soils and increase biomass yields [42]. The availability of this phosphate to plants is generally favored by PSBs, which are viewed as an effective, alternative, and eco-friendly approach for improving agriculture crop production [3, 20, 43]. Indeed, our study has made it possible to isolate and select PSBs from Moroccan phosphate sludge with interesting growth and biological activities. These PSBs are important mediators of both soil- and root-associated, and directly or indirectly improve the soil's health and agricultural performance through their mechanisms, including P solubilization, mineralization and mobilization, and production of plant growth regulators [7, 43].

Regarding our results, isolated and genetically identified bacterial strains from phosphate sludge revealed a diversity in genus and species. Twenty-four bacterial strains confirmed their ability to solubilize rock phosphate in PVK liquid medium, in which the soluble-P concentration ranged between 3.25 µg/ml and 140 µg/ml. Out of these, only 8 showed qualitatively high solubilization of tricalcium phosphate as a source of insoluble P. The P-solubilization activity was accompanied by a decrease in medium pH from an initial pH of 6.8 to 4.28–6.05. Similar results were reported by [44] who found that the solubilization activity of selected strains ranged from 30 to 246 µg/ml in the NBRIP medium (National Botanical Research Institute's phosphate growth medium). The decrease in medium pH could be attributed to the release of low molecular weight organic acids synthesized by PSBs [44–46]. Indeed, the inverse correlation established in our study between the pH and the concentration of P has been pointed out by other authors, such as Teng

et al. [45] and Santos-Torres et al. [47], demonstrating that the medium acidification by organic acids production could mediate the solubilization of inorganic phosphate into available phosphorus. A significant linear relationship ($p < 0.001$) was experientially obtained between solubilized P, pH, and organic acids. In addition, these organic acids could chelate cations (mainly calcium) bonded to phosphate through their carboxyl and hydroxyl groups or compete with P for adsorption sites, resulting in increased solubility and availability of mineral phosphates [46, 47]. The high rock phosphate solubilization levels were obtained with PSBs belonging to the phylum Actinobacteria. Among many phosphate solubilizing bacteria, Actinobacteria are the most powerful phosphate solubilizers, which play vital roles in supplying soluble P to plants [8, 48].

Other PGP traits were detected in vitro in the selected PSBs revealing the ability to produce other secondary metabolites like IAA, HCN, and siderophore, and to activate some enzymes such as cellulase and chitinase. These findings are in agreement with earlier studies that reported that are characterized by multi-trait plant growth-promoting activities [49–51]. Out of 24 selected PSBs, 83.3% produced HCN, 45.8% were considered IAA producers and 20.8% produced siderophores. Furthermore, the highest cellulase and chitinase activity was exhibited by strains belonging to the *Bacillus* genus. This genus is probably the most important bacterial source of several interesting extracellular enzymes, such as cellulases, chitinases, and proteases [52].

Based on in vitro tolerance test of isolated PSBs to salinity and high temperature, 91.7% were halotolerant (≥ 1026 mM NaCl) and 95.8% thermotolerant (45–55 °C). They also showed a high tolerance to acidity and alkalinity, of which 41.6% could grow under pH 4.5–9.0. Moreover, a differential tolerance to the heavy metals (lead, iron, zinc, and copper) was observed between the 24 isolated PSBs. Previous studies have shown that the application of abiotic stress-tolerant BPSs can be a greatly effective and economical way to improve the P availability, recover the P-deficit in constraining environments and remediate polluted sites [11, 14, 45, 53]. PSBs play a key role in tolerance to multiple abiotic stresses by producing various exopolysaccharides, organic acids, phytohormones, and small bioactive molecules which contribute to the overall improvement in the plants' health [54, 55]. They also confer biocontrol against phytopathogens either directly through nutrient competition, niche exclusion, induced systemic resistance, or indirectly through the induction of antibiotic compounds or enzymes capable of fungal cell lysis [11, 14].

Among the 24 isolated PSBs, three were selected based on their multi-PGP traits and tolerance to abiotic stresses (salinity, high temperature, pH, and heavy metal) and were identified as *Brevibacterium frigoritolerans* (HFBP01), *Bacillus vallismortis* (HFBP15) and *Streptomyces*

venezuelae (HFBP26). These selected PSBs significantly inhibited in vitro, directly and indirectly, the development of both *F. oxysporum* and *B. cinerea* phytopathogens. This inhibition could be due to the production of antagonistic metabolites, such as siderophores (direct mechanism) and/or the synthesis of enzymes with a chitinolytic and cellulolytic activity that lyse the cell walls of many pathogenic fungi as well as HCN production, which is a volatile substance with antifungal properties (indirect mechanism) [11, 44]. Several studies have even used antifungal secondary metabolites produced by *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., and *Rhizobium* spp. to biocontrol plant diseases caused by diverse pathogens [56].

Individual inoculation and co-inoculation with combinations between the three selected strains have differentially and significantly improved the length and dry biomass of the roots and stems of *P. vulgaris* plants. Stimulation of these growth parameters could be attributed to multiple PGP traits of our selected bacterial strains. Growth of *P. vulgaris* plants under combined inoculation by the three selected BSPs (*B. frigoritolerans*, *B. vallismortis*, and *S. venezuelae*) was better and the length and dry biomass of the shoot increased by 70.6 and 33.9% compared to the control, respectively. These results agree with others, indicating that PSBs can solubilize P and produce various plant growth promoting metabolites (e.g. phytohormones, siderophores, and anti-phytopathogens), which help to enhance nutrient availability and improve plant growth [7, 11, 44, 55]. Previous research reported the effectiveness of PSBs for increasing plant nutrition, growth and yield [7], and highlighted their use as biofertilizers for different crops such as wheat [44], soybean [57], maize [20], faba bean [58], peanut [59], tomato [21] and forage crops (e.g. Alfalfa) [55]. Indeed, our findings revealed that *B. frigoritolerans*, *B. vallismortis*, and *S. venezuelae* could be potential candidates for improving the agronomic efficiency of phosphate sludge, towards a clean P-nutrition through the formulation of phosphate biofertilizers, including solubilizing phosphorus biofertilizers and phosphorus mobilizing biofertilizers, for the promotion of plant growth [11, 16]. In addition, earlier studies have shown the PGP and biocontrol activities of the selected PSBs, *B. frigoritolerans* [60, 61], *B. vallismortis* [62, 63], and *S. venezuelae* [64, 65]. Inoculation with a consortium composed of these three PSBs strains selected and identified from Moroccan phosphate sludge is promising to improve plant growth and this study is a base for recommending the use of this consortium for biofertilization, as an alternative to chemical fertilizers, for *P. vulgaris* production.

Currently, we are experiencing a transitional period known as the “Green Micro-revolution”, in which the use

of microorganisms is justified and especially the soil bacteria inoculation in several cultures are recognized to boost production. P management practices and recovery technologies, such as the use of biofertilizers, have demonstrated excellent potential to decrease the usage of chemical phosphorus fertilizers in agriculture, environmental pollution, and keep costs down. Indeed, it was reported that the application of phosphate solubilizing micro-organisms in combination with P-based fertilizers significantly reduced the needed rate of P fertilizer by up to 25% [66]. The relevance of these microorganisms with studied genotype must be taken into account when considering the interaction between them and plants. Previous studies have estimated that the use of highly efficient phosphate solubilizing micro-organisms as crop inoculants can achieve an average reduction of 33% in P-fertilization during the crop cycle [6]. In a study on sugarcane, authors found that these micro-organisms significantly reduced P fertilization by 75% in low-P soil [67]. The reasonable use of phosphate sludge and its valorization by bacterial biomass as bioresource and eco-friendly strategy should be the basis of a circular economy for better P management as well as modern and sustainable agricultural development.

Conclusion

In this study, we were able to isolate, screen, and biochemically characterize phosphate solubilizing bacteria from phosphate sludge with excellent PGP properties such as P solubilization and IAA production, biocontrol activity, including production of HCN, siderotrophes, and lytic enzymes, as well as good tolerance to abiotic stress (pH, salinity, high temperature, and heavy metals). Bacterial isolates with good plant growth-promoting potentialities were identified by 16S rRNA gene sequencing and the most three beneficial isolates namely HFBP01, HFBPR15, and HFBPR26 were identified as *B. frigoritolerans*, *B. vallismortis* and *S. venezuelae*, respectively. The co-inoculum of these efficient strains could be used as bio-inoculants in real field conditions to recover phosphorus from phosphate sludge and promote common bean plant growth and yield. Indeed, the reuse of phosphate sludge in the context of the recovery of natural waste constitutes an eco-friendly and cost-effective strategy to isolate the bacterial biomass and develop efficient bioformulations having multidimensional benefits on sustainable agriculture. Further research is needed to explore their potential as biofertilizer and their genetic stability for possible multi-crop application in low-P agricultural soils.

Appendix

See Table 6.

Table 6 Production index of IAA and siderophores and TCP solubilization index of the 24 isolated PSBs strains from the Moroccan phosphate sludge

Code	Strain	IAA Production index (PI)	Siderophore production index (PI)	TCP Solubilization index (SI)
HFBP01	<i>Brevibacterium frigoritolerans</i> (MW115617)	1.80	—	2.40
HFBP02	<i>Peribacillus simplex</i> (MW115618)	2.20	—	—
HFBP03	<i>Arthrobacter</i> sp. (MT538256)	1.60	—	—
HFBP04	<i>Bacillus subtilis</i> (MT538257)	2.50	—	—
HFBP06	<i>Priestia aryabhattai</i> (MT538258)	2.30	—	—
HFBP07	<i>Bacillus wiedmannii</i> (MT538259)	1.40	—	2.20
HFBP08	<i>Bacillus inaquosorum</i> (MT538260)	—	2.29	—
HFBP14	<i>Bacillus mobilis</i> (MT538262)	—	—	—
HFBP15	<i>Bacillus vallismortis</i> (MT538262)	2.78	2.56	3.50
HFBP16	<i>[Brevibacterium] frigoritolerans</i> (MT538263)	—	2.23	—
HFBP17	<i>Streptomyces</i> sp. (MT538264)	—	—	1.80
HFBP18	<i>Bacillus cereus</i> (MT538265)	—	—	—
HFBP19	<i>Bacillus halotolerans</i> (MT538266)	—	—	—
HFBP20	<i>Bacillus</i> sp. (MT538267)	—	—	2.40
HFBP21	<i>Bacillus</i> sp. (MW115619)	—	—	2.50
HFBP22	<i>Bacillus</i> sp. (MW115620)	—	2.13	2.60
HFBP24	<i>Microbacterium</i> sp. (MW115621)	2.33	—	—
HFBP25	<i>Pseudarthrobacter</i> sp. (MT538268)	—	—	—
HFBP26	<i>Streptomyces venezuelae</i> (MT538269)	2.87	2.67	3.50
HFBP27	<i>Nocardioides luteus</i> (MT538270)	2.50	—	—
HFBP28	<i>Brevibacterium casei</i> (MT538271)	—	—	—
HFBP29	<i>Pseudarthrobacter</i> sp. (MT538272)	—	—	—
HFBP30	<i>Streptomyces</i> sp. (MT538273)	—	—	—
HFBP31	<i>Streptomyces</i> sp. (MT538274)	2.60	—	—

Acknowledgements The Authors would like to acknowledge the support through the R&D Initiative—Appel à projets autour des phosphates APPHOS—sponsored by the Office Chérifien des Phosphates (OCP) (OCP Foundation, R&D OCP, Mohammed VI Polytechnic University, National Center of Scientific and Technical Research CNRST, Ministry of Higher Education, Scientific Research and Innovation of Morocco) under the project entitled “Procédés biotechnologiques pour la valorisation des boues et des déchets miniers de phosphate : Formulation d’un phospho-compost bio-fertilisant pour application directe en agriculture productive et respectueuse de l’environnement” (Ref. BIO-MOD-01/2017).

Author Contributions EHA-O: investigation, methodology, writing original draft. AC: data curation, writing-review, editing. AD, SA, SI-K and BB: conceptualization, validation. CEM and AF-M: validation, supervision, project administration, funding acquisition.

Funding This work was funded by the Office Chérifien des Phosphates (OCP) (OCP Foundation, R&D OCP, Mohammed VI Polytechnic University, National Center of Scientific and Technical Research CNRST,

Ministry of Higher Education, Scientific Research and Innovation of Morocco) [Project. BIO-MOD-01/2017].

Data Availability Enquiries about data availability should be directed to the authors.

Declarations

Conflict of interest The authors declare that they have no competing interests.

Ethical Approval Not applicable.

Consent to Participate Not applicable.

Consent for Publication Not applicable.

References

- Hakkou, R., Benzaazoua, M., Bussière, B.: Valorization of phosphate waste rocks and sludge from the moroccan phosphate mines: challenges and perspectives. *Procedia Eng.* **138**, 110–118 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.02.068>
- El Bamiki, R., Raji, O., Ouabid, M., Elghali, A., Khadiri Yazami, O., Bodinier, J.L.: Phosphate rocks: a review of sedimentary and igneous occurrences in Morocco. *Minerals* **11**, 1137 (2021). <https://doi.org/10.3390/min11101137>
- Benbrik, B., Elabed, A., El Modafar, C., Douira, A., Amir, S., Filali-Maltouf, A., Abed, E., El Gachtouli, S., Mohammed, N., Ibsouda-Koraichi, I.: Reusing phosphate sludge enriched by phosphate solubilizing bacteria as biofertilizer: growth promotion of *Zea Mays*. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **30**, 101825 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101825>
- Haouas, A., El Modafar, C., Douira, A., Ibsouda-Koraichi, S., Filali-Maltouf, A., Moukhli, A., Amir, S.: Phosphate sludge: opportunities for use as a fertilizer in deficient. *Detritus* **16**, 82–93 (2021). <https://doi.org/10.31025/2611-4135/2021.15112>
- Alewell, C., Ringeval, B., Ballabio, C., Robinson, D.A., Panagos, P., Borrelli, P.: Global phosphorus shortage will be aggravated by soil erosion. *Nat. Commun.* **11**, 4546 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18326-7>
- Granada, C.E., Passaglia, L.M.P., Souza, E.M., Sperotto, R.A.: Is phosphate solubilization the forgotten child of plant growth-promoting rhizobacteria? *Front. Microbiol.* **9**, 2054 (2018). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02054>
- Bargaz, A., Elhaissoufi, W., Khourchi, S., Benmrid, B., Borden, K.A., Rchiad, Z.: Benefits of phosphate solubilizing bacteria on belowground crop performance for improved crop acquisition of phosphorus. *Microbiol. Res.* **252**, 126842 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126842>
- Soumare, A., Boubekri, K., Lyamlouli, K., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Kouisni, L.: Efficacy of phosphate solubilizing Actinobacteria to improve rock phosphate agronomic effectiveness and plant growth promotion. *Rhizosphere* **17**, 100284 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100284>
- El Attar, I., Hnini, M., Taha, K., Aurag, J.: Phosphorus availability and its sustainable use. *J. Soil Sci. Plant. Nutr.* **22**, 5036–5048 (2022). <https://doi.org/10.1007/s42729-022-00980-z>
- Maćik, M., Gryta, A., Frać, M.: Biofertilizers in agriculture: an overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. *Adv. Agron.* **162**, 31–87 (2020). <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.02.001>
- Mahmud, A.A., Upadhyay, S.K., Srivastava, A.K., Bhojiya, A.A.: Biofertilizers: a nexus between soil fertility and crop productivity under abiotic stress. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* **3**, 100063 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.crsust.2021.100063>
- Dandessa, C., Bacha, K.: Review on role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture. *Int. J. Curr. Res. Acad. Rev.* **6**, 48–55 (2018). <https://doi.org/10.20546/ijcrar.2018.611.006>
- Kour, D., Rana, K.L., Kaur, T., Yadav, N., Yadav, A.N., Kumar, M., Kumar, V., Dhaliwal, H.S., Saxena, A.K.: Biodiversity, current developments and potential biotechnological applications of phosphorus-solubilizing and -mobilizing microbes: a review. *Pedosphere* **31**, 43–75 (2021). [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(20\)60057-1](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(20)60057-1)
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., Shankhdhar, S.: Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *J. Soil Sci. Plant. Nutr.* **21**, 49–68 (2021). <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>
- Abbasi, M.K., Manzoor, M.: Biosolubilization of phosphorus from rock phosphate and other P fertilizers in response to phosphate solubilizing bacteria and poultry manure in a silt loam calcareous soil. *J. Plant. Nutr. Soil Sci.* **181**, 345–356 (2018). <https://doi.org/10.1002/jpln.201800012>
- Kalayu, G.: Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. *Int. J. Agron.* **14**, 1–7 (2019). <https://doi.org/10.1155/2019/4917256>
- Alori, E.T., Glick, B.R., Babalola, O.O.: Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* **8**, 971 (2017). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
- Rfaki, A., Zennouhi, O., Aliyat, F.Z., Nassiri, L., Ibjibijen, J.: Isolation, selection and characterization of root-associated rock phosphate solubilizing bacteria in moroccan wheat (*Triticum aestivum* L.). *Geomicrobiol. J.* **37**, 230–241 (2019). <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1694106>
- Azaroual, S.E., Hazzoumi, Z., El Mernissi, N., Aasfar, A., Mef-tah Kadmiri, I., Bouizgarne, B.: Role of inorganic phosphate solubilizing *Bacilli* isolated from moroccan phosphate rock mine and rhizosphere soils in wheat (*Triticum aestivum* L.) phosphorus uptake. *Curr. Microbiol.* **77**, 2391–2404 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02046-8>
- Benbrik, B., Elabed, A., Iraqui, M., Ghachtouli, N.E., Douira, A., Amir, S., Filali-Maltouf, A., El Abed, S., El Modafar, C., Ibsouda-Koraichi, S.: A phosphocompost amendment enriched with PGPR consortium enhancing plants growth in deficient soil. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* **52**, 1236–1247 (2021). <https://doi.org/10.1080/00103624.2021.1879121>
- El Maaloum, S., Elabed, A., Alaoui-Talibi, Z.E., Meddich, A., Filali-Maltouf, A., Douira, A., Ibsouda-Koraichi, S., Amir, S., El Modafar, C.: Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria consortia associated with phospho-compost on phosphorus solubilization and growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* **51**, 622–634 (2020). <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729376>
- Grainger, J., Hurst, J., Burdass, D.: Basic practical microbiology: a manual. *Soc. Gen. Microbiol.* **27** (2001). http://www.cuturi.eu/microbiologia/manuale_microbiologia_pratica.pdf
- Chen, W.P., Kuo, T.T.: A simple and rapid method for the preparation of gram-negative bacterial genomic DNA. *Nucleic Acids Res.* **21**, 2260–2260 (1993). <https://doi.org/10.1093/nar/21.9.2260>
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Lane, D.J.: 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* **173**, 697–703 (1991). <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J.: Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* **215**, 403–410 (1990). [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K.: MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* **35**, 1547–1549 (2018). <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kimura, M.: A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* **16**, 111–120 (1980). <https://doi.org/10.1007/BF01731581>
- Saitou, N., Nei, M.: The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**, 406–425 (1987). <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Cermak, V.: Restriction comparator. Available at: <http://www.molbiotools.com/restrictioncomparator.html> (2021). Accessed 13 Oct 2021
- Cermak, V.: Silent mutator. Available at: <https://molbiotools.com/silentmutator.php> (2021). Accessed 13 Oct 2021
- Benjelloun, I., Thami Alami, I., Douira, A., Udupa, S.M.: Phenotypic and genotypic diversity among symbiotic and non-symbiotic

- bacteria present in chickpea nodules in Morocco. *Front. Microbiol.* **10**, 1885 (2019). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01885>
32. Zerhari, K., Aurag, J., Khbaya, B., Kharchaf, D., Filali-Maltouf, A.: Phenotypic characteristics of rhizobia isolates nodulating *Acacia* species in the arid and saharan regions of Morocco. *Lett. Appl. Microbiol.* **30**, 351–357 (2000). <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00730.x>
 33. Arora, N.K., Verma, M.: Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria. *3 Biotech* **7**, 381 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-1008-y>
 34. Aarab, S., Ollero, F., Megías, M., Laglaoui, A., Bakkali, M., Arakrak, A.: Isolation and identification of potential phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of *Lupinus hirsutus* L. in the north of Morocco. *Moroc. J. Biol.* **10**, 7–13 (2013)
 35. Cao, Y., Fu, D., Liu, T., Guo, G., Hu, Z.: Phosphorus solubilizing and releasing bacteria screening from the rhizosphere in a natural wetland. *Water* **10**, 195 (2018). <https://doi.org/10.3390/w10020195>
 36. Hanson, W.C.: The photometric determination of phosphorus in fertilizers using the phosphovanado-molybdate complex. *J. Sci. Food Agric.* **1**, 172–173 (1950). <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740010604>
 37. Pandey, S., Singh, S., Yadav, A.N., Nain, L., Saxena, A.K.: Phylogenetic diversity and characterization of novel and efficient cellulase producing bacterial isolates from various extreme environments. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **77**, 1474–1480 (2013). <https://doi.org/10.1271/bbb.130121>
 38. Ritonga, H., Natsir, M., Kurniawati, D., Utamy, S.P.: Isolation and identification of chitinolytic bacteria of pohara river of South East Sulawesi and the optimization production of chitinase enzyme. *AIP Conf. Proc.* **1823**, 020062 (2017). <https://doi.org/10.1063/1.4978135>
 39. Geetha, K., Enkatesham, E.V., Amballa, H., Hadraiah, B.B.: Isolation, screening and characterization of plant growth promoting bacteria and their effect on *Vigna radita* (L.) R. Wilczek. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **3**, 799–809 (2014). <https://www.ijcmas.com/vol-3-6/K.Geetha,%20et%20al.pdf>
 40. Dikin, A., Sijam, K., Kadir, J., Seman, I.A.: Antagonistic bacteria against *Schizophyllum commune* Fr. Peninsular Malaysia. *Biotropia* **13**, 111–121 (2006). <https://doi.org/10.11598/btb.2006.13.2.221>
 41. Agboola, O., Babatunde, D.E., Isaac Fayomi, O.S., Sadiku, E.R., Popoola, P., Moropeng, L., Yahaya, A., Mamudu, O.A.: A review on the impact of mining operation: monitoring, assessment and management. *Results Eng.* **8**, 100181 (2020). doi:<https://doi.org/10.1016/j.rineng.2020.100181>
 42. Haouas, A., El Modafar, C., Douira, A., Ibnsouda-Koraichi, S., Filali-Maltouf, A., Moukhli, A., Amir, S.: Evaluation of the nutrients cycle, humification process, and agronomic efficiency of organic wastes composting enriched with phosphate sludge. *J. Clean. Prod.* **302**, 127051 (2021). doi:<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127051>
 43. Elhaissoufi, W., Ghoulam, C., Barakat, A., Zeroual, Y., Bargaz, A.: Phosphate bacterial solubilization: a key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. *J. Adv. Res.* **38**, 13–28 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.08.014>
 44. Batool, S., Iqbal, A.: Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum* (Var. Galaxy 2013). *Saudi J. Biol. Sci.* **26**, 1400–1410 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.024>
 45. Teng, Z., Shao, W., Zhang, K., Huo, Y., Li, M.: Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from heavy metal contaminated soils and their potential for lead immobilization. *J. Environ. Manage.* **231**, 189–197 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.10.012>
 46. Wei, Y., Zhao, Y., Shi, M., Cao, Z., Lu, Q., Yang, T., Fan, Y., Wei, Z.: Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresour. Technol.* **247**, 190–199 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.092>
 47. Santos-Torres, M., Romero-Perdomo, F., Mendoza-Labrador, J., Gutiérrez, A.Y., Vargas, C., Castro-Rincon, E., Caro-Quintero, A., Uribe-Velez, D., Estrada-Bonilla, G.A.: Genomic and phenotypic analysis of rock phosphate-solubilizing rhizobacteria. *Rhizosphere* **17**, 100290 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100290>
 48. Desai, S., Amaresan, N.: Qualitative and quantitative estimation of phosphate solubilizing actinobacteria. In: Dharumadurai, D. (ed.) *Methods in Actinobacteriology*. Springer Protocols Handbooks. Humana, New York (2022). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1728-1_86
 49. Gupta, S., Pandey, S.: ACC deaminase producing bacteria with multifarious plant growth promoting traits alleviates salinity stress in french bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. *Front. Microbiol.* **10**, 1506 (2019). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01506>
 50. Moon, Y.S., Ali, S.: Isolation and identification of multi-trait plant growth-promoting rhizobacteria from coastal sand dune plant species of Pohang beach. *Folia Microbiol.* **67**, 523–533 (2022). <https://doi.org/10.1007/s12223-022-00959-4>
 51. Qarni, A., Billah, M., Hussain, K., Shah, S.H., Ahmed, W., Alam, S., Sheikh, A.A., Jafri, L., Munir, A., Malik, K.M., Khan, N.: Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from rock phosphate mines and their potential effect for sustainable agriculture. *Sustainability* **13**, 2151 (2021). <https://doi.org/10.3390/su13042151>
 52. Ortiz, A., Sansinenea, E.: The industrially important enzymes from *Bacillus* species. In: Islam, M.T., Rahman, M., Pandey, P. (eds.) *Bacilli in Agrobiotechnology*. Bacilli in Climate Resilient Agriculture and Bioprospecting. Springer, Cham (2022). https://doi.org/10.1007/978-3-030-85465-2_4
 53. Xu, J.C., Huang, L.M., Chen, C., Wang, J., Long, X.X.: Effective lead immobilization by phosphate rock solubilization mediated by phosphate rock amendment and phosphate solubilizing bacteria. *Chemosphere* **237**, 124540 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124540>
 54. Dey, G., Banerjee, P., Sharma, R.K., Maity, J.P., Etesami, H., Shaw, A.K., Huang, Y.H., Huang, H.B., Chen, C.Y.: Management of phosphorus in salinity-stressed agriculture for sustainable crop production by salt-tolerant phosphate-solubilizing bacteria—a review. *Agronomy* **11**, 1552 (2021). <https://doi.org/10.3390/agronomy11081552>
 55. Kang, S.M., Khan, M.A., Hamayun, M., Kim, L.R., Kwon, E.H., Kang, Y.S., Kim, K.Y., Park, J.J., Lee, I.J.: Phosphate-solubilizing *Enterobacter ludwigii* AFFR02 and *Bacillus megaterium* Mj1212 rescues alfalfa's growth under post-drought stress. *Agriculture* **11**, 485 (2021). <https://doi.org/10.3390/agriculture11060485>
 56. Singh, H.B., Keswani, C., Reddy, M.S., Sansinenea, E., García-Estrada, C.: *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms: Discovery and Applications*. Springer, Singapore (2019). <https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3>
 57. Lucero, C.T., Lorda, G.S., Anzuay, M.S., Ludueña, L.M., Taurian, T.: Peanut endophytic phosphate solubilizing bacteria increase growth and P content of soybean and maize plants. *Curr. Microbiol.* **78**, 1961–1972 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02469-x>
 58. Borgi, M.A., Saidi, I., Moula, A., Rhimi, S., Rhimi, M.: The attractive *Serratia plymuthica* BMA1 strain with high rock phosphate-solubilizing activity and its effect on the growth and phosphorus uptake by *vicia faba* L. plants. *Geomicrobiol. J.* **37**, 437–445 (2020). <https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1716892>

59. Jiang, H., Qi, P., Wang, T., Chi, X., Wang, M., Chen, M., Chen, N., Pan, L.: Role of halotolerant phosphate-solubilising bacteria on growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea*) under saline soil. *Ann. Appl. Biol.* **174**, 20–30 (2019). <https://doi.org/10.1111/aab.12473>
60. Rasool, A., Mir, M.I., Zulfajri, M., Hanafiah, M.M., Unnisa, S.A., Mahboob, M.: Plant growth promoting and antifungal asset of indigenous rhizobacteria secluded from saffron (*Crocus sativus* L.) rhizosphere. *Microb. Pathog.* **150**, 104734 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104734>
61. Wang, R., Wang, C., Feng, Q., Liou, R.M., Lin, Y.F.: Biological inoculant of salt-tolerant bacteria for plant growth stimulation under different saline soil conditions. *J. Microbiol. Biotechnol.* **31**, 398–407 (2021). <https://doi.org/10.4014/jmb.2009.09032>
62. Castaldi, S., Petrillo, C., Donadio, G., Piaz, F.D., Cimmino, A., Masi, M., Evidente, A., Istatico, R.: Plant growth promotion function of *Bacillus* sp. strains isolated from salt-pan rhizosphere and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina*. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 3324 (2021). <https://doi.org/10.3390/ijms22073324>
63. Kaur, P., kaur, J., Saini, H.: Antifungal potential of *Bacillus vallis-mortis* R2 against different phytopathogenic fungi. *Span. J. Agric. Res.* **13**, 1–11 (2015). <https://doi.org/10.5424/sjar/2015132-6620>
64. Marin-Bruzos, M., Grayston, S.J., Forge, T., Nelson, L.M.: Isolation and characterization of streptomycetes and pseudomonad strains with antagonistic activity against the plant parasitic nematode *Pratylenchus penetrans* and fungi associated with replant disease. *Biol. Control.* **158**, 104599 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104599>
65. Olanrewaju, O.S., Babalola, O.O.: Streptomyces: implications and interactions in plant growth promotion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **103**, 1179–1188 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00253-018-09577-y>
66. Sundara, B., Natarajan, V., Hari, K.: Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crop Res.* **77**, 43–49 (2002). [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(02\)00048-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(02)00048-5)
67. Rosa, P.A.L., Mortinho, E.S., Jalal, A., Galindo, F.S., Buzetti, S., Fernandes, G.C., Barco Neto, M., Pavinato, P.S., Teixeira Filho, M.C.M.: Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. *Front. Environ. Sci.* **8**, 32 (2020). <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00032>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

II.2. Synthèse du 1er article

Pendant des décennies, les activités minières ont augmenté la quantité de déchets de phosphate produits, ainsi que les boues générées par le lavage du phosphate, qui s'accumulent encore sans être recyclées. Cependant, la valorisation des boues de phosphate et leur utilisation en agriculture comme phospho-compost pourrait potentiellement améliorer la qualité des sols pauvres en phosphore et augmenter les rendements de biomasse (Haouas et al., 2021). La disponibilité de ce phosphate pour les plantes est généralement favorisée par les BSP, qui sont considérées comme une approche efficace, alternative et écologique pour améliorer la production agricole (Bargaz et al., 2021; Elhaissofi et al., 2021).

La présente étude visait à isoler et caractériser les BSP à partir des boues de lavage de phosphate de la ville de Khouribga au Maroc. Un total de 31 BSP ont été isolées, parmi lesquelles 24 souches ont été retenues après identification moléculaire. Ces 24 souches ont démontré leur capacité à solubiliser la roche phosphatée dans le milieu PVK liquide, avec des concentrations de P soluble variant entre 3,25 µg/ml et 140 µg/ml. L'activité de solubilisation de la roche phosphatée s'est accompagnée d'une diminution du pH moyen, passant d'un pH initial de 6,8 à une plage de 4,28-6,05. Cette baisse de pH peut être attribuée à la sécrétion d'acides organiques par les bactéries, comme rapporté dans des études antérieures (Wei et al., 2018; Batool et Iqbal, 2019). De plus, nos souches produisent de l'acide indole acétique, de siderophores, du cyanure d'hydrogène et des enzymes lytiques telles que la cellulase et la chitinase. Ces résultats concordent avec d'autres études qui ont souligné l'existence de bactéries solubilisatrices de phosphate (PSB) présentant des caractéristiques multiples favorisant la croissance des plantes. (Gupta et Pandey, 2019; Qarni et al., 2021) (Ortiz et Sansinenea, 2022). Cela renforce l'idée que les PSB peuvent jouer un rôle important dans l'amélioration de la disponibilité en phosphore pour les plantes et dans la promotion de leur croissance. Ces souches ont également montré une tolérance significative à différentes températures et concentrations de NaCl testées. De plus, elles ont montré une résistance importante aux éléments traces métalliques tels que le fer et le plomb. Des études antérieures ont montré que l'application de bactéries tolérantes au stress abiotiques peut être un moyen très efficace et économique pour améliorer la disponibilité du phosphore, rétablir les carences en P dans des environnements contraignants et remédier aux sites pollués (Teng et al., 2019; Xu et al., 2019a; Rawat et al., 2020; Mahmud et al., 2021). Les trois souches *Brevibacterium frigoritolerans* (HFBP01), *Bacillus vallismortis* (HFBP15) et *Streptomyces venezuelae* (HFBP26), ont montré une solubilisation importante du phosphate présent dans les boues de phosphate, une

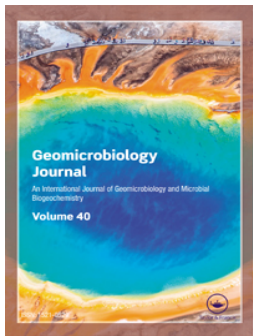
production de l'AIA et du siderophore, Elles ont également dévoilé une inhibition significative in vitro du développement des phytopathogènes *F. oxysporum* et *B. cinerea*.

L'inoculation individuelle et la co-inoculation avec les différentes combinaisons entre les trois souches a amélioré de façon différentielle et significative la longueur et la biomasse sèche des plantes de *P. vulgaris*. La stimulation de ces paramètres de croissance pourrait être attribuée à plusieurs traits PGP de nos souches bactériennes sélectionnées. Ces résultats concordent avec d'autres, indiquant que les PSB peuvent solubiliser le P et produire divers métabolites favorisant la croissance des plantes, qui aident à améliorer la disponibilité des nutriments et la croissance des plantes (Batool et Iqbal, 2019; Bargaz et al., 2021; Mahmud et al., 2021; Kang et al., 2021).

Des recherches antérieures ont rapporté l'efficacité des BSP dans l'amélioration de la nutrition, la croissance et le rendement de différentes cultures comestibles, comme le blé (Batool et Iqbal, 2019), le soja (Lucero et al., 2021), le maïs (Benbrik et al., 2021a), la fève (Borgi et al., 2020), l'arachide (H. Jiang et al., 2019), la tomate (El Maaloum et al., 2020a) et les cultures fourragères comme la luzerne (Kang et al., 2021; Bargaz et al., 2021). En outre, des études antérieures ont montré le rôle des BPS sélectionnés dans la promotion de la croissance des plantes et dans les activités de lutte biologique, *B. frigoritolerans* (Rasool et al., 2021; R. Wang et al., 2021), *B. vallismortis* (Kaur et al., 2015; Castaldi et al., 2021) et *S. venezuelae* (Olanrewaju et Babalola, 2019; Marin-Bruzos et al., 2021). Les résultats de cette étude ont révélé que *B. frigoritolerans*, *B. vallismortis* et *S. venezuelae* pourraient être des candidats potentiels pour améliorer l'efficacité des boues de phosphate en développant une formulation de biofertilisant alternative aux engrais chimiques, afin de favoriser la croissance des plantes.

III. Article II: Assessment of potent phosphate-solubilizing bacteria isolated from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge and their effect on common bean growth

III.1. Présentation de l'article 2



Assessment of Potent Phosphate-Solubilizing Bacteria Isolated from the Olive Tree Rhizosphere Grown on Phosphate Sludge and Their Effect on Common Bean Growth

El Houcine Ait-Ouakrim, Abdelghani Chakhchar, Cherkaoui El Modafar, Allal Douira, Soumia Amir, Saad Ibensouda-Koraichi, Bouchra Belkadi & Abdelkarim Filali-Maltouf

To cite this article: El Houcine Ait-Ouakrim, Abdelghani Chakhchar, Cherkaoui El Modafar, Allal Douira, Soumia Amir, Saad Ibensouda-Koraichi, Bouchra Belkadi & Abdelkarim Filali-Maltouf (2023): Assessment of Potent Phosphate-Solubilizing Bacteria Isolated from the Olive Tree Rhizosphere Grown on Phosphate Sludge and Their Effect on Common Bean Growth, Geomicrobiology Journal, DOI: [10.1080/01490451.2023.2218839](https://doi.org/10.1080/01490451.2023.2218839)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/01490451.2023.2218839>



View supplementary material [↗](#)



Published online: 03 Jun 2023.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 22



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Assessment of Potent Phosphate-Solubilizing Bacteria Isolated from the Olive Tree Rhizosphere Grown on Phosphate Sludge and Their Effect on Common Bean Growth

El Houcine Ait-Ouakrim^a, Abdelghani Chakhchar^{b,c}, Cherkaoui El Modafar^b, Allal Douira^d, Soumia Amir^b, Saad Ibsouda-Koraichi^e, Bouchra Belkadi^a, and Abdelkarim Filali-Maltouf^a

^aLaboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Centre de Biotechnologie Végétale et Microbienne Biodiversité et Environnement, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat, Morocco; ^bCentre d'Agrobiotechnologie et Bioingénierie, Unité de Recherche Labellisée CNRST (AgroBiotech-URL-CNRST 05), Faculté des Sciences et Techniques, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Morocco; ^cLaboratoire Interdisciplinaire de Recherche en Bio-ressources, Environnement et Matériaux, Ecole Normale Supérieure de Marrakech, Marrakech, Morocco; ^dLaboratoire des Productions Végétales, Animales et Agro-industrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kenitra, Morocco; ^eLaboratoire de Biotechnologie Microbienne et Molécules Bioactives, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Morocco

ABSTRACT

One of the most restricting macronutrients for crop yield worldwide is phosphorus, which is often less than 1% of the total amount contained in soils. To promote its bioavailability, there are micro-organisms considered vital that can solubilize and mineralize their pools in soils. In the current study, we assessed the potential of phosphate-solubilizing bacteria (PSB), isolated from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge, to solubilize phosphate, promote plant growth, and tolerate abiotic stresses. Based on 16S rRNA gene sequencing, twenty-four PSB strains were identified and retained for *in vitro* analysis. According to the results, all the strains were able to solubilize the Moroccan rock phosphate, with soluble phosphate concentrations ranged from 5.34 µg/mL to 227 µg/mL. Furthermore, the majority of the strains are thermo-tolerant and halotolerant. Nonetheless, only five strains produced indole acetic acid. Regarding biocontrol potentialities, several PSB strains were characterized by producing hydrogen cyanide and hydrolytic enzymes (cellulase, and chitinase), of which three strains identified as *Pseudomonas moraviensis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus aryabhattai*, with a remarkable multi-trait combination were selected for antagonism and co-inoculation tests. The findings revealed that these PSB strains significantly inhibited *Fusarium oxysporum* (17.65%–62.35%) and *Verticillium dahliae* (52.35%–66.87%) and promoted common bean growth. The consortium of the three strains showed the best results by significantly increasing both plant height and tap root length and dry biomass compared to individual inoculation. The PSB selected from the olive tree rhizosphere growing on phosphate sludge have the potential to be useful as biofertilizer and biocontrol agents for attaining sustainable food crop production.

ARTICLE HISTORY

Received 22 September 2022
Accepted 24 May 2023

KEYWORDS

16S rRNA gene sequencing; phosphate solubilization; multi-trait PSB; indole acetic acid; Thermo-tolerance and halotolerance; Co-inoculation

Introduction

Morocco has an inestimable natural phosphate resource; nonetheless, the production and valorization generate significant quantities of mining sludge, which are stored in tailings ponds, mainly in the open air, and eventually forms dykes over large areas (Hakkou et al. 2016). Wild and cultivated plants have developed on these formed lands for years by phosphate sludge. The local population, taking advantage of the abundance of these phosphate-rich lands, has cultivated many plant species, notably the olive tree, in order to meet its needs for food crops and assure sustained income. Phosphate (P) is an essential nutrient that has a significant impact on overall plant growth and is involved in almost all

crop development stages (Bargaz et al. 2021; Fitriyanti et al. 2017; Verma et al. 2019), influencing key metabolic processes such as signal transduction, energy transport, cell division, photosynthesis, respiration, and macromolecular biosynthesis. It is concentrated in the upper part of the soil in two main forms: mineral and organic. Mineral phosphorus is strongly attached to calcium carbonates in calcareous soils, while it is substantially bound to aluminum or iron compounds in acidic soils (Hameeda et al. 2008; Mahdi and Mouhamad 2018). Otherwise, organic phosphate results from the degradation of plants by the fauna and flora in the soil. Only a small fraction is available in the soil and can be absorbed by the plant's roots (Hinsinger 2001).

CONTACT Abdelghani Chakhchar ✉ a.chakhchar@um5r.ac.ma ✉ Laboratoire Interdisciplinaire de Recherche en Bio-ressources, Environnement et Matériaux, Ecole Normale Supérieure (ENS) de Marrakech, BP 2400 Hay Hassani, Route d'Essaouira 40000, Marrakech, Morocco.

 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/01490451.2023.2218839>.

© 2023 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

The olive rhizosphere is a rich source of microorganisms that aid the plant's growth and tolerance to environmental challenges (Cheba and Abdelzaher 2020; Dede et al. 2020; Gómez-Lama Cabanás et al. 2018). Plant roots produce a variety of organic substances that enrich the rhizosphere and provide energy to soil microbes, and plant growth-promoting activities (Hinsinger, 2001; Omotayo and Babalola 2021). Among the rhizosphere microorganisms, P solubilizing bacteria (PSB) are a type of bacterial community that can directly or indirectly interfere with plant responses to environmental constraints (Alori et al. 2017; Dwivedi 2020). The PSB colonize the rhizosphere using root exudate as a nutritional substrate. In return, they have a beneficial effect on the plant through a multitude of mechanisms, including the solubilization and mineralization of nutrients present in the soil and make them available to plants. Indeed, PSB are able to solubilize inorganic P and make it accessible to plants by producing organic acids such as oxalic acid, gluconic acid, lactic acid, citric acid, and acetic acid (Alori et al. 2017; Rodriguez et al. 2004; Tian et al. 2021; Zheng et al. 2018; Xie et al. 2021). P mobilization in the soil can occur through the production of a wide range of phosphatase enzymes (Manzoor et al. 2017; Tian et al. 2021). In addition, PSB produce and release growth-promoting molecules, defend against soil pathogens, and mitigate the negative impacts of biotic and abiotic factors (Ahmad and Kibret 2013; Ngumbi and Kloepper, 2016; Raymond et al. 2021). Regarding PSB activity and plant P uptake, the rhizosphere soils of phosphate sludge are an important potential pool of phosphate-solubilizing microorganisms (El Maaloum et al. 2020). Strains from bacterial genera *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, and *Micrococcus* have been reported as efficient PSB in the soil (Ait-Ouakrim et al. 2023; Dandessa and Bacha 2018; Kour et al. 2021; Mahmud et al. 2021). One of the ideal habitats for sourcing PSBs are rhizosphere of plants growing in phosphate sludge. They are adapted to different stresses, which shows an inconsistent physicochemical condition in terms of drought stress, high temperature and nutrients deficiencies. The role of diverse microbial communities residing in mining waste has been reported in relation to plant growth and bioremediation activities (Benbrik et al. 2020; Mghazli et al. 2022). However, to our knowledge no study has been made to evaluate the effect of PSB consortia isolated from rhizosphere of olive tree grown on phosphate sludge based on a multitrait approach in terms of production and the release of molecules promoting plant growth, defence against soil pathogens, and mitigation of adverse effects of biotic and abiotic stresses.

Exploration and valorization of olive rhizosphere grown on phosphate sludge by evaluating both the richness of microorganisms and their plant growth promotion properties and bio-fertilizing capacities appear to be a promising strategy for improved crop productivity. PSB has gained importance as a biofertilizer in recent years, allowing plants to overcome phosphate deficiency while minimizing and rationalizing the use of environmentally hazardous chemical

fertilizers (Abbasi and Manzoor 2018; Raymond et al. 2021; Tian et al. 2021).

According to our knowledge, few investigations on the diversity of bacteria in phosphate mining sites have been conducted in Morocco (Ait-Ouakrim et al. 2023; Azaroual et al. 2022; Mghazli et al. 2021). In the present work, (1) we isolated and identified PSB from the olive tree grown on phosphate sludge, and (2) studied their capacity to recover phosphorus from the phosphate sludge under *in vitro* conditions, (3) and highlighted plant growth-promoting traits involved in P-solubilization process, and (4) evaluated its inoculation effect on common bean plants growth.

Material and methods

Sample collection and isolation of PSB

This study was conducted in the phosphate mine located near Khouribga city in the north-east of Morocco 32°44'51.4"N 6°50'56.5"W. By digging around the tree roots, about thirty samples from the rhizosphere soil (soil attached to the roots) of twenty olive tree (*Olea europaea*) grown on phosphate sludge storage basins produced in 1997 were collected during spring season (April-May) and brought to the laboratory in sterile bags and stored at room temperature until their use. The dilution procedure was used to isolate the bacteria; 9 mL of a sterile saline solution (consisting of 0.9% (w/v) NaCl in distilled water) was used to suspend 1 g of homogenized rhizospheric soil (Burdass et al. 2016). The mixture was then stirred for 1 h by shaking with a vortex for homogenization of the soil particles, and diluted from 10^{-1} to 10^{-6} . From each dilution, 100 μ L were spread onto a modified Pikovskaya agar medium (5.0 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ as a phosphorus source, 0.5 g yeast extract powder, 10.0 g glucose, 0.5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.2 g NaCl, 0.002 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.005 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.2 g KCl, 15.0 g agar, and 1000 mL distilled water (pH 6.8)) (Ait-Ouakrim et al. 2023). To prevent the development of fungi, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of cycloheximide was added to the medium. Petri dishes were incubated for 7 days at 28 °C and the colonies that developed were isolated.

Successful subculturing onto Nutrient Broth (NB) was realized to purify 56 isolates. All the isolates were designated by a laboratory code and stored in 40% (w/v) glycerol at -80°C (Supplementary information 1).

Molecular identification and phylogenetic analysis

DNA extraction and rep-PCR fingerprinting

Complete bacterial genomic DNA was extracted using the conventional phenol-chloroform protocol (Chen and Kuo 1993). The quantity of DNA was determined using a Nanodrop spectrophotometer (NanoDrop ND1000, Thermo Fisher Scientific, USA).

Repetitive extragenic palindromic (REP)-polymerase chain reactions (PCR) analysis was performed using the two primers REP1R-I and REP2-I as previously described by de Bruijn (1992). Comparative analysis of the electrophoretic

rep-PCR patterns was performed using GelCompar II software (version 2.5 Applied Math, Belgium) by using the unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA).

16S DNA amplification and sequencing

The 16S rRNA genes were amplified using the universal primers fD1 and rD1 as reported by Weisburg et al. (1991). PCR was carried out with a MyTaq Mix, following the manufacturer's specifications (Bioline Reagents Ltd). PCR products were examined by horizontal electrophoresis in agarose gels (Bioline) stained with ethidium bromide ($0.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) in Tris-acetate-EDTA (TAE) buffer and photographed under UV light using ENDURO Gel Documentation System (GDS).

The 16S rRNA genes were sequenced at the functional genomics platform of the Center National pour la Recherche Scientifique et Technique (CNRST), Rabat city, Morocco, using fD1/rD1 primers, and the sequences obtained were then analyzed and edited with DNA Dragon software (Hepperle 2011). The sequences were then blasted against the NCBI database using the BLASTn program (Altschul et al. 1990) to identify the isolated strains. All sequences were deposited in NCBI database, thus mentioning their accession numbers in the regenerated phylogenetic tree. Strains possessing high similarity with our isolates and type strains of closely related species were aligned with our strains using the Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software (Kumar et al. 2018). With the neighbor-joining analysis (Saitou and Nei 1987), the calculated distances were used to build phylogenetic trees using Kimura's two-parameter model (Kimura, 1980). The strain *Thermus antranikianus* HN3-7T (Y18411.1) served as an outgroup during the phylogenetic tree's construction.

Phenotypic tests

Soil salinity, pH and high temperature in semi-arid and arid regions are often major environmental stresses that restrict the growth and yield of crops worldwide. To select effective PSBs that can develop, survive and perform their intended functions under various stressful environmental conditions, the capacity of isolates to develop under a range of temperatures (28°C to 60°C) and NaCl concentrations (0 to 2394 mM) was tested. For pH tests, it was adjusted to 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, and 9. All phenotypic assays were performed on tryptone-yeast (TY) media using an exponentially growing culture containing about 10^9 cells/mL. Each test was conducted in three replicates.

Plant growth promotion activities (PGP)

Siderophore production

Siderophores production by bacterial isolates was detected using Luria-Bertani (LB) (medium containing Chrome Azurol S (CAS) as described by Arora and Verma (2017). The change of the medium's color from blue to orange

indicates the production of siderophore. The quantitative estimation of siderophore production, was performed in iron-deficient medium ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$): K_2HPO_4 , 0.5; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1.0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2; Sodium glutamate, 1.0; Mannitol, 10.0; NaCl, 0.1). After 7 days of incubation in a shaking incubator at 180 rpm at 28°C , bacterial cultures were centrifuged at $10,000 \text{ g}$ for 10 min and the supernatant was used to estimate siderophore production. The supernatant of each bacterial culture (1 mL) was homogenized with 1 mL of CAS reagent and incubated for 20 min in dark at room temperature. The optical density (OD) was spectrophotometrically measured at 630 nm (Spectrophotometer: Thermo Scientific, Evolution 201), and the siderophore produced was expressed in the percent siderophore unit (PSU) as described by Arora and Verma (2017).

Indole acetic acid production (IAA)

A solid yeast extract mannitol (YEM) medium containing tryptophan (0.5 g/L) was used to test the production of IAA. Bacterial cultures ($5 \mu\text{L}$) were used to inoculate the medium, which was subsequently incubated for 3 days at 28°C . Placing a Whatman filter soaked in Salkowski's reagent on LB Medium on the plate containing the bacterial culture for 30 minutes in the dark allows for the detection of IAA produced. A pink halo that surrounds the colony served as a sign of the IAA's presence. A pink halo that surrounds the colony serves as a sign of the IAA's presence.

The quantitative estimation of IAA production was investigated in a liquid medium supplemented with 0.5 mg/mL L-tryptophan according to the method described by (Lahsini et al. 2022). After 48h of incubation, the culture was centrifuged at $10,000 \text{ g}$ for 10 min and the supernatant was filtered with an $0.2 \mu\text{m}$ Millipore filter. Then, 1 mL of the supernatant was mixed with 1 mL of Salkowski reagent (35% perchloric acid and 0.5 M ferric chloride). After incubation in the dark for 30 min at room temperature, OD was noted at 540 nm to estimate the concentration of IAA using a standard curve.

In vitro qualitative phosphate solubilization test

The ability of our strains to solubilize the tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] was assessed on solid Pikovskaya Medium (PKV) (Cao et al. 2018). A transparent halo that appears surrounding the bacterial colonies shows that the strains can solubilize tricalcium phosphate. The phosphate solubilization index (PSI) was calculated as described by Akintokun et al. (2007).

In vitro quantitative phosphate rock solubilization assay

Phosphate rock solubilization was performed in Erlenmeyer flasks containing 100 mL of liquid PVK medium, supplemented with 0.05 g of Moroccan rock phosphate (RP) as a source of phosphate. For each strain, three duplicates were carried out with negative control. The medium was inoculated with liquid strains' culture ($\text{OD} = 0.05$). The Erlenmeyer flasks were incubated at 28°C on a rotatory

shaker at 180 rpm. The pH of the culture was measured after 48h, then bacterial cultures were centrifuged at 13,000 g for 10 min and the supernatants were filtered using a 0.2 µm filter. The concentration of soluble P in the supernatant was measured using the Vanadate-Molybdate method (Hanson 1950; Tandon et al. 1968).

Solubilization of phosphate sludge and tricalcium phosphate

Based on the phosphate rock solubilization and the above PGP traits, the three most effective strains were selected for testing their ability to solubilize phosphate sludge (PS) and Tricalcium phosphate (TCP) in liquid medium using PVK medium, where RP was replaced by PS and TCP. To measure P-solubilizing activity in liquid media, the same culture conditions and soluble phosphate assay technique were used. After the incubation period, the soluble P concentration and the pH of the medium were measured (Hanson 1950; Tandon et al. 1968).

Biocontrol activities

Hydrogen cyanide production (HCN)

Producing hydrogen cyanide was investigated in LB agar medium supplemented with 4.4 g/L glycine. Bacterial culture (5 µL) was deposited on the medium and a filter paper disk soaked in 2% sodium carbonate in 0.5% picric acid solution was placed in the lid of the Petri dish (Geetha et al. 2014) and incubated at 28 °C. The HCN production was indicated by a change in color from yellow to orange or brown.

Cellulase production

Bacterial strains were checked for cellulase production. Each culture (5 µL) was deposited onto a Reese medium containing 1% of carboxymethylcellulose (CMC) as described by Pandey et al. (2013). The appearance of degradation zones around the bacteria after 48h of incubation at 28 °C was due to CMC hydrolysis.

Chitinase production

Chitin Medium was prepared by mixing 2 grams of Chitin Colloidal, with LB medium and agar 15 g in 1000 mL of distilled water (Halimahtussadiyah et al. 2017). All the strains were screened for chitin hydrolysis by spotting on the media and were incubated at 28 °C. The appearance of a clear halo around the bacterial colony is due to chitin hydrolysis after incubation for 5 days at 28 °C.

Bacterial antagonism and antifungal activity

The biocompatibility of selected strains was determined in nutrient agar plates. The test strain's line was drawn perpendicular to the other strain's straight line, and the plates were incubated at 28 °C for 24 hours. The growth of the test strain that was inhibited at the intersection is considered a bioincompatible strain.

In vitro antifungal activity against *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae* was assessed on potato dextrose agar medium (PDA) as described by Costa Júnior et al. (2020). Both plant pathogens were chosen for antagonism testing in this study because of their wide range of hosts, which include many important crop species. *F. oxysporum* MR84 (isolated from the roots of *Lens culinaris*) (Essalmani and Lahlou, 2003) and *V. dahliae* OMV5 (isolated from roots of Olive trees growing in Meknes (north-central of Morocco) (Chliyah et al. 2014), strains were provided by the phytopathology laboratory at the Faculty of Sciences of Rabat, Morocco and the Laboratory of Botanical, Biotechnology and Plant protection, Ibn Tofail University, Kenitra, Morocco, respectively.

Plant inoculation assay

The inoculation effect of selected PSB strains on plant growth was assessed on a Moroccan variety of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Michelet variety obtained from the local farmers. Seeds were surface disinfected using ethanol (70% for 1 min) and sodium hypochlorite solution (5% for 5 min), and several rinses with distilled sterile water were applied. They were then germinated on an agar medium (7 g/L) in sterile Petri dishes. After germination, seedlings were transferred into plastic trays (50 cm long, 30 cm wide, and 20 cm high) with 45 alveoli. Each alveolus (6 cm- diameter) was filled with 650 g of sterilized sand (the sand was treated with 0.2N hydrochloric acid solution for 48 h, washed several times with sterile distilled water, and then dried and sterilized at 121 °C for 2 h). and inoculated at the time of transplantation (one seedling per cell), and after 15 days, with 1 mL of bacterial suspensions (10^8 cells/mL). For negative control (uninoculated seedlings), 1 mL of physiological saline water was added. For the preparation of microbial consortia, the three selected isolates were prepared equally (1/3 of each isolate alone) in the nutrient medium and incubated at 28 °C in an orbital shaking incubator at 180 rpm for 24 h. In their exponential phases, the cells were harvested at 12,000 g for 15 min and the resultant cell pellet was suspended in sterile water to achieve a density equivalent to 10^8 CFU mL⁻¹ by measuring the absorbance at OD 600. The experiment was conducted 5 times for each treatment. Seedling trays were placed in a greenhouse under natural light with day/night temperatures of 27/21 °C and a photoperiod of 16 h/8 h and watered every 2 days during the whole experiment period with the modified Hoagland nutrient solution, while replacing the P source of this medium with RP. The stimulatory effect of strains on the vegetative growth parameters of *P. vulgaris* seedlings was assessed after 45 days of growth, and the maximum shoot height and tap root length were recorded for each treatment, using a ruler graduated in centimeters (cm). Their dry biomass was measured after drying fresh plant material in an oven at 80 °C for 4 hours and then weighed with a precision balance (g). We carried out five replicates per treatment (one plant per replicate).

Statistical analysis

To determine whether there are statistically significant differences between various bacterial strains by the parameters examined, the quantitative data were subjected to an analysis of variance (ANOVA) after checking its normality and homoscedasticity. P. Utilizing Tukey's post hoc test, means were compared at the 5% significant level. The Microsoft Windows version of SPSS, version 25, was used to perform all statistical analyses.

Results

REP-PCR and phylogenetic analysis based on the 16S rRNA gene

In this work, fifty-six different bacterial strains were isolated in terms of growing in PVK agar medium, from the rhizosphere of olive tree grown on phosphate sludge. The genetic analysis (16S rRNA sequencing) made it possible to find duplicate isolates and suspicious pathogenic isolates belonging in particular to the genera *Staphylococcus* and *Tsukamurella*. The number of isolates has therefore been reduced to 24 strains. The diversity of these bacterial strains was examined by rep-PCR DNA fingerprinting, and the results revealed clustering into three main groups (I, II, and III) (Figure 1). The 24 bacterial strains' 16S rRNA sequencing showed that they belonged to the Actinobacteria, Firmicutes, and Proteobacteria phyla (Figure 2). The Actinobacteria (29.17%; CL.I-A) consisted of four genera: *Arthrobacter*, *Pseudarthrobacter*, *Agrmyces*, and *Streptomyces*, and the Firmicutes (62.5%; CL.I-B) were represented by

three genera: *Bacillus*, *Paenibacillus*, and *Brevibacterium*. Nonetheless, with only two strains in our collection, the Proteobacteria (8.33%; CL.II) were represented by the genera *Rhizobium* and *Pseudomonas*. Further confirmation of genera of the isolated strains was achieved by BLAST analysis data of the 16S rRNA gene sequences that indicated a similarity ranging between 98% and 100% with the database sequences. Our strains' gene bank accession number was displayed in the phylogenetic tree (Figure 2).

Phenotypic characterization

Response results to temperature stress revealed that twenty-two of all selected strains were able to grow at a temperature ranging from 45 °C to 55 °C (Table 1), indicating that these rhizospheric bacteria are thermo-tolerant. However, they were completely inhibited at 60 °C. Regarding salinity variation (Table 1), only four strains (16.7%) were able to tolerate a concentration of 684 mM of NaCl. Beyond this concentration up to 1881 mM of NaCl, the number of the tolerant strains was 11 of 24 (45.8%). Nonetheless, the remaining nine strains (37.5%) exhibited high tolerance to salinity by growing at elevated NaCl concentrations (>2052 mM) (Table 1). As for pH conditions, all rhizospheric bacterial strains were developed at pH 7, considered the optimal pH for their growth (Table 1). About 33.3% of strains (8 of 24) showed the ability to grow at a very acid pH (pH 4.5), while 58.3% (14 of 24) developed at a very basic pH (pH 9.0). Among these strains, only two showed tolerance to a large range of pH variation (pH 4.5–9.0) (Table 1).

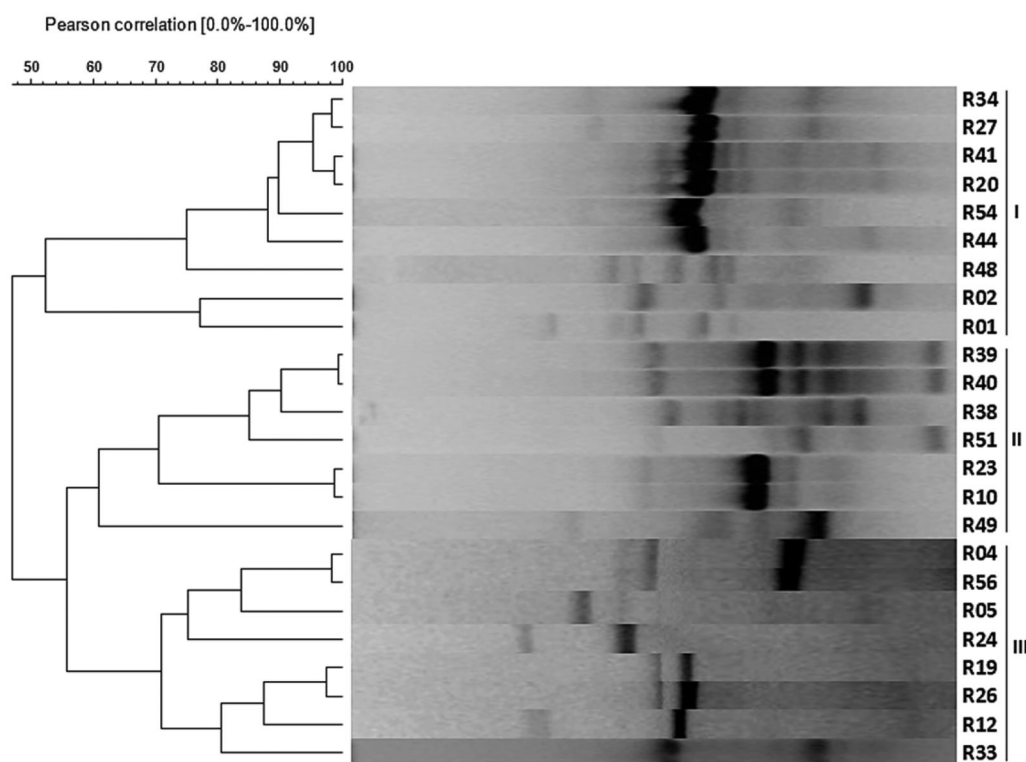


Figure 1. UPGMA dendrogram generated by Pearson similarity coefficient index from REP-PCR fingerprinting of 24 PSB strains isolated from the rhizosphere of *Olea europaea* grown in phosphate sludge. The scale on the x-axis refers to the similarity coefficient.

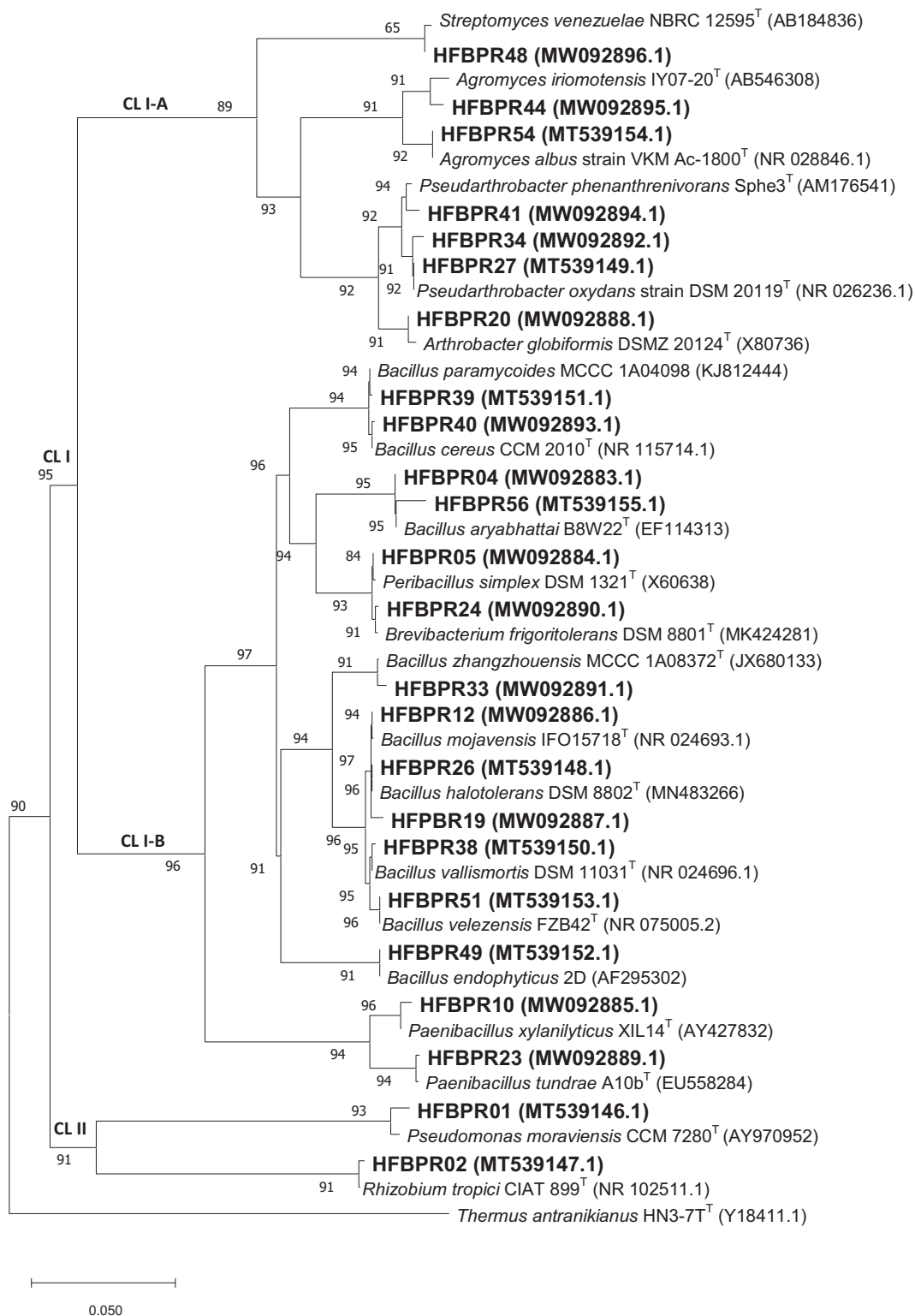


Figure 2. Neighbor-joining phylogenetic tree based on partial 16S rRNA gene sequences of the 24 PSB strains isolated from the rhizosphere of *Olea europaea* grown in phosphate sludge. The analysis was based on 1428 nucleotides. Bootstrap values are indicated as percentages derived from 1000 replications. Identified strains are denoted in bold. The tree is rooted with *Thermus antranikianus* HN3-7T.

Plant growth-promoting properties

IAA production was detected only in five strains with significant differences between them ($p < 0.05$) (Table 2). The quantitative estimation of IAA production recorded in these rhizospheric bacterial strains ranged from 17.36 to

29.64 $\mu\text{g/mL}$ (Table 2). Both strains HFBPR04 and HFBPR20 significantly showed the highest IAA production ($p < 0.05$). However, HFBPR27 and HFBPR34 qualitatively expressed the highest index production (IP), compared to other strains, with IP = 6.33 and IP = 4.3, respectively (Table 2).

Table 1. Tolerance to temperature, salinity and pH variation in the 24 PSB strains isolated from the rhizosphere of *Olea europaea* grown in phosphate sludge.

Bacterial strains	Temperature tolerance (°C)	Salt tolerance NaCl (mM)	pH					
			4.5	5	6	7	8	9
HFBPR01	45	684	+	+	+	+	+	+
HFBPR02	50	2052	-	+	+	+	+	+
HFBPR04	45	2052	-	+	+	+	+	+
HFBPR05	45	684	-	-	+	+	+	-
HFBPR10	45	684	-	+	+	+	+	-
HFBPR12	50	1881	+	+	+	+	+	-
HFBPR19	50	1881	+	+	+	+	+	+
HFBPR20	50	684	-	+	+	+	+	-
HFBPR23	45	1368	-	+	+	+	+	+
HFBPR24	50	2394	+	+	+	+	-	-
HFBPR26	55	1710	+	+	+	+	+	-
HFBPR27	45	1710	-	+	+	+	+	+
HFBPR33	45	1710	-	+	+	+	+	+
HFBPR34	40	1368	-	-	+	+	+	+
HFBPR38	35	1710	-	+	+	+	+	+
HFBPR39	45	1368	-	+	+	+	+	-
HFBPR40	50	2394	+	+	+	+	-	-
HFBPR41	55	2394	+	+	+	+	+	-
HFBPR44	55	1368	-	-	+	+	+	+
HFBPR48	45	2052	-	-	-	+	+	+
HFBPR49	50	1881	+	+	+	+	+	-
HFBPR51	45	2052	-	-	-	+	+	+
HFBPR54	45	2394	-	-	-	+	+	+
HFBPR56	45	2394	-	+	+	+	+	+

Note: (+) indicates the development/presence of bacterial strain and (-) no development/absence.

Table 2. *In vitro* solubilization capacity of different P sources: tricalcium phosphate (TCP), rock phosphate (RP), and phosphate sludge (PS) by three selected PSB strains in PVK liquid medium.

Bacterial strains	Solubilized P (µg/mL)		
	TCP	RP	PS
HFBPR01	294.83 ± 1.67a	227.24 ± 1.38a	32.50 ± 0.67c
HFBPR04	286.17 ± 0.93b	114.16 ± 0.58c	39.00 ± 0.92b
HFBPR40	295.53 ± 1.29a	170.52 ± 1.84b	51.00 ± 0.20a

Note: Means ± SD with different letters differ significantly at 5 % according to Tukey's test.

Among the twenty-four strains, only HFBPR04 and HFBPR40 formed a yellow halo zone around the colony indicating the production of siderophore. Corresponding siderophore amounts were 36.34 and 35.88 psu for HFBPR04 and HFBPR40, respectively.

Results of the qualitative test of phosphate solubilization on a solid PVK medium revealed that 50.0% of strains (12 of 24) were able to solubilize tricalcium phosphate. Based on the solubilization index (SI) (Supplementary information 2), the rhizospheric strains HFBPR26 and HFBPR40, with SI = 3.5 and SI = 3.4, respectively, were the most effective in P solubilization, whereas, both strains HFBPR41 and HFBPR44 exhibited the lowest solubilizing power with SI = 2.5 (Supplementary information 2). Furthermore, the quantitative test showed that all of the selected rhizospheric bacterial strains could dissolve rock phosphate. The phosphate solubilizing ability significantly varied between 5.34 µg/mL and 227.24 µg/mL, as the pH ranged between 3.34 and 7.75 ($p < 0.05$) (Table 3). After 48h of incubation, the pH of the medium typically fell gradually. With the greatest drop in medium pH (3.34), HFBPR01 showed significantly the maximum phosphate solubilization ($p < 0.05$) (Table 3). Six strains out of twenty-four were most phosphate solubilizing

Table 3. P solubilization capacity in PVK broth and pH change for the 24 PSB strains isolated from the rhizosphere of *Olea europaea* grown in phosphate sludge.

Bacterial strains	Soluble P (µg/mL)	pH
HFBPR01	227.24 ± 1.27a	3.34 ± 0.03a
HFBPR02	77.75 ± 2.75f	4.61 ± 0.18bcde
HFBPR04	108.47 ± 1.33c	4.80 ± 0.10defg
HFBPR05	9.14 ± 1.30o	5.87 ± 0.17j
HFBPR10	84.84 ± 0.95e	4.94 ± 0.05fg
HFBPR12	48.94 ± 0.98i	4.48 ± 0.03bcd
HFBPR19	36.81 ± 1.38k	4.39 ± 0.13b
HFBPR20	26.12 ± 0.96l	4.65 ± 0.08bcdef
HFBPR23	8.61 ± 0.41o	4.88 ± 0.12efg
HFBPR24	99.93 ± 0.95d	4.51 ± 0.09bcd
HFBPR26	44.14 ± 0.34j	4.38 ± 0.11b
HFBPR27	5.34 ± 0.31o	4.85 ± 0.17efg
HFBPR33	64.57 ± 0.48g	4.64 ± 0.03bcdef
HFBPR34	13.58 ± 0.98n	5.50 ± 0.16i
HFBPR38	83.58 ± 2.15e	5.02 ± 0.14gh
HFBPR39	172.40 ± 2.67b	4.60 ± 0.07bcde
HFBPR40	170.52 ± 1.41b	4.39 ± 0.02b
HFBPR41	74.31 ± 0.28f	4.46 ± 0.01bc
HFBPR44	15.08 ± 0.28n	5.33 ± 0.02hi
HFBPR48	21.21 ± 1.16m	7.75 ± 0.08m
HFBPR49	45.34 ± 0.76ij	4.74 ± 0.06cdefg
HFBPR51	27.67 ± 0.46l	6.44 ± 0.02k
HFBPR54	55.63 ± 0.10h	7.00 ± 0.12l
HFBPR56	98.91 ± 0.03d	5.01 ± 0.12g

Note: Means ± SD with different letters differ significantly at 5 % according to Tukey's test.

Table 4. *In vitro* Quantitative and qualitative estimation of indole acetic acid (IAA) in IAA-producing PSB strains isolated from the rhizosphere of *Olea europaea* grown in phosphate sludge.

Bacterial strains	IAA (µg/mL)	Production index
HFBPR04	29.64 ± 0.10a	3.5
HFBPR20	28.82 ± 0.07a	2.4
HFBPR23	17.36 ± 1.75c	2.5
HFBPR27	26.44 ± 0.19b	6.33
HFBPR34	25.54 ± 0.31b	4.29

Note: Means ± SD with different letters differ significantly at 5 % according to Tukey's test.

with a quantity close to or above 100 µg/mL P and 58.3% (14 of 24) of rhizospheric strains could solubilize a quantity that varies between 20 µg/mL and 90 µg/mL (Table 3). The high significant amounts of soluble P produced by some strains coincide with a significant decrease in the pH of the medium ($p < 0.05$) (pH initially adjusted to 6.7), indicating acidification of the medium.

Regarding the results of phosphate sludge and tri-calcium phosphate solubilization, three strains (HFBPR01, HFBPR04, and HFBPR40) exhibited a high solubilization ability compared to other strains (Table 4). Regardless of P sources, the solubilization rate of TCP was higher as compared to PS and RP (Table 4). According to the inter-strains differences, HFBPR40 showed the significant maximum solubilization of both TCP and PS, with 295.5 µg P mL⁻¹ and 51.0 µg P mL⁻¹, respectively ($p < 0.05$) (Table 4).

Biocontrol activity

Based on the qualitative test of HCN production, five strains out of 75% (18 of 24) HCN-producing rhizospheric strains (HFBPR01, HFBPR02, HFBPR04, HFBPR10, and HFBPR44) were highly positive for HCN production, while six strains

were not able to produce HCN (Table 5). The remaining strains have low to medium HCN production.

Out of all the strains qualitatively tested, eight showed cellulase activity, while five had chitinase activity (Table 5). The highest cellulase activity was recorded in HFBPR02, HFBPR12, and HFBPR54, whereas HFBPR24 showed the highest chitinase activity (Table 5).

Biocompatibility and antifungal activity

The result of the biocompatibility test between the different strains showed no negative interaction since the strains were all biocompatible *in vitro* with one another. The table (Table 6) showed the effectiveness of the three-selected rhizospheric bacterial strains HFBPR01, HFBPR04, and HFBPR40 (based on PGP and biocontrol activities) against the growth of *V. dahliae* and *F. oxysporum*. These three strains, directly and indirectly, inhibited *V. dahliae* by more than 50%. Nevertheless, HFBPR04 and HFBPR40 contributed to the maximum antifungal activity against *F. oxysporum* (62.4 and 45.9%, respectively) which was indirect (Table 6). According to the phylogenetic tree based on partial 16S rRNA gene sequences, HFBPR01, HFBPR04, and HFBPR40 were identified as *Pseudomonas moraviensis*, *Bacillus aryabhattai*, and *Bacillus cereus*, respectively.

Table 5. *In vitro* production of hydrocyanic acid (HCN), cellulase and chitinase in solid medium by the 24 PSB strains isolated from the rhizosphere of *Olea europaea* grown in phosphate sludge.

Bacterial strains	HCN	Cellulase	Chitinase
HFBPR01	+++	-	-
HFBPR02	+++	+++	-
HFBPR04	+++	-	-
HFBPR05	++	-	-
HFBPR10	+++	-	-
HFBPR12	-	+++	-
HFBPR19	-	+	-
HFBPR20	+	-	-
HFBPR23	+	-	+
HFBPR24	+	++	++
HFBPR26	+	++	-
HFBPR27	-	-	+
HFBPR33	-	-	-
HFBPR34	+	-	+
HFBPR38	-	-	-
HFBPR39	+	-	-
HFBPR40	++	-	+
HFBPR41	++	-	-
HFBPR44	+++	++	-
HFBPR48	-	-	-
HFBPR49	++	-	-
HFBPR51	+	+	-
HFBPR54	+	+++	-
HFBPR56	++	-	-

Note: - No activity/production. + Weak activity/production. ++ Moderate activity/production. +++ Strong activity/production.

Table 6. Antifungal effects of the volatile and diffusible extracellular metabolites of the three selected strains on the radial growth of *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae*.

Bacterial strains	Antifungal effect against <i>F. oxysporum</i> (%)		Antifungal effect against <i>V. dahliae</i> (%)	
	diffusible extracellular metabolites	volatile antifungal metabolites	diffusible extracellular metabolites	volatile antifungal metabolites
HFBPR01	29.43 ± 0.94a	29.40 ± 1.15c	54.00 ± 2.54a	53.75 ± 5.91b
HFBPR04	17.65 ± 0.79b	62.35 ± 1.56a	56.57 ± 5.17a	54.69 ± 1.56b
HFBPR40	19.94 ± 1.36b	45.89 ± 1.33b	52.35 ± 4.26a	66.87 ± 1.46a

Note: Means ± SD with different letters differ significantly at 5 % according to Tukey's test.

Co-inoculation of *P. vulgaris* plants

Rhizospheric bacterial inoculation using HFBPR01, HFBPR04, and HFBPR40 alone or in consortium inoculation significantly increased *P. vulgaris* plants' growth parameters ($p < 0.05$), compared to the uninoculated plants (Figure 3). On average, the three individual inoculations significantly increased the height/length and dry biomass by about 52.1 and 97.3% in the shoot and about 2.7 and 4.4-fold in the tap root, respectively, compared to the control ($p < 0.05$). Nonetheless, consortium inoculation was more performant than individual ones, which showed a significant similar effect ($p < 0.05$). The *P. vulgaris* plants' length was significantly enhanced by about 49.6% (shoot) and 25.0% (tap root) under consortium inoculation, in comparison with individual ones, and by approximately 2.3-fold (shoot) and 3.4 (tap root), compared to the control ($p < 0.05$). Furthermore, shoot dry biomass increased about

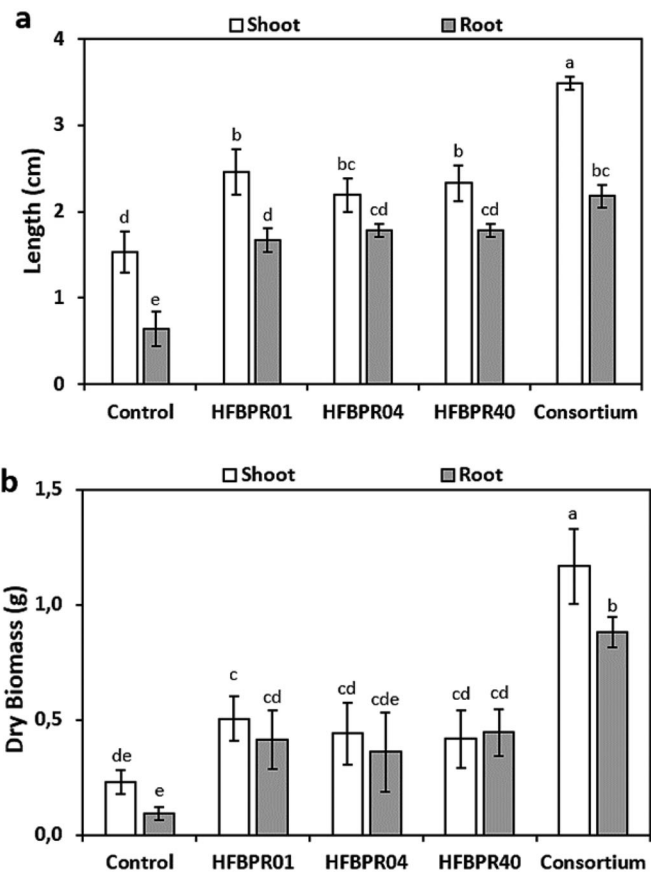


Figure 3. Effects of PSB inoculation on the shoot and root length (a) and dry biomass (b) of *P. vulgaris* plants. The three selected PSB strains (HFBPR01, HFBPR04, and HFBPR40) were co-inoculated either individually or in a consortium. Means ± SD with different letters differ significantly at 5 % according to Tukey's test.

2.6 and 5.1-fold in plants inoculated with the consortium, while root dry biomass improved by 2.2 and 9.4-fold, compared to individual inoculation and control, respectively (Figure 3).

Discussion

Rhizospheric microorganisms are vital to soil components that either directly or indirectly affect the health of the soil through their beneficial functions. By enhancing the availability of plant nutrients and boosting soil productivity, they can enhance crop production (Kumar and Dubey 2020; Raymond et al. 2021). Indeed, rhizospheric PSB could perform at least one of the following roles as biofertilizers, bio-protectants, or biostimulants (Billah et al. 2019). Our collection is dominated by Firmicutes phylum of which about 60% of the strains belong to *Bacillus* sp. Lahsini et al. (2022) reported similar findings in their samples from the rhizosphere of the olive tree in southern Morocco.

Among the rhizospheric PSB shown to effectively solubilize phosphate are: *Pseudomonas moraviensis* strain HFBPR01, *Bacillus paramycoides* strain HFBPR39, and *Bacillus cereus* strain HFBPR40. Bacterial strains belonging to *Bacillus* and *Pseudomonas* genera have been regarded as the most prevalent groups for efficiently phosphate solubilization in soil (Kumari et al. 2018; Rezakhani et al. 2019; Suleman et al. 2018). Most bacteria that solubilize phosphate displayed a decrease in pH, indicating that they solubilize phosphate via producing organic acids (Alori et al. 2017; Billah et al. 2019). However, in the present study, *Agromyces albus* strains HFBPR54 and *Agromyces iriomotensis* strains HFBPR48 were able to solubilize RP at neutral and alkaline pH conditions, respectively, suggesting the intervention of other mechanisms of P solubilization. Some studies have reported that the secretion of special enzymes like phytase, phosphatase, and C-P lyase by rhizospheric PSB, can help in organic phosphate mineralization (Aarab et al. 2013; Dwivedi 2020; Khan et al. 2022; Manzoor et al. 2017). It was also established that only one bacterium could simultaneously activate these two phosphate solubilization mechanisms (production of organic acids and secretion of enzymes) (Billah et al. 2019; Tao et al. 2008). Our study showed that among the 24 four PSB strains selected from the olive rhizosphere, the following three *Pseudomonas moraviensis* strains HFBPR01, *Bacillus aryabhattai* strain HFBPR04, and *Bacillus cereus* strain HFBPR40, are able to effectively solubilizing different phosphate sources (TCP, RP, and PS) suggesting their potential use in the development of bio-fertilizers in organic agriculture. Previous reports supported our suggestion (Park et al. 2017; Qarni et al. 2021; Turan et al. 2006). Recently, Xu et al. (2022) demonstrated that the expression of novel plant growth-related genes was induced by interaction with the endophytic bacterium *B. aryabhattai* and that these changes may promote plant growth in sustainable agriculture.

The presence of thermo-tolerant and halotolerant PSB in our olive rhizosphere samples depends on the ecological environment that is characterized by a semi-arid to arid

climate (Morocco). Frequently, bacteria occurring in saline soils and dry regions are expected to have high levels of tolerance to salt and temperature stress (El Attar et al. 2019; Lahsini et al. 2022; Shrivastava and Kumar 2015). The resistance/tolerance to high environmental stresses could be due to the formation of resistant endospores (Kumar et al. 2014) and also by synthesizing stress tolerance genes (e.g., heat-shock proteins (HSPs)) and some compatible solutes (Bruno et al. 2020). Indeed, the abiotic stress-tolerant PSB are distinguished by several beneficial traits in addition to their high P solubilization capacity, including the production of large amounts of certain metabolites like phytohormones and siderophores (Lahsini et al. 2022; Leontidou et al. 2020; Park et al. 2017). Nonetheless, more work is needed to understand the plant-associated bacteria, especially how plants can choose bacterial strains that have the ability to provide an exogenous source of phytohormones such as auxin (e.g., IAA). It may be useful to understand the role of indole compounds during the interaction between bacteria and the plant host to help design synthetic bacterial communities that could target specific or multiple plant species in the future to sustainably improve plant growth (Gilbert et al. 2018).

About 75% of strains produced HCN, which is involved in the growth inhibition of pathogenic bacteria. The amino acid glycine, which is abundant in root exudates and soil pore water, serves as a precursor for bacterial HCN synthesis in the rhizosphere (Sehrawat et al. 2022). As antagonist bacteria, mostly HCN-producing rhizospheric strains selected in our collection belong to *Bacillus* sp. In several studies, *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. have been found as the most prevalent bacteria for HCN production (Abd El-Rahman et al. 2019; Kumar et al. 2014; Sendi et al. 2020). HCN, in addition to its function in biocontrol, is also involved in metal ions chelation and indirectly contributes to the availability of phosphate (Sehrawat et al. 2022). PSB strains secluded from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge exhibited also the activity of lysing enzymes, of which over 33% strains are cellulase producers, and more than 20% produce chitinase. Numerous soil rhizobacteria synthesize various cell wall lysing enzymes, such as cellulases, chitinases, lipases, pectinases, and proteases, among others, that act as antagonists against phytopathogens (Rasool et al. 2021; Sehrawat et al. 2022). *Pseudomonas moraviensis* strains HFBPR01, *Bacillus aryabhattai* strain HFBPR04 and *Bacillus cereus* strain HFBPR40 revealed *in vitro* biocontrol activities against *F. oxysporum* and *V. dahlia*, causing the most devastating diseases affecting olive trees. By producing antifungal secondary metabolites and/or hydrolytic enzymes, many antagonistic microorganisms, including PSB, have been reported to suppress directly or indirectly soil-borne fungal pathogens. Bacterial strains isolated from rhizospheric soils, mainly belonging to *Pseudomonas* and *Bacillus* genera, have broad-spectrum suppression toward phytopathogens and are widely recognized for their potential to act as biocontrol agents (Mitra et al. 2020; Sendi et al. 2020; Wang et al. 2021). The employment of *Bacillus aryabhattai* KMT-4 against *Meloidogyne javanica*

has been warranted as a potent biological control agent and a promising substitute of chemical nematicides (Antil et al. 2021). In addition, Zhou et al. (2021) reported that *Bacillus cereus* YN917 has a good potential to be developed as bio-agents and as bio-fertilizers to promote the rice plant growth due to their capabilities in the production of IAA, aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase, siderophore, protease, amylase, cellulase, and β -1,3-glucanase. In other study, *Bacillus cereus* AR156 triggered a systemic resistance against *Pseudomonas syringae* pv. tomato in *Arabidopsis* by simultaneously activating salicylate- and jasmonate/ethylene-dependent signaling pathways, resulting in an additive effect on the induced level of protection (Niu et al. 2011). Compared to these experimental results, which is consistent with our finding for some similar traits measured, our selected strains are distinguished by an appreciable rate of the solubilization of different sources of phosphate (TCP, RP, and PS) and their resistance to different abiotic conditions (high temperatures, salinity and pH variation). *Bacillus aryabhattai* strain HFBPR04 exhibited a high capacity to solubilize P, while *B. aryabhattai* KMT-4 did not show any phosphate solubilization activity (Antil et al. 2021). Biocontrol potential of *Bacillus cereus* strain HFBPR40 corroborate the findings of Niu et al. (2011) on *Bacillus cereus* AR156, which is considered a biocontrol agent against a broad spectrum of pathogens. Despite the ability to promote plant growth primarily through phosphate solubilization, our *P. moraviensis* strain HFBPR01 did not produce IAA compared to *P. moraviensis* X2 selected and identified by Wang et al. (2022).

Results of common bean growth revealed that the consortium inoculation significantly increases both shoot and root dry weight compared to single inoculation and control. The bacterial consortium's efficiency could be ascribed to the increased bacterial cell numbers and the strains' combination of several PGP characteristics and multiple mechanisms. These include the release of phytohormones, the secretion of compounds that chelate specific nutrients, or antibiotics as biocontrol agents, which were not examined during our study (Ben Zineb et al. 2020; Hassan et al. 2017; Pantigoso et al. 2022). Instead of using a single bacterial strain, consortia could ensure increased efficiency of phosphate solubilization and high production of multiple types of organic acids concurrently (Blanco-Vargas et al. 2020). Pantigoso et al. (2022) reported that the PSB consortium inoculation is successful in soils with insoluble P forms like calcium phosphate, a common type of P that is unavailable to plants in agricultural soils. PSB have been demonstrated to be effective at boosting plant nutrition, growth, and yield (Bargaz et al. 2021; Billah et al. 2019). Regarding the consortium species, previous studies revealed that the inoculation with consortia containing *Bacillus* and *Pseudomonas* enhanced the growth of wheat (Hassan and Bano 2015), modern potato varieties (Pantigoso et al. 2022), and tomato seedlings (Rojas-Solis et al. 2016). Indeed, our PSB consortium appears to be a potential biofertilizer for improving crop tolerance and yield, especially, in the arid Mediterranean climate (e.g., Morocco). Numerous studies highlighted the use of PSB as biofertilizers for different food

crops such as *Triticum aestivum* (Batool and Iqbal 2019), *Solanum lycopersicum* (El Maaloum et al. 2020), *Solanum bulbocastanum* (Pantigoso et al. 2022), *Zea mays* (Anzuay et al. 2017; Benbrik et al. 2020), *Arachis hypogaea* (Anzuay et al. 2017), as well as forage crops (e.g., Alfalfa) (Kang et al. 2021). Our findings demonstrate the ability of PSB isolated and selected from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge to enhance soil phosphate availability, thereby improving crop phosphate nutrition, and reducing P fertilizer deficits.

Conclusions

In the present study, the rhizospheric soil of olive trees grown on phosphate sludge showed a wide variety of PSB, of which twenty-four different strains were isolated and identified by 16S rRNA gene sequencing. Based on traits that promote plant growth and abiotic stress tolerance (high temperature, pH, and salinity), three potential strains identified as *Pseudomonas moraviensis*, *Bacillus aryabhattai*, and *Bacillus cereus* were distinguished from the other strains by a good combination of all the traits studied *in vitro*, including the solubilization ability of different P sources (TCP, RP, and PS). They also demonstrated *in vitro* biocontrol potentialities against *F. oxysporum* and *V. dahlia*. Furthermore, we found that co-inoculating these three PSB strains as a consortium significantly increased shoot height and tap root length as well as dry biomass in common bean plants. Indeed, our findings suggest that this PSB consortium could be utilized as a sustainable alternative to enhance phosphorus availability for food crops. Consortia formulation by selecting compatible PSB with variable PGP traits and being able to tolerate stressful environments is necessary to achieve long-term gains in agricultural productivity such as biofertilizers and biocontrols. Therefore, more studies involving different crop species and conditions in different soil types are essential to ascertain the widespread application of bacterial isolates for improving crop growth in the field.

Acknowledgments

The Authors would like to acknowledge the support through the R&D Initiative – Appel à projets autour des phosphates APPHOS – sponsored by the Office Chérifien des Phosphates (OCP) (OCP Foundation, R&D OCP, Mohammed VI Polytechnic University, National Center of Scientific and Technical Research CNRST, Ministry of Higher Education, Scientific Research and Innovation of Morocco) under the project entitled 'Procédés biotechnologiques pour la valorisation des boues et des déchets miniers de phosphate: Formulation d'un phosphocompost bio-fertilisant pour application directe en agriculture productive et respectueuse de l'environnement' (Ref. BIO-MOD-01/2017).

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding

This work was funded by the Office Chérifien des Phosphates (OCP) (OCP Foundation, R&D OCP, Mohammed VI Polytechnic University, National Center of Scientific and Technical Research CNRST, Ministry of Higher Education, Scientific Research and Innovation of Morocco) [Project. BIO-MOD-01/2017].

References

- Aarab S, Ollero F, Megías M, Laglaoui A, Bakkali M, Arakrak A. 2013. Isolation and identification of potential phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of *Lupinus hirsutus* L. in the North of Morocco. *Moroccan J Biol* 10:7–13.
- Abbasi MK, Manzoor M. 2018. Biosolubilization of phosphorus from rock phosphate and other P fertilizers in response to phosphate solubilizing bacteria and poultry manure in a silt loam calcareous soil. *J Plant Nutr Soil Sci* 181(3):345–356.
- Abd El-Rahman AF, Shaheen HA, Abd El-Aziz RM, Ibrahim DSS. 2019. Influence of hydrogen cyanide-producing rhizobacteria in controlling the crown gall and root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Egyptian J Biol Pest Control* 29:41–52.
- Ahemad M, Kibret M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *J King Saud Univ Sci* 26(1):1–20.
- Ait-Ouakrim EH, Chakhchar A, El Modafar C, Douira A, Amir S, Ibsouda-Koraichi S, Belkadi B, Filali-Maltouf A. 2023. Valorization of Moroccan phosphate sludge through isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and assessment of their growth promotion effect on *Phaseolus vulgaris*. *Waste Biomass Valor* 2023:2.
- Akintokun AA, Akande GA, Akintokun PA. 2007. Solubilization of insoluble phosphate by organic acid-producing fungi isolated from Nigerian soil. *Int J Soil Sci* 2(4):301–307.
- Alori ET, Glick BR, Babalola OO. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front Microbiol*. 8:971.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215(3):403–410.
- Antil S, Kumar R, Pathak DV, Kumar A, Panwar A, Kumari A, Kumar V. 2021. On the potential of *Bacillus aryabhatai* KMT-4 against *Meloidogyne javanica*. *Egypt J Biol Pest Control* 31(1):67.
- Anzuay MS, Ciancio M, Ludueña LM, Angelini JG, Barros G, Pastor N, Taurian T. 2017. Growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants by single and mixed cultures of efficient phosphate solubilizing bacteria that are tolerant to abiotic stress and pesticides. *Microbiol Res* 199:98–109.
- Arora NK, Verma M. 2017. Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria. *3 Biotech* 7(6):381.
- Azaroual SE, Kasmi Y, Aasfar A, El Arroussi H, Zeroual Y, El Kadiri Y, Zrhidri A, Elfahime E, Sefiani A, Meftah Kadmiri I. 2022. Investigation of bacterial diversity using 16S rRNA sequencing and prediction of its functionalities in Moroccan phosphate mine ecosystem. *Sci Rep* 12(1):3741.
- Bargaz A, Elhaisoufi W, Khourchi S, Benmrid B, Borden KA, Rchiad Z. 2021. Benefits of phosphate solubilizing bacteria on belowground crop performance for improved crop acquisition of phosphorus. *Microbiol Res* 252:126842.
- Batool S, Iqbal A. 2019. Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum* (Var Galaxy 2013). *Saudi J Biol Sci* 26(7):1400–1410.
- Ben Zineb A, Trabelsi D, Ayachi I, Barhoumi F, Aroca R, Mhamdi R. 2020. Inoculation with elite strains of phosphate-solubilizing bacteria enhances the effectiveness of fertilization with rock phosphates. *Geomicrobiol J* 37(1):22–30.
- Benbrik B, Elabed A, El Modafar C, Douira A, Amir S, Filali-Maltouf A, El Abed S, El Gachtouli N, Mohammed I, Ibsouda-Koraichi S. 2020. Reusing phosphate sludge enriched by phosphate solubilizing bacteria as biofertilizer: growth promotion of *Zea Mays*. *Biocatal Agric Biotechnol* 30:101825.
- Billah M, Khan M, Bano A, Hassan TU, Munir A, Gurmani AR. 2019. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: keys for sustainable agriculture. *Geomicrobiol J* 36(10):904–916.
- Blanco-Vargas A, Rodríguez-Gacha LM, Sánchez-Castro N, Garzón-Jaramillo R, Pedroza-Camacho LD, Poutou-Piñales RA, Rivera-Hoyos CM, Díaz-Ariza LA, Pedroza-Rodríguez AM. 2020. Phosphate-solubilizing *Pseudomonas* sp. and *Serratia* sp. co-culture for *Allium cepa* L. growth promotion. *Heliyon* 6(10):e05218.
- Bruno LB, Karthik C, Ma Y, Kadirvelu K, Freitas H, Rajkumar M. 2020. Amelioration of chromium and heat stresses in Sorghum bicolor by Cr⁶⁺ reducing-thermotolerant plant growth promoting bacteria. *Chemosphere* 244:125521.
- Burdass D, Grainger J, Hurst J. 2016. Basic Practical Microbiology: A Manual Society for General Microbiology. London: WC1N 2JU, UK.
- Cao Y, Fu D, Liu T, Guo G, Hu Z. 2018. Phosphorus solubilizing and releasing bacteria screening from the rhizosphere in a natural wetland. *Water* 10(2):195.
- Cheba BA, Abdelzaher H. 2020. Chetoui olive cultivar rhizosphere: potential reservoir for exoenzymes and exopolysaccharides producing bacteria. *J Pure Appl Microbiol* 14(4):2569–2575.
- Chen W, Kuo T. 1993. A simple and rapid method for the preparation of gram-negative bacterial genomic DNA. *Nucleic Acids Res* 21(9):2260.
- Chliyah M, Rhimini Y, Selmaoui K, Touhami AO, Filali-Maltouf A, El Modafar C, Moukhli A, Oukabli A, Benkirane R, Douira A. 2014. Comparative study of pathogenicity tests for *Verticillium dahliae* and *Phytophthora palmivora* causing wilt and decline of olive tree (*Olea europaea* L.). *Int J Pure App Biosci* 2:28–38.
- Costa Júnior PSP, Cardoso FP, Martins AD, Teixeira Buttrós VH, Pasqual M, Dias DR, Schwan RF, Dória J. 2020. Endophytic bacteria of garlic roots promote growth of micropropagated meristems. *Microbiol Res* 241:126585.
- Dandessa C, Bacha K. 2018. Review on role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture. *Int J Curr Res Aca Rev* 6(11):48–55.
- de Bruijn FJ. 1992. Use of repetitive (repetitive extragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergeneric consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. *Appl Environ Microbiol* 58(7):2180–2187.
- Dede A, Güven K, Şahi N N. 2020. Isolation, plant growth-promoting traits, antagonistic effects on clinical and plant pathogenic organisms and identification of actinomycetes from olive rhizosphere. *Microb Pathog* 143:104134.
- Dwivedi M. 2020. Gluconobacter. Chapter. In: Beneficial microbes in agro-ecology. Cambridge: Academic Press. p521–544.
- El Attar I, Taha K, El Bekkay B, El Khadir M, Thami Alami I, Aurag J. 2019. Screening of stress tolerant bacterial strains possessing interesting multi-plant growth promoting traits isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris* L. *Biocatal Agric Biotechnol* 20:101225.
- El Maaloum S, Elabed A, Alaoui-Talibi ZE, Meddich A, Filali-Maltouf A, Douira A, Ibsouda-Koraichi S, Amir S, El Modafar C. 2020. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria consortia associated with phospho-compost on phosphorus solubilization and growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L. *Commun Soil Sci Plant Anal* 51(5):622–634.
- Essalmani H, Lahlou H. 2003. Mécanismes de bioprotection des plantes de lentille par *Rhizobium leguminosarum* contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *C R Biol* 326(12):1163–1173.
- Fitriyanti D, Mubarik NR, Tjahjoleksono A. 2017. Characterization and Identification of Phosphate Solubilizing Bacteria Isolate GPC3.7 from Limestone Mining Region. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci* 58:012016.
- Geetha K, Enkatesham EV, Amballa H, Hadraiah BB. 2014. Isolation, screening and characterization of plant growth promoting bacteria and their effect on *Vigna Radita* (L.) R. Wilczek. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 3:799–809.

- Gilbert S, Xu J, Acosta K, Poulev A, Lebeis S, Lam E. 2018. Bacterial production of indole related compounds reveals their role in association between duckweeds and endophytes. *Front Chem* 6:265.
- Gómez-Lama Cabanás C, Ruano-Rosa D, Legarda G, Pizarro-Tobías P, Valverde-Corredor A, Triviño JC, Roca A, Mercado-Blanco J. 2018. *Bacillales* members from the olive rhizosphere are effective biological control agents against the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. *Agriculture*. 8(7):90.
- Hakkou R, Benzaazoua M, Bussiére B. 2016. Valorization of phosphate waste rocks and Sludge from the Moroccan Phosphate Mines: challenges and perspectives. *Procedia Eng* 138:110–118.
- Halimahtussadiyah R, Natsir M, Kurniawati D, Utamy SP. 2017. Isolation and identification of chitinolytic bacteria of pohara river of South East Sulawesi and the optimization production of chitinase enzyme. *AIP Conference Proceedings* 1823:p.id020062.
- Hameeda B, Harini G, Rupela OP, Wani SP, Reddy G. 2008. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiol Res* 163(2):234–242.
- Hanson WC. 1950. The photometric determination of phosphorus in fertilizers using the phosphovanado-molybdate complex. *J Sci Food Agric* 1(6):172–173.
- Hassan TU, Bano A. 2015. The stimulatory effects of L-tryptophan and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on soil health and physiology of wheat. *J. Soil Sci Plant Nutr* 15:190–201.
- Hassan TU, Bano A, Naz I. 2017. Alleviation of heavy metals toxicity by the application of plant growth promoting rhizobacteria and effects on wheat grown in saline sodic field. *Int J Phytoremediation* 19(6):522–529.
- Hepperle D. 2011. DNA Dragon 141 DNA Sequence Contig Assembler Software Available at: www.dna-dragon.com.
- Hinsinger P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil* 237(2):173–195.
- Kang SM, Khan MA, Hamayun M, Kim LR, Kwon EH, Kang YS, Kim KY, Park JJ, Lee IJ. 2021. Phosphate-solubilizing *Enterobacter ludwigii* AFFR02 and *Bacillus megaterium* Mj1212 rescues Alfalfa's growth under post-drought stress. *Agriculture* 11(6):485.
- Khan M, Rizvi A, Ahmed B, Lee J. 2022. Phosphate biofertilizers: recent trends and new perspectives. Chapter in *Developments in Applied Microbiology and Biotechnology, Trends of Applied Microbiology for Sustainable Economy*, Cambridge: Academic Press, p421–461.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16(2):111–120.
- Kour D, Rana KL, Kaur T, Yadav N, Yadav AN, Kumar M, Kumar V, Dhaliwal HS, Saxena AK. 2021. Biodiversity, current developments and potential biotechnological applications of phosphorus-solubilizing and mobilizing microbes: a review. *Pedosphere* 31(1):43–75.
- Kumar A, Dubey A. 2020. Rhizosphere microbiome: engineering bacterial competitiveness for enhancing crop production. *J Adv Res* 24: 337–352.
- Kumar G, Mir Hassan Ahmed SK, Desai S, Leo Daniel Amalraj E, Rasul A. 2014. 2014. Screening for abiotic stress tolerance in potent biocontrol and plant growth promoting strains of *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. *Int J Bacteriol* 2014:195946.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*. 35(6):1547–1549.
- Kumari P, Meena M, Upadhyay RS. 2018. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) isolated from the rhizosphere of *Vigna radiata* (mung bean). *Biocatal Agric Biotechnol* 16: 155–162.
- Lahtini AI, Sallami A, Ait-Ouakrim EH, El Khedri H, Obtel M, Douira A, El Modafar C, Benkerroum N, Talbi C, Chakhchar A, et al. 2022. Isolation and molecular identification of an indigenous abiotic stress-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria from the rhizosphere of the olive tree in southern Morocco. *Rhizosphere*. 23: 100554.
- Leontidou K, Genitsaris S, Papadopoulou A, Kamou N, Bosmali I, Matsi T, Madesis P, Vokou D, Karamanolis K, Mellidou I. 2020. Plant growth promoting rhizobacteria isolated from halophytes and drought-tolerant plants: genomic characterisation and exploration of phyto-beneficial traits. *Sci Rep* 10(1):14857.
- Mahdi H, Mouhamad R. 2018. Behavior of phosphorus in the calcareous soil. *Adv Agric Technol Plant Sci* 1:180018.
- Mahmud AA, Upadhyay SK, Srivastava AK, Bhojiya AA. 2021. Biofertilizers: a nexus between soil fertility and crop productivity under abiotic stress. *Curr Opin Environ Sustain*. 3:100063.
- Manzoor M, Abbasi MK, Sultan T. 2017. Isolation of phosphate solubilizing bacteria from maize rhizosphere and their potential for rock phosphate solubilization–mineralization and plant growth promotion. *Geomicrobiol J* 34(1):81–95.
- Mghazli N, Bruneel O, Zouagui R, Hakkou R, Sbabou L. 2022. Characterization of plant growth promoting activities of indigenous bacteria of phosphate mine wastes, a first step toward revegetation. *Front Microbiol* 13:1026991.
- Mghazli N, Sbabou L, Hakkou R, Ouhammou A, El Adnani M, Bruneel O. 2021. Description of microbial communities of phosphate mine wastes in Morocco, a semi-arid climate, using high-throughput sequencing and functional prediction. *Front Microbiol* 12:666936.
- Mitra D, Andelković S, Panneerselvam P, Senapati A, Vasić T, Ganeshamurthy AN, Chauhan M, Uniyal N, Mahakur B, Radha TK. 2020. Phosphate-solubilizing microbes and biocontrol agent for plant nutrition and protection: current perspective. *Commun Soil Sci Plant Anal* 51(5):645–657.
- Ngumbi EN, Kloepper JW. 2016. Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. *Appl Soil Ecol* 105:109–125.
- Niu DD, Liu HX, Jiang CH, Wang YP, Wang QY, Jin HL, Guo JH. 2011. The plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 induces systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* by simultaneously activating salicylate- and jasmonate/ethylene-dependent signaling pathways. *Mol Plant Microbe Interact* 24(5):533–542.
- Omotayo OP, Babalola OO. 2021. Resident rhizosphere microbiome's ecological dynamics and conservation: towards achieving the envisioned Sustainable Development Goals, a review. *Int Soil Water Conserv Res* 9(1):127–142.
- Pandey S, Singh S, Yadav AN, Nain L, Saxena AK. 2013. Phylogenetic diversity and characterization of novel and efficient cellulase producing bacterial isolates from various extreme environments. *Biosci Biotechnol Biochem* 77(7):1474–1480.
- Pantigoso HA, He Y, Manter DK, Fonte SJ, Vivanco JM. 2022. Phosphorus-solubilizing bacteria isolated from the rhizosphere of wild potato *Solanum bulbocastanum* enhance growth of modern potato varieties. *Bull Natl Res Cent* 46(1):224.
- Park YG, Mun BG, Kang SM, Hussain A, Shahzad R, Seo CW, Kim AY, Lee SU, Oh KY, Lee DY, et al. 2017. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. *PLoS One* 12(3):e0173203.
- Qarni A, Billah M, Hussain K, Shah SH, Ahmed W, Alam S, Sheikh AA, Jafri L, Munir A, Malik KM, et al. 2021. Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from rock phosphate mines and their potential effect for sustainable agriculture. *Sustainability*. 13(4):2151.
- Rasool A, Imran Mir M, Zulfajri M, Hanafiah MM, Azeem Unnisa S, Mahboob M. 2021. Plant growth promoting and antifungal asset of indigenous rhizobacteria secluded from saffron (*Crocus sativus* L.) rhizosphere. *Microb Pathog* 150:104734.
- Raymond NS, Gómez-Muñoz B, van der Bom FJT, Nybroe O, Jensen LS, Müller-Stöver DS, Oberson A, Richardson AE. 2021. Phosphate-solubilising microorganisms for improved crop productivity: a critical assessment. *New Phytol* 229(3):1268–1277.
- Rezakhani L, Moteszarezaei B, Tehrani MM, Etesami H, Mirseyed Hosseini H. 2019. Phosphate-solubilizing bacteria and silicon synergistically augment phosphorus (P) uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.) plant fertilized with soluble or insoluble P source. *Ecotoxicol Environ Saf* 173:504–513.

- Rodriguez H, Gonzalez T, Goire I, Bashan Y. 2004. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. *Naturwissenschaften* 91(11):552–555.
- Rojas-Solis D, Hernández-Pacheco CE, Santoyo G. 2016. Evaluation of *Bacillus* and *Pseudomonas* to colonize the rhizosphere and their effect on growth promotion in Tomato (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.). *Rev Chapingo Ser Hortic.* XXII(1):45–57.
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4:406–425.
- Sehrawat A, Sindhu SS, Glick BR. 2022. Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. *Pedosphere*, 32(1):15–38.
- Sendi Y, Pfeiffer T, Koch E, Mhadhbi H, Mrabet M. 2020. Potential of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) root microbiome in the bio-control of root rot disease and traits of performance. *J Plant Dis Prot* 127(4):453–462.
- Shrivastava P, Kumar R. 2015. Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J Biol Sci* 22(2):123–131.
- Suleman M, Yasmin S, Rasul M, Yahya M, Atta BM, Mirza MS. 2018. Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PLoS One* 13(9): e0204408.
- Tandon H, Cescas M, Tyner E. 1968. An acid-free vanadate-molybdate reagent for the determination of total phosphorus in soils. *Soil Sci Soc Am J* 32(1):48–51.
- Tao GC, Tian SJ, Cai MY, Xie GH. 2008. Phosphate-solubilizing and -mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere* 18(4):515–523.
- Tian J, Ge F, Zhang D, Deng S, Liu X. 2021. Roles of phosphate solubilizing microorganisms from managing soil phosphorus deficiency to mediating biogeochemical p cycle. *Biology* 10(2):158.
- Turan M, Ataoğlu N, Şahin F. 2006. Evaluation of the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. *J Sustain Agric* 28(3):99–108.
- Verma DK, Pandey AK, Mohapatra B, Srivastava S, Kumar V, Talukdar D, Yulianto R, Zuan ATK, Jobanputra AH, Asthir B. 2019. Plant growth-promoting rhizobacteria: an eco-friendly approach for sustainable agriculture and improved crop production. Chapter in *Microbiology for Sustainable Agriculture, Soil Health, and Environmental Protection* Apple Academic Press, 78.
- Wang H, Liu R, You MP, Barbetti MJ, Chen Y. 2021. Pathogen biocontrol using plant Growth-Promoting Bacteria (PGPR): role of bacterial diversity. *Microorganisms* 9(9):1988.
- Wang Z, Zhang H, Liu L, Li S, Xie J, Xue X, Jiang Y. 2022. Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their abilities of phosphorus solubilization and wheat growth promotion. *BMC Microbiol* 22(1): 296.
- Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol* 173(2):697–703.
- Xie J, Yan Z, Wang G, Xue W, Li C, Chen X, Chen D. 2021. A bacterium isolated from soil in a karst rocky desertification region has efficient phosphate-solubilizing and plant growth-promoting ability. *Front Microbiol* 11:625450.
- Xu H, Gao J, Portieles R, Du L, Gao X, Borrás-Hidalgo O. 2022. Endophytic bacterium *Bacillus aryabhattai* induces novel transcriptomic changes to stimulate plant growth. *PLoS One* 17(8):e0272500.
- Zheng BX, Ibrahim M, Zhang DP, Bi QF, Li HZ, Zhou GW, Ding K, Peñuelas J, Zhu YG, Yang XR. 2018. Identification and characterization of inorganic-phosphate-solubilizing bacteria from agricultural fields with a rapid isolation method. *AMB Express* 8(1):47.
- Zhou H, Ren ZH, Zu X, Yu XY, Zhu HJ, Li XJ, Zhong J, Liu EM. 2021. Efficacy of plant growth-promoting bacteria *Bacillus cereus* YN917 for biocontrol of rice blast. *Front Microbiol* 12:684888.

Supplementary information 1. Morphological characteristics of the 56 isolated bacteria from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge from the olive rhizosphere.

Isolate	Form	Surface	Color	Margin	Opacity
HFBPR01	Circular	Glossy	Yellowish	Orderly	Opaque
HFBPR02	Circular	Glossy	White	Orderly	Translucent
HFBPR03	Round	Dry	Milky-white	Irregular	Opaque
HFBPR04	Circular	Smooth	Yellowish-white	Irregular	Opaque
HFBPR05	Circular	Glossy	Cream	Irregular	Opaque
HFBPR06	Circular	Smooth	Golden-yellow	Entire	Opaque
HFBPR07	Circular	Glossy	White	Irregular	Opaque
HFBPR08	Circular	Smooth	Cream	Entire	Transparent
HFBPR09	Circular	Smooth and glossy	Nonpigmented	Entire	Opaque
HFBPR10	Circular	Brilliant	Bright-yellow	Convex	Opaque
HFBPR11	Circular	Smooth	Yellow	Entire	Opaque
HFBPR12	Circular	Shiny	White	Entire	Opaque
HFBPR13	Circular	Glossy	White	Orderly	Viscous
HFBPR14	Circular	Smooth	Beige	Irregular	Opaque
HFBPR15	Circular	Smooth	White	Irregular	Rough
HFBPR16	Circular	Smooth	White-grey	Circular	Opaque
HFBPR17	Circular	Smooth	Milky-white	Serrated edge	Opaque
HFBPR18	Circular	Glossy	Yellow	Orderly	Opaque
HFBPR19	Circular	Rough	Yellowish-white	Irregular	Opaque
HFBPR20	Circular	Rough	Creamy-white	Entire	Opaque
HFBPR21	Circular	Smooth	Ochre-yellow	Entire	Rough
HFBPR22	Circular	Rough	Nonpigmented	Orderly	Viscous
HFBPR23	Filamentous	Bright	Pale-yellow	Irregular	Rough
HFBPR24	Circular	Rough	Beige-brown	Irregular	Opaque
HFBPR25	Irregular	dry and matt	Creamy-yellow	spreading edges	Opaque
HFBPR26	Circular	Rough	White	Irregular	Opaque
HFBPR27	Circular	Slimy	Light-ivory	Irregular	Opaque
HFBPR28	Circular	Smooth	White	Transparent.	Opaque
HFBPR29	Circular	Rough	Yellowish-white	Entire	Opaque
HFBPR30	Circular	Smooth	Yellowish-white	Irregular	Opaque
HFBPR31	Circular	Smooth	Pink	Irregular	Rough
HFBPR32	Circular	Glossy	Pink	Irregular edge	Rough
HFBPR33	Circular	Shiny	Creamy-white	Entire	Opaque
HFBPR34	Irregular	Dry	Ivory	Irregular	Opaque
HFBPR35	Circular	Smooth	Whitish	Whole margin	Opaque
HFBPR36	Circular	Shiny	White	Round	Opaque
HFBPR37	Circular	Smooth	Beige	Irregular	Opaque
HFBPR38	Circular	Rough	Dirty-white	Regular	Viscous
HFBPR39	Irregular	Dry	Creamy-brown	Irregular	Opaque
HFBPR40	Circular	Rough	Dirty-white	Regular	Rough

HFBPR41	Circular	Rough	Milky-white	Curved	Opaque
HFBPR42	Irregular	Rough	White	Regular	Viscous
HFBPR43	Circular	Slimy	Red	Irregular	Opaque
HFBPR44	Circular	Smooth	Creamy-yellow	Round	Translucent
HFBPR45	Circular	Glossy	Yellow	Irregular	Opaque
HFBPR46	Circular	Rough	Creamy-white	Irregular	Opaque
HFBPR47	Globular	Smooth and shiny	Whitish	Entire	Opaque
HFBPR48	Circular	Smooth	White	Irregular	Opaque
HFBPR49	Circular	Slimy	Pink-red	Entire	Opaque
HFBPR50	Circular	Smooth	White	Entire	Opaque
HFBPR51	Irregular	Rough	Dirty-white	Irregular edge	Opaque
HFBPR52	Circular	Glossy	Ochre-yellow	Serrated edge	Opaque
HFBPR53	Circular	Rough	Creamy-white	Serrated edge	Opaque
HFBPR54	Circular	Rough	White	Irregular	Opaque
HFBPR55	Circular	Rough	Creamy-white	Irregular	Opaque
HFBPR56	Circular	Smooth	Ivory	Round	Opaque

Supplementary information 2. *In vitro* tricalcium phosphate (TCP) solubilization by the 24 PSB strains isolated from the rhizosphere of *Olea europaea* grown in phosphate sludge. – No activity. + Weak activity.

Bacterial strains	TCP solubilization	Solubilization index (SI)
HFBPR01	-	
HFBPR02	+	2.8
HFBPR04	+	3.2
HFBPR05	-	
HFBPR10	-	
HFBPR12	+	2.6
HFBPR19	+	2.8
HFBPR20	-	
HFBPR23	-	
HFBPR24	-	
HFBPR26	+	3.5
HFBPR27	+	2.6
HFBPR33	+	2.8
HFBPR34	-	
HFBPR38	-	
HFBPR39	+	2.6
HFBPR40	+	3.4
HFBPR41	+	2.5
HFBPR44	+	2.5
HFBPR48	-	
HFBPR49	+	2.8
HFBPR51	-	
HFBPR54	-	
HFBPR56	-	

III.2. Synthèse du 2ème article

Dans cette étude, 24 souches de PSB isolées à partir de la rhizosphère de l'olivier cultivé sur des boues de lavage de phosphate, ont été retenues après le séquençage du gène de l'ARNr 16S. Les résultats de séquençage montrent que notre collection est dominée par le phylum des Firmicutes dont environ 60% des souches appartiennent au genre de *Bacillus*. Lahsini et al., (2022) ont rapporté des résultats similaires dans leurs échantillons de la rhizosphère de l'olivier dans le sud du Maroc. Nos résultats montrent que toutes les souches peuvent solubiliser la roche phosphatée, avec des concentrations de phosphate soluble allant de 5,34 µg/mL à 227 µg/mL. Parmi les souches les plus efficaces dans la solubilisation du P on retrouve : *P. moraviensis* HFBPR01, *B. paramycoides* HFBPR39 et *B. cereus* HFBPR40. En effet, plusieurs études récentes montrent que les bactéries des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* sont les plus efficaces dans la solubilisation du phosphate dans le sol (Kumari et al. 2018 ; Rezakhani et al. 2019 ; Suleman et al. 2018). La solubilisation du phosphates est accompagnée généralement par une baisse de pH, ce qui indique que ces bactéries solubilisent le phosphate via la production des acides organiques (Alori et al., 2017; Billah et al., 2019). Cependant, les souches *Agromyces albus* HFBPR54 et *Agromyces iriomotensis* HFBPR48 ont été en mesure de solubiliser le RP dans des conditions de pH neutre ou légèrement alcalin, ce qui suggère l'intervention d'autres mécanismes de solubilisation du P. Certaines études ont montré que la sécrétion des enzymes spéciales comme la phytase et la phosphatase par les bactéries peut aider à la minéralisation du phosphate organique (Aarab et al., 2013; Manzoor et al., 2017; Dwivedi, 2020; Khan et al., 2022). Il a été rapporté également, qu'une seule bactérie peut activer simultanément ces deux mécanismes de solubilisation du phosphate (production d'acides organiques et sécrétion d'enzymes (Guang-Can et al., 2008; Billah et al., 2019).

En plus de la solubilisation de phosphate, nos souches présentent des niveaux de tolérances remarquables aux différents stress abiotiques (température, salinité et pH). La présence de PSB thermo-tolérantes et halotolérantes dans notre collection pourrait être expliqué par le fait que ces bactéries ont été isolées à partir des déchets miniers qui présentent des conditions de stress extrêmes pour les bactéries et devraient avoir des niveaux élevés de tolérance aux différents stress environnementaux. La résistance aux stress environnementaux élevés pourrait être due à la formation d'endospores résistants (Kumar et al., 2014) et aussi à la synthèse de gènes de tolérance aux stress abiotiques (p. ex., protéines de choc thermique), des antioxydants et de certains solutions compatibles (Bruno et al., 2020).

Outre leur capacité à solubiliser le phosphate, leurs propriétés PGP et leur tolérance aux différents stress abiotiques, les bactéries sélectionnées dans cette étude ont montré des capacités de bio contrôle très importantes. En effet, Environ 75 % des souches ont produit de l'HCN, qui est impliqué dans l'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes. La glycine, un acide aminé abondant dans les exsudats racinaires et l'eau interstitielle du sol, sert de précurseur à la synthèse bactérienne du HCN dans la rhizosphère (Sehrawat et al., 2022). La plupart des souches productrices d'HCN dans cette collection rhizosphérique appartiennent au genre *Bacillus*, ce qui corrobore plusieurs études qui ont identifié *Bacillus sp.* et *Pseudomonas sp.* comme les bactéries les plus courantes pour la production d'HCN. (Kumar et al., 2014; El-Rahman et al., 2019; Sendi et al., 2020). Outre sa fonction de lutte biologique, l'HCN participe également à la chélation des ions métalliques et contribue indirectement à la disponibilité du phosphate (Sehrawat et al., 2022). Ces bactéries peuvent produire aussi des enzymes telles que la cellulase et la chitinase, plus de 33 % produisent la cellulase, et plus de 20 % produisent la chitinase. De nombreuses bactéries du sol synthétisent divers enzymes qui interviennent dans la lyse de la paroi cellulaire, comme les cellulases, les chitinases, les lipases, les pectinases et les protéases, entre autres, qui agissent comme antagonistes contre les phytopathogènes (Rasool et al., 2021; Sehrawat et al., 2022).

Les souches bactériennes *Pseudomonas moraviensis* HFBPR01, *Bacillus aryabhattai* HFBPR04 et *Bacillus cereus* HFBPR40 ont présenté des résultats significatifs en lutte biologique *in vitro* contre les agents pathogènes les plus dévastateurs des oliviers, telle que *F. oxysporum* et *V. dahlia*. Ces souches ont montré leur capacité à produire des métabolites secondaires antifongiques et/ou des enzymes hydrolytiques qui, selon de nombreuses études, peuvent contribuer à la suppression directe ou indirecte des pathogènes fongiques dans le sol. En outre, ces trois souches ont montré une solubilisation importante de diverses sources de phosphates (TCP, RP et PS).

Les résultats de l'inoculation ont révélé que l'inoculation par le consortium de ces trois souches augmente considérablement le poids sec des pousses et des racines par rapport à l'inoculation simple et au témoin. L'efficacité du consortium bactérien pourrait être attribuée à l'augmentation du nombre de cellules bactériennes et à la combinaison de plusieurs caractéristiques PGP et de plusieurs mécanismes. Il s'agit notamment de la libération de phytohormones, de la sécrétion de composés qui chélatent des nutriments ou d'antibiotiques comme agents de lutte biologique, qui n'ont pas été examinés au cours de notre étude (Ben Zineb et al., 2019; Hassan et al., 2017; Pantigoso et al., 2022). Le consortium pourrait assurer une efficacité accrue de la solubilisation des phosphates et une production simultanée élevée de plusieurs types d'acides organiques (Blanco-Vargas et al., 2020). D'après une étude menée par (Pantigoso et al., 2022), l'utilisation d'un consortium de PSB pour

l'inoculation des sols peut améliorer la disponibilité du P pour les plantes, même dans les sols contenant des formes insolubles de P, comme le phosphate de calcium couramment présent dans les sols agricoles. Il a été prouvé aussi que les PSB sont efficaces pour stimuler la nutrition, la croissance et le rendement des plantes (Billah et al., 2019; Bargaz et al., 2021). Les résultats de notre étude indiquent que les PSB sélectionnées à partir de la rhizosphère de l'olivier sont capables d'améliorer la disponibilité du phosphore dans le sol, ce qui peut contribuer à améliorer la nutrition des cultures et réduire l'utilisation des engrais phosphatés. En effet, nos constatations suggèrent que ce consortium pourrait être utilisé comme solution alternative durable pour améliorer la disponibilité du phosphore pour les cultures alimentaires. Toutefois, il est essentiel de mener davantage d'études sur différentes espèces de cultures et dans différents types de sols pour déterminer l'application généralisée des isolats bactériens, afin d'améliorer la croissance des cultures et de déterminer leur efficacité au champ.

CHAPITRE II : Stimulation de la croissance de la tomate par les bactéries solubilisatrices du phosphate

I. Introduction

Le Maroc possède la plus grande réserve de phosphate, environ 75 % de la réserve mondiale estimée (Cooper et *al.*, 2011). Durant le processus de traitement de la roche phosphatée une large quantité des sous-produits incluant les boues de lavage phosphatées sont générés, contenant des teneurs non négligeables en phosphore sous forme insoluble (Loutou et *al.*, 2013). Ces boues phosphatées sont stockées dans de grands bassins couvrant de grandes surfaces et leur accumulation pose un problème en termes de capacité de stockage (Hakkou et *al.*, 2016). Par conséquent, le recyclage des boues phosphatées est obligatoire afin de consommer les quantités générées chaque année. Les boues phosphatées peuvent être réutilisées comme source de phosphore pour les plantes (Benbrik et *al.*, 2020). Cependant, Les plantes n'utilisent que les ions orthophosphates primaires et secondaires chargés négativement (H_2PO_4^- et HPO_4^{2-}) comme nutriments (Glick, 2012). Par contre, la plupart du phosphore dans les boues existe sous diverses formes insolubles (Hakkou et *al.*, 2016). Ce qui nécessite une mobilisation des formes insolubles sous une forme pouvant être assimilée par les plantes. Cette mobilisation peut être assurée par différents microorganismes notamment les bactéries promotrices de la croissance (PGPR) (Zaidi et *al.*, 2009 ; Shukla et *al.*, 2019 ; Rawat et *al.*, 2020). La solubilisation du phosphore inorganique dépend de la capacité des bactéries à produire les acides organiques et à sécréter les protons H^+ (Zaidi et *al.*, 2009).

Notre étude s'insère dans ce contexte et se propose d'étudier la valorisation des boues de lavage en tant que biostimulant en les associant avec des consortiums de bactéries PGPB capables de solubiliser leurs phosphates résiduels. Pour évaluer l'efficacité de cette formulation biofertilisante, nous avons procédé à (i) l'évaluation de son potentiel à solubiliser le phosphore minéral contenu dans les sols enrichis en boues phosphatées et inoculés par trois consortiums différents de PGPB (ii) Evaluation des paramètres de croissance des plantes de tomates dans les mêmes conditions.

II. Présentation de l'article 3

Valorization of phosphate sludge and its bacterial biomass as a potential bioformulation for improving tomato growth

Valorization of phosphate sludge and its bacterial biomass as a potential bioformulation for improving tomato growth

El Houcine Ait-Ouakrim¹, Salma Oulad Ziane², Abdelghani Chakhchar^{2,3*}, Ismail Ettaki², Cherkaoui El Modafar², Allal Douira⁴, Soumia Amir², Saad Ibnsouda-Koraichi⁵, Bouchra Belkadi¹ & Abdelkarim Filali-Maltouf¹

¹ Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Centre de Biotechnologie Végétale et Microbienne Biodiversité et Environnement, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat 10000, Morocco

² Centre d'Agrobiotechnologie et Bioingénierie, Unité de Recherche Labellisée CNRST (AgroBiotech-URL-CNRST 05), Faculté des Sciences et Techniques, Université Cadi Ayyad, Marrakech 40000, Morocco

³ Laboratoire Interdisciplinaire de Recherche en Bio-ressources, Environnement et Matériaux, Ecole Normale Supérieure de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Marrakech 40000, Morocco

⁴ Laboratoire des Productions Végétales, Animales et Agro-Industrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra, Morocco

⁵ Laboratoire de Biotechnologie Microbienne et Molécules Bioactives, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Morocco

Abstract

Phosphorus (P) is a vital limiting nutrient element for plant growth and yield. In Morocco, the natural phosphate rock extractions generate significant amounts of phosphate wash sludge (PS), which could be reused productively, thus creating another added value for farmers. The present study aimed to demonstrate the combination effect of soil amendment by two different PS concentrations (1% and 5%) associated with three phosphate-solubilizing bacteria (PSBs) consortia (C1, C2, and C3), isolated from phosphate mining sludge, on plant growth and nutrient uptake in tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*). The results obtained showed that this bioformulation significantly improved P solubilization and plant growth compared to control conditions. Of all the combinations, C3-inoculated soil amended with 5% PS was the most effective in significantly improving plant height and dry and fresh biomass of shoots and roots. P solubilization and its availability for tomato seedlings uptake were maximal with the bioformulation (C3+5% PS). This latter enhanced P and potassium (K) uptake by 27.89 and 38.81% in shoots and 38.57% and 74.67% in roots, respectively, compared to non-inoculated soil amended with 5% PS. The highest flowering rate (200 %) was recorded in C3-inoculated soil amended with 5% PS. Supporting these results, the principal component analysis discriminated this bioformulation (C3+5% PS) from the other combinations. Our results open up prospects for upgrading phosphate sludge enriched with PSBs consortia as a biofertilizer that can be used in ecofriendly agriculture integrated into the circular economy.

Keywords: Phosphate sludge, *Solanum lycopersicum*, Phosphate-solubilizing bacteria, plant growth, biofertilizer.

* Corresponding author:

Ecole Normale Supérieure de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Marrakech 40000, Morocco

E-mail address: chakhchar.ckr@gmail.com (A. Chakhchar)

Introduction

Morocco has the largest phosphate rock reserve, approximately 70% of the estimated global phosphate reserve (El Bamiki et al. 2021). During the treatment of phosphate rock, large quantities of derivatives are produced, including phosphate wash sludge, which contains significant amounts of insoluble phosphorus (Ait-Ouakrim et al. 2023a,b). They are stored in large ponds covering large areas and their accumulation causes a storage capacity problem (Hakkou et al. 2016). Therefore, recycling phosphate sludge is mandatory to exploit optimally the annual quantities produced and integrate it into a circular economy. Phosphate sludge can be reused as a source of phosphorus for plants (Benbrik et al. 2020; Ait-Ouakrim et al. 2023a,b). However, most phosphorus in sludge exists in various insoluble forms (Hakkou et al. 2016), whereas only the primary and secondary orthophosphate ions (H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , HPO_4^{3-}) are assimilated by plants as nutrients (Bargaz et al. 2021). Mobilization of insoluble phosphate from the soil in an assimilable soluble form for plants may be ensured by various microorganisms, including the solubilizing bacteria of phosphate (PSBs) (Benbrik et al. 2020; Aliyat et al. 2022; Ait-Ouakrim et al. 2023a,b). This group of bacteria is characterized by an important mineral phosphate solubilizing and organic phosphorus mineralization activity.

The solubilization of inorganic phosphorus depends mainly on the ability of PSBs to produce organic acids and secrete H^+ protons, releasing phosphorus in the assimilable form into the soil by lowering the pH of the rhizosphere (Wei et al. 2018). Organic acids can directly dissolve mineral phosphate through the exchange of a phosphate anion with an acid anion or through the chelation of the associated Fe, Al, and Ca ions in the soil complexes (Sharma et al. 2013; Rawat et al. 2021). Other studies have reported that PSBs could also solubilize potassium, improve nitrogen fixation, and produce phytohormones (Mitra et al. 2020; Rawat et al. 2021). PSBs are widely examined for their plant growth-promoting properties and biocontrol abilities such as increased plant growth, plant biomass, availability of nutrients, and mitigation of diverse biotic and abiotic stresses in plants (Pandey et al. 2012; Benbrik et al. 2020; Bargaz et al. 2021; Aliyat et al. 2022). The plant growth promotion (PGP) traits function additively and synergistically, and multiple mechanisms are responsible for promoting plant growth and increasing yield, including increasing available mineral nutrients, moderating phytohormone rates, and acting as biocontrol agents of phytopathogens (Emami et al. 2019; Kong and Liu, 2022).

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is among the major field and greenhouse vegetable crops grown all over the world. The latest FAO data reveal that tomato production has increased globally over the past 60 years, with 5.03 million ha annually producing over 180.8 million tons of tomato fruits (FAOSTAT, 2023). Tomatoes serve important functions in human nutrition and health since they are substantial sources of carotenoids and other elements for the diet that promote health (Meng et al. 2022). Utilizing safe and non-toxic biofertilizers to the environment, based on high-quality PSBs formulations, to manage vegetable crop production systems in an integrated, intensive, and sustainable manner can improve fertilization efficiency, lower fertilizer production costs, boost soil productivity, and support the sustainability of agricultural land (Billah et al. 2019). Previous studies above-provided insight regarding the potential of native phosphate solubilizing bacteria (isolated from phosphate sludge) to boost plant development and yields by making phosphorus available to plants (Ait-Ouakrim et al. 2023a,b). A wiser agricultural co-application of P sludge and PSBs assumes paramount importance to enhance agronomic profitability, environmental sustainability, and economic viability of phosphorus nutrient utilization. Our study aimed to value the phosphate sludge and its bacterial biomass as a potential source of biofertilizers for soil enrichment and tomato growth promotion by assessing two different concentrations of P sludge with three different PSBs consortia.

Material and methods

Bacterial consortium preparation

Six PSBs strains were selected for their ability to dissolve inorganic phosphate and other plant growth promotion activities. Three strains were isolated from phosphate sludge and identified as *Brevibacterium frigoritolerans* HFBP01, *Bacillus vallismortis* HFBP15, *Streptomyces venezuelae* HFBP26 (Ait-Ouakrim et al. 2023a), and three others from rhizosphere soil of olive tree grown in phosphate sludge identified as *Pseudomonas moraviensis* HFBPR01, *Bacillus cereus* HFBPR04, *Bacillus aryabhatai* HFBPR40 (Ait-Ouakrim et al. 2023b) (Supplementary data 1). The six strains were prepared separately in 150 mL of Tryptic Soy Broth (10%) liquid medium and incubated at 28 °C in a rotary shaker (120 rpm) for 48 h. After incubation, the optical density was adjusted to 10^8 CFU mL⁻¹. Three consortia (C) were formulated as follows: C1 (HFBPR01, HFBPR04, and HFBPR40), C2 (HFBP01, HFBP15, and HFBP26), and C3 (C1+C2). The biocompatibility of these PSBs strains was tested and the results obtained showed that they have no antagonistic effects between them (Ait-Ouakrim et al. 2023a, 2023b).

Tomato seeds inoculation

Tomato seeds (*Solanum Lycopersicum* ‘Campbell 33’) were disinfected in 10% of sodium hypochlorite and sown directly in commercial potting soil. Two-week-old seedlings were transplanted into plastic pots (15 cm in diameter and 20 cm in depth) previously disinfected and filled with 2 kg of soil (S) mixed with different concentrations of phosphate sludge (PS) in the following proportions: PS 0%, PS 1%, and PS 5%. After that, tomato seedlings were

inoculated with 10 mL of the bacterial consortia near the root area after transplantation and one month later. The negative controls received 10 mL of physiological saline solution. The experiment included 12 treatments as shown in Table 1. Ten pots of each treatment were established and kept for 80 days under controlled greenhouse conditions ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity, and a photoperiod of 16:8 h) and watered every 48 h. Each pot contained a single tomato seedling.

Table 1 Experimental design of the conducted study describing the different treatments applied

Traitement	Description
S	Soil without inoculation (negative control)
S+C1	Soil inoculated with C1
S+C2	Soil inoculated with C2
S+C3	Soil inoculated with C3
S+PS1%	Soil amended with 1% of PS
S+PS1%+C1	Soil amended with 1% of PS and inoculated with C1
S+PS1%+C2	Soil amended with 1% of PS and inoculated with C2
S+PS1%+C3	Soil amended with 1% of PS and inoculated with C3
S+PS5%	Soil amended with 5% of PS
S+PS5%+C1	Soil amended with 5% of PS and inoculated with C1
S+PS5%+C2	Soil amended with 5% of PS and inoculated with C2
S+PS5%+C3	Soil amended with 5% of PS and inoculated with C3

Soil analysis

pH and Conductivity

Both soil pH-H₂O and KCl-pH were measured by mixing 10 g of soil (+3g of KCl for the KCl-pH) with 20 mL of distilled water; the suspension was agitated for 30 minutes before the pH measurement. Electrical conductivity was determined using a conductivity meter by dissolving 10g of soil in 100 mL of distilled water.

Available P and total P in the soil

Available P in soil was measured using the method of Olsen et al. (1954). In order to monitor changes and trends of available P in the soil during the experiment and taking into account the variety of tomato studied, its development cycle, and the substrate used and its volume, the measurements were performed four times, at T0 (time before inoculation) corresponding to control, T40 (40 days after inoculation), T60 (60 days after inoculation), and T80 (80 days after inoculation). Soil (1 g) was dissolved in 20 mL of sodium bicarbonate; the suspension was stirred for 1h and filtered using filter paper. A 1 mL of suspension was mixed with 5 mL of molybdate-hydrazine sulfate reagent (10 mL of 0.15% hydrazine sulfate was mixed with 20 mL of sodium molybdate solution). The mixture was incubated for 10 min at 70°C in a water bath. The amount of phosphorus was estimated using a standard curve of KH₂PO₄ by measuring the optical density at 820 nm. Total P was determined by colorimetry method after mineralization of soil samples using the same method described above. A 0.1 g of soil sample mineralized at 550°C for 6h was dissolved in 2 mL of HCL 10% and then 20 mL of distilled water was added after evaporation of HCL. The obtained suspension was filtered and the filtrate was used for the determination of total P.

Mineral elements K⁺, Na²⁺, and Ca²⁺

Soil samples were mineralized for 4 hours at 500°C. Each sample (100 mg) corresponding to each treatment was mixed with 2 mL HCL (10%). After the evaporation of HCL, 20 mL of distilled water was added, and then the mixture was filtered using filter paper. The resulting solutions were used to determine the concentration of each element by flame atomic absorption spectrometry (Gaines and Mitchell 1979).

Plant material analysis

Plant growth promotion traits

After transplanting the tomato seedlings, their initial shoot length was measured. Thereafter, the monitoring of this parameter was carried out weekly throughout the growing period. The flowering rate was determined as soon as the flowers appeared. In order to assess the biomass allocation within tomato seedlings in response to different treatments, the fresh and dry biomass was measured. The fresh weight (both shoot and root, separately) was measured after plant harvesting and root cleaning, while the dry weight was measured after drying the plant material for 72 hours at 65°C. There were 10 replicates per treatment (one plant per replicate) for shoot length and 3 for biomass weight.

Determination of total phosphorus and potassium

The amount of total phosphorus and potassium in both shoots and roots was determined using 100 mg of dry matter previously ground and mineralized in the same manner as that described above in “Available P and total P in the soil” and “Mineral elements K^+ , Na^{2+} and Ca^{2+} ”, respectively. There were 3 replicates per treatment (one plant per replicate).

Statistical analysis

Results were analyzed statistically with the SPSS V25 software for Microsoft Windows. The analysis includes the analysis of variance (ANOVA) followed by a comparison of the means ($p \geq 0.05$) with Tukey’s Post hoc test after checking the normality and the homoscedasticity of data. A principal component analysis (PCA) was also performed to identify the discriminating variables between different treatments.

Results

2.1. Physicochemical characteristics of the soils used

The three substrates used in this study with different concentrations of phosphate sludge (0, 1, and 5 % PS) were characterized physicochemically (Table 2). Results showed that PS-deficient soil has a basic pH by referring to both pH-KCl and pH- H_2O and an electrical conductivity of about $52.30 \mu S cm^{-1}$. Regarding pH- H_2O , it was kept relatively stable and basic after soil amendment with PS without any significant statistical difference between the three substrates ($p \leq 0.05$). Soil amendment significantly increased the amount of total phosphorus, available phosphorus, Na, and Ca. The highest concentrations of these mineral elements were recorded in the soil amended by 5% PS. The concentration of 5% PS increased the available P content in soil by about 71.6 and 31.9% compared to PS-deficient soil and soil amended by 1%, respectively (Table 2). However, K content has not changed significantly between PS-deficient soil and PS-amended soil.

Table 2 Physical and chemical characteristics of different substrates used

Parameter	Deficient soil	Deficient soil+PS (1%)	Deficient soil+PS (5%)
Total P (ppm)	1018.44±20.45c	1743.24±47.38b	2459.31±153.70a
Available P (ppm)	107.18±3.11c	139.47±1.78b	183.97±1.85a
K^+ (ppm)	29.23±2.78a	30.00±1.46a	31.60±3.50a
Na^{2+} (ppm)	31.60±0.74b	36.00±1.58b	46.20±2.55a
Ca^{2+} (ppm)	143.90±1.73c	204.10±4.00b	353.10±24.58a
pH- H_2O	8.35 ± 0.10a	8.37 ± 0.4a	8.5 ± 0.1a
pH-KCl	7.82 ± 0.09	-	-
Electrical Conductivity ($\mu S cm^{-1}$)	52.30 ± 0.30	-	-

Note. Values are the mean of n=3 (Mean ± standard deviation). Values with different letters are significantly different at $p \leq 0.05$.

Dynamics of available phosphorus in soil

The dynamic of available phosphorus in the soil during the tomato-growing period exhibited significant differences with time and between treatments ($P \leq 0.05$) (Table 3). Available P varied in proportion to the PS concentration, such that the concentrations of 1 and 5 % significantly increased the available P by about 19.8 and 73.3%, respectively, compared to PS-deficient soil at time 0. The levels of available P also rose significantly in the PS-deficient soil inoculated with PSBs consortia in comparison with the non-inoculated ones. Regardless of the time factor, the combination of PS and PSBs consortia thus significantly increased available P. Nonetheless, the available P concentration continuously reduced over time in PS-deficient soil and non-inoculated soil amended with PS. Conversely, the presence of PSBs consortia increased the available P over time, reaching maximum values only after 40 days for most treatments (Table 3). The highest available P amounts were recorded in C3-inoculated soil amended with 5% PS, with an increase of approximately 72.21, 85.41, and 86.20 % noted after 40, 60, and 80 days of the tomato-growing period, respectively, in comparison with the corresponding non-inoculated soil amended with 5% PS.

Table 3 Dynamics of assimilable phosphorus in the soil under different combinations (phosphate sludge (PS) and PSBs consortia (C))

Combination	Assimilable phosphorus (ppm)			
	0 d	40 d	60 d	80 d
S	80.18±3.09Ac	63.17±7.99Bg	51.72±4.68Be	56.11±4.22Be
S+C1	80.18±3.09Bc	94.57±4.24Aef	83.66±4.22ABd	88.04±5.15ABd
S+C2	80.18±3.08Ac	91.44±5.61Aef	80.33±6.83Ad	85.40±9.76Ad
S+C3	80.18±3.09Bc	92.98±5.82Aef	87.02±2.45ABd	91.67±5.37ABd
S+PS1%	96.05±4.56Ab	75.76±8.88Bfg	81.65±10.33ABd	74.33±5.66Bde
S+PS1%+C1	96.05±4.56Cb	144.34±5.46ABcd	132.02±4.68Bbc	152.67±7.86Aab
S+PS1%+C2	96.05±4.56Bb	137.50±8.47Ad	125.71±8.75Ac	136.33±6.24Abc
S+PS1%+C3	96.05±4.56Bb	159.73±9.26Abc	141.39±12.10Aabc	159.33±4.70Aa
S+PS5%	138.96±3.19Aa	110.27±5.09Be	85.04±4.67Cd	89.33±6.12Cd
S+PS5%+C1	138.96±3.19Ca	165.64±7.81Ab	151.30±3.30BCab	160.67±4.69ABa
S+PS5%+C2	138.96±3.19Ba	159.36±8.38Abc	137.17±7.49Babc	130.00±5.01Bc
S+PS5%+C3	138.96±3.19Ca	189.90±4.96Aa	157.67±7.05Ba	166.34±9.18Ba

Note. Values are the mean of n=3 (Mean ± standard deviation). Values with different lowercase letters in each column and uppercase letters in each row are significantly different at $p \leq 0.05$.

Length of shoot of tomato seedlings

Results of the effect of different concentrations of phosphate sludge and PSBs consortia on tomato shoot length are presented in Table 4. Significant statistical differences were recorded in this growth trait according to time and treatment factors ($P \leq 0.05$). Regarding the time effect, change in shoot length usually began to increase significantly from the 2nd week in different treatments, compared to the control (0 W). The maximum shoot length is reached in the last week of the tomato-growing period, especially in C3-inoculated soil amended with 5% PS (59.56 cm) followed by C1-inoculated soil amended with 5% PS (53.40 cm). Compared to soil amended with 5% PS, C3, and C1 increased significantly tomato shoot length by about 33.84 and 20.0 %, respectively.

211 **Table 4** Effect of soil enrichment with phosphate sludge and PSBs consortia on tomato shoot length during 10 weeks of the growing period

	0 w	1 w	2 w	3 w	4 w	5 w	6 w	7 w	8 w	9 w	10 w
S	5.99±0.60Habc	7.53±1.43GHab	10.82±1.48Ga	16.04±1.58Fa	21.06±2.42Eab	26.60±3.39Da	30.37±3.90CDabc	33.68±3.93Cb	38.65±3.54Bbc	42.60±3.20ABcdef	45.75±2.07Acdef
S+C1	5.99±0.59Jabc	6.09±1.59IJcd	9.20±1.61Ibc	14.69±1.92Hab	20.60±1.43Gabc	26.42±2.75Fab	30.25±3.04Eabc	34.84±2.58Db	39.80±2.44Cb	44.70±2.55Bc	49.00±2.21Acd
S+C2	5.31±0.23Icd	5.20±1.18Id	8.28±1.46Hc	14.98±1.95Gab	21.05±1.91Fab	26.50±1.97Eab	31.39±2.48Dab	34.65±2.57Cb	40.00±2.67Bb	45.15±2.11Abc	47.95±2.30Acde
S+C3	5.49±0.41Jbcd	6.00±0.94Jcd	9.21±0.83Ibc	15.90±1.02Ha	22.00±1.39Ga	26.12±1.82Fab	29.78±1.88Ebc	34.59±2.48Db	39.48±3.05Cbc	44.35±2.73Bcd	47.85±3.00Acde
S+PS1%	5.75±0.46Habcd	7.18±0.74GHabc	9.43±0.90Gabc	13.41±1.28Fbc	17.42±2.04Ede	20.37±2.09Ed	23.78±2.68De	26.65±3.27Dd	30.75±2.74Ce	38.60±2.27Bf	41.88±1.79Af
S+PS1%+C1	5.22±0.32Hd	6.58±0.79GHbcd	9.12±0.89Gbc	13.69±0.87Fbc	18.33±1.05Ecde	23.25±1.54Dbcd	28.14±2.05Cbcd	31.83±2.11Bb	34.15±2.08Bde	43.00±3.59Acde	45.20±3.33Adef
S+PS1%+C2	6.08±0.69Hab	6.85±0.80Habc	8.89±1.02GHbc	12.29±1.86Gc	16.67±2.37Fe	21.19±2.44Ecd	24.75±2.35DEde	27.62±2.56Dcd	35.50±2.42Ccd	40.20±3.58Bdef	44.25±5.77Aef
S+PS1%+C3	5.25±0.25Jcd	6.55±0.55IJbcd	9.64±0.58Iabc	14.76±1.01Hab	20.03±1.84Gabcd	24.82±2.67Fab	29.40±2.29Ebc	33.68±3.14Db	37.90±4.36Cbcd	45.60±3.66Bbc	49.50±3.06Abc
S+PS5%	5.43±0.28Jbcd	6.40±0.46Jbcd	9.04±0.65Ibc	13.96±1.03Habc	18.64±0.94Gbcde	24.01±1.08Fabc	27.35±1.68Ecd	31.19±1.89Dbc	35.65±1.62Ccd	40.00±1.49Bef	44.50±1.78Aef
S+PS5%+C1	6.42±0.71Ja	8.04±0.68IJa	10.35±0.79Iab	15.07±1.20Hab	20.60±1.51Gabc	25.99±1.94Fab	30.30±1.37Eabc	35.15±2.90Db	41.35±1.29Cb	49.00±3.17Bb	53.40±1.74Ab
S+PS5%+C2	5.85±0.60Jabcd	6.95±0.83Jabc	9.57±1.03Iabc	13.74±1.09Hbc	18.98±1.60Gbcde	23.48±1.74Fabcd	28.13±1.62Ebcd	32.25±1.72Db	38.45±1.96Cbc	44.65±3.17Bc	48.85±1.92Acd
S+PS5%+C3	5.88±0.58Jabcd	6.39±0.25Jbcd	10.02±1.02Iab	13.75±1.34Hbc	19.70±1.86Gabcd	25.42±2.04Fab	33.61±1.25Ea	40.15±1.81Da	49.20±2.70Ca	53.40±1.71Ba	59.56±1.88Aa

212

213 Note. Values are the mean of n=10 (Mean ± standard deviation). Values with different lowercase letters in each column and uppercase letters in each row are significantly
214 different at $p \leq 0.05$.

Dry and fresh biomass of tomato seedlings

Shoot and root dry and fresh biomass varied significantly according to the consortium type and the phosphate sludge concentration ($P \leq 0.05$) (Fig. 1 and Fig. 2). Tomato seedlings growing in the PS-deficient soil and inoculated with different consortia showed no significant difference in the shoot and root dry and fresh biomass compared to non-inoculated ones. However, C3 significantly improved these growth traits in both soils amended with 1% and 5% PS compared to other consortia, except for shoot dry biomass, where both C1 and C3 showed the highest values in soil amended with 1% PS. Among treatment combinations between PS and PSBs, C3-inoculated soil amended with 5% PS was the favorable and optimal association to significantly increase shoot and root dry and fresh biomass by ensuring good vegetative growth and development. Indeed, C3 improved shoot dry biomass by about 15.76% (Figure 1a), root dry biomass by 36.25 % (Fig. 1b), shoot fresh biomass by 22.32% (Fig. 2a), and root fresh biomass by 46.93% (Figure 2b), in soil amended with 5% PS compared to that enriched with 1% PS. Nonetheless, the values of fresh and dry biomass of tomato shoots are greater than those recorded in roots (Figures 1 and 2).

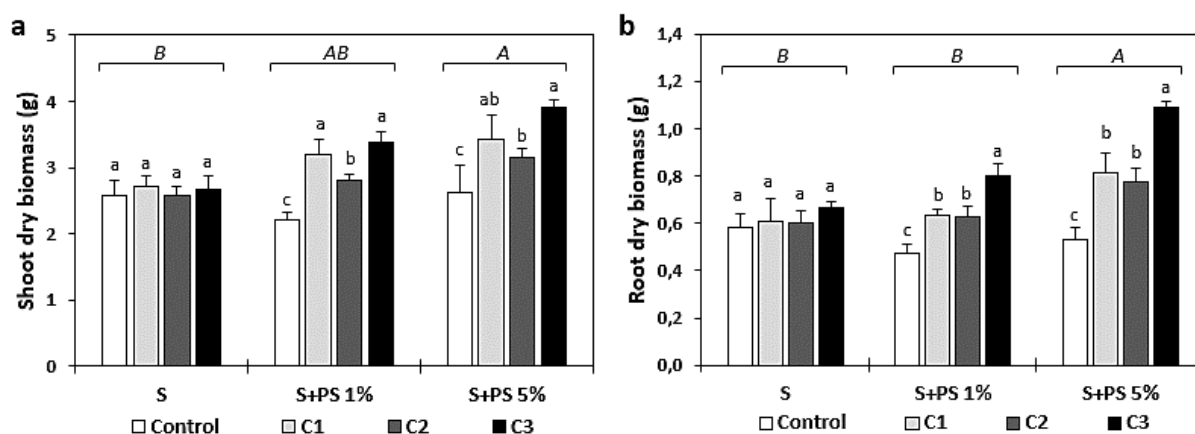


Fig. 1 Shoot (a) and root (b) dry biomass of tomato seedlings under different combinations (phosphate sludge (PS) and PSBs consortia (C)). Values are the mean of $n=3$ (Mean $\pm$ standard deviation). Different lowercase and uppercase letters indicate significant differences at $p \leq 0.05$

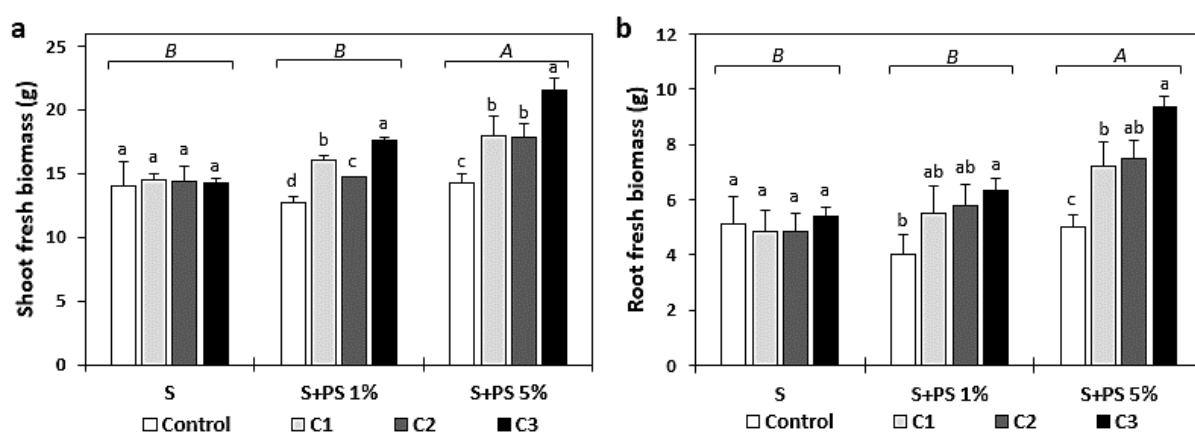


Fig. 2 Shoot (a) and root (b) fresh biomass of tomato seedlings under different combinations (phosphate sludge (PS) and PSBs consortia (C)). Values are the mean of $n=3$ (Mean $\pm$ standard deviation). Different lowercase and uppercase letters indicate significant differences at $p \leq 0.05$

Phosphorus and potassium uptake in tomato seedlings

The addition of PS significantly increased P and K in tomato shoots and roots ($P \leq 0.05$) (Table 5). This accumulation was more pronounced in soil amended with 5% PS than that amended with 1% PS. P concentration increased by about 52.77 and 93.09% in shoots and roots, respectively, while K concentration was 6.72% in shoots and 103.32% in roots, compared to the control (PS-deficient soil). Furthermore, inoculation by PSBs consortia significantly improved the P and K uptake in tomato shoots and roots compared to the control. C3 has shown the best results compared to other consortia. Regarding the combinations between different PSBs inoculation and PS amendment, C3-inoculated soil amended with 5% PS enabled the highest uptake concentrations of P and K in both shoots and roots. Indeed, this combination enhanced P uptake by 27.89 and 38.57% in shoots and roots, respectively, compared to non-inoculated soil amended with 5% PS. As for K uptake, the said combination

increased K by about 38.81% in tomato shoots and 74.67% in roots. In terms of comparison between plant parts, the P and K levels recorded in the shoots are higher than those noted in the roots under control and treated conditions (Table 5).

Table 5 Content of phosphorus (P) and potassium (K) in both tomato shoots and roots under different combinations (phosphate sludge (PS) and PSBs consortia (C))

Organ	Treatment	P				K			
		Control	C1	C2	C3	Control	C1	C2	C3
Shoot	S	56.43±1.50f	74.41±7.31de	69.74±1.66e	82.46±0.64cd	1197.50±8.08gh	1457.00±36.85d	1184.00±13.86h	1334.00±3.86e
	S+PS 1%	69.46±3.23e	85.71±6.08bcd	75.17±7.82de	97.00±3.80b	1250.00±24.65fg	1435.00±25.06d	1572.50±17.51c	1445.00±10.02d
	S+PS 5%	86.21±1.50bcd	95.04±4.04bc	86.44±1.06bcd	110.25±4.54a	1278.00±12.14ef	1662.50±22.49b	1655.50±12.68b	1774.00±16.08a
Root	S	44.91±2.52h	69.14±2.33de	52.39±2.99gh	67.74±5.70def	211.00±11.07g	477.00±19.85de	426.00±20.08e	517.00±9.89cd
	S+PS 1%	61.07±3.67efg	79.34±5.61cd	56.35±2.02fgh	85.76±4.97c	351.00±29.91f	567.00±35.02c	553.00±10.19c	637.00±20.03b
	S+PS 5%	86.72±5.11c	115.99±4.94ab	107.72±2.49b	120.17±5.21a	429.00±19.79e	638.00±32.18b	570.00±20.44c	749.35±9.99a

Note. Values are the mean of n=3 (Mean ± standard deviation). Values with different letters are significantly different at $p \leq 0.05$.

Flowering percentage in tomato seedlings

Tomato flowering percentage was calculated by referring to the results recorded in PS-deficient soil and not inoculated and presented in Table 6. The flowering percentage increased with the increase in phosphate sludge concentration in the soils enriched with C1 and C3. The highest flowering rate was observed in C3-inoculated soil amended with 5% PS (200 %).

Table 6 Effect of soil enrichment with phosphate sludge and PSBs consortia on tomato flowering percentage

	Flowering rate (%)		
	C1	C2	C3
PS1%	100.00	53.33	120.00
PS5 %	166.67	0.00	200.00

Multivariate statistical analysis

Principal component analysis was applied to the parameters studied in tomato seedlings under different treatments. The major part of the cumulative variance (91.47 %) was represented by the first two principal components (PC1: 85.25% and PC2: 6.22%). According to 2D space (Fig. 3A) and the matrix of components, PC1 is strongly correlated with all parameters examined in the positive part, mainly with shoot fresh and dry biomass and root dry biomass, while P available, root K content and shoot P content are most correlated PC2 in the positive side. The distribution of traits studied allowed distinguishing four main treatment groups (Fig. 3B): group1 comprises the soil amended with 5% PS and inoculated with C1 and C2 as well as soil amended with 1% PS and inoculated with C1 and C3, group 2 includes the soil amended with 1% PS and inoculated with C2 and 1% and 5% SP-enriched non-inoculated soil, group 3 includes the PS-deficient soil and the one inoculated with the three PSBs consortia, and group 4 comprises only the C3-inoculated soil amended with 5% PS. Among these four groups, the treatment combination of group 4 appeared the most favorable biofertilizing conditions to improve tomato growth and development.

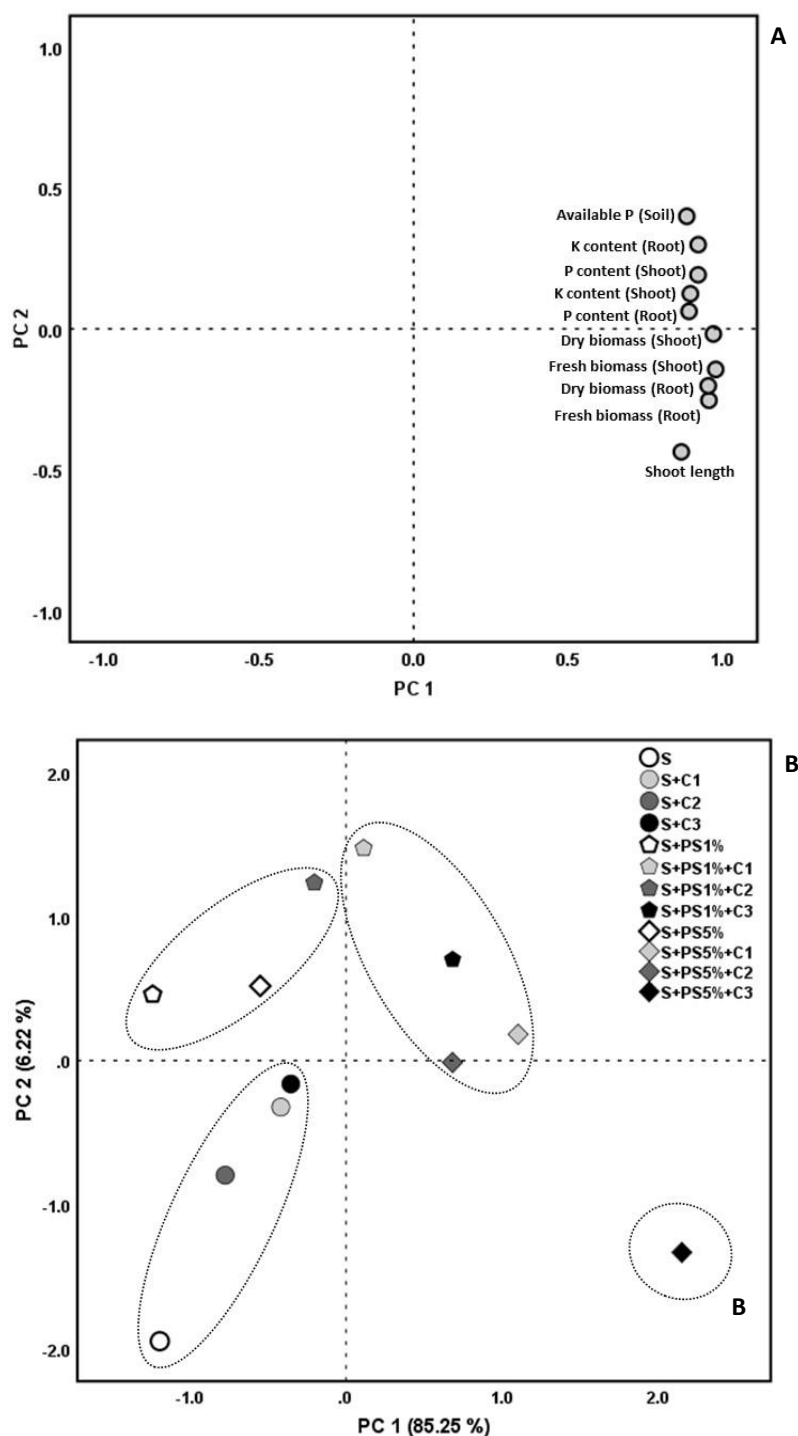


Fig. 3. 2D scatterplots illustrating the distribution of the traits studied (A) and treatments (B) according to the two main principal components obtained by PCA in tomato seedlings

Discussion

Phosphate wash sludge is one of the byproducts generated during the phosphate extraction industry's exploitation and subsequent rock phosphate treatment (Hakkou et al. 2016; Gherghel et al. 2019). It remains unexploited despite their considerable levels of residual phosphates complex, which could constitute at least an important resource of PSBs biomass and phosphorus for soils depleted of this mineral as key nutrients for plant growth (Benbrik et al. 2020; Gupta et al. 2021; Di Capua et al. 2022; Ait-Ouakrim et al. 2023a,b). In the present study, the combined inoculation of cultivated tomato seedlings, in soil amended with phosphate sludge, by selected PSBs consortia isolated from the phosphate sludge and the rhizosphere of olive trees growing on this phosphate wash sludge showed promising biofertilizer potential to improve plant growth and production. The scientific community is increasingly interested in finding biotechnological approaches to make the residual phosphorus of phosphate sludge and their bacterial biomass available to crop farmers to boost crop production and productivity (Rfaki et al.

2020; Benbrik et al. 2020; El Maaloum et al. 2020; Aliyat et al. 2022; Azaroual et al. 2022; Ait-Ouakrim et al. 2023a,b).

Analysis of soil physicochemical parameters revealed that adding phosphate sludge improves significantly the mineral composition of the soil, including the assimilable phosphorus, total phosphorus, calcium, and sodium. Inoculation with PSBs consortia in soil amended by PS allowed for effective and sustainable mobilization of phosphorus from the sludge, compared to the non-inoculated soil. These results are consistent with studies done by Benbrik et al. (2020, 2021) and El Gabardi et al. (2021), which also tested the effect of PSBs on P solubilization and release in soil amended with different concentrations of PS. PSBs can be effective in making P more available to tomato plants from inorganic P source (PS) by solubilizing and mineralizing insoluble P compounds. The main mechanism of this solubilization involves the excretion of solubilizing agents, including organic acids, protons, and siderophores, which mainly act on P minerals. Organic acids, in particular, enhance P availability in the soil by forming complexes with cations like Al or Fe, or by obstructing P absorption sites on soil particles (Elhaissouf et al., 2022; Ait-Ouakrim et al., 2023 a,b), resulting in facilitated and enhanced plant P uptake. P stands as an indispensable nutrient for plant development and growth, considering that P concentration can reach up to 0.5% of the plant's dry weight (Vance et al., 2003). Regarding P dynamic and availability for tomato seedlings, the significant increase in P availability during the 40-day post-inoculation period could be explained by the action of PSBs, which solubilize and release P from PS into the soil making it more accessible to plants. After this period, the P availability remained maintained, exhibiting the durable effectiveness of PSBs consortia. However, in some treatments, there may be a decrease but it remains significantly high compared to the control. This could be mainly related to the rate of plant growth and development stage, and its growing need to absorb available P (Bargaz et al., 2021). The soil amendment with PS associated with the inoculation with phosphate solubilizing microorganisms revealed a significant beneficial effect on phosphorus bioavailability, increasing the plant growth of some crops, including *Zea mays* (Benbrik et al. 2020) and *Solanum lycopersicum* (El Maaloum et al. 2020). Our findings showed that among all combinations, the “C3 + 5% PS” combination was the best to significantly improve tomato seedlings’ growth, where the highest values of plant height and dry and fresh biomass of shoots and roots were recorded. The six strains forming the PSBs consortium 3 (C3): *Brevibacterium frigoritolerans* HFBP01, *Bacillus vallismortis* HFBP15, *Streptomyces venezuelae* HFBP26, *Pseudomonas moraviensis* HFBPR01, *Bacillus cereus* HFBPR04, *Bacillus aryabhattai* HFBPR40 have already shown a synergetic and significant biofertilizing effect on *Phaseolus vulgaris* (Ait-Ouakrim et al. 2023a,b). These PSBs strains selected and identified from Moroccan phosphate sludge presented multiple PGP traits, good tolerance to abiotic stresses (salinity, high temperature, pH, and heavy metal), and biocontrol potential against phytopathogens (*Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, and *Verticillium dahliae*) (Ait-Ouakrim et al. 2023 a,b). To optimize the reuse of PS as a soil amendment, we tested low proportions in contrast to Benbrik et al. (2020) who used high PS percentages (20 - 100%), whose 40% concentration was the best to increase the growth of *Zea mays* more than the other proportions used. Indeed, the soil amended with 5% PS favored the best plant growth of tomato seedlings, especially with PSBs consortium 3. The few studies on soil amendment by direct addition of PS showed a positive effect on vegetative growth in plants inoculated with PSBs (Benbrik et al. 2020; El Maaloum et al. 2020). In soil amended with 5% PS, the six bacterial strains (C3) significantly increased the shoot and root growth in tomato seedlings compared to the controls and other combinations; this is mainly due to the tested high and efficient ability of these PSBs strains to solubilize the insoluble P contained in the PS and make it available to plants (Ait-Ouakrim et al. 2023 a,b). The additive beneficial effect of this consortium (C3) on plant growth is due to the synergistic effect of bacterial strains that compose it and their biocompatibility. Previous studies have reported that the inoculation by bacterial consortia is more effective than the inoculation by single bacterial strains, so that each strain complements the limits of the other, allowing the consortium to provide various functions that a single bacteria may not perform (El Maaloum et al. 2020; Gómez-Godínez et al. 2021; Ait-Ouakrim et al. 2023 a,b). According to our findings, the “C3 + 5% PS” combination enabled us to obtain the highest uptake of P and K in both shoots and roots. Several researchers confirm the beneficial contribution of PSBs in plant growth promotion through their solubilizing power, which further improves the availability and uptake of certain micronutrients, thereby ensuring the nutritional status and health of plants (Rawat et al. 2021; Bargaz et al., 2021; Li et al. 2023). Through the production of Indole-3-acetic acid (IAA) hormone, a capability documented in the investigated PSBs (Ait-Ouakrim et al., 2023 a,b), these bacterial consortia have the potential to stimulate the expansion of the plant's root system, thereby enhancing the absorption efficiency of P and K in tomato seedlings and increasing the growth rate. The same combination “C3 + 5% PS” ensured the highest flowering rate of tomato plants compared to the other combinations studied. PSBs are characterized by a more diverse set of metabolic skills to improve the bioavailability of different forms of refractory P in the soil. It has been demonstrated that PSBs inoculations enhance plant yield by changing the plant's P acquisition strategy and P distribution inside the plant (Li et al. 2023). In addition, the P requirements of plants vary according to the stages of plant development. It is extremely critical during the first weeks of growth and reaches its maximum demand at the flowering stage (Li et al. 2023). The significant results of tomato plant growth promotion indicated that PSBs enhanced the efficiency of PS by promoting its solubilization and providing more P into the mineral P pool (Elhaissoufi et al., 2021; Ait-Ouakrim

et al., 2023 a,b). Due to its low reactivity against binding and adsorption phenomena of P in soils, PS in combination with PSBs could meet tomato plants' higher requirements for P and other minerals, throughout the growth stages. PSBs consortia have the ability to provide a readily accessible P fraction to tomato seedlings even during their earliest growth stages, with the assumption that the efficiency of PS utilization intensifies as plant roots expand and more extensively explore the soil rhizosphere. P, an essential nutrient, is requisite for several cellular processes, encompassing photosynthesis, carbohydrate metabolism, energy generation, maintenance of redox homeostasis, and cellular signaling (Siedliska et al., 2021). It assumes also a pivotal role in root development, including the anatomy of root traits and the density of root hairs (Elhaissoufi et al., 2021). If not supplied by soil sufficiently, PS amendment in combination with PSB consortia can therefore ensure significant amounts of soluble and available P to improve plant growth.

It is widely accepted that organic acids are initially secreted by PSBs, which then chelate with phosphate-related cations through their carboxyl and hydroxyl groups or by releasing H⁺ to decrease the pH of the rhizosphere, and the fixed P can then be transformed into an available form for plants. This rhizosphere bioacidification in the vicinity of the root system allows the release of phosphate from PS to plants and the use of soil nutrients (Ait-Ouakrim et al. 2023 a,b; Li et al. 2023). Mobilization of insoluble P by PSBs is the key to create effective and robust microbial biofertilizers. By maintaining their P-solubilizing ability, PSB strains have gained widespread acceptance as eco-friendly resources readily available for biofertilizer agents to replace chemical fertilizers. The improvement of plant growth and nutrition as well as the regulation of biotic and abiotic stresses tolerance could be effectively conferred by certain multi-trait PSBs strains isolated from phosphate sludge (Ait-Ouakrim et al. 2023 a,b). Nonetheless, further studies would be necessary to rigorously assess the long-term impacts of using this bioformulation on soil health and fertility, carefully examining the potential influence of its repeated application on soil properties and microbial communities, and its effectiveness across various crop species to evaluate its versatility and suitability in diverse agricultural environments.

Conclusion

The present study has highlighted the ability of soil amendment by the combination of phosphate sludge and PSBs consortium to improve the vegetative growth and flowering rate of tomato plants. The soil amended with 5% PS and associated with C3 inoculation showed the optimal performance of the P and K uptake in both tomato plants' shoots and roots. This bioformulation (C3 + 5% PS) could be the most appropriate eco-friendly and circular economy strategy to significantly improve P solubilization and mobilization, nutrient uptake, and crop growth and yield. The optimization of this bioformulation and the elucidation of the mechanisms underlying the P bioavailability could be of potential economic importance in improving crop yields to meet the rising food demand driven by an increasing human population.

Supplementary data 1 ID, accession numbers and percentage of similarity of the six selected PSBs strains forming the three PSBs consortia

Strain ID	Identified PSB strain	Accession numbers	Similarity percent
HFBP01	<i>Brevibacterium frigoritolerans</i>	MW115617	99.80%
HFBP15	<i>Bacillus vallismortis</i>	MT538262	100.00%
HFBP26	<i>Streptomyces venezuelae</i>	MT538269	100.00%
HFBPR01	<i>Pseudomonas moraviensis</i>	MT539146	99.07%
HFBPR04	<i>Bacillus aryabhatai</i>	MW092883	100.00%
HFBPR40	<i>Bacillus cereus strain</i>	MW092893	99.68%

Author contribution El Houcine Ait-Ouakrim, Abdelghani Chakhchar, Cherkaoui El Modafar, Bouchra Belkadi and Abdelkarim Filali-Maltouf: Conceptualization, Investigation, Original Drafting. El Houcine Ait-Ouakrim, Salma Oulad Ziane, and Ismail Ettaki: Methodology, Software, Original Draft Preparation. Allal Douira, Soumia Amir and Saad Ibsouda-Koraichi: Resource, Visualization, Supervision. Abdelghani Chakhchar and El Houcine Ait-Ouakrim: data curation, Writing - Review & Editing. Cherkaoui El Modafar, Bouchra Belkadi and Abdelkarim Filali-Maltouf: Project administration, Funding acquisition, Validation. All authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgments The Authors would like to acknowledge the support through the R&D Initiative – Appel à projets autour des phosphates APPHOS – sponsored by the Office Chérifien des Phosphates (OCP) (OCP Foundation, R&D OCP, Mohammed VI Polytechnic University, National Center of Scientific and Technical Research CNRST, Ministry of Higher Education, Scientific Research and Innovation of Morocco) under the project entitled “Procédés biotechnologiques pour la valorisation des boues et des déchets miniers de phosphate :

Formulation d'un phospho-compost bio-fertilisant pour application directe en agriculture productive et respectueuse de l'environnement" (Ref. BIO-MOD-01/2017).

Funding This work was funded by the Office Chérifien des Phosphates (OCP) (OCP Foundation, R&D OCP, Mohammed VI Polytechnic University, National Center of Scientific and Technical Research CNRST, Ministry of Higher Education, Scientific Research and Innovation of Morocco) [Project. BIO-MOD-01/2017].

Declarations

Ethics approval Not applicable.

Consent to participate Not applicable.

Consent for publication Not applicable.

Competing interests The authors declare no competing interests.

References

- Ait-Ouakrim EH, Chakhchar A, El Modafar C, Douira A, Amir S, Ibsouda-Koraichi S, Belkadi B, Filali-Maltouf A (2023a) Valorization of Moroccan phosphate sludge through isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and assessment of their growth promotion effect on *Phaseolus vulgaris*. Waste Biomass Valor. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02054-2>
- Ait-Ouakrim EH, Chakhchar A, El Modafar C, Douira A, Amir S, Ibsouda-Koraichi S, Belkadi B, Filali-Maltouf A (2023b) Assessment of potent phosphate-solubilizing bacteria isolated from the olive tree rhizosphere grown on phosphate sludge and their effect on common bean growth. Geomicrobiol J 40:605-617. <https://doi.org/10.1080/01490451.2023.2218839>
- Aliyat FZ, Maldani M, El Guilli M, Nassiri L, Ibijbijen J (2022) Phosphate-solubilizing bacteria isolated from phosphate solid sludge and their ability to solubilize three inorganic phosphate forms: Calcium, Iron, and Aluminum phosphates. Microorganisms 10:980. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050980>
- Azaroual SE, El Mernissi N, Zeroual Y, Bouizgarne B, Meftah Kadmiri I (2022) Effect of Bacillus spp. strains on wheat nutrient assimilation and bioformulation by new spray drying approach using natural phosphate powder. Dry Technol 40:2630-2644. <https://doi.org/10.1080/07373937.2021.1950170>
- Bargaz A, Elhaissofi W, Khourchi S, Benmrid B, Borden KA, Rchiad Z (2021) Benefits of phosphate solubilizing bacteria on belowground crop performance for improved crop acquisition of phosphorus. Microbiol Res 252:126842. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126842>
- Benbrik B, Elabed A, El Modafar C, Douira A, Amir S, Filali-Maltouf A, El Abed S, El Gachtouli N, Iraqui M, Ibsouda Koraichi S (2020) Reusing phosphate sludge enriched by phosphate solubilizing bacteria as biofertilizer: Growth promotion of *Zea Mays*. Biocatal Agric Biotechnol 30:101825. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101825>
- Benbrik B, Elabed A, Iraqui M, Ghachtouli NE, Douira A, Amir S, Filali-Maltouf A, El Abed S, El Modafar C, Ibsouda-Koraichi S (2021) A phosphocompost amendment enriched with PGPR consortium enhancing plants growth in deficient soil. Commun Soil Sci Plant Anal 52:1236-1247. <https://doi.org/10.1080/00103624.2021.1879121>
- Billah M, Khan M, Bano A, Hassan TUI, Munir A, Gurmani AR (2019) Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. Geomicrobiol J 36:904-916. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1654043>
- Di Capua F, de Sario S, Ferraro A, Petrella A, Race M, Pirozzi F, Fratino U, Spasiano D (2022) Phosphorous removal and recovery from urban wastewater: Current practices and new directions. Sci Total Environ 823:153750. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153750>
- El Bamiki R, Raji O, Ouabid M, Elghali A, Khadiri Yazami O, Bodinier JL (2021) Phosphate rocks: A review of sedimentary and igneous occurrences in Morocco. Minerals 11:1137. <https://doi.org/10.3390/min11101137>
- El Gabardi S, Mouden N, Chliyah M, Selmaoui K, Ouazzani Touhami A, Filali-Maltouf A, Ibsouda Koraichi S, Amir S, Benkirane R, EL Modafar C, Douira A (2021) Effect of phospho-compost and phosphate laundered sludge combined or not with endomycorrhizal inoculum on the growth and yield of tomato plants under greenhouse conditions. Acta Biol Szeged 64:221-232. <https://doi.org/10.14232/abs.2020.2.221-232>
- El Maaloum S, Elabed A, Alaoui-Talibi ZE, Meddich A, Filali-Maltouf A, Douira A, Ibsouda-Koraichi S, Amir S, El Modafar C (2020) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria consortia associated with phospho-compost on phosphorus solubilization and growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). Commun. Soil Sci Plant Anal 51:622-634. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729376>
- Elhaissofi W, Ghoulam C, Barakat A, Zeroual Y, Bargaz A (2021) Phosphate bacterial solubilization: A key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. J Adv Res 38:13-28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.08.014>

- Emami S, Alikhani HA, Pourbabaei AA, Etesami H, Sarmadian F, Motessharezadeh B (2019) Effect of rhizospheric and endophytic bacteria with multiple plant growth promoting traits on wheat growth. *Environ Sci Pollut Res* 26:19804-19813. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05284-x>
- FAOSTAT (2023) <https://www.fao.org/faostat/en/#search/tomato>, Accessed date: 9 July 2023.
- Gaines TP, Mitchell GA (1979) Chemical methods for soil and plant analysis. In book *Agronomy Handbook*, No.1 pp.105. University of Georgia, Coastal Plain Experimental Station.
- Gherghel A, Teodosiu C, De Gisi S (2019) A review on wastewater sludge valorisation and its challenges in the context of circular economy. *J Clean Prod* 228:244-263. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.240>
- Gómez-Godínez LJ, Martínez-Romero E, Banuelos J, Arteaga-Garibay RI (2021) Tools and challenges to exploit microbial communities in agriculture. *Curr Res Microb Sci* 2:100062. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100062>
- Gupta R, Anshu Noureldeen A, Darwish H (2021) Rhizosphere mediated growth enhancement using phosphate solubilizing rhizobacteria and their tri-calcium phosphate solubilization activity under pot culture assays in Rice (*Oryza sativa*). *Saudi J Biol Sci* 28:3692-3700. <https://doi.org/10.1016%2Fj.sjbs.2021.05.052>
- Hakkou R, Benzaazoua M, Bussière B (2016) Valorization of phosphate waste rocks and sludge from the Moroccan phosphate mines: Challenges and perspectives. *Procedia Eng* 138:110-118. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.02.068>
- Kong Z, Liu H (2022) Modification of rhizosphere microbial communities: A possible mechanism of plant growth promoting rhizobacteria enhancing plant growth and fitness. *Front Plant Sci* 13:920813. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.920813>
- Li HP, Han QQ, Liu QM, Gan YN, Rensing C, Rivera WL, Zhao Q, Zhang JL (2023) Roles of phosphate-solubilizing bacteria in mediating soil legacy phosphorus availability. *Microbiol Res* 272:127375. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127375>
- Meng F, Li Y, Li S, Chen H, Shao Z, Jian Y, Mao Y, Liu, L, Wang Q (2022) Carotenoid biofortification in tomato products along whole agro-food chain from field to fork. *Trends Food Sci Technol* 124:296-308. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.023>
- Mitra D, Andelković S, Panneerselvam P, Senapati A, Vasić T, Ganeshamurthy AN, Chauhan M, Uniyal N, Mahakur B, Radha TK (2020) Phosphate-solubilizing microbes and biocontrol agent for plant nutrition and protection: current perspective. *Commun Soil Sci Plant Anal* 51:645-657. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729379>
- Olsen SR, Cole CV, Watanabe FS (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular No. 939, US Government Printing Office, Washington DC.
- Pandey PK, Yadav SK, Singh A, Sarma BK, Mishra A, Singh HB (2012) Cross-species alleviation of biotic and abiotic stresses by the endophyte *Pseudomonas aeruginosa* PW09. *J Phytopathol* 160:532-539. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2012.01941.x>
- Rawat P, Das S, Shankhdhar D, Shankhdhar S (2021) Phosphate-solubilizing microorganisms: Mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *J Soil Sci Plant Nutr* 21:49-68. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.02.068>
- Rfaki A, Zennouhi O, Aliyat FZ, Nassiri L, Ibijbijen J (2020) Isolation, selection and characterization of root-associated rock phosphate solubilizing bacteria in Moroccan wheat (*Triticum aestivum* L.). *Geomicrobiol J* 37:230-241. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1694106>
- Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA (2013) Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus* 2:587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Siedliska A, Baranowski P, Pastuszka-Woźniak J, Zubik M, Krzyszczyk J (2021). Identification of plant leaf phosphorus content at different growth stages based on hyperspectral reflectance. *BMC Plant Biol* 21:1-17. <https://doi.org/10.1186/S12870-020-02807-4>
- Vance CP, Uhde-Stone C, Allan DL (2003) Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol* 157:423-447. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x>.
- Wei Y, Zhao Y, Shi M, Cao Z, Lu Q, Yang T, Fan Y, Wei Z (2018) Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresour Technol* 247:190-199. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.092>

III. Synthèse

Les analyses des paramètres physico-chimiques du sol utilisé dans cette étude, ont révélé des teneurs assez faibles en phosphore assimilable, en phosphore totale, en potassium, en calcium et en sodium. Ces résultats confirment la déficience en phosphore du sol, requise pour tester l'effet de son amendement par les boues en présence des consortiums bactériens (Benbrik et al., 2020b).

Nos résultats montrent que l'application des boues de lavage des phosphates au niveau du sol améliore la composition minérale du sol surtout les teneurs en phosphores assimilable et totale. L'inoculation avec les différentes combinaisons de bactéries PGPB au niveau des sols amendés par les boues phosphatées permettent une mobilisation plus efficace et plus durable du phosphore à partir des boues, comparée aux conditions des sols non inoculés. Ces résultats s'accordent avec les travaux réalisés par (Benbrik et al., 2020b) qui ont noté l'effet bénéfique de l'apport de 5% des boues de lavage des phosphates associés au consortiums bactériens sur la biodisponibilité du phosphore et la croissance des plantes de tomates. Les travaux de (Benbrik et al., 2020b) ont montré une nette amélioration de la croissance du maïs suite à un amendement de sol avec 40% des boues de lavage de phosphate en association avec des consortiums bactériens. De même, plusieurs études ont montré que l'association des boues de lavage de phosphate avec les mycorhizes ou la combinaison mycorhize-PGPB aboutit à une efficacité optimale de solubilisation du phosphore et de la promotion de la croissance des plantes de tomate (El Gabardi et al., 2020; El Maaloum et al., 2020a).

L'inoculation avec les différents consortiums bactériens entraîne une augmentation significative du phosphore assimilable dans le sol enrichi avec des boues de lavage de phosphate par rapport au sol non amendé et non inoculé. Ces résultats s'accordent avec ceux obtenus par (Supanjani et al., 2006; Benbrik et al., 2020b). Les travaux de (Meena et al., 2016) ont également montré la capacité des PGPR à améliorer la disponibilité du phosphore au niveau du sol.

La solubilisation des complexes résiduels de phosphates observée pourrait être attribuée à l'acidification du sol et à la libération d'acides organiques par les bactéries présentes dans les différents consortiums (Zaidi et al., 2009). Plusieurs espèces bactériennes ont été caractérisé comme PGPB capables de solubiliser le phosphate à partir des boues phosphatées tel que *Sphingobacterium suaedae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas sp*, *Serratia sp*, *Pantoea sp* et *Enterobacter sp* (Aliyat et al., 2020; Benbrik et al., 2020a; Aliyat et al., 2022b). La solubilisation du phosphore inorganique dépend de la capacité des bactéries à produire les acides organiques et à sécréter les protons H⁺, ce qui libère le phosphore sous une forme

assimilable dans le sol par diminution du pH de la rhizosphère et chélation des cations (Al^+ , Fe^{3+} , Ca^{2+}) (Zaidi et al., 2009). D'autres études ont signalé l'existence d'autres mécanismes assurant la promotion de la croissance des plantes, par les PGPR, comme la production de l'auxine (AIA), sidérophore, cyanure d'hydrogène (HCN) (Glick, 2012a; Niranjana and Hariprasad, 2014; Rijavec and Lapanje, 2016).

En outre, l'amendement du sol par PS5% en combinaison avec le consortium bactérien combiné (C3) a révélé en plus d'une meilleure biodisponibilité du phosphore, une amélioration de son absorption avec celle du potassium. De même, une nette amélioration des paramètres de croissance (la hauteur, le poids frais et sec de la partie aérienne et racinaire et la floraison) est constatée en comparaison avec les plantes témoins. Nos résultats montrent que l'amélioration des paramètres de croissance des plantes par cette association est en partie liée à la solubilisation du phosphore minéral des boues, à sa mise en disponibilité et sa meilleure absorption par les plantes de tomates. Le potentiel promoteur de la croissance des plantes qui caractérise les PGPR devrait également participer à l'amélioration des paramètres de croissance constatée. En effet, Les PGPR jouent un rôle important dans la croissance des plantes grâce à leur potentiel de production des hormones de croissance comme les auxines, les cytokinines et les gibbérellines qui favorisent la division et la croissance cellulaires, le développement des racines ainsi que la floraison (Olanrewaju et al., 2017; Aini et al., 2019a). De même, le potentiel des PGPB à promouvoir la croissance des plantes est également lié à leur capacité de production des sidérophores, de l'acide indolacétique et du cyanure d'hydrogène qui stimulent le développement et l'augmentation de leur masses racinaires et aériennes (Glick, 2012a; Rijavec and Lapanje, 2016).

Le mélange C3 des souches des bactéries PGPB contenus dans les 2 consortiums utilisés (C1 et C2) a permis d'avoir un résultat bénéfique additif sur la croissance des plantes grâce à l'effet synergique et leur biocompatibilité. Certains auteurs ont signalé que l'utilisation des consortiums bactériens est plus efficace que l'utilisation des souches bactériennes indépendantes, de par la synergie d'actions des différentes souches qui y sont présentes. Chaque souche complète les limites de l'autre, ce qui permet au consortium d'assurer diverses fonctions qu'une seule bactérie peut ne pas réaliser (Akhtar et al., 2013; Gómez-Godínez et al., 2019).

Ce travail préliminaire a mis en évidence la capacité de l'amendement du sol par l'association fertilisante boues de lavage des phosphates et le consortium des PGPB à solubiliser le phosphore résiduel et améliorer son assimilation par les plantes. Cette bioformulation possède également un potentiel d'amélioration des paramètres de croissance et de floraison des plantes

de tomates. L'enrichissement du sol par une concentration de 5% en boues de lavage associée au consortium C3 montre les performances optimales en termes des différents paramètres suivis. Une étude complémentaire serait nécessaire pour une meilleure optimisation de cette bioformulation et l'élucidation des mécanismes impliqués dans les effets positifs observés.

PARTIE III : DISCUSSION GENERALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVES

I. DISCUSSION GENERALE

L'industrie minière au Maroc engendre des quantités énormes de déchets miniers tels que les roches résiduelles, les résidus de concentrateur et les boues de laveries de phosphates qui restent accumulées et non valorisées (Daafi et al., 2014; Hakkou et al., 2009). D'un point de vue économique et environnemental, l'un des grands problèmes actuels est le traitement des volumes importants de déchets produits continuellement par les activités industrielles (Ouakibi et al., 2013). L'exploitation et la valorisation des boues de laveries des phosphates pourront jouer un rôle important dans l'économie du pays. L'une des initiatives visant à valoriser ces boues est leur utilisation dans le domaine agricole sous forme de phospho-compost afin de contribuer à résoudre les problèmes de carences en phosphore des sols et d'améliorer la production agricole. Le compostage en présence de résidus organiques, facilement biodégradables, peut entraîner l'existence de nombreux types de bactéries et de champignons capables de produire un grand nombre d'acides organiques et de substances humiques butyrique qui ont un effet physio-agronomique direct sur les plantes (Stevenson, 1967 ; Singh et Amberger, 1991; Hameeda et al., 2008; Mackey et Paytan 2009). Le phospho-compost pourra être amélioré en utilisant les microorganismes solubilisant le phosphate. Les bactéries et les champignons mycorhiziens à arbuscules solubilisant le phosphate, fréquents dans les sols, probablement au niveau des boues des phosphates, et dans les rhizosphères des espèces végétales, peuvent être utilisés dans la correction de cette carence en phosphore (Singh et Kapoor, 1999). En effet, ces microorganismes, meilleurs candidats écologiques pour la nutrition des plantes par le phosphore (Sharma et al., 2007), possèdent des aptitudes de solubilisation du phosphate et la capacité de convertir les composés phosphatés insolubles présent dans le sol à des formes solubles utilisable par les plantes (Pradhan et Sukla, 2006). Les boues de lavage des phosphates font partie des coproduits de l'industrie minière de phosphate dont la gestion de stockage pose un véritable problème. Ils demeurent inexploités malgré leurs teneurs non négligeables des phosphates complexes résiduels, qui pourraient constituer à moindre coût une source importante de phosphore pour les sols appauvris en ce minéral, qui fait partie des éléments nutritifs clés pour la croissance des plantes. Cette problématique suscite de plus en plus l'intérêt de la communauté scientifique, à la recherche de moyens biotechnologiques

capables de rendre accessible aux plantes le phosphore résiduel des boues phosphatées (Benbrik et al., 2020 a ; EL Gabardi et al., 2020).

Les recherches présentées dans cette thèse ont pour objectif d'explorer la fraction microbienne présente dans les boues de lavage de phosphate, en particulier leur rôle dans la solubilisation de phosphate, la promotion de la croissance des plantes, la résistance aux stress abiotiques. La première partie de l'étude s'est concentrée sur l'isolement et la caractérisation de bactéries solubilisatrices de phosphate à partir des déchets miniers de phosphate et de la rhizosphère des oliviers poussant sur les boues de phosphate de la région de Khouribga au Maroc. Les activités biologiques potentiellement promotrices de la croissance des plantes ont été étudiées *in vitro*, ainsi que leur effet sur la promotion de la croissance des plants de haricot vert. Dans la deuxième partie, nous avons utilisé une association fertilisante composée des boues solides de lavage des phosphates et de consortiums de PSB isolés pour amender le sol appauvri, mettant en évidence sa capacité à améliorer la productivité et le rendement de la tomate.

Au cours de cette étude, une collection de 87 isolats bactériens a été constituée, dont 56 provenant de la rhizosphère de l'olivier et 31 isolés à partir de la boue phosphatée. Les résultats de l'analyse génétique de ces bactéries après l'élimination des souches pathogènes, ont révélé une diversité de genres et d'espèces. Ces bactéries ont été classées en trois phylums pour le sol rhizosphérique : *Firmicutes*, *Proteobacteria* et *Actinobacteria*, et en deux phylums pour les isolats de la boue phosphatée : *Firmicutes* et *Actinobacteria*. Plusieurs études antérieures ont également signalé la présence de ces trois phylums dans des échantillons similaires (Bruneel et al., 2017; Lahsini et al., 2022; Oubohssaine et al., 2022).). L'analyse des séquences d'ADNr 16S a identifié trois genres bactériens dominants : *Bacillus*, *Streptomyces* et *Pseudarthrobacter*, avec prédominance du genre *Bacillus*, qui représente plus de 60 % de la collection, corroborant ainsi les conclusions de l'étude menée par Lahsini et al. (2022) dans des échantillons de sol de la rhizosphère de l'olivier.

Les boues de lavage de phosphate sont soumises à des conditions climatiques extrêmement difficiles. Cependant, certaines plantes pionnières, qu'elles soient herbacées ou arbustives, réussissent à s'établir dans cet environnement hostile. Ces plantes adaptées constituent une ressource prometteuse de microorganismes capables de favoriser la croissance des plantes. Les microorganismes indigènes de ces sols représentent une ressource naturelle cruciale pour le fonctionnement de ces écosystèmes. Ils jouent un rôle essentiel dans la résistance aux stress environnementaux, notamment grâce à leurs activités bénéfiques qui favorisent la croissance des plantes (activités PGP). En effet, ces bactéries peuvent faciliter l'établissement et la

croissance des plantes sur ces sols en leur fournissant des éléments minéraux essentiels et en les aidant à surmonter les effets du stress biotique et abiotique. Il en va de même pour les isolats bactériens obtenus à partir des sols miniers de la région de Khouribga, qui ont présenté une variété d'activités PGP intéressantes, telles que la solubilisation du phosphate inorganique, la production de sidérophores ou d'auxines, ainsi que des activités liées au contrôle des stress biotiques et abiotiques.

Les résultats concernant la tolérance des souches bactériennes aux stress abiotiques indiquent que plus de 94% des souches étaient thermotolérantes (45 à 55 °C) et halotolérants (4 % de NaCl). De plus, une tolérance élevée à l'acidité et à l'alcalinité a été observée, avec 38% des souches pouvant croître sous des pH allant de 4,5 à 9,0. Cette tolérance élevée peut être attribuée à l'environnement écologique caractérisée par un climat semi-aride à aride dans lequel les bactéries ont été isolées. Souvent, les bactéries présentes dans les sols salins et les régions arides doivent développer des niveaux élevés de tolérance au stress lié au sel et à la température, comme cela a été observé dans d'autres études (Lahsini et al., 2022; Shrivastava and Kumar, 2015). Cette tolérance accrue aux stress environnementaux élevés pourrait être attribuée à la formation d'endospores résistantes, ainsi qu'à la synthèse de gènes de tolérance aux stress abiotiques tels que les protéines de choc thermique et certains solutés compatibles (Bruno et al., 2020; Hashem et al., 2019). Des recherches antérieures ont démontré que l'application de BSP tolérantes aux stress abiotiques peut s'avérer un moyen efficace et économique d'améliorer la disponibilité en phosphore, de surmonter les déficits en phosphore dans des environnements contraignants et de remédier à la pollution des sols (Teng et al., 2019; Xu et al., 2019a; Rawat et al., 2020; A. A. Mahmud et al., 2021). Ces bactéries ont la capacité de produire divers composés bioactifs tels que des exopolysaccharides, des acides organiques, des phytohormones et des solutés compatibles, contribuant ainsi à améliorer la santé globale des plantes. (Park et al., 2017 ; Leontidou et al., 2020 ; Dey et al., 2021; Kang et al., 2021).

Les résultats de notre étude ont mis en évidence une variation dans le nombre d'isolats présentant des caractéristiques PGP entre les sols nus de la boue phosphatée et les sols rhizosphériques de l'olivier. Dans l'ensemble, les sols de boue phosphatée ont montré une plus grande abondance de bactéries productrices de sidérophore et d'AIA par rapport à la rhizosphère de l'olivier. En revanche, les rhizobactéries associées aux racines d'*Olea europaea* ont montré une meilleure capacité de solubilisation du phosphate inorganique. De plus, toutes les souches sélectionnées ont démontré une aptitude à solubiliser la roche phosphatée, avec des concentrations de phosphate soluble allant de 3,25 µg/mL à 227 µg/mL. Les souches les plus

efficaces dans la solubilisation du P étaient *Pseudomonas moraviensis* HFBPR01, *Bacillus aryabhattai* HFBPR04, *Bacillus paramycoïdes* HFBPR39, *Bacillus cereus* HFBPR40, *Streptomyces* sp. HFBP30, *Pseudarthrobacter* sp. HFBP25 et *Pseudarthrobacter* sp. HFBP29, avec des concentrations de phosphate soluble dépassant les 100 µg/mL. Ces observations concordent avec les résultats de plusieurs études antérieures qui ont souligné l'efficacité de certaines bactéries des genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* et *Pseudarthrobacter* dans la solubilisation du phosphate dans le sol (Kumari et al., 2018; Oubohssaine et al., 2022; Rezakhani et al., 2019). La solubilisation du phosphate s'accompagne généralement d'une baisse du pH, suggérant que ces bactéries solubilisent le phosphate par le biais de la production d'acides organiques (Alori et al., 2017; Billah et al., 2019). Cependant, certaines souches, notamment *Agromyces albus* HFBPR54 et *Agromyces iriomotensis* HFBPR48, ont démontré une capacité de solubilisation du RP dans des conditions de pH neutre ou légèrement alcalin, indiquant l'existence d'autres mécanismes de solubilisation du P. Des études antérieures ont signalé que la sécrétion d'enzymes spéciales telles que la phytase et la phosphatase par les bactéries peut contribuer à la minéralisation du phosphate organique (Aarab et al., 2013; Manzoor et al., 2017; Dwivedi, 2020; Khan et al., 2022).

En outre, outre leurs propriétés qui favorisent directement la croissance des plantes, certaines PGPR peuvent influencer la croissance des plantes de manière indirecte en agissant comme agents de biocontrôle (Chenniappan et al., 2019). Plusieurs études ont signalé que de nombreuses souches bactériennes ont un potentiel de biocontrôle pour *Fusarium*, telles que *Paenibacillus polymyxa* WR-2, *Bacillus amyloliquefaciens* SQR-9 (Raza et al., 2015, 2016), *Bacillus amyloliquefaciens* JDF35, *Alcaligenes faecalis* ACBC1, et *Pantoea agglomerans* ACBP1 (Zhao et al., 2018; Lahlali et al., 2020) et *Bacillus subtilis* IBFCBF-4 (Zhu et al., 2020). Dans notre étude, les souches HFBP01, HFBP15, HFBP26, HFBPR01, HFBPR04 et HFBPR40 ont montré différents taux d'inhibition de la croissance de *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* et *Verticillium dahliae* in vitro, ce qui peut être lié aux espèces et aux mécanismes d'action impliqués. Parmi les principaux mécanismes d'action bactérienne impliqués dans l'antagonisme, on peut citer la production de Cyanure d'hydrogène (HCN), l'antibiose par sécrétion de métabolites antifongiques et/ou de composés organiques volatils, ainsi que le parasitisme par sécrétion d'enzymes lytiques (Lopes et al., 2015; Jadhav et al., 2017). Les enzymes lytiques jouent un rôle crucial dans la dégradation de la paroi cellulaire, entravant ainsi la croissance hyphale des pathogènes fongiques et autres micro-organismes du sol. Nous avons évalué les activités de production d'HCN, de cellulase et de chitinase pour toutes les souches de notre collection. Bien que la production d'HCN ait été observée dans la majorité des souches

(plus de 79 % de la collection), seules quelques souches (30 % produisent de la cellulase et 19% produisent de la chitinase) ont montré une production d'enzymes lytiques, principalement parmi les bactéries de la rhizosphère. Cette diversité d'activité enzymatique peut conférer à ces souches un avantage compétitif pour leur survie au sein des populations microbiennes du sol, tout en leur permettant d'exercer un effet protecteur contre les pathogènes des plantes auxquelles elles sont associées. Les bactéries peuvent être une source majeure d'enzymes extracellulaires intéressantes, telles que la cellulase, la chitinase et la protéase (Ortiz and Sansinenea, 2022). Plusieurs études ont rapporté que de nombreuses espèces et souches appartenant aux genres identifiés dans notre étude présentent au moins une activité de promotion de la croissance des plantes (PGP) et une tolérance à divers stress abiotiques (Gupta and Pandey, 2019; Qarni et al., 2021; Lahsini et al., 2022; Mghazli et al., 2022; Qarni et al., 2021; Turan et al., 2006; Park et al., 2017).

En total, six souches bactériennes ont été sélectionnées en fonction de leurs performances *in vitro* pour évaluer leur capacité à favoriser la croissance des plantes, que ce soit individuellement ou en combinaison pour obtenir un effet synergique. Parmi ces souches, trois ont été isolées de la rhizosphère de l'olivier (*Pseudomonas moraviensis* HFBPR01, *Bacillus aryabhattai* HFBPR04 et *Bacillus cereus* HFBPR40), tandis que trois autres provenaient de la boue phosphatée (*Brevibacterium frigoritolerans* HFBP01, *Bacillus vallismortis* HFBP15 et *Streptomyces venezuelae* HFBP26). Des tests ont été conduits pour évaluer leurs performances en ce qui concerne la solubilisation de la boue phosphatée, leur activité de lutte biologique contre les agents pathogènes, suivis d'une expérience d'inoculation en pots afin d'évaluer leur influence sur la promotion de la croissance et le développement des plants de haricot (*Phaseolus vulgaris*). Les résultats ont montré que ces souches bactériennes ont présenté de bonnes performances en termes de solubilisation de la boue phosphatée et d'activité de lutte biologique, comparables ou supérieures à celles rapportées dans d'autres études (Turan et al., 2006; Park et al., 2017; El-Sersawy et al., 2021; Qarni et al., 2021).

Concernant l'inoculation des plants de haricot avec les souches provenant de la boue phosphatée, l'utilisation de la souche HFBP26 seule a entraîné une augmentation significative de la biomasse sèche des pousses de *P. vulgaris*, soit une augmentation d'environ 73,6 %. L'utilisation du consortium HFBP01-HFBP15-HFBP26 a conduit à une augmentation de 70,6 %. Une augmentation particulièrement marquée de la biomasse sèche des racines a été observée lorsque les souches HFBP01 et HFBP15 ont été utilisées conjointement, entraînant une augmentation d'environ cinq fois par rapport au témoin. Les résultats de l'inoculation de haricot

commun avec les bactéries provenant de la rhizosphère de l'olivier ont montré que l'inoculation par le consortium (la combinaison des trois souches) a donné de meilleurs résultats par rapport à l'inoculation individuelle et au témoin. Cette inoculation a entraîné une amélioration significative de la hauteur des pousses, de la longueur des racines et de la biomasse sèche. L'efficacité du consortium bactérien peut être attribuée à l'augmentation du nombre de cellules bactériennes et à l'effet synergique résultant de la combinaison des souches, qui présentent plusieurs caractéristiques bénéfiques pour la croissance des plantes (PGP) et mettent en œuvre divers mécanismes.

En conclusion, cette première expérience d'inoculation a démontré l'effet positif de l'inoculation par les souches sélectionnées sur la croissance et le développement des plantes de *P. vulgaris* dans des conditions contrôlées. Les résultats ont mis en évidence le potentiel phytobénéfique de certaines souches testées, en particulier HFBP15, HFBP26 et HFBPR01, ainsi que de leur combinaison en consortium. Ces souches ont montré des effets significatifs sur la biomasse sèche, la hauteur des pousses et la longueur des racines, suggérant leur utilité potentielle dans l'amélioration des cultures de haricots.

Dans la deuxième expérience d'inoculation, des plants de tomate ont été cultivés dans un sol pauvre (S) mélangé avec des boues solides de lavage des phosphates (BP) à des concentrations de 1% et 5%, puis inoculés avec trois consortiums différents : C1, C2 et C3 (C1+C2). L'objectif était d'évaluer les capacités de ces consortiums à solubiliser le phosphate à partir des boues de phosphate ajoutées et à promouvoir la croissance et le développement des plants de tomate. Les résultats obtenus indiquent que l'enrichissement de sol par les boues de lavage des phosphates améliore sa composition minérale, en particulier les teneurs en phosphore assimilable et total. L'inoculation avec différents consortiums de bactéries PSB dans les sols amendés par les boues phosphatées permet une mobilisation plus efficace et durable du phosphore à partir des boues, par rapport aux sols non inoculés. Ces résultats corroborent les observations de Benbrik et al. (2020b), qui ont également constaté les effets positifs de l'application de 5% de boues de lavage de phosphate associées à des consortiums bactériens sur la biodisponibilité du phosphore et la croissance des plants de tomate. Les bactéries utilisées ont démontré leur capacité à solubiliser le phosphate contenu dans les boues phosphatées, ce qui est en accord avec d'autres études montrant que l'association des boues de lavage de phosphate avec les mycorhizes ou la combinaison mycorhize-PGPR favorise la solubilisation du phosphore et la promotion de la croissance des plantes de tomate (El Maaloum et al., 2020a; El Gabardi et al., 2021a). L'enrichissement des sols avec la combinaison de boues

de lavage et de différents consortiums bactériens augmente significativement la disponibilité du phosphore dans le sol par rapport aux sols non inoculés, ce qui concorde avec les résultats obtenus par Supanjani et al. (2006) ainsi que Benbrik et al. (2020b, 2021a). De plus, l'amendement du sol avec 5% de boues de lavage en combinaison avec le consortium bactérien C3 conduit à une meilleure biodisponibilité du phosphore et à une amélioration de son absorption, ainsi que du potassium. Une nette amélioration des paramètres de croissance tels que la hauteur, le poids frais et sec de la partie aérienne et racinaire, ainsi que la floraison, a également été observée par rapport aux plantes témoins.

Nos résultats indiquent que l'amélioration des paramètres de croissance des plantes par cette association est partiellement due à la solubilisation du phosphore minéral des boues, à sa mise à disposition accrue et à son absorption améliorée par les plantes de tomate. Le potentiel de promotion de la croissance des plantes, caractéristique des PGPB, contribue également à cette amélioration. En effet, les PGPB jouent un rôle crucial dans la croissance des plantes en produisant des hormones de croissance telles que les auxines, les cytokinines et les gibbérellines, qui favorisent la division cellulaire, le développement des racines, la floraison, ainsi que la croissance en général (Olanrewaju et al., 2017; Aini et al., 2019b). De plus, le potentiel des PGPR à promouvoir la croissance des plantes est lié à leur capacité de produire des sidérophores, de l'acide indolacétique et du cyanure d'hydrogène, qui stimulent le développement des racines et de la masse aérienne des plantes (Glick, 2012b; Rijavec and Lapanje, 2016).

Le mélange C3 (C1+C2) a permis d'avoir un effet bénéfique additif sur la croissance des plantes grâce à l'effet synergique et à leur biocompatibilité. Certains auteurs ont noté que l'utilisation des consortiums bactériens est plus efficace que l'utilisation des souches bactériennes individuelles en raison de la synergie d'actions des différentes souches. Chaque souche comble les lacunes de l'autre, permettant ainsi au consortium d'accomplir différentes fonctions qu'une seule bactérie pourrait ne pas être en mesure d'effectuer (Akhtar et al., 2013; Gómez-Godínez et al., 2019).

Ce travail démontre que l'amendement du sol avec une combinaison de boues de lavage des phosphates et d'un consortium PSB favorise la solubilisation et l'assimilation du phosphore résiduel par les plantes. Cette bioformulation présente un potentiel d'amélioration de la croissance et de la floraison des plants de tomates, ainsi que l'induction de leurs métabolismes phénoliques. L'enrichissement du sol avec une concentration de 5% de boues de lavage associée

au consortium 3 montre les meilleures performances en termes des différents paramètres étudiés.

Des études supplémentaires sont nécessaires pour optimiser cette bioformulation et comprendre les mécanismes sous-jacents des effets positifs observés :

- ✓ Analyse de la composition chimique : Une première étape pourrait consister à l'identification et la quantification des composants actifs, tels que les acides organiques, les enzymes ou les métabolites, pour identifier les métabolites spécifiques qui favorisent la croissance des plantes.
- ✓ Étude des mécanismes de solubilisation : Pour comprendre comment cette bioformulation solubilise la boue phosphatée, des expériences en laboratoire pourraient être menées pour examiner les interactions entre les bactéries de la bioformulation et les phosphates présents dans la boue.
- ✓ Évaluation de l'activité microbiologique : Pour évaluer l'activité de lutte biologique contre les agents pathogènes, des études de compétition entre les bactéries de la bioformulation et les pathogènes spécifiques pourraient être menées sous serre.
- ✓ Des essais sur le terrain pourraient être réalisés pour évaluer l'efficacité de la bioformulation dans des conditions de culture au champ. Par exemple, des tests sur le terrain pourraient être effectués en cultivant des les plantes modèles avec et sans l'application de la bioformulation, en mesurant la croissance, le rendement et la résistance aux maladies.

II. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les résultats de cette thèse fournissent des connaissances précieuses sur les communautés microbiennes présentes dans les boues de lavage de phosphate et leur rôle dans la solubilisation du phosphate et la promotion de la croissance et le développement des plantes.

L'analyse des échantillons de boues de lavage de phosphate et de sols prélevés de la rhizosphère des plantes d'olivier cultivées sur ces boues a révélé une diversité de genres et d'espèces bactériennes, avec une prédominance des genres *Bacillus*, *Streptomyces* et *Pseudarthrobacter*. Ces bactéries ont montré des capacités intéressantes, telles que la solubilisation du phosphate inorganique, la production de sidérophores et d'auxines, ainsi que des activités liées au contrôle des stress biotiques et abiotiques. De plus, elles ont montré une tolérance élevée aux conditions environnementales stressantes, telles que les températures élevées, la salinité et les variations de pH, ce qui suggère leur adaptation à l'environnement spécifique des boues de phosphate.

Des différences importantes au niveau des activités PGP ont également été observées entre les bactéries présentes dans les boues de phosphate et celles présentes dans la rhizosphère des oliviers, avec une meilleure capacité de solubilisation du phosphate inorganique chez les bactéries proviennent de la rhizosphère de l'olivier.

Certaines souches bactériennes ont également montré des activités de lutte biologique contre les agents pathogènes tels que *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* et *Verticillium dahliae*, mettant en évidence leur potentiel en tant qu'agents de biocontrôle pour la protection des plantes contre les maladies d'origine fongique.

Les souches bactériennes utilisées dans l'inoculation ont montré un effet positif sur la croissance et le développement des plantes de haricot et de tomate. L'utilisation de consortiums bactériens a permis de bénéficier des interactions synergiques entre les différentes souches, conduisant à des effets bénéfiques plus prononcés par rapport aux inoculations simples et aux contrôles. Cette synergie s'est traduite par une augmentation significative de la hauteur, du poids sec de la partie aérienne et racinaire, ainsi que le nombre de feuilles.

De plus, les consortiums bactériens ont montré une meilleure absorption des nutriments, en particulier le phosphore et le potassium par les plantes de la tomate inoculées. Cela est cohérent avec les capacités de solubilisation du phosphate observées chez les souches bactériennes sélectionnées. Cette amélioration de l'absorption des nutriments a également contribué à une

meilleure croissance des plantes, ce qui s'est traduit par une augmentation de la biomasse totale des plantes.

L'enrichissement des sols avec les boues de lavage des phosphates améliore sa composition minérale, en particulier les teneurs en phosphore assimilable et totale et la teneur en potassium.

L'inoculation avec les différentes combinaisons de bactéries PSB dans les sols amendés par les boues phosphatées permet une mobilisation plus efficace et durable du phosphore à partir des boues, par rapport aux sols non inoculés.

Ces résultats soulignent l'importance de la sélection appropriée des souches bactériennes et de leur compatibilité pour maximiser les effets bénéfiques de l'inoculum.

Le consortium bactérien C3 (C1+C2) a conduit à une amélioration significative de la biodisponibilité du phosphore, de son absorption, ainsi que de celle du potassium, conduisant à de meilleurs rendements de croissance des plantes de la tomate dans un sol enrichi avec 5 % de boue phosphatée, à en juger par la croissance en longueur des plantes et le nombre de feuilles. Les paramètres qualitatifs, poids de la matière fraîche et sèche des parties aérienne et racinaire les plus élevés ont été enregistrés chez les plantes qui se développent également sur ce substrat.

Ces découvertes ouvrent des perspectives prometteuses pour utiliser ces souches bactériennes comme des agents promouvant la croissance et le développement des plantes et assurant la durabilité agricole. En améliorant la capacité du phosphocompost et rendre le phosphate contenu dans la boue de phosphate assimilable par les plantes, ces bactéries peuvent contribuer à réduire l'utilisation d'engrais et de pesticides chimiques, tout en stimulant la productivité agricole et en préservant la durabilité environnementale.

Il serait donc, intéressant de tester les consortia élaborés au niveau du phospho-compost, pour vérifier l'efficacité de ces mélanges dans l'amélioration de la disponibilité du phosphore pour les plantes. Il est également essentiel de tester ces consortia dans des conditions de terrain pour évaluer leur performance réelle et leur impact sur la croissance des cultures.

Il serait également pertinent d'étudier l'effet de ces bactéries sur d'autres cultures, telles que le maïs et l'olivier. Ces études devraient être menées au champ et dans différents environnements agricoles pour évaluer comment les bactéries affectent ces cultures dans des conditions variables.

Il serait aussi judicieux de tester sous serre l'effet des souches sélectionnées sur la protection des cultures contre des champignons phytopathogènes, tels que *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* et *Verticillium dahliae*.

Il serait aussi, intéressant de poursuivre les recherches pour explorer d'autres biotopes au niveau des sites de phosphate pour l'isolement d'autres bactéries performantes.

Par ailleurs, il serait également judicieux d'explorer les interactions entre ces bactéries et d'autres microorganismes, tels que les champignons mycorhiziens et les bactéries fixatrices d'azote. Comprendre ces interactions est important pour développer des stratégies synergiques visant à améliorer les performances des inocula dans la promotion de la croissance des plantes et l'augmentation de la productivité agricole.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aarab, S., Ollero, F.J., Megías, M., Laglaoui, A., Bakkali, M., Arakrak, A., 2013. Isolation and Identification of Potential Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of *Lupinus hirsutus* L. in the north of Morocco. *Moroc. J. Biol.* 10, 7–13.
- Abdel-Rahman, H.M., Salem, A.A., Moustafa, M.M.A., El-Garhy, H.A.S., 2017. A novice *Achromobacter* sp. EMCC1936 strain acts as a plant-growth-promoting agent. *Acta Physiol. Plant.* 39, 61. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2360-6>
- Agboola, O., Babatunde, D.E., Isaac Fayomi, O.S., Sadiku, E.R., Popoola, P., Moropeng, L., Yahaya, A., Mamudu, O.A., 2020. A review on the impact of mining operation: Monitoring, assessment and management. *Results Eng.* 8, 100181. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2020.100181>
- Ahemad, M., 2019. Remediation of metalliferous soils through the heavy metal resistant plant growth promoting bacteria: Paradigms and prospects. *Arab. J. Chem.* 12, 1365–1377. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.020>
- Ahemad, M., Kibret, M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud Univ. - Sci.* 26, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Ahmad, Z., Waraich, E.A., Akhtar, S., Anjum, S., Ahmad, T., Mahboob, W., Hafeez, O.B.A., Tapera, T., Labuschagne, M., Rizwan, M., 2018. Physiological responses of wheat to drought stress and its mitigation approaches. *Acta Physiol. Plant.* 40, 80. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2651-6>
- Ahmed, E., Holmström, S.J.M., 2014. Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microb. Biotechnol.* 7, 196–208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>
- Aini, N., Dwi Yamika, W.S., Pahlevi, R.W., 2019a. The effect of nutrient concentration and inoculation of PGPR and AMF on the yield and fruit quality of hydroponic cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiforme*). *J. Appl. Hortic.* 21.
- Aini, N., Dwi Yamika, W.S., Pahlevi, R.W., 2019b. The effect of nutrient concentration and inoculation of PGPR and AMF on the yield and fruit quality of hydroponic cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiforme*). *J. Appl. Hortic.* 21.
- Ainsworth, E.A., Gillespie, K.M., 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nat. Protoc.* 2, 875–877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>
- Aioub, A.A.A., Elesawy, A.E., Ammar, E.E., 2022. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their role in plant-parasitic nematodes control: a fresh look at an old issue. *J. Plant Dis. Prot.* 129, 1305–1321. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00642-3>
- Ait-Ouakrim, E.H., Chakhchar, A., El Modafar, C., Douira, A., Amir, S., Ibnsouda-Koraichi, S., Belkadi, B., Filali-Maltouf, A., 2023a. Valorization of Moroccan Phosphate Sludge Through Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria and Assessment of Their Growth Promotion Effect on *Phaseolus vulgaris*. *Waste Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02054-2>
- Ait-Ouakrim, E.H., Chakhchar, A., El Modafar, C., Douira, A., Amir, S., Ibnsouda-Koraichi, S., Belkadi, B., Filali-Maltouf, A., 2023b. Assessment of Potent Phosphate-Solubilizing Bacteria Isolated from the Olive Tree Rhizosphere Grown on Phosphate Sludge and Their Effect on Common Bean Growth. *Geomicrobiol. J.* 1–13. <https://doi.org/10.1080/01490451.2023.2218839>
- Akhtar, M.S., Bachaya, A., Laeeq, A., Lodhi, Farooq, A., Ayaz, M.M., Murtaza, S., Arshad, M., Hussain, I., Basit, A., Ahmad, I., Hussain, M., Tasawar, Z., 2013. Minerals Status of Soil, Fodder and in Lactating Nili-Ravi Buffaloes in Irrigated Agro-ecological Zone of Punjab, Pakistan, *Buffalo Bulletin*.

- Akhtar, S.S., Mekureyaw, M.F., Pandey, C., Roitsch, T., 2020. Role of Cytokinins for Interactions of Plants With Microbial Pathogens and Pest Insects. *Front. Plant Sci.* 10.
- Akram, A., Ongena, M., Duby, F., Dommès, J., Thonart, P., 2008. Systemic resistance and lipoxygenase-related defence response induced in tomato by *Pseudomonas putida* strain BTP1. *BMC Plant Biol.* 8, 113. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-113>
- Alemneh, A.A., Zhou, Y., Ryder, M.H., Denton, M.D., 2020. Mechanisms in plant growth-promoting rhizobacteria that enhance legume–rhizobial symbioses. *J. Appl. Microbiol.* 129, 1133–1156. <https://doi.org/10.1111/jam.14754>
- Alijani, Z., Amini, J., Karimi, K., Pertot, I., 2023. Characterization of the Mechanism of Action of *Serratia rubidaea* Mar61-01 against *Botrytis cinerea* in Strawberries. *Plants* 12, 154. <https://doi.org/10.3390/plants12010154>
- Aliyat, F.Z., Maldani, M., El Guilli, M., Nassiri, L., Ibijbijen, J., 2022a. Phosphate-Solubilizing Bacteria Isolated from Phosphate Solid Sludge and Their Ability to Solubilize Three Inorganic Phosphate Forms: Calcium, Iron, and Aluminum Phosphates. *Microorganisms* 10, 980. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050980>
- Aliyat, F.Z., Maldani, M., El Guilli, M., Nassiri, L., Ibijbijen, J., 2022b. Phosphate-Solubilizing Bacteria Isolated from Phosphate Solid Sludge and Their Ability to Solubilize Three Inorganic Phosphate Forms: Calcium, Iron, and Aluminum Phosphates. *Microorganisms* 10, 980. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050980>
- Aliyat, F.Z., Maldani, M., El Guilli, M., Nassiri, L., Ibijbijen, J., 2020. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from phosphate solid sludge of the moroccan phosphate mines. *Open Agric. J.* 14.
- Al-Karablieh, N., Al-Shomali, I., Al-Elaumi, L., Hasan, K., 2022. *Pseudomonas fluorescens* NK4 siderophore promotes plant growth and biocontrol in cucumber. *J. Appl. Microbiol.* 133, 1414–1421. <https://doi.org/10.1111/jam.15645>
- Aloni, R., Aloni, E., Langhans, M., Ullrich, C.I., 2006. Role of Cytokinin and Auxin in Shaping Root Architecture: Regulating Vascular Differentiation, Lateral Root Initiation, Root Apical Dominance and Root Gravitropism. *Ann. Bot.* 97, 883–893. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl027>
- Aloo, B.N., Makumba, B.A., Mbega, E.R., 2020. Plant Growth Promoting Rhizobacterial Biofertilizers for Sustainable Crop Production: The Past, Present, and Future (preprint). *LIFE SCIENCES*. <https://doi.org/10.20944/preprints202009.0650.v1>
- Alori, E.T., Glick, B.R., Babalola, O.O., 2017. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Front. Microbiol.* 8.
- Anli, M., Baslam, M., Tahiri, A., Raklami, A., Symanczik, S., Boutasknit, A., Ait-El-Mokhtar, M., Ben-Laouane, R., Toubali, S., Ait Rahou, Y., Ait Chitt, M., Oufdou, K., Mitsui, T., Hafidi, M., Meddich, A., 2020. Biofertilizers as Strategies to Improve Photosynthetic Apparatus, Growth, and Drought Stress Tolerance in the Date Palm. *Front. Plant Sci.* 11.
- Anli, M., Boutasknit, A., Ait-El-Mokhtar, M., Ben-Laouane, R., Ait-Rahou, Y., Fakhech, A., Meddich, A., 2022. Improving Lettuce Yield and Quality of an Agricultural Soil Using a Combination of Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Phosphate-Green Wastes Compost. *Gesunde Pflanz.* 74, 205–217. <https://doi.org/10.1007/s10343-021-00603-0>
- Arkhipova, T.N., Prinsen, E., Veselov, S.U., Martinenko, E.V., Melentiev, A.I., Kudoyarova, G.R., 2007. Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. *Plant Soil* 292, 305–315. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9233-5>
- Asadi Rahmani, H., Saleh-rastin, N., Khavazi, K., Asgharzadeh, A., Fewer, D., Kiani, S., Lindström, K., 2009. Selection of thermotolerant bradyrhizobial strains for nodulation of soybean (*Glycine max* L.) in semi-arid regions of Iran. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 591–600. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9927-8>
- Asril, M., Lisafitri, Y., Siregar, B.A., 2022. Antagonism Activity of Phosphate Solubilizing Bacteria Against *Ganoderma philippii* and *Fusarium oxysporum* of Acacia Plants. *J. Multidiscip. Appl. Nat. Sci.* 2, 82–89. <https://doi.org/10.47352/jmans.2774-3047.118>

- Atilah, A.E., Souhassou, M., Morjani, Z.E.A.E., 2018. Le cadre législatif de l'exploration et la recherche minière au Maroc entre le Dahir de 1951 et la loi 33-13. *Int. Rev. Econ. Manag. Law Res.* 1.
- Atzorn, R., Crozier, A., Wheeler, C.T., Sandberg, G., 1988. Production of gibberellins and indole-3-acetic acid by *Rhizobium phaseoli* in relation to nodulation of *Phaseolus vulgaris* roots. *Planta* 175, 532–538. <https://doi.org/10.1007/BF00393076>
- Aubé, B., Zinck, J., 1999. Comparison of AMD treatment processes and their impact on sludge characteristics.
- Azaroual, S.E., El Mernissi, N., Zeroual, Y., Bouizgarne, B., Meftah Kadmiri, I., 2022. Effect of *Bacillus* spp. strains on wheat nutrient assimilation and bioformulation by new spray drying approach using natural phosphate powder. *Dry. Technol.* 40, 2630–2644. <https://doi.org/10.1080/07373937.2021.1950170>
- Bargaz, A., Elhaissofi, W., Khourchi, S., Benmrid, B., Borden, K.A., Rchiad, Z., 2021. Benefits of phosphate solubilizing bacteria on belowground crop performance for improved crop acquisition of phosphorus. *Microbiol. Res.* 252, 126842. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126842>
- Bargaz, A., Lyamlouli, K., Chtouki, M., Zeroual, Y., Dhiba, D., 2018. Soil Microbial Resources for Improving Fertilizers Efficiency in an Integrated Plant Nutrient Management System. *Front. Microbiol.* 9.
- Basak, B.B., Biswas, D.R., 2009. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (*Sorghum vulgare* Pers.) grown under two Alfisols. *Plant Soil* 317, 235–255. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9805-z>
- Bashir, Z., Zargar, M., Baba, Z., Mohiddin, F., Peer, F., Mir, S., Najar, G., 2018. Isolation and characterization of phosphorus solubilizing bacteria (PSB) from rhizospheric soils of apple (*Malus Domestica*). *J. Pharmacogn. Phytochem.* 4.
- Batool, S., Iqbal, A., 2019. Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum* (Var. Galaxy 2013). *Saudi J. Biol. Sci.* 26, 1400–1410. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.024>
- Behbahani, Mandana, Behbahani, Meisam, 2009. Investigation of biological behavior of Iranian indigenous phosphate solubilizing bacteria and determinant of colonization ability of potato roots by these bacteria isolation.
- Behera, B.C., Singdevsachan, S.K., Mishra, R.R., Dutta, S.K., Thatoi, H.N., 2014. Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove—A review. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 3, 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.008>
- Bellavita, R., Leone, L., Maione, A., Falcigno, L., D'Auria, G., Merlino, F., Grieco, P., Nastri, F., Galdiero, E., Lombardi, A., Galdiero, S., Falanga, A., 2023. Synthesis of temporin L hydroxamate-based peptides and evaluation of their coordination properties with iron(iii). *Dalton Trans.* <https://doi.org/10.1039/D2DT04099A>
- Ben Farhat, M., Fourati, A., Chouayekh, H., 2013. Coexpression of the Pyrroloquinoline Quinone and Glucose Dehydrogenase Genes from *Serratia marcescens* CTM 50650 Conferred High Mineral Phosphate-Solubilizing Ability to *Escherichia coli*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 170, 1738–1750. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0305-0>
- Ben Zineb, A., Trabelsi, D., Ayachi, I., Barhoumi, F., Aroca, R., Mhamdi, R., 2019. Inoculation with Elite Strains of Phosphate-Solubilizing Bacteria Enhances the Effectiveness of Fertilization with Rock Phosphates. *Geomicrobiol. J.* 1–9. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1658826>
- Benbrik, B., Abed, A., EL ABED, S., el ghachtouli, N., Douira, A., Amir, S., Abdelkarim, F.-M., Iraqui, M., El Modafar, C., Saad, I., 2020a. Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from Moroccan phosphate sludge and their promoting effect of bean growth and development. *Interciencia* 0.
- Benbrik, B., Elabed, A., El Modafar, C., Douira, A., Amir, S., Filali-Maltouf, A., El Abed, S., El Gachtouli, N., Mohammed, I., Koraichi, S.I., 2020b. Reusing phosphate sludge enriched by

- phosphate solubilizing bacteria as biofertilizer: Growth promotion of Zea Mays. Biocatal. Agric. Biotechnol. 30, 101825. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101825>
- Benbrik, B., Elabed, A., Iraqui, M., Ghachtouli, N.E., Douira, A., Amir, S., Filali-Maltouf, A., El Abed, S., El Modafar, C., Ibensouda-Koraichi, S., 2021a. A phospho-compost amendment enriched with PGPR consortium enhancing plants growth in deficient soil. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 52, 1236–1247. <https://doi.org/10.1080/00103624.2021.1879121>
- Benbrik, B., Elabed, A., Iraqui, M., Ghachtouli, N.E., Douira, A., Amir, S., Filali-Maltouf, A., El Abed, S., El Modafar, C., Ibensouda-Koraichi, S., 2021b. A phospho-compost amendment enriched with PGPR consortium enhancing plants growth in deficient soil. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 52, 1236–1247. <https://doi.org/10.1080/00103624.2021.1879121>
- Benzaazoua, M., Bussière, B., Demers, I., Aubertin, M., Fried, É., Blier, A., 2008. Integrated mine tailings management by combining environmental desulphurization and cemented paste backfill: Application to mine Doyon, Quebec, Canada. Miner. Eng., Selected Papers from Processing and Disposal of Minerals Industry Wastes '07, Falmouth, UK, June 2007 21, 330–340. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2007.11.012>
- Benzaazoua, M., Fiset, J.-F., Bussière, B., Villeneuve, M., Plante, B., 2006. Sludge recycling within cemented paste backfill: Study of the mechanical and leachability properties. Miner. Eng., Selected papers from Processing and Disposal of Minerals Industry Wastes '05 19, 420–432. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2005.09.055>
- Bhattacharyya, C., Banerjee, S., Acharya, U., Mitra, A., Mallick, I., Halder, A., Halder, S., Ghosh, Anupama, Ghosh, Abhrajyoti, 2020. Evaluation of plant growth promotion properties and induction of antioxidative defense mechanism by tea rhizobacteria of Darjeeling, India. Sci. Rep. 10, 15536.
- Bhattacharyya, P.N., Jha, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World J. Microbiol. Biotechnol. 28, 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Bhattacharai, B., 2015. Variation of Soil Microbial Population in Different Soil Horizons. J. Microbiol. Exp. 2. <https://doi.org/10.15406/jmen.2015.02.00044>
- Billah, M., Khan, M., Bano, A., Hassan, T.U., Munir, A., Gurmani, A.R., 2019. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. Geomicrobiol. J. 36, 904–916.
- Binenbaum, J., Weinstain, R., Shani, E., 2018. Gibberellin Localization and Transport in Plants. Trends Plant Sci. 23, 410–421. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.02.005>
- Bishnoi, U., 2015. Chapter Four - PGPR Interaction: An Ecofriendly Approach Promoting the Sustainable Agriculture System, in: Bais, H., Sherrier, J. (Eds.), Advances in Botanical Research, Plant Microbe Interactions. Academic Press, pp. 81–113. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2015.09.006>
- Blanco-Vargas, A., Rodríguez-Gacha, L.M., Sánchez-Castro, N., Garzón-Jaramillo, R., Pedroza-Camacho, L.D., Poutou-Piñales, R.A., Rivera-Hoyos, C.M., Díaz-Ariza, L.A., Pedroza-Rodríguez, A.M., 2020. Phosphate-solubilizing Pseudomonas sp., and Serratia sp., co-culture for Allium cepa L. growth promotion. Heliyon 6, e05218. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05218>
- Bolan, N.S., 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. Plant Soil 134, 189–207. <https://doi.org/10.1007/BF00012037>
- Borgi, M.A., Saidi, I., Moula, A., Rhimi, S., Rhimi, M., 2020. The Attractive Serratia plymuthica BMA1 Strain With High Rock Phosphate-Solubilizing Activity and Its Effect on the Growth and Phosphorus Uptake by Vicia faba L. Plants. Geomicrobiol. J. 37, 437–445. <https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1716892>
- Borja, W., El Boudour El Idrissi, H., Mouiya, M., Sbi, S., Daafi, Y., Tamraoui, Y., Alami, J., 2022. Phosphate waste rocks recycling in ceramic wall tiles: Technical performances. Ceram. Int. 48, 30031–30040. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.06.272>

- Boutaleb, F.Z., Boutaleb, N., Bahlaouan, B., Sanaa, D., El Antri, S., 2020. Production of ceramic tiles by combining Moroccan phosphate mine tailings with abundant local clays. *Mediterr. J. Chem.* 10, 568. <https://doi.org/10.13171/mjc10602006221445nb>
- Breś, W., Kleiber, T., Markiewicz, B., Mieloszyk, E., Mieloch, M., 2022. The Effect of NaCl Stress on the Response of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Agronomy* 12, 244. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020244>
- Brito, L.F., López, M.G., Straube, L., Passaglia, L.M.P., Wendisch, V.F., 2020. Inorganic Phosphate Solubilization by Rhizosphere Bacterium *Paenibacillus sonchi*: Gene Expression and Physiological Functions. *Front. Microbiol.* 11.
- Bruins, M.R., Kapil, S., Oehme, F.W., 2000. Microbial Resistance to Metals in the Environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 45, 198–207. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1860>
- Brundrett, M., 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol. Rev.* 79, 473–495. <https://doi.org/10.1017/S1464793103006316>
- Brundrett, M.C., 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol.* 154, 275–304. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00397.x>
- Bruneel, O., Mghazli, N., Hakkou, R., Dahmani, I., Filali Maltouf, A., Sbabou, L., 2017. In-depth characterization of bacterial and archaeal communities present in the abandoned Kettara pyrrhotite mine tailings (Morocco). *Extremophiles* 21, 671–685. <https://doi.org/10.1007/s00792-017-0933-3>
- Bruno, L.B., Karthik, C., Ma, Y., Kadirvelu, K., Freitas, H., Rajkumar, M., 2020. Amelioration of chromium and heat stresses in *Sorghum bicolor* by Cr⁶⁺ reducing-thermotolerant plant growth promoting bacteria. *Chemosphere* 244, 125521. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125521>
- Buch, A., Archana, G., Naresh Kumar, G., 2008. Metabolic channeling of glucose towards gluconate in phosphate-solubilizing *Pseudomonas aeruginosa* P4 under phosphorus deficiency. *Res. Microbiol.* 159, 635–642. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.09.012>
- Campbell, R., Greaves, M.P., 1990. Anatomy and community structure of the rhizosphere. *The rhizosphere.* 11–34.
- Cao, T., Fang, Y., Chen, Y., Kong, X., Yang, J., Alharbi, H., Kuzyakov, Y., Tian, X., 2022. Synergy of saprotrophs with mycorrhiza for litter decomposition and hotspot formation depends on nutrient availability in the rhizosphere. *Geoderma* 410, 115662. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115662>
- Cardoso, I.M., Boddington, C.L., Janssen, B.H., Oenema, O., Kuyper, T.W., 2006. Differential Access to Phosphorus Pools of an Oxisol by Mycorrhizal and Nonmycorrhizal Maize. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 37, 1537–1551. <https://doi.org/10.1080/00103620600710074>
- Caris, C., Hördt, W., Hawkins, H.-J., Römheld, V., George, E., 1998. Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. *Mycorrhiza* 8, 35–39. <https://doi.org/10.1007/s005720050208>
- Carlson, R., Tugizimana, F., Steenkamp, P.A., Dubery, I.A., Hassen, A.I., Labuschagne, N., 2020. Rhizobacteria-induced systemic tolerance against drought stress in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Microbiol. Res.* 232, 126388. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126388>
- Cassán, F., Vanderleyden, J., Spaepen, S., 2014. Physiological and Agronomical Aspects of Phytohormone Production by Model Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Belonging to the Genus *Azospirillum*. *J. Plant Growth Regul.* 33, 440–459. <https://doi.org/10.1007/s00344-013-9362-4>
- Castaldi, S., Petrillo, C., Donadio, G., Piaz, F.D., Cimmino, A., Masi, M., Evidente, A., Isticato, R., 2021. Plant Growth Promotion Function of *Bacillus* sp. Strains Isolated from Salt-Pan Rhizosphere and Their Biocontrol Potential against *Macrophomina phaseolina*. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 3324. <https://doi.org/10.3390/ijms22073324>
- Chakraborty, K., Bhaduri, D., Meena, H.N., Kalariya, K., 2016. External potassium (K⁺) application improves salinity tolerance by promoting Na⁺-exclusion, K⁺-accumulation and

- osmotic adjustment in contrasting peanut cultivars. *Plant Physiol. Biochem.* 103, 143–153. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.039>
- Chandra, P., Wunnava, A., Verma, P., Chandra, A., Sharma, R.K., 2021. Strategies to mitigate the adverse effect of drought stress on crop plants—influences of soil bacteria: A review. *Pedosphere* 31, 496–509. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(20\)60092-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(20)60092-3)
- Chang, C.-H., Yang, S.-S., 2009. Thermo-tolerant phosphate-solubilizing microbes for multi-functional biofertilizer preparation. *Bioresour. Technol.* 100, 1648–1658. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.009>
- Chawngthu, L., Hnamte, R., Lalfakzuala, R., 2020. Isolation and Characterization of Rhizospheric Phosphate Solubilizing Bacteria from Wetland Paddy Field of Mizoram, India. *Geomicrobiol. J.* 37, 366–375. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1709108>
- Cheba, B.A., Abdelzaher, H., 2020. Chetoui Olive Cultivar Rhizosphere: Potential Reservoir for Exoenzymes and Exopolysaccharides Producing Bacteria 14. <https://doi.org/10.22207/JPAM.14.4.32>
- Chen, H., Bullock, D.A., Alonso, J.M., Stepanova, A.N., 2022. To Fight or to Grow: The Balancing Role of Ethylene in Plant Abiotic Stress Responses. *Plants* 11, 33. <https://doi.org/10.3390/plants11010033>
- Chenniappan, C., Narayanasamy, M., Daniel, G.M., Ramaraj, G.B., Ponnusamy, P., Sekar, J., Ramalingam, P.V., 2019. Biocontrol efficiency of native plant growth promoting rhizobacteria against rhizome rot disease of turmeric. *Biol. Control* 129, 55–64.
- Chia, W.Y., Chew, K.W., Le, C.F., Lam, S.S., Chee, C.S.C., Ooi, M.S.L., Show, P.L., 2020. Sustainable utilization of biowaste compost for renewable energy and soil amendments. *Environ. Pollut.* 267, 115662. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115662>
- Chliyah, M., Benkirane, R., 2019. STUDY OF THE EFFECT OF DIFFERENT PHOSPHO-COMPOST DOSES ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF BEAN PLANTS. *Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol.* 20, 710–725.
- Choubert, G., Faure-Muret, A., 1960. Evolution du domaine atlasique marocain depuis les temps paléozoïques. *Mém. Hors-sér.-Société Géologique Fr.* 447–527.
- Choudhary, M., Kumar, R., Datta, A., Nehra, V., Garg, N., 2017. Bioremediation of Heavy Metals by Microbes, in: Arora, S., Singh, A.K., Singh, Y.P. (Eds.), *Bioremediation of Salt Affected Soils: An Indian Perspective*. Springer International Publishing, Cham, pp. 233–255. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48257-6_12
- Chowdhury, F.T., Zaman, N.R., Islam, M.R., Khan, H., 2020. Anti-fungal secondary metabolites and hydrolytic enzymes from rhizospheric bacteria in crop protection: a review. *J. Bangladesh Acad. Sci.* 44, 69–84. <https://doi.org/10.3329/jbas.v44i2.51452>
- Chtouki, M., Bargaz, A., Lyamlouli, K., Oukarroum, A., Zeroual, Y., 2022. A phospho-compost biological-based approach increases phosphate rock agronomic efficiency in faba bean as compared to chemical and physical treatments. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 29, 74012–74023. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21087-z>
- CMJ, 2023. Centre marocain de conjuncture. <https://www.cmconjoncture.com>. Consulté le 16/06/2023).
- Cooper, J., Lombardi, R., Boardman, D., Carliell-Marquet, C., 2011. The future distribution and production of global phosphate rock reserves. *Resour. Conserv. Recycl.* 57, 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.09.009>
- Curá, J.A., Franz, D.R., Filosofía, J.E., Balestrasse, K.B., Burgueño, L.E., 2017. Inoculation with *Azospirillum* sp. and *Herbaspirillum* sp. Bacteria Increases the Tolerance of Maize to Drought Stress. *Microorganisms* 5, 41. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030041>
- Daafi, Y., Chakir, A., Jourani, E., Ouabba, S.M., 2014. Geology and Mine Planning of Phosphate Deposits: Benguerir Deposit Gantour Basin – Morocco. *Procedia Eng.* 83, 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2014.09.014>
- Dahal, B., NandaKafle, G., Perkins, L., Brözel, V.S., 2017. Diversity of free-Living nitrogen fixing Streptomyces in soils of the badlands of South Dakota. *Microbiol. Res.* 195, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.11.004>

- Damo, J.L.C., Ramirez, M.D.A., Agake, S., Pedro, M., Brown, M., Sekimoto, H., Yokoyama, T., Sugihara, S., Okazaki, S., Ohkama-Ohtsu, N., 2022. Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from Paddy Field Soils in Japan. *Microbes Environ.* 37, n/a. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME21085>
- Dede, A., Güven, K., Şahin, N., 2020. Isolation, plant growth-promoting traits, antagonistic effects on clinical and plant pathogenic organisms and identification of actinomycetes from olive rhizosphere. *Microb. Pathog.* 143, 104134. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104134>
- Devi, R., Kaur, T., Kour, D., Yadav, A.N., Suman, A., 2022. Potential applications of mineral solubilizing rhizospheric and nitrogen fixing endophytic bacteria as microbial consortium for the growth promotion of chilli (*Capsicum annum* L.). *Biologia (Bratisl.)* 77, 2933–2943. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01127-2>
- Dey, G., Banerjee, P., Sharma, R.K., Maity, J.P., Etesami, H., Shaw, A.K., Huang, Y.-H., Huang, H.-B., Chen, C.-Y., 2021. Management of Phosphorus in Salinity-Stressed Agriculture for Sustainable Crop Production by Salt-Tolerant Phosphate-Solubilizing Bacteria—A Review. *Agronomy* 11, 1552. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081552>
- Di Capua, F., de Sario, S., Ferraro, A., Petrella, A., Race, M., Pirozzi, F., Fratino, U., Spasiano, D., 2022. Phosphorous removal and recovery from urban wastewater: Current practices and new directions. *Sci. Total Environ.* 823, 153750. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153750>
- Dimkić, I., Janakiev, T., Petrović, M., Degrassi, G., Fira, D., 2022. Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms - A review. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 117, 101754. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101754>
- dos Santos, T.B., Ribas, A.F., de Souza, S.G.H., Budzinski, I.G.F., Domingues, D.S., 2022. Physiological Responses to Drought, Salinity, and Heat Stress in Plants: A Review. *Stresses* 2, 113–135. <https://doi.org/10.3390/stresses2010009>
- Drake, F., 2014. *Global Warming*. Routledge.
- Du, M., Spalding, E.P., Gray, W.M., 2020. Rapid Auxin-Mediated Cell Expansion. *Annu. Rev. Plant Biol.* 71, 379–402. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-073019-025907>
- Duca, D.R., Rose, D.R., Glick, B.R., 2018. Indole acetic acid overproduction transformants of the rhizobacterium *Pseudomonas* sp. UW4. *Antonie Van Leeuwenhoek* 111, 1645–1660. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1051-7>
- Duca, M., Port, A., Rotaru, T., 2014. Influence of diverse factors on the variability in auxin and gibberellin contents in *helianthus annuus* l. / influencia de diferentes factores en la variabilidad del contenido de auxina y giberelina en la especie *helianthus annuus* l. / effet de différents facteurs sur la variabilité du contenu d’auxines et de gibbérellines dans l’espèce *Helianthus annuus* L. *Helia*.
- Duponnois, R., Bâ, A.M., 1999. Growth stimulation of *Acacia mangium* Willd by *Pisolithus* sp. in some Senegalese soils. *For. Ecol. Manag.* 119, 209–215. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(98\)00524-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(98)00524-6)
- Duponnois, R., Founoune, H., Masse, D., Pontanier, R., 2005. Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semiarid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. *For. Ecol. Manag.* 207, 351–362. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.10.060>
- Dwivedi, M., 2020. *Gluconobacter*, in: *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*. Elsevier, pp. 521–544. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00025-3>
- Edulamudi, P., Zakkula, V., Konada, V.M., 2014. Salt stress on solubilization of tricalcium phosphate by rhizobia nodulating horse gram [*Macrotylma uniflorum* (Lam.) Verdc.].
- El Bamiki, R., Raji, O., Ouabid, M., Elghali, A., Khadiri Yazami, O., Bodinier, J.-L., 2021. Phosphate Rocks: A Review of Sedimentary and Igneous Occurrences in Morocco. *Minerals* 11, 1137. <https://doi.org/10.3390/min11101137>
- El Gabardi, S., Chliyah, M., Ouazzani Touhami, A., Mouden, N., Selmaoui, K., Abdelkarim, F.-M., Saad, I., Amir, S., Benkirane, R., El Modafar, C., Douira, A., 2020. EFFECTS OF

- PHOSPHO-COMPOST AND MUD FROM PHOSPHATE SLUDGES COMBINED OR NOT WITH AN ENDOMYCORRHIZAL INOCULUM ON THE IMPROVEMENT OF THE AGRONOMIC PARAMETERS OF MAIZE (*Zea mays* L.) PLANTS. *Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol.* 21, 65–80.
- El Gabardi, S., Mouden, N., Chliyah, M., Selmaoui, K., Touhami, A., Abdelkarim, F.-M., Saad, I., Amir, S., Benkirane, R., El Modafar, C., Douira, A., 2021a. Effect of phospho-compost and phosphate laundered sludge combined or not with endomycorrhizal inoculum on the growth and yield of tomato plants under greenhouse conditions. *Acta Biol. Szeged.* 64, 221–232. <https://doi.org/10.14232/abs.2020.2.221-232>
- El Gabardi, S., Mouden, N., Chliyah, M., Selmaoui, K., Touhami, A., Abdelkarim, F.-M., Saad, I., Amir, S., Benkirane, R., El Modafar, C., Douira, A., 2021b. Effect of phospho-compost and phosphate laundered sludge combined or not with endomycorrhizal inoculum on the growth and yield of tomato plants under greenhouse conditions. *Acta Biol. Szeged.* 64, 221–232. <https://doi.org/10.14232/abs.2020.2.221-232>
- El Maaloum, S., Elabed, A., Alaoui-Talibi, Z.E., Meddich, A., Filali-Maltouf, A., Douira, A., Ibsouda-Koraichi, S., Amir, S., El Modafar, C., 2020a. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Phosphate-Solubilizing Bacteria Consortia Associated with Phospho-Compost on Phosphorus Solubilization and Growth of Tomato Seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 51, 622–634. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729376>
- El Maaloum, S., Elabed, A., Alaoui-Talibi, Z.E., Meddich, A., Filali-Maltouf, A., Douira, A., Ibsouda-Koraichi, S., Amir, S., El Modafar, C., 2020b. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Phosphate-Solubilizing Bacteria Consortia Associated with Phospho-Compost on Phosphorus Solubilization and Growth of Tomato Seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 51, 622–634. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729376>
- ElGabardi, S., Chliyah, M., Selmaoui, K., Touhami, A.O., Modafar, E., Maltouf, A.F., Elabed, S., Koraichi, S.I., Soumia, A., Moukhli, A., Benkirane, R., Douira, A., 2019a. Diversity of endomycorrhizal fungi isolated from soil sites adjacent to Khouribga phosphate mines (Morocco) 24.
- ElGabardi, S., Chliyah, M., Selmaoui, K., Touhami, A.O., Modafar, E., Maltouf, A.F., Elabed, S., Koraichi, S.I., Soumia, A., Moukhli, A., Benkirane, R., Douira, A., 2019b. Study of the endomycorrhizogenic potential of phosphate laundered sludge 26, 20.
- Elhaisoufi, W., Ghoulam, C., Barakat, A., Zeroual, Y., Bargaz, A., 2021. Phosphate bacterial solubilization: A key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. *J. Adv. Res.* <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.08.014>
- El-Rahman, A., Shaheen, H.A., El-Aziz, A., Rabab, M., Ibrahim, D.S., 2019. Influence of hydrogen cyanide-producing rhizobacteria in controlling the crown gall and root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Egypt. J. Biol. Pest Control* 29, 1–11.
- El-Sersawy, M.M., Hassan, S.E.-D., El-Ghamry, A.A., El-Gwad, A.M.A., Fouda, A., 2021. Implication of plant growth-promoting rhizobacteria of *Bacillus* spp. as biocontrol agents against wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* Schlecht. in *Vicia faba* L. *Biomol. Concepts* 12, 197–214.
- Etesami, H., 2018. Bacterial mediated alleviation of heavy metal stress and decreased accumulation of metals in plant tissues: Mechanisms and future prospects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 147, 175–191. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.032>
- Etesami, H., Tripathi, D.K., Pratap Singh, V., Chauhan, D.K., Sharma, S., 2020. Chapter 15 - Plant-microbe interactions in plants and stress tolerance, in: Prasad, S.M., Dubey, N.K., Ramawat, N. (Eds.), *Plant Life Under Changing Environment*. Academic Press, pp. 355–396. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00018-7>
- Fagnano, M., Adamo, P., Zampella, M., Fiorentino, N., 2011. Environmental and agronomic impact of fertilization with composted organic fraction from municipal solid waste: A case study

- in the region of Naples, Italy. *Agric. Ecosyst. Environ.* 141, 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.02.019>
- Forni, C., Duca, D., Glick, B.R., 2017. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. *Plant Soil* 410, 335–356. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3007-x>
- Gabardi, S.E., Chliyah, M., Mouden, N., Selmaoui, K., Touhami, A.O., Modafar, C.E., Maltouf, A.F., Abed, S.E., Koraichi, S.I., Amir, S., Moukhli, A., Benkirane, R., Douira, A., 2019. STUDY OF THE EFFECT OF DIFFERENT PHOSPHO-COMPOST DOSES ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF BEAN PLANTS. *PLANT CELL Biotechnol. Mol. Biol.* 710–725.
- Gaby J. C., Buckley D. H. (2014). Comprehensive aligned nifH gene database: a multipurpose tool for studies of nitrogen-fixing bacteria. *Database (Oxford)*. 2014:bau001. doi: 10.1093/database/bau001. PMID: 24501396; PMCID: PMC3915025.
- Gajera, H., Domadiya, R., Patel, S., Kapopara, M., Golakiya, B., 2013. Molecular mechanism of Trichoderma as bio-control agents against phytopathogen system – a review. *Curr. Res. Microbiol. Biotechnol.* 1, 133–142.
- Gans, J., Wolinsky, M., Dunbar, J., 2005. Computational Improvements Reveal Great Bacterial Diversity and High Metal Toxicity in Soil. *Science* 309, 1387–1390. <https://doi.org/10.1126/science.1112665>
- Gianinazzi-Pearson, V., Lemoine, M.-C., Arnould, C., Gollotte, A., Morton, J.B., 1994. Localization of β (1 $\rightarrow$ 3) glucans in spore and hyphal walls of fungi in the Glomales. *Mycologia* 86, 478–485. <https://doi.org/10.1080/00275514.1994.12026439>
- Glick, B.R., 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica* 2012, e963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Glick, B.R., Nascimento, F.X., 2021. Pseudomonas 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) Deaminase and Its Role in Beneficial Plant-Microbe Interactions. *Microorganisms* 9, 2467. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122467>
- Gobat, J.-M., Aragno, M., Willy, M., 2003. Le sol vivant. *Bases de pédologie – Biologie des sols. Géographie Phys. Quat., Gérer l'environnement* 57, 255. <https://doi.org/10.7202/011320ar>
- Gómez-Godínez, L.J., Fernandez-Valverde, S.L., Romero, J.C.M., Martínez-Romero, E., 2019. Metatranscriptomics and nitrogen fixation from the rhizoplane of maize plantlets inoculated with a group of PGPRs. *Syst. Appl. Microbiol.* 42, 517–525.
- Gómez-Godínez, L.J., Martínez-Romero, E., Banuelos, J., Arteaga-Garibay, R.I., 2021. Tools and challenges to exploit microbial communities in agriculture. *Curr. Res. Microb. Sci.* 2, 100062. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100062>
- Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Alekhya, G., Prakash, B., 2015. Effect of plant growth-promoting Streptomyces sp. on growth promotion and grain yield in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *3 Biotech* 5, 799–806. <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0283-8>
- Goswami, M., Deka, S., 2020. Plant growth-promoting rhizobacteria—alleviators of abiotic stresses in soil: A review. *Pedosphere* 30, 40–61. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(19\)60839-8](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(19)60839-8)
- Gouda, S., Das, G., Sen, S.K., Shin, H.-S., Patra, J.K., 2016. Endophytes: A Treasure House of Bioactive Compounds of Medicinal Importance. *Front. Microbiol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01538>
- Goyal, R.K., Schmidt, M.A., Hynes, M.F., 2021. Molecular Biology in the Improvement of Biological Nitrogen Fixation by Rhizobia and Extending the Scope to Cereals. *Microorganisms* 9, 125. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010125>
- Gray, E.J., Smith, D.L., 2005. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.* 37, 395–412. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.030>
- Grover, M., Bodhankar, S., Sharma, A., Sharma, P., Singh, J., Nain, L., 2021. PGPR Mediated Alterations in Root Traits: Way Toward Sustainable Crop Production. *Front. Sustain. Food Syst.* 4.

- Guang-Can, T.A.O., Shu-Jun, T., Miao-Ying, C.A.I., Guang-Hui, X.I.E., 2008. Phosphate-solubilizing and-mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere* 18, 515–523.
- Guether, M., Balestrini, R., Hannah, M., He, J., Udvardi, M.K., Bonfante, P., 2009. Genome-wide reprogramming of regulatory networks, transport, cell wall and membrane biogenesis during arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Lotus japonicus*. *New Phytol.* 182, 200–212. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02725.x>
- Gupta, G.N., Srivastava, S., Khare, S.K., Prakash, V., 2014. Role of phosphate solubilizing bacteria in crop growth and disease management. *J. Pure Appl. Microbiol.* 8, 461–474.
- Gupta, M., Kiran, S., Gulati, A., Singh, B., Tewari, R., 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. *Microbiol. Res.* 167, 358–363. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.02.004>
- Gupta, R., Anshu, null, Noureldeen, A., Darwish, H., 2021. Rhizosphere mediated growth enhancement using phosphate solubilizing rhizobacteria and their tri-calcium phosphate solubilization activity under pot culture assays in Rice (*Oryza sativa*). *Saudi J. Biol. Sci.* 28, 3692–3700. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.052>
- Gupta, S., Pandey, S., 2019. ACC Deaminase Producing Bacteria With Multifarious Plant Growth Promoting Traits Alleviates Salinity Stress in French Bean (*Phaseolus vulgaris*) Plants. *Front. Microbiol.* 10.
- Gutiérrez-Mañero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouchi, J., R. Tadeo, F., Talon, M., 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol. Plant.* 111, 206–211. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1110211.x>
- Ha, T.T.T., Lam, T.T., Huyen, N.T., Canh, N.X., 2018. Characterization and identification of nitrogenfixing bacteria isolated from agricultural soil. *Vietnam J. Sci. Technol. Eng.* 60, 48–54. [https://doi.org/10.31276/VJSTE.60\(3\).48](https://doi.org/10.31276/VJSTE.60(3).48)
- Habib, S.H., Kausar, H., Saud, H.M., 2016. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Salinity Stress Tolerance in Okra through ROS-Scavenging Enzymes. *BioMed Res. Int.* 2016, e6284547. <https://doi.org/10.1155/2016/6284547>
- Hagen, S.F., Borge, G.I.A., Bengtsson, G.B., Bilger, W., Berge, A., Haffner, K., Solhaug, K.A., 2007. Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biol. Technol.* 45, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.02.002>
- Haggar, S.E., 2010. Sustainable Industrial Design and Waste Management: Cradle-to-Cradle for Sustainable Development. Academic Press.
- Haider, S., Raza, A., Iqbal, J., Shaukat, M., Mahmood, T., 2022. Analyzing the regulatory role of heat shock transcription factors in plant heat stress tolerance: a brief appraisal. *Mol. Biol. Rep.* 49, 5771–5785. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07190-x>
- Hakkou, Rachid, Benzaazoua, M., Bussière, B., 2016. Valorization of Phosphate Waste Rocks and Sludge from the Moroccan Phosphate Mines: Challenges and Perspectives. *Procedia Eng.* 138, 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.02.068>
- Hakkou R, Benzaazoua M and Bussière B. 2009. Laboratory Evaluation of the Use of Alkaline Phosphate Wastes for the Control of Acidic Mine Drainage. *Mine Water and the Environment*, 28(3): 206-218.
- Hamdane, H., Oumam, M., Mhamdi, H.S., Bouih, A., El Ghailassi, T., Boulif, R., Alami, J., Manoun, B., Hannache, H., 2023. Elaboration of geopolymer package derived from uncalcined phosphate sludge and its solidification performance on nuclear grade resins loaded with ¹³⁴Cs. *Sci. Total Environ.* 857, 159313. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159313>
- Hameeda, B., Harini, G., Rupela, O.P., Wani, S.P., Reddy, G., 2008. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiol. Res.* 163, 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.05.009>

- Han, Z., Xiong, D., Schreiner, R., Tian, C., 2023. The function of plant PR1 and other members of the CAP protein superfamily in plant–pathogen interactions. *Mol. Plant Pathol.* n/a. <https://doi.org/10.1111/mpp.13320>
- Haouas, A., El Modafar, C., Douira, A., Ibensouda-Koraichi, S., Filali-Maltouf, A., Moukhli, A., Amir, S., 2021. Evaluation of the nutrients cycle, humification process, and agronomic efficiency of organic wastes composting enriched with phosphate sludge. *J. Clean. Prod.* 302, 127051. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127051>
- Harech, M.A., Mesnaoui, M., Abouliatim, Y., EL hafiane, Y., Benhammou, A., Abourriche, A., Smith, A., Nibou, L., 2021. Effect of temperature and clay addition on the thermal behavior of phosphate sludge. *Bol. Soc. Esp. Cerámica Vidr.* 60, 194–204. <https://doi.org/10.1016/j.bsecv.2020.03.002>
- Harindintwali, J.D., Wang, F., Yang, W., Zhou, J., Muhoza, B., Mugabowindekwe, M., Yu, X., 2022. Harnessing the power of cellulolytic nitrogen-fixing bacteria for biovalorization of lignocellulosic biomass. *Ind. Crops Prod.* 186, 115235. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115235>
- Hashem, A., Tabassum, B., Fathi Abd_Allah, E., 2019. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi J. Biol. Sci.* 26, 1291–1297. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>
- Hassan, T.U., Bano, A., Naz, I., 2017. Alleviation of heavy metals toxicity by the application of plant growth promoting rhizobacteria and effects on wheat grown in saline sodic field. *Int. J. Phytoremediation* 19, 522–529. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1267696>
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I., 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann. Microbiol.* 60, 579–598. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0117-1>
- Hazzoumi, Z., Azaroual, S.E., El Mernissi, N., Zaroual, Y., Duponnois, R., Bouizgarne, B., Meftah Kadmiri, I., 2022. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Isolated From Rock Phosphate Mine and Agricultural Soil on the Improvement of Wheat Plant Growth. *Front. Microbiol.* 13, 881442. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.881442>
- He, X., Nara, K., 2007. Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition? *Trends Plant Sci.* 12, 331–333. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.06.008>
- Hnini, M., Taha, K., Aurag, J., 2022. Molecular identification and characterization of phytobeneficial osmotolerant endophytic bacteria inhabiting root nodules of the Saharan tree *Vachellia tortilis* subsp. *raddiana*. *Arch. Microbiol.* 205, 45. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03358-y>
- Ho, T.T.K., Tra, V.T., Le, T.H., Nguyen, N.-K.-Q., Tran, C.-S., Nguyen, P.-T., Vo, T.-D.-H., Thai, V.-N., Bui, X.-T., 2022. Compost to improve sustainable soil cultivation and crop productivity. *Case Stud. Chem. Environ. Eng.* 6, 100211. <https://doi.org/10.1016/j.csee.2022.100211>
- Hodge, A., 2000. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. *FEMS Microbiol. Ecol.* 32, 91–96. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2000.tb00702.x>
- Ibrahim, M., Iqbal, M., Tang, Y.-T., Khan, S., Guan, D.-X., Li, G., 2022. Phosphorus Mobilization in Plant–Soil Environments and Inspired Strategies for Managing Phosphorus: A Review. *Agronomy* 12, 2539. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102539>
- Imada, E.L., Rolla dos Santos, A.A. de P., Oliveira, A.L.M. de, Hungria, M., Rodrigues, E.P., 2017. Indole-3-acetic acid production via the indole-3-pyruvate pathway by plant growth promoter *Rhizobium tropici* CIAT 899 is strongly inhibited by ammonium. *Res. Microbiol.* 168, 283–292. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.10.010>
- Ingle, K.P., Padole, D.A., 2017. Phosphate Solubilizing Microbes: An Overview. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 6, 844–852. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.601.099>
- Jadhav, H.P., Shaikh, S.S., Sayyed, R.Z., 2017. Role of hydrolytic enzymes of rhizoflora in biocontrol of fungal phytopathogens: an overview. *Rhizotrophs Plant Growth Promot. Bioremediation* 183–203.

- Jai, O., 2016. Phosphorus Uptake and Use Efficiency by Cowpea in Phospho-compost and Chemical Fertilizer Treated Nutrient Degraded Acid Soils. Agric. Res. Technol. Access J. 2. <https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2016.02.555578>
- Jawadand, S., Randive, K., 2021. A Sustainable Approach to Transforming Mining Waste into Value-Added Products, in: Randive, K., Pingle, S., Agnihotri, A. (Eds.), Innovations in Sustainable Mining, Earth and Environmental Sciences Library. Springer International Publishing, Cham, pp. 1–20. https://doi.org/10.1007/978-3-030-73796-2_1
- Jha, A., Saxena, J., Sharma, V., 2013. Investigation on Phosphate Solubilization Potential of Agricultural Soil Bacteria as Affected by Different Phosphorus Sources, Temperature, Salt, and pH. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 44, 2443–2458. <https://doi.org/10.1080/00103624.2013.803557>
- Jiang, H., Qi, P., Wang, T., Chi, X., Wang, M., Chen, M., Chen, N., Pan, L., 2019. Role of halotolerant phosphate-solubilising bacteria on growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea*) under saline soil. Ann. Appl. Biol. 174, 20–30. <https://doi.org/10.1111/aab.12473>
- Jiang, Z., Zhang, X., Wang, Z., Cao, B., Deng, S., Bi, M., Zhang, Y., 2019. Enhanced biodegradation of atrazine by *Arthrobacter* sp. DNS10 during co-culture with a phosphorus solubilizing bacteria: *Enterobacter* sp. P1. Ecotoxicol. Environ. Saf. 172, 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.070>
- Jing, Y., He, Z., Yang, X., 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. J. Zhejiang Univ. Sci. B 8, 192–207. <https://doi.org/10.1631/jzus.2007.B0192>
- Johnson, R., Vishwakarma, K., Hossen, Md.S., Kumar, V., Shackira, A.M., Puthur, J.T., Abdi, G., Sarraf, M., Hasanuzzaman, M., 2022. Potassium in plants: Growth regulation, signaling, and environmental stress tolerance. Plant Physiol. Biochem. 172, 56–69. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.01.001>
- Johri, J.K., Surange, S., Nautiyal, C.S., 1999. Occurrence of Salt, pH, and Temperature-tolerant, Phosphate-solubilizing Bacteria in Alkaline Soils. Curr. Microbiol. 39, 89–93. <https://doi.org/10.1007/s002849900424>
- Jorquera, M.A., Crowley, D.E., Marschner, P., Greiner, R., Fernández, M.T., Romero, D., Menezes-Blackburn, D., De La Luz Mora, M., 2011. Identification of β -propeller phytase-encoding genes in culturable *Paenibacillus* and *Bacillus* spp. from the rhizosphere of pasture plants on volcanic soils: Phytase genes in volcanic soils. FEMS Microbiol. Ecol. 75, 163–172. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00995.x>
- Jorquera, M.A., Hernández, M.T., Rengel, Z., Marschner, P., de la Luz Mora, M., 2008. Isolation of culturable phosphobacteria with both phytate-mineralization and phosphate-solubilization activity from the rhizosphere of plants grown in a volcanic soil. Biol. Fertil. Soils 44, 1025–1034. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0288-0>
- Kalayu, G., 2019. Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers. Int. J. Agron. 2019, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2019/4917256>
- Kanda, T., Srivastava, R., Singh, N., Yadav, Sadhana, Prajapati, R., Yadav, Shivam, Atri, N., 2022. Advances in Agriculture and Allied Technologies. pp. 123–132. <https://doi.org/10.22271/ed.book.1919>
- Kang, S.-M., Khan, A.L., Waqas, M., Asaf, S., Lee, K.-E., Park, Y.-G., Kim, A.-Y., Khan, M.A., You, Y.-H., Lee, I.-J., 2019. Integrated phytohormone production by the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus tequilensis* SSB07 induced thermotolerance in soybean. J. Plant Interact. 14, 416–423. <https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1640294>
- Kang, S.-M., Khan, M.-A., Hamayun, M., Kim, L.-R., Kwon, E.-H., Kang, Y.-S., Kim, K.-Y., Park, J.-J., Lee, I.-J., 2021. Phosphate-Solubilizing *Enterobacter ludwigii* AFFR02 and *Bacillus megaterium* Mj1212 Rescues Alfalfa's Growth under Post-Drought Stress. Agriculture 11, 485. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060485>
- Kang, S.-M., Waqas, M., Hamayun, M., Asaf, S., Khan, A.L., Kim, A.-Y., Park, Y.-G., Lee, I.-J., 2017. Gibberellins and indole-3-acetic acid producing rhizospheric bacterium *Leifsonia*

- xyli SE134 mitigates the adverse effects of copper-mediated stress on tomato. *J. Plant Interact.* 12, 373–380. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1370142>
- Kannoja, P., Choudhary, K.K., Srivastava, A.K., Singh, A.K., 2019. PGPR Bioelicitors, in: *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture*. Elsevier, pp. 67–84. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815879-1.00004-5>
- Katznelson, H., Bose, B., 1959. METABOLIC ACTIVITY AND PHOSPHATE-DISSOLVING CAPABILITY OF BACTERIAL ISOLATES FROM WHEAT ROOTS, RHIZOSPHERE, AND NON-RHIZOSPHERE SOIL. *Can. J. Microbiol.* 5, 79–85. <https://doi.org/10.1139/m59-010>
- Kaur, J., Mudgal, G., Chand, K., Singh, G.B., Perveen, K., Bukhari, N.A., Debnath, S., Mohan, T.C., Charukesi, R., Singh, G., 2022. An exopolysaccharide-producing novel *Agrobacterium pusense* strain JAS1 isolated from snake plant enhances plant growth and soil water retention. *Sci. Rep.* 12, 21330. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25225-y>
- Kaur, P., kaur, J., Saini, H., 2015. Antifungal potential of *Bacillus vallismortis* R2 against different phytopathogenic fungi. *Span. J. Agric. Res.* 13, 1004. <https://doi.org/10.5424/sjar/2015132-6620>
- Kenawy, A., Joe Dailin, D., Abo-Zaid, G., Malek, R.A., Ambehatabi, K., Zakaria, K., Sayyed, R., El Enshasy, H., 2019. Biosynthesis of Antibiotics by PGPR and Their Roles in Biocontrol of Plant Diseases. pp. 1–35. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6986-5_1
- Khalil, M.S.M., Hassan, M.H.A.-R., Mahmoud, A.F., Morsy, K.M.M., 2022. Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by plant growth promoting rhizobacteria in inhibiting the soilborne pathogens in Faba Bean Plants. *J. Hama Dan Penyakit Tumbuh. Trop.* 22, 100–108. <https://doi.org/10.23960/jhptt.222100-108>
- Khan, F.I., Husain, T., Hejazi, R., 2004. An overview and analysis of site remediation technologies. *J. Environ. Manage.* 71, 95–122. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2004.02.003>
- Khan, M., Rizvi, A., Ahmed, B., Lee, J., 2022. Phosphate biofertilizers: Recent trends and new perspectives. pp. 421–461. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91595-3.00002-1>
- Khan, M.A., Asaf, S., Khan, A.L., Adhikari, A., Jan, R., Ali, S., Imran, M., Kim, K.-M., Lee, I.-J., 2019. Halotolerant Rhizobacterial Strains Mitigate the Adverse Effects of NaCl Stress in Soybean Seedlings. *BioMed Res. Int.* 2019, e9530963. <https://doi.org/10.1155/2019/9530963>
- Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., 2009. Role of Phosphate Solubilizing Microorganisms in Sustainable Agriculture - A Review, in: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., Alberola, C. (Eds.), *Sustainable Agriculture*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 551–570. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_34
- Khan, N., Bano, A., Ali, S., Babar, Md.A., 2020. Crosstalk amongst phytohormones from planta and PGPR under biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regul.* 90, 189–203. <https://doi.org/10.1007/s10725-020-00571-x>
- Khatoon, Z., Huang, S., Rafique, M., Fakhar, A., Kamran, M. A., & Santoyo, G. (2020). Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. *Journal of Environmental Management*, 273, 111118. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111118>
- Kobyletska, M., Kavulych, Y., Romanyuk, N., Korchynska, O., Terek, O., 2022. Exogenous Salicylic Acid Modifies Cell Wall Lignification, Total Phenolic Content, PAL-Activity in Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Plants under Cadmium Chloride Impact.
- Kour, D., Rana, K.L., Yadav, N., Yadav, A.N., Kumar, A., Meena, V.S., Singh, B., Chauhan, V.S., Dhaliwal, H.S., Saxena, A.K., 2019. Rhizospheric Microbiomes: Biodiversity, Mechanisms of Plant Growth Promotion, and Biotechnological Applications for Sustainable Agriculture, in: Kumar, A., Meena, V.S. (Eds.), *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability*. Springer Singapore, Singapore, pp. 19–65. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7553-8_2

- Kudoyarova, G., Arkhipova, T., Korshunova, T., Bakaeva, M., Loginov, O., Dodd, I.C., 2019. Phytohormone Mediation of Interactions Between Plants and Non-Symbiotic Growth Promoting Bacteria Under Edaphic Stresses. *Front. Plant Sci.* 10.
- Kumar, A., Meena, V.S., 2019. Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability: From Theory to Practices. Springer.
- Kumar, V., Singh, P., Jorquera, M., Sangwan, P., Kumar, P., Verma, As.K., 2013. Isolation of phytase-producing bacteria from Himalayan soils and their effect on growth and phosphorus uptake of Indian mustard (*Brassica juncea*). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 29. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1299-z>
- Kumar, G., Mir Hassan Ahmed, S.K., Desai, S., Leo Daniel Amalraj, E., Rasul, A., 2014. In vitro screening for abiotic stress tolerance in potent biocontrol and plant growth promoting strains of *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. *Int. J. Bacteriol.* 2014.
- Kumari, P., Meena, M., Upadhyay, R.S., 2018. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) isolated from the rhizosphere of *Vigna radiata* (mung bean). *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 16, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.029>
- Lahlali, R., Aksissou, W., Lyouf, N., Ezrari, S., Blenzar, A., Tahiri, A., Ennahli, S., Hrustić, J., MacLean, D., Amiri, S., 2020. Biocontrol activity and putative mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* (SF14 and SP10), *Alcaligenes faecalis* ACBC1, and *Pantoea agglomerans* ACBP1 against brown rot disease of fruit. *Microb. Pathog.* 139, 103914.
- Lahsini, A.I., Sallami, A., Ait-Ouakrim, E.H., El khedri, H., Obtel, M., Douira, A., El Modafar, C., Benkerroum, N., Talbi, C., Chakhchar, A., Filali-Maltouf, A., 2022. Isolation and molecular identification of an indigenous abiotic stress-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria from the rhizosphere of the olive tree in southern Morocco. *Rhizosphere* 23, 100554. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100554>
- Lambers, H., Raven, J.A., Shaver, G.R., Smith, S.E., 2008. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends Ecol. Evol.* 23, 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.10.008>
- Lee, K.-E., Radhakrishnan, R., Kang, S.-M., You, Y.-H., Joo, G.-J., Lee, I.-J., Ko, J.-H., Kim, J.-H., 2015. *Enterococcus faecium* LKE12 Cell-Free Extract Accelerates Host Plant Growth via Gibberellin and Indole-3-Acetic Acid Secretion. *J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 1467–1475. <https://doi.org/10.4014/jmb.1502.02011>
- Leone, A., Bleve-Zacheo, T., Gerardi, C., Melillo, M.T., Leo, L., Zacheo, G., 2006. Lipoxygenase Involvement in Ripening Strawberry. *J. Agric. Food Chem.* 54, 6835–6844. <https://doi.org/10.1021/jf061457g>
- Leontidou, K., Genitsaris, S., Papadopoulou, A., Kamou, N., Bosmali, I., Matsi, T., Madesis, P., Vokou, D., Karamanoli, K., Mellidou, I., 2020. Plant growth promoting rhizobacteria isolated from halophytes and drought-tolerant plants: genomic characterisation and exploration of phyto-beneficial traits. *Sci. Rep.* 10, 14857. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71652-0>
- Li, Xiang, Lu, C., Dai, Y., Yu, Z., Gu, W., Li, T., Li, Xinyu, Li, Xu, Wang, X., Su, Z., Xu, M., Zhang, H., 2022. Characterizing the Microbial Consortium L1 Capable of Efficiently Degrading Chlorimuron-Ethyl via Metagenome Combining 16S rDNA Sequencing. *Front. Microbiol.* 13.
- Lim, B.L., Yeung, P., Cheng, C., Hill, J.E., 2007. Distribution and diversity of phytate-mineralizing bacteria. *ISME J.* 1, 321–330. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.40>
- Limpitlaw, D., Hoadley, M., 2006. Faultlines in Mine Closure Planning in a Developing Country Context. Presented at the First International Seminar on Mine Closure, pp. 803–809. https://doi.org/10.36487/ACG_repo/605_71
- Liu, A., Hamel, C., Elmi, A., Costa, C., Ma, B., Smith, D.L., 2002. Concentrations of K, Ca and Mg in maize colonized by arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. *Can. J. Soil Sci.* 82, 272–278. <https://doi.org/10.4141/S01-022>
- Liu, C.-J., Zhao, Y., Zhang, K., 2019. Cytokinin Transporters: Multisite Players in Cytokinin Homeostasis and Signal Distribution. *Front. Plant Sci.* 10.

- Liu, S.T., Lee, L.Y., Tai, C.Y., Hung, C.H., Chang, Y.S., Wolfram, J.H., Rogers, R., Goldstein, A.H., 1992. Cloning of an *Erwinia herbicola* gene necessary for gluconic acid production and enhanced mineral phosphate solubilization in *Escherichia coli* HB101: nucleotide sequence and probable involvement in biosynthesis of the coenzyme pyrroloquinoline quinone. *J. Bacteriol.* 174, 5814–5819. <https://doi.org/10.1128/jb.174.18.5814-5819.1992>
- Liu, Y., Chen, L., Zhang, N., Li, Z., Zhang, G., Xu, Y., Shen, Q., Zhang, R., 2016. Plant-Microbe Communication Enhances Auxin Biosynthesis by a Root-Associated Bacterium, *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 29, 324–330. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-15-0239-R>
- Llanes, A., Andrade, A., Alemano, S., Luna, V., 2016. Alterations of Endogenous Hormonal Levels in Plants under Drought and Salinity. *Am. J. Plant Sci.* 07, 1357–1371. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.79129>
- Lopes, M.R., Klein, M.N., Ferraz, L.P., da Silva, A.C., Kupper, K.C., 2015. *Saccharomyces cerevisiae*: a novel and efficient biological control agent for *Colletotrichum acutatum* during pre-harvest. *Microbiol. Res.* 175, 93–99.
- Loutou, M., Hajjaji, M., Mansori, M., Favotto, C., Hakkou, R., 2013a. Phosphate sludge: Thermal transformation and use as lightweight aggregate material. *J. Environ. Manage.* 130, 354–360. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.004>
- Loutou, M., Hajjaji, M., Mansori, M., Favotto, C., Hakkou, R., 2017. Phosphate sludge-based ceramics: Microstructure and effects of processing factors. *Journal of Building Engineering.* 11, 48-55.
- Loutou, M., Misrar, W., Koudad, M., Mansori, M., Grase, L., Favotto, C., Taha, Y., Hakkou, R., 2019. Phosphate Mine Tailing Recycling in Membrane Filter Manufacturing: Microstructure and Filtration Suitability. *Minerals* 9, 318. <https://doi.org/10.3390/min9050318>
- Lucero, C.T., Lorda, G.S., Anzuay, M.S., Ludueña, L.M., Taurian, T., 2021. Peanut Endophytic Phosphate Solubilizing Bacteria Increase Growth and P Content of Soybean and Maize Plants. *Curr. Microbiol.* 78, 1961–1972. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02469-x>
- Luo, X., Tian, T., Feng, L., Yang, X., Li, L., Tan, X., Wu, W., Li, Z., Treves, H., Serneels, F., Ng, I.-S., Tanaka, K., Ren, M., 2023. Pathogenesis-related protein 1 suppresses oomycete pathogen by targeting against AMPK kinase complex. *J. Adv. Res.* 43, 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.02.002>
- Maćik, M., Gryta, A., Frąc, M., 2020. Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms, in: *Advances in Agronomy*. Elsevier, pp. 31–87. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.02.001>
- Mackey K.R.M, Paytan A. 2009. Phosphorus cycle, *Encyclopedia of microbiology*. In: M. Schaechter (ed.) 3rd ed. Academic Press, Oxford, 322-334.
- Maharana, R., Dhal, N.K., 2022. Solubilization of rock phosphate by phosphate solubilizing bacteria isolated from effluent treatment plant sludge of a fertilizer plant. *Folia Microbiol. (Praha)* 67, 605–615. <https://doi.org/10.1007/s12223-022-00953-w>
- Mahmud, A.A., Upadhyay, S.K., Srivastava, A.K., Bhojiya, A.A., 2021. Biofertilizers: A Nexus between soil fertility and crop productivity under abiotic stress. *Curr. Res. Environ. Sustain.* 3, 100063. <https://doi.org/10.1016/j.crsust.2021.100063>
- Mahmud, K., Missaoui, A., Lee, K., Ghimire, B., Presley, H.W., Makaju, S., 2021. Rhizosphere microbiome manipulation for sustainable crop production. *Curr. Plant Biol.* 27, 100210. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100210>
- Manzoor, M., Abbasi, M.K., Sultan, T., 2017. Isolation of Phosphate Solubilizing Bacteria from Maize Rhizosphere and Their Potential for Rock Phosphate Solubilization–Mineralization and Plant Growth Promotion. *Geomicrobiol. J.* 34, 81–95. <https://doi.org/10.1080/01490451.2016.1146373>
- Marchettini, N., Ridolfi, R., Rustici, M., 2007. An environmental analysis for comparing waste management options and strategies. *Waste Manag.* 27, 562–571. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.04.007>

- Marin-Bruzos, M., Grayston, S.J., Forge, T., Nelson, L.M., 2021. Isolation and characterization of streptomycetes and pseudomonad strains with antagonistic activity against the plant parasitic nematode *Pratylenchus penetrans* and fungi associated with replant disease. *Biol. Control* 158, 104599. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104599>
- Martínez, C., Espinosa-Ruiz, A., Prat, S., 2016. Gibberellins and plant vegetative growth, in: *Annual Plant Reviews*, Volume 49. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 285–322. <https://doi.org/10.1002/9781119210436.ch10>
- Matthes, M.S., Best, N.B., Robil, J.M., Malcomber, S., Gallavotti, A., McSteen, P., 2019. Auxin EvoDevo: Conservation and Diversification of Genes Regulating Auxin Biosynthesis, Transport, and Signaling. *Mol. Plant* 12, 298–320. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2018.12.012>
- McCullough, C., Harvey, B., Unger, C., Coetzee, J., 2018. From start to finish – a perspective on improving sustainable development aspects of life-of-mine practices. pp. 395–400.
- Meena, M., Swapnil, P., Divyanshu, K., Kumar, S., Harish, Tripathi, Y.N., Zehra, A., Marwal, A., Upadhyay, R.S., 2020. PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives. *J. Basic Microbiol.* <https://doi.org/10.1002/jobm.202000370>
- Meena, M., Swapnil, P., Zehra, A., Aamir, M., Dubey, M.K., Goutam, J., Upadhyay, R.S., 2017. Beneficial Microbes for Disease Suppression and Plant Growth Promotion, in: Singh, D.P., Singh, H.B., Prabha, R. (Eds.), *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives: Volume 2: Microbial Interactions and Agro-Ecological Impacts*. Springer, Singapore, pp. 395–432. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_16
- Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., Meena, R.S. (Eds.), 2016. *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*. Springer India, New Delhi. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2>
- Mehmood, T., Liu, C., Bibi, I., Ejaz, M., Ashraf, A., Haider, F.U., Riaz, U., Hussain, A., Husain, S., Shaz, M., Asghar, S., Shahid, M., Niazi, N.K., 2022. Recent developments in phosphate-assisted phytoremediation of potentially toxic metal(loid)s-contaminated soils, in: *Assisted Phytoremediation*. Elsevier, pp. 345–370. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822893-7.00014-8>
- Memmott, J., Craze, P.G., Waser, N.M., Price, M.V., 2007. Global warming and the disruption of plant–pollinator interactions. *Ecol. Lett.* 10, 710–717. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01061.x>
- Mendoza-Arroyo, G.E., Chan-Bacab, M.J., Aguila-Ramírez, R.N., Ortega-Morales, B.O., Canché Solís, R.E., Chab-Ruiz, A.O., Cob-Rivera, K.I., Dzib-Castillo, B., Tun-Che, R.E., Camacho-Chab, J.C., 2020. Inorganic Phosphate Solubilization by a Novel Isolated Bacterial Strain *Enterobacter* sp. ITCB-09 and Its Application Potential as Biofertilizer. *Agriculture* 10, 383. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090383>
- Messa, V.R., 2021. Biocontrol by induced systemic resistance using plant growth promoting rhizobacteria. *Rhizosphere* 17, 100323. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100323>
- Mghazli, N., Bruneel, O., Zouagui, R., Hakkou, R., Sbabou, L., 2022. Characterization of plant growth promoting activities of indigenous bacteria of phosphate mine wastes, a first step toward revegetation. *Front. Microbiol.* 13.
- Mishra, P., Mishra, J., Arora, N.K., 2021. Plant growth promoting bacteria for combating salinity stress in plants – Recent developments and prospects: A review. *Microbiol. Res.* 252, 126861. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126861>
- Mitra, D., Anđelković, S., Panneerselvam, P., Senapati, A., Vasić, T., Ganeshamurthy, A.N., Chauhan, M., Uniyal, N., Mahakur, B., Radha, T.K., 2020. Phosphate-Solubilizing Microbes and Biocontrol Agent for Plant Nutrition and Protection: Current Perspective. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 51, 645–657. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729379>
- Mitra, D., Díaz Rodríguez, A.M., Parra Cota, F.I., Khoshru, B., Panneerselvam, P., Moradi, S., Sagarika, M.S., Anđelković, S., Santos-Villalobos, S. de los, Das Mohapatra, P.K., 2021.

- Amelioration of thermal stress in crops by plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 115, 101679. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101679>
- Mohankumar, J., Uthira, L., SU, M., 2018. Total phenolic content of organic and conventional green leafy vegetables. *J. Nutr. Hum. Health* 02. <https://doi.org/10.35841/nutrition-human-health.2.1.1-6>
- Moynihan, M.A., Goodkin, N.F., Morgan, K.M., Kho, P.Y.Y., Lopes Dos Santos, A., Lauro, F.M., Baker, D.M., Martin, P., 2022. Coral-associated nitrogen fixation rates and diazotrophic diversity on a nutrient-replete equatorial reef. *ISME J.* 16, 233–246. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01054-1>
- MTEDD, 2023. Ministère de la transition énergétique et du développement durable, <https://www.mem.gov.ma>. Consulté le 16/06/2023).
- Mustin, M., 1987. Le compost: gestion de la matière organique.
- Nagatani, H., Shimizu, M., Valentine, R.C., 1971. The mechanism of ammonia assimilation in nitrogen fixing bacteria. *Arch. Für Mikrobiol.* 79, 164–175. <https://doi.org/10.1007/BF00424923>
- Nagel, R., Bieber, J.E., Schmidt-Dannert, M.G., Nett, R.S., Peters, R.J., 2018. A Third Class: Functional Gibberellin Biosynthetic Operon in Beta-Proteobacteria. *Front. Microbiol.* 9.
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., Renella, G., 2011. Role of Phosphatase Enzymes in Soil, in: Bünnemann, E., Oberson, A., Frossard, E. (Eds.), *Phosphorus in Action, Soil Biology*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 215–243. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_9
- Nascimento, A.L.V., Pereira, G.A.M., Pucci, L.F., Alves, D.P., Gomes, C.A., Reis, M.R., 2020. Tolerance of Cabbage Crop to Auxin Herbicides. *Planta Daninha* 38, e020218387. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582020380100017>
- Nautiyal, C.S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R., Verma, D., 2000. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiol. Lett.* 182, 291–296. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb08910.x>
- Nett, R.S., Bender, K.S., Peters, R.J., 2022. Production of the plant hormone gibberellin by rhizobia increases host legume nodule size. *ISME J.* 16, 1809–1817. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01236-5>
- Niranjana, S.R., Hariprasad, P., 2014. Understanding the Mechanism Involved in PGPR-Mediated Growth Promotion and Suppression of Biotic and Abiotic Stress in Plants, in: Goyal, A., Manoharachary, C. (Eds.), *Future Challenges in Crop Protection Against Fungal Pathogens, Fungal Biology*. Springer New York, New York, NY, pp. 59–108. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1188-2_3
- Nogueira, M.A., Magalhães, G.C., Cardoso, E.J.B.N., 2004. Manganese Toxicity in Mycorrhizal and Phosphorus-Fertilized Soybean Plants. *J. Plant Nutr.* 27, 141–156. <https://doi.org/10.1081/PLN-120027552>
- Nosheen, S., Ajmal, I., Song, Y., 2021. Microbes as Biofertilizers, a Potential Approach for Sustainable Crop Production. *Sustainability* 13, 1868. <https://doi.org/10.3390/su13041868>
- Odhiambo, B.O., 2022. Antimicrobial Compounds Biosynthesis and Biocontrol Mechanisms of *Lysobacter* enzymogenes. *PAN Afr. Sci. J.* 1, 85–102. <https://doi.org/10.47787/pasj.2021.01.22>
- Olanrewaju, O.S., Babalola, O.O., 2019. Streptomyces: implications and interactions in plant growth promotion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 103, 1179–1188. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-09577-y>
- Olanrewaju, O.S., Glick, B.R., Babalola, O.O., 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 33, 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Oleńska, E., Małek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., Vangronsveld, J., 2020. Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in

- challenging conditions: A methodical review. *Sci. Total Environ.* 743, 140682. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140682>
- Omotayo, O.P., Babalola, O.O., 2021. Resident rhizosphere microbiome's ecological dynamics and conservation: Towards achieving the envisioned Sustainable Development Goals, a review. *Int. Soil Water Conserv. Res.* 9, 127–142. <https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2020.08.002>
- Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Paquot, M., Brans, A., Joris, B., Arpigny, J.-L., Thonart, P., 2007. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. *Environ. Microbiol.* 9, 1084–1090. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01202.x>
- Orozco-Mosqueda, M. del C., Santoyo, G., Glick, B.R., 2023. Recent Advances in the Bacterial Phytohormone Modulation of Plant Growth. *Plants* 12, 606. <https://doi.org/10.3390/plants12030606>
- Ortiz, A., Sansinenea, E., 2022. The Industrially Important Enzymes from *Bacillus* Species, in: Islam, M.T., Rahman, M., Pandey, P. (Eds.), *Bacilli in Agrobiotechnology, Bacilli in Climate Resilient Agriculture and Bioprospecting*. Springer International Publishing, Cham, pp. 89–99. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85465-2_4
- Osugi, A., Sakakibara, H., 2015. Q&A: How do plants respond to cytokinins and what is their importance? *BMC Biol.* 13, 102. <https://doi.org/10.1186/s12915-015-0214-5>
- Ouakibi, O., Loqman, S., Hakkou, R., Benzaazoua, M., 2013. The Potential Use of Phosphatic Limestone Wastes in the Passive Treatment of AMD: A Laboratory Study. *Mine Water Environ.* 32, 266–277. <https://doi.org/10.1007/s10230-013-0226-8>
- Oubohssaine, M., Dahmani, I., Sbabou, L., Bruneel, O., Aurag, J., 2022. The rhizosphere of *Sulla spinosissima* growing in abandoned mining soils is a reservoir of heavy metals tolerant plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 39, 102236. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102236>
- Pal, P., Ansari, S.A., Jalil, S.U., Ansari, M.I., 2023. Chapter 1 - Regulatory role of phytohormones in plant growth and development, in: Khan, M.I.R., Singh, A., Poór, P. (Eds.), *Plant Hormones in Crop Improvement*. Academic Press, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91886-2.00016-1>
- Pandey, S.N., 2020. Role of Micronutrients in Biochemical Responses of Crops Under Abiotic Stresses, in: Roychowdhury, R., Choudhury, S., Hasanuzzaman, M., Srivastava, S. (Eds.), *Sustainable Agriculture in the Era of Climate Change*. Springer International Publishing, Cham, pp. 93–112. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45669-6_4
- Pantigoso, H.A., He, Y., Manter, D.K., Fonte, S.J., Vivanco, J.M., 2022. Phosphorus-solubilizing bacteria isolated from the rhizosphere of wild potato *Solanum bulbocastanum* enhance growth of modern potato varieties. *Bull. Natl. Res. Cent.* 46, 1–10.
- Park, Y.-G., Mun, B.-G., Kang, S.-M., Hussain, A., Shahzad, R., Seo, C.-W., Kim, A.-Y., Lee, S.-U., Oh, K.Y., Lee, D.Y., 2017. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. *PLoS One* 12, e0173203.
- Patel, D.K., Archana, G., Kumar, G.N., 2008. Variation in the Nature of Organic Acid Secretion and Mineral Phosphate Solubilization by *Citrobacter* sp. DHRSS in the Presence of Different Sugars. *Curr. Microbiol.* 56, 168–174. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9053-0>
- Patel, P., Patel, K., Dhandhukia, P., Thakker, J.N., 2021. Plant growth promoting traits of marine *Micrococcus* sp. with bio-control ability against *Fusarium* in chickpea plant. *Vegetos* 34, 94–101. <https://doi.org/10.1007/s42535-021-00191-4>
- Patra, J.K., Vishnuprasad, C.N., Das, G. (Eds.), 2017. *Microbial Biotechnology: Volume 1. Applications in Agriculture and Environment*. Springer Singapore, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-6847-8>
- Patten, C.L., Blakney, A.J.C., Coulson, T.J.D., 2013. Activity, distribution and function of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.* 39, 395–415. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.716819>

- Peix, A., Mateos, P.F., Rodriguez-Barrueco, C., Martinez-Molina, E., Velazquez, E., 2001. Growth promotion of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a strain of *Burkholderia cepacia* under growth chamber conditions. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1927–1935. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00119-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00119-5)
- Peña-Fernández, A., Evans, M.D., Cooke, M.S. (Eds.), 2022. *Toxicology for the health and pharmaceutical sciences*, First edition. ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Perrella, G., Bäurle, I., van Zanten, M., 2022. Epigenetic regulation of thermomorphogenesis and heat stress tolerance. *New Phytol.* 234, 1144–1160. <https://doi.org/10.1111/nph.17970>
- Peyronel, B., 1969. Terminology of mycorrhizae. *Mycologia* 61, 410–411.
- Pimentel, B.S., Gonzalez, E.S., Barbosa, Geraldo.N.O., 2016. Decision-support models for sustainable mining networks: fundamentals and challenges. *J. Clean. Prod.* 112, 2145–2157. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.09.023>
- Plackett, A.R.G., Wilson, Z.A., 2017. Gibberellins and Plant Reproduction, in: *Annual Plant Reviews Online*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 323–358. <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0540>
- Plassard, C., Robin, A., Cadre, E.L., Marsden, C., Trap, J., Herrmann, L., Waithaisong, K., Lesueur, D., Blanchart, E., Lardy, L., Hinsinger, P., 2015. Améliorer la biodisponibilité du phosphore: comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol 25.
- Prabhu, N., Borkar, S., Garg, S., 2019. Phosphate solubilization by microorganisms, in: *Advances in Biological Science Research*. Elsevier, pp. 161–176. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817497-5.00011-2>
- Pradhan, N., Sukla, L.B., 2006. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *Afr. J. Biotechnol.* 5.
- Pršić, J., Ongena, M., 2020. Elicitors of Plant Immunity Triggered by Beneficial Bacteria. *Front. Plant Sci.* 11.
- Qarni, A., Billah, M., Hussain, K., Shah, S.H., Ahmed, W., Alam, S., Sheikh, A.A., Jafri, L., Munir, A., Malik, K.M., Khan, N., 2021. Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Microbes from Rock Phosphate Mines and Their Potential Effect for Sustainable Agriculture. *Sustainability* 13, 2151. <https://doi.org/10.3390/su13042151>
- Qiyu, Z., Qilong, B., Liying, L., Yilin, M., Weina, Z., Lidi, W., Peng, H., 2022. Construction of a PV-driven plasma nitrogen fixation test platform and its application prospect in agricultural production, in: *2022 IEEE 5th International Electrical and Energy Conference (CIEEC)*. Presented at the 2022 IEEE 5th International Electrical and Energy Conference (CIEEC), IEEE, Nangjing, China, pp. 1080–1083. <https://doi.org/10.1109/CIEEC54735.2022.9845895>
- Quadar, J., Chowdhary, A.B., Dutta, R., Angmo, D., Singh, Sharanpreet, Singh, J., Singh, Satveer, Kumar, S.I., Sohal, B., Vig, A.P., 2023. Chapter 12 - Economic and quality evaluation of composting technologies, in: Pandey, A., Awasthi, M., Zhang, Z. (Eds.), *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, pp. 295–318. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91874-9.00012-7>
- Rabhi, N.E.H., Cherif-Silini, H., Silini, A., Alenezi, F.N., Chenari Bouket, A., Oszako, T., Belbahri, L., 2022. Alleviation of Salt Stress via Habitat-Adapted Symbiosis. *Forests* 13, 586. <https://doi.org/10.3390/f13040586>
- Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., Samiyappan, R., 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Prot.* 20, 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00056-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00056-9)
- Rao, D.E.C.S., Rao, K.V., Reddy, T.P., Reddy, V.D., 2009. Molecular characterization, physicochemical properties, known and potential applications of phytases: An overview. *Crit. Rev. Biotechnol.* 29, 182–198. <https://doi.org/10.1080/07388550902919571>
- Rasool, A., Imran Mir, M., Zulfajri, M., Hanafiah, M.M., Azeem Unnisa, S., Mahboob, M., 2021. Plant growth promoting and antifungal asset of indigenous rhizobacteria secluded from

- saffron (*Crocus sativus* L.) rhizosphere. *Microb. Pathog.* 150, 104734. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104734>
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., Shankhdhar, S., 2020. Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>
- Raza, H.M.A., Bashir, M.A., Rehim, A., Jan, M., Raza, Q.-U.-A., Berlyn, G.P., 2021. Potassium and zinc co-fertilization provide new insights to improve maize (*Zea mays* L.) physiology and productivity. *Pak. J. Bot.* 53. [https://doi.org/10.30848/PJB2021-6\(28\)](https://doi.org/10.30848/PJB2021-6(28))
- Raza, W., Ling, N., Yang, L., Huang, Q., Shen, Q., 2016. Response of tomato wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* to the volatile organic compounds produced by a biocontrol strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR-9. *Sci. Rep.* 6, 1–13.
- Raza, W., Yuan, J., Ling, N., Huang, Q., Shen, Q., 2015. Production of volatile organic compounds by an antagonistic strain *Paenibacillus polymyxa* WR-2 in the presence of root exudates and organic fertilizer and their antifungal activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Biol. Control* 80, 89–95.
- Revolti, L.T.M., Caprio, C.H., Mingotte, F.L.C., Moro, G.V., 2018. *Azospirillum* spp. potential for maize growth and yield. *Afr. J. Biotechnol.* 17, 574–585. <https://doi.org/10.5897/AJB2017.16333>
- Rezakhani, L., Moteszarezhadeh, B., Tehrani, M.M., Etesami, H., Mirseyed Hosseini, H., 2019. Phosphate-solubilizing bacteria and silicon synergistically augment phosphorus (P) uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.) plant fertilized with soluble or insoluble P source. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 173, 504–513. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.060>
- Rfaki, A., Zennouhi, O., Aliyat, F.Z., Nassiri, L., Ibjibjen, J., 2020. Isolation, Selection and Characterization of Root-Associated Rock Phosphate Solubilizing Bacteria in Moroccan Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Geomicrobiol. J.* 37, 230–241. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1694106>
- Rhodes, L.H., Gerdemann, J.W., 1975. Phosphate Uptake Zones of Mycorrhizal and Non-Mycorrhizal Onions. *New Phytol.* 75, 555–561. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1975.tb01419.x>
- Richardson, A.E., Hadobas, P.A., 1997. Soil isolates of *Pseudomonas* spp. that utilize inositol phosphates. *Can. J. Microbiol.* 43, 509–516. <https://doi.org/10.1139/m97-073>
- Rijavec, T., Lapanje, A., 2016. Hydrogen Cyanide in the Rhizosphere: Not Suppressing Plant Pathogens, but Rather Regulating Availability of Phosphate. *Front. Microbiol.* 7.
- Ritcey, G.M., 2005. Tailings management in gold plants. *Hydrometallurgy, Special Issue To Honour Mike Slater* 78, 3–20. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2005.01.001>
- Rodríguez, H., Rossolini, G.M., Gonzalez, T., Li, J., Glick, B.R., 2000. Isolation of a Gene from *Burkholderia cepacia* IS-16 Encoding a Protein That Facilitates Phosphatase Activity. *Curr. Microbiol.* 40, 362–366. <https://doi.org/10.1007/s002840010071>
- Rodríguez, H., Fraga, R., 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv.* 17, 319–339. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00014-2)
- Ryan S., Contreras, T., Peters, R.J., 2017. Characterization of CYP115 As a Gibberellin 3-Oxidase Indicates That Certain Rhizobia Can Produce Bioactive Gibberellin A 4. *ACS Chem. Biol.* 12, 912–917. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.6b01038>
- Ryan S., Montanares, M., Marcassa, A., Lu, X., Nagel, R., Charles, T.C., Hedden, P., Rojas, M.C., Peters, R.J., 2017. Elucidation of gibberellin biosynthesis in bacteria reveals convergent evolution. *Nat. Chem. Biol.* 13, 69–74. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2232>
- Saberi Riseh, R., Ebrahimi-Zarandi, M., Tamanadar, E., Pour, M., Thakur, V.K., 2021. Salinity Stress: Toward Sustainable Plant Strategies and Using Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Encapsulation for Reducing It. *Sustainability* 13, 12758. <https://doi.org/10.3390/su132212758>

- Samantray, J., Anand, A., Dash, B., Ghosh, M.K., Behera, A.K., 2022. Silicate minerals - Potential source of potash - A review. *Miner. Eng.* 179, 107463. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2022.107463>
- Sandilya, S.P., Bhuyan, P.M., Gogoi, D.K., Kardong, D., 2018. Phosphorus Solubilization and Plant Growth Promotion Ability of Rhizobacteria of *R. communis* L Growing in Assam, India. *Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect. B Biol. Sci.* 88, 959–966. <https://doi.org/10.1007/s40011-016-0833-9>
- Sang, M.K., Jeong, J.-J., Kim, J., Kim, K.D., 2018. Growth promotion and root colonisation in pepper plants by phosphate-solubilising *Chryseobacterium* sp. strain ISE14 that suppresses Phytophthora blight: Biocontrol and plant growth by phosphate-solubilising *Chryseobacterium*. *Ann. Appl. Biol.* 172, 208–223. <https://doi.org/10.1111/aab.12413>
- Santoyo, G., Urtis-Flores, C.A., Loeza-Lara, P.D., Orozco-Mosqueda, M. del C., Glick, B.R., 2021. Rhizosphere Colonization Determinants by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Biology* 10, 475. <https://doi.org/10.3390/biology10060475>
- Saravanakumar, D., Harish, S., Loganathan, M., Vivekananthan, R., Rajendran, L., Raguchander, T., Samiyappan, R., 2007. Rhizobacterial bioformulation for the effective management of *Macrophomina* root rot in mungbean. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 40, 323–337. <https://doi.org/10.1080/03235400600587326>
- Sarikhani, M.R., Khoshru, B., Greiner, R., 2019. Isolation and identification of temperature tolerant phosphate solubilizing bacteria as a potential microbial fertilizer. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 35, 126. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2702-1>
- Schnug, E., Haneklaus, S.H., 2016. The Enigma of Fertilizer Phosphorus Utilization, in: Schnug, E., De Kok, L.J. (Eds.), *Phosphorus in Agriculture: 100 % Zero*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 7–26. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7612-7_2
- Sehrawat, A., Sindhu, S.S., Glick, B.R., 2022. Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. *Pedosphere* 32, 15–38. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(21\)60058-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60058-9)
- Sendi, Y., Pfeiffer, T., Koch, E., Mhadhbi, H., Mrabet, M., 2020. Potential of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) root microbiome in the biocontrol of root rot disease and traits of performance. *J. Plant Dis. Prot.* 127, 453–462.
- Senthilvalavan, P., Sriramachandrasekharan, M.V., Manivannan, R., Ravikumar, C., 2022. Preparation of water hyacinth-based phospho-compost and its evaluation against certain phosphorus fertilizers along with phosphate solubilizing bacteria on P availability, uptake and rice productivity. *J. Appl. Nat. Sci.* 14, 1387–1399.
- Shaffique, S., Khan, M.A., Wani, S.H., Pande, A., Imran, M., Kang, S.-M., Rahim, W., Khan, S.A., Bhatta, D., Kwon, E.-H., Lee, I.-J., 2022. A Review on the Role of Endophytes and Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Mitigating Heat Stress in Plants. *Microorganisms* 10, 1286. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071286>
- Sharma, K., Dak, G., Agrawal, A., Bhatnagar, M., Sharma, R., 2007. Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of *Cicer arietinum* seeds and seedling growth. *J. Herb. Med. Toxicol.* 1, 61–63.
- 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, 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Shekhawat, K., Almeida-Trapp, M., García-Ramírez, G.X., Hirt, H., 2022. Beat the heat: plant- and microbe-mediated strategies for crop thermotolerance. *Trends Plant Sci.* 27, 802–813. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.02.008>
- Shinwari, K., Shah, A., Afridi, M., Qureshi, M.Z., Hussain, H., Hussain, J., Ahmad, O., Jamil, M., 2015. Application of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Bioremediation of Heavy Metal Polluted Soil 881992.
- Shinwari, Z.K., Tanveer, F., Iqbal, I., 2019. Role of Microbes in Plant Health, Disease Management, and Abiotic Stress Management, in: Kumar, V., Prasad, R., Kumar, M., Choudhary, D.K.

- (Eds.), *Microbiome in Plant Health and Disease*. Springer Singapore, Singapore, pp. 231–250. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8495-0_11
- Shrivastava, P., Kumar, R., 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J. Biol. Sci.* 22, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>
- Shukla A.K. (2019). Ecology and Diversity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Landscape. In: PGPR amelioration in sustainable agriculture (pp. 1-15). Food Security and Environmental Management :285.
- Silva, L.I. da, Pereira, M.C., Carvalho, A.M.X. de, Buttrós, V.H., Pasqual, M., Dória, J., 2023. Phosphorus-Solubilizing Microorganisms: A Key to Sustainable Agriculture. *Agriculture* 13, 462. <https://doi.org/10.3390/agriculture13020462>
- Singh, A., Singh, I.K. (Eds.), 2018. *Molecular Aspects of Plant-Pathogen Interaction*. Springer Singapore, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-7371-7>
- Singh, C.P., Amberger, A., 1991. Solubilization and Availability of Phosphorus during Decomposition of Rock Phosphate Enriched Straw and Urine. *Biol. Agric. Hortic.* 7, 261–269. <https://doi.org/10.1080/01448765.1991.9754553>
- Singh, M., Singh, D., Gupta, A., Pandey, K.D., Singh, P.K., Kumar, A., 2019. Plant growth promoting rhizobacteria: application in biofertilizers and biocontrol of phytopathogens, in: *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture*. Elsevier, pp. 41–66.
- Singh, M., Srivastava, M., Kumar, A., Singh, A.K., Pandey, K.D., 2020. 4 - Endophytic bacteria in plant disease management, in: Kumar, A., Singh, V.K. (Eds.), *Microbial Endophytes*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, pp. 61–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818734-0.00004-8>
- Singh, S., Kapoor, K.K., 1999. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biol. Fertil. Soils* 28, 139–144. <https://doi.org/10.1007/s003740050475>
- Smith, S.E., Read, D.J., 2010. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press.
- Son, H.-J., Park, G.-T., Cha, M.-S., Heo, M.-S., 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. *Bioresour. Technol.* 97, 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.021>
- Sorensen, J.N., Larsen, J., Jakobsen, I., 2005. Mycorrhiza formation and nutrient concentration in leeks (*Allium porrum*) in relation to previous crop and cover crop management on high P soils. *Plant Soil* 273, 101–114.
- Soumare, A., Sarr, D., Diédhiou, A.G., 2023. Potassium sources, microorganisms and plant nutrition: Challenges and future research directions. *Pedosphere* 33, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.06.025>
- Sperber, J., 1958. Solution of apatite by soil microorganisms producing organic acids. *Aust. J. Agric. Res.* 9, 782. <https://doi.org/10.1071/AR9580782>
- Srivastava, Sonal, Srivastava, Suchi, 2020. Prescience of endogenous regulation in *Arabidopsis thaliana* by *Pseudomonas putida* MTCC 5279 under phosphate starved salinity stress condition. *Sci. Rep.* 10, 5855. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62725-1>
- Stephen, J., Shabanamol, S., Rishad, K.S., Jisha, M.S., 2015. Growth enhancement of rice (*Oryza sativa*) by phosphate solubilizing *Gluconacetobacter* sp. (MTCC 8368) and *Burkholderia* sp. (MTCC 8369) under greenhouse conditions. *3 Biotech* 5, 831–837. <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0286-5>
- Stevenson, F.J., Cole, M.A., 1999. *Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*, 2nd ed. ed. Wiley, New York.
- Suleman M, Yasmin S, Rasul M, Yahya M, Atta BM, Mirza MS. 2018. Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PLoS One* 13(9): e0204408.

- Supanjani, N., Shim Han, H., Sung Jung, J., Dong Lee, K., 2006. Rock phosphate-potassium and rock-solubilising bacteria as alternative, sustainable fertilisers. *Agron. Sustain. Dev.* 26, 233–240.
- Suresh, P., Shanmugaiah, V., Rajagopal, R., Muthusamy, K., Ramamoorthy, V., 2022. *Pseudomonas fluorescens* VSMKU3054 mediated induced systemic resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 119, 101836. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101836>
- Swarnalakshmi, K., Yadav, V., Tyagi, D., Dhar, D.W., Kannepalli, A., Kumar, S., 2020. Significance of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Grain Legumes: Growth Promotion and Crop Production. *Plants* 9, 1596. <https://doi.org/10.3390/plants9111596>
- Swiontek Brzezinska, M., Jankiewicz, U., Burkowska, A., Walczak, M., 2014. Chitinolytic Microorganisms and Their Possible Application in Environmental Protection. *Curr. Microbiol.* 68, 71–81. <https://doi.org/10.1007/s00284-013-0440-4>
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M.S., Shahid, N., Aaliya, K., 2017. Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Appl. Soil Ecol.* 121, 102–117. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.030>
- Tajik, S., Zarinkamar, F., Soltani, B.M., Nazari, M., 2019. Induction of phenolic and flavonoid compounds in leaves of saffron (*Crocus sativus* L.) by salicylic acid. *Sci. Hortic.* 257, 108751. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108751>
- Taktek, S., Trépanier, M., Servin, P.M., St-Arnaud, M., Piché, Y., Fortin, J.-A., Antoun, H., 2015. Trapping of phosphate solubilizing bacteria on hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198. *Soil Biol. Biochem.* 90, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.07.016>
- Tanaka, K.R., Houtan, K.S.V., 2022. The recent normalization of historical marine heat extremes. *PLOS Clim.* 1, e0000007. <https://doi.org/10.1371/journal.pclm.0000007>
- Tank, N., Saraf, M., 2010. Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *J. Plant Interact.* 5, 51–58. <https://doi.org/10.1080/17429140903125848>
- Tarafdar, J.C., Rao, A.V., 1997. Mycorrhizal colonization and nutrient concentration of naturally grown plants on gypsum mine spoils in India. *Agric. Ecosyst. Environ.* 61, 13–18. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(96\)01089-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(96)01089-4)
- Tariq, A., Ahmed, A., 2022. Phosphate Solubilizing Rhizobacteria as Sustainable Management Strategy in Agrobiology, in: *Environmental Sciences*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.108657>
- Teng, Z., Shao, W., Zhang, K., Huo, Y., Li, M., 2019. Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from heavy metal contaminated soils and their potential for lead immobilization. *J. Environ. Manage.* 231, 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.10.012>
- Timofeeva, A., Galyamova, M., Sedykh, S., 2022. Prospects for Using Phosphate-Solubilizing Microorganisms as Natural Fertilizers in Agriculture. *Plants* 11, 2119. <https://doi.org/10.3390/plants11162119>
- Tiwari, S., Lata, C., 2018. Heavy Metal Stress, Signaling, and Tolerance Due to Plant-Associated Microbes: An Overview. *Front. Plant Sci.* 9.
- Trivedi, P., Batista, B.D., Bazany, K.E., Singh, B.K., 2022. Plant–microbiome interactions under a changing world: responses, consequences and perspectives. *New Phytol.* 234, 1951–1959. <https://doi.org/10.1111/nph.18016>
- Turan, M., Ataoğlu, N., Şahin, F., 2006. Evaluation of the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. *J. Sustain. Agric.* 28, 99–108.
- Upadhyay, S.K., Chauhan, P.K., 2022. Optimization of eco-friendly amendments as sustainable asset for salt-tolerant plant growth-promoting bacteria mediated maize (*Zea Mays* L.) plant growth, Na uptake reduction and saline soil restoration. *Environ. Res.* 211, 113081. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113081>

- Urbanova, T., Leubner-Metzger, G., 2016. Gibberellins and seed germination, in: Hedden, P., Thomas, S.G. (Eds.), *Annual Plant Reviews*, Volume 49. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp. 253–284. <https://doi.org/10.1002/9781119210436.ch9>
- Vaghela, N., Gohel, S., 2023. Medicinal plant-associated rhizobacteria enhance the production of pharmaceutically important bioactive compounds under abiotic stress conditions. *J. Basic Microbiol.* 63, 308–325. <https://doi.org/10.1002/jobm.202200361>
- Vallad, G.E., Goodman, R.M., 2004. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture. *Crop Sci.* 44, 1920–1934. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.1920>
- Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M.E., Lopez-Cortes, A., Bashan, Y., 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biol. Fertil. Soils* 30, 460–468. <https://doi.org/10.1007/s003740050024>
- Vijayakumar, A., Rajasekharan, R., 2016. Distinct Roles of Alpha/Beta Hydrolase Domain Containing Proteins. *Biochem. Mol. Biol. J.* 02. <https://doi.org/10.21767/2471-8084.100027>
- Vivekananthan, R., Ravi, M., Ramanathan, A., Samiyappan, R., 2004. Lytic enzymes induced by *Pseudomonas fluorescens* and other biocontrol organisms mediate defence against the anthracnose pathogen in mango. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 20, 235–244. <https://doi.org/10.1023/B:WIBI.0000023826.30426.f5>
- Vocciante, M., Grifoni, M., Fusini, D., Petruzzelli, G., Franchi, E., 2022. The Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Mitigating Plant's Environmental Stresses. *Appl. Sci.* 12, 1231. <https://doi.org/10.3390/app12031231>
- Volpiano, C.G., Lisboa, B.B., Granada, C.E., José, J.F.B.S., de Oliveira, A.M.R., Beneduzi, A., Perevalova, Y., Passaglia, L.M.P., Vargas, L.K., 2019. Rhizobia for Biological Control of Plant Diseases, in: Kumar, V., Prasad, R., Kumar, M., Choudhary, D.K. (Eds.), *Microbiome in Plant Health and Disease: Challenges and Opportunities*. Springer, Singapore, pp. 315–336. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8495-0_14
- Vurukonda, S.S.K.P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., Shaik, Z.A., 2015. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiol. Res.* 184. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>
- Wagi, S., Ahmed, A., 2019. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA. *PeerJ* 7, e7258. <https://doi.org/10.7717/peerj.7258>
- Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M.H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W., Mumtaz, S., Yasin, G., Muresan, C.C., Marc, R.A., 2022. Plants' Physio-Biochemical and Phyto-Hormonal Responses to Alleviate the Adverse Effects of Drought Stress: A Comprehensive Review. *Plants* 11, 1620. <https://doi.org/10.3390/plants11131620>
- Walan, P., Davidsson, S., Johansson, S., Höök, M., 2014. Phosphate rock production and depletion: Regional disaggregated modeling and global implications. *Resour. Conserv. Recycl.* 93, 178–187. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2014.10.011>
- Wang, R., Wang, C., Feng, Q., Liou, R.-M., Lin, and Y.-F., 2021. Biological Inoculant of Salt-Tolerant Bacteria for Plant Growth Stimulation under Different Saline Soil Conditions 31, 398–407. <https://doi.org/10.4014/jmb.2009.09032>
- Wang, R., Zhang, H., Sun, L., Qi, G., Chen, S., Zhao, X., 2017. Microbial community composition is related to soil biological and chemical properties and bacterial wilt outbreak. *Sci. Rep.* 7, 343. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00472-6>
- Wang, S.-Y., Shi, X.-C., Chen, X., Laborda, Pablo, Zhao, Y.-Y., Liu, F.-Q., Laborda, Pedro, 2021. Biocontrol ability of phenazine-producing strains for the management of fungal plant pathogens: A review. *Biol. Control* 155, 104548. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104548>
- Wang, Y., Zhang, G., Huang, Y., Guo, M., Song, J., Zhang, T., Long, Y., Wang, B., Liu, H., 2022. A Potential Biofertilizer—Siderophilic Bacteria Isolated From the Rhizosphere of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*. *Front. Microbiol.* 13.

- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Yanping, Geng, W., 2021. Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 9.
- Wei, Y., Zhao, Y., Shi, M., Cao, Z., Lu, Q., Yang, T., Fan, Y., Wei, Z., 2018. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresour. Technol.* 247, 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.092>
- Wei, G., Kloepper, J. W., & Tuzun, S. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, 81(11), 1508-1512.
- Xiao, T., Yang, Q., Ran, W., Xu, G., Shen, Q., 2010. Effect of Inoculation with Arbuscular Mycorrhizal Fungus on Nitrogen and Phosphorus Utilization in Upland Rice-Mungbean Intercropping System. *Agric. Sci. China* 9, 528–535. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60126-7](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60126-7)
- Xu, J., Huang, L., Chen, C., Wang, J., Long, X., 2019a. Effective lead immobilization by phosphate rock solubilization mediated by phosphate rock amendment and phosphate solubilizing bacteria. *Chemosphere* 237, 124540. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124540>
- Xu, J., Huang, L., Chen, C., Wang, J., Long, X., 2019b. Effective lead immobilization by phosphate rock solubilization mediated by phosphate rock amendment and phosphate solubilizing bacteria. *Chemosphere* 237, 124540. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124540>
- Yadav, A.N., Singh, J., Rastegari, A.A., Yadav, N. (Eds.), 2020. *Plant Microbiomes for Sustainable Agriculture, Sustainable Development and Biodiversity*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-38453-1>
- Yadav, R.S., Kumar, M., Santra, P., Meena, H.M., Meena, H.N., 2023. Plant Growth-Promoting Microbes: The Potential Phosphorus Solubilizers in Soils of Arid Agro-Ecosystem, in: Mawar, R., Sayyed, R.Z., Sharma, S.K., Sattiraju, K.S. (Eds.), *Plant Growth Promoting Microorganisms of Arid Region*. Springer Nature, Singapore, pp. 71–92. https://doi.org/10.1007/978-981-19-4124-5_4
- Yamaguchi, S., 2008. Gibberellin Metabolism and its Regulation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 225–251. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092804>
- You, M., Fang, S., MacDonald, J., Xu, J., Yuan, Z.-C., 2020. Isolation and characterization of *Burkholderia cenocepacia* CR318, a phosphate solubilizing bacterium promoting corn growth. *Microbiol. Res.* 233, 126395. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126395>
- Young, R.E., Gann, G.D., Walder, B., Liu, J., Cui, W., Newton, V., Nelson, C.R., Tashe, N., Jasper, D., Silveira, F.A.O., Carrick, P.J., Hägglund, T., Carlsén, S., Dixon, K., 2022. International principles and standards for the ecological restoration and recovery of mine sites. *Restor. Ecol.* 30, e13771. <https://doi.org/10.1111/rec.13771>
- Yu, L.-Y., Huang, H.-B., Wang, X.-H., Li, S., Feng, N.-X., Zhao, H.-M., Huang, X.-P., Li, Y.-W., Li, H., Cai, Q.-Y., Mo, C.-H., 2019. Novel phosphate-solubilising bacteria isolated from sewage sludge and the mechanism of phosphate solubilisation. *Sci. Total Environ.* 658, 474–484. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.166>
- Zafar-ul-Hye, M., Danish, S., Abbas, M., Ahmad, M., Munir, T.M., 2019. ACC Deaminase Producing PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* and *Agrobacterium fabrum* along with Biochar Improve Wheat Productivity under Drought Stress. *Agronomy* 9, 343. <https://doi.org/10.3390/agronomy9070343>
- Zaidi, A., Ahemad, M., M., O., Ahmad, E., Khan, M., 2010. Role of Phosphate-Solubilizing Bacteria in Legume Improvement. pp. 273–292. https://doi.org/10.1007/978-3-211-99753-6_11
- Zaidi, A., Khan, M., Ahemad, M., Oves, M., 2009. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 56, 263–284. <https://doi.org/10.1556/AMicr.56.2009.3.6>

- Zeng, Q., Wu, X., Wen, X., 2016. Effects of Soluble Phosphate on Phosphate-Solubilizing Characteristics and Expression of *gcd* Gene in *Pseudomonas frederiksbergensis* JW-SD2. *Curr. Microbiol.* 72, 198–206. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0938-z>
- Zhang, D.-J., Yang, Y.-J., Liu, C.-Y., Zhang, F., Hu, W., Gong, S.-B., Wu, Q.-S., 2018. Auxin modulates root-hair growth through its signaling pathway in citrus. *Sci. Hortic.* 236, 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.038>
- Zhang, M., Gao, C., Xu, L., Niu, H., Liu, Q., Huang, Y., Lv, G., Yang, H., Li, M., 2022. Melatonin and Indole-3-Acetic Acid Synergistically Regulate Plant Growth and Stress Resistance. *Cells* 11, 3250. <https://doi.org/10.3390/cells11203250>
- Zhang, S., Fan, C., Wang, Y., Xia, Y., Xiao, W., Cui, X., 2018. Salt-tolerant and plant-growth-promoting bacteria isolated from high-yield paddy soil. *Can. J. Microbiol.* 64, 968–978. <https://doi.org/10.1139/cjm-2017-0571>
- Zhao, J., Wang, Y., Liang, H., Huang, J., Chen, Z., Nie, Y., 2018. The rhizosphere microbial community response to a bio-organic fertilizer: finding the mechanisms behind the suppression of watermelon *Fusarium* wilt disease. *Acta Physiol. Plant.* 40, 1–14.
- Zhao, K., Penttinen, P., Zhang, X., Ao, X., Liu, M., Yu, X., Chen, Q., 2014. Maize rhizosphere in Sichuan, China, hosts plant growth promoting *Burkholderia cepacia* with phosphate solubilizing and antifungal abilities. *Microbiol. Res.* 169, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.003>
- Zhu, J., Tan, T., Shen, A., Yang, X., Yu, Y., Gao, C., Li, Z., Cheng, Y., Chen, J., Guo, L., 2020. Biocontrol potential of *Bacillus subtilis* IBFCBF-4 against *Fusarium* wilt of watermelon. *J. Plant Pathol.* 102, 433–441.
- Zhuang, X., Chen, J., Shim, H., Bai, Z., 2007. New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. *Environ. Int.* 33, 406–413. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.12.005>
- Zia, R., Nawaz, M.S., Siddique, M.J., Hakim, S., Imran, A., 2021. Plant survival under drought stress: Implications, adaptive responses, and integrated rhizosphere management strategy for stress mitigation. *Microbiol. Res.* 242, 126626. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126626>
- Zinck, J., Griffith, W., 2013. Review of Mine Drainage Treatment and Sludge Management Operations [WWW Document]. [Https://mend-nedemorgmend-Reportreview--Mine-Drain.-Treat.-Sludge-Manag.-Oper.](https://mend-nedemorgmend-Reportreview--Mine-Drain.-Treat.-Sludge-Manag.-Oper.) URL <https://mend-nedem.org/mend-report/review-of-mine-drainage-treatment-and-sludge-management-operations/> (accessed 4.12.23).
- Zinck, J.M., Aube, B.C., 2000. Optimization of lime treatment processes. *CIM Bull.* 93, 98–105.