

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 21/12/2023 par :
Abdessamad SALLAMI

Biodiversité, screening et évaluation des performances agronomiques de bactéries PGPR isolées de la rhizosphère d'oliviers cultivés dans des oasis marocaines

JURY

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

Année Universitaire : 2023/2024

Dédicaces

A mes chers parents

C'est grâce à votre dévouement et à votre amour inconditionnel que j'ai pu poursuivre de longues études et réaliser mon rêve. Vous avez toujours cru en moi, même lorsque je doutais de moi-même. Si j'en suis là aujourd'hui, c'est grâce à vos sacrifices. Vous avez tout donné pour mon bonheur et mon épanouissement. J'espère être digne de vos efforts et vous rendre fiers. Aucun mot ne saurait exprimer l'amour infini et la reconnaissance éternelle que je vous porte. Vous avez toute ma gratitude pour le soutien indéfectible et le dévouement dont vous avez fait preuve tout au long de mon parcours.

A ma chère grand-mère

Vos prières et vos bénédictions bienveillantes m'ont accompagnée tout au long de ces longues années d'études. Dans les moments de doutes et de difficultés, me rappeler de votre soutien infaillible m'a permis de puiser la force d'avancer. Votre générosité, votre douceur et votre foi me guident depuis mon enfance. J'espère vous rendre fière et honorer les valeurs de compassion et de courage que vous m'avez transmises. Puisse le Tout Puissant vous accorder de longues et heureuses années auprès de nous.

À mes chères sœurs

Je tiens à vous témoigner par ces quelques mots toute l'affection et l'attachement que je vous porte. Votre joie de vivre et votre gentillesse ont illuminé mon enfance de souvenirs impérissables. Mon affection pour vous reste infinie. Je vous souhaite le meilleur, que la vie vous comble de bonheur, de réussites et d'épanouissement. Sachez que je serai toujours présent pour vous.

À mon cher professeur

Il m'est impossible de vous exprimer pleinement ma reconnaissance pour votre soutien indéfectible tout au long de ces années d'études. Vos encouragements bienveillants aux moments de doutes m'ont permis d'avancer avec confiance. Votre rigueur intellectuelle et votre générosité d'esprit force l'admiration. Grâce à vous, j'ai non seulement grandi sur le plan académique, mais aussi sur le plan humain. Veuillez accepter, très cher Professeur, mes sincères remerciements ainsi que le profond respect que je vous porte pour l'exemple que vous représentez. Si j'en suis là aujourd'hui, c'est en grande partie grâce à vous.

Avant-propos

*Le travail que j'ai l'honneur de présenter dans ce document a été réalisé au laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire (LMBM) de la Faculté des Sciences de Rabat (FSR), Université Mohammed V de Rabat, dans le cadre du projet Rhizolive financé par l'Académie Hassan II des Sciences et Techniques de Rabat. Ce travail a été supervisé dans un premier temps par Monsieur **Abdelkarim FILALI-MALTOUF**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, qui a ensuite passé le relais à Madame **Leila MEDRAOUI**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, sous la direction de laquelle ce travail a pu être mené à terme.*

*Mes premiers remerciements vont à mon encadrant et directeur de thèse, Monsieur **Abdelkarim FILALI-MALTOUF**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, Je vous exprime ma profonde gratitude pour m'avoir accueilli au sein de votre équipe de recherche lorsque vous étiez encore directeur du LMBM. Votre encadrement éclairé, vos conseils avisés ainsi que votre bienveillance ont largement contribué à la bonne réalisation de ce travail de thèse et à mon épanouissement scientifique. Nos nombreuses discussions constructives sur les différentes problématiques abordées dans ce projet ont constitué un apport intellectuel inestimable. Votre approche rigoureuse, votre expérience reconnue et votre engagement indéfectible à mes côtés ont été déterminants. Soyez assuré de ma reconnaissance sincère et éternelle pour le soutien tant scientifique qu'humain que vous m'avez apporté au cours de ce parcours. Votre influence positive marquera à jamais mon esprit et mon cœur.*

*Je tiens à remercier chaleureusement Madame **Leila MEDRAOUI**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, Je vous adresse mes plus chaleureux remerciements pour votre encadrement bienveillant tout au long de ce travail de thèse. Votre accueil dès mon premier jour au laboratoire et votre aide précieuse pour mon intégration m'ont permis de me sentir rapidement à l'aise dans cette nouvelle équipe. Au-delà de l'encadrement scientifique de qualité que vous m'avez prodigué, vous avez toujours été présente pour me soutenir moralement et me donner la force d'avancer dans les moments de doute. C'est en grande partie grâce à vos qualités humaines exceptionnelles et à votre engagement profond à mes côtés que ce projet a pu être mené à bien. Je tiens à vous exprimer toute ma gratitude pour avoir cru en mes capacités et pour tous les efforts que vous avez personnellement investis.*

*Mes sincères remerciements et ma gratitude vont à Monsieur **Cherkaoui EL MODAFAR**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse et pour son soutien durant toute la période de réalisation 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 Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.*

*Je remercie profondément ma chère professeur Mme **Bouchra BELKADI**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, c'est un honneur pour moi que vous ayez accepté d'être la rapporteuse de mon travail de thèse malgré vos responsabilités multiples ; Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements les plus sincères et ma profonde gratitude.*

*Je tiens aussi à exprimer ma gratitude envers Mme **Imane WAHBY**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, pour avoir accepté d'être la rapporteuse de mon travail de thèse. Chère professeure, je tiens à vous adresser mes sincères remerciements pour le temps que vous avez consacré à cette évaluation et pour votre bienveillance.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur **Abdelilah MEDDICH**, professeur à la Faculté des Sciences et techniques de Marrakech, qui a eu l'amabilité d'accepter d'être rapporteur pour cette thèse. Je le remercie chaleureusement pour le temps qu'il a consacré à l'évaluation de ce travail, et je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance.*

*Mes plus sincères remerciements vont à Monsieur **Allal DOUIRA**, Professeur à la Faculté des Sciences de l'Université Ibn Tofail de Kénitra, qui me fait l'honneur d'être l'examineur de ce travail. Je vous suis extrêmement reconnaissant de m'avoir guidé et conseillé durant la préparation de cette thèse. Merci infiniment de m'avoir accueilli au sein de votre équipe et de m'avoir fait bénéficier de vos précieux conseils avisés ainsi que de votre expertise scientifique. Merci d'avoir mis votre serre à ma disposition durant deux ans. Votre soutien indéfectible et vos encouragements ont été déterminants pour mener à bien ce travail. Soyez assuré, Monsieur le Professeur, de ma plus profonde gratitude.*

*Qu'il me soit permis d'exprimer mes vifs remerciements à Monsieur **Saad IBNSOUDA KORAICHI** de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, qui a bien voulu examiner et critiquer ce travail de recherche et se déplacer pour siéger parmi ce jury de thèse. Je suis très honoré par sa présence et je lui exprime mes sincères sentiments de respect.*

*Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce travail, en particulier mes précieuses collègues **Houda ZOUAGUI** et **Rahma ZOUAGUI**. Je tiens à souligner le plaisir que j'ai eu à collaborer avec elles, ainsi que les échanges et les conversations enrichissantes que nous avons partagés au quotidien.*

*Un remerciement particulier à mes chers amis et frères, **Karim RABEH**, **Farid RACHIDI**, **Mohammed HNINI**, et à leurs familles, pour leur soutien constant dans les moments de bonheur comme de peine. Merci infiniment d'avoir été des compagnons fidèles tout au long de cette aventure.*

Résumé

Cette thèse se consacre à l'étude de la diversité et des fonctions des communautés microbiennes associées à *Olea europaea* (olivier) dans les sols de trois régions au Maroc : Zouala, Errachidia et Essaouira. L'objectif principal de cette recherche est de mieux appréhender les interactions entre ces communautés microbiennes et les oliviers, tout en évaluant leur potentiel en tant que agents favorisant la croissance, stimulateurs et protecteurs biologiques pour les arbres d'olivier. Pour atteindre cet objectif, les bactéries prélevées de la rhizosphère de l'olivier ont été caractérisées en termes de leur résistance aux stress (thermique et salin) et de leurs traits de promotion de la croissance des plantes *in vitro*. Pour explorer la diversité bactérienne, des techniques moléculaires telles que la Rep-PCR et le séquençage de l'ADNr 16S ont été utilisées. Les résultats ont mis en évidence des profils bactériens spécifiques à chaque région étudiée. De plus, plusieurs souches bactériennes ont montré une résistance aux stress et diverses activités bénéfiques pour les plantes, notamment la solubilisation du phosphate et du potassium, la production d'auxine, la sécrétion de sidérophores et la synthèse d'exopolysaccharides. Deux souches particulièrement performantes ont été sélectionnées pour des études plus approfondies, notamment en ce qui concerne la variation de la source de phosphate et l'impact du stress hydrique et salin sur certains de leurs traits de promotion de la croissance. Par exemple, la souche *Pantoea* a montré une capacité accrue à produire de l'auxine (AIA) et des exopolysaccharides (EPS) en réponse au stress. De plus, ces deux souches ont démontré une capacité à inhiber la croissance du pathogène *Verticillium dahliae in vitro*. Par la suite, ces deux souches ont été inoculées dans de jeunes plants d'olivier, à la fois en l'absence et en présence du pathogène. Les résultats ont révélé une amélioration significative des paramètres de croissance chez les plantes inoculées avec la souche MRCZO97 dans les traitements (sans pathogène). En ce qui concerne les traitements en présence du pathogène, MRCZO97 et MRCZO17, ainsi que leur combinaison MRCZO97 + MRCZO17, ont montré une amélioration de plusieurs paramètres de croissance et une réduction significative de l'incidence de la maladie sur les plantes infectées par rapport aux plantes témoins.

Mots-clés : Diversité bactérienne, *Olea europaea*, rhizosphère, Promotion de la croissance des plantes, *Verticillium dahliae*, inoculation.

Abstract

This thesis is dedicated to studying the diversity and functions of microbial communities associated with *Olea europaea* (olive trees) in the soils of three regions in Morocco: Zouala, Errachidia, and Essaouira. The primary objective of this research is to better understand the interactions between these microbial communities and olive trees, while assessing their potential as agents promoting growth, stimulants, and biological protectors for olive trees. To achieve this goal, bacteria taken from the olive tree rhizosphere were characterized in terms of their resistance to stress (thermal and saline) and their plant growth-promoting traits *in vitro*. Molecular techniques such as Rep-PCR and 16S rDNA sequencing were used to explore bacterial diversity. The results revealed specific bacterial profiles in each region studied. Additionally, several bacterial strains displayed resistance to stress and various beneficial activities for plants, including phosphate and potassium solubilization, auxin production, siderophore secretion, and exopolysaccharide synthesis. Two particularly effective strains were selected for further studies, including the variation of phosphate source and the impact of water and salt stress on certain growth-promoting traits. For instance, the *Pantoea* strain showed an increased capacity to produce auxin (AIA) and exopolysaccharides (EPS) in response to stress. Furthermore, these two strains demonstrated an ability to inhibit the growth of the *Verticillium dahliae* pathogen *in vitro*. Subsequently, these two strains were inoculated into young olive plants, both in the absence and presence of the pathogen. The results revealed a significant improvement in growth parameters in plants inoculated with the MRCZO97 strain in treatments (without the pathogen). In treatments where the pathogen was present, MRCZO97 and MRCZO17, as well as their combination MRCZO97 + MRCZO17, showed improvements in several growth parameters and a significant reduction in disease incidence in infected plants compared to control plants.

Keywords: Bacterial diversity, *Olea europaea*, rhizosphere, Plant growth promotion, *Verticillium dahliae*, inoculation.

Production scientifique

Publications

Sallami, A., Rabeh, K., Idrissi Lahsini, A., El Khedri, H., Douira, A., El Modafar, C., Medraoui, L., Filali-Maltouf, A., 2023a. The ability of two indigenous bacteria isolated from Moroccan olive tree to promote the growth of olive seedlings in the presence of the pathogen *Verticillium dahliae*. *Biocontrol Sci. Technol.* 33, 963–984. <https://doi.org/10.1080/09583157.2023.2263185>

Sallami, A., Rachidi, F., Lahsini, A.I., El Khedri, H., Douira, A., El Modafar, C., Medraoui, L., Filali-Maltouf, A., 2023b. Plant Growth Promoting (PGP) Performances and Diversity of Bacterial Species Isolated from Olive (*Olea europaea L.*) Rhizosphere in Arid and Semi-arid Regions of Morocco. *J. Pure Appl. Microbiol.* <https://doi.org/10.22207/JPAM.17.4.13>

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>

Communications

Sallami, A., Filali-Maltouf, A.,. Caractérisation physiologique et moléculaire des bactéries de la rhizosphère de l'olivier du sud du Maroc. Communication affichée à la Journée scientifique "Screening des microorganismes de la rhizosphère de l'olivier au Maroc : Vers la formulation d'un complexe mycorhizes-bactéries stimulant la croissance et induisant la tolérance de l'olivier à la verticilliose. 16 Décembre 2019 à Kénitra, Maroc.

Liste des Figures

Figure 1: Caractéristiques morphologiques de <i>Verticillium dahliae</i>	8
Figure 2: Olivier infecté par <i>Verticillium dahliae</i>	9
Figure 3 : Les mécanismes impliqués dans la colonisation des racines par les PGPR.	13
Figure 4:L'influence des PGPR sur la structure racinaire, l'absorption des nutriments et le fonctionnement des racines.....	15
Figure 5: Fonctionnement du système gène-pour-gène	17
Figure 6: Les phases de déclenchement de la résistance systémique chez les plantes	19
Figure 7: Les différentes techniques de génotypages des bactéries.....	20
Figure 8:Rôles des phytohormones dans le développement des végétaux	22
Figure 9: Schéma illustrant comment les PGPR produisant l'ACC désaminase préviennent l'accumulation de l'éthylène	25
Figure 10 : Dynamique de la mobilisation du phosphore dans le sol : Principaux processus en lumière	27
Figure 11 : Les stratégies employées par les PGPR pour atténuer le stress hydrique	32
Figure 12 : L'implication des PGPR halotolérantes dans l'atténuation du stress salin	33
Figure 13 : Divers mécanismes de biocontrôle mis en œuvre par les PGPR.....	34
Figure 14 : Les avantages et les inconvénients de l'utilisation de biofertilisants	38

Liste des Abréviations

ACC désaminase 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase
ADN Acide Deoxyribonucleique
AFLP Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés.
AHL N-acyl homosérine lactones
AIA Acide indole-3-acétique
AMF Champignons mycorhiziens à arbuscules
APX Ascorbate peroxydase
ARN Acide ribonucléique
CAT Catalase
DAPG Phloroglucinol 2,4- diacétyle
ECM Ectomycorhizes
EPS Exopolysaccharides
ERIC-PCR Séquences intergéniques répétitives entérobactériennes,
ET Ethylène
GA Gibbérellines
HCN Hydrogen Cyanide
IAM Indole-3-acetamide
IAN Indole-3-acétonitrile
IPT Isopentenyltransférase
IPyA Acide indole-3-pyruvique
ISR Résistance systémique induite
JA Acide jasmonique
MAMPs Microbial-Associated Molecular Pattern
PAMPs Pathogen-Associated Molecular Pattern
PCR Polymerase Chain Reaction
PGPF Plant growth-promoting fungi
PGPR Plant Growth-Promoting Rhizobacteria
PGPR Plant Growth-Promoting Rhizobacteria
PRR Pattern-triggered immunity
PSB Phosphate Solubilizing Bacteria
QQ Quorum quenching
QS Quorum sensing
Rep-PCR Repetitive Element Palindromic PCR
RFLP Polymorphisme de longueur des fragments de restriction,
ROS Espèces réactives de l'oxygène
SA Acide salicylique
SAR Résistance systémique acquise
SOD Superoxyde dismutase
VOC Composés organiques volatils

Sommaire

Dédicaces	i
Avant-propos	ii
Résumé	iv
Abstract	v
Production scientifique	vi
Liste des Figures	vii
Liste des Abréviations	viii
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1. Contexte de l'étude.....	1
2. Objectifs et organisation de la thèse	3
Chapitre I : Introduction	5
I.1. Aperçu général sur l'olivier	5
I.1.1. Cycle végétatif et productif et exigences agro-écologiques de l'olivier	5
I.1.2. Les maladies de l'olivier	6
I.2. Relation Plantes-Rhizosphère-Microorganismes.....	9
I.2.1. La rhizosphère	9
I.2.2. Relations plante-microbiome.....	10
I.2.3. La plante recrute son propre microbiome.....	11
I.2.4. La colonisation des racines par les bactéries bénéfiques	13
I.2.5. Rôle du microbiome dans l'architecture racinaire.....	15
I.2.6. Immunité des plantes.....	16
I.2.7. Techniques d'étude de la biodiversité rhizobactérienne.....	19
I.3. Modes d'action des PGPR.....	21
I.3.1. Phytostimulation par les PGPR.....	21

<i>I.3.1.1. Production de phytohormones.....</i>	<i>21</i>
<i>I.3.1.2. Production d'ACC désaminase</i>	<i>24</i>
I.3.2. Biofertilisation par les PGPR	25
<i>I.3.2.1. Fixation de l'azote</i>	<i>25</i>
<i>I.3.2.2. Solubilisation du phosphate</i>	<i>26</i>
<i>I.3.2.3. Solubilisation du potassium.....</i>	<i>28</i>
<i>I.3.2.4. Production de sidérophores.....</i>	<i>29</i>
<i>I.3.2.5. Production d'exopolysaccharides</i>	<i>30</i>
I.3.3. Contrôle du stress abiotique par les PGPR.....	31
<i>I.3.3.1. Stress hydrique.....</i>	<i>31</i>
<i>I.3.3.2. Stress salin.....</i>	<i>32</i>
I.3.4. Lutte biologique par les PGPR.....	34
<i>I.3.4.1. Antibiose.....</i>	<i>35</i>
<i>I.3.4.2. Compétition pour l'espace et les nutriments.....</i>	<i>36</i>
I.4. Interaction entre champignons et PGPR dans la rhizosphère.	36
I.4.1. Symbiose mycorhizienne entre champignons et plantes	36
I.4.2. Interactions bénéfiques entre champignons et PGPR.....	37
I.5. Avantages et inconvénients de l'utilisation des PGPR en agriculture.....	38
Chapitre II : Isolement et caractérisation des rhizobactéries de l'olivier.....	40
II.1. Contexte	40
II.2. Article 1 : Plant Growth Promoting (PGP) performances and diversity of bacterial species isolated from olive (<i>Olea europaea L.</i>) rhizosphere in arid and semi-arid regions of Morocco.....	40
.....	41
II.3. Synthèse.....	55
Chapitre III. L'effet de deux souches gram négatif sur la croissance de l'olivier et sa protection contre le pathogène <i>Verticillium dahliae</i> agent de la verticilliose.....	58

III.1. Contexte	58
III.2. Article 2 : The ability of two indigenous bacteria isolated from Moroccan olive tree to promote the growth of olive seedlings in the presence of the pathogen <i>verticillium dahliae</i>.....	58
III.3. Synthèse	82
Discussion Générale	86
Conclusion Générale et Perspectives	95
Références Bibliographiques	97

Introduction générale

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1. Contexte de l'étude

Depuis l'Antiquité, l'observation humaine a permis de distinguer les différents types de sol, de comprendre leur fertilité et de reconnaître l'importance de l'eau dans l'agriculture (Irwin, 2020). Les Incas, par exemple, utilisaient déjà le guano il y a plus de 4000 ans (Rodrigues and Micael, 2021), témoignant ainsi de leur compréhension ancienne de l'importance de la nutrition des plantes. Cependant, ce n'est qu'au début du XXe siècle que la science du sol a véritablement émergé (Brevik and Hartemink, 2010). Les scientifiques ont alors commencé à appréhender la relation complexe entre le sol et les plantes. Cette période de développement scientifique a également coïncidé avec la mécanisation de l'agriculture ainsi que l'invention des engrais et des pesticides (Bodenstedt, 1981; Lasley et al., 1990). La deuxième révolution agricole qui en a découlé a permis à l'humanité d'atteindre une certaine autosuffisance alimentaire. Toutefois, avec une population mondiale qui ne cesse de croître et qui est estimée atteindre 9 milliards d'ici 2050 (Tomlinson, 2013), la nécessité d'accroître la production agricole se fait de plus en plus pressante.

Malheureusement, cette stratégie se heurte à plusieurs défis, tels que la sécheresse, la salinité et la pollution des sols (Havugimana et al., 2017; Liu et al., 2016; Zörb et al., 2019). L'agriculture intensive moderne, caractérisée par une utilisation intensive d'engrais et de pesticides, est l'une des principales causes de la dégradation des sols, rendant certains d'entre eux impropres à l'exploitation agricole (Richmond, 2015). De plus, le processus de fabrication des engrais génère une pollution considérable, tandis que les réserves mondiales de matières premières nécessaires à leur production s'épuisent progressivement (Herring and Fantel, 1993). Il devient donc urgent de trouver des alternatives pour promouvoir une agriculture durable et écoresponsable.

L'olivier (*Olea europaea L.*) joue un rôle prépondérant sur le marché alimentaire mondial en raison de la demande croissante de produits tels que les olives et l'huile d'olive. Cependant, pour assurer une production optimale, l'olivier, comme toute plante, nécessite une nutrition adéquate et une protection contre certaines maladies.

L'olivier est sujet à plusieurs maladies causées par divers pathogènes (Bizos et al., 2020), et il est important de noter que les infections pathogènes, qu'elles soient dues à des bactéries, des virus ou des champignons, entraînent des pertes économiques significatives, contribuant à une diminution de la production agricole mondiale annuelle. Environ 20 à 40% de ces pertes sont

attribuables à ces infections pathogènes. Par exemple, la verticilliose est largement répandue dans toutes les régions méditerranéennes et constitue l'un des principaux facteurs limitants de la production d'huile d'olive (Jiménez-Díaz et al., 2012; Landa et al., 2019). Au Maroc, la propagation de la verticilliose est alarmante, avec une infection constatée dans presque toutes les régions oléicoles du royaume (Cherrab et al., 2002; Barguigua et al., 2019). Les conséquences de la verticilliose incluent des taux élevés de mortalité des arbres et une réduction du rendement en fruits. Malheureusement, les stratégies actuelles de gestion de la maladie sont limitées car les fongicides disponibles ne sont pas efficaces pour lutter contre cette maladie (Ziazia et al., 2021).

Il est évident que nos connaissances concernant la diversité microbienne dans la rhizosphère des végétaux se sont améliorées grâce aux avancées en biologie moléculaire. Ces progrès ont permis de mettre en évidence la présence d'une multitude de microorganismes dans le sol, suscitant ainsi l'étonnement face à la minorité de ces microorganismes qui présentent un potentiel pathogène pour les végétaux, tandis que la majorité d'entre eux jouent un rôle prépondérant dans la croissance et la protection des plantes. Les bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPB) (Ramakrishna et al., 2019) et les champignons favorisant la croissance des plantes (PGPF) (Hossain et al., 2017) sont des exemples de microorganismes qui contribuent de manière bénéfique aux fonctions vitales des végétaux.

Au cours des dernières années, les biofertilisants respectueux de l'environnement ont émergé comme une alternative préférentielle aux engrais chimiques dans les pratiques agricoles durables (Mishra et al., 2019). Ces biofertilisants exploitent les microorganismes du sol pour décomposer la matière organique en nutriments facilement assimilables par les plantes. En améliorant les caractéristiques biologiques du sol, ils favorisent l'absorption des éléments nutritifs minéraux comme l'azote, le phosphate ou le potassium, afin de compenser les carences dans la zone racinaire et d'en faciliter l'assimilation par les plantes (Kaymak, 2011; Ahmad et al., 2016; Elhaissofi et al., 2022). Les microorganismes établissent des relations symbiotiques dans la rhizosphère ou on trouve des genres comme *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Burkholderia* et *Micrococcous* (Hassan et al., 2019; Chandran et al., 2021) ainsi qu'au sein des espaces intercellulaires et apoplastiques des plantes hôtes ou on trouve des genres comme (*Burkholderia*, *Methylobacterium*, *Sphingomonas* *Methylobacterium*, *Herbaspirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, et *Pantoea* (Rosenblueth and Martínez-Romero, 2006; Santoyo et al., 2016). Outre leur capacité à solubiliser les éléments nutritifs

minéraux, ces microorganismes régulent également la production d'hormones de croissance végétale telles que l'acide indoleacétique (IAA), les cytokinines (CK) et les gibbérellines (GA), tout en inhibant la production d'éthylène via la production de l'enzyme ACC désaminase (Penrose and Glick, 2003; Maheshwari et al., 2015), sans cité leur rôle actif dans la protection des plantes en synthétisant des molécules susceptibles d'inhiber la croissance des agents pathogènes ou de provoquer l'activation des systèmes de défense des plantes (Van Peer et al., 1991; Someya et al., 2001; Raaijmakers et al., 2002). Ces interactions favorables soutiennent efficacement la croissance des plantes, entraînant une amélioration globale de la productivité. Les découvertes récentes soulignent donc l'importance cruciale des microorganismes du sol dans les interactions bénéfiques établies avec les plantes, ouvrant ainsi la voie à des approches agricoles plus durables et efficaces.

Cette dernière décennie a vu émerger plusieurs études prouvant l'importance de l'utilisation des PGPR dans la promotion de la croissance et dans la protection des oliviers contre les maladies et les stress (Bizos et al., 2020). On a été témoin d'un intérêt grandissant pour les PGPR résistant au stress pouvant s'adapter dans des environnements hostiles (Abbas et al., 2019). De cela a découlé l'idée de viser des régions connues pour un climat semi-aride à aride et connues pour la culture d'olivier à petite échelle pour explorer (i) : la diversité microbienne de ses régions (ii) : leurs caractères de promotion de la croissance et de biocontrôle. Ainsi notre choix est dévolu sur trois sites d'échantillonnage représentés par deux oasis (Zouala et Errachidia) caractérisées comme zones arides, et la région d'Essaouira caractérisée comme semi-aride, partant de l'hypothèse que les rhizosphères des oliviers de ces régions peuvent receler des bactéries intéressantes.

2. Objectifs et organisation de la thèse

Le principal objectif de cette thèse doctorale est d'étudier la diversité génétique et fonctionnelle des populations bactériennes associées à *Olea europaea* isolées de trois régions du Maroc. De même, cette étude a également pour but d'identifier des souches bactériennes démontrant un fort potentiel en termes d'interaction bénéfique avec la plante hôte, ce qui permettrait d'envisager par la suite la formulation de bio-inoculums performants permettant l'utilisation de ces bactéries comme biofertilisant, biostimulant et Bioprotectant pour les plantes de l'olivier marocain.

Plusieurs objectifs ont été fixés :

- Etudier tolérance au stress et les traits de promotion de croissance des plantes des rhizobactéries associées à l'olivier
- Etudier la diversité génétique et fonctionnelle de ces rhizobactéries, et analyser la diversité inter et intra région
- Sélectionner quelques bactéries performantes qui ont montré une bonne tolérance aux stress ainsi que des bons traits de promotion de croissance des plantes, pour les inoculer à des jeunes plantes d'olivier
- Etudier l'effet des bactéries sélectionnées sur la promotion de la croissance de l'olivier en présence et en absence du pathogène *Verticillium dahliae*.

Ce manuscrit se décline en 3 chapitres. Le premier chapitre est une synthèse bibliographique qui a pour but de réunir les connaissances actuelles sur le sol, la rhizosphère, les microorganismes rhizosphériques, l'interaction plante-microbiote, ainsi que les différentes interactions bénéfiques que les rhizobactéries entretiennent avec les plantes, telles que la promotion de la croissance et la protection contre les stress biotiques et abiotiques

Le deuxième chapitre de cette thèse présenté sous forme d'article "Plant growth Promoting (PGP) Performances and diversity of bacterial species isolated from Olive (*Olea europaea* L.) rhizosphere in arid and semi-arid regions of Morocco " porte sur la caractérisation et l'étude de la diversité des rhizobactéries cultivables associées à l'olivier marocain.

Le troisième chapitre de cette thèse présenté sous forme d'article "The ability of two indigenous bacteria isolated from Moroccan olive tree to promote the growth of olive seedlings in the presence of the pathogen *Verticillium dahliae*" concerne l'étude de l'effet de deux souches sélectionnées sur la promotion de la croissance et la protection de l'olivier contre le phytopathogène *Verticillium dahliae*.

Enfin, la thèse se termine par une discussion générale et conclusion qui récapitulent les résultats les plus pertinents obtenus, ainsi que quelques perspectives qui en découlent.

Introduction

Chapitre I : Introduction

I.1. Aperçu général sur l'olivier

L'olivier (*Olea europaea L.*), principale espèce cultivée de la famille des Oleaceae comprenant 30 genres et 600 espèces (Green, 2002), tire son nom générique "Olea" du grec ancien "Elaion" désignant la plante produisant de l'huile. De plus, Linné a proposé le nom spécifique "europaea" indiquant l'origine européenne de cet arbre typiquement méditerranéen (Bartolini and Petruccelli, 2002).

Le genre *Olea* se subdivise en trois sous-genres - *Olea*, *Paniculata* et *Tetraspilus* - dont le premier comprend deux sections : *Olea* et *Ligustroïdes*. La section *Olea* est constituée exclusivement du complexe *Olea europaea L.*, lequel comporte six sous-espèces. *Olea europaea subsp. europaea* correspond à l'olivier méditerranéen (Vargas et al., 2000; Green, 2002) et comprend la forme cultivée *O. europaea var. europaea* ainsi que la forme sauvage ou oléastre *O. europaea var. sylvestris*.

Cet arbre sempervirent, dont la longévité est remarquable, peut atteindre 20 m de hauteur ou se présenter en arbuste très ramifié de 5 m de haut. Son écorce rugueuse et grisâtre à brun foncé est longitudinalement fissurée. Ses feuilles persistantes, opposées, simples et entières, de forme lancéolée à petit pétiole, vivent généralement de deux à quatre saisons. Les inflorescences portant les fleurs, longues de 1,5 à 4 cm, se développent à partir des bourgeons latéraux ou de l'apex des pousses. L'inflorescence paniculée présente un axe central duquel naissent des axes secondaires portant chacun de 10 à 35 fleurs dont une à quelques-unes produiront des fruits (Rapoport et al., 2016). Le fruit est une drupe lisse à enveloppe charnue contenant un noyau très dur renfermant une graine, parfois deux. De forme ovoïde typique, sa couleur vire du vert au violet sombre à maturité complète. Riche en graisses, cet aliment est la source d'une huile extraite de son enveloppe charnue (Gigon and Le Jeune, 2010).

I.1.1. Cycle végétatif et productif et exigences agro-écologiques de l'olivier

Au cours de son cycle annuel de développement, l'olivier passe par les phases suivantes (Walid et al., 2003) :

1. induction, initiation et différenciation florale : durant Janvier et Février
2. croissance et développement des inflorescences à l'aisselle des feuilles : au cours du mois Mars

3. floraison : durant le mois d'Avril
4. fécondation et nouaison des fruits : fin Avril-début Mai
5. grossissement des fruits : durant Juin- Juillet et Août
6. véraison : au cours du mois Septembre
7. maturation : Le fruit atteint son calibre final en Octobre et s'enrichisse en huile
8. récolte des fruits : Mi-Novembre à Janvier

En repos végétatif hivernal, l'olivier résiste jusqu'à -8 à -10°C. Mais, les dégâts peuvent être très importants pour des basses températures (0 à -1°C) pendant la floraison. A des températures élevées (35-38°C), la croissance végétative s'arrête et à 40°C et plus, l'appareil foliacé peut être brûlé et les fruits peuvent chuter, surtout si l'irrigation est insuffisante. La production de l'olivier est normale avec 600 mm de pluie bien répartis dans le temps. Entre 450 et 600 mm, la production est possible pour un sol profond et argilo-limoneux (les capacités de rétention en eau du sol soient suffisantes). Avec une pluviométrie inférieure à 200 mm, l'oléiculture est économiquement non rentable. Les facteurs défavorables de la production des oliviers sont : les vents chauds au cours de la floraison, et les gelées en printemps. Le sol doit être profond et perméable, et avec un pH inférieur à 8,5 (Walid et al., 2003).

I.1.2. Les maladies de l'olivier

L'olivier est vulnérable à diverses maladies causées par des pathogènes fongiques et bactériens. Parmi les champignons, des espèces telles que *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* jouent un rôle majeur dans les pourritures des racines et du collet, contribuant au déclin de l'arbre (Hiar et al., 2017). De même, *Phytophthora* spp., en particulier *P. inundata*, provoque le flétrissement des jeunes pousses, des rameaux, et entraîne l'asphyxie des racines (González et al., 2017). Quant aux bactéries, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* induit la formation de tubercules sur les branches, généralement en pénétrant par des blessures lors de la taille (Rodríguez-Moreno et al., 2009). En parallèle, *Xylella fastidiosa*, transmise par des insectes vecteurs, provoque un dépérissement rapide en obstruant les vaisseaux du xylème (Morelli et al., 2021). Face à cette multitude de menaces pathogènes aux conséquences néfastes pour l'olivier, il est impératif de mettre en œuvre une approche de lutte intégrée pour les contrôler.

Parmi les pathogènes plus courants chez l'olivier, *Verticillium dahliae* est un champignon ascomycète phytopathogène responsable du flétrissement verticillien, une maladie qui affecte de nombreuses espèces végétales (Fradin and Thomma, 2006). *Verticillium dahliae* appartient

au groupe phylogénétique des Ascomycota et fait partie d'un genre plus vaste comprenant dix espèces distinctes, à savoir *V. dahliae*, *V. albo-atrum*, *V. alfalfae*, *V. longisporum*, *V. nonalfalfae*, *V. tricorpus*, *V. zaregamsianum*, *V. isaacii*, *V. nubilum* et *V. klebahnii* (Inderbitzin et al., 2011). Parmi ces espèces, *V. dahliae* Kleb. initialement isolée de la Dahlia et décrite par Klebahn en 1913 (Keykhasaber et al., 2018), avec une très large gamme de plantes hôtes, comprenant plus de 200 espèces végétales, ce qui fait de fait de *V. dahliae* un pathogène aux impacts économiques majeurs et l'une des maladies végétales les plus répandues dans le monde (Song et al., 2020; Keykhasaber et al., 2018).

Sa dangerosité réside dans la production de microsclérotés (Figure 1), des formes de conservation lui permettant de survivre plusieurs années dans le sol en l'absence de plante hôte (Klosterman et al., 2009). Lorsqu'une racine de plante hôte susceptible s'en approche, les microsclérotés germent et émettent des filaments mycéliens qui colonisent la rhizosphère. Des conidies produites de façon abondante à la surface des hyphes pénètrent dans la racine au niveau des zones d'élongation et de ramification, soit de façon directe par l'apex, soit par les blessures (Emechebe et al., 1972; Typas and Heale, 1976). À l'intérieur des tissus racinaires, le champignon progresse de cellule en cellule par l'intermédiaire de structures infectieuses appelées hyphes d'infection (Typas and Heale, 1976). Il envahit le cylindre central puis colonise le xylème, obstruant les vaisseaux conducteurs de sève brute (Fradin and Thomma, 2006), entraînant ainsi un flétrissement progressif des parties aériennes de la plante (Figure 2). Après la mort de la plante, il cherche à recommencer un nouveau cycle. De nouveau *V. dahliae* survit

sous forme de microsclérotés, qui sont distribués dans le sol ou intégrées dans les débris végétaux, dans l'attente d'un contact avec une nouvelle plante hôte (Klosterman et al., 2009).

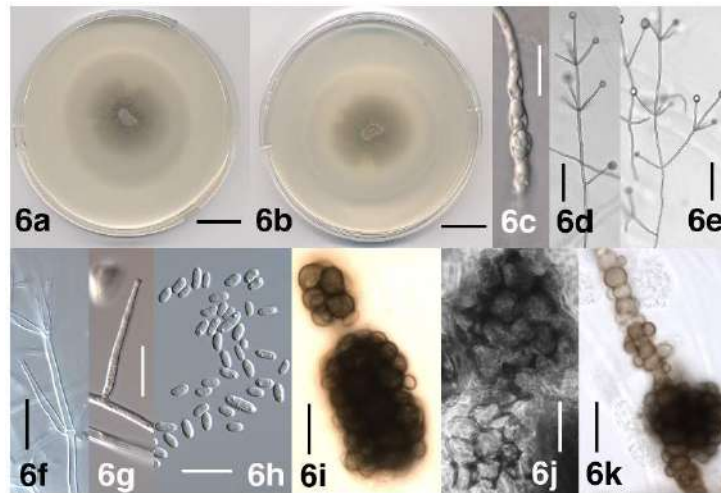


Figure 1: Caractéristiques morphologiques de *Verticillium dahliae* (Inderbitzin et al., 2011)

Chez l'olivier, deux types de flétrissement verticillien ont été identifiés, à savoir les pathotypes défoliants (D) et non défoliants (ND) (Navas-Cortés et al., 2008). Le syndrome provoqué par les isolats du pathotype D se manifeste par une chute précoce des feuilles vertes asymptomatiques sur les brindilles et les branches individuelles. Cela conduit ultimement à une défoliation totale, une nécrose, et finalement à la mort de l'arbre, avec une progression des symptômes de la fin de l'automne au début du printemps. En revanche, le syndrome causé par les isolats du pathotype ND présente deux formes distinctes : aiguë («apoplexie») et chronique (« déclin lent ») (Keykhasaber et al., 2018). La forme d'«apoplexie», qui survient principalement à la fin de l'hiver et au début du printemps, se caractérise par des poussées rapides entraînant un flétrissement sévère des branches principales et secondaires. Les feuilles commencent par devenir chlorotiques, puis brun clair, se recroquevillant vers le côté abaxial tout en restant attachées aux branches. Cette progression conduit à une mort rapide des brindilles, des pousses et des branches, surtout chez les jeunes plants, pouvant entraîner la mort de l'arbre entier (López-Escudero and Blanco-López, 2001). Le syndrome du « déclin lent » se caractérise par une nécrose des inflorescences, une chlorose des feuilles et une importante défoliation de feuilles vertes ou vert terne. Sur les plants infectés, les fleurs se dessèchent et restent attachées aux pousses. Les pousses touchées peuvent présenter une écorce brun rougeâtre, avec des tissus vasculaires internes présentant une décoloration brun foncé. Ces

symptômes apparaissent généralement au printemps et progressent lentement jusqu'au début de l'été (Jiménez-Díaz et al., 2012).



Figure 2: Olivier infecté par *Verticillium dahliae* (Arici and Demirtas, 2019)

I.2. Relation Plantes-Rhizosphère-Microorganismes

I.2.1. La rhizosphère

La rhizosphère, terme introduit par Hiltner dès 1904, représente l'interface vitale où les différentes composantes biologiques, telles que les bactéries, les champignons et la faune, interagissent intensément (Philippot et al., 2013). C'est un écosystème hautement complexe constitué de la zone étroite de sol riche en nutriments qui entoure les racines des plantes et qui est influencée par celles-ci. Cette zone est densément peuplée par une diversité de microorganismes, notamment des champignons, des bactéries, des protistes, des nématodes et des invertébrés (Singh et al., 2022). Les racines des plantes sécrètent une variété de métabolites primaires (par exemple, des acides organiques, des glucides et des acides aminés) et de métabolites secondaires (par exemple, des flavonoïdes des terpénoïdes et des alcools) qui sont supposés façonner, signaler, interférer ou d'une manière ou d'une autre affecter la microflore de la rhizosphère (Kozdrój and van Elsas, 2000; Feng et al., 2021). Cette libération ou exsudation

dans la rhizosphère d'une large gamme de produits chimiques s'accompagne d'un coût significatif en carbone et en azote pour la plante, avec le bénéfice ultime d'attirer et de favoriser les microorganismes bénéfiques tout en luttant contre les pathogènes ou les organismes nuisibles (Berendsen et al., 2012). La rhizosphère englobe non seulement l'activité microbienne autour des racines, mais aussi le volume de sol affecté par les exsudats racinaires et colonisé par les rhizobactéries. Il a été démontré que la densité bactérienne est significativement plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol environnant, du fait de l'enrichissement du milieu racinaire en composés organiques sécrétés par les plantes (Philippot et al., 2013; Edwards et al., 2015). La richesse et la structure des communautés bactériennes rhizosphériques dépendent de nombreux facteurs comme l'espèce végétale, les propriétés du sol ou les pratiques culturales (Schlaeppli and Bulgarelli, 2015). Ces interactions qui se produisent au sein de la rhizosphère jouent un rôle majeur dans la croissance des plantes et dans la suppression des pathogènes (Hu et al., 2016). La rhizosphère est divisée en différentes zones distinctes. Tout d'abord, l'endorhizosphère correspond aux couches endodermiques et corticales à l'intérieur de la racine. Ensuite, la rhizoplanche représente la surface racinaire avec sa couche de polysaccharides mucilagineux. Enfin, l'ectorhizosphère concerne les particules de sol au-delà de la surface racinaire impactées par les exsudats racinaires (Hinsinger et al., 2009; Reinhold-Hurek et al., 2015). Ces différentes zones contribuent à définir la rhizosphère comme un volume de sol fortement influencé par les racines des plantes, leurs exsudats et les substrats qu'elles produisent, ce qui stimule la croissance de la communauté microbienne qui l'entoure (Berg and Smalla, 2009). Les interactions complexes qui se produisent dans la rhizosphère ont des implications majeures dans la nutrition et la santé des végétaux (Hu et al., 2016). Les métabolites sécrétés par les racines des plantes peuvent non seulement attirer des microorganismes bénéfiques qui favorisent la croissance des plantes, mais aussi réprimer ou contrôler les pathogènes ou les organismes nuisibles (Berendsen et al., 2012). Ainsi, la rhizosphère joue un rôle central dans l'établissement d'une communauté microbienne équilibrée et bénéfique qui contribue au bien-être des plantes.

I.2.2. Relations plante-microbiome

Les microorganismes présentent une variété d'interactions écologiques avec les plantes. Traditionnellement, on distingue trois catégories extrêmes de microorganismes associés aux plantes : les "pathogènes", les "parasites" et les "mutualistes" (Newton et al., 2010). De plus, le terme "symbiose" est utilisé pour décrire l'association étroite ou l'union intime de deux organismes dissemblables (Martin and Schwab, 2012). Ainsi, dans un sens large, les

interactions allant du mutualisme, où à la fois la plante et le microorganisme bénéficient, au commensalisme, où le microorganisme en bénéficie sans impacter négativement la plante, jusqu'au parasitisme, où le microorganisme bénéficie au détriment de l'hôte, peuvent toutes être considérées comme symbiotiques (Johnson et al., 1997). Une distinction supplémentaire peut être faite entre les parasites et les pathogènes, ces derniers étant capables d'endommager activement les tissus et de détourner la physiologie de leur hôte à des fins trophiques (Newton et al., 2010). Cependant, les parasites ont un impact indirect négatif sur leur hôte en exploitant les niches tissulaires de celui-ci. Bien que ces définitions soient utiles, elles sont limitées pour rendre compte de la diversité des interactions entre les plantes et les microorganismes, en particulier lorsque ces interactions changent de catégorie au cours du cycle de vie du microorganisme (Schulz and Boyle, 2005). Ainsi, une vision "continue" des interactions plante-microbe, allant du préjudiciable au bénéfique, a été proposée pour prendre en compte les nouvelles découvertes et les cas d'études spécifiques (Newton et al., 2010). Cette vision est d'autant plus pertinente à la lumière de la récente exploration de la composition du microbiome des plantes (Turner et al., 2013). En effet, le concept de commensalisme occupe une place centrale dans la vision du "métaorganisme" associée au microbiome des plantes (Berg et al., 2015). Les commensaux peuvent avoir des effets directs ou indirects selon les conditions environnementales spécifiques, ce qui peut influencer la santé globale de l'hôte et les qualifie ainsi de commensaux (Berg et al., 2014). De même, l'idée que les plantes sont en réalité des métaorganismes a conduit à l'émergence du concept d'holobionte, qui considère cette unité comme l'entité de sélection lors des processus évolutifs (Theis et al., 2016). Historiquement, la compréhension des interactions entre les plantes et les microorganismes s'est principalement développée grâce à l'étude de modèles impliquant des pathogènes et des mutualistes (Goh et al., 2013). Cela peut s'expliquer par l'importance économique de ces interactions, en particulier en ce qui concerne les maladies des plantes.

I.2.3. La plante recrute son propre microbiome

Les plantes cultivent activement des communautés microbiennes diversifiées, essentielles à leur santé et leur productivité (Berg et al., 2020). La mise en place du microbiote bénéfique au niveau racinaire et dans la rhizosphère résulte de mécanismes complexes par lesquels la plante module et recrute spécifiquement certains microorganismes (Huang et al., 2019). Parmi ces mécanismes on trouve « l'effet rhizosphère » qui désigne les modifications physicochimiques du sol induites par l'activité racinaire, entraînant une augmentation marquée de l'abondance microbienne (Philippot et al., 2013; Voges et al., 2019). Les exsudats racinaires constituent une

source majeure de carbone stimulant la prolifération bactérienne et fongique. Certains microorganismes possèdent des traits métaboliques leur conférant un avantage compétitif dans la rhizosphère (Zhalnina et al., 2018). De plus, les racines sécrètent des molécules signal spécifiques impliquées dans le dialogue moléculaire avec certains symbiotes, comme les flavonoïdes recrutant les rhizobiums (Compton et al., 2020) ou les strigolactones attirant les mycorhizes (Jia et al., 2017). Ainsi, l'effet rhizosphère engendre une niche écologique sélective enrichie en microorganismes bénéfiques. Cependant certaines bactéries pathogènes utilisent une stratégie de communication basée sur des molécules de signalisation spécifiques appelées N-acyl homosérine lactones (AHL). Ces molécules agissent comme des auto-inducteurs, leur permettant de détecter les changements environnementaux et la densité de la population bactérienne (Dong and Zhang, 2004; Sharma et al., 2020). Ce mécanisme régule l'expression de plusieurs gènes, dont beaucoup sont liés à des facteurs de virulence ou à la formation de biofilms chez divers agents pathogènes végétaux (Quiñones et al., 2005; Meena et al., 2019). Dans ce contexte plusieurs bactéries bénéfiques comme *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, et *Klebsiella* emploient une contre stratégie appelé quorum quenching (QQ) (Chen et al., 2013). Cela consiste à dégrader les signaux AHL via la production d'enzymes tel que l'AHL-lactonase et l'AHL-acylase, entraînant une perturbation de la communication des pathogènes appelée quorum sensing (QS) (Pan et al., 2008; Chen et al., 2013). En cas d'attaque pathogène la stratégie dite du "cry for help" désigne la capacité des plantes à recruter des microorganismes protecteurs (Rizaludin et al., 2021; Wang and Song, 2022). Face à un bioagresseur, les végétaux produisent des composés de signalisation comme des oxilipines ou des Benzoxazinoids des exsudats spécifiques qui attirent certaines PGPR possédant des propriétés biocontrôles (Neal et al., 2012; Lombardi et al., 2018). Ce recrutement stimule l'activité antagoniste des PGPR envers les agents pathogènes. Ainsi, cette stratégie induite en situation de stress biotique participe à la protection de la plante via la régulation dynamique du microbiote. Enfin, de nombreuses études mettent en évidence l'influence majeure du génotype végétal sur l'assemblage du microbiote racinaire et rhizosphérique, en lien avec la variabilité génétique des exsudats et des réponses immunitaires (Wagner et al., 2016; Zhalnina et al., 2018). Chaque génotype recrute ainsi une combinaison spécifique de microorganismes adaptés à ses exsudats et sa physiologie. Cette sélection génotype-dépendante participe à l'adaptation évolutive des holobiontes plantes-microbiote aux conditions environnementales. Ces différents mécanismes révèlent la complexité des interactions moléculaires sous-tendant le dialogue plante-microbiote et le recrutement de communautés bénéfiques.

I.2.4. La colonisation des racines par les bactéries bénéfiques

Le concept de colonisation des racines, dans son sens le plus large, englobe la multiplication des populations de rhizobactéries de manière ectophytique dans la rhizosphère, à la surface des racines, et de manière endophytique à l'intérieur des racines (Parke, 1991). La colonisation des racines par les rhizobactéries est considérée comme une étape fondamentale pour favoriser la croissance des plantes. Les rhizobactéries se propagent à partir d'une source d'inoculum vers la région des racines en croissance active, où elles se multiplient et se développent dans la rhizosphère, un processus connu sous le nom de colonisation des racines (Parke, 1991).

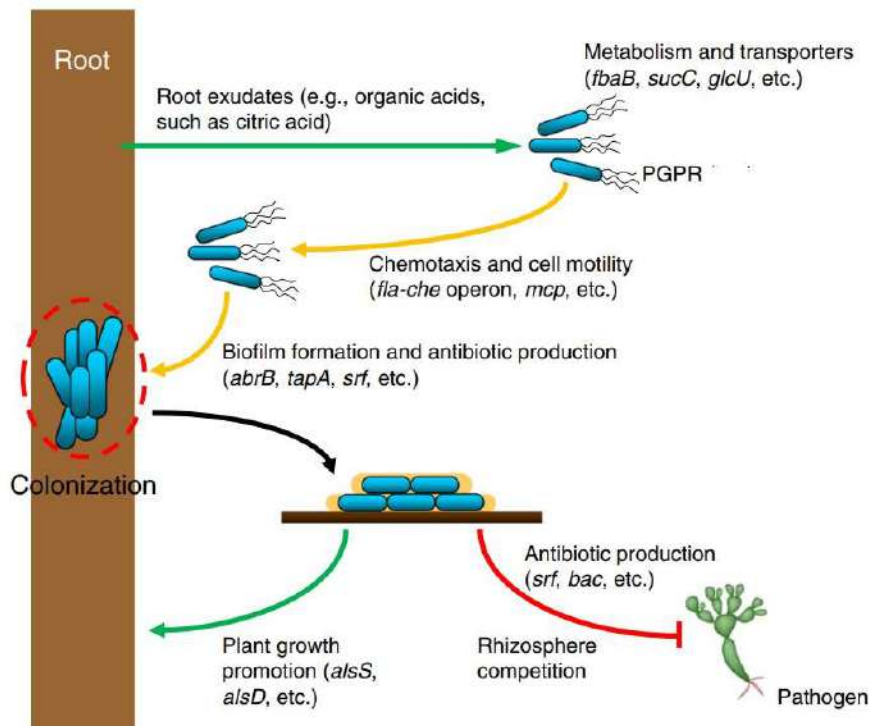


Figure 3 : Les mécanismes impliqués dans la colonisation des racines par les PGPR (Zhang et al., 2015).

La colonisation épiphytique concerne l'installation des bactéries à la surface des racines, au niveau de la rhizoplane (Figure 3). Elle débute par la chimiotaxie, processus permettant aux bactéries présentes dans le sol d'être attirées par les exsudats racinaires composés de sucres, acides aminés et acides organiques (Bais et al., 2006). Ces molécules diffusent depuis les racines dans la rhizosphère et servent de source de nutriments pour les micro-organismes. La mobilité bactérienne via les flagelles joue un rôle crucial dans ce processus de chimiotaxie dirigé vers les exsudats (de Weert et al., 2002). Une fois à proximité des racines, les bactéries adhèrent à la surface des cellules rhizodermiques grâce à des protéines de surface comme les

fimbriae les Rhicadhesin ou les lectines (Vesper, 1987; Rodri-guez-Navarro et al., 2007). Elles forment alors des micro-colonies épiphytes à la surface des racines. L'adhésion à la surface des racines met en jeu divers facteurs. Les flagelles, pili de type IV, fimbriae ou les polysaccharides de surface favorisent l'attachement (Rodri-guez-Navarro et al., 2007; Compant et al., 2010). Plusieurs traits bactériens participent à la compétitivité des souches PGPR et à leur capacité de colonisation épiphytique durable face aux autres micro-organismes présents dans la rhizosphère (Haas and Défago, 2005). Tout d'abord, les PGPR possèdent souvent des mécanismes de biocontrôle leur conférant un avantage sélectif (Haas and Défago, 2005). D'autre part, la sécrétion de sidérophores permet la chélation du fer et prive les autres micro-organismes de cet élément essentiel. Enfin, le quorum sensing module l'expression de certains gènes impliqués dans la colonisation des racines en fonction de la densité bactérienne (Wei and Zhang, 2006).

Certains rhizobactéries épiphytes ont la capacité de pénétrer à l'intérieur des racines pour devenir des bactéries endophytes. Cette colonisation endophytique peut se faire de manière passive par les zones d'émergence des racines latérales ou les blessures (Reinhold-Hurek and Hurek, 1998). Elle peut également être active grâce à la sécrétion d'enzymes dégradant la paroi végétale comme les cellulases (Buntić et al., 2019). Les bactéries progressent alors de l'épiderme vers le cortex racinaire. Elles doivent ensuite traverser la barrière endodermique, soit de façon passive par les pores lors de la croissance des racines secondaires, soit de manière active via des cellulases, pectinases ou acides phénoliques qui dégradent la paroi (James et al., 2002; Compant et al., 2005). Parvenue dans le cylindre central, les PGPR endophytes colonisent le xylème pour se propager de manière systémique à toute la plante (Compant et al., 2005). Cette colonisation vasculaire serait facilitée par les flagelles bactériens et le flux de transpiration de la plante (James et al., 2002). Quelques rhizobactéries très compétitives parviennent même à coloniser les parties aériennes (feuilles, tiges), les fleurs et les fruits (Hallmann et al., 1997; James et al., 2002).

Bien que bénéfiques, les rhizobactéries endophytes déclenchent certains mécanismes de défense chez les plantes qu'elles colonisent. On observe un épaississement des parois cellulaires racinaires en réponse à la présence bactérienne (Miché et al., 2006). Ces réactions sont néanmoins limitées et permettent la colonisation endophytique contrairement aux réponses induites lors d'infections par des agents pathogènes. En parallèle, les plantes favoriseraient activement l'installation de PGPR mutuellement bénéfiques. Des flavonoïdes spécifiques sont sécrétés pour attirer des souches symbiotiques chez les légumineuses (Peters et al., 1986). De même, l'exsudation d'acide malique par des racines infectées recrute des PGPR protectrices

des parties aériennes (Rudrappa et al., 2008). Il existerait ainsi un dialogue moléculaire entre plantes et bactéries PGPR permettant une colonisation optimale et durable.

I.2.5. Rôle du microbiome dans l'architecture racinaire

L'architecture racinaire, définie par l'organisation topologique du système racinaire comprenant le nombre, la longueur, l'angle et le diamètre des racines primaires, secondaires et latérales, est un facteur clé impactant l'ancrage de la plante, l'acquisition des ressources du sol et in fine la productivité végétale (Lynch, 1995).

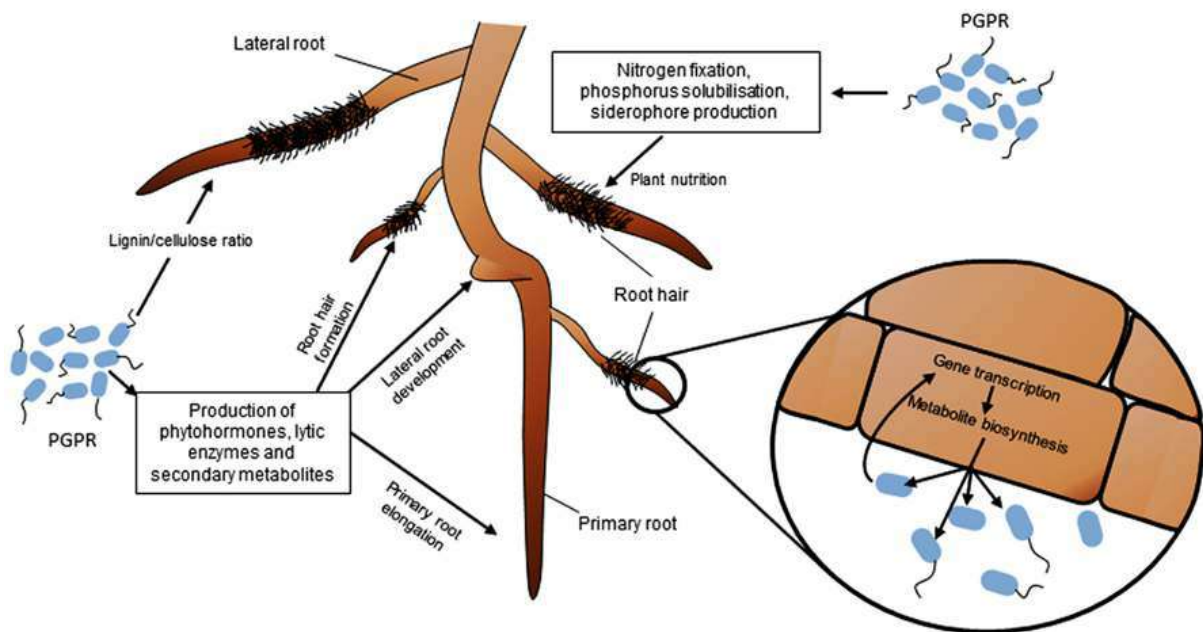


Figure 4: L'influence des PGPR sur la structure racinaire, l'absorption des nutriments et le fonctionnement des racines (Vacheron et al., 2013)

Plusieurs agents phytopathogènes telluriques, tels que les champignons, oomycètes ou nématodes, induisent des changements délétères de l'architecture racinaire. Par exemple, la colonisation des racines du riz par le nématode à galles *Meloidogyne incognita* simplifie fortement l'architecture racinaire en limitant le développement des racines secondaires et tertiaires (Kyndt et al., 2014). Ces effets délétères résultent à la fois de la destruction directe des tissus racinaires par les pathogènes, mais également de modifications hormonales et transcriptomiques perturbant la régulation du développement racinaire par la plante (Cabrera et al., 2014).

À l'inverse, de nombreux microorganismes bénéfiques tels que les champignons mycorhiziens à arbuscules (AMF) ou les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

stimulent la croissance et la ramification du système racinaire, conduisant à une architecture plus élaborée et favorable à l'acquisition des ressources du sol (Voges et al., 2019). Par exemple, la colonisation mycorhizienne par *Rhizophagus irregularis* augmente la longueur totale des racines ainsi que la production de racines latérales de fine diamètre chez *Zea mays* (Ramírez-Flores et al., 2019). De même, le traitement de racines de *Vitis vinifera* par la PGPR *Azospirillum brasilense* accroît la densité des racines latérales ainsi que les racines secondaires (Bartolini et al., 2017). Les mécanismes sous-jacents font intervenir majoritairement la sécrétion de phytohormones comme l'auxine ainsi que la répression de voies de défense végétale (Figure 4).

Ainsi, l'architecture racinaire résulte d'interactions complexes entre la plante et son microbiote rhizosphérique pouvant conduire à des effets antagonistes selon la nature des microorganismes colonisateurs. Sa modulation par les microbes influence les capacités d'ancrage, d'absorption des nutriments et d'adaptation aux contraintes environnementales. Déchiffrer les mécanismes moléculaires de ces interactions ouvre la voie à des applications agronomiques visant à optimiser la productivité des cultures.

I.2.6. Immunité des plantes

Les plantes possèdent un système de défense complexe comprenant des mécanismes préformés et induits. Les défenses préformées, telles que les barrières physiques et chimiques, restreignent l'infection par certains pathogènes (Malinovsky et al., 2014). Cependant, certaines maladies parasitaires peuvent contourner ces défenses (Dangl and Jones, 2001). Les défenses induites sont activées suite à une interaction entre la plante et un agent pathogène, et résultent de la reconnaissance spécifique de cet agent pathogène par la plante (Jones and Dangl, 2006). Ce système gène pour gène explique la résistance très spécifique des plantes à certains agents pathogènes (Flor, 1971) et est un concept clé en phytopathologie et pour l'amélioration de la protection des plantes (Poland et al., 2009).

Le système gène-pour-gène est un mécanisme de reconnaissance entre les plantes et les pathogènes, impliquant des gènes d'avirulence chez le pathogène et des gènes de résistance chez la plante (Figure 3). Lorsque les gènes correspondants sont présents des deux côtés, l'interaction est incompatible, conduisant à une résistance de la plante (Jones and Dangl, 2006). Cependant, ce système ne fonctionne pas toujours, et un modèle de garde a été proposé (Van Der Biezen and Jones, 1998). Selon ce modèle, le produit du gène R reconnaît une cible de virulence

modifiée par le gène d'avirulence, ce qui déclenche des réactions de défense dans la plante (Dodds and Rathjen, 2010). Cette interaction entre les gènes Avr et R joue un rôle crucial dans la compréhension des mécanismes de défense des plantes contre les pathogènes (Kamoun, 2006).

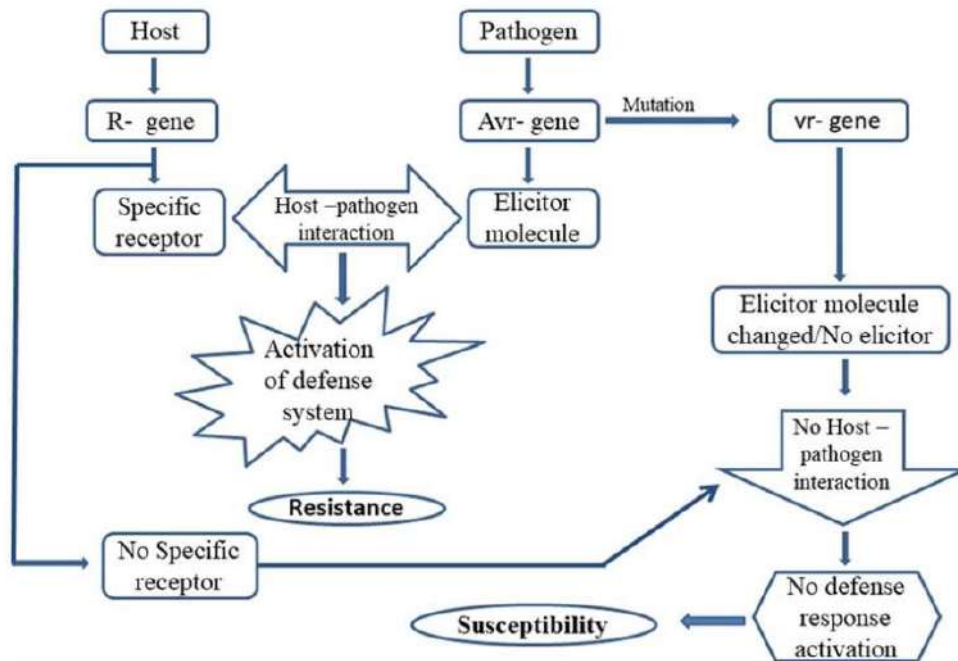


Figure 5: Fonctionnement du système gène-pour-gène (Pathania et al., 2021)

Les plantes peuvent également reconnaître des molécules appelées éliciteurs ou PAMPs “Pathogen-Associated Molecular Pattern” ou MAMPs “Microbial-Associated Molecular Pattern”), tels que la flagelline bactérienne et la chitine fongique, grâce à des récepteurs de reconnaissance de motifs transmembranaires « pattern-triggered immunity » (PTI) (Bigéard et al., 2015). Les récepteurs de reconnaissance de motifs (PTI) localisés à la surface cellulaire peuvent interagir physiquement avec les P/MAMPs et recruter des kinases réceptrices régulatrices. Ainsi, les complexes formés activent des cascades de signalisation en aval par le biais de kinases cytoplasmiques de type récepteur, ce qui finit par conduire à l'immunité déclenchée par motifs (PTI) (Guo et al., 2009). Une grande diversité de PRR a été identifiée jusqu'à présent, avec une spécificité variable pour des P/MAMPs spécifiques, et il a été démontré qu'ils déclenchent des voies de signalisation cellulaires convergentes (Figure 6). Les PRR sont divisés en deux classes : (i) les récepteurs à la surface

cellulaire, qui englobent les kinases de type récepteur (RLK) et les protéines de type récepteur (RLP) ; et (ii) les récepteurs intracellulaires de la famille du domaine de liaison aux nucléotides et du domaine riche en leucine (NLR) (Boutrot and Zipfel, 2017). Ces effecteurs sont une sorte de molécule associée à la virulence, délivrée par les pathogènes via les systèmes de sécrétion microbienne dans les cellules végétales ou dans l'apoplaste pour supprimer l'immunité de l'hôte (Guo et al., 2009). À son tour, la deuxième couche de l'immunité des plantes, appelée immunité déclenchée par effecteurs (ETI), a évolué pour reconnaître les effecteurs pathogènes grâce à des protéines NB-LRR polymorphes (possédant des domaines de liaison aux nucléotides et riches en leucine), ce qui entraîne une réaction hypersensible (HR) pour limiter la propagation du pathogène (Jones and Dangl, 2006).

La résistance systémique des plantes se divise en deux types : la résistance systémique induite (ISR) et la résistance systémique acquise (SAR). L'ISR est induite par des microorganismes non pathogènes, tandis que la SAR est déclenchée par des microorganismes pathogènes. Lorsqu'une plante est colonisée par des microorganismes bénéfiques, elle entre dans un état de préparation. Ce processus permet aux plantes de réagir plus rapidement et plus efficacement face à l'invasion ultérieure de pathogènes (Conrath et al., 2015). La SAR, quant à elle, est associée à l'accumulation d'acide salicylique (SA) et à l'activation de l'expression de gènes liés aux pathogènes (PR) (Durrant and Dong, 2004). En 1991, plusieurs études ont démontré que les microorganismes bénéfiques renforcent l'immunité des plantes par ISR (Van Peer et al., 1991; Wei et al., 1991). Il a été observé que les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes induisent la résistance systémique chez le concombre (Liu et al., 1995). Contrairement à la SAR, l'ISR ne dépend pas du SA et des protéines PR, mais plutôt des voies de signalisation de l'acide jasmonique (JA) et de l'éthylène (ET) (Pieterse et al., 2014). Cependant, il convient de noter que des études ultérieures ont révélé l'activation simultanée des voies de signalisation du SA et de JA/ET dans l'ISR induite par les microorganismes bénéfiques, soulignant ainsi la complexité des mécanismes de défense des plantes (Pieterse et al., 2014). En somme, l'ISR et la SAR sont deux formes de résistance systémique qui impliquent des mécanismes de défense différents, mais qui peuvent également se chevaucher dans leurs voies de signalisation pour renforcer la protection des plantes contre les pathogènes.

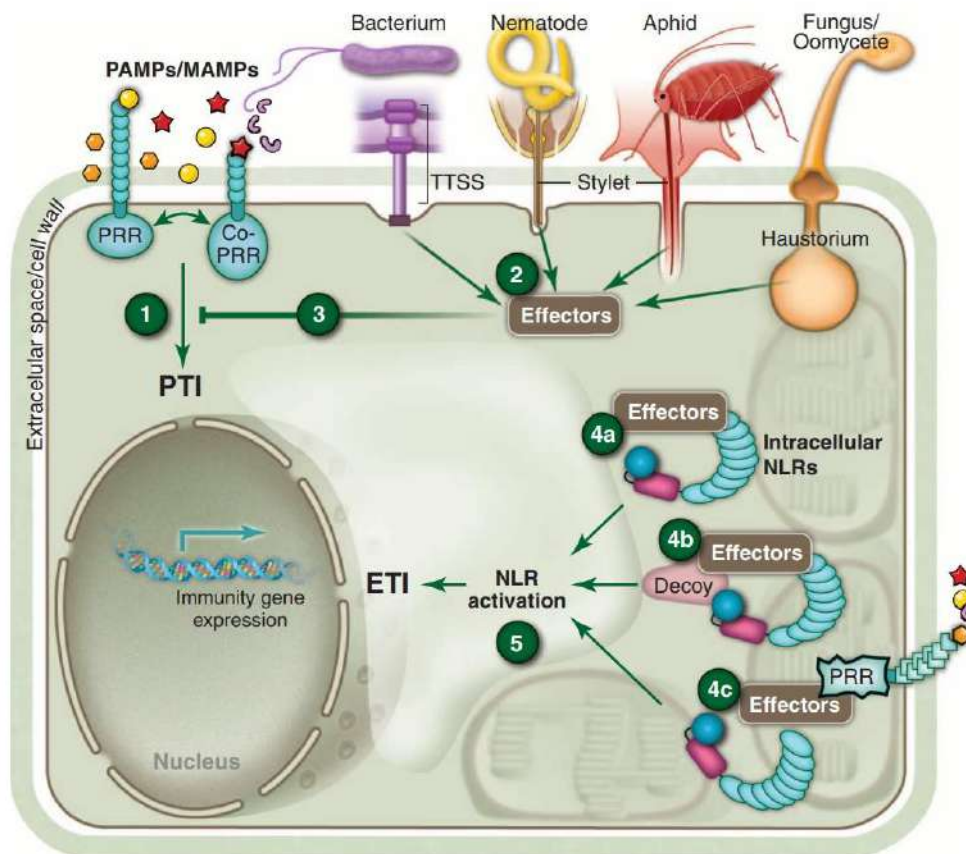


Figure 6: Les phases de déclenchement de la résistance systémique chez les plantes (Dangl et al., 2013)

I.2.7. Techniques d'étude de la biodiversité rhizobactérienne

Le sol abrite une grande diversité de micro-organismes, les bactéries étant les plus abondantes. Pendant longtemps, leur étude s'est limitée à des techniques dites "culture-dépendantes", consistant à faire pousser les bactéries sur milieu gélosé pour les identifier selon des critères morphologiques, métaboliques et biochimiques (Pham and Kim, 2012). Seule une petite fraction des bactéries telluriques peuvent toutefois être cultivées ainsi, le reste échappant à ces méthodes reposant sur la culture en laboratoire (Janssen, 2006). Le développement de méthodes moléculaires dites "culture-indépendantes" comme le séquençage ADNr 16S a permis de s'affranchir de cette limite et d'accéder à la diversité bactérienne totale du sol (Handelsman, 2004). La taxonomie s'est alors considérablement enrichie (Hug et al., 2016). Bien que limitées, les techniques traditionnelles culture-dépendantes demeurent indispensables au diagnostic et au traitement des infections bactériennes. Les approches culture-indépendantes ont néanmoins révolutionné l'étude de la diversité microbienne des sols, fournissant des informations capitales sur la composition et la richesse des communautés bactériennes telluriques (Fierer, 2017).

Cependant plusieurs techniques classiques de génotypage des cultures dépendantes sont utilisées pour étudier la diversité des bactéries cultivables, comme l'AFLP (Vos et al., 1995), Rep-PCR (Versalovic, 1994) et ERIC-PCR (Hulton et al., 1991), ces techniques sont généralement simples, rapides et à faible coût, il ne nécessitent qu'une amplification et parfois une restriction enzymatique, une électrophorèse et une interprétation des résultats (Figure 7).

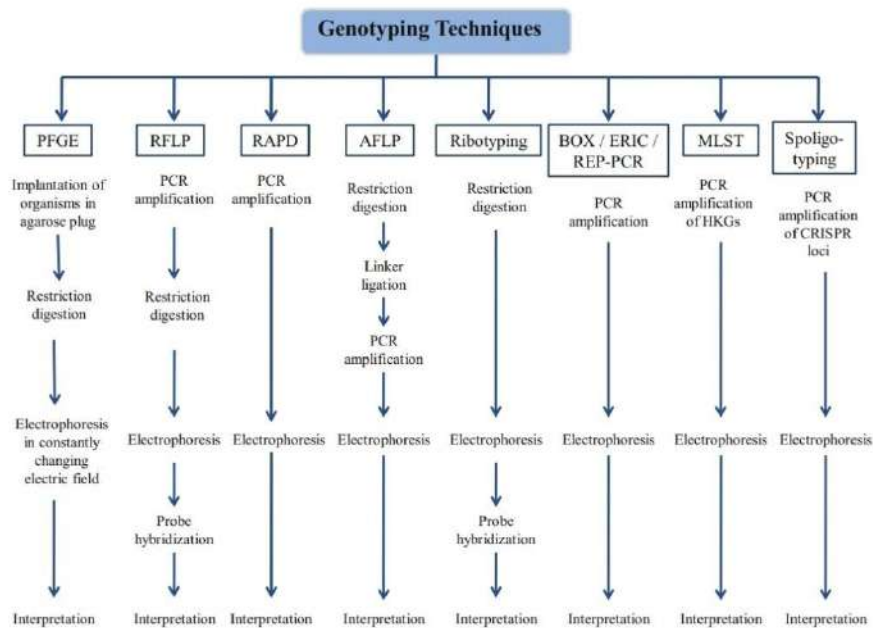


Figure 7: Les différentes techniques de génotypages des bactéries (Gohil et al., 2019)

En ce qui concerne le séquençage du gène de l'ADNr 16S, cette méthode utilise la séquence d'une région hautement conservée du génome bactérien, constituée de 1 500 nucléotides et possédant neuf régions variables, intercalées entre des régions hautement conservées (Reller et al., 2007). Ces régions conservées ont permis la mise au point d'amorces dites "universelles" qui servent à amplifier spécifiquement des portions d'ADN par polymérisation en chaîne (PCR) (Hongoh et al., 2003), permettant ensuite le séquençage de cette portion d'ADN. Pour identifier des bactéries, les séquences obtenues sont comparées à une base de données de séquences bactériennes connues d'ADNr 16S afin de déterminer l'identité des bactéries présentes dans l'échantillon (Clarridge, 2004). Contrairement aux techniques de génotypage classiques, le séquençage du gène de l'ADNr 16S suit les grandes étapes suivantes : i) amplification par PCR, ii) séquençage de l'amplifiat, et iii) analyse bioinformatique des données (Reller et al., 2007).

Récemment, l'émergence de la métagénomique, soit l'étude du métagénome microbien directement à partir d'échantillons environnementaux, a révolutionné notre compréhension de

la diversité bactérienne (Handelsman, 2004). Contrairement aux méthodes culturales traditionnelles, limitées à une petite fraction des communautés microbiennes, la métagénomique permet d'accéder à la diversité totale via des techniques moléculaires « culture indépendante » (Handelsman et al., 1998). Ces approches ont révélé une diversité bactérienne insoupçonnée et l'existence de nouveaux phyla majoritairement non-cultivés (Rappe and Giovannoni, 2003). Ainsi, l'essor des techniques métagénomiques culture-indépendantes a véritablement ouvert une nouvelle ère dans l'exploration de la diversité microbienne, permettant des avancées capitales dans la connaissance des communautés bactériennes telluriques, aquatiques et symbiotiques.

I.3. Modes d'action des PGPR

Les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) représentent une catégorie de bactéries bénéfiques qui colonisent la rhizosphère des plantes, et leur interaction avec les plantes favorise leur croissance par divers mécanismes (Vessey, 2003). Leur action directe sur les plantes inclut la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation du phosphore, la production de phytohormones telles que les auxines, les cytokinines et l'éthylène, ainsi que la régulation des niveaux d'hormones végétales (Bhattacharyya and Jha, 2012). De plus, ces bactéries peuvent agir de manière indirecte en inhibant les agents pathogènes tels que les champignons, les bactéries et les nématodes. Elles y parviennent en produisant des sidérophores, des antibiotiques, des enzymes hydrolytiques, ou encore en induisant une résistance systémique (Compant et al., 2005).

Les PGPR contribuent également à renforcer la capacité des plantes à résister à divers stress abiotiques, notamment la sécheresse, la salinité, les températures extrêmes, la toxicité des métaux lourds, etc. Certaines de ces bactéries atténuent le stress oxydatif en stimulant les systèmes antioxydants des plantes. D'autres stabilisent les membranes cellulaires ou favorisent l'accumulation de solutés compatibles, qui maintiennent l'équilibre osmotique dans les cellules (Vurukonda et al., 2016). De plus, les PGPR peuvent déclencher des voies de signalisation moléculaire conduisant à l'expression de gènes de résistance au stress ou à la synthèse de protéines de stress chez les plantes (Poupin et al., 2013).

I.3.1. Phytostimulation par les PGPR

I.3.1.1. Production de phytohormones

Les phytohormones sont des molécules organiques essentielles contrôlant la croissance et le développement des plantes (Santner et al., 2009). On distingue plusieurs classes majeures de

phytohormones végétales : les auxines, les cytokinines, les gibbérellines, l'acide abscissique, l'éthylène, l'acide salicylique ou les brassinostéroïdes (Fahad et al., 2015; Maheshwari et al., 2015). Certains micro-organismes bénéfiques associés aux plantes, et notamment les rhizobactéries promotrices de la croissance (PGPR), sont capables de synthétiser ces phytohormones, modulant ainsi la physiologie de la plante hôte (Figure 9) (Grover et al., 2021).

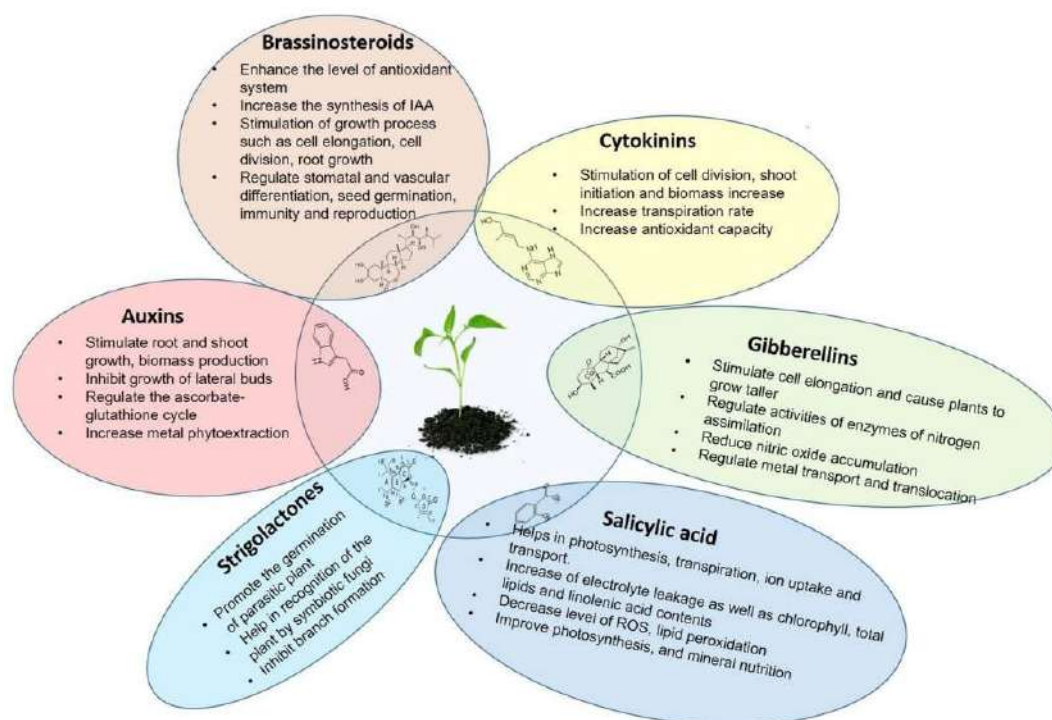


Figure 8: Rôles des phytohormones dans le développement des végétaux (Sytar et al., 2019)

L'auxine, et plus particulièrement l'acide indole-3-acétique (AIA), joue un rôle central dans l'élongation cellulaire, la division cellulaire, la différenciation tissulaire, la dominance apicale, la sénescence ou l'architecture racinaire (Spaepen, 2015). Les bactéries synthétisent l'acide indole-3-acétique (AIA) via plusieurs voies métaboliques dépendantes ou non du tryptophane (Arkhipova et al., 2007; Spaepen et al., 2007). La voie de l'indole-3-acétamide (IAM), présente chez de nombreux phytopathogènes comme *Agrobacterium tumefaciens*, convertit le tryptophane en IAM par une tryptophane-2-monooxygénase puis en AIA par une IAM hydrolase (Morris, 1995). La voie de l'indole-3-pyruvate (IPYA), répandue chez les bactéries bénéfiques, produit l'AIA via la décarboxylation de l'IPYA issu du tryptophane par une IPYA décarboxylase (Koga et al., 1991). La voie de l'indole-3-acétonitrile (IAN) implique la conversion du tryptophane en IAN, probablement via l'indole-3-acétaldoxime, puis l'hydrolyse de l'IAN en AIA par une nitrilase (Kobayashi et al., 1995). La voie de la tryptamine (TAM) fait

intervenir une décarboxylation du tryptophane en TAM par une tryptophane décarboxylase, puis l'oxydation de la TAM en AIA (Hartmann et al., 1983). Cependant certaines bactéries possèdent également une voie indépendante du tryptophane à partir de précurseurs comme l'indole (Prinsen et al., 1993).

De nombreux genres bactériens tels qu'*Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Arthrobacter*, *pantoea* ou *Enterobacter* comprennent des espèces capables de produire de l'AIA (Ghosh et al., 2015; Duca et al., 2014). L'inoculation de plantes par des PGPR produisant de l'AIA a montré des effets bénéfiques sur la croissance végétale dans de multiples études. Par exemple, la souche *Pseudomonas* PS01 isolée du maïs a stimulé la biomasse racinaire d'*Arabidopsis Thaliana* (Chu et al., 2020). De même, la souche *Enterobacter cloacae* OS03 isolée de *Ocimum tenuiflorum* a augmenté la biomasse aérienne et racinaire de plusieurs plantes (*Oryza sativa*, *Arachis hypogaea*, *Vigna mungo* et *Brassica rapa*) (Panigrahi et al., 2020).

Les cytokinines, comme la zéatine (Z) ou l'isopentenyladénine (iP), contrôlent la division cellulaire, l'expansion foliaire, la dominance apicale ou la sénescence (Ferreira and Kieber, 2005; Hošek et al., 2020). Leur biosynthèse chez les bactéries implique l'enzyme adénylate isopentenyltransférase (IPT) qui catalyse l'isopentenylation de l'AMP, l'ADP ou l'ATP (Sibponkrung et al., 2020). Parmi les bactéries qui produisent cette hormones on trouve des genres tels que *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas*, *Arthrobacter*, et *Azospirillum* (Vacheron et al., 2013; Tsukanova et al., 2017). Ainsi l'inoculation *Bacillus* avec *toyonensis* Bt04 a entraîné une promotion de la croissance du maïs et une amélioration du développement de ces racines (Zerrouk et al., 2020). De même, *Citrococcus zhacaiensis* et *Bacillus amyloliquefaciens* ont augmenté significativement le rendement des plantes de tomates inoculées (Selvakumar et al., 2018).

Les gibbérellines (GA) promeuvent l'élongation cellulaire, la germination des graines ou la floraison (Hedden and Sponsel, 2015), Cependant, l'effet physiologique le plus dominant de des (GA) est l'allongement des pousses (Spaepen and Vanderleyden, 2011). Quelques PGPR des genres *Azospirillum* ou *Rhizobium* synthétisent des GA à partir de mévalonate via des dioxygénases et des cytochromes P450 (Graebe et al., 1972). L'inoculation des plantes de tomates avec la souche *Sphingomonas sp.* LK11 a montré des attributs de croissance significativement accrus (longueur des pousses, teneur en chlorophylle, poids sec des pousses et des racines) par rapport aux plantes témoins (A. L. Khan et al., 2014).

Ainsi, nombre de PGPR stimulent la croissance en produisant des quantités subsistantes de phytohormones clés comme les auxines, cytokinines ou gibbérellines. Leurs effets pléiotropes complexes sont néanmoins encore à élucider pour développer des bio-inoculants optimisés, représentant une alternative durable aux régulateurs de croissance chimiques.

I.3.1.2. Production d'ACC désaminase

L'éthylène est une phytohormone essentielle au développement et à la croissance des plantes (Tsuchisaka and Theologis, 2004). Cependant, une accumulation excessive d'éthylène engendrée par divers stress abiotiques (sécheresse, excès de métaux, blessures...) inhibe la croissance racinaire et réduit la production végétale (Glick, 2014). Certaines PGPR atténuent les effets délétères de l'éthylène grâce à leur capacité à produire l'enzyme ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) désaminase (Honma and Shimomura, 1978; Glick et al., 1998). Cette enzyme clive l'ACC, précurseur direct de la biosynthèse de l'éthylène, ainsi l'ACC est transformé en α -cétobutyrate et en ammoniac.. En réduisant les niveaux d'ACC dans la plante, l'ACC désaminase bactérienne diminue la production d'éthylène et lève son inhibition sur la croissance (Penrose and Glick, 2003). De plus, l'ammoniac et l' α -cétobutyrate générés peuvent être assimilés par les PGPR comme sources d'azote.

L'ACC désaminase des PGPR régule finement les taux d'éthylène dans la plante grâce à un mécanisme de rétrocontrôle sophistiqué (Glick, 2014). En effet, certaines PGPR possèdent des systèmes de transport actif leur permettant d'internaliser l'ACC produit par les cellules végétales. La dégradation intracellulaire de l'ACC par l'ACC désaminase crée alors un flux continu d'absorption d'ACC par la bactérie, réduisant d'autant les niveaux d'ACC et d'éthylène dans la plante (Figure 10). De nombreuses études ont montré le rôle clé de l'ACC désaminase dans divers aspects de la promotion de croissance induits par les PGPR, aussi bien au niveau racinaire qu'aérien (Glick, 2014). Plus précisément, l'ACC désaminase stimule l'élongation des racines en conditions de stress, augmente la nodulation des légumineuses, améliore l'absorption des nutriments, renforce la résistance aux pathogènes, etc. Différents genres bactériens tels que *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* ou *Serratia* comptent des espèces PGPR dotées d'une activité ACC désaminase (Gamalero and Glick, 2015; Orozco-Mosqueda et al., 2020).

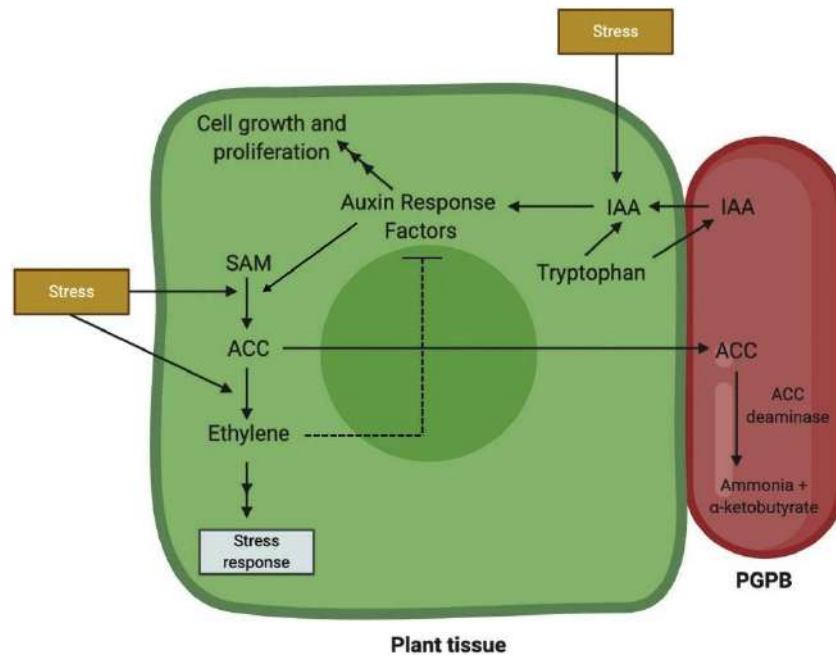


Figure 9: Schéma illustrant comment les PGPR produisant l'ACC désaminase préviennent l'accumulation de l'éthylène (Orozco-Mosqueda et al., 2020)

I.3.2. Biofertilisation par les PGPR

I.3.2.1. Fixation de l'azote

L'azote est un élément nutritif essentiel pour la croissance et le développement des plantes. Bien que l'atmosphère terrestre soit composée à 78% d'azote moléculaire (N_2) (Zerkle and Mikhail, 2017), cette forme d'azote n'est pas directement assimilable par les plantes. L'azote doit d'abord être « fixé », c'est-à-dire converti sous forme ionique (NH_4^+ ou NO_3^-), pour pouvoir être absorbé par les racines des plantes et utilisé pour la synthèse des acides aminés, des protéines et de l'ADN (Andrews et al., 2013). Les plantes sont incapables de fixer l'azote moléculaire par elles-mêmes. Elles dépendent donc soit des engrais azotés apportés, soit de la fixation biologique de l'azote réalisée par certaines bactéries symbiotiques ou non-symbiotiques (Hardarson et al., 1984; Burris and Roberts, 1993).

Les bactéries fixatrices d'azote sont des micro-organismes possédant l'enzyme nitrogénase, qui catalyse la réduction de N_2 en NH_3 . Cette réaction demande beaucoup d'énergie, fournie par l'oxydation de composés organiques chez les bactéries hétérotrophes, ou par l'hydrolyse de l'ATP issu de la photosynthèse chez les bactéries autotrophes (Wang et al., 2017; Stewart, 1973), par exemple les souches *Azotobacter* les plus performantes ont besoin d'oxyder 1000Kg de matière organique pour fixer 30 kg d'azote/hectare (Chennappa et al., 2018). On distingue

deux grands groupes de bactéries fixatrices d'azote : les symbiotiques, qui vivent en association avec une plante hôte, et les non-symbiotiques, qui vivent librement dans le sol.

Les bactéries symbiotiques appartiennent principalement à l'ordre des Rhizobiales, qui regroupe les genres *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium* et *Sinorhizobium* (Zahran, 2001). Ces bactéries établissent une relation symbiotique avec les plantes de la famille des légumineuses (Fabaceae), qui représentent la principale source d'azote pour les légumineuses du fait de cette association (Unkovich and Pate, 2000). La symbiose se met en place lorsque les bactéries pénètrent dans les racines des légumineuses et induisent la formation de nodules, où elles se multiplient et fixent l'azote (Jones et al., 2007). Cette relation est mutuellement bénéfique : la plante fournit un habitat protégé et des substrats carbonés issus de la photosynthèse, tandis que les bactéries fournissent à la plante de l'azote assimilable. Ces bactéries symbiotiques peuvent fixer de 44 à 250 kg d'azote par hectare et par an (Peoples et al., 1995). L'association symbiotique entre rhizobia et légumineuses serait apparue il y a 70 millions d'années (Sprent et al., 2017) et constitue aujourd'hui le principal moyen biologique de fixation d'azote, d'une importance capitale pour la fertilité des sols. Cette relation permet un enrichissement naturel des sols en azote puisqu'une partie de l'azote fixé reste dans le sol sous forme organique après la mort des nodosités (Peoples et al., 2009).

Contrairement aux bactéries symbiotiques, les bactéries non-symbiotiques fixatrices d'azote vivent librement dans le sol ou à la surface des racines des plantes, sans établir de relation symbiotique (Steenhoudt and Vanderleyden, 2000). Les principales bactéries non-symbiotiques appartiennent aux genres *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium* et *Klebsiella* (Basu et al., 2021). Les bactéries non-symbiotiques fixatrices d'azote se trouvent souvent dans les sols riches en matière organique (Becking, 1981). La quantité d'azote fixée annuellement par ces bactéries libres est estimée entre 10 et 30 kg d'azote par hectare (Kennedy and Islam, 2001). Bien que contribuant moins à la fixation d'azote que les bactéries symbiotiques, ces bactéries libres jouent un rôle important dans les écosystèmes dépourvus de légumineuses (Son, 2001).

I.3.2.2. Solubilisation du phosphate

Le phosphore (P) est un élément nutritif essentiel pour les végétaux, intervenant dans de très nombreux processus physiologiques vitaux tels que la photosynthèse, la régulation enzymatique, le métabolisme énergétique, la synthèse des acides nucléiques, le développement racinaire ou encore la floraison (Foyer and Spencer, 1986; Abel, 2011; Wahl et al., 2013; Zhang et al., 2007). Les plantes prélèvent le phosphore du sol sous forme d'ion orthophosphate

primaire (H_2PO_4^-) et secondaire (HPO_4^{2-}) (Mahdi and Mouhamad, 2018). Cependant, en dépit d'une teneur totale relativement élevée dans la plupart des sols, seule une faible fraction du phosphore y est directement assimilable par les racines (Karpagam and Nagalakshmi, 2014; Richardson et al., 2011).

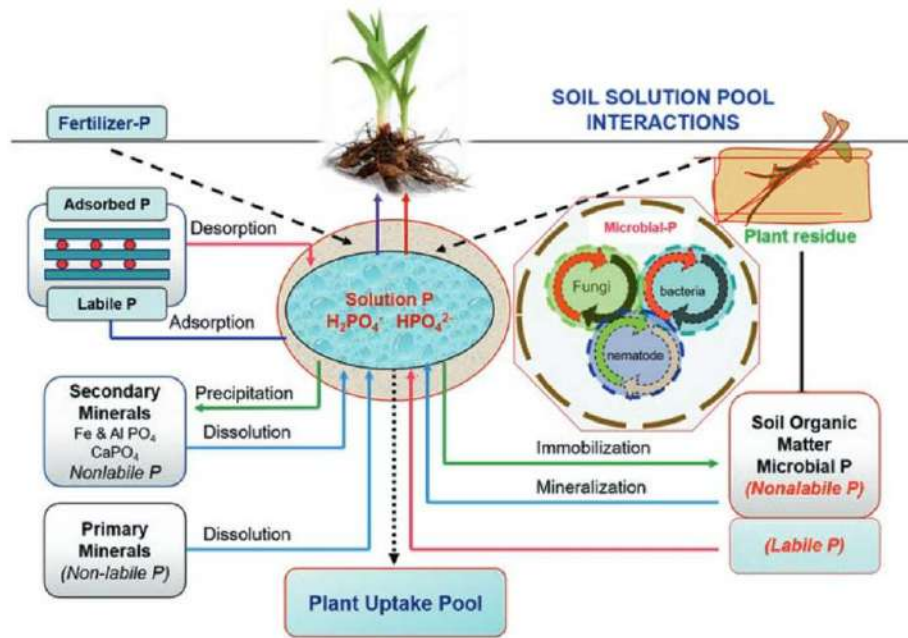


Figure 10 : Dynamique de la mobilisation du phosphore dans le sol : Principaux processus en lumière (Arif et al., 2017)

En effet, le phosphore soluble ne représente généralement que 1 à 10 % du phosphore total du sol (Karpagam and Nagalakshmi, 2014). La majeure partie du P du sol se trouve sous des formes organiques ou inorganiques insolubles, liées à divers constituants minéraux et organiques (Rodríguez and Fraga, 1999). Dans les sols calcaires, les phosphates de calcium tels que l'apatite sont les principales formes insolubles alors que ce sont les phosphates de fer et d'aluminium qui prédominent dans les sols acides (Toro, 2007; Hinsinger, 2001). De plus, de fortes quantités de P inorganique peuvent être adsorbées sur les colloïdes argileux, les oxyhydroxydes de fer et d'aluminium ou la matière organique, le rendant indisponible pour l'absorption racinaire (Nagarajah et al., 1970).

Face à ce paradoxe d'une faible biodisponibilité du P malgré son caractère limitant, l'agriculture industrielle a massivement recours aux engrais phosphatés solubles, permettant d'obtenir des rendements élevés (MacDonald et al., 2011; Elser, 2012). Toutefois, l'exploitation non renouvelable des ressources limitées de roches phosphatées pour produire ces engrais pose

question quant à la soutenabilité de cette stratégie (Vuuren et al., 2010; Cordell and White, 2015). Par conséquent, des alternatives écologiques pour améliorer la disponibilité du P dans les agrosystèmes suscitent un intérêt grandissant (Sharma et al., 2013).

Dans cette perspective, l'utilisation de PGPR solubilisatrices de phosphate ou PSB (Phosphate Solubilizing Bacteria) représente une voie prometteuse (Jain et al., 2010; Otieno et al., 2015). De nombreux genres bactériens tels que *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Collimonas*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Serratia*, et *Streptomyces* comprennent des souches PSB capables de solubiliser les formes insolubles de phosphates (Postma et al., 2010; Kirui et al., 2022). Le principal mécanisme mis en jeu est la sécrétion d'acides organiques comme les acides gluconique, citrique, lactique ou acétique qui, en acidifiant le milieu, dissocient les liaisons entre le Pi et les cations (Ca^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+}) des précipités phosphatés (Song et al., 2017). Certains PSB sécrètent également des phosphatases capables d'hydrolyser les liaisons P-C des phosphates organiques (Behera et al., 2017; Rawat et al., 2021). L'inoculation des plantes par ces PSB stimule la croissance et les rendements des cultures en augmentant l'acquisition de Pi dans des contextes de carence en P (Arif et al., 2017). Ainsi, les PSB offrent une alternative écologique durable aux engrais phosphatés conventionnels, en améliorant la nutrition phosphatée des plantes sans l'exploitation des ressources finies de P (Jung et al., 2015; Kaur and Reddy, 2015). Leur utilisation combinée avec des pratiques agroécologiques de gestion du P représente une stratégie intégrée prometteuse pour une agriculture durable (Kaur and Reddy, 2015).

I.3.2.3. Solubilisation du potassium

Le potassium (K) est un élément nutritif majeur essentiel à la croissance et au développement optimal des plantes (Wang et al., 2013). Il joue des rôles cruciaux dans de nombreux processus physiologiques comme la photosynthèse, la régulation osmotique, l'activation enzymatique ou encore la résistance aux stress biotiques et abiotiques (Zörb et al., 2014). Cependant, dans de nombreux sols, le potassium est présent sous des formes peu solubles et donc difficilement assimilables par les plantes (Yadav and Sidhu, 2016). L'apport d'engrais potassiques solubles représente alors un coût agricole et environnemental considérable. Dans ce contexte, l'utilisation de PGPR capables de solubiliser les formes non disponibles de potassium dans le sol apparaît comme une alternative durable et écologique aux engrais chimiques (Etesami et al., 2017). Plusieurs mécanismes microbiens sont impliqués dans la solubilisation du potassium. Certaines PGPR sécrètent des acides organiques à faible poids moléculaire comme les acides

gluconique, 2-ketogluconique, malique ou oxalique (Ahmad et al., 2016). Ces acides organiques abaissent le pH rhizosphérique et provoquent la dissolution des minéraux potassiques tels que les silicates et feldspaths qui libèrent des ions K^+ assimilables par les plantes. D'autres PGPR produisent des sidérophores, des chélateurs organiques capables de complexer les cations K^+ et de les rendre plus mobiles dans la rhizosphère (Berde et al., 2021).

Plusieurs genres bactériens tels que *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus* et *Acinetobacter* comprennent des espèces PGPR performantes pour la solubilisation du potassium indisponible dans les sols (Meena et al., 2014; Yaghoubi Khangahi et al., 2021). L'inoculation au champ de ces PGPR potassiques se traduit généralement par une amélioration significative de l'absorption du potassium, de la croissance et des rendements des cultures (Bakhshandeh et al., 2017; Yaghoubi Khangahi et al., 2018).

I.3.2.4. Production de sidérophores

Le fer est un élément essentiel intervenant comme cofacteur dans de nombreuses réactions enzymatiques vitales pour les plantes et les micro-organismes (Saha et al., 2013). Cependant, dans les sols, le fer est majoritairement présent sous forme d'oxydes et d'hydroxydes de fer très peu solubles, ce qui limite sa biodisponibilité (Jin et al., 2010). Face à cette contrainte, les bactéries ont développé au cours de l'évolution une stratégie remarquable de solubilisation du fer via la synthèse de sidérophores (Lucena, 2006).

Les sidérophores sont de petites molécules organiques (<1kDa) sécrétées par de nombreux microorganismes dont les bactéries, les champignons et les levures (Miethke and Marahiel, 2007; Albelda-Berenguer et al., 2019). Ils présentent une très forte affinité de complexation pour Fe^{3+} grâce à la présence de groupements hydroxamates, catéchols ou carboxylates (Grobelač and Hiller, 2017). Cette chélation permet de solubiliser le fer présent dans l'environnement. Le complexe fer-sidérophore est ensuite absorbé spécifiquement par les bactéries via des transporteurs membranaires leur permettant d'acquérir le fer nécessaire à leur croissance.

On distingue différentes familles de sidérophores en fonction de leurs groupements chélateurs : les catécholates (enterobactine, bacillibactine), les hydroxamates (ferrichrome, coprogène, Ornibactine), les carboxylates (rhizobactine) ou les sidérophores mixtes (pyoverdine, pyocheline) (Saha et al., 2016).

Certains microorganismes bénéfiques des plantes comme les PGPR synthétisent également des sidérophores tels que la pyoverdine, l'aerobactine ou l'entérobactine (Saikia et al., 2022). Ces molécules augmentent la biodisponibilité du fer dans la rhizosphère et améliorent sa nutrition, notamment dans les sols calcaires ou à pH élevé (Abadía et al., 2011; Vahedi et al., 2022). Plusieurs mécanismes sont impliqués. Tout d'abord, la solubilisation et la complexation du fer favorise son absorption par les racines (Leventhal et al., 2019). De plus, certaines plantes assimilent directement les complexes fer-sidérophores microbiens grâce à des transporteurs de type « Yellow Stripe » (Oleńska et al., 2020). Ainsi, la production de sidérophores représente une stratégie majeure pour les plantes et les microbes pour surmonter la faible biodisponibilité du fer (Guerinot and Yi, 1994).

I.3.2.5. Production d'exopolysaccharides

Les exopolysaccharides bactériens (EPS), un groupe important de polymères complexes de haut poids moléculaire composés d'unités sucres, Initialement, les EPS ont été décrits comme des « exopolysaccharides » par Sutherland en 1972 pour décrire des sucres de haut poids moléculaire. Cependant, ces dernières années, les EPS sont plus justement appelés « substances polymériques extracellulaires ». qui sont principalement composées de polysaccharides, protéines, lipides et acides nucléiques (Costa et al., 2018). Ils constituent le composant majoritaire du biofilm bactérien. La structure chimique de l'exopolysaccharide est diversifiée et peut être groupée en 4 grandes classes : polysaccharides, polysaccharides microcapsulaires, polyanhydrides inorganiques (tels que polyphosphates), polyesters, polyamides (Nwodo et al., 2012). Cependant, selon leur composition en monomères sucrés, ils peuvent être classés en homopolysaccharides et hétéropolysaccharides. Les homopolysaccharides sont constitués principalement d'unités monomères d'un seul sucre se répétant principalement hexoses (glucose, galactose, mannose, allose, rhamnose, fucose) et pentoses (arabinose, ribose, xylose) ou sucres aminés (D-glucosamine ou D-galactosamine) liés par des liaisons glycosidiques, tandis que les hétéropolysaccharides contiennent 2 à 3 monomères de sucre différents dans des unités répétées. Parmi ces deux, les homopolysaccharides ont une plus grande importance commerciale. Ils peuvent être solubles ou insolubles dans l'eau et peuvent être cationiques, anioniques ou neutres. La majorité des homopolysaccharides ont une charge neutre tandis que les hétéropolysaccharides sont de nature anionique en raison de la présence de monomères sucrés variables et de certains constituants supplémentaires comme le pyruvate, le lactate, le succinate, les phosphates, les acides uroniques, l'hexosamine et les esters de sulfate (Poli et al., 2010; Nanjani, 2012).

En tant que composant essentiel du biofilm bactérien, les polysaccharides extracellulaires (EPS) sont sécrétés par de nombreuses bactéries dans leur environnement pour exercer diverses fonctions biologiques (Hu et al., 2018). Les EPS encapsulent les cellules bactériennes, ou se lient aux cellules libérées dans l'environnement pendant la période de maturité bactérienne (Badel et al., 2011). Ils jouent des rôles importants dans l'adhésion bactérienne à la surface de l'hôte, la colonisation, la résistance au stress, et la modulation de l'immunité de l'hôte contre l'invasion bactérienne (Dai et al., 2010). Des études précédentes ont rapporté que plusieurs genres bactériens, dont *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Microbacterium*, *Planococcus*, *Halomonas*, pouvaient produire des EPS (Upadhyay et al., 2011; Bhagat et al., 2021).

L'accumulation d'EPS autour des racines modifie les propriétés physico-chimiques du sol rhizosphérique, conduisant à une réduction de la conductivité électrique et de la pression osmotique (Talebi Atouei et al., 2019). Les EPS peuvent également chélater les cations sodium, réduisant leur disponibilité (Hakim et al., 2021). Au niveau cellulaire, les EPS contribuent à la régulation de l'absorption d'eau et des flux ioniques pour maintenir l'équilibre osmotique sous stress salin (Hakim et al., 2021).

Les EPS peuvent agir comme éliciteurs et déclencher les réactions de défense des plantes. Ils activent les voies de signalisation immunitaires des plantes impliquant notamment l'acide salicylique, l'acide jasmonique ou l'éthylène (Iriti et al., 2003). Cette activation conduit à une augmentation de la production de composés antimicrobiens comme les phytoalexines (Romeiro and Kimura, 1997).

I.3.3. Contrôle du stress abiotique par les PGPR

I.3.3.1. Stress hydrique

La sécheresse, définie comme un déficit prolongé en eau disponible par rapport aux besoins des plantes, affecte de vastes zones géographiques à travers le monde (Geng et al., 2016). Elle constitue la principale contrainte abiotique limitant la productivité des cultures (Rockström and Falkenmark, 2000; Sadeghipour, 2019). Les changements climatiques augmentent la fréquence et l'intensité des épisodes de sécheresse, menaçant la sécurité alimentaire mondiale (Singh et al., 2018). Dans ce contexte, des stratégies durables d'amélioration de la tolérance des plantes au stress hydrique sont nécessaires. L'utilisation de PGPR représente une approche prometteuse pour renforcer la résistance des cultures à la sécheresse (Nadeem et al., 2014; Niu et al., 2018). De nombreuses études démontrent que l'inoculation de diverses plantes par des PGPR atténue

les effets délétères de la sécheresse, en termes de croissance, de rendement et d'accumulation de biomasse (Nadeem et al., 2014; Armada et al., 2016). Plusieurs mécanismes d'action synergiques des PGPR sont impliqués dans cette protection face au stress hydrique. Tout d'abord, certaines PGPR augmentent la disponibilité en eau pour la plante hôte, par une amélioration de la rétention en eau du sol. La production de d'exopolysaccharides (EPS) par les PGPR confère au sol des propriétés analogues à un hydrogel, permettant de retenir l'humidité à proximité des racines (Bhattacharjee et al., 2020). D'autre part, les PGPR stimulent le développement racinaire, ce qui permet une exploration plus efficace du sol et une absorption optimisée de l'eau (Kohler et al., 2008) . L'augmentation de la biomasse racinaire induite par les PGPR accroît ainsi la surface d'échange sol-racine pour l'absorption de l'eau.

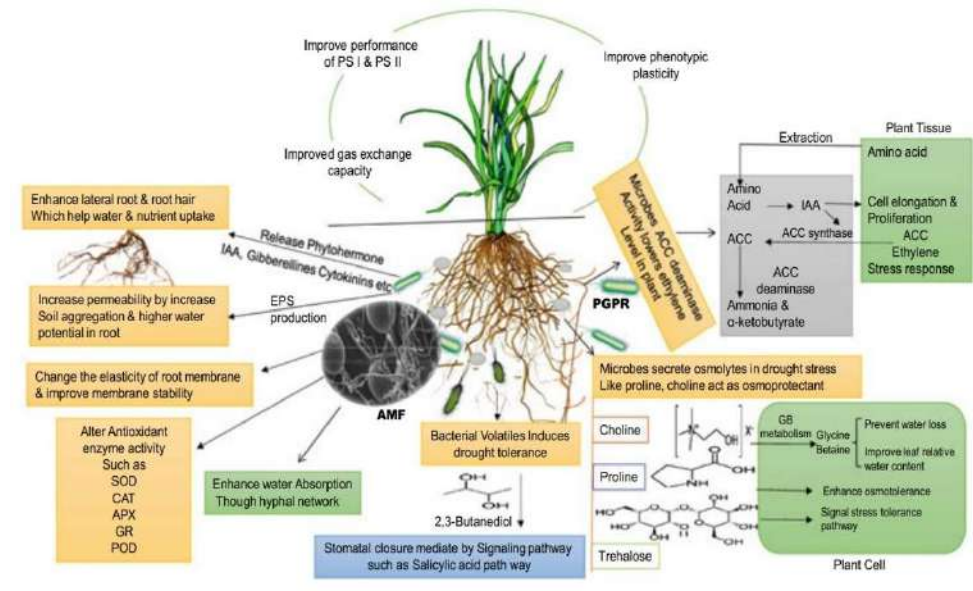


Figure 11 : Les stratégies employées par les PGPR pour atténuer le stress hydrique (Jatav et al., 2021).

Les PGPR atténuent également les effets délétères de la sécheresse au niveau physiologique. Elles stimulent la synthèse d'osmolytes et de protéines LEA qui maintiennent l'intégrité cellulaire en conditions de déshydratation (Bouremani et al., 2023; Sandhya et al., 2010). L'accumulation d'acides aminés proline et glycine bêtaïne préserve le potentiel osmotique et la turgescence foliaire (Nadeem et al., 2014). Les PGPR induisent aussi une régulation stomatique limitant les pertes d'eau par transpiration (Camaille et al., 2021). Enfin, elles activent des enzymes antioxydantes qui protègent contre le stress oxydatif associé à la sécheresse (Figure 12) (Kohler et al., 2008).

I.3.3.2. Stress salin

La salinité affecte près d'un milliard d'hectares dans le monde, principalement dans les régions arides et semi-arides, représente l'une des contraintes abiotiques majeures réduisant les rendements des cultures à l'échelle mondiale (Shahid et al., 2018). L'accumulation excessive de sels solubles comme le sodium (Na^+), le chlore (Cl^-), le calcium (Ca^{2+}), le magnésium (Mg^{2+}) et les bicarbonates (HCO_3^-) dans la rhizosphère perturbe la physiologie des plantes, entraînant une inhibition de la croissance, une réduction des rendements et la mort cellulaire (Rengasamy, 2006). Le stress salin affecte la physiologie des plantes à plusieurs niveaux, engendrant une toxicité ionique perturbant le métabolisme, un déséquilibre osmotique induisant un stress oxydatif via la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), entraînant des dommages aux membranes, des dommages aux protéines, des dommages à l'ADN, une inhibition de la photosynthèse, une perturbation des membranes, un arrêt de la croissance et à terme la mort cellulaire (Ashraf, 2004; Abbas et al., 2019). De nombreuses études démontrent que l'inoculation de plantes sensibles au sel par des PGPR tolérantes à la salinité permet de maintenir une biomasse et des rendements satisfaisants en conditions salines, révélant leur effet protecteur (Azeem et al., 2022; Pérez-Rodriguez et al., 2022). Plusieurs modes d'action synergiques sont impliqués dans la réduction du stress salin (Figure 13). Tout d'abord, certaines PGPR améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante hôte via la production d'osmolytes, d'hormones et d'enzymes. L'accumulation d'osmolytes comme la proline préserve le potentiel osmotique foliaire et la turgescence cellulaire face à la déshydratation (Yasin et al., 2018). La sécrétion d'auxine et de l'enzyme ACC déaminase par les PGPR stimule l'absorption d'eau en conditions limitantes par augmentation de la surface racinaire et limite l'inhibition de la croissance racinaire par l'éthylène respectivement (Barnawal et al., 2012).

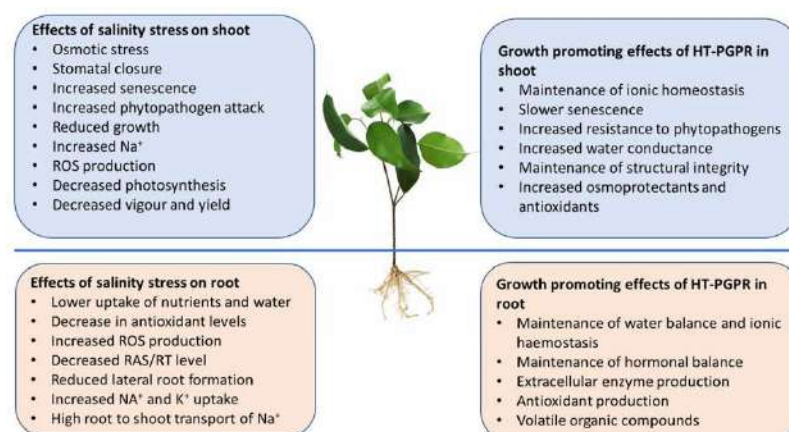


Figure 12 : L'implication des PGPR halotolérantes dans l'atténuation du stress salin (Kumar et al., 2023)

Les PGPR solubilisent également les éléments nutritifs du sol moins disponibles du fait de la présence du sel (Singh and Jha, 2017). D'autre part, les PGPR atténuent le stress oxydatif causé par l'excès de sels, en stimulant des enzymes antioxydantes qui éliminent les radicaux libres toxiques. Ainsi une augmentation de la superoxyde dismutase (SOD), de l'ascorbate peroxydase (APX), de la catalase (CAT) ou des métabolites antioxydantes tels que l'ascorbate et le glutathion a été observée chez les plantes inoculées avec des PGPR (Pal et al., 2021; Patani et al., 2023). De plus, les PGPR régulent certains gènes clés impliqués dans les réponses adaptatives au stress salin comme les transporteurs SOS1 ou NHX, ou des facteurs de transcription (Roy et al., 2021).

I.3.4. Lutte biologique par les PGPR

L'utilisation croissante des PGPR en lutte biologique suscite un intérêt grandissant en raison de l'échec des pesticides chimiques suite à plusieurs contraintes comme l'adaptation génétiques (Compant et al., 2005; Pérez-García et al., 2011). Outre leur capacité à stimuler la croissance des plantes, les PGPR présentent des propriétés antagonistes envers les agents pathogènes, ce qui en fait des alternatives écologiques aux pesticides de synthèse (Berg, 2009).

Les PGPR inhibent la prolifération des agents phytopathogènes par compétition pour les nutriments, l'espace et par antibiose (Figure 14). Ils produisent différents métabolites antimicrobiens qui perturbent la physiologie des pathogènes (Raaijmakers et al., 2002).

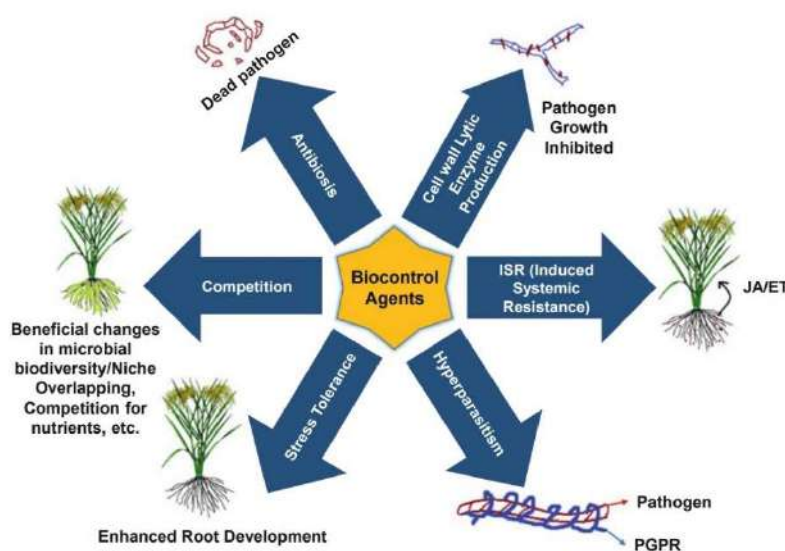


Figure 13 : Divers mécanismes de biocontrôle mis en œuvre par les PGPR (Bist et al., 2021).

I.3.4.1. Antibiose

Parmi ces métabolites, on trouve des antibiotiques tels que les phénazines, la pyrrolnitrine et la pyoluteorine, qui affectent respectivement la chaîne respiratoire, la synthèse protéique et l'intégrité des parois bactériennes (Chaudhari et al., 2017; Dimkić et al., 2022a). De plus, ils produisent des composés antifongiques tels que le 2,4-diacétylphloroglucinol (2,4-DAPG), les lipopeptides cycliques surfactine et iturine, qui détruisent les membranes des champignons telluriques (Dimkić et al., 2022a). Les PGPR sécrètent également des composés organiques volatils (VOC) et des enzymes lytiques qui exercent des effets toxiques indirects sur les phytopathogènes. Certains VOC, tels que les cétones, aldéhydes, alcools, sulfures et terpénoïdes, inhibent la sporulation, la germination et la croissance mycélienne de nombreux champignons phytopathogènes (Cordovez et al., 2015; Kanchiswamy et al., 2015). Leur mode d'action, bien que partiellement compris, implique des perturbations physiques et biochimiques au niveau des membranes fongiques. De plus, les PGPR sécrètent diverses enzymes extracellulaires, telles que des chitinases, des β -1,3- glucanases et des protéases, qui dégradent les composants structuraux de la paroi des champignons, tels que la chitine et les β -glucanes (Panicker and Sayyed, 2022). Cette dégradation enzymatique perturbe l'intégrité physique et le métabolisme des phytopathogènes.

De nombreuses études menées sur le terrain ont démontré l'efficacité des PGPR sélectionnées en lutte biologique contre différents agents pathogènes majeurs des cultures agronomiques. Par exemple, *Bacillus siamensis* LZ88 protège les plantes de tabac du maladie des taches brunes causé par *Alternaria alternata* en produisant des composés organiques non volatils, ainsi que des VOC toxiques pour les spores du champignon (Xie et al., 2021; Wang et al., 2022). D'après (Weselowski et al., 2016) La souche *Paenibacillus polymyxa* CR1 a montré une capacité à inhiber la croissances de plusieurs pathogènes bactériens (*Phytophthora sojae*; *Rhizoctonia solani*; *Cyindrocarpon destructans*; *Pseudomonas syringone* et *Xanthomonas campestris*), ce qui fait de cette souche un agent de biocontrôle à large spectre. Les lipopeptides cycliques et les VOC n'ont pas comme seul rôle d'inhiber la croissance des pathogènes, il peuvent aussi jouer un rôle déterminant dans l'induction de la résistance systémique chez leur plantes hôtes, Par exemple, les composés organiques volatils produits par *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a ont été démontrés comme déclencheurs de la Résistance Systémique Induite (ISR) chez les jeunes plants d'*Arabidopsis* (Ryu et al., 2004). De même, la souche *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3 a également induit la défense des plantes en produisant de l'iturine A et des surfactines dans les feuilles de fraises (Yamamoto et al., 2015).

I.3.4.2. Compétition pour l'espace et les nutriments

La compétition pour l'espace et les nutriments est l'un des mécanismes par lesquels les PGPR peuvent inhiber la prolifération des agents phytopathogènes et exercer un effet protecteur sur les plantes (Shafi et al., 2017). Dans la rhizosphère, les PGPR entrent en compétition avec les microorganismes telluriques pathogènes pour l'accès aux nutriments essentiels limités, comme le fer ou le carbone (Lugtenberg et al., 2001). Cette compétition nutritionnelle réduit la disponibilité des éléments nutritifs pour les agents pathogènes et limite ainsi leur croissance. La compétition pour le fer revêt une importance particulière dans l'activité antagoniste des PGPR (Kloepper et al., 1980). Le fer est en effet un élément indispensable à la croissance de la plupart des microorganismes. Cependant, dans les sols il est présent essentiellement sous des formes insolubles, peu assimilables. Certaines PGPR possèdent des systèmes de capture du fer très efficaces, leur conférant un avantage compétitif. Notamment, de nombreuses PGPR produisent et sécrètent des sidérophores, molécules chélatrices qui complexent le fer avec une très haute affinité (Ahmed and Holmström, 2014). Les PGPR dotées de sidérophores captent le fer plus efficacement que les agents pathogènes dépourvus de tels systèmes. Cette compétition par sidérophore pour le fer dans la rhizosphère inhibe la croissance des pathogènes et protège les plantes.

I.4. Interaction entre champignons et PGPR dans la rhizosphère.

I.4.1. Symbiose mycorhizienne entre champignons et plantes

Les mycorhizes, qui représentent des associations bénéfiques entre des champignons du sol et les racines des plantes, sont répandues chez environ 80 % des espèces végétales (Malloch et al., 1980). Elles se divisent principalement en deux types : les endomycorhizes à arbuscules (AMF), qui sont formées par les Gloméromycètes, et les ectomycorhizes (ECM), impliquant des champignons des groupes Basidiomycètes et Ascomycètes (Mouhamadou et al., 2011). Les hyphes fongiques externes jouent un rôle essentiel en explorant efficacement le sol, absorbant l'eau ainsi que des nutriments peu mobiles, comme les phosphates, l'azote sous forme ammoniacale ou organique, et des micronutriments essentiels. Ces nutriments sont ensuite transférés à la plante (Basu et al., 2018). En contrepartie, la plante attribue entre 4 % et 20 % de ses produits de photosynthèse au champignon, stimulant ainsi sa croissance et son activité dans le sol (Tomè et al., 2015). Il a été précédemment démontré que l'interaction entre les champignons et les plantes hôtes peut générer des motifs moléculaires associés aux microorganismes (MAMPs), des composés polysaccharidiques extracellulaires (EPS), des composés organiques volatils (VOC) et des facteurs Myc (Goh et al., 2014). Cette amélioration de l'apport

nutritionnel se traduit par une croissance améliorée et un rendement supérieur chez les plantes associées à des mycorhizes. De plus, la symbiose influence l'expression de gènes de défense et la production de métabolites antimicrobiens, tels que les phytoalexines, renforçant ainsi la capacité de protection de la plante (Gollotte et al., 1997).

I.4.2. Interactions bénéfiques entre champignons et PGPR

Les champignons et les PGPR sont deux composantes majeures du microbiote bénéfique des plantes, pouvant établir des interactions étroites au niveau rhizosphérique et endosphérique (Singh et al., 2016). Bien que potentiellement compétitives dans certains contextes, de nombreuses études mettent en évidence des relations positives, synergiques ou commensales entre PGPR et champignons, se traduisant par une amélioration significative de la physiologie végétale (Frey-Klett et al., 2007; Agnolucci et al., 2015).

Plusieurs mécanismes sous-tendent ces interactions complémentaires. Certaines PGPR stimulent activement la symbiose mycorhizienne. Par exemple, la souche *Paenibacillus sp.* EJP73 favorise la formation de mycorhizienne chez les champignons ectomycorhiziens (*Lactarius rufus-Pinus sylvestris*, *Laccaria bicolor-P. sylvestris*) (Aspray et al., 2006) et chez le champignon endomycorhizien *Glomus mosseae-Cucumis sativus* (Li et al., 2008). D'autre part, les champignons mycorhiziens favorisent généralement la colonisation des racines par les PGPR. De telle sorte que les hyphes extra-racinaires constituent de nouvelles interfaces habitables pour les bactéries (Aspray et al., 2006). De plus, les exsudats fongiques enrichissent la rhizosphère en composés organiques stimulant certaines PGPR (Toljander et al., 2007).

Ces interactions se traduisent par des effets additifs ou synergiques sur la physiologie des plantes. Ainsi, L'effet de champignons mycorhiziens seuls ou en association avec une bactérie sur la croissance de *Withania somnifera*. Ils ont testé trois micro-organismes : les champignons mycorhiziens *Acaulospora laevis* et *Claridioglomus etunicatum*, ainsi que la bactérie *Bacillus licheniformis*. Les résultats ont montré que la croissance des plantes, la biomasse sèche, les teneurs en azote et phosphore, ainsi que la concentration en withanolides étaient maximales chez les plantes inoculées avec à la fois *A. laevis* et *B. licheniformis*. Cette association microbienne s'est révélée plus efficace qu'une l'inoculation seulement avec des mycorhizes (Nanjundappa et al., 2019). De tels effets bénéfiques sont rapportés pour de nombreuses combinaisons PGPR-champignon et cultures diverses, on trouve ainsi une efficacité des consortia PGPR-AMF au niveau de la promotion de croissance (Vafadar et al., 2014) la protection des plantes contre les pathogènes (Yusran et al., 2009) la réduction du stress

abiotique (Armada et al., 2016) démontrant une complémentarité fonctionnelle entre ces deux composantes du microbiote.

I.5. Avantages et inconvénients de l'utilisation des PGPR en agriculture.

Les PGPR, utilisés en tant qu'agents de lutte biologique, présentent divers avantages par rapport aux composés chimiques traditionnels de lutte. Tout d'abord, les PGPR sont d'origine naturelle, respectueux de l'environnement et non toxiques (Choudhury et al., 2022). De plus, sur le plan écologique, leur utilisation est durable à long terme (Ahemad and Kibret, 2014). Un autre atout des PGPR réside dans leur variété de mécanismes d'action, notamment l'antibiose, la production de sidérophores, la dégradation des parois cellulaires des agents pathogènes par la production d'enzymes (Compant et al., 2005), et leur capacité à induire la résistance systémique dans les plantes (Pieterse et al., 2014). De plus, l'amélioration directe de la croissance des plantes est un avantage supplémentaire des PGPR (Orozco-Mosqueda et al., 2020).

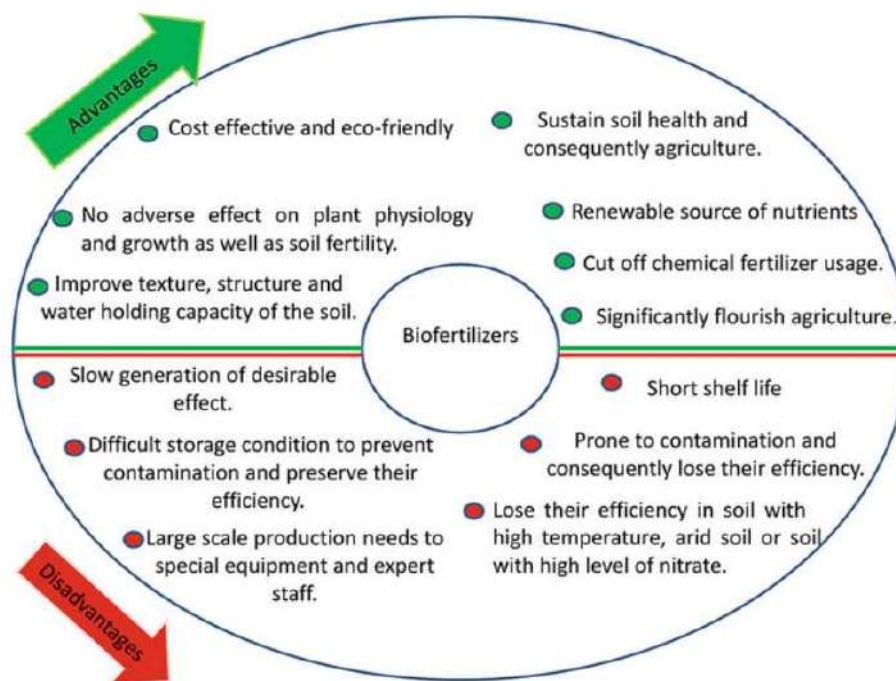


Figure 14 : Les avantages et les inconvénients de l'utilisation de biofertilisants (Salimi and Hamedi, 2021)

Cependant, l'utilisation d'agents de lutte biologique tels que les PGPR présente des inconvénients par rapport aux composés chimiques classiques. Tout d'abord, en tant que micro-organismes vivants, les PGPR sont sensibles aux conditions environnementales, telles que la température, les caractéristiques du sol, la dessiccation, etc. (Bashan et al., 2014). De plus, la durée de conservation des PGPR commerciaux, ou des agents de lutte biologique en général,

est plus limitée que celle des pesticides ou des fongicides chimiques (Marina et al., 2018). En outre, bien que certains agents de lutte biologique soient efficaces en laboratoire, ils peuvent échouer sur le terrain (Schisler et al., 2004) . Leur efficacité peut être influencée par les communautés microbiennes indigènes du sol, et ils ont également la capacité d'influencer les communautés dans lesquelles ils sont introduits (Castro-Sowinski et al., 2007).

*Chapitre II : Isolement et caractérisation
des rhizobactéries de l'olivier*

Chapitre II : Isolement et caractérisation des rhizobactéries de l'olivier

II.1. Contexte

La rhizosphère, qui entoure les racines des plantes, est considérée comme l'un des écosystèmes les plus complexes de la planète, abritant une grande diversité chimique, physique et biologique. Chaque rhizosphère présente des caractéristiques uniques, en faisant un microcosme digne d'exploration. Comprendre le fonctionnement de la rhizosphère revêt une importance cruciale en raison de ses interactions complexes entre les racines, le sol et les micro-organismes du sol, qui ont un impact direct sur des enjeux environnementaux majeurs. Une meilleure compréhension de la rhizosphère pourrait ouvrir la voie à des solutions durables pour l'alimentation, la gestion de l'eau et la préservation de la biodiversité.

Ces dernières décennies, de nombreuses études se sont concentrées sur la rhizosphère, sa microflore et leurs effets sur la santé et la croissance des plantes. Ces études ont mis en lumière la diversité et l'importance cruciale des micro-organismes, tels que les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), dans l'amélioration des rendements des cultures, que ce soit dans des conditions normales ou de stress.

Dans cette optique, l'objectif de la présente étude est d'analyser la diversité, les caractéristiques bénéfiques pour les plantes, ainsi que la tolérance au stress des bactéries isolées de la rhizosphère de l'olivier (*Olea europaea*) poussant dans des sols prélevés dans trois régions du Maroc réputées pour leur climat aride à semi-aride. Ces régions sont Errachidia, Zouala et Essaouira.

II.2. Article 1 : Plant Growth Promoting (PGP) performances and diversity of bacterial species isolated from olive (*Olea europaea L.*) rhizosphere in arid and semi-arid regions of Morocco

RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

Plant Growth Promoting (PGP) Performances and Diversity of Bacterial Species Isolated from Olive (*Olea europaea* L.) Rhizosphere in Arid and Semi-arid Regions of Morocco

Abdessamad Sallami^{1*} , Farid Rachidi¹ , Abdelali Idrissi Lahsini¹,
Hanane El Khedri¹, Allal Douira² , Cherkaoui El Modafar³ ,
Leila Medraoui¹  and Abdelkarim Filali-Maltouf¹ 

¹Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Center of Plant and Microbial Biotechnology, Biodiversity and Environment, Faculty of Sciences, Mohammed-V University in Rabat, Morocco.

²Laboratory of Botany, Biotechnology and Plant Protection, Faculty of Sciences, University Ibn Tofail, Kenitra, Morocco.

³Agro-biotechnology and Bio-engineering Center, CNRST Labeled Research Unit (URL-CNRST 05), Gueliz Faculty of Science and Technology, Cadi Ayyad University, Marrakech, Morocco.

Abstract

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) play an essential role in enhancing plant growth, health and yield. In this study, we describe the isolation of PGPR associated with the olive tree (*Olea europaea* L.) grown in three Moroccan regions of *Zouala*, *Errachidia*, and *Essaouira*. In these regions, we isolated 95 PGPRs from rhizosphere of Olive trees, 78% of them were characterized by their tolerance to a salinity of 4-11%. We also found that 39% of these PGPRs were phosphate solubilizing bacteria (PSB) with a solubilization ability greater than 100 µg/mL. In fact, *Pantoea agglomerans* (MRC_ZO_17) and *Enterobacter ludwigii* (MRC_ZO_97), showed the highest phosphate solubilization rates of ~450 µg/mL and ~196 µg/mL, respectively. In addition to their ability to solubilize phosphate, various isolates had the ability to produce Indole-3-acetic acid (IAA). For instance, *E. ludwigii* (MRC_ZO_97) had an IAA production of ~60.48 g/mL. In the region of *Zouala*, characterized by relatively higher salinity and lower rate of organic matter, Firmicutes isolates account for 87% of the isolated rhizobacteria. Interestingly, we found that the olive tree-associated PGPRs vary significantly between the three sampled regions. Several rhizobacteria isolated in this study are excellent candidates for formulation as bioinocula for plants in saline soils.

Keywords: PGPR, Rhizosphere Soil, Diversity, Olive, Phosphate Solubilization, Abiotic Stress

*Correspondence: sallami159@gmail.com

Citation: Sallami A, Rachidi F, Lahsini AI, et al. Plant Growth Promoting (PGP) Performances and Diversity of Bacterial Species Isolated from Olive (*Olea europaea* L.) Rhizosphere in Arid and Semi-arid Regions of Morocco. *J Pure Appl Microbiol.* Published online 23 October 2023. doi: 10.22207/JPAM.17.4.13

© The Author(s) 2023. **Open Access.** This article is distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) which permits unrestricted use, sharing, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

INTRODUCTION

The olive tree (*Olea europaea* L.) is one of the oldest cultivated crop species. It was domesticated around 2000 BC and since then, it has played a pivotal socioeconomic role, especially in the Mediterranean region, which accounts for 95% of olive production worldwide.^{1,2} It is the only member of the Oleaceae family that yields edible fruits, and it stands second oil crop after the palm.^{1,2} Olive oil presents an important source of nutrients and health benefits.³ The demand for olive oil continues to grow and thus the pressure on olive production has also increased.^{4,5} In Morocco, which is one of the most important olive producers among the Mediterranean countries, the olive crop occupies a surface of more than 560,000 ha and contributes about 5% of the Moroccan GDP.⁶

To face the growing demands for olive production in Morocco and other countries, two main strategies are followed: (a) expanding the olive-growing lands and (b) increasing the yield per area unit. Despite substantial efforts to expand olive production surface such as assisting farmers in adopting new irrigation technologies and modern farming practices to cultivate new lands the expansion of production areas remains unsatisfactory. This is primarily due to several limitations, including soil salinization, water scarcity, and the high cost of chemical fertilizers. Therefore, emphasizing the enhancement of yield per unit area emerges as a more practical and sustainable approach to concentrate on. This strategy necessitates a deeper comprehension of *O. europaea*'s biology and cannot be accomplished solely through the application of chemical fertilizers and pesticides. For instance, when essential elements, such as nitrogen (N), phosphate (P), and potassium (K) are supplied by chemical fertilizers, a huge amount of them can be lost due to leaching or immobilization.^{7,8} However, continuous application of chemical fertilizers and pesticides can lead to deterioration of the microbiology, texture, and fertility of the treated soils, negatively affects the plant performance. Besides the accumulation of numerous toxic elements in the phreatic napes.^{9,10} Nevertheless,

chemical fertilizers could be substituted with organic amendments that have shown significant economic and environmental benefits.¹ One very old and simple way to enhance soil potential is to mix different soils to remedy nutrients and as it was described by Theophrastus (372–287 BC) “to add heart” to the soil.¹¹

Recently, research has put the spotlight on a different aspect that is very implicated directly and indirectly involved in the availability and uptake of nutrients and plant immunity, which is the plant microbiome, notably the rhizobacteria.¹²⁻¹⁴ The rhizosphere was first described by the agronomist Hiltner in 1904 as the region of the interface between the plant root system and its surrounding bulk soil. This interface is a very complex ecosystem that is characterized by a large number of diversified bacteria. Among these bacteria, Plant growth-promoting Rhizobacteria (PGPR) are of particular interest,¹⁵ because of their ability to facilitate the immobilization and absorption of Nitrogen (N), Phosphorus (P), and Potassium (K) without the need for mineral fertilizers,¹⁶ Interestingly, many species of PGPR are directly involved in the biosynthesis of the phytohormones Indole-3-acetic acid (IAA), cytokinins, and gibberellins that modulate plant growth and root architecture.^{17,18} Furthermore, PGPR can also secrete a variety of beneficial compounds, including cell wall degrading enzymes, antibiotics, and antifungals that directly influence plant-pathogen interactions and improve plant immunity.¹⁸⁻²⁰ Moreover, once inoculated in a Rhizosphere, PGPRs can persist for a long time and in fact, the plant naturally encourages their establishment in a very symbiotic interaction. Therefore, PGPR can be a great source of biofertilizers, biostimulants, and biocontrol agents that should be incorporated into organic olive production.

This study focuses on the isolation, characterization, and molecular analysis of bacteria inhabiting the rhizosphere of cultivated olive trees across three distinct regions in Morocco. Emphasis is placed on assessing their potential to be categorized as Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and, by extension, their suitability as bioinoculants for soil enhancement.

MATERIALS AND METHODS

Study sites, sample collection and bacterial isolation

Soil samples were collected from the rhizosphere of olive trees grown at several sites within three southern regions of Morocco; *Zouala* region in the Ziz Valley (31° 47' N, 04° 14' W); *Errachidia* region (31° 51' N, 04° 16' W) and *Essaouira* region (31° 17' N, 9° 27' W) (Figure 1). Soil samples were placed in sterile boxes then transported to the laboratory four days later for further analysis. Each soil sample weighing 1g was resuspended in 9mL of sterile saline solution and utilized for bacterial isolation. The soil suspensions were gently stirred for 1 hour at room temperature, before being serially diluted with sterile saline solution. 100 µL of each dilution was spread on nutrient agar plates supplemented with 50 µg/mL of the antifungal Amphotericin B and incubated for 48±2 hours at 28°C. From each of the dilution plates exhibiting bacterial growth, colonies were chosen and streaked onto nutrient agar plates to establish pure cultures. For the purpose of acquiring ample biomass, subsequent to this step, each individual isolate was introduced into nutrient broth and allowed to incubate for 24±2 hours. Finally, the isolates were cryopreserved in a 40% (v/v) glycerol solution at -80°C.

Qualitative and quantitative estimation of phosphate solubilization

To evaluate the phosphate solubilization ability, qualitative tests were performed using Pikovskaya's agar plates.²¹ The plates contain tricalcium phosphate as the sole phosphate source (P) and bromophenol blue to visualize phosphate solubilization. After 5 days of incubation at 28°C, colonies that showed a solubilization zone on the agar plates were considered to exhibit phosphate solubilization traits. Quantitative phosphate solubilization tests were performed in Pikovskaya's liquid (PVK) medium.²¹ Selected isolates were cultivated in Erlenmeyer flasks containing 100 mL of liquid PVK medium supplemented with 0.1 g of phosphate rock (Phosphate mines, Khouribga, Morocco). Prior to its addition to the PVK medium, the phosphate rock was ground to a particle size of 0.02 mm. All cultures had an initial optical

density (OD₆₀₀= 0.05) in order to standardize the cell density of all isolates. The tested isolates were inoculated and grown in PVK medium for 48±2 hours at 28°C with continuous shaking at 180 rpm. At the end of each incubation, the pH of the growth medium was measured and the bacterial cultures were centrifuged at 13,000 x g for 10 minutes. The supernatants obtained were filter-sterilized using a 0.2 µm filter (Millipore). Soluble Phosphate concentrations in each supernatant were determined at 405 nm using the Vanadomolybdo-phosphoric Acid colorimetric method.²² Sterile PVK medium supplemented by phosphate rock incubated for 48h was used as a blank control. A KH₂PO₄ standard curve with known concentrations was used to calculate soluble phosphate concentrations.

Indole acetic acid (IAA) production

To determine the amounts of IAA produced by each isolate, a colorimetric technique was performed using Van Urk Salkowski reagent following Salkowski's method.²³ Bacterial cultures were prepared following the procedure described above and then cultivated in YEM liquid cultures containing 500 µg/mL of Tryptophan for 24h at 28°C in a shaking incubator at 180 rpm. Fully grown cultures were centrifuged at 10,000g for 10 min and the obtained supernatants were filtered using a 0.2 µm Millipore filter. From each supernatant 1 mL was mixed with 2 mL of Salkowski reagent (50 ml, 35% of Perchloric Acid, 1 ml 0.5 M FeCl₃ solution) and kept in the dark for 30 min. The development of pink color is indicative of IAA production. OD values were recorded at 530 nm and the concentrations of IAA produced by each culture were determined against a standard curve built using known commercial IAA (Sigma Aldrich).

Ammonia (NH₃) and Hydrogen cyanide (HCN) production

Tests of Ammonia and Hydrogen cyanide were carried out according to the methods described by Cappuccino and Sherman²⁴ and Lorck,²⁵ respectively.

Exopolysaccharides (EPS) production

For each isolate, a 5mm-diameter paper disc was inoculated with 2 microliters of liquid culture. These discs were then placed onto

the surface of an agar medium (composed of 2% yeast extract, 1.5% K₂HPO₄, 0.02% MgSO₄, 0.0015% MnSO₄, 0.0015% FeSO₄, 0.003% CaCl₂, 0.0015% NaCl, 1.5% agar), supplemented with 10% saccharose and adjusted to a pH of 7.5.²⁶ The production of EPS was determined by the size of the halo around the isolate-containing discs and their visible slime appearance. This EPS production was confirmed through the precipitation of a portion of the mucoid substance from the slime, which was mixed with 2 ml of absolute ethanol, resulting in a precipitate indicating the presence of EPS.²⁷

Siderophores production

Production of siderophores by various isolates was quantified according to the Schwyn and Neilands method²⁸ modified by Alexander and Zuberer.²⁹ Cultures were cultivated in an iron-free medium composed of (in g.L-1): K₂HPO₄ '0.5'; MgSO₄ 7H₂O '0.2'; (NH₄)₂SO₄ '1.0'; Sodium glutamate '1.0'; NaCl '0.1'; Mannitol '10.0'. After 7 days of incubation at 28°C in a rotary shaker, the cultures were centrifuged at 10,000g for 20 min and 1 mL of each supernatant was placed in a hemolysis tube pre-treated with HCl. Then they were mixed with Chrome Azurol S (CAS) reagent and incubated for 30 min in the dark. If present, siderophores remove iron from the dye complex and cause a decrease in the intensity of the blue color measured at 630 nm. The production of siderophores was measured in percentage units of siderophores calculated as $((Ar - As) \times Ar - 1) \times 100$ where Ar is the absorbance of reference (media + CAS assay solution) and As is the absorbance of the sample.³⁰

Potassium Solubilization

The qualitative test of potassium solubilization was carried out using Aleksandrov agar plate medium.³¹ The plates were then incubated at 28°C for 5 days. Colonies that showed a solubilization zone on the agar plates were considered to be positive.

Stress Tolerance Evaluation

The tolerance of tested isolates toward abiotic stress such as temperature and salinity were studied. Salt tolerance was tested in nutrient

broth medium supplemented with (1%, 2%, 3% and up to 12% NaCl, w/v). Following incubation at 28°C for 24h, each isolate was streaked on an agar medium and growth was visually evaluated. The temperature tolerance of the isolates was investigated through streaking it onto nutrient agar plates, followed by incubation at specific temperatures: 28°C, 35°C, 40°C, 45°C, 55°C, and 60°C. The incubation duration was 24 hours.

DNA extraction, REP-PCR, and 16S rRNA

Total genomic DNA from each isolate was extracted and purified using the method described by Atashpaz et al.³² A NanoDrop 2000 was used to evaluate the purity and concentration of the isolated DNA.

The REP-PCR profiling was performed on 205 isolates using primers REP1R 5'-IIICGICGICATCIGGC3' and REP1I 5'-ICGICTTATCIGGCCTAC-3'. The thermocycling protocol comprises an initial denaturation at 95°C (3 min), 40 cycles of denaturation at 94°C (30 sec), hybridization at 40°C (45 sec) and extension at 72°C (1 min), followed by a final extension at 72°C (5 min). The amplicons were analyzed by electrophoresis in a 2% agarose gel at 70 volts for 90 min. After migration, the fingerprints were examined visually. From a group of isolates that had the same DNA fingerprint and physiological and biochemical characteristics, a single isolate was selected for 16S rRNA identification. A total of 95 isolates were retained and their 16S rRNA sequences were amplified using the forward (27F 5'-AGTTTGATCMTGGCTCAG-3') and reverse (1492R 5'-GGTTACCTTGTTACG ACTT-3') primers. The PCR program was as follows: initial denaturation at 95°C for 3 min, 30 cycles of 94°C for 3 min, 94°C for 30 s, 55°C for 45 s, 72°C for 1 min and 72°C for 8 min. All amplified gene fragments were sequenced in UATRS-CNRST, Rabat, Morocco. The sequences were corrected using Chromas software and were assembled using DNA Dragon: (Sequence Contig DNA assembly software") and finally submitted to the GenBank Database (NCBI).

This study presents the results of isolates from different regions: Zouala, Errachidia, and Essaouira. The outcomes for Zouala isolates, identified by the prefix MRC_ZO, are displayed in (Figure 2). Likewise, results pertaining to isolates

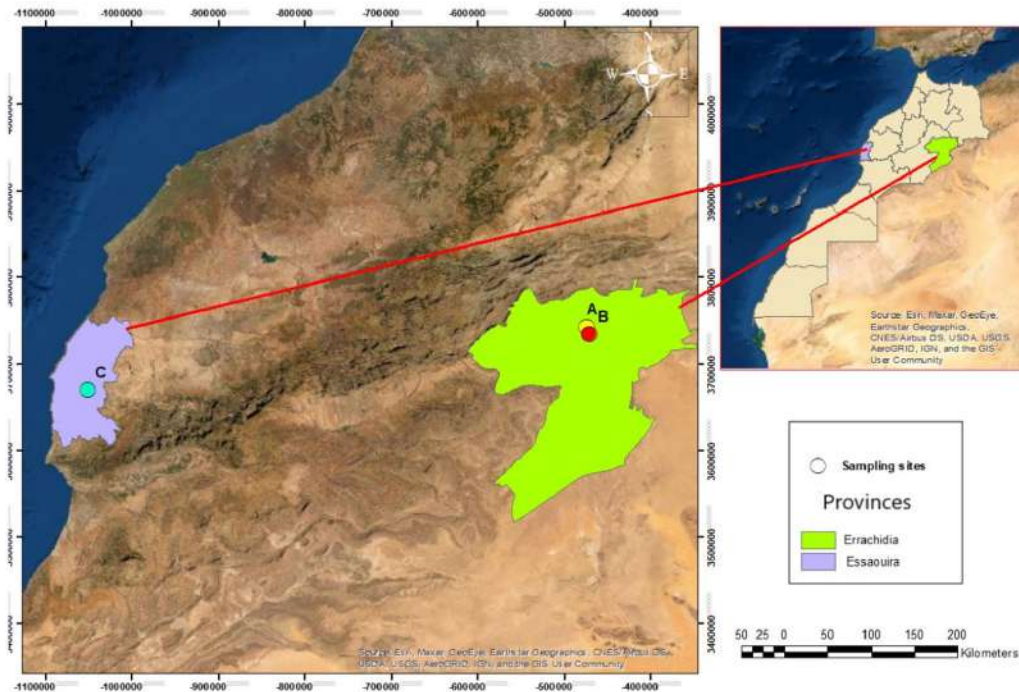


Figure 1. Location of sampling sites. A: Errachidia, B: Zouala, C: Essaouira

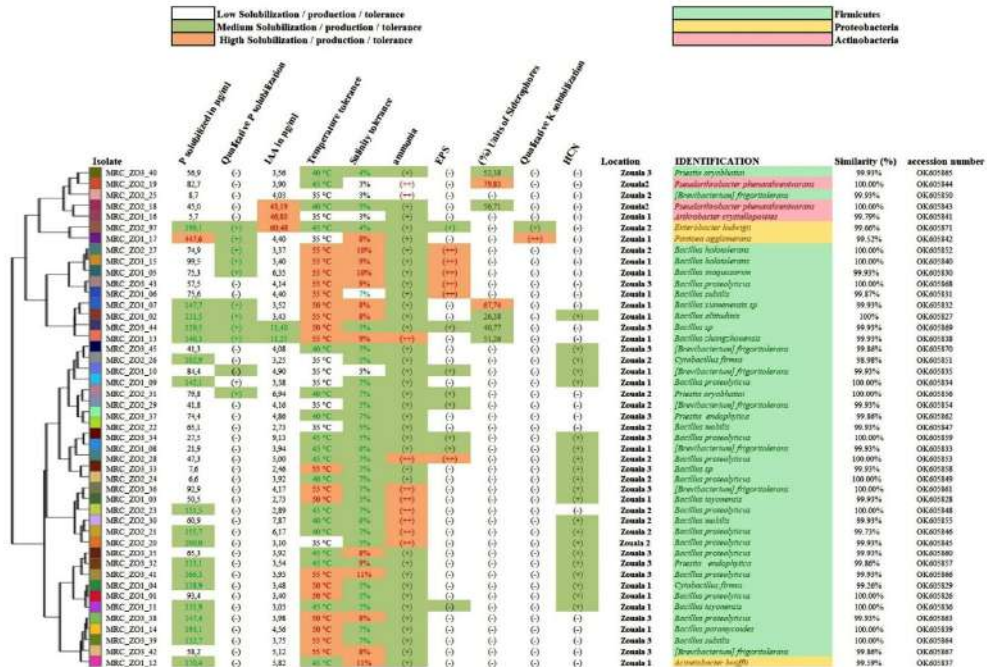


Figure 2. Cluster analysis of rhizobacteria isolated from the Zouala region. The classification displayed here is based on their biochemical and physiological traits with the unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA), with identification, similarity (%) and accession number (GenBank database), designed using GraphPad Prism 8 software

from the Errachidia region, characterized by the prefix MRC_ES, are depicted in (Figure 3). Lastly, findings from the Essaouira region, with the prefix MRC_ES, are illustrated in (Figure 4).

RESULTS

Qualitative and quantitative estimation of phosphate solubilization

During the qualitative test of P solubilization, all tested isolates were able to grow on PVK agar plates and only 30% of them were

able to form a solubilization halo (Figure 5). The quantitative test showed that all isolates were able to solubilize the phosphate rock with solubilization values ranging from 4.7µg/mL to 447µg/mL and a pH ranging between 3,99 and 7,27. Interestingly about 39% and 2.1% of the tested isolates were able to solubilize more than 100µg/mL and 200 ig/mL, respectively. The lowest solubilization value was recorded in the isolate MRC_ES_95 with a final pH of 6,65, and the highest value was observed in the isolate MRC_ZO_17 with a pH of 3,99.

Table 1. Taxonomic distribution of the 95 rhizobacteria isolated from the *Zouala*, *Errachidia* and *Essaouira* regions

Order	Family	Genus	Number of bacterial isolates			
			Zouala	Errachidia	Essaouira	Total
Bacillales	Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	27	13	3	43
		<i>Brevibacterium</i>	7	2	4	13
		<i>Priestia</i>	4	1	1	6
		<i>Cytobacillus</i>	2	-	-	2
Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	-	10	1	11
	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	1	-	-	1
	Enterobacteriaceae	<i>Enterobacter</i>	1	-	-	1
		<i>Pantoea</i>	1	-	-	1
Micrococcales	Micrococcaceae	<i>Arthrobacter</i>	1	-	9	10
		<i>pseudarthrobacter</i>	2	2	2	6
		<i>Sinomonas</i>	-	1	-	1

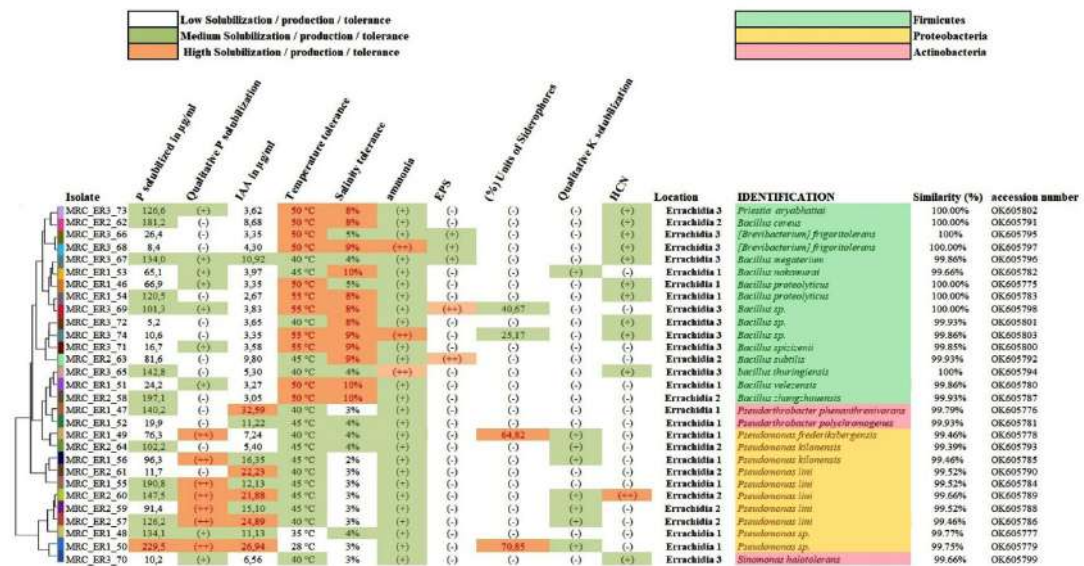


Figure 3. Cluster analysis of rhizobacteria isolated from Errachidia region. Classification displayed here is based on their biochemical and physiological traits with the unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA), with identification, similarity (%) and accession number (GenBank database).

Indole acetic acid production

The IAA production test showed that all isolates were able to produce this phytohormone with a production range between 2,43 µg/mL and 61,32 µg/mL scored by the isolates MRC_ES_90 and MRC_ES_86, respectively. However, the number of isolates with a high to moderate production rate was low, as only 3.2% of the isolates were able to produce more than 50 mg/mL, 23.1% of the isolates produced between 10 µg/mL and 50 µg/mL and the rest (73.7%) produced less than 10 µg/mL of IAA.

Siderophores production

The production of siderophores is revealed by measuring the variation of color at 630 nm after the addition of the (CAS) reagent. Results were fluctuating between 0 and 79.8 percentage units. The vast majority of olive tree rhizobacteria (81% of isolates) did not produce siderophores. Conversely, 18.9% exhibited siderophore production above 25 percentage units, with 11.7% exceeding 40 percentage units and 7.4% surpassing 60 percentage units. Notably, the isolate MRC_ZO_19 showcased the most elevated outcome (79.8 percentage units), followed by isolate MRC_ER_50 (70.8 percentage units).

Ammonia and hydrogen cyanide production

All the tested isolates scored positive for ammonia production and 16.9 % of them were characterized with high levels of ammonia production, while 83.1% of them had low to moderate ammonia production. Regarding hydrogen cyanide production, 54 isolates scored positive with only 4 isolates having a good amount of HCN production.

Potassium solubilization and exopolysaccharides production

Among the 95 isolates tested for potassium solubilization, 12 isolates showed the formation of a solubilization halo and only 1 isolate (MRC_ZO_17) exhibited an important halo. Regarding exopolysaccharides production, 26 isolates were able to produce the exopolysaccharide, of which 17 showed moderate production and 9 showed good production.

Stress tolerance test

All isolates were tested for their tolerance to salinity with NaCl concentrations ranging from 1% to 12%. The results showed that 36.8% of the isolates grew at NaCl concentrations between 1% and 4%, 46.4% of the isolates grew at concentrations from 5% to 8%, and finally 16.8%

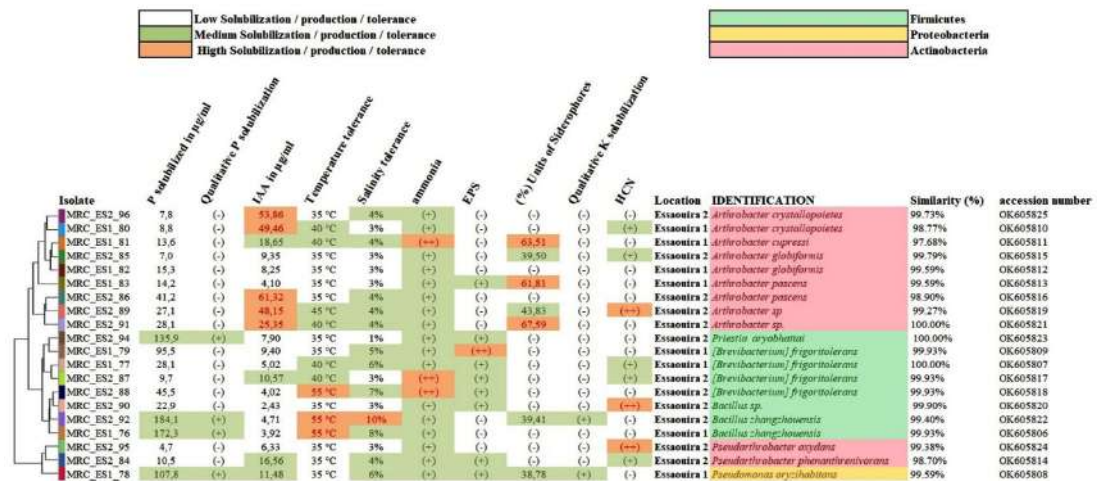


Figure 4. Cluster analysis of rhizobacteria isolated from Essauira region. Classification displayed here is based on their biochemical and physiological traits with the unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA), with identification, similarity (%) and accession number (GenBank database)

Table 2. Physicochemical characteristics of the soil of the olive trees of the three regions *Zouala*, *Errachidia*, and *Essaouira*

	Clay %	Sand %	Silt %	Classification	pH (H ₂ O)	pH (Clk)	Water %	Salinity dS/m	OM %	N total %	C/N	P ppm	K ppm	Fe ppm
<i>Zouala</i>	25.20	34.54	40.26	Loam	7.8	7.8	10.92	8.83	0.83	0.058	8.29	13	860	3
<i>Errachidia</i>	20.60	32.07	47.33	Loam	8.3	8.1	18.26	0.87	2.34	0.162	8.32	63	640	5
<i>Essaouira</i>	58.1	7.22	34.68	Clay	7.9	7.0	11.30	0.18	3.83	0.266	8.27	2	280	4

of them were able to grow at NaCl concentrations between 8% and 11%. Interestingly, two isolates (MRC_ZO1_12 and MRC_ZO3_41) were able to tolerate 11% NaCl. With respect to the different incubation temperatures, 54.7% of the isolates were able to grow at temperatures above 45 °C and 44.2% of them grew at temperatures between 35 °C and 40°C.

Molecular analysis

A total of 205 bacterial isolates were isolated from the analyzed soil samples. Out of these, 95 isolates (46 from Zouala, 29 from Errachidia, and 20 from Essaouira) were selected based on their REP-PCR profiling results. After comparing the 16S rRNA sequences with BLAST homologs in GenBank, As displayed in Table 1, there are numerous genera, with the genus *Bacillus* predominating.

DISCUSSION

Plant growth-promoting Rhizobacteria has been subjected to a huge number of studies across multiple crops to study their potential use as a sustainable and eco-friendly alternative to chemical fertilizers. So far, multiple important PGPR isolates have been identified and belong to a variety of genera, including *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas* and *Rhizobium*.^{15,33} The diversity of the rhizosphere microbiome is very enormous and is influenced by both the surrounding plants and environmental factors, such as the type of soil. In the present study, samples were collected from two different types of climates, arid (*Errachidia* and *Zouala*) and semi-arid (*Essaouira*). These three targeted regions are known for their traditional olive tree agriculture in small-scale farming systems with low to almost no irrigation and chemical inputs. Regarding soil characteristics, the *Zouala* region has a high rate of salinity and a very low rate of nitrogen and organic matter while the *Essaouira* region has a low rate of phosphorus (Table 2). The objective of this study is to choose elite PGPR isolates for the development of a biofertilizer and bioprotective bio-inoculum, while also establishing a bio-bank of rhizosphere

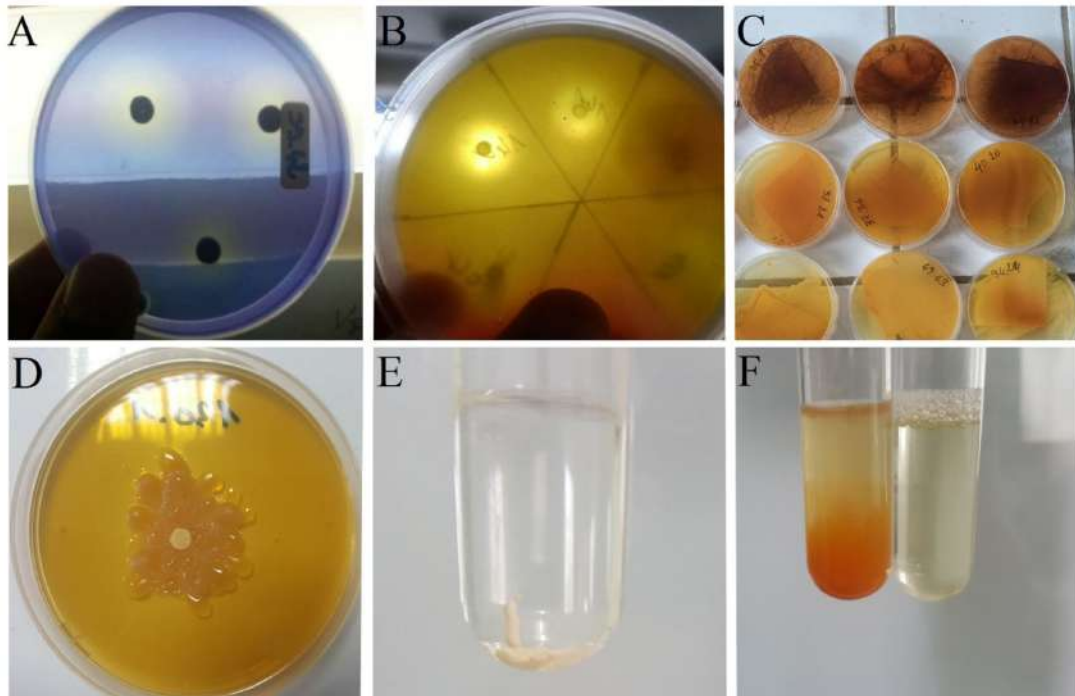


Figure 5. Qualitative activity of Olive rhizosphere-associated bacteria. A: The clear halo indicates the solubilization of phosphate on the PVK agar plate. B: Clear halo indicates solubilization of potassium on Aleksandrov agar plate. C: brown coloration of filter paper indicates HCN production. D: halo with slime appearance around the isolate indicates EPS production. E: confirmation of EPS production by the formation of a white precipitate in absolute ethanol. F: development of brown to yellow color indicates ammonium production.

bacteria for future applications. Additionally, this research acts as a supplementary extension to the work conducted by Lahsini et al.³⁴ wherein each region was represented only by five isolates.

As expected, the rhizobacterial profiles of the three regions were different with a predominance of *Bacillaceae* in the *Zouala* region, a co-dominance of *Bacillaceae* and *Pseudomonadaceae* in the region of *Errachidia* and finally, a co-dominance of *Bacillaceae* and *Micrococcaceae* in the *Essaouira* region. The predominance of firmicutes in the *Zouala* region with 87% firmicutes could be explained by its high soil salinity. Several studies have reported the adaptation of firmicutes to high salt concentrations through the production of endospores under stress conditions.³⁵ Priest³⁶ reported that firmicutes are often dominant in soils with poor organic matter. And despite its high salinity and lack of organic matter, the *Zouala* rhizosphere conceals an

important diversity compared to the two other regions.

Barriuso *et al.* reported that 95% of gram-positive bacteria in the rhizosphere belong to the genus *Bacillus* and 5% belong to the genus *Arthrobacter* and *Frankia* while the majority of gram-negative bacteria belonging to the genus *Pseudomonas*.³⁷ Similarly, our results showed the presence of *Bacillus* in the three studied regions, no *pseudomonas* was isolated in the region of *Zouala*. The *Essaouira* region was characterized by the codominance of *Bacillaceae* and *Micrococcaceae*. The differences observed in the microbial profile of the three regions are due to several factors such as the nature and composition of the soil, climate, and even agricultural practices.

In the present study, a total of 13 *Brevibacterium frigiditolerans* were isolated and identified from the 3 regions showing an important intraspecific diversity with a temperature

tolerance ranging from 35°C to 55°C, a salinity tolerance ranging from 3% to 9% and their P solubilization varied from 8.4 µg/mL to 95.5 µg/mL. *Brevibacterium frigoritolerans* and *Brevibacterium halotolerans*, reclassified nowadays as *Bacillus halotolerans*,³⁸ were first isolated from the Moroccan arid soils by Delaporte and Sasson,³⁹ and they seem to be typical indigenous species of arid Moroccan soils. Several studies have shown the effectiveness of *Brevibacterium frigoritolerans* and *Bacillus halotolerans* as bioremediants.⁴⁰⁻⁴² We were able to isolate from the Zouala region two *Bacillus halotolerans* isolates with salinity tolerance ranging from 9% to 10%, a temperature tolerance of 55°C and good production of exopolysaccharides EPS.

These EPS are an important group of high-molecular-weight complex polymers composed of sugar moieties and form the major component of bacterial biofilm.⁴³ Our results showed that 27.3% of the tested isolates have the ability to produce EPS, particularly those of the genus *Bacillus*. The exopolysaccharides produced by PGPR bind to Na⁺ cations and are known to increase plant tolerance to salinity and drought.⁴³ During the temperature tolerance test, most *Bacillus* isolates produced EPS under heat stress with a secretion peak of secretion scored at 45°C. The presence of a viscous liquid in the iron-free medium after 7-day of incubation following stress related to lack of iron was also noted. Under stress conditions, these bacterial secretions keep the surrounding microenvironment hydrated and full of nutrients and metabolites that could improve the physicochemical characteristics of the soil and thus enhance the tree's performance.

IAA secreted by PGPR is reported to significantly improve root growth parameters.⁴⁴ Among the rhizobacteria we isolated from the three Moroccan regions, 26.3% showed good IAA production with an amount greater than 10 µg/mL. In our study, the best three were *Arthrobacter pascens* (MRC_ES2_86), *Enterobacter ludwigii* (MRC_ZO2_97), and *Arthrobacter crystallopoietes* (MRC_ES2_96). Noting that among the 13 bacteria that produce a quantity greater than 20 µg/mL, 8 of them belong to *Arthrobacter* genus, which is not surprising, *Actinobacteria* are the main known producers of IAA.⁴⁵⁻⁴⁷ Nevertheless, our results showed that those isolates exhibited low

Phosphate solubilization. In contrast, *Bacillus* isolates scored high performance as PSB and their IAA production fluctuated between (2.43 and 11.40 µg/mL), which is considered to be relatively low. Furthermore, other studies have reported significant IAA production by the genera *Pseudomonas* and *Enterobacter* and their beneficial effect on plant growth.⁴⁸⁻⁵⁰

A number of PGPRs are known for their ability to produce siderophores, which have a strong affinity to Fe³⁺ and other heavy metals. This characteristic is very useful to biologically detoxify contaminated soils by a huge number of heavy metals such as (Ag⁺, Al³⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Cr²⁺, Cu²⁺, Eu³⁺, Fe³⁺, Ga³⁺, Hg²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, Sn²⁺, Tb³⁺, Tl⁺, and Zn²⁺). Some of these metals are essential for plant pathogens, and thus their aggregation by siderophores is a limiting factor for their proliferation. Among the 95 tested isolates in this study, 18 of them showed the ability to produce siderophores and thus they could be used as biocontrol agents and as a tool to help alleviate stress related to heavy metals.⁵¹⁻⁵³ Furthermore, 41 of the bacterial isolates are capable of producing Hydrocyanic acid (HCN). They are considered to play a key role in the biological control of soil pathogens,⁵⁴ by inhibiting the cytochrome oxidase and other metalloenzymes leading of the disturbance to the pathogens' energy and thus their death.⁵⁵

Phosphorus is an essential mineral for plant growth and development, it is considered the second limiting nutrient in the soil and is regularly supplemented, usually as a chemical fertilizer.⁵⁶ Some PGPRs have the ability to transform inorganic P that is normally not assimilable by plants into an easily assimilated form. During this study, all tested strains displayed the ability to solubilize P. The MRC_ZO_17 isolate, identified as *Pantoea agglomerans*, showed an excellent solubilization capacity and high tolerance to salinity up to (8% NaCl w/v) which is in concordance with other reports.^{57,58} Furthermore, almost all tested isolates belonging to the genus *Pseudomonas* exhibited a solubilization halo on PVK agar plates, which indicates their ability to produce organic acids. Gram-negative bacteria use organic acids most likely Gluconic acid to lower the pH as part of the phosphate solubilization.⁵⁹ However, some bacteria use other mechanisms such as the

secretion of some enzymes like phosphatases in order to dissolve the phosphate.^{60,61} Indeed, in our study, only 26.6% of isolates belonging to the genus *Bacillus* presented a halo of solubilization. Interestingly, the stains MRC_ER2_58 and MRC_ER2_62 showed good solubilization activity, 197.1 µg/mL and 190.8 µg/mL, respectively, without exhibiting any solubilization halo in PVK agar plates. During the phosphate solubilization assays, we used a Moroccan phosphate rock as a source of inorganic phosphate. Tchuisseu Tchakounte et al. reported that the Moroccan phosphate rock is the most recalcitrant source of phosphate compared to 4 other rocks originating from Algeria, Cameroon, Mali, and Mexico. Only a few isolates of the genera *Bacillus* and *Arthrobacter* were able to solubilize the Moroccan phosphate rock.⁶² This indicates that our rhizobacteria isolated from the rhizosphere of Moroccan olive trees display a very good efficiency in terms of solubilization of rock phosphate.

Potassium is also an essential element for plant growth. Approximately 90 to 98% of soil potassium is fixed in silicate minerals, making it very difficult or unavailable for plant uptake.⁸ Our results revealed that 12 isolates showed the formation of a solubilization halo on Aleksandrov agar plate, 8 isolates belonging to the genus *Pseudomonas*, 2 to the genus *Bacillus*, 1 to the genus *Enterobacter*, and 1 to the genus *Pantoea*, which is in agreement with previous studies.^{8,63,64}

CONCLUSION

To sum up, the microbial profiles of olive tree rhizospheres vary across the three studied regions. However, all three regions contained a good number of isolates that were tolerant to high concentrations of salinity. the genus *Arthrobacter* was characterized by a good production of IAA and siderophores, as well as a low P solubilization compared to other genera. The genus *Bacillus* was characterized by good P solubilization, low IAA production, good tolerance to salinity/temperature, and produced EPS. The isolates MRC_ZO_17 and MRC_ZO_97 isolated herein and identified as *Pantoea agglomerans* and *Enterobacter ludwigii*, respectively, are stress tolerant and possess potential PGP traits, indicating that they have a promising potential use

as an inoculum to improve the oil yield and olive quality in saline and/or arid soils.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Hassan II Academy of Science and Technology of Morocco for the financial support (Rhizolive project).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTION

All authors listed have made a substantial, direct and intellectual contribution to the work, and approved it for publication.

FUNDING

None.

DATA AVAILABILITY

All datasets generated or analyzed during this study are included in the manuscript.

ETHICS STATEMENT

Not applicable.

REFERENCES

1. Bizo G, Papatheodorou EM, Chatzistathis T, Ntalli N, Aschonitis VG, Monokrousos N. The Role of Microbial Inoculants on Plant Protection, Growth Stimulation, and Crop Productivity of the Olive Tree (*Olea europaea* L.). *Plants*. 2020;9(6):743. doi: 10.3390/plants9060743
2. Porfirio S, da Silva MDRG, Cabrita MJ, Azadi P, Peixe A. Reviewing current knowledge on olive (*Olea europaea* L.) adventitious root formation. *Sci Hort*. 2016;198:207-226. doi: 10.1016/j.scienta.2015.11.034
3. Persuric ASI, Damijan AT. Connections between Healthy Behaviour, Perception of Olive Oil Health Benefits, and Olive Oil Consumption Motives. *Sustainability*. 2021;13(14):7630. doi: 10.3390/su13147630
4. Baldoni L, Belaj A. Olive. In: Vollmann J, Rajcan I, eds. *Oil Crops. Handbook of Plant Breeding*. Springer; 2010:397-421. doi: 10.1007/978-0-387-77594-4_13
5. Mili S, Bouhaddane M. Forecasting Global Developments and Challenges in Olive Oil Supply and Demand: A Delphi Survey from Spain. *Agriculture*. 2021;11(3):191. doi: 10.3390/agriculture11030191
6. El Mouhtadi I, Agouzzal M, Guy F. L'olivier au Maroc. *OCL*. 2014;21(2):D203. doi: 10.1051/ocl/2013053
7. Alori ET, Glick BR, Babalola OO. Microbial Phosphorus

- Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Front Microbiol.* 2017;8:971. doi: 10.3389/fmicb.2017.00971
8. Zhang C, Kong F. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants. *Appl Soil Ecol.* 2014;82:18-25. doi: 10.1016/j.apsoil.2014.05.002
 9. Hegedus M, Toth-Bodrogi E, Nemeth S, Somlai J, Kovacs T. Radiological investigation of phosphate fertilizers: Leaching studies. *J Environ Radioact.* 2017;173:34-43. doi: 10.1016/j.jenvrad.2016.10.006
 10. Kang J, Amoozegar A, Hesterberg D, Osmond DL. Phosphorus leaching in a sandy soil as affected by organic and inorganic fertilizer sources. *Geoderma.* 2011;161(3-4):194-201. doi: 10.1016/j.geoderma.2010.12.019
 11. Rashad M, Hafez M, Popov AI, Gaber H. Toward sustainable agriculture using extracts of natural materials for transferring organic wastes to environmental-friendly ameliorants in Egypt. *Int J Environ Sci Technol.* 2022;20:7417-7432. doi: 10.1007/s13762-022-04438-8
 12. Adedeji AA, Haggblom MM, Babalola OO. Sustainable agriculture in Africa: Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to the rescue. *Sci Afr.* 2020;9:e00492. doi: 10.1016/j.sciaf.2020.e00492
 13. Berendsen RL, Pieterse CMJ, Bakker PAHM. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* 2012;17(8):478-486. doi:10.1016/j.tplants.2012.04.001
 14. Gupta K, Dubey NK, Singh SP, Kheni JK, Gupta S, Varshney A. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Crop Improvement. In: Yadav AN, Singh J, Singh C, Yadav N, eds. *Current Trends in Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture. Environ Microbial Biotechnol.* 2021:203-226. doi: 10.1007/978-981-15-6949-4_9
 15. Mekonnen H, Kibret M. The roles of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable vegetable production in Ethiopia. *Chem Biol Technol Agric.* 2021;8(1):15. doi: 10.1186/s40538-021-00213-y
 16. Mali SD, Attar YC. Formulation of cost-effective agro residues containing potassium solubilizing bacterial bio-inoculants using response surface methodology. *Biocatal Agric Biotechnol.* 2021;35:102113. doi: 10.1016/j.bcab.2021.102113
 17. Goswami D, Thakker JN, Dhandhukia PC. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. Tejada Moral M, ed. *Cogent Food Agric.* 2016;2(1). doi: 10.1080/23311932.2015.1127500
 18. Riaz U, Murtaza G, Anum W, Samreen T, Sarfraz M, Nazir MZ. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Biofertilizers and Biopesticides. In: Hakeem KR, Dar GH, Mehmood MA, Bhat RA, eds. *Microbiota and Biofertilizers.* 2021:181-196. doi: 10.1007/978-3-030-48771-3_11
 19. Diabankana RGC, Afordoanyi DM, Safin RI, Nizamov RM, Karimova LZ, Validov SZ. Antifungal Properties, Abiotic Stress Resistance, and Biocontrol Ability of *Bacillus mojavensis* PS17. *Curr Microbiol.* 2021;78(8):3124-3132. doi: 10.1007/s00284-021-02578-7
 20. Suresh P, Vellasamy S, Almaary KS, Dawoud TM, Elbadawi YB. Fluorescent *pseudomonads* (FPs) as a potential biocontrol and plant growth promoting agent associated with tomato rhizosphere. *J King Saud Univ Sci.* 2021;33(4):101423. doi: 10.1016/j.jksus.2021.101423
 21. Pikovskaya R. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya.* 1948;17:362-370.
 22. Tandon HLS, Cescas MP, Tynner EH. An Acid-Free Vanadate-Molybdate Reagent for the Determination of Total Phosphorus in Soils. *Soil Sci Soc Am J.* 1968;32(1):48-51. doi: 10.2136/sssaj1968.03615995003200010012x
 23. Gordon SA, Weber RP. Colorimetric Estimation of indoleacetic Acid. *Plant Physiol.* 1951;26(1):192-195. doi: 10.1104/pp.26.1.192
 24. Cappuccino JC, Sherman N. Ammonia production. *Microbiol Lab Man 3rd Ed Benjamin Cummings Pub Co Redw City CA USA.* 1992:125-179.
 25. Lorck H. Production of hydrocyanic acid by bacteria. *Physiol Plant.* 1948;1(2):142-146. doi: 10.1111/j.1399-3054.1948.tb07118.x
 26. Kavamura VN, Santos SN, da Silva JL, et al. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiol Res.* 2013;168(4):183-191. doi: 10.1016/j.micres.2012.12.002
 27. Paulo EM, Vasconcelos MP, Oliveira IS, et al. An alternative method for screening lactic acid bacteria for the production of exopolysaccharides with rapid confirmation. *Food Sci Technol.* 2012;32(4):710-714. doi: 10.1590/S0101-20612012005000094
 28. Schwyn B, Neilands JB. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem.* 1987;160(1):47-56. doi: 10.1016/0003-2697(87)90612-9
 29. Alexander DB, Zuberer DA. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biol Fertil Soils.* 1991;12(1):39-45. doi: 10.1007/BF00369386
 30. Payne SM. [25] Detection, isolation, and characterization of siderophores. *Methods in Enzymology.* 1994;235:329-344. doi: 10.1016/0076-6879(94)35151-1
 31. Rajawat MVS, Singh S, Tyagi SP, Saxena AK. A Modified Plate Assay for Rapid Screening of Potassium-Solubilizing Bacteria. *Pedosphere.* 2016;26(5):768-773. doi: 10.1016/S1002-0160(15)60080-7
 32. Atashpaz S, Khani S, Barzegari A, et al. A robust universal method for extraction of genomic DNA from bacterial species. *Microbiology.* 2010;79(4):538-542. doi: 10.1134/S0026261710040168
 33. Kumawat KC, Nagpal S, Sharma P. Potential of plant growth-promoting rhizobacteria-plant interactions in mitigating salt stress for sustainable agriculture: A review. *Pedosphere.* 2022;32(2):223-245. doi: 10.1016/S1002-0160(21)60070-X
 34. Lahsini AI, Sallami A, Ait-Ouakrim EH, et al. 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*. 2022;23:100554. doi: 10.1016/j.rhisph.2022.100554
35. Boroujeni YK, Boroujeni VN, Rastegari AA, Yadav N, Yadav AN. Soil Microbes with Multifarious Plant Growth Promoting Attributes for Enhanced Production of Food Crops. In: Yadav AN, ed. *Soil Microbiomes for Sustainable Agriculture. Sustainable Development and Biodiversity*. 2021;27:55-83. doi: 10.1007/978-3-030-73507-4_3
 36. Priest FG. Isolation and Identification of Aerobic Endospore-Forming Bacteria. In: Harwood CR, ed. *Bacillus*. Springer. 1989:27-56. doi:10.1007/978-1-4899-3502-1_3
 37. Barriuso J, Ramos Solano B, Lucas JA, Lobo AP, Garca-Villaraco A, Gutierrez Maero FJ. Ecology, Genetic Diversity and Screening Strategies of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). In: Ahmad I, Pichtel J, Hayat S, eds. *Plant-Bacteria Interactions*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2008:1-17. doi:10.1002/9783527621989.ch1doi: 10.1002/9783527621989.ch1
 38. Ben-Gad D, Gerchman Y. Reclassification of *Brevibacterium halotolerans* DSM8802 as *Bacillus halotolerans* comb. nov. Based on Microbial and Biochemical Characterization and Multiple Gene Sequence. *Curr Microbiol*. 2017;74(1):1-5. doi: 10.1007/s00284-016-1143-4
 39. Delaporte B, Sasson A. Study of bacteria from arid soils of Morocco: *Brevibacterium haloterans* n. sp. and *Brevibacterium frigoritolerans* n. sp. *Comptes Rendus Hebdomadaire des Seances Acad Sci Ser Sci Nat*. 1967;264(18):2257-2260.
 40. Jariyal M, Gupta VK, Mandal K, Jindal V. *Brevibacterium frigoritolerans* as a Novel Organism for the Bioremediation of Phorate. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2015;95(5):680-686. doi: 10.1007/s00128-015-1617-2
 41. Jariyal M, Jindal V, Mandal K, Gupta VK, Singh B. Bioremediation of organophosphorus pesticide phorate in soil by microbial consortia. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2018;159:310-316. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.04.063
 42. Deng Z, Jiang Y, Chen K, Gao F, Liu X. Petroleum Depletion Property and Microbial Community Shift After Bioremediation Using *Bacillus halotolerans* T-04 and *Bacillus cereus* 1-1. *Front Microbiol*. 2020;11:353. doi: 10.3389/fmicb.2020.00353
 43. Deka P, Goswami G, Das P, et al. Bacterial exopolysaccharide promotes acid tolerance in *Bacillus amyloliquefaciens* and improves soil aggregation. *Mol Biol Rep*. 2019;46(1):1079-1091. doi: 10.1007/s11033-018-4566-0
 44. Vessey JK. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*. 2003;255(2):571-586. doi: 10.1023/A:1026037216893
 45. Li M, Li T, Zhou M, et al. *Caenorhabditis elegans* Extracts Stimulate IAA Biosynthesis in *Arthrobacter pascens* ZZ21 via the Indole-3-pyruvic Acid Pathway. *Microorganisms*. 2021;9(5):970. doi: 10.3390/microorganisms9050970
 46. Manulis S, Shafir H, Eptein A E, Barash I. Bissynthesis of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in *Streptomyces* SPP. *Microbiology*. 1994;140(5):634-642. doi: 10.1099/13500872-140-5-1045
 47. Nafis A, Raklami A, Bechtaoui N, et al. *Actinobacteria* from Extreme Niches in Morocco and Their Plant Growth-Promoting Potentials. *Diversity*. 2019;11(8):139. doi: 10.3390/d11080139
 48. Suzuki S, He Y, Oyaizu H. Indole-3-Acetic Acid Production in *Pseudomonas fluorescens* HP72 and Its Association with Suppression of Creeping Bentgrass Brown Patch. *Curr Microbiol*. 2003;47(2):138-143. doi: 10.1007/s00284-002-3968-2
 49. Panigrahi S, Mohanty S, Rath CC. Characterization of endophytic bacteria *Enterobacter cloacae* MG00145 isolated from *Ocimum sanctum* with Indole Acetic Acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. *South Afr J Bot*. 2020;134:17-26. doi: 10.1016/j.sajb.2019.09.017
 50. Zhang BX, Li PS, Wang YY, et al. Characterization and synthesis of indole-3-acetic acid in plant growth promoting *Enterobacter* sp. *RSC Adv*. 2021;11(50):31601-31607. doi: 10.1039/D1RA05659J
 51. Braud A, Hannauer M, Mislin GLA, Schalk IJ. The *Pseudomonas aeruginosa* Pyochelin-Iron Uptake Pathway and Its Metal Specificity. *J Bacteriol*. 2009;191(11):3517-3525. doi: 10.1128/JB.00010-09
 52. Ashraf S, Ali Q, Zahir ZA, Ashraf S, Asghar HN. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2019;174:714-727. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.02.068
 53. Wang YJ, Huang W, Li YQ, Yu FB, Penttinen P. Isolation, Characterization and Evaluation of a High- Siderophore-Yielding Bacterium from Heavy Metal Contaminated Soil. *Environmental Sci Poll Res*. 2021;30. doi: 10.21203/rs.3.rs-468448/v1
 54. Voisard C, Keel C, Haas D, Defago G. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO J*. 1989;8(2):351-358. doi: 10.1002/j.1460-2075.1989.tb03384.x
 55. Blumer C, Haas D. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch Microbiol*. 2000;173(3):170-177. doi: 10.1007/s002039900127
 56. Azziz G, Bajsa N, Haghjou T, et al. Abundance, diversity and prospecting of culturable phosphate solubilizing bacteria on soils under crop-pasture rotations in a no-tillage regime in Uruguay. *Appl Soil Ecol*. 2012;61:320-326. doi: 10.1016/j.apsoil.2011.10.004
 57. Son HJ, Park GT, Cha MS, Heo MS. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. *Bioresour Technol*. 2006;97(2):204-210. doi: 10.1016/j.biortech.2005.02.021

58. Saadouli I, Mosbah A, Ferjani R, et al. The Impact of the Inoculation of Phosphate-Solubilizing Bacteria *Pantoea agglomerans* on Phosphorus Availability and Bacterial Community Dynamics of a Semi-Arid Soil. *Microorganisms*. 2021;9(8):1661. doi: 10.3390/microorganisms9081661
59. Oteino N, Lally RD, Kiwanuka S, et al. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Front Microbiol*. 2015;6. doi: 10.3389/fmicb.2015.00745
60. Suleman M, Yasmin S, Rasul M, Yahya M, Atta BM, Mirza MS. Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PLOS ONE*. 2018;13(9):e0204408. doi: 10.1371/journal.pone.0204408
61. Mazumdar D, Saha SP, Ghosh S. Isolation, screening and application of a potent PGPR for enhancing growth of Chickpea as affected by nitrogen level. *Int J Veg Sci*. 2020;26(4):333-350. doi: 10.1080/19315260.2019.1632401
62. Tchuisseu Tchakounte GV, Berger B, Patz S, Fankem H, Ruppel S. Community structure and plant growth-promoting potential of cultivable bacteria isolated from Cameroon soil. *Microbiol Res*. 2018;214:47-59. doi: 10.1016/j.micres.2018.05.008
63. Sarikhani MR, Oustan S, Ebrahimi M, Aliasgharzad N. Isolation and identification of potassium releasing bacteria in soil and assessment of their ability to release potassium for plants. *Eur J Soil Sci*. 2018;69(6):1078-1086. doi: 10.1111/ejss.12708
64. Khan YM, Pirdashti H, Rahimian H, Nematzadeh G, Ghajar Sepanlou M. Potassium solubilising bacteria (KSB) isolated from rice paddy soil: from isolation, identification to K use efficiency. *Symbiosis*. 2018;76(1):13-23. doi: 10.1007/s13199-017-0533-0

II.3. Synthèse

Cette étude a impliqué le prélèvement d'échantillons de sol dans trois régions distinctes : Errachidia, Zouala et Essaouira, totalisant 205 bactéries isolées. Ces bactéries ont été soumises à des tests de stress (salinité et température) ainsi qu'à des évaluations biochimiques quantitatives et qualitatives. Les tests quantitatifs ont porté sur la solubilisation du phosphate, la production d'acide indole acétique (AIA) et la production de sidérophores, tandis que les tests qualitatifs ont examiné la solubilisation du phosphate, du potassium, la production d'acide cyanhydrique (HCN), d'ammonium et d'exopolysaccharides (EPS).

Suite à l'obtention des résultats des tests physiologiques et biochimiques pour tous les isolats, une étape de criblage moléculaire préliminaire a été réalisée à travers un test Rep-PCR sur les 205 isolats. Les bactéries partageant des profils Rep-PCR similaires ainsi que des caractéristiques physiologiques et biochimiques identiques ont été regroupées en un seul isolat représentatif. Au final, 95 isolats ont été sélectionnés pour l'identification du gène de l'ADNr 16S.

Le séquençage du gène ADNr 16S a révélé que les isolats des trois régions appartenaient aux genres suivants : *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Priestia*, *Cytobacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Arthrobacter*, *Pseudarthrobacter* et *Sinomonas*. Il est à noter que malgré leur appartenance à la même espèce (*Olea europaea*), les différentes rhizosphères des trois régions ont démontré des différences significatives, tant au niveau de leurs caractéristiques physicochimiques que de leur diversité microbienne cultivable. Les analyses physicochimiques du sol ont révélé un taux de salinité élevé dans la région de Zouala. Cependant, cette région s'est avérée être la plus riche en espèces bactériennes, avec une prédominance du genre *Bacillus*, ce qui va à l'encontre des attentes compte tenu de la salinité, de la sécheresse et de la faible teneur en matière organique dans cette région.

Tous les isolats ont révélé une tolérance à des conditions de température élevée et de salinité, avec 54,7 % des isolats capable de supporter des températures égales ou supérieures à 45 °C, et 63,2% des isolats résistant à des niveaux de salinité égaux ou supérieurs à 5 %. Ces résultats mettent en évidence leur capacité à s'adapter à des environnements stressants. Plus spécifiquement, il convient de noter que les souches du genre *Bacillus* ont démontré une excellente capacité à tolérer ces stress liés à la température et à la salinité. Cette observation explique en partie leur abondance dans la région de Zouala, caractérisée par une salinité élevée. Cependant, il est intéressant de noter que le genre *Arthrobacter* présent dans les deux autres régions, ce genre a souvent montré une capacité de survivre dans des environnements hostiles

pendant de longues périodes, comme l'ont évoqué (Mongodin et al., 2006), à une très faible présence dans la région de Zouala.

L'un des traits les plus impressionnants des rhizobactéries isolées des trois régions est leur capacité à solubiliser le phosphate. En effet, tous les isolats se sont révélés efficaces en termes de solubilisation du phosphate, montrant une solubilisation oscillant entre (4.7µg/mL et 447µg/mL) avec 39 % des isolats ayant montré une solubilisation supérieure à 100 µg/ml. En général, pour solubiliser le phosphate, les bactéries ont souvent recours à la sécrétion d'acides organiques (Park et al., 2011), mais certaines bactéries utilisent d'autres voies que la sécrétion d'acides organiques (Singh and Satyanarayana, 2011). C'est le cas de plusieurs bactéries appartenant au genre *Bacillus*. Ainsi, dans cette étude, nous avons remarqué que plusieurs souches de *Bacillus* ne produisaient pas d'halo de solubilisation dans le milieu PVK, alors qu'elles ont montré une bonne solubilisation du phosphate lors du test quantitatif. Nous avons également observé que presque toutes les souches appartenant au genre *Pseudomonas* ont montré une capacité à acidifier le milieu en produisant des acides organiques.

Il convient de noter que les régions avec un taux élevé de salinité contiennent souvent des bactéries solubilisatrices de phosphate, de potassium et de zinc (Bhise et al., 2017; Sandhya et al., 2010) . Dans la présente étude Seul un faible pourcentage de bactéries a manifesté une solubilisation du potassium. Plus précisément, ce sont les bactéries qui réunissent deux caractères (une bonne solubilisation du phosphate + une bonne production d'acides organiques) qui se sont révélées positives au test de solubilisation du potassium sur milieu Aleksandrov solide.

La production de la phytohormone acide indole acétique (AIA) est une des qualités les plus importante que l'on cherche chez les PGPR. Cependant, seul un faible pourcentage des isolats a présenté une production considérable ou excellente d'AIA. En particulier, la majorité des isolats appartenant aux genres *Pseudarthrobacter* et *Pseudomonas* ont montré une production satisfaisante de cette phytohormone, à l'opposé du genre *Bacillus*. Il est à noter que, dans la littérature, le genre *Bacillus* est souvent associé à des souches productrices importantes de phytohormones (Poveda and González-Andrés, 2021). Cependant, dans cette étude, il a été observé que les souches de ce genre avaient une capacité relativement faible à produire de l'AIA par rapport aux autres genres.

Il convient aussi de souligner que cette étude représente la première tentative d'analyse de la diversité des bactéries rhizosphériques cultivables de l'olivier marocain. Elle apporte une

contribution significative pour combler les lacunes de connaissances concernant la diversité et les caractéristiques des bactéries rhizosphériques cultivables de l'olivier à l'échelle mondiale. Il est important de noter que peu d'études se sont penchées sur ce sujet jusqu'à présent.

*Chapitre III. L'effet de deux souches gram
négatif sur la croissance de l'olivier et sa
protection contre le pathogène *Verticillium
dahliae* agent de la verticilliose*

*Chapitre III. L'effet de deux souches gram négatif sur la croissance de l'olivier et sa protection contre le pathogène *Verticillium dahliae* agent de la verticilliose*

III.1. Contexte

Les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) exercent des effets positifs sur le développement des plantes. Bien que des expériences en laboratoire et en serre aient montré leur capacité à contrôler de manière significative les agents pathogènes ou à stimuler directement la croissance des plantes, les résultats sur le terrain se sont avérés moins uniformes. Les défis liés à la sélection, à la formulation et à l'application ont entravé la pleine exploitation du potentiel des PGPR en tant qu'inoculants commerciaux. Récemment, des progrès dans notre compréhension de la diversité des PGPR, de leur capacité de colonisation, de leurs mécanismes d'action, de leur formulation et de leur application sont susceptibles de faciliter leur intégration en tant que composantes fiables de la gestion de systèmes agricoles durables.

Verticillium dahliae est un champignon pathogène du sol extrêmement destructeur qui cause d'importantes pertes économiques en agriculture. Il est responsable du flétrissement verticillien de l'olivier, et actuellement, aucune méthode de lutte chimique efficace n'est disponible contre cette maladie. L'objectif de cette étude était de sélectionner deux PGPR halotolérantes, *E. ludwigii* MRC_ZO_97 et *P. agglomerans* MRC_ZO_17, en raison de leur fort potentiel de promotion de la croissance des plantes et de leur capacité à inhiber *Verticillium dahliae in vitro*. Par la suite, ces PGPR ont été inoculés sur des plants d'olivier, ce qui a entraîné une augmentation de la biomasse des plantes traitées par rapport aux plants témoins. Il est également à noter que ces deux souches présentent une bonne résistance au stress salin et hydrique, ainsi qu'une capacité à produire des polysaccharides extracellulaires (EPS) et à former un biofilm. Ces caractéristiques sont maintenant reconnues comme essentielles pour une bonne adaptabilité ainsi qu'une efficacité optimale dans le sol et sur les surfaces racinaires.

III.2. Article 2 : The ability of two indigenous bacteria isolated from Moroccan olive tree to promote the growth of olive seedlings in the presence of the pathogen *verticillium dahliae*



The ability of two indigenous bacteria isolated from Moroccan olive tree to promote the growth of olive seedlings in the presence of the pathogen *Verticillium dahliae*

Abdessamad Sallami, Karim Rabeh, Abdelali Idrissi Lahsini, Hanane El Khedri, Allal Douira, Cherkaoui El Modafar, Leila Medraoui & Abdelkarim Filali-Maltouf

To cite this article: Abdessamad Sallami, Karim Rabeh, Abdelali Idrissi Lahsini, Hanane El Khedri, Allal Douira, Cherkaoui El Modafar, Leila Medraoui & Abdelkarim Filali-Maltouf (2023) The ability of two indigenous bacteria isolated from Moroccan olive tree to promote the growth of olive seedlings in the presence of the pathogen *Verticillium dahliae*, *Biocontrol Science and Technology*, 33:10, 963-984, DOI: [10.1080/09583157.2023.2263185](https://doi.org/10.1080/09583157.2023.2263185)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/09583157.2023.2263185>



Published online: 28 Sep 2023.



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



Article views: 74



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

RESEARCH ARTICLE



The ability of two indigenous bacteria isolated from Moroccan olive tree to promote the growth of olive seedlings in the presence of the pathogen *Verticillium dahliae*

Abdessamad Sallami^a, Karim Rabeh^a, Abdelali Idrissi Lahsini^a, Hanane El Khedri^a, Allal Douira^b, Cherkaoui El Modafar^c, Leila Medraoui^a and Abdelkarim Filali-Maltouf^a

^aLaboratory of Microbiology and Molecular Biology, Center of Plant and Microbial Biotechnology, Biodiversity and Environment, Faculty of Sciences, Mohammed-V University in Rabat, Rabat, Morocco;

^bLaboratory of Botany, Biotechnology and Plant Protection, Faculty of Sciences, University Ibn Tofail, Kenitra, Morocco; ^cAgro-biotechnology and Bio-engineering Center, CNRST Labeled Research Unit (URL-CNRST 05), Gu'eliz Faculty of Science and Technology, Cadi Ayyad University, Marrakech, Morocco

ABSTRACT

The rhizosphere of olive trees (*Olea europaea* L.) is a source of bacteria with a high potential for biocontrol and plant growth promotion. In the present study, two native olive tree gram-negative bacteria were isolated from the rhizosphere of century-old trees in the region of Zouala (south-eastern Morocco), known for its arid climate and saline soils. The strains *Pantoea agglomerans* and *Enterobacter ludwigii* exhibited high tolerance to high PEG and NaCl concentrations, and significant plant growth-promoting (PGP) potential *in vitro*. The two strains efficiently solubilised phosphate in its two forms (TCP and RP), and Mica as a source of potassium and produced IAA. The two strains exhibited *in vitro* inhibition ability against *Verticillium dahliae* with partial inhibition of the growth of the mycelium by the strain *P. agglomerans* MRC_ZO_17. Greenhouse experiments showed that olive tree seedlings treated with the *E. ludwigii* MRC_ZO_97 strain significantly improved growth (dry weight) in the presence and absence of the pathogen compared to untreated plants, while the *P. agglomerans* MRC_ZO_17 strain showed significant effects on seedling growth only in the presence of the pathogen *V. dahliae* OV1 defoliating pathotype. Both strains showed high exopolysaccharides (EPS) production and good biofilm formation, making them excellent plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs) and Biological Control Agents (BCAs) with great potential to survive in soil under stress conditions.

ARTICLE HISTORY

Received 24 October 2022
Returned 29 June 2023
Accepted 21 September 2023

KEYWORDS

Olive; *Verticillium dahliae*; PGPR; Phosphate solubilisation; Abiotic stress

1. Introduction

The olive tree (*Olea europaea* L.) is one of the most important fruit trees of the Mediterranean regions, with significant economic, social, and ecological value (Montes-Osuna et al., 2021). Olive orchards cover approximately 10.5 million ha around the world

CONTACT Abdessamad Sallami  sallami159@gmail.com  Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Center of Plant and Microbial Biotechnology, Biodiversity and Environment, Faculty of Sciences, Mohammed-V University in Rabat, Rabat, Morocco

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

(Sala et al., 2021), with the Mediterranean basin accounting for 95 percent of this area (Porfirio et al., 2016). The olive tree is Morocco's first fruit crop, with a cultivated area of more than 560,000 ha. Picholine Marocaine is the most common cultivar, accounting for 96% of orchards in Morocco, with two clones, Haouzia and Menara (Bouymajane et al., 2020). The cultivation of the olive tree represents 5% of the country's GDP (El Mouhtadi et al., 2014).

The olive tree is susceptible to several fungal diseases (Legrifi et al., 2022; Santilli et al., 2020). Currently, Verticillium wilt caused by *Verticillium dahliae* is the most prevalent olive tree vascular disease, causing low productivity and leading to significant economic losses in several countries (Montes-Osuna & Mercado-Blanco, 2020). There are two *V. dahliae* pathotypes: defoliating (D) and non-defoliating (ND) pathotypes, this categorisation is based on their capacity to induce severe tree defoliation (D pathotype) or moderate wilting syndrome (ND pathotype) (Montes-Osuna & Mercado-Blanco, 2020), *V. dahliae* is a broad spectrum fungus, that can survive in the soil for years, this explaining why microsclerotia Verticillium wilt is among the most difficult diseases to control (Bui et al., 2019; Klosterman et al., 2009). The efficacy of current disease management strategies are limited and available fungicides are not effective (Ziazia et al., 2021). Verticillium wilt in olive trees was first reported in Italy in 1946 (Jiménez-Díaz et al., 2012), and was only reported to Morocco in 1992 in the region of Meknes (Serrhini & Zeroual, 1995). The spread of verticillium wilt is alarming. Almost all the olive-growing regions surveyed in Morocco are infected (Cherrab et al., 2002).

Given the economic importance of the olive tree as an oilseed plant with nutritional and medicinal qualities (Donat-Vargas et al., 2022; Mallamaci et al., 2021), and the increasing olive oil demand around the world (Mili & Bouhaddane, 2021) and is expected to increase as the world population predicted to reach 9.8 billion by 2050 according to the Food and Agriculture Organisation (FAO) (Mutale-Joan et al., 2022). This requires the implementation of effective strategies to increase production to meet the nutritional needs of the growing population. Since the beginning of the twentieth century, two major strategies are used to increase production (pesticides/fungicides/herbicides and chemical fertilisers). Pesticides/fungicides/herbicides protect plants against plant pathogens, pests or harmful plants, and chemical fertilisers provide plants with nutrients, notably nitrogen (N), phosphorus (P), and potassium (K) essential for their growth (Dahal & Manandhar, 2021). The raw material necessary for the manufacture of fertilisers is becoming increasingly rare. High-quality rock phosphate sources are projected to be depleted within the next 30–50 years (Song et al., 2022), and nitrogen which is abundant in the air requires significant amounts of energy during its transformation (Haber-Bosch process). On the other hand, the misuse of chemical fertilisers lead to pollution and degradation of soil and water sources caused (Hegedús et al., 2017), while pesticides have harmful effects on the human health and the environment (Rani et al., 2021).

In May 2020, the European Commission presented its Farm to Fork strategy, one of the key initiatives of the European Green Deal, among its objectives were the reduction of pesticide use by 50% and 20% reduction in the use of chemical fertilisers by 2030, (Schebesta & Candel, 2020) it must be said that this is a major challenge that cannot be achieved without appropriate means. The application of organic fertilisers, biofertilizers, and biopesticides is an ecofriendly alternative to ensure sustainable crop production.

Plant growth-promoting Rhizobacteria (PGPR) as their name suggests are bacteria with beneficial effects on plants through diverse mechanisms such as the fixation of free nitrogen, solubilisation of phosphate and production of phytohormones, and Indirect mechanisms like production of siderophores, lytic enzymes, volatile organic compounds (VOCs), and induction of systemic resistance in plants (Mohanty et al., 2021). The discovery of elite PGPRs strains from the plant rhizosphere and their application as biofertilizers is the best way to make these microorganisms a major ally for an eco-friendly and sustainable agriculture.

In this study, two bacterial isolates MRC_ZO_17 and MRC_ZO_97 isolated from the rhizosphere of the Moroccan olive tree were studied for their PGP traits and antagonistic effects against the phytopathogen *Verticillium dahliae*, and were then inoculated into young olive seedlings to investigate their effect on plant growth, and their protective effect against *V. dahliae*.

2. Materials and methods

2.1. Biological material

The present study was carried out on olive cultivars (Picholine Marocaine), two bacterial strains MRC_ZO_17 and MRC_ZO_97 isolated from the rhizosphere of the olive tree (*Olea europaea* L.) of da Zouala (Morocco), and the strain *V.dahliae* OV1 provided by the 'Laboratory of Botany, Biotechnology and Plant Protection, Ibn Tofail University, Morocco' known for its high virulence rate.

2.2. DNA extraction, and 16S rRNA

DNA extraction and PCR amplifications were performed using the forward (27F 5'-AGTTTGATCMTGGCTCAG-3') and reverse (1492R 5'-GGTTACCTTGTTAC-GACTT-3') primers. The PCR was setup as follows: initial denaturation at 95°C for 3 min 30 cycles of 94 °C for 3 min, 94 °C for 30 s, 55 °C for 45 s, 72 °C for 1 min, 72 °C for 8 min. All amplified gene fragments were sent to UATRS-CNRST, Rabat, Morocco, for sequencing, Chromas (<https://technelysium.com.au/wp/chromas>) was used to correct sequences, then the sequences information were assembled with DNA Dragon: (Sequence Contig DNA assembly software: '<https://www.dna-dragon.com>') and deposited in the GenBank Database (NCBI). The phylogenetic trees were constructed using MEGA7 software (<https://www.megasoftware.net>) using the Tamura Kimura's 2-parameter model and the neighbor-joining method, with the bootstrap analyses of 1000 replicates.

2.3. Quantitative estimation of phosphate solubilisation

P-solubilisation was quantitatively evaluated. Each isolate was cultivated in Erlenmeyer flasks containing 150 ml of liquid PVK medium supplemented with 0.1 g of rock phosphate or TCP, inoculated for 48 h at 28 °C on a rotary shaker (180 rpm). The medium pH value was then measured and bacterial cultures were centrifuged for 10 min at 13,000 g, a Millipore filter (0.2 µm) was used to filter-sterilize the obtained supernatants. The

phosphate concentration of the supernatant was measured using the Vanadomolybdo-phosphoric Acid colorimetric technique (Tandon et al., 1968) at 400 nm, in comparison with a standard curve prepared using serial dilutions of KH_2PO_4 .

2.4. Qualitative K solubilisation test

Qualitative analysis of K solubilisation was done using the Aleksandrov medium agar plate medium (per litre) 5 g glucose, 0.005 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g FeCl_3 , 2.0 g CaCO_3 , 3.0 g mika powder, 2.0 g calcium phosphate, and 20 g agar-agar supplemented with 50 mg/L of phenol red. Formation of halo indicated solubilisation of potassium (Rajawat et al., 2016).

2.5. Quantitative estimation of Indoleacetic acid (IAA)

The quantitative estimation of IAA and IAA-related compounds was carried out using the Salkowski's method (Gordon & Weber, 1951). IAA was evaluated on liquid Luria-Bertani (LB) medium supplemented with different concentrations of L-tryptophan (0; 0.25; 0.5; 1 and 2 g/L), the two isolates were also tested under water stress (0%; 2.5%; 5%; 10% and 15%) of polyethylene glycol (PEG 6000) with 0.5 g/L of L-tryptophan concentration. Sterilised tubes containing 5 mL of the medium were inoculated with 50 μL of bacterial cultures (10^9 CFU/mL) and incubated at 28 °C for 48 h in an incubator with an orbital shaker set at 180 rpm. After incubation, cultures were centrifuged at 10,000 g for 10 min. The supernatant was filtered using a Millipore filter with a 0.2 μm pore size. The supernatant (1 mL) was mixed with 2 mL Salkowski reagent (50 mL, 35% of perchloric acid, 1 mL 0.5 M FeCl_3 solution) and kept in the dark for 30 min, A pink colour indicated the presence of IAA. The (OD) was recorded at 530 nm, and the concentration of IAA produced by the cultures was determined using a standard curve of commercial IAA (Sigma Aldrich).

2.6. Quantitative analysis of EPS production

EPS production was determined according to the method described by (Jhuma et al., 2021) Erlenmeyer flasks containing a 100 ml medium (Verhoef et al., 2003) supplemented with (0, 100, and 200 mM NaCl). The medium was inoculated with freshly grown bacterial culture and incubated for 48 h at 30 °C on a rotary shaker (180 rpm) followed by centrifugation at 14,000 rpm for 10 min. To precipitate the EPS fraction, the supernatant was collected and mixed with three volumes ice-absolute ethanol and placed at 4 °C for 24 h, then centrifuged at 14,000 rpm for 20 min. The pellet containing bacterial EPS was separated and dried at 58 °C for 24 h. The dry weight of the collected EPS was measured afterward.

2.7. Abiotic stress tolerance studies

The tolerance of the selected isolate against drought and salinity was studied. Salt tolerance was tested on nutrient broth medium supplemented with (2% (342,2 mM), 4, 6, 8, and 10% NaCl, w/v). The strain was streaked on nutrient broth-agar medium and

visualised for the growth following incubation at 28°C for 24 h. The ability of isolates to grow under drought stress conditions was examined by adding different concentrations of polyethylene glycol (PEG 6000) (0%, 15%, 20%, 25%, and 30%) in the nutrient broth (NB). Each isolate was cultivated in Sterilised tubes containing 5 mL of the medium and incubated at 28 °C for 48 h in a rotary shaker (180 rpm). The growth was measured using a spectrophotometer at 600 nm, with a sterile medium as a blank and with three replicates of each concentration.

2.8. Biofilm quantification using crystal violet assay

The ability of MRC_ZO_17 and MRC_ZO_97 to generate biofilms was assessed using the colorimetric method described by (O'Toole & Kolter, 1998). Inoculated NB medium with an optical density of 0.02 at 600 nm was transferred to a 96 well polystyrene plate (160 µl per well), After 48 h incubation at 30 °C, the wells of the microtitre plate were washed gently with double distilled water at least three times and bound cells were stained by the addition of the 200 µl of the 0.1% crystal violet solution to each well and incubated at for 20 min, then the wells of plates were washed and the dye was solubilised with addition of 70% ethanol to each dry well. The samples were incubated for 20 min, and the absorbance was measured at 590 nm.

2.9. Phenotypic profiling of the selected strain

In order to identify phenotypes associated with the biological control of the two isolates, assays were run to evaluate siderophores (Alexander & Zuberer, 1991), protease (Slama et al., 2019), lipase(Rasool et al., 2021), chitinase(Slama et al., 2019), cellulase (Gupta et al., 2012), HCN (Lorck, 1948), ammonia(Cappuccino & Sherman, 1992) and motility (Ansari & Ahmad, 2019a).

2.10. The antagonism assay

The ability of the strains to act as biocontrol agents was evaluated using *V. dahliae* OV1 as a pathogenic fungus growing in solid potato dextrose agar (PDA) medium at 25 °C. The antagonism assay was performed on PDA and PSA medium by a dual culture method. The bacteria and pathogenic fungi were inoculated dually on PDA and PSA medium in Petri dishes 2.5–3 cm apart. The cells were then incubated at 25 °C, and the diameter of the pathogen was recorded after 10 days, Percentage inhibition of fungal growth by bacteria was calculated using the formula: $PI = (C - T / C) \times 100$,

PI = Percentage inhibition; C = radial growth of the pathogen in the control plate; T = radial growth of the pathogen.

2.11. Greenhouse experiments

Young 6-month-old olive plants of the Haouzia variety (between 0 and 1 branching and 40 and 50 cm high), were transplanted into 5 L pots containing soil and peat (50:50, v/v). The soil was sterilised in an oven at 200 °C for 3 h, and the peat autoclaved at 121 °C for one hour, after two weeks of acclimatisation of the plants. 3 ml bacterial suspension

containing approximately 10^9 CFU/ml was added to three holes in each pot (1 ml per hole) so that the suspension came into direct contact with the roots, a booster dose of 3 ml was added after 20 days. Each treatment consisted of 8 repetitions. A randomised block design was used for the experimental setup. Cultivated in a greenhouse, the plants were watered every three days for 24 months. Before uprooting the plants, their length and number of branches were measured. Plants were then removed from the soil using tap water, with special care keep the root system intact, and were cut at the level of the collar, and the branches were cut into small pieces, then the root and branches were dried at 60 °C for 8 weeks. After the 7th-week plant samples were weighed every 3 days to ensure that they are completely dry. After drying, the weight of the roots and branches of each plant was measured using a digital scale.

The same procedure was followed in the case of treated plants inoculated with the phytopathogen *V. dahliae* OVI. On the 22nd day the roots of the olive plants were slightly damaged using a chisel, and 100 ml of a conidial suspension containing (10^6 conidia/ml) was added to each pot. All treatments are detailed in (Table 1).

3. Results

Sequence analysis of the 16S rDNA gene revealed that the strain MRC_ZO_17 showed the closest homology with *P. agglomerans* with 99.66% probability, and MRC_ZO_97 showed the closest homology with *E. ludwigii* with 99.52% probability. The accession numbers of the studied isolates are indicated on the phylogenetic trees (Figure 1).

3.1 Phosphate and potassium solubilisation

The strain MRC_ZO_17 exhibited the ability to solubilise rock phosphate and tricalcium phosphate (TCP) with close values for both phosphate sources, while the strain MRC_ZO_97 displayed an affinity for tricalcium phosphate with double the solubilisation value for TCP compared to RP as phosphate source. Both strains also showed a higher pH decrease in PVK + RP media compared to the pH of PVK + TCP media (Figure 2). Qualitative tests for K-solubilisation indicated that both MRC_ZO_17 and MRC_ZO_97 were capable of solubilising potassium. Notably, MRC_ZO_17 exhibited the most pronounced solubilisation ability on Aleksandrov agar plates (Table 2).

Table 1. Plant treatment.

Treatment	Number of replicates	Date of inoculation with bacteria	Date of inoculation with VD	Date of uprooting
Plant + DW	8	April 2019	Non inoculated	April 2021
Plant + MRCZO17				
Plant + MRCZO97				
Plant + MRCZO17 + MRCZO97				
Plant + DW + VD	8	April 2019	May 2019	April 2021
Plant + MRCZO17 +VD				
Plant + MRCZO97 + VD				
Plant + MRCZO17 + MRCZO97 + VD				

VD: *V. dahliae*; DW: distilled water.

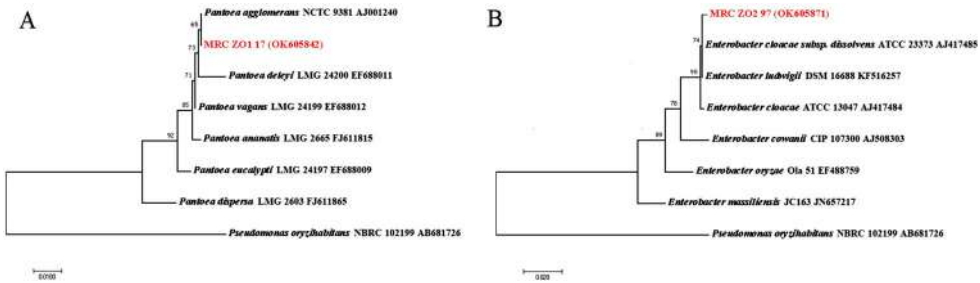


Figure 1. Phylogenetic tree of bacterial strains based on the 16S rDNA sequence analysis: *Pantoea agglomerans* strain MRC_ZO_17 (A) *Enterobacter ludwigii* MRC_ZO_97 (B).

3.2. IAA production

Both isolates demonstrated the capacity to produce IAA, although there was a notable difference in the quantity of IAA produced. For strain MRC_ZO_97, the production of IAA increased following the augmentation of L-tryptophan in the medium. Specifically, the amount of IAA produced by the MRC_ZO_97 isolate in a concentration of 2 g/ml of L-tryptophan was twice that produced at a concentration of 500 µg/ml. While tryptophan concentration did not appear to influence IAA production for the strain MRC_ZO_17. Instead, an increase in polyethylene glycol (PEG) concentration in the medium had a positive impacted IAA production in this strain. Its production was four times higher in 15% PEG compared to 0% PEG, going from 3 µg/ml in 0% (PEG) to 12 µg/ml in 15%(PEG) as depicted in (Figure 3).

3.3. HCN, Ammonium production, and enzymatic activity

Following a four-day incubation at 28 °C in a nutrient broth amended with 4.4 g glycine/L modified agar plate, the filter paper was examined for colour change, where a brown colour indicated the production of hydrogen cyanide (HCN). Both MRC_ZO_17 and MRC_ZO_97 isolates demonstrated the ability to produce HCN. Additionally, both strains exhibited the capacity to produce ammonium, as evidenced by the development

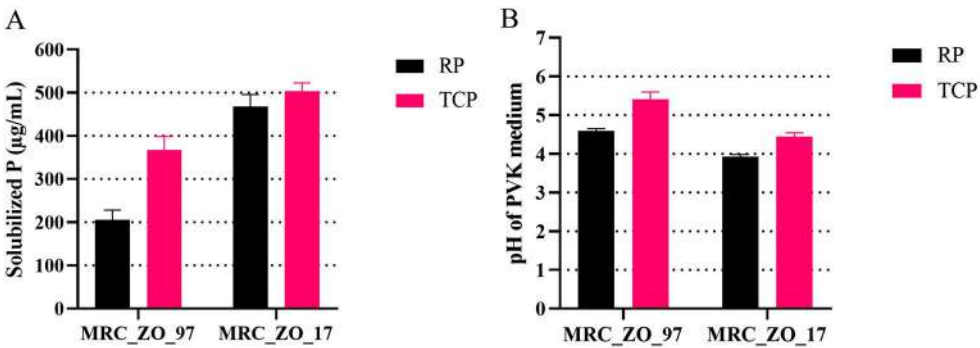


Figure 2. P solubilisation using two phosphate sources (TCP and RP) (A) pH of PVK medium after 48 h incubation. Each value is the mean of three replicates (n = 3). Error bars indicate the ± SE.

Table 2. Qualitative biochemical characteristics of the two strains.

	K- solubilisation	Siderophores	Motility (swarming)	Motility (swimming)	Protease	Lipase	Cellulase	Chitinase
MRCZ017	(+++)	(-)	4,8 cm	5,6 cm	(+)	(+)	(+)	(-)
MRCZ097	(+)	(-)	8cm	8 cm	(-)	(-)	(-)	(-)

(+/-) indicates the presence/absence of the trait.

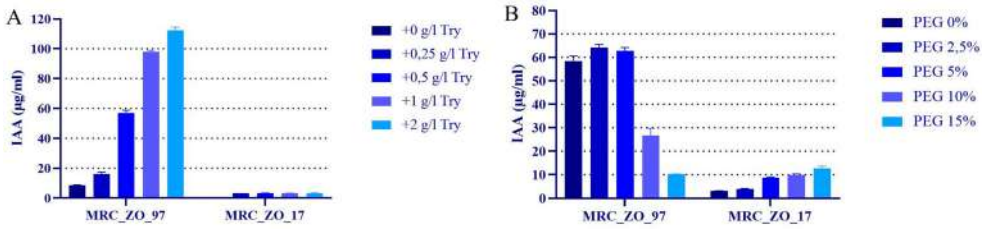


Figure 3. The effect of tryptophan concentration on IAA production(A) The effect of PEG concentration on IAA production(B). Each value is the mean of three replicates ($n = 3$). Error bars indicate the \pm SE.

of a brown to yellow colour after the addition of NESSLER reagent to bacterial cultures in peptone water following a 48-hour incubation at 28 °C. Regarding enzymatic activities, the MRC_ZO_17 strains exhibited lipolytic, proteolytic, and cellulolytic activities. Conversely the MRC_ZO_97 strain did not exhibit any enzymatic activity.

3.4. EPS production

The EPS production test revealed that both isolates produced a significant amount of exopolysaccharides. While the EPS production of MRC_ZO_97 slightly decreased with increasing NaCl concentration in the medium, the production of isolate MRC_ZO_17 increased with increased stress, both strains also exhibited biofilm formation (Figure 4).

3.5. Stress tolerance

Both strains demonstrated tolerance to varying concentrations of NaCl and polyethylene glycol (PEG). The MRC_ZO_17 isolate tolerated NaCl concentrations from 0 to 8% (w/v), whereas the MRC_ZO_97 tolerated NaCl concentrations between 0 and 4% (w/v).

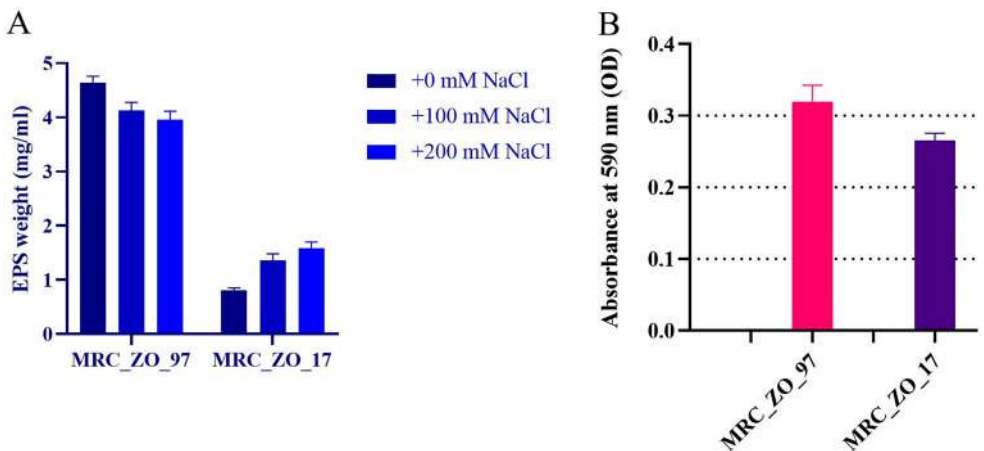


Figure 4. Effect of NaCl concentrations on EPS production (A), Biofilm formation of the two strains (B) Each value is the mean of three replicates ($n = 3$). Error bars indicate the \pm SE.

Table 3. physicochemical characteristics of the soil of the olive tree of Zouala region.

	Clay %	Sand %	Silt %	Classification	pH (H ₂ O)	pH (Clk)	Water %	Salinity dS/m	OM %	N total %	C/N	P ppm	K ppm	Fe ppm
Zouala	25.20	34.54	40.26	Loam	7.8	7.8	10.92	8.83	0.83	0.058	8.29	13	860	3

Both isolates exhibited good growth at PEG concentrations up to 30% (w/v) as outlined in (Table 4).

3.6. Antagonism assay

The presence of *P. agglomerans* and *E. ludwigii* resulted in the suppression of *V. dahliae* growth on the potato dextrose agar (PDA) plate, as observed by the formation of an inhibition zone. In the confrontation between *E. ludwigii* MRC_ZO_97 and *V.dahliae* OV1, the zone of inhibition was clearly visible, On the other hand, the confrontation between *P. agglomerans* MRC_ZO_17 and *V.dahliae* OV1 initially inhibited the pathogen's growth, leading to the appearance of a localised growth of the fungus. However, with time, fungus exhibited adaptation, as indicated by the alteration of growth components, such a lack of development of aerial mycelium away from the plug. This phenomenon is depicted in (Figure 5).

3.7. Experiments in pots

P. agglomerans MRC_ZO_17 and *E. ludwigii* MRCZO95 were selected and used in single and combined preparations to inoculate olive seedlings in the absence and in the presence of the phytopathogen *V. dahliae*, to investigate their impact on the growth and protection of olive plants.

3.7.1. Growth in the absence and presence of *V. dahliae*

In the absence of *V. dahliae* the MRC_ZO_97 strain had a significant effect on the increase in root and shoot biomass of olive trees, resulting in a percentage gain (PG) of approximately 18% for shoot biomass and 38% for root biomass, while the MRC_ZO_17 treatment did not to have any influence on the development of these two parameters. Neither strain showed a significant effect on the length and the number of branching, all the results of the treatment without *V.dahliae* are illustrated in the (Figure 6).

3.8.2. Growth in the presence of *V. dahliae*

In the presence of *V. dahliae*, both the MRC_ZO_97 and MRC_ZO_17 + MRC_ZO_97 treatments significantly increased root biomass. The observed root biomass in both treatments was nearly twice that the control plants treated only with *V. dahliae* and slightly higher than the root biomass of the negative controls treated only with distilled water. All three treatments, MRC_ZO_17, MRC_ZO_97 and combined MRC_ZO_17 + MRC_ZO_97 had a significant effect on the increase in shoot biomass (PG) of 28%,

Table 4. The growth of the two strains under different concentrations of PEG6000 and NaCl.

	Drought stress (OD 600)					Salinity stress				
	PEG 0%	PEG 15%	PEG 20%	PEG 25%	PEG 30%	2%	4%	6%	8%	10%
MRCZO17	1,052 ± 0,035	0,884 ± 0,015	0,77 ± 0,029	0,662 ± 0,016	0,398 ± 0,013	(++)	(++)	(++)	(+)	(-)
MRCZO97	1,213 ± 0,075	0,74 ± 0,03	0,56 ± 0,026	0,431 ± 0,018	0,384 ± 0,022	(++)	(+)	(-)	(-)	(-)

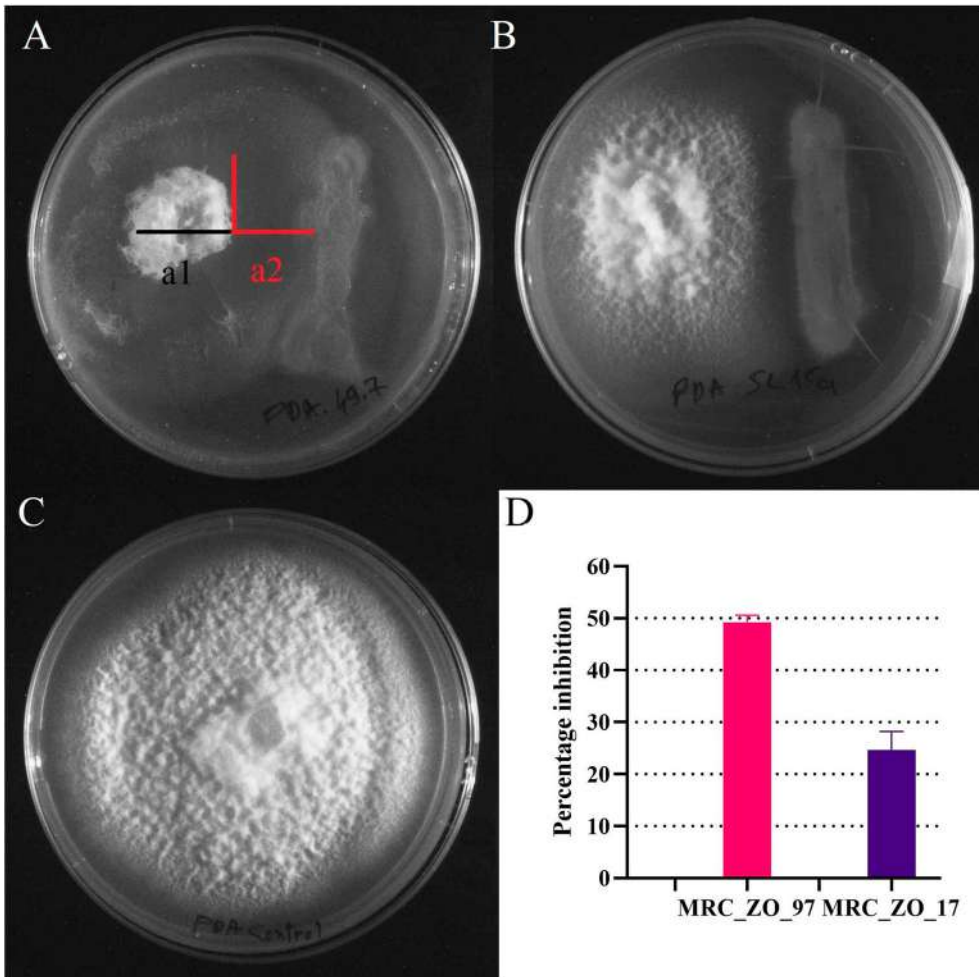


Figure 5. Localised growth of aerial mycelium (a1) development of flush aerial mycelium by strain MRC_ZO_17 (a2) Antagonistic activity of *P.agglomerans* against *V.dahliae* OV1 (A), Antagonistic activity of *E. ludwigii* against *V.dahliae* OV1 (B) Pure culture of *Verticillium dahliae* as control (C) percentage inhibition displayed by both isolates (D).

30% and 37% respectively. The MRC_ZO_17 + MRC_ZO_97 treatment exhibited the most significant effect. Additionally, Allthree treatments also showed a significant effect on the increase in plant length with the MRC_ZO_17 treatment having the most significant prominent effect. Only the MRC_ZO_17 treatment had a significant effect on the increase in the number of branching. These findings are presented in (Figure 7).

4. Discussion

The olive tree, similar to other crops, faces various biotic and abiotic stresses. While the olive tree exhibits resilience against abiotic stressors such as salinity and drought (Ben Ahmed et al., 2007; Rossi et al., 2015), it remains highly susceptible to diseases like verticillium wilt caused by *Verticillium dahliae* (Montes-Osuna & Mercado-Blanco, 2020).

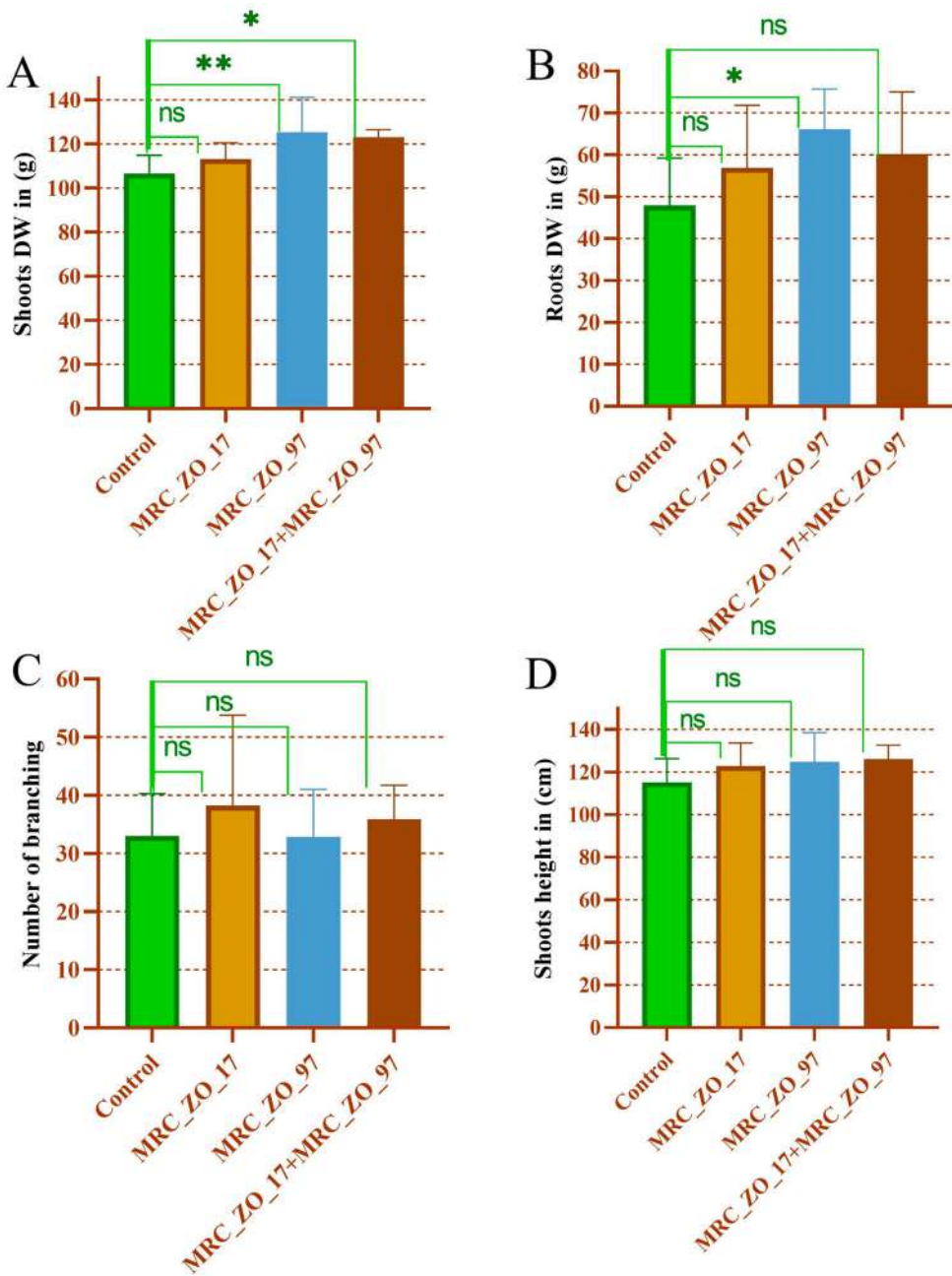


Figure 6. The effect of the two isolates on shoot dry weight (A) root dry weight (B) the number of branching (C) shoot height (D) Each value is the mean of eight replicates. Error bars indicate eight replicates' \pm SE (standard deviation) ($n = 8$). GraphPad Prism 8 was used for statistical analysis. One-way ANOVA setting followed by Tukey's multiple comparisons was used to identify the differences between different treatments in comparison with control plants, with APA P -value style: 0.12 (ns), 0.033(*), 0.002(**), < 0.001(***)

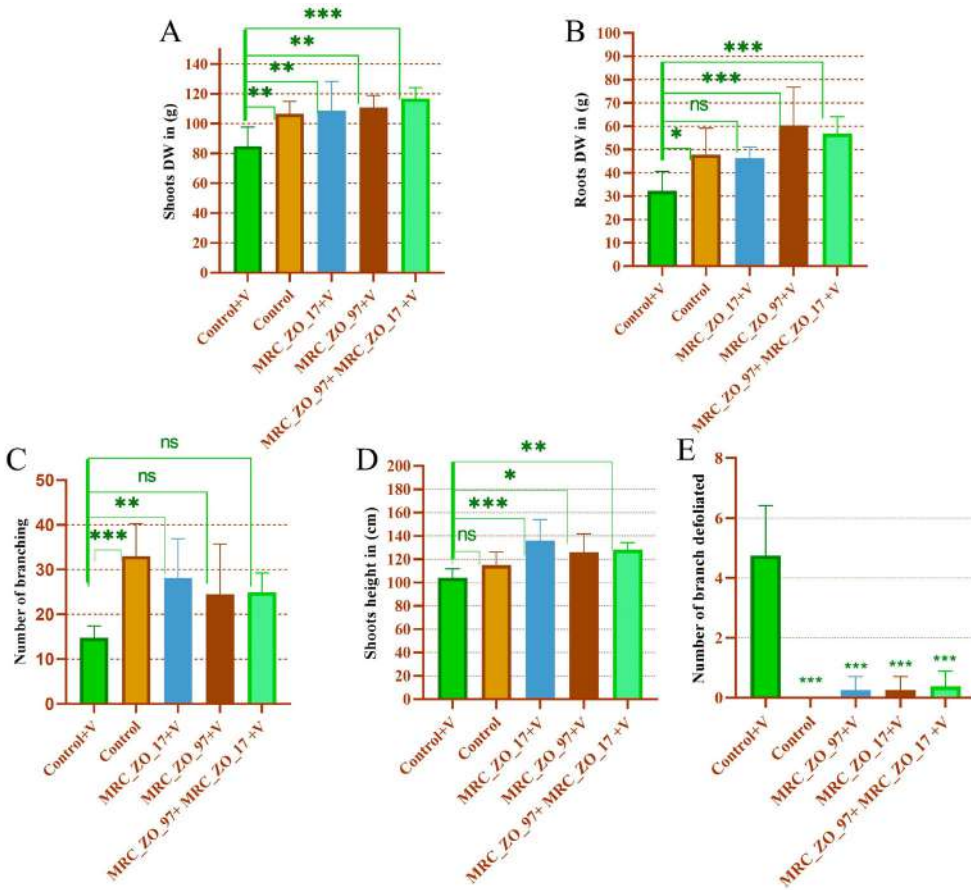


Figure 7. The effect of the two isolates in presence of *V. dahliae* on shoot dry weight (A) root dry weight (B) the number of branching (C) shoot height (D) branch defoliation (E). Each value is the mean of eight replicates. Error bars indicate eight replicates' \pm SE (standard deviation) ($n = 8$). Graph-Pad Prism 8 was used for statistical analysis. One-way ANOVA setting followed by Tukey's multiple comparisons was used to identify the differences between different treatments in comparison with control plants, in this case, the control is (Control + V), with APA P -value style: 0.12(ns), 0.033(*), 0.002(**), < 0,001(***)

Both biotic and abiotic stresses have a significant negative impact on productivity, lower productivity, with greater economic losses caused by biotic stress such as verticillium wilt. In this context, there are continual efforts to develop sustainable biological approaches to mitigate biotic, water, nutritional and saline stresses.

In the present study, two gram-negative bacteria were isolated from the rhizosphere of olive trees in the Zouala region (south-eastern Morocco) and were identified as *P. agglomerans* and *E. ludwigii*. The Zouala region characterised by an arid climate and traditional olive tree agriculture in small-scale orchards where neither chemical fertilisers nor pesticides are used in this cultivation of century-old trees. Soil analysis in this region revealed high salinity concentrations (8.83 dS/m) as displayed in Table 3. The identified bacterial species *P. agglomerans* and *E. ludwigii*, are considered PGPRs based on their beneficial influence on host plants. They belong to the *Enterobacteriaceae*

family, which is well-known for containing PGPR and biological control agents (BCAs) species (Gopalakrishnan et al., 2016; Nunes et al., 2002; Saadouli et al., 2021; Shoebitz et al., 2009).

To investigate the effect of *P.agglomerans* MRC_ZO_17 and *E. ludwigii* MRC_ZO_97, on olive plants, the two gram-negative species were inoculated into the roots of olive plants both in the absence and presence of the pathogenic agent *V.dahliae*. The study aimed to examine (1) their ability to promote growth in olive plants and (2) their potential in protecting olive plants against *V. dahliae*. This research is of particular significance in a country like Morocco, where olive cultivation plays a vital role in the agricultural sector.

Among the 17 elements necessary for the growth and development of plants, phosphorus and potassium are the second and third most limiting soil mineral nutrients preceded by nitrogen (Jiang et al., 2007). In this study, both strains exhibited the ability to solubilise phosphate sources, including rock phosphate (RP) and tricalcium phosphate (TCP). The strain MRC_ZO_97 showed a preference for TCP as a source of phosphorus compared to RP. It has been reported earlier in many studies that TCP is a more easily degraded as a phosphorus substrate than RP (Yadav et al., 2015), which explains the higher solubilisation rate observed with TCP in this strain. The strain MRC_ZO_17 displayed similar solubilisation values with both RP and TCP as phosphate sources. This suggests that MRC_ZO_17 has an affinity for solubilising RP, knowing that Moroccan RP has been characterised as a very recalcitrant phosphate source (Tchuisseu Tchakounté et al., 2018), highlighting the effectiveness of these strains as phosphate solubilizers. Additionally, both strains exhibited the ability to solubilise mica as potassium source.

The phytohormone indole-3-acetic acid IAA plays a key role in plant growth through its involvement in the initiation of root formation, and increase in root length and absorptive surface area, thereby aiding in water and nutrient acquisition by plants (Essalimi et al., 2022; Rajkumar et al., 2017). Most bacteria depend on Tryptophan as a precursor for IAA synthesis (Ahmad et al., 2021). On the other hand, tryptophan is one of the main compounds present in several plant exudates (Kamilova et al., 2006). In this study, the two bacterial strains were examined for their IAA production at different concentrations of L-tryptophan. The production of IAA by MRC_ZO_97 was directly proportional to concentration of tryptophan. Moreover, several studies have reported the positive impact of increasing the concentration of L-tryptophan on the production of IAA (Ahmad et al., 2021; Mohammed et al., 2019). In contrast, the low production of IAA by MRC_ZO_17 was not impacted by increase in L-tryptophan concentration. Several studies have also reported a decrease in IAA production under water stress conditions (Jayakumar et al., 2020; Panigrahi et al., 2020). MRC_ZO_97 exhibited a significant decrease in IAA production following the increase in the concentration of PEG in the medium, while MRC_ZO_17 increased IAA production following this increase in stress. These results are coherent with the findings reported by (Ghosh et al., 2019) where there was increased production of three phytohormones (indole-3-acetic acid, trans-zeatin, and gibberellic acid) in two bacterial strains *B.endophyticus* J13 and *B.tequilensis* J12 under osmotic-stress (25% PEG-6000). These bacterial strains can play a major role in plant tolerance against water stress by stimulating root development and increasing the root's surface area for water absorption. Many authors reported that the lower quantification of IAA by calorimetric method is attributed to the

photodegradable nature of IAA, which suggests that the value of the IAA produced displayed by the calorimetric method is lower than its real value (Ahmad et al., 2021).

The inoculation of olive plants with the MRC_ZO_97 strain resulted in improved root and shoot biomass development compared to uninoculated control plants, with a significant increase in root dry weight. This enhancement in plant growth can be attributed to strain's capacity to produce higher levels of IAA. When olive seedlings were inoculated with *E. ludwigii* MRC_ZO_97 they exhibited better root hair formation compared to control plants. A previous study by (Lee et al., 2019) reported that the *E. ludwigii* GAK2 strain which also demonstrated significant IAA production and phosphate solubilisation, improved various growth parameters in rice plants, including root length, shoot length, fresh biomass, and chlorophyll content. Similar findings were also reported by (Gopalakrishnan et al., 2016), where *E. ludwigii* SRI-229 exhibited potential for PGP and biofortification of mineral nutrients on chickpea and pigeonpea. SRI-229 increased the nodule number, nodule weight, shoot weight, root weight, grain yield, iron, zinc, copper, manganese, and calcium uptake in the grain.

In terms of inhibitory effects, both strains showed the ability to inhibit the growth of *V. dahliae*. Despite the absence of lytic enzyme production in *Enterobacter ludwigii* MRC_ZO_97, it inhibited the pathogen. The *Pantoea agglomerans* MRC_ZO_17 strain produced low levels of lytic enzymes and showed partial inhibition of *V. dahliae* OV1. Lytic enzymes are diffusible substances and cannot be responsible for this inhibition. On the other hand, it is to be assumed that other diffusible substances or volatile organic compounds (VOCs) secreted by MRC_ZO_17 may be responsible for this inhibition (Kong et al., 2020; Ni et al., 2022). Both strains also produced hydrogen cyanide (HCN). which has been studied as a biocontrol mechanism exhibited by some beneficial microorganisms, HCN inhibits cytochrome oxidase in many organisms such as fungi, bacteria, and nematodes (Blumer & Haas, 2000; Gallagher & Manoil, 2001; Rudrappa et al., 2008; Voisard et al., 1989) leading to their death.

Both MRC_ZO_17 and MRC_ZO_97 strains demonstrated the ability to promote the growth of olive plants in the presence of the pathogen *V. dahliae*, they positively affected shoot mass and length. The plants treated preventively almost did not show signs of branch defoliation, while control plants treated only with the *V. dahliae* OV1 showed signs of defoliation after 23 months of inoculation. Several studies have been conducted on the ability of gram negatives as BCAs and PGPR, (Sanei, 2011) reported that eight Gram-negative PGPRs *pseudomonas sp.* inhibited the germination of microsclerotia and reduced the final disease incidence and severity. Also, three *pseudomonas* strains (PIC25, PIC105, and PICF141) demonstrated efficacy against the highly virulent defoliating pathotype of *V. dahliae* and an ability to colonise the roots of maize (Gómez-Lama Cabanás et al., 2018). The endophyte strain PICF7 has been the subject of several studies due to its ability to colonise olive tree roots, inhibit the growth of *V. dahliae* and induce systemic resistance in olive plants (Cabanás et al., 2017; Montes-Osuna & Mercado-Blanco, 2020; Prieto et al., 2009). *Pantoea agglomerans* and *enterobacter sp.* have also been reported to induce systemic resistance in various host plants (Brock et al., 2013; Jetiyanon & Plianbangchang, 2013; Ortmann & Moerschbacher, 2006).

Tolerance to salinity and drought are qualities often coveted in PGPR. MRC_ZO_17 and MRC_ZO_97 exhibited tolerance to NaCl and PEG concentrations, EPS production, good motility, and Biofilm formation. Motility and EPS production are the two essential

components for biofilm formation (Ansari & Ahmad, 2019b; O'Toole & Kolter, 1998) which plays an important role in root colonisation (Al-Ali et al., 2018) and represents a determining factor in the biocontrol process (Bogino et al., 2013). In recent years, salinity has been reported to enhance *V. dahliae* plant colonisation and disease severity (Levin et al., 2007). The two strains being already isolated from a saline and arid soil, their ability to tolerate high concentrations of NaCl and PEG, produce EPS, form biofilm, solubilise phosphate and potassium, and produce IAA. These characteristics are now recognised as critical for efficiently living in soil and on root surfaces through colonisation, which is even more vital under salt stress (Jhuma et al., 2021).

5. Conclusion

In conclusion, MRC_ZO_17 and MRC_ZO_97 exhibited very good PGP traits (P and K solubilisation and IAA production), although the MRC_ZO_17 strain only produced higher IAA levels when subjected to osmotic stress. The two strains also exhibited tolerance to osmotic and saline stress. Concerning the plant growth promotion of the olive tree in the absence of the pathogen, only the MRC_ZO_97 strain exhibited significant effects on the root and shoot dry weights of inoculated olive seedlings. However, in the presence of the pathogen *V. dahliae*, both strains significantly increased the length and dry weight of olive shoots. Both strains also produced high levels of polysaccharides and biofilm production. Knowing their high potential as much as bioinocula for olive plants and their tolerance to different stresses, these two strains can serve as biostimulants and bioprotective bioinocula for the olive plant. Both in the event of biotic stress such as verticillium wilt and in the event of abiotic stress such as drought and salinity. However, the ability of the two strains to colonise the olive tree and to induce systemic resistance remains to be determined.

Acknowledgments

The authors thank the Hassan II Academy of Science and Technology of Morocco for its financial support (Rhizolive project).

Disclosure statement

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

References

- Ahmad, E., Sharma, S. K., & Sharma, P. K. (2021). Deciphering operation of tryptophan-independent pathway in high indole-3-acetic acid (IAA) producing *Micrococcus aloeverae* DCB-20. *FEMS Microbiology Letters*, 367(24), fnaa190. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa190>
- Al-Ali, A., Deravel, J., Krier, F., Béchet, M., Ongena, M., & Jacques, P. (2018). Biofilm formation is determinant in tomato rhizosphere colonization by *Bacillus velezensis* FZB42. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(30), 29910–29920. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0469-1>
- Alexander, D. B., & Zuberer, D. A. (1991). Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 12(1), 39–45. <https://doi.org/10.1007/BF00369386>

- Ansari, F. A., & Ahmad, I. (2019a). Fluorescent *Pseudomonas* -FAP2 and *Bacillus licheniformis* interact positively in biofilm mode enhancing plant growth and photosynthetic attributes. *Scientific Reports*, 9(1), 4547. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40864-4>
- Ansari, F. A., & Ahmad, I. (2019b). Isolation, functional characterization and efficacy of biofilm-forming rhizobacteria under abiotic stress conditions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 112(12), 1827–1839. <https://doi.org/10.1007/s10482-019-01306-3>
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B., & Boukhris, M. (2007). Effects of water deficit on olive trees cv. Chemlali under field conditions in arid region in Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 113(3), 267–277. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.03.020>
- Blumer, C., & Haas, D. (2000). Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Archives of Microbiology*, 173(3), 170–177. <https://doi.org/10.1007/s002039900127>
- Bogino, P., Oliva, M., Sorroche, F., & Giordano, W. (2013). The role of bacterial biofilms and surface components in plant-bacterial associations. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(8), 15838–15859. <https://doi.org/10.3390/ijms140815838>
- Bouymajane, A., Majdoub, Y. O. E., Cacciola, F., Russo, M., Salafia, F., Trozzi, A., Filali, F. R., Dugo, P., & Mondello, L. (2020). Characterization of phenolic compounds, vitamin E and fatty acids from monovarietal virgin olive oils of “*Picholine marocaine*”. *Cultivar*, 14.
- Brock, A. K., Berger, B., Mewis, I., & Ruppel, S. (2013). Impact of the PGPB enterobacter radicincitans DSM 16656 on growth, glucosinolate profile, and immune responses of *Arabidopsis thaliana*. *Microbial Ecology*, 65(3), 661–670. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0146-3>
- Bui, T., Harting, R., Braus-Stromeier, S. A., Tran, V., Leonard, M., Höfer, A., Abelmann, A., Bakti, F., Valerius, O., Schlüter, R., Stanley, C. E., Ambrósio, A., & Braus, G. H. (2019). *Verticillium dahliae* transcription factors Som1 and Vta3 control microsclerotia formation and sequential steps of plant root penetration and colonisation to induce disease. *New Phytologist*, 221(4), 2138–2159. <https://doi.org/10.1111/nph.15514>
- Cabanás, C. G.-L., Sesmero, R., Valverde-Corredor, A., Javier López-Escudero, F., & Mercado-Blanco, J. (2017). A split-root system to assess biocontrol effectiveness and defense-related genetic responses in above-ground tissues during the tripartite interaction *Verticillium dahliae*-olive-*Pseudomonas fluorescens* PICF7 in roots. *Plant and Soil*, 417(1–2), 433–452. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3269-y>
- Cappuccino, J. C., & Sherman, N. (1992). Ammonia production. In *Microbiology: A laboratory manual* (3rd ed, pp. 125–179). Benjamin/Cummings Pub Co.
- Cherrab, M., Zaoui, D., Bennani, A., & Serrhini, M. N. (2002). Étude du pouvoir pathogène des isolats de *Verticillium dahliae* Kleb. *Issus de l'olivier (Picholine Marocaine) au Maroc*, 22, 7.
- Dahal, S., & Manandhar, B. (2021). Soil management practices in commercial vegetable farming in changing socioeconomic context in Makawanpur, Nepal. *Environmental Challenges*, 4, 100188. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100188>
- Donat-Vargas, C., Sandoval-Insausti, H., Peñalvo, J. L., Moreno Iribas, M. C., Amiano, P., Bes-Rastrollo, M., Molina-Montes, E., Moreno-Franco, B., Agudo, A., Mayo, C. L., Laclaustra, M., De La Fuente Arrillaga, C., Chirlaque Lopez, M. D., Sánchez, M.-J., Martínez-Gonzalez, M. A., & Guallar-Castillón, P. (2022). Olive oil consumption is associated with a lower risk of cardiovascular disease and stroke. *Clinical Nutrition*, 41(1), 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.11.002>
- El Mouhtadi, I., Agouzzal, M., & Guy, F. (2014). L'olivier au Maroc. *OCL*, 21(2), D203. <https://doi.org/10.1051/ocl/2013053>
- Essalimi, B., Esserti, S., Rifai, L. A., Koussa, T., Makroum, K., Belfaiza, M., Rifai, S., Venisse, J. S., Faize, L., Albuquerque, N., Burgos, L., Jadoumi, S. E., & Faize, M. (2022). Enhancement of plant growth, acclimatization, salt stress tolerance and verticillium wilt disease resistance using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) associated with plum trees (*Prunus domestica*). *Scientia Horticulturae*, 291, 110621. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110621>
- Gallagher, L. A., & Manoil, C. (2001). *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Kills *Caenorhabditis elegans* by Cyanide Poisoning. *Journal of Bacteriology*, 183(21), 6207–6214. <https://doi.org/10.1128/JB.183.21.6207-6214.2001>

- Ghosh, D., Gupta, A., & Mohapatra, S. (2019). A comparative analysis of exopolysaccharide and phytohormone secretions by four drought-tolerant rhizobacterial strains and their impact on osmotic-stress mitigation in *Arabidopsis thaliana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(6), 90. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2659-0>
- Gómez-Lama Cabanás, C., Legarda, G., Ruano-Rosa, D., Pizarro-Tobías, P., Valverde-Corredor, A., Niqui, J. L., Triviño, J. C., Roca, A., & Mercado-Blanco, J. (2018). Indigenous pseudomonas spp. Strains from the olive (*Olea europaea* L.) rhizosphere as effective biocontrol agents against *Verticillium dahliae*: From the host roots to the bacterial genomes. *Frontiers in Microbiology*, 9, 277. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00277>
- Gopalakrishnan, S., Vadlamudi, S., Samineni, S., & Sameer Kumar, C. V. (2016). Plant growth-promotion and biofortification of chickpea and pigeonpea through inoculation of biocontrol potential bacteria, isolated from organic soils. *SpringerPlus*, 5(1), 1882. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3590-6>
- Gordon, S. A., & Weber, R. P. (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology*, 26(1), 192–195. <https://doi.org/10.1104/pp.26.1.192>
- Gupta, P., Samant, K., & Sahu, A. (2012). Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International Journal of Microbiology*, 2012, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2012/578925>
- Hegedűs, M., Tóth-Bodrogi, E., Németh, S., Somlai, J., & Kovács, T. (2017). Radiological investigation of phosphate fertilizers: Leaching studies. *Journal of Environmental Radioactivity*, 173, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2016.10.006>
- Jayakumar, A., Padmakumar, P., Nair, I. C., & Radhakrishnan, E. K. (2020). Drought tolerant bacterial endophytes with potential plant probiotic effects from *Ananas comosus*. *Biologia*, 75(10), 1769–1778. <https://doi.org/10.2478/s11756-020-00483-1>
- Jetiyanon, K., & Plianbangchang, P. (2013). Lipopolysaccharide of *Enterobacter asburiae* strain RS83: A bacterial determinant for induction of early defensive enzymes in *Lactuca sativa* against soft rot disease. *Biological Control*, 67(3), 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.09.014>
- Jhuma, T. A., Rafeya, J., Sultana, S., Rahman, M. T., & Karim, M. M. (2021). Isolation of endophytic salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria from *oryza sativa* and evaluation of their plant growth-promoting traits under salinity stress condition. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 687531. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.687531>
- Jiang, H. M., Yang, J. C., & Zhang, J. F. (2007). Effects of external phosphorus on the cell ultra-structure and the chlorophyll content of maize under cadmium and zinc stress. *Environmental Pollution*, 147(3), 750–756. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.09.006>
- Jiménez-Díaz, R. M., Cirulli, M., Bubici, G., del Mar Jiménez-Gasco, M., Antoniou, P. P., & Tjamos, E. C. (2012). *Verticillium* wilt, a major threat to olive production: Current status and future prospects for its management. *Plant Disease*, 96(3), 304–329. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-11-0496>
- Kamilova, F., Kravchenko, L. V., Shaposhnikov, A. I., Azarova, T., Makarova, N., & Lugtenberg, B. (2006). Organic acids, sugars, and l-tryptophane in exudates of vegetables growing on stone-wool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(3), 250–256. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0250>
- Klosterman, S. J., Atallah, Z. K., Vallad, G. E., & Subbarao, K. V. (2009). Diversity, pathogenicity, and management of *verticillium* species. *Annual Review of Phytopathology*, 47(1), 39–62. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081748>
- Kong, W.-L., Li, P.-S., Wu, X.-Q., Wu, T.-Y., & Sun, X.-R. (2020). Forest tree associated bacterial diffusible and volatile organic compounds against various phytopathogenic fungi. *Microorganisms*, 8(4), <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040590>
- Lee, K.-E., Adhikari, A., Kang, S.-M., You, Y.-H., Joo, G.-J., Kim, J.-H., Kim, S.-J., & Lee, I.-J. (2019). Isolation and characterization of the high silicate and phosphate solubilizing novel strain *enterobacter ludwigii* GAK2 that promotes growth in rice plants. *Agronomy*, 9(3), 144. <https://doi.org/10.3390/agronomy9030144>

- Legrifi, I., Al Figuigui, J., El Hamss, H., Lazraq, A., Belabess, Z., Tahiri, A., Amiri, S., Barka, E. A., & Lahlali, R. (2022). Potential for biological control of pythium schmitteneri root Rot disease of olive trees (*Olea europaea* L.) by antagonistic bacteria. *Microorganisms*, 10(8), 1635. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081635>
- Levin, A. G., Lavee, S., & Tsror (Lahkim, L. (2007). The influence of salinity on *Verticillium dahliae* in stem cuttings of five olive cultivars. *Journal of Phytopathology*, 155(10), 587–592. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01283.x>
- Lorck, H. (1948). Production of hydrocyanic acid by bacteria. *Physiologia Plantarum*, 1(2), 142–146. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1948.tb07118.x>
- Mallamaci, R., Budriesi, R., Clodoveo, M. L., Biotti, G., Micucci, M., Ragusa, A., Curci, F., Muraglia, M., Corbo, F., & Franchini, C. (2021). Olive tree in circular economy as a source of secondary metabolites active for human and animal health beyond oxidative stress and inflammation. *Molecules*, 26(4), <https://doi.org/10.3390/molecules26041072>
- Mili, S., & Bouhaddane, M. (2021). Forecasting global developments and challenges in olive Oil supply and demand: A delphi survey from Spain. *Agriculture*, 11(3), 191. <https://doi.org/10.3390/agriculture11030191>
- Mohammed, B. L., hussein, R. A., & Toama, F. N. (2019). Biological control of Fusarium wilt in tomato by endophytic rhizobacteria. *Energy Procedia*, 157, 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.11.178>
- Mohanty, P., Singh, P. K., Chakraborty, D., Mishra, S., & Pattnaik, R. (2021). Insight into the role of PGPR in sustainable agriculture and environment. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5), <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.667150>
- Montes-Osuna, N., Gómez-Lama Cabanás, C., Valverde-Corredor, A., Legarda, G., Prieto, P., & Mercado-Blanco, J. (2021). Evaluation of indigenous olive biocontrol rhizobacteria as protectants against drought and salt stress. *Microorganisms*, 9(6), 1209. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061209>
- Montes-Osuna, N., & Mercado-Blanco, J. (2020). Verticillium wilt of olive and Its control: What did we learn during the last decade? *Plants*, 9(6), 735. <https://doi.org/10.3390/plants9060735>
- Mutale-Joan, C., Sbabou, L., & Hicham, E. A. (2022). Microalgae and Microalgae and cyanobacteria: How exploiting these microbial resources Can address the underlying challenges related to food sources and sustainable agriculture: A review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(1), 1–20. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10534-9>
- Ni, H., Kong, W.-L., Zhang, Y., & Wu, X.-Q. (2022). Effects of volatile organic compounds produced by *Pseudomonas aurantiaca* ST-TJ4 against *Verticillium dahliae*. *Journal of Fungi*, 8(7), 697. <https://doi.org/10.3390/jof8070697>
- Nunes, C., Usall, J., Teixido, N., Fons, E., & Vinas, I. (2002). Post-harvest biological control by *Pantoea agglomerans* (CPA-2) on Golden Delicious apples. *Journal of Applied Microbiology*, 92(2), 247–255. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01524.x>
- Ortmann, I., & Moerschbacher, B. M. (2006). Spent growth medium of *Pantoea agglomerans* primes wheat suspension cells for augmented accumulation of hydrogen peroxide and enhanced peroxidase activity upon elicitation. *Planta*, 224(4), 963–970. <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0271-7>
- O'Toole, G. A., & Kolter, R. (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology*, 30(2), 295–304. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.01062.x>
- Panigrahi, S., Mohanty, S., & Rath, C. C. (2020). Characterization of endophytic bacteria *Enterobacter cloacae* MG00145 isolated from *Ocimum sanctum* with Indole Acetic Acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. *South African Journal of Botany*, 134, 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.09.017>
- Porfirio, S., Gomes da Silva, M. D. R., Cabrita, M. J., Azadi, P., & Peixe, A. (2016). Reviewing current knowledge on olive (*Olea europaea* L.) adventitious root formation. *Scientia Horticulturae*, 198, 207–226. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.034>
- Prieto, P., Navarro-Raya, C., Valverde-Corredor, A., Amyotte, S. G., Dobinson, K. F., & Mercado-Blanco, J. (2009). Colonization process of olive tissues by *Verticillium dahliae* and its *in planta*

- interaction with the biocontrol root endophyte *Pseudomonas fluorescens* PICF7: Olive-*Pseudomonas-Verticillium* in planta interaction. *Microbial Biotechnology*, 2(4), 499–511. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00105.x>
- Rajawat, M. V. S., Singh, S., Tyagi, S. P., & Saxena, A. K. (2016). A modified plate assay for rapid screening of potassium-solubilizing bacteria. *Pedosphere*, 26(5), 768–773. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60080-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60080-7)
- Rajkumar, M., Bruno, L. B., & Banu, J. R. (2017). Alleviation of environmental stress in plants: The role of beneficial *Pseudomonas* spp. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 47(6), 372–407. <https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1318619>
- Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Grewal, A. S., Srivastav, A. L., & Kaushal, J. (2021). An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of Cleaner Production*, 283, 124657. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>
- Rasool, A., Imran Mir, M., Zufajri, 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. *Microbial Pathogenesis*, 150, 104734. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104734>
- Rossi, L., Francini, A., Minnocci, A., & Sebastiani, L. (2015). Salt stress modifies apoplastic barriers in olive (*Olea europaea* L.): A comparison between a salt-tolerant and a salt-sensitive cultivar. *Scientia Horticulturae*, 192, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.05.023>
- Rudrappa, T., Splaine, R. E., Biedrzycki, M. L., & Bais, H. P. (2008). Cyanogenic pseudomonads influence multitrophic interactions in the rhizosphere. *PLoS ONE*, 3(4), e2073. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002073>
- Saadouli, Ilhem, Mosbah, Amor, Ferjani, Raoudha, Stathopoulou, Panagiota, Galiatsatos, Ioannis, Asimakis, Elias, Marasco, Ramona, Daffonchio, Daniele, Tsiamis, George, & Ouzari, Hadda-Imene. (2021). The Impact of the Inoculation of Phosphate-Solubilizing Bacteria *Pantoea agglomerans* on Phosphorus Availability and Bacterial Community Dynamics of a Semi-Arid Soil. *Microorganisms*, 9(8), 1661. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081661>
- Sala, G., Caruso, T., Marra, F. P., Zafonte, F., Amico Roxas, A., Schiavo, B., Galia, A., Brunori, A., Dini, F., Regni, L., Proietti, P., & La Mantia, T. (2021). Study of energetic properties of different tree organs in six *Olea europaea* L. cultivars. *Scientific Reports*, 11(1), 17047. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96436-y>
- Sanei, S. (2011). Suppression of verticillium wilt of olive by *pseudomonas fluorescens*. *American Journal of Experimental Agriculture*, 1(4), 294–305. <https://doi.org/10.9734/AJEA/2011/500>
- Santilli, E., Riolo, M., La Spada, F., Pane, A., & Cacciola, S. O. (2020). First report of root Rot caused by *Phytophthora bilobang* on *Olea europaea* in Italy. *Plants*, 9(7), 826. <https://doi.org/10.3390/plants9070826>
- Schebesta, H., & Candel, J. J. L. (2020). Game-changing potential of the EU's Farm to Fork Strategy. *Nature Food*, 1(10), 586–588. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-00166-9>
- Serrhini, M., & Zeroual, A. (1995). Verticillium wilt in Morocco. *Olivae*, 58, 58–61.
- Shoebitz, Mauricio, Ribaud, Claudia M, Pardo, Martín A., Cantore, Maria L, Ciampi, Luigi, & Curá, José A.. (2009). Plant growth promoting properties of a strain of *Enterobacter ludwigii* isolated from *Lolium perenne* rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(9), 1768–1774. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.12.031>
- Slama, H. B., Cherif-Silini, H., Chenari Bouket, A., Qader, M., Silini, A., Yahiaoui, B., Alenezi, F. N., Luptakova, L., Triki, M. A., Vallat, A., Oszako, T., Rateb, M. E., & Belbahri, L. (2019). Screening for fusarium antagonistic bacteria from contrasting niches designated the endophyte *Bacillus halotolerans* as plant warden against fusarium. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3236. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03236>
- Song, X., Li, Y., Yin, J., Chen, D., & Huang, J. (2022). Mobilization of soil phosphorus and enhancement of canola yield and phosphorus uptake by *Ceriporia lacerata* HG2011. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 68(9), 1229–1238. <https://doi.org/10.1080/03650340.2021.1879382>

- Tandon, H. L. S., Cescas, M. P., & Tyner, E. H. (1968). An acid-free vanadate-molybdate reagent for the determination of total phosphorus in soils. *Soil Science Society of America Journal*, 32(1), 48–51. <https://doi.org/10.2136/sssaj1968.03615995003200010012x>
- Tchuisseu Tchakounté, G. V., Berger, B., Patz, S., Fankem, H., & Ruppel, S. (2018). Community structure and plant growth-promoting potential of cultivable bacteria isolated from Cameroon soil. *Microbiological Research*, 214, 47–59. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.05.008>
- Verhoef, R., Waard, P. d., Schols, H. A., Siika-aho, M., & Voragen, A. G. J. (2003). *Methylobacterium* sp. Isolated from a Finnish paper machine produces highly pyruvated galactan exopolysaccharide. *Carbohydrate Research*, 338(18), 1851–1859. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(03\)00261-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(03)00261-1)
- Voisard, C., Keel, C., Haas, D., & Dèfago, G. (1989). Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *The EMBO Journal*, 8(2), 351–358. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1989.tb03384.x>
- Yadav, A. N., Sharma, D., Gulati, S., Singh, S., Dey, R., Pal, K. K., Kaushik, R., & Saxena, A. K. (2015). Haloarchaea endowed with phosphorus solubilization attribute implicated in phosphorus cycle. *Scientific Reports*, 5(1), 12293. <https://doi.org/10.1038/srep12293>
- Ziazia, P., Poulaki, E. G., Gkizi, D., Lozano, L., Serrano, M., & Tjamos, S. E. (2021). Feeding the microbes: A strategy to control verticillium wilt. *Agronomy*, 11(10), <https://doi.org/10.3390/agronomy11101946>

III.3. Synthèse

Après avoir étudié la diversité des bactéries rhizosphériques dans les trois régions, deux souches ont été sélectionnées pour l'inoculation sur de jeunes plants d'olivier. Il s'agit des bactéries halotolérantes *Enterobacter ludwigii* MRC_ZO_97 et *Pantoea agglomerans* MRC_ZO_17, qui ont montré des résultats prometteurs en ce qui concerne plusieurs traits de promotion de la croissance des plantes (PGP), en plus de leur capacité à inhiber le champignon *Verticillium dahliae*.

Les souches MRC_ZO_97 et MRC_ZO_17 ont démontré une capacité à solubiliser le phosphate à partir de deux substrats, notamment le phosphate tricalcique et la roche phosphate marocaine, classées comme source de phosphate récalcitrante (Tchuisseu Tchakounté et al., 2018). De nombreuses études ont souligné la capacité des genres *Enterobacter* et *Pantoea* à solubiliser efficacement le phosphate, favorisant ainsi la croissance de diverses espèces végétales, tant dans des conditions normales (Chen and Liu, 2019; Lee et al., 2019) que sous stress (Son et al., 2006; Dolkar et al., 2018).

L'acide indole acétique (AIA) est une hormone essentielle en cas de stress, qu'il soit d'origine biotique ou abiotique (Shameer and Prasad, 2018; Mahmood et al., 2019). Les deux souches ont été soumises à des tests de production d'AIA à différentes concentrations de polyéthylène glycol (PEG). Les résultats ont montré que la souche *E. ludwigii* MRC_ZO_97 a réduit sa production d'AIA avec l'augmentation de la concentration de PEG, ce qui est conforme à la réponse attendue en cas de stress (Panigrahi et al., 2020). En revanche, la réaction de *P. agglomerans* MRC_ZO_17 à l'augmentation du stress hydrique est intéressante, car sa production d'AIA a augmenté avec l'augmentation du stress, un phénomène peu étudié jusqu'à présent. De plus, *P. agglomerans* MRC_ZO_17 a montré une augmentation de la production d'EPS en condition de stress salin, ce qui en fait une souche adaptée aux conditions de stress, tant hydrique que salin. Cette capacité permet de protéger les racines et de favoriser leur développement dans des conditions de stress extrême, autant hydrique que salin.

Pour leur qualité d'agent de lutte biologique, les deux souches ont été soumises à des tests visant à évaluer leur production d'enzymes lytiques, leur production d'HCN et leur effet antagoniste contre *Verticillium dahliae*. Les résultats ont révélé que les deux souches présentaient des propriétés antagonistes, une capacité à produire de l'HCN pour les deux souches et une faible production d'enzymes lytiques (protéase, lipase et cellulase) pour la souche MRC_ZO_17. De plus, elles ont montré une capacité d'inhiber la croissance et la progression du pathogène *Verticillium dahliae* *in vitro*, ce qui est conforme à des études antérieures (Gómez-Lama

Cabanás et al., 2018; Montes-Osuna et al., 2022). Cependant, dans le cas de la confrontation avec *P. agglomerans* MRC_ZO_17, bien que le pourcentage d'inhibition ait été presque nul, il est à noter une croissance incomplète du mycélium à distance de la carotte du champignon. Cette observation ne peut être attribuée à la faible production d'enzymes lytiques ou à la production d'HCN par MRC_ZO_17, mais suggère la possibilité de la sécrétion d'autres substances diffusibles ou volatiles par cette souche dans le milieu. La nature de ces molécules mérite une attention particulière afin de les identifier.

L'utilisation des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) en conditions réelles a été entravée par diverses lacunes dans notre connaissance des mécanismes favorisant la croissance, la santé et la production des plantes. Ces lacunes se concentrent sur deux aspects majeurs : premièrement, la capacité des PGPR à s'établir efficacement dans la rhizosphère des plantes, et deuxièmement, la capacité des souches bactériennes à prospérer dans des conditions environnementales variées (Santoyo et al., 2021). Cette étude a accordé une attention particulière à ces deux aspects. Bien que des tests de traçage moléculaire ou fluorescent pour évaluer la capacité de colonisation des racines d'olivier n'aient pas été effectués en raison de limitations techniques, les caractéristiques essentielles à la colonisation des plantes, telles que la production d'exopolysaccharides (EPS), la motilité et la formation de biofilm, ont été examinées. Les deux souches ont montré d'excellentes capacités de motilité, de production d'EPS et de formation de biofilm, des caractéristiques cruciales pour la colonisation des plantes (Al-Ali et al., 2018). En ce qui concerne leur capacité à prospérer dans des conditions environnementales variées, les deux souches ont été soumises à des tests de résistance au stress hydrique et salin, et elles ont montré une capacité robuste à croître en conditions de stress, tenant compte de leur origine dans un environnement hostile (Zouala).

L'inoculation des deux souches bactériennes a été réalisée dans une serre du laboratoire de botanique, biotechnologies et protection des plantes de l'université Ibn Tofail. Les plantules d'olivier ont été procurées de Marrakech par l'intermédiaire du Laboratoire de Biotechnologie et Bio-ingénierie Moléculaire de l'université Cadi Ayyad et transplantées dans des seaux contenant un mélange de sol de Maamoura et de tourbe. Les plants ont été inoculés avec des suspensions bactériennes, à l'exception des plants témoins. La moitié des plants ont également été inoculés avec le pathogène *V. dahliae* OV1. Il convient de noter qu'il existe deux méthodes courantes pour inoculer une plante avec un pathogène. La première consiste à immerger les racines des plantes dans une suspension contenant le pathogène pendant un certain laps de temps, qui est la méthode la plus efficace en termes de rapidité d'apparition des symptômes. La

deuxième méthode implique l'injection de la suspension mycélienne en contact avec des racines préalablement blessées mécaniquement. Nous avons opté pour la deuxième méthode en raison de sa similitude avec les conditions d'une infection naturelle, bien qu'elle soit plus fastidieuse et chronophage.

Les résultats montrent qu'en l'absence du pathogène, des effets significatifs ont été observés uniquement chez les plantes inoculées avec la souche *E. ludwigii* MRC_ZO_97, tant en ce qui concerne l'augmentation de la masse aérienne que racinaire, L'augmentation de la masse racinaire par MRC_ZO_17 pourrait être attribuée à sa bonne production d'auxine (AIA), étant donné que cette phytohormone joue un rôle principal dans le développement des racines chez les plantes. En revanche, lors de l'inoculation des deux souches bactériennes en présence du pathogène, des effets significatifs ont été constatés sur les paramètres de croissance des plantes inoculées par MRC_ZO_97, notamment le poids racinaire, le poids aérien, la longueur, le nombre de ramifications, ainsi qu'un faible nombre de rameaux défoliés. Les traitements avec MRC_ZO_17, ainsi que la combinaison de MRC_ZO_17 + MRC_ZO_97, ont également montré des effets significatifs sur plusieurs paramètres. Les plantes témoins traitées seulement par *V. dahliae* ont montré une forte défoliation et une faible hauteur, présentant des symptômes spécifiques de rabougrissement dus à la verticilliose. En revanche, les plantes inoculées par MRC_ZO_17 et MRC_ZO_97 n'ont presque pas montré de symptômes, l'inoculation avec MRC_ZO_97 seule a donné les résultats les plus significatifs, que ce soit en présence ou en absence du pathogène.

Plusieurs études ont démontré l'efficacité de *P. agglomerans* et *E. ludwigii* dans la protection, la promotion de la croissance, ainsi que la défense de diverses espèces végétales. Il a également été rapporté que le traitement avec les deux isolats de *P. agglomerans*, PHYTPO1 et PHYTPO2, a significativement réduit la sévérité de la maladie du flétrissement de la tomate causée par *R. solanacearum*. (Abo-Elyousr and Hassan, 2021), de même (Gopalakrishnan et al., 2016) ont sélectionné les souches SRI-211 et SRI-229 d'*E. ludwigii* montrant la capacité de contrôler la maladie de la pourriture du charbon chez le sorgho et de promouvoir la croissance des plantes chez le riz. Lorsqu'elles étaient traitées sur les semences, ces souches ont significativement amélioré la hauteur de la tige et la longueur des racines des deux espèces végétales par rapport au témoin non inoculé. Dans des conditions de plein champ, à la fois chez le pois chiche et le pois d'Angole, les parcelles inoculées avec les bactéries testées ont augmenté le nombre et le poids des nodules, les poids des racines et des pousses, le nombre et le poids

des gousses, le poids des feuilles, la surface foliaire et le rendement en grains par rapport aux parcelles témoins non inoculées.

Discussion Générale

L'objectif de cette thèse est de mettre en lumière la diversité des rhizobactéries cultivables associées à l'olivier marocain, en se concentrant sur leurs principales caractéristiques de résistance aux différents stress et leurs capacités à promouvoir la croissance des plantes. L'objectif final est de concevoir un bioinoculum à vocation biofertilisante, biostimulante et bioprotectrice pour les oliviers marocains. Dans une première phase, une diversité considérable a été observée, tant sur le plan moléculaire que fonctionnel. Pour explorer cette diversité au sein des rhizobactéries associées à l'olivier des trois régions du sud du Maroc, 205 bactéries ont été isolées. Cette collection de bactéries a ensuite été soumise à une série de tests, débutant par des épreuves de résistance au stress (salinité et température), suivies de tests biochimiques visant à évaluer leur traits de promotion de la croissance des plantes. Ces tests biochimiques comprenaient l'évaluation de leur aptitude à solubiliser le phosphate, à produire de l'acide indole acétique (AIA), à produire des sidérophores, à solubiliser le potassium, à produire des exopolysaccharides (EPS), à produire de l'acide cyanhydrique (HCN). Enfin, des tests moléculaires, incluant la technique de REP-PCR, ont été utilisés pour éliminer les souches en double, en se basant aussi sur leurs résultats de résistance au stress et leurs caractéristiques biochimiques liées à la promotion de la croissance. Au terme de cette étape, 95 isolats ont été retenus et soumis à une identification moléculaire basée sur l'ADN 16S.

Dans une seconde phase, deux isolats ont été sélectionnés en fonction de leur résistance au stress et de leurs caractéristiques en tant que promoteurs de la croissance des plantes, en vue de les utiliser comme inoculum sur les plants d'olivier. Parallèlement, leur capacité à solubiliser le phosphate sous différentes formes (TCP et RP), leur capacité à produire de l'acide indole acétique (AIA) et des exopolysaccharides (EPS) sous stress, ainsi que des caractéristiques de biocontrôle telles que la production d'enzymes lytiques, la production d'HCN, leur motilité, et leur capacité à inhiber la croissance du pathogène *Verticillium dahliae* ont été étudiées. Les deux souches bactériennes ont été inoculées sur les plants d'olivier en présence et en absence du pathogène, avec différents traitements comprenant l'utilisation d'une seule souche bactérienne ou la combinaison des deux.

Dans notre étude, nous avons comparé les communautés bactériennes de la rhizosphère de trois régions et avons constaté que chaque région possédait sa propre identité bactérienne. Une étude menée par (Na et al., 2018) a montré que les propriétés du sol sont le premier facteur

déterminant de la variation de la structure phylogénétique bactérienne. Ils ont également suggéré que la structure de la communauté bactérienne de la rhizosphère était significativement corrélée à la distance géographique plutôt qu'à la distance environnementale, indiquant que les sites d'échantillonnage géographiquement plus proches avaient tendance à abriter des communautés bactériennes de la rhizosphère plus similaires. Cependant, cette corrélation ne s'applique pas aux régions de Zouala et Errachidia relativement proches sur le plan géographique et environnemental. Dans le cas de ces deux régions, nous pouvons supposer qu'un seul facteur (non humain), à savoir la composition physicochimique du sol, peut être déterminant dans la structure bactérienne de chaque rhizosphère. En effet, le sol de Zouala se distingue par une très grande salinité et une faible teneur en matière organique par rapport au sol d'Errachidia. Cela implique que seules les bactéries capables de survivre aux stress salin, nutritionnel et hydrique (puisque'il s'agit d'une région aride) peuvent persister dans cet environnement, ce qui est le cas du genre *Bacillus* reconnu pour sa capacité accrue à survivre et à s'adapter dans de telles conditions en disposant d'un arsenal complet de mécanismes de survie et d'adaptation aux stress (Rashid et al., 2021).

En effet, notre étude a montré que 63,2% du total des isolats ont témoigné d'une tolérance à une salinité supérieure ou égale à 5%, malgré un taux normal de salinité dans les régions d'Errachidia et d'Essaouira. Ces isolats ont aussi montré une tolérance à la température, ce qui n'est pas étonnant puisque souvent les bactéries qui tolèrent la température sont aussi réputées pour tolérer la salinité (Dasgupta et al., 2015), sachant que lors des tests de tolérance à la température la majorité des isolats appartenant au genre *Bacillus* ont pu produire d'importantes quantités d'exopolysaccharides avec un pic de sécrétion remarqué à 45°C. Bien qu'il y ait une différence entre Errachidia et Essaouira en termes de présence de bactéries tolérant le stress, on suppose qu'elles sont plus présentes dans la région d'Errachidia puisqu'il s'agit d'une région aride, alors que la région d'Essaouira est décrite comme semi-aride.

De nombreux micro-organismes ont le potentiel d'augmenter la disponibilité du phosphore dans le sol. Les bactéries, les champignons, les cyanobactéries, les champignons mycorhiziens et les actinobactéries possèdent plusieurs mécanismes leur permettant de minéraliser le phosphore organique et de solubiliser une partie du phosphore inorganique normalement inaccessible aux plantes (M. S. Khan et al., 2014). Cependant, en termes d'efficacité, les bactéries se trouvent au premier rang vu l'arsenal métabolique dont elles disposent pour leur survie et leur adaptation dans différents milieux. Dans notre étude, toutes les bactéries ont pu croître dans un milieu ne contenant comme seule source de phosphate que du TCP (forme insoluble du phosphate), tandis

qu'un faible pourcentage d'isolats seulement a montré une production correcte d'acides organiques, qui se manifeste par le virage au jaune de l'indicateur de pH bleu de bromophénol présent dans le milieu PVK solide. Trois hypothèses peuvent être émises concernant les souches n'ayant pas produit de halos dans le milieu. Premièrement, les bactéries ont pu produire une très faible quantité d'acides organiques juste suffisante pour solubiliser la petite quantité de phosphate nécessaire à leur croissance. Deuxièmement, les bactéries disposaient d'un stock de phosphore leur permettant de se diviser un certain nombre de fois. Troisièmement, les bactéries ont utilisé d'autres moyens que l'acidification du milieu afin de solubiliser le phosphate tricalcique.

Ainsi, après le test qualitatif de solubilisation du phosphate, nous avons effectué un test quantitatif en milieu liquide qui a montré que toutes les bactéries solubilisait le phosphate. Fait surprenant, des bactéries n'ayant pas induit de formation de halo de solubilisation lors du test qualitatif se sont révélées très performantes lors du test quantitatif, comme les deux souches *Bacillus* MRC_ER2_58 et MRC_ER2_62 qui ont montré une très bonne activité de solubilisation, en solubilisant des quantités de phosphate de l'ordre de 197,1 µg/mL et 190,8 µg/mL respectivement, sans présenter de halo de solubilisation sur le milieu PVK solide. Dans ce cas de figure, nous pouvons facilement retenir la troisième hypothèse. La majorité des isolats appartenant au genre *Bacillus*, sont connus pour la production d'acides organiques (Vazquez et al., 2000), ceci nous amène à nous interroger sur la raison pour laquelle un très grand nombre des bactéries de ce genre dans notre étude ont eu recours à un autre moyen de solubilisation que l'acidification du milieu, alors que le genre *Pseudomonas* a montré une bonne solubilisation du phosphate avec une bonne acidification du milieu. En effet, différentes études ont démontré la possibilité de la solubilisation du phosphate par plusieurs mécanismes, notamment des phosphatases (Fraser et al., 2017), phytases (Li et al., 2021), phosphonatases (Kafarski, 2019), sidérophores (Cui et al., 2022), exopolysaccharides (Yi et al., 2008), entre autres.

Certaines bactéries de la collection ont également été en mesure de donner des résultats positifs lors du test qualitatif de solubilisation du potassium. Il est à noter que la majorité des isolats ayant formé un halo de solubilisation sont des bactéries à Gram négatif, connues pour leur capacité à produire des acides organiques (Oteino et al., 2015). D'ailleurs, les bactéries à Gram négatif appartenant au genre *Pseudomonas* ont aussi montré des résultats positifs au test qualitatif de solubilisation du phosphate. Malheureusement, nous n'avons pas pu tester quantitativement la solubilisation du potassium, ce qui suscite une certaine curiosité sur le nombre réel de bactéries capables de solubiliser cet élément. En effet, comme pour la

solubilisation du phosphate, les bactéries ne se limitent pas à produire des acides organiques pour solubiliser le potassium mais peuvent utiliser d'autres mécanismes (Ahmad et al., 2016).

Contrairement à la solubilisation du phosphate, pour laquelle une large proportion des isolats s'est montrée efficace, seules quelques bactéries ont affiché de bonnes performances pour la production de l'acide indole-acétique. En effet, la majorité de la collection, représentée par le genre *Bacillus*, a témoigné d'une faible production de cette phytohormone. Le genre *Pseudomonas* a démontré une production acceptable, tandis que les meilleures performances ont été attribuées au genre *Arthrobacter*. Sachant que le genre *Arthrobacter* est très bien connu pour son efficacité à synthétiser différentes phytohormones (Katznelson et al., 1962; Forni et al., 1992).

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) constituent une famille diversifiée de micro-organismes associés à de nombreuses espèces végétales et procurant des bénéfices aux plantes, tels que la stimulation de la croissance et la réduction du stress. De nombreuses études démontrent leur potentiel d'utilisation en tant qu'agents de lutte biologique pour remplacer les engrais chimiques ainsi que les pesticides et fongicides. Les bactéries les plus étudiées dans le cadre de la lutte biologique appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces* (Durairaj et al., 2017). Plusieurs mécanismes d'action ont été postulés pour expliquer l'apparition de cette défense, notamment la compétition directe pour les nutriments et les niches écologiques, l'antibiose, la lyse enzymatique, l'interférence des signaux et l'induction indirecte des résistances de la plante hôte. Les données accumulées suggèrent que les taxons PGPR présentent des variations dans l'expression de ces caractéristiques.

La production de cyanure d'hydrogène (HCN) est essentielle à l'activité de promotion de la croissance des plantes par les PGPR. L'HCN est fréquemment utilisé comme agent de biocontrôle dans les systèmes de production agricole en raison de sa toxicité significative envers les agents pathogènes des plantes, de sa capacité à chélater les ions métalliques et de son implication indirecte dans la mise à disposition du phosphate (Rijavec and Lapanje, 2016). Dans la présente étude, plus de la moitié de la collection a prouvé sa capacité à produire de l'HCN, avec les meilleurs résultats constatés chez le genre *Arthrobacter*. Ainsi plusieurs études ont montré que les PGPR produisant du HCN et leur utilisation comme biofertilisants permettent de stimuler la croissance, d'augmenter le rendement et de lutter contre les maladies de la tomate (Ahmed et al., 2017).

Au même titre que l'HCN, les sidérophores, molécules complexes utiles autant dans la nutrition que dans la protection des plantes (Leventhal et al., 2019; Abdallah et al., 2023), suscitent un intérêt particulier. Jusqu'ici, on a constaté que chaque trait de promotion de la croissance est propre à un genre bactérien précis. Cependant, la production de sidérophores représente une exception dans cette étude, puisque les meilleurs résultats sont répartis entre deux genres : *Pseudomonas* et *Arthrobacter*.

Il faut souligner que plusieurs études se sont penchées sur l'importance des genres *Pseudomonas* et *Bacillus* dans la lutte biologique (Santoyo et al., 2012; Dimkić et al., 2022b). Ainsi, on peut présumer que la rhizosphère de l'olivier peut être considérée comme un énorme réservoir d'agents de lutte biologique. Notre collection contient probablement des souches d'élite en termes de biocontrôle, sans omettre le rôle important de ces genres dans la bioremediation, domaine d'étude prenant de plus en plus d'importance face à la raréfaction des terres cultivables et la propagation de la pollution des sols suite à l'activité humaine (Srinivasan et al., 2014).

Les deux souches choisies pour l'inoculation des jeunes plants d'olivier ont été soigneusement sélectionnées pour leur capacité à résister aux différents stress, pour leurs traits de promotion de la croissance et pour leurs caractères de biocontrôle *in vitro*.

Les *Enterobacteriaceae* sont reconnues comme étant à la fois des PGPR et des agents de lutte biologique (Alström, 2001; González-Ista et al., 2023), d'où l'intérêt que nous avons porté à ces deux souches. D'autant plus qu'elles ont pu survivre dans un environnement hostile tel que la région de Zouala, dont la majorité écrasante des bactéries sont des *Bacillaceae* de nature très résistante aux différents stress. Notre raisonnement a été de dire que puisque ces deux souches ont pu s'adapter à un milieu sec, salin et pauvre en matière organique, alors elles peuvent s'adapter facilement dans plusieurs environnements. D'autant plus que leur inoculation sur l'espèce dont elles sont issues, à savoir *Olea europaea*, est un facteur favorisant leur installation dans cette nouvelle rhizosphère.

La culture de l'olivier revêt un intérêt particulier en Méditerranée. Bien que l'engouement pour l'exploration de la diversité bactérienne de l'olivier soit faible, les recherches liées à la prospection de micro-organismes dotés de qualités de promotion de la croissance, de biocontrôle et d'atténuation de différents stress ont connu une croissance fulgurante ces dernières années (Bizos et al., 2020). Ceci fait suite à plusieurs facteurs, dont le changement climatique, la pollution des sols, l'augmentation des prix des engrais et pesticides et une

conscience collective sur la dangerosité de l'utilisation des moyens conventionnels sur l'humain et l'environnement.

Aujourd'hui, plusieurs pistes sont explorées dans le sens d'exploiter des micro-organismes pour une agriculture responsable, d'autant plus que les produits et matériels de laboratoire nécessaires pour avancer dans cette voie sont de plus en plus abordables. Ces dernières années, plusieurs équipes ont travaillé sur des micro-organismes aidant à la croissance et à la protection des oliviers, avec des résultats encourageants. Les micro-organismes utilisés sont de diverses natures : PGPR, PGPF, mycorhizes et endophytes.

Ainsi, ces études ont mis l'accent sur l'implication des PGPR dans la croissance des plants d'olivier. Dans la majorité des études, on a constaté la présence des genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* et *Azospirillum* impliqués dans la promotion de la croissance de l'olivier, autant en conditions de plein champ qu'en serre. Par exemple, l'inoculation des plants d'olivier avec les deux souches *Pseudomonas fluorescens* P19 ou P21 a augmenté la longueur et le nombre de racines adventives et latérales des boutures inoculées (Peyvandi et al., 2010). Des résultats similaires ont été rapportés par (Bartolini et al., 2023), soulignant l'implication de la souche *Azospirillum brasilense* Sp245 dans l'induction de la formation de racines chez les boutures d'olivier. Il faut aussi souligner que la majorité des traitements par les PGPR dans ces études combinent souvent PGPR et éléments minéraux. Ainsi, on a vu récemment l'utilisation de la combinaison de PGPR, de compost et d'engrais afin d'atteindre une productivité optimale avec moins d'engrais, une productivité supérieure à celle obtenue par l'utilisation d'engrais seuls avec des doses normales (Adesemoye et al., 2009; Fazal and Bano, 2016; Scagliola et al., 2021). Cependant, une étude menée par (Abd-Alhamid et al., 2015) a montré que l'application réduite d'engrais azotés (75% de la dose habituelle) combinée à l'inoculation de trois espèces bactériennes (*Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megatherium* et *B. circulans*) a permis d'accroître le rendement ainsi que plusieurs paramètres physiques des fruits, De même Une étude menée par (Haggag et al., 2014) ont aussi démontré qu'en réduisant de moitié la dose recommandée d'engrais minéraux azotés, phosphatés et potassiques, et en l'associant à trois biofertilisants à base d'*Azospirillum sp.*, *Bacillus mucilaginosus* et *Bacillus megatherium*, il était possible d'accroître le développement du système racinaire des jeunes plants d'olivier. Nos résultats sont en concordance avec ces études, puisque nous avons remarqué une augmentation significative de la masse aérienne et racinaire des plants traités par la souche MRC_ZO_97 par rapport aux témoins.

En terme de promotion de croissance de l'olivier les résultats les plus probant sont sans doute remarqué chez les plantes inoculé par des AMF, avec une présence forte su genre *glomus* et *Rhizophagus* deux genres appartenant à la famille des Glomeraceae (Alguacil et al., 2011; Kara et al., 2015; Seifi et al., 2014), ainsi plusieurs études ont montré l'efficacité de ces mycorhizes dans l'augmentation de la biomasse (Alguacil et al., 2011; Chenchouni et al., 2020), l'augmentation de l'assimilation des minéraux (Tekaya et al., 2017; Hanane et al., 2020) , l'augmentation de la teneur en glucides et l'amélioration de la photosynthèse des plantes inoculées (Mechri et al., 2014).

Dans leurs travaux, (Pio et al., 2005) ont mis en évidence que l'utilisation de l'acide indole-3-butyrrique (AIB) à une concentration de 3 g/L a un impact sur les caractéristiques du système racinaire lors de la production de boutures d'olivier. Ils ont observé des variations significatives, notamment concernant le nombre de racines et leur longueur. Cependant, même avec un traitement hormonal, l'enracinement des boutures d'olivier reste une entreprise délicate, avec des résultats dépendant de facteurs tels que la variété, la saison et l'état phénologique de la plante (Denaxa et al., 2019). D'où la nécessité de trouver une alternative à la fois écologique et efficace à l'utilisation de ces hormones de synthèse. Étant donné que les PGPR sont des usines à hormones végétales (Mahmood et al., 2019), il a été judicieux de suivre cette piste pour améliorer la qualité de l'enracinement des boutures d'olivier. Dans le même contexte, une étude menée par (Montero-Calasanz et al., 2013) ont testé l'effet de cinq souches bactériennes sur l'induction de la formation de racines chez des boutures d'olivier, la meilleure réponse d'enracinement a été obtenue avec la bactérie *Pantoea* sp. AG9, d'où l'importance d'une éventuelle utilisation de MRC_ZO_17 et MRC_ZO_97 pour l'induction de l'enracinement des boutures de l'olivier dans les pépinières.

L'utilisation d'un co-inoculum composé de mycorhizes et de PGPR prend de plus en plus d'importance vu le caractère biotrophe des mycorhizes. En effet, l'efficacité d'une espèce d'AMF est renforcée lorsqu'elle est co-inoculée avec des PGPR. Selon (Ramasamy et al., 2011), cette co-inoculation serait plus bénéfique pour la croissance des plantes et leur absorption de nutriments qu'une inoculation unique. Cela s'expliquerait par le fait que les PGPR peuvent favoriser l'établissement des AMF, soit en stimulant leur croissance hyphale par production de vitamines et enzymes, soit en augmentant la perméabilité de la paroi cellulaire racinaire.

Contrairement aux mycorhizes, les PGPR peuvent être d'excellents agents de biocontrôle grâce à leur arsenal d'enzymes lytiques, d'antibiotiques, d'antifongiques et de composés volatiles. De nombreuses études ont démontré leur efficacité dans l'inhibition des pathogènes fongiques et

bactériens de plusieurs espèces végétales. Ainsi (Montes-Osuna et al., 2022) ont rapporté que *Pseudomonas* sp. PICF6 et *Pseudomonas simiae* PICF7 ont montré une impressionnante capacité à inhiber la croissance de *Verticillium dahliae* via la sécrétion d'une vingtaine de composés volatiles. De même, (Gómez-Lama Cabanás et al., 2018) ont démontré l'efficacité de trois souches *Pseudomonas* spp. (PIC25, PIC105 et PICF141) contre *Verticillium dahliae*, avec une efficacité accrue observée chez la souche PICF141 caractérisée par la sécrétion de sidérophores, d'HCN et d'une panoplie d'enzymes lytiques. Ces études corroborent les résultats obtenus dans notre étude et soulignent l'importance des bactéries à Gram négatif dans l'inhibition de la croissance de *Verticillium dahliae*.

En se basant sur les progrès accomplis dans la lutte biologique par les micro-organismes contre la verticilliose de l'olivier au cours de la dernière décennie, il est manifeste qu'une stratégie de gestion intégrée s'avère indispensable afin de réduire à la fois la dissémination des agents pathogènes et l'incidence des maladies au sein des oliveraies. Ainsi, plusieurs études ont émergé afin de pallier ce problème avec une stratégie combinant agriculture responsable et bonne productivité. Plusieurs auteurs ont démontré l'importance des PGPR dans la réduction de l'incidence du pathogène *V. dahliae* sur l'olivier. Toutes ces recherches vont de pair avec les résultats obtenus dans notre travail. Cependant, sachant que la résistance systémique induite est un mécanisme déclenché par une infection qui renforce les barrières chimiques ou physiques de la plante hôte plutôt que de tuer le pathogène (Pieterse et al., 2014), on peut en déduire que même si une PGPR ne manifeste pas d'effet antagoniste contre un pathogène *in vitro*, elle peut néanmoins provoquer une résistance systémique chez la plante hôte. Cependant, le caractère antagoniste d'une bactérie *in vitro* peut être un atout majeur lui permettant d'être plus compétitive dans la rhizosphère.

Concernant la capacité des deux souches à atténuer l'incidence de la maladie, la question demeure de savoir si cette atténuation est due à un effet antagoniste des deux bactéries contre le champignon ou à une induction de résistance chez les plantes inoculées. Cette question restera en suspens jusqu'à nouvel ordre, d'autant plus que l'induction de la résistance systémique chez l'olivier a été mise en évidence dans plusieurs études, qu'elle soit induite par des bactéries (Gómez-Lama Cabanás et al., 2014; Cabanás et al., 2017), des mycorhizes (Boutaj et al., 2020, 2019) ou des champignons endophytes (Varo et al., 2016; Mulero-Aparicio et al., 2020).

Les études menées sur la lutte biologique avec les micro-organismes ne se limitent pas seulement à la verticilliose, mais s'étendent à plusieurs autres maladies de l'olivier, comme la

pourriture des racines causée par *Fusarium solani* (Bouzoumita et al., 2019), ou la gale de l'olivier provoquée par *Pseudomonas savastanoi* (Maldonado-González et al., 2013). Cependant, la majorité des études ont porté sur la lutte contre la verticilliose. Cet engouement des chercheurs pour cette maladie peut s'expliquer par sa grande propagation dans le monde et par l'ampleur des dégâts économiques qu'elle engendre (Montes-Osuna and Mercado-Blanco, 2020).

Il est aussi important de s'intéresser à l'étude de la capacité des micro-organismes à réduire le stress des plantes, surtout dans le contexte de changement climatique. Les plantes sont exposées à plusieurs stress, hydrique, salin, thermique, métallique... Or, plusieurs études ont démontré l'aptitude des micro-organismes à atténuer différents stress (Ha-Tran et al., 2021). Dans la présente étude, nous avons isolé des bactéries provenant d'un milieu aride et salin, qui ont montré des caractères de résistance au stress en plus de caractères de promotion de la croissance. Ce qui en fait des composants potentiels pour un inoculum visant à atténuer le stress de l'olivier, notamment lié à la salinité ou à un déficit hydrique. De fait, plusieurs résultats prometteurs ont été obtenus suite à l'inoculation d'oliviers sous stress par des PGPR, des mycorhizes ou la combinaison des deux (Maksoud et al., 2009; M'barki et al., 2018; El-Shazly and Ghieth, 2019; Galicia-Campos et al., 2022, 2020).

Au cours des récentes années, il a été mis en évidence que la salinité favorise la colonisation des plantes par *V. dahliae*, augmentant ainsi la sévérité de la maladie (Saadatmand et al., 2008), tout en diminuant l'efficacité de certains agents de lutte biologique (Regragui and Lahlou, 2005). Ainsi, l'intérêt des deux souches MRC_ZO_17 et MRC_ZO_97 comme agents de biocontrôle halotolérants contre la verticilliose se manifeste. Jusqu'à aujourd'hui, aucun agent de biocontrôle efficace contre la verticilliose n'avait été isolé d'un milieu salin, excepté dans une étude de (Castro et al., 2020) montrant l'efficacité de la souche halotolérante *Bacillus velezensis* XT1, isolée précédemment de la rhizosphère de *Juncus effusus* (Torres et al., 2020).

Conclusion Générale et Perspectives

L'objectif de cette thèse est d'explorer la diversité et les fonctions des communautés bactériennes associées à *Olea europaea*, une espèce d'une importance cruciale au Maroc, tant sur le plan économique que culturel. Peu d'études se sont intéressées à l'étude de la communauté bactérienne de l'olivier, et il convient de noter que ce travail constitue la première étude portant sur la diversité bactérienne de l'olivier marocain. Dans le cadre de cette recherche, une revue bibliographique approfondie a été entreprise, permettant de présenter les connaissances actuelles relatives à la relation entre les plantes et leur microbiome, en mettant particulièrement l'accent sur l'interaction entre les plantes et les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) dans les domaines de la croissance, de la protection contre les pathogènes et de la lutte contre le stress végétal.

Nous avons pu mettre en évidence la diversité bactérienne inter et intra-région, à la fois sur le plan moléculaire et fonctionnel. Nous avons ainsi constaté que la rhizosphère de l'olivier abrite plusieurs bactéries résistantes à différents stress biotiques, et que ces bactéries, en plus de leur résistance, présentent des propriétés susceptibles de favoriser la croissance des plantes. Deux souches ont été sélectionnées pour leur résistance au stress, leurs caractéristiques de promotion de la croissance et leurs qualités de biocontrôle, et ont été utilisées pour inoculer des plantules d'olivier en présence et en l'absence du pathogène *Verticillium dahliae*. L'efficacité des deux souches s'est manifestée lors de l'inoculation avec le pathogène, démontrant leur potentiel en tant qu'agents de biocontrôle contre la verticilliose.

Ce travail ouvre la voie à de nombreuses perspectives futures. Cela inclut l'utilisation d'autres bactéries de la collection dans des travaux ultérieurs, à la fois comme biofertilisants et agents de biocontrôle. Jusqu'à présent, nous n'avons pas exploré le potentiel de genres tels que *Bacillus* et *Pseudomonas*, réputés excellents biofertilisants et biopesticides. Pourtant, ces genres ont démontré une bonne tolérance au stress et d'intéressantes caractéristiques de promotion de la croissance *in vitro*. De telles bactéries sont de plus en plus recherchées dans le contexte du changement climatique. L'utilisation de ces bactéries ne se limite pas à l'olivier, elles pourraient être testées sur d'autres espèces, notamment en conditions de stress. Enfin, il serait intéressant d'effectuer une étude métagénomique sur les échantillons de sol en notre possession, afin d'approfondir notre compréhension de la complexité de la diversité microbienne de la rhizosphère de l'olivier.

Les deux isolats sélectionnés pour l'inoculation ont montré une bonne capacité à promouvoir la croissance de l'olivier en présence du pathogène *Verticillium dahliae*. Cependant, d'autres études pourraient être entreprises pour étudier les mécanismes impliqués dans la protection de l'olivier par ces deux souches, notamment leur capacité à coloniser les racines de l'olivier et à induire une résistance systémique chez la plante. Il serait intéressant d'étudier leur capacité à stimuler la formation de racines sur des boutures d'olivier, et de les tester en co-inoculation avec des mycorhizes (projet Rhizolive).

Contrairement à la plupart des micro-organismes dont l'efficacité des traits de promotion de la croissance diminue en cas de stress, nous avons observé que l'efficacité de la souche MRC_ZO_17 à produire de l'acide indole-acétique augmentait avec le stress salin. De même, sa capacité à produire des exopolysaccharides augmentait avec le stress hydrique. Cela en fait un excellent inoculum potentiel pour atténuer le stress hydrique ou salin, et favoriser le développement et la protection de la plante inoculée.

L'utilisation de deux souches MRC_ZO_17 et MRC_ZO_97 comme inoculum sur des oliviers en conditions de stress, notamment salin, pourrait donner de bons résultats, d'autant plus en les associant à des mycorhizes. Il serait aussi intéressant d'étudier leur capacité d'inhibition sur d'autres pathogènes de l'olivier et leur effet sur la réduction de l'incidence de ces pathogènes.

D'autres tests mériteraient d'être réalisés, comme leur capacité à produire de l'ACC désaminase, à fixer l'azote, à résister aux métaux lourds et aux antibiotiques.

Du côté moléculaire, il serait judicieux d'effectuer une analyse phylogénétique de gènes de ménage et d'étudier le génome complet des deux souches, pour déterminer s'il s'agit éventuellement de nouvelles espèces et étudier l'ensemble de leurs gènes de promotion de la croissance. Une étude métagénomique de leur influence sur le microbiote des plantes d'olivier serait également très intéressante.

L'objectif final est de mettre au point une formulation bactérienne capable de promouvoir efficacement la croissance des oliviers et de les protéger contre les maladies, tout en tenant compte des contraintes environnementales. Pour y parvenir, il faudra poursuivre les recherches sur la sélection de souches performantes, optimiser les conditions de culture et de conservation, tester différents supports et adjuvants pour la formulation, et valider l'efficacité au champ. Le développement d'un tel bio-inoculant adapté aux oliviers marocains contribuerait grandement à une production durable et respectueuse de l'environnement.

Références Bibliographiques

- Abadía, J., Vázquez, S., Rellán-Álvarez, R., El-Jendoubi, H., Abadía, A., Álvarez-Fernández, A., López-Millán, A.F., 2011. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. *Plant Physiol. Biochem.* 49, 471–482. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.01.026>
- Abbas, R., Rasul, S., Aslam, K., Baber, M., Shahid, M., Mubeen, F., Naqqash, T., 2019. Halotolerant PGPR: A hope for cultivation of saline soils. *J. King Saud Univ. - Sci.* 31, 1195–1201. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.02.019>
- Abd-Alhamid, N., Hassan, H., Haggag, L.F., Hassan, A., 2015. Effect of mineral and bio-fertilization on vegetative growth, leaf mineral contents and flowering of manzanillo olive trees. *Int J Chemtech Res* 8, 51–61.
- Abdallah, D.B., Frikha, Y., Triki, M.A., Tounsi, S., Frikha-Gargouri, O., 2023. Desirable traits for a good biocontrol agent against fire blight disease. *J. Appl. Microbiol.* 134, lxad018. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad018>
- Abel, S., 2011. Phosphate sensing in root development. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14, 303–309. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.04.007>
- Abo-Elyousr, K.A., Hassan, S.A., 2021. Biological control of *Ralstonia solanacearum* (Smith), the causal pathogen of bacterial wilt disease by using *Pantoea* spp. *Egypt. J. Biol. Pest Control* 31, 1–8.
- Adesemoye, A., Torbert, H., Kloepper, J., 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microb. Ecol.* 58, 921–929.
- Agnolucci, M., Battini, F., Cristani, C., Giovannetti, M., 2015. Diverse bacterial communities are recruited on spores of different arbuscular mycorrhizal fungal isolates. *Biol. Fertil. Soils* 51, 379–389. <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0989-5>
- 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, M., Nadeem, S.M., Naveed, M., Zahir, Z.A., 2016. Potassium-Solubilizing Bacteria and Their Application in Agriculture, in: Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., Meena, R.S. (Eds.), *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*. Springer India, New Delhi, pp. 293–313. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2_21
- Ahmed, B., Zaidi, A., Khan, Mohd.S., Rizvi, A., Saif, S., Shahid, M., 2017. Perspectives of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Growth Enhancement and Sustainable Production of Tomato, in: Zaidi, A., Khan, Mohammad Saghir (Eds.), *Microbial Strategies for Vegetable Production*. Springer International Publishing, Cham, pp. 125–149. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54401-4_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>
- Al-Ali, A., Deravel, J., Krier, F., Béchet, M., Ongena, M., Jacques, P., 2018. Biofilm formation is determinant in tomato rhizosphere colonization by *Bacillus velezensis* FZB42. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 29910–29920. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0469-1>
- Albelda-Berenguer, M., Monachon, M., Joseph, E., 2019. Chapter Five - Siderophores: From natural roles to potential applications, in: Gadd, G.M., Sariaslani, S. (Eds.), *Advances in Applied Microbiology*. Academic Press, pp. 193–225. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2018.12.001>
- Alguacil, M. del M., Torrecillas, E., Kohler, J., Roldán, A., 2011. A molecular approach to ascertain the success of “in situ” AM fungi inoculation in the revegetation of a semiarid, degraded land. *Sci. Total Environ.* 409, 2874–2880. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.04.029>
- Alström, S., 2001. Characteristics of Bacteria from Oilseed Rape in Relation to their Biocontrol Activity against *Verticillium dahliae*. *J. Phytopathol.* 149, 57–64. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2001.00585.x>
- Andrews, M., Raven, J.A., Lea, P.J., 2013. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. *Ann. Appl. Biol.* 163, 174–199. <https://doi.org/10.1111/aab.12045>

- Arif, M.S., Shahzad, S.M., Yasmeen, T., Riaz, M., Ashraf, M., Ashraf, M.A., Mubarak, M.S., Kausar, R., 2017. Improving plant phosphorus (P) acquisition by phosphate-solubilizing bacteria. *Essent. Plant Nutr. Uptake Use Effic. Manag.* 513–556.
- 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>
- Armada, E., Probanza, A., Roldán, A., Azcón, R., 2016. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants. *J. Plant Physiol.* 192, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.007>
- Ashraf, M., 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants* 199, 361–376. <https://doi.org/10.1078/0367-2530-00165>
- Aspray, T.J., Frey-Klett, P., Jones, J.E., Whipps, J.M., Garbaye, J., Bending, G.D., 2006. Mycorrhization helper bacteria: a case of specificity for altering ectomycorrhiza architecture but not ectomycorrhiza formation. *Mycorrhiza* 16, 533–541. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0068-3>
- Azeem, M.A., Shah, F.H., Ullah, A., Ali, K., Jones, D.A., Khan, M.E., Ashraf, A., 2022. Biochemical Characterization of Halotolerant *Bacillus safensis* PM22 and Its Potential to Enhance Growth of Maize under Salinity Stress. *Plants* 11. <https://doi.org/10.3390/plants11131721>
- Badel, S., Bernardi, T., Michaud, P., 2011. New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides. *Biotechnol. Adv.* 29, 54–66.
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M., 2006. THE ROLE OF ROOT EXUDATES IN RHIZOSPHERE INTERACTIONS WITH PLANTS AND OTHER ORGANISMS. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 233–266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>
- Bakhshandeh, E., Pirdashti, H., Lendeh, K.S., 2017. Phosphate and potassium-solubilizing bacteria effect on the growth of rice. *Ecol. Eng.* 103, 164–169. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.03.008>
- Barguigua, A., Zahir, I., Youss, S., Fikri, N., Youss, B., 2019. Prospection des maladies microbiennes de l'olivier dans la région Tadla-Azilal.
- Barnawal, D., Bharti, N., Maji, D., Chantotiya, C.S., Kalra, A., 2012. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase-containing rhizobacteria protect *Ocimum sanctum* plants during waterlogging stress via reduced ethylene generation. *Plant Physiol. Biochem.* 58, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.07.008>
- Bartolini, G., Petruccelli, R., 2002. Classification, origin, diffusion and history of the olive. *Food & Agriculture Org.*
- Bartolini, S., Carrozza, G.P., Scalabrelli, G., Toffanin, A., 2017. Effectiveness of *Azospirillum brasilense* Sp245 on young plants of *Vitis vinifera* L. *Open Life Sci.* 12, 365–372. <https://doi.org/doi:10.1515/biol-2017-0042>
- Bartolini, S., Pappalettere, L., Toffanin, A., 2023. *Azospirillum baldaniorum* Sp245 Induces Anatomical Changes in Cuttings of Olive (*Olea europaea* L., cultivar Leccino): Preliminary Results. *Agronomy* 13. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020301>
- Bashan, Y., de-Bashan, L.E., Prabhu, S.R., Hernandez, J.-P., 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant Soil* 378, 1–33. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x>
- Basu, S., Kumar, G., Chhabra, S., Prasad, R., 2021. Role of soil microbes in biogeochemical cycle for enhancing soil fertility, in: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, pp. 149–157.
- Becking, J.-H., 1981. The Family Azotobacteraceae, in: Starr, M.P., Stolp, H., Trüper, H.G., Balows, A., Schlegel, H.G. (Eds.), *The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 795–817. https://doi.org/10.1007/978-3-662-13187-9_66
- Behera, B.C., Yadav, H., Singh, S.K., Mishra, R.R., Sethi, B.K., Dutta, S.K., Thatoi, H.N., 2017. Phosphate solubilization and acid phosphatase activity of *Serratia* sp. isolated from mangrove

- soil of Mahanadi river delta, Odisha, India. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 15, 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.01.003>
- Berde, C.V., Gawde, S.S., Berde, V.B., 2021. Potassium Solubilization: Mechanism and Functional Impact on Plant Growth, in: Yadav, A.N. (Ed.), *Soil Microbiomes for Sustainable Agriculture: Functional Annotation*. Springer International Publishing, Cham, pp. 133–148. https://doi.org/10.1007/978-3-030-73507-4_5
- Berendsen, R.L., Pieterse, C.M.J., Bakker, P.A.H.M., 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* 17, 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Berg, G., 2009. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84, 11–18.
- Berg, G., Grube, M., Schloter, M., Smalla, K., 2014. Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives. *Front. Microbiol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00148>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C.C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G.H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J.A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., Mitter, B., Ryan, M., Sarand, I., Smidt, H., Schelkle, B., Roume, H., Kiran, G.S., Selvin, J., Souza, R.S.C.D., Van Overbeek, L., Singh, B.K., Wagner, M., Walsh, A., Sessitsch, A., Schloter, M., 2020. Microbiome definition revisited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 8, 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Berg, G., Rybakova, D., Grube, M., Köberl, M., 2015. The plant microbiome explored: implications for experimental botany. *J. Exp. Bot.* 67, 995–1002. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv466>
- Berg, G., Smalla, K., 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* 68, 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x>
- Bhagat, N., Raghav, M., Dubey, S., Bedi, N., 2021. Bacterial exopolysaccharides: Insight into their role in plant abiotic stress tolerance.
- Bhattacharjee, A., Thompson, A.M., Schwarz, K.C., Burnet, M.C., Kim, Y.-M., Nunez, J.R., Fansler, S.J., Farris, Y., Brislaw, C.J., Metz, T.O., McClure, R.S., Renslow, R.S., Shor, L., Jansson, J.K., Hofmockel, K.S., Anderton, C.R., 2020. Soil microbial EPS resiliency is influenced by carbon source accessibility. *Soil Biol. Biochem.* 151, 108037. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.108037>
- 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>
- Bhise, K.K., Bhagwat, P.K., Dandge, P.B., 2017. Plant growth-promoting characteristics of salt tolerant *Enterobacter cloacae* strain KBPD and its efficacy in amelioration of salt stress in *Vigna radiata* L. *J. Plant Growth Regul.* 36, 215–226.
- Bigeard, J., Colcombet, J., Hirt, H., 2015. Signaling Mechanisms in Pattern-Triggered Immunity (PTI). *Mol. Plant* 8, 521–539. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.022>
- Bizos, G., Papatheodorou, E.M., Chatzistathis, T., Ntalli, N., Aschonitis, V.G., Monokrousos, N., 2020. The Role of Microbial Inoculants on Plant Protection, Growth Stimulation, and Crop Productivity of the Olive Tree (*Olea europea* L.). *Plants* 9, 743. <https://doi.org/10.3390/plants9060743>
- Bodenstedt, A.A., 1981. THE CHALLENGE OF AGRICULTURAL MECHANISATION TO RURAL SOCIOLOGY. *Sociol. Rural.* 21, 43–56. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9523.1981.tb00291.x>
- Bouremani, N., Cherif-Silini, H., Silini, A., Bouket, A.C., Luptakova, L., Alenezi, F.N., Baranov, O., Belbahri, L., 2023. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Rampart against the Adverse Effects of Drought Stress. *Water* 15. <https://doi.org/10.3390/w15030418>
- Boutaj, H., Chakhchar, A., Meddich, A., Wahbi, S., El Alaoui-Talibi, Z., Douira, A., Filali-Maltouf, A., El Modafar, C., 2020. Bioprotection of olive tree from *Verticillium* wilt by autochthonous endomycorrhizal fungi. *J. Plant Dis. Prot.* 127, 349–357. <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00323-z>

- Boutaj, H., Meddich, A., Wahbi, S., Moukhli, A., El Alaoui-Talibi, Z., Douira, A., Filali-Maltouf, A., El Modafar, C., 2019. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Verticillium wilt development of olive trees caused by *Verticillium dahliae*. *Res. J. Biotechnol.* Vol 14.
- Boutrot, F., Zipfel, C., 2017. Function, Discovery, and Exploitation of Plant Pattern Recognition Receptors for Broad-Spectrum Disease Resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 55, 257–286. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120106>
- Bouzoumita, A., Metoui, M., Jemni, M., Kabaeir, N., Belhouchette, K., Ferchichi, A., 2019. The efficacy of various bacterial organisms for biocontrol of fusarium root rot of olive in Tunisia. *Pol. J. Environ. Stud.* 29, 11–16.
- Brevik, E.C., Hartemink, A.E., 2010. Early soil knowledge and the birth and development of soil science. *CATENA* 83, 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2010.06.011>
- BuntiĆ, A.V., Milić, M.D., Stajković-Srbinović, O.S., Rasulić, N.V., DeliĆ, D.I., Mihajlovski, K.R., 2019. Cellulase production by *Sinorhizobium meliloti* strain 224 using waste tobacco as substrate. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 16, 5881–5890. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02230-9>
- Burris, R.H., Roberts, G.P., 1993. Biological Nitrogen Fixation. *Annu. Rev. Nutr.* 13, 317–335. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.13.070193.001533>
- Cabanás, C.G.-L., Sesmero, R., Valverde-Corredor, A., Javier López-Escudero, F., Mercado-Blanco, J., 2017. A split-root system to assess biocontrol effectiveness and defense-related genetic responses in above-ground tissues during the tripartite interaction *Verticillium dahliae*-olive-*Pseudomonas fluorescens* PICF7 in roots. *Plant Soil* 417, 433–452. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3269-y>
- Cabrera, J., Díaz-Manzano, F.E., Sanchez, M., Rosso, M., Melillo, T., Goh, T., Fukaki, H., Cabello, S., Hofmann, J., Fenoll, C., Escobar, C., 2014. A role for *LATERAL ORGAN BOUNDARIES - DOMAIN 16* during the interaction *A. rabidopsis*–*M. eloidogyne* spp. provides a molecular link between lateral root and root-knot nematode feeding site development. *New Phytol.* 203, 632–645. <https://doi.org/10.1111/nph.12826>
- Camaille, M., Fabre, N., Clément, C., Ait Barka, E., 2021. Advances in Wheat Physiology in Response to Drought and the Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria to Trigger Drought Tolerance. *Microorganisms* 9. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040687>
- Castro, D., Torres, M., Sampedro, I., Martínez-Checa, F., Torres, B., Béjar, V., 2020. Biological Control of Verticillium Wilt on Olive Trees by the Salt-Tolerant Strain *Bacillus velezensis* XT1. *Microorganisms* 8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071080>
- Castro-Sowinski, S., Herschkovitz, Y., Okon, Y., Jurkevitch, E., 2007. Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on resident rhizosphere microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 276, 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00878.x>
- Chandran, H., Meena, M., Swapnil, P., 2021. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as a Green Alternative for Sustainable Agriculture. *Sustainability* 13. <https://doi.org/10.3390/su131910986>
- Chaudhari, B.L., Patil, S.N., Paradeshi, J.S., Chaudhari, M.A., Chaudhari, C.S., 2017. Premier Biocontrol Traits of Pseudomonads: Siderophores, Phenazines or What Else?, in: Panpatte, D.G., Jhala, Y.K., Vyas, R.V., Shelat, H.N. (Eds.), *Microorganisms for Green Revolution: Volume 1: Microbes for Sustainable Crop Production*. Springer Singapore, Singapore, pp. 351–390. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6241-4_18
- Chen, F., Gao, Y., Chen, X., Yu, Z., Li, X., 2013. Quorum Quenching Enzymes and Their Application in Degrading Signal Molecules to Block Quorum Sensing-Dependent Infection. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 17477–17500. <https://doi.org/10.3390/ijms140917477>
- Chen, Q., Liu, S., 2019. Identification and Characterization of the Phosphate-Solubilizing Bacterium *Pantoea* sp. S32 in Reclamation Soil in Shanxi, China. *Front. Microbiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02171>
- Chenchouni, H., Mekahlia, M.N., Beddiar, A., 2020. Effect of inoculation with native and commercial arbuscular mycorrhizal fungi on growth and mycorrhizal colonization of olive (*Olea europaea* L.). *Sci. Hort.* 261, 108969. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108969>
- Chennappa, G., Sreenivasa, M.Y., Nagaraja, H., 2018. *Azotobacter salinestr*: A Novel Pesticide-Degrading and Prominent Biocontrol PGPR Bacteria, in: Panpatte, D.G., Jhala, Y.K., Shelat,

- H.N., Vyas, R.V. (Eds.), *Microorganisms for Green Revolution: Volume 2 : Microbes for Sustainable Agro-Ecosystem*. Springer Singapore, Singapore, pp. 23–43.
https://doi.org/10.1007/978-981-10-7146-1_2
- Cherrab, M., Zaoui, D., Bennani, A., Serrhini, M.N., 2002. Étude du pouvoir pathogène des isolats de *Verticillium dahliae* Kleb. issus de l'olivier (picholine marocaine) au Maroc 22, 7.
- Choudhury, D., Tarafdar, S., Dutta, S., 2022. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their eco-friendly strategies for plant growth regulation: A review. *Plant Sci. Today* 9, 524–537.
- Chu, T.N., Bui, L.V., Hoang, M.T.T., 2020. *Pseudomonas* PS01 Isolated from Maize Rhizosphere Alters Root System Architecture and Promotes Plant Growth. *Microorganisms* 8.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8040471>
- Clarridge, J.E., 2004. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 17, 840–862.
<https://doi.org/10.1128/cmr.17.4.840-862.2004>
- Compant, S., Clément, C., Sessitsch, A., 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol. Biochem.* 42, 669–678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., Barka, E.A., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 4951–4959.
- Compton, K.K., Hildreth, S.B., Helm, R.F., Scharf, B.E., 2020. An Updated Perspective on *Sinorhizobium meliloti* Chemotaxis to Alfalfa Flavonoids. *Front. Microbiol.* 11.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.581482>
- Conrath, U., Beckers, G.J.M., Langenbach, C.J.G., Jaskiewicz, M.R., 2015. Priming for Enhanced Defense. *Annu. Rev. Phytopathol.* 53, 97–119. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120132>
- Cordell, D., White, S., 2015. Tracking phosphorus security: indicators of phosphorus vulnerability in the global food system. *Food Secur.* 7, 337–350. <https://doi.org/10.1007/s12571-015-0442-0>
- Cordovez, V., Carrion, V.J., Etalo, D.W., Mumm, R., Zhu, H., van Wezel, G.P., Raaijmakers, J.M., 2015. Diversity and functions of volatile organic compounds produced by *Streptomyces* from a disease-suppressive soil. *Front. Microbiol.* 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01081>
- Costa, O.Y.A., Raaijmakers, J.M., Kuramae, E.E., 2018. Microbial Extracellular Polymeric Substances: Ecological Function and Impact on Soil Aggregation. *Front. Microbiol.* 9.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01636>
- Cui, K., Xu, T., Chen, J., Yang, H., Liu, X., Zhuo, R., Peng, Y., Tang, W., Wang, R., Chen, L., 2022. Siderophores, a potential phosphate solubilizer from the endophyte *Streptomyces* sp. CoT10, improved phosphorus mobilization for host plant growth and rhizosphere modulation. *J. Clean. Prod.* 367, 133110.
- Dai, Y.-C., Zhou, L.-W., Cui, B.-K., Chen, Y.-Q., Decock, C., 2010. Current advances in *Phellinus* sensu lato: medicinal species, functions, metabolites and mechanisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87, 1587–1593.
- Dangl, J.L., Horvath, D.M., Staskawicz, B.J., 2013. Pivoting the Plant Immune System from Dissection to Deployment. *Science* 341, 746–751. <https://doi.org/10.1126/science.1236011>
- Dangl, J.L., Jones, J.D.G., 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411, 826–833. <https://doi.org/10.1038/35081161>
- Dasgupta, S., Hossain, Md.M., Huq, M., Wheeler, D., 2015. Climate change and soil salinity: The case of coastal Bangladesh. *Ambio* 44, 815–826. <https://doi.org/10.1007/s13280-015-0681-5>
- de Weert, S., Vermeiren, H., Mulders, I.H.M., Kuiper, I., Hendrickx, N., Bloemberg, G.V., Vanderleyden, J., De Mot, R., Lugtenberg, B.J.J., 2002. Flagella-Driven Chemotaxis Towards Exudate Components Is an Important Trait for Tomato Root Colonization by *Pseudomonas fluorescens*. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 15, 1173–1180.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.11.1173>
- Denaxa, N.-K., Roussos, P.A., Vemmos, S.N., Fasseas, K., 2019. Assessing the effect of oxidative enzymes and stem anatomy on adventitious rooting of *Olea europaea* (L.) leafy cuttings. *Span. J. Agric. Res.* 17, e0803–e0803.

- Dimkić, I., Janakiev, T., Petrović, M., Degrassi, G., Fira, D., 2022a. 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>
- Dimkić, I., Janakiev, T., Petrović, M., Degrassi, G., Fira, D., 2022b. Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms-A review. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 117, 101754.
- Dodds, P.N., Rathjen, J.P., 2010. Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nat. Rev. Genet.* 11, 539–548. <https://doi.org/10.1038/nrg2812>
- Dolkar, D., Dolkar, P., Angmo, S., Chaurasia, O.P., Stobdan, T., 2018. Stress tolerance and plant growth promotion potential of *Enterobacter ludwigii* PS1 isolated from Seabuckthorn rhizosphere. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 14, 438–443. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.04.012>
- Dong, Y.-H., Zhang, L.-H., 2004. Quorum Sensing and Quorum-Quenching Enzymes. *J Microbiol* 43.
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C.L., Rose, D., Glick, B.R., 2014. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek* 106, 85–125. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-0095-y>
- Durairaj, K., Velmurugan, P., Park, J.-H., Chang, W.-S., Park, Y.-J., Senthilkumar, P., Choi, K.-M., Lee, J.-H., Oh, B.-T., 2017. Potential for plant biocontrol activity of isolated *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus stratosphericus* strains against bacterial pathogens acting through both induced plant resistance and direct antagonism. *FEMS Microbiol. Lett.* 364, fnx225. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx225>
- Durrant, W.E., Dong, X., 2004. SYSTEMIC ACQUIRED RESISTANCE. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 185–209. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421>
- Edwards, J., Johnson, C., Santos-Medellín, C., Lurie, E., Podishetty, N.K., Bhatnagar, S., Eisen, J.A., Sundaresan, V., 2015. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, E911–E920.
- Elhaissofi, W., Ghoulam, C., Barakat, A., Zeroual, Y., Bargaz, A., 2022. 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>
- Elser, J.J., 2012. Phosphorus: a limiting nutrient for humanity? *Curr. Opin. Biotechnol.* 23, 833–838. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.03.001>
- El-Shazly, M., Ghieth, W.M., 2019. Effect of some biofertilizers and humic acid application on olive seedlings growth under irrigation with saline water. *Alex. Sci. Exch. J.* 40, 263–279.
- Emechebe, A.M., LEAKEY, C.L.A., BANAGE, W.B., 1972. Verticillium wilt of cacao in Uganda: the relationship between *Verticillium dahliae* and cacao roots. *Ann. Appl. Biol.* 70, 157–162. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1972.tb04699.x>
- Etesami, H., Emami, S., Alikhani, H.A., 2017. Potassium solubilizing bacteria (KSB):: Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects A review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 17, 897–911.
- Fahad, S., Hussain, S., Bano, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., Khan, F.A., Khan, F., Chen, Y., Wu, C., Tabassum, M.A., Chun, M.X., Afzal, M., Jan, A., Jan, M.T., Huang, J., 2015. Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 4907–4921. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3754-2>
- Fazal, A., Bano, A., 2016. Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), Biochar, and Chemical Fertilizer under Salinity Stress. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 47, 1985–1993. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1216562>
- Feng, H., Fu, R., Hou, X., Lv, Y., Zhang, N., Liu, Y., Xu, Z., Miao, Y., Krell, T., Shen, Q., Zhang, R., 2021. Chemotaxis of Beneficial Rhizobacteria to Root Exudates: The First Step towards Root–Microbe Rhizosphere Interactions. *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22136655>
- Ferreira, F.J., Kieber, J.J., 2005. Cytokinin signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8, 518–525. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.07.013>

- Fierer, N., 2017. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* 15, 579–590. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>
- Flor, H.H., 1971. Current Status of the Gene-For-Gene Concept. *Annu. Rev. Phytopathol.* 9, 275–296. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.09.090171.001423>
- Forni, C., Riov, J., Grilli Caiola, M., Tel-Or, E., 1992. Indole-3-acetic acid (IAA) production by *Arthrobacter* species isolated from *Azolla*. *Microbiology* 138, 377–381.
- Foyer, C., Spencer, C., 1986. The relationship between phosphate status and photosynthesis in leaves. *Planta* 167, 369–375. <https://doi.org/10.1007/BF00391341>
- Fradin, E.F., Thomma, B.P.H.J., 2006. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. *Mol. Plant Pathol.* 7, 71–86. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00323.x>
- Fraser, T.D., Lynch, D.H., Gaiero, J., Khosla, K., Dunfield, K.E., 2017. Quantification of bacterial non-specific acid (phoC) and alkaline (phoD) phosphatase genes in bulk and rhizosphere soil from organically managed soybean fields. *Appl. Soil Ecol.* 111, 48–56.
- Frey-Klett, P., Garbaye, J., Tarkka, M., 2007. The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytol.* 176, 22–36. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02191.x>
- Galicia-Campos, E., García-Villaraco Velasco, A., Montero-Palmero, M.B., Gutiérrez-Mañero, F.J., Ramos-Solano, B., 2022. Modulation of Photosynthesis and ROS Scavenging Response by Beneficial Bacteria in *Olea europaea* Plantlets under Salt Stress Conditions. *Plants* 11. <https://doi.org/10.3390/plants11202748>
- Galicia-Campos, E., Ramos-Solano, B., Montero-Palmero, M.B., Gutierrez-Mañero, F.J., García-Villaraco, A., 2020. Management of Plant Physiology with Beneficial Bacteria to Improve Leaf Bioactive Profiles and Plant Adaptation under Saline Stress in *Olea europea* L. *Foods* 9. <https://doi.org/10.3390/foods9010057>
- Gamalero, E., Glick, B.R., 2015. Bacterial Modulation of Plant Ethylene Levels. *Plant Physiol.* 169, 13–22. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00284>
- Geng, G., Wu, J., Wang, Q., Lei, T., He, B., Li, X., Mo, X., Luo, H., Zhou, H., Liu, D., 2016. Agricultural drought hazard analysis during 1980–2008: a global perspective. *Int. J. Climatol.* 36, 389–399. <https://doi.org/10.1002/joc.4356>
- Ghosh, P.K., Sen, S.K., Maiti, T.K., 2015. Production and metabolism of IAA by *Enterobacter* spp. (*Gammaproteobacteria*) isolated from root nodules of a legume *Abrus precatorius* L. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 4, 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.04.002>
- Gigon, F., Le Jeune, R., 2010. Huile d'olive, *Olea europaea* L. *Phytothérapie* 8, 129–135.
- Glick, B.R., 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* 169, 30–39.
- Glick, B.R., Penrose, D.M., Li, J., 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* 190, 63–68.
- Goh, C.-H., Veliz Vallejos, D.F., Nicotra, A.B., Mathesius, U., 2013. The Impact of Beneficial Plant-Associated Microbes on Plant Phenotypic Plasticity. *J. Chem. Ecol.* 39, 826–839. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0326-8>
- Gohil, N., Panchasara, H., Patel, S., Singh, V., 2019. Molecular Biology Techniques for the Identification and Genotyping of Microorganisms, in: Tripathi, V., Kumar, P., Tripathi, P., Kishore, A. (Eds.), *Microbial Genomics in Sustainable Agroecosystems: Volume 1*. Springer Singapore, Singapore, pp. 203–226. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8739-5_11
- Gómez-Lama Cabanás, C., Ruano-Rosa, D., Legarda, G., Pizarro-Tobías, P., Valverde-Corredor, A., Triviño, J.C., 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. <https://doi.org/10.3390/agriculture8070090>
- Gómez-Lama Cabanás, C., Schilirò, E., Valverde-Corredor, A., Mercado-Blanco, J., 2014. The biocontrol endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* PICF7 induces systemic defense responses in aerial tissues upon colonization of olive roots. *Front. Microbiol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00427>
- González, M., Pérez-Sierra, A., Serrano, M., Sanchez, M., 2017. Two *Phytophthora* species causing decline of wild olive (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris*). *Plant Pathol.* 66, 941–948.

- González-Ista, N.S., Castro-Mercado, E., la Cruz, H.R., Campos-García, J., López-Bucio, J., García-Pineda, E., 2023. Comparison of the Rhizobacteria *Serratia* sp. H6 and *Enterobacter* sp. L7 on *Arabidopsis thaliana* Growth Promotion. *Curr. Microbiol.* 80, 117.
- Gopalakrishnan, S., Vadlamudi, S., Samineni, S., Sameer Kumar, C.V., 2016. Plant growth-promotion and biofortification of chickpea and pigeonpea through inoculation of biocontrol potential bacteria, isolated from organic soils. *SpringerPlus* 5, 1882. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3590-6>
- Graebe, J.E., Bowen, D.H., MacMillan, J., 1972. The conversion of mevalonic acid into gibberellin A12-aldehyde in a cell-free system from *Cucurbita pepo*. *Planta* 102, 261–271. <https://doi.org/10.1007/BF00386896>
- Green, P.S., 2002. A Revision of *Olea* L. (Oleaceae). *Kew Bull.* 57, 91. <https://doi.org/10.2307/4110824>
- Grobelak, A., Hiller, J., 2017. Bacterial siderophores promote plant growth: Screening of catechol and hydroxamate siderophores. *Int. J. Phytoremediation* 19, 825–833. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1290581>
- 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. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.618230>
- Guerinot, M.L., Yi, Y., 1994. Iron: Nutritious, Noxious, and Not Readily Available. *Plant Physiol.* 104, 815–820. <https://doi.org/10.1104/pp.104.3.815>
- Guo, M., Tian, F., Wamboldt, Y., Alfano, J.R., 2009. The Majority of the Type III Effector Inventory of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 Can Suppress Plant Immunity. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 22, 1069–1080. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-9-1069>
- Haas, D., Défago, G., 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3, 307–319.
- Haggag, L.F., Merwad, M.A., Shahin, M.F.M., 2014. Effect of NPK and bio-fertilizers as soil application on promoting growth of “Toffahi” olive seedlings under greenhouse condition 10.
- Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M.S., Laraib, I., Siddique, M.J., Zia, R., Mirza, M.S., Imran, A., 2021. Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Front. Sustain. Food Syst.* 5, 617157. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.617157>
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W.F., Kloepper, J.W., 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43, 895–914. <https://doi.org/10.1139/m97-131>
- Hanane, B., Abdelilah, M., Said, W., Abdelmajid, M., Zainab, E.A.-T., Allal, D., Abdelkarim, F.-M., Cherkaoui, E.M., 2020. Improvement of growth and development of olive tree by mycorrhizal autochthonous inoculum. *Res. J. Biotechnol.* 15.
- Handelsman, J., 2004. Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68, 669–685. <https://doi.org/10.1128/mmbr.68.4.669-685.2004>
- Handelsman, J., Rondon, M.R., Brady, S.F., Clardy, J., Goodman, R.M., 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem. Biol.* 5, R245–R249.
- Hardarson, G., Zapata, F., Danso, S.K.A., 1984. Effect of plant genotype and nitrogen fertilizer on symbiotic nitrogen fixation by soybean cultivars. *Plant Soil* 82, 397–405. <https://doi.org/10.1007/BF02184277>
- Hartmann, A., Singh, M., Klingmüller, W., 1983. Isolation and characterization of *Azospirillum* mutants excreting high amounts of indoleacetic acid. *Can. J. Microbiol.* 29, 916–923. <https://doi.org/10.1139/m83-147>
- Hassan, M., McInroy, J., Kloepper, J., 2019. The Interactions of Rhizodeposits with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in the Rhizosphere: A Review. *Agriculture* 9, 142. <https://doi.org/10.3390/agriculture9070142>
- Ha-Tran, D.M., Nguyen, T.T.M., Hung, S.-H., Huang, E., Huang, C.-C., 2021. Roles of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in stimulating salinity stress defense in plants: A review. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 3154.
- Havugimana, E., Bhople, B.S., Kumar, ANIL, Byiringiro, E., Mugabo, J.P., Kumar, ARUN, 2017. Soil pollution—major sources and types of soil pollutants. *Environ. Sci. Eng.* 11, 53–86.

- Hedden, P., Sponsel, V., 2015. A Century of Gibberellin Research. *J. Plant Growth Regul.* 34, 740–760. <https://doi.org/10.1007/s00344-015-9546-1>
- Herring, J.R., Fantel, R.J., 1993. Phosphate rock demand into the next century: Impact on world food supply. *Nonrenewable Resour.* 2, 226–246. <https://doi.org/10.1007/BF02257917>
- Hiar, K., Gamaoun, W., Triki, M., Ouerghi, F., Rhouma, A., Aloui, S., Rassaa, N., Hennachi, I., Nasraoui, B., 2017. Isolation, identification and biological control of the major pathogens causing root rot and wilt diseases of young olive trees in Tunisia. *J. New Sci.* 39.
- Hinsinger, P., 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil* 237, 173–195. <https://doi.org/10.1023/A:1013351617532>
- Hinsinger, P., Bengough, A.G., Vetterlein, D., Young, I.M., 2009. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant Soil* 321, 117–152. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9885-9>
- Hongoh, Y., Yuzawa, H., Ohkuma, M., Kudo, T., 2003. Evaluation of primers and PCR conditions for the analysis of 16S rRNA genes from a natural environment. *FEMS Microbiol. Lett.* 221, 299–304. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00218-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00218-0)
- Honma, M., Shimomura, T., 1978. Metabolism of 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic Acid. *Agric. Biol. Chem.* 42, 1825–1831. <https://doi.org/10.1080/00021369.1978.10863261>
- Hošek, P., Hoyerová, K., Kiran, N.S., Dobrev, P.I., Zahajská, L., Filepová, R., Motyka, V., Müller, K., Kamínek, M., 2020. Distinct metabolism of N-glucosides of isopentenyladenine and trans-zeatin determines cytokinin metabolic spectrum in *Arabidopsis*. *New Phytol.* 225, 2423–2438. <https://doi.org/10.1111/nph.16310>
- Hossain, Md.M., Sultana, F., Islam, S., 2017. Plant Growth-Promoting Fungi (PGPF): Phytostimulation and Induced Systemic Resistance, in: Singh, D.P., Singh, H.B., Prabha, R. (Eds.), *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives*. Springer Singapore, Singapore, pp. 135–191. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_6
- Hu, H.-B., Liang, H.-P., Li, H.-M., Yuan, R.-N., Sun, J., Zhang, L.-L., Han, M.-H., Wu, Y., 2018. Isolation, purification, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from the stem barks of *Acanthopanax leucorrhizus*. *Carbohydr. Polym.* 196, 359–367.
- Hu, J., Wei, Z., Friman, V.-P., Gu, S., Wang, X., Eisenhauer, N., Yang, T., Ma, J., Shen, Q., Xu, Y., Jousset, A., 2016. Probiotic Diversity Enhances Rhizosphere Microbiome Function and Plant Disease Suppression. *mBio* 7, 10.1128/mbio.01790-16. <https://doi.org/10.1128/mbio.01790-16>
- Huang, A.C., Jiang, T., Liu, Y.-X., Bai, Y.-C., Reed, J., Qu, B., Goossens, A., Nützmann, H.-W., Bai, Y., Osbourn, A., 2019. A specialized metabolic network selectively modulates *Arabidopsis* root microbiota. *Science* 364, eaau6389. <https://doi.org/10.1126/science.aau6389>
- Hug, L.A., Baker, B.J., Anantharaman, K., Brown, C.T., Probst, A.J., Castelle, C.J., Butterfield, C.N., Hermsdorf, A.W., Amano, Y., Ise, K., Suzuki, Y., Dudek, N., Relman, D.A., Finstad, K.M., Amundson, R., Thomas, B.C., Banfield, J.F., 2016. A new view of the tree of life. *Nat. Microbiol.* 1, 16048. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.48>
- Hulton, C.S.J., Higgins, C.F., Sharp, P.M., 1991. ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and other enterobacteria. *Mol. Microbiol.* 5, 825–834. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1991.tb00755.x>
- Iriti, M., Rabotti, G., De Ascensao, A., Faoro, F., 2003. Benzothiadiazole-induced resistance modulates ozone tolerance. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4308–4314.
- Irwin, M.E., 2020. Agricultural Plants in the Ancient Mediterranean, in: *A Companion to Ancient Agriculture*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 83–102. <https://doi.org/10.1002/9781118970959.ch5>
- Jain, R., Saxena, J., Sharma, V., 2010. The evaluation of free and encapsulated *Aspergillus awamori* for phosphate solubilization in fermentation and soil–plant system. *Appl. Soil Ecol.* 46, 90–94. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.06.008>
- James, E.K., Gyaneshwar, P., Mathan, N., Barraquio, W.L., Reddy, P.M., Iannetta, P.P.M., Olivares, F.L., Ladha, J.K., 2002. Infection and Colonization of Rice Seedlings by the Plant Growth-Promoting Bacterium *Herbaspirillum seropedicae* Z67. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 15, 894–906. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.9.894>

- Janssen, P.H., 2006. Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1719–1728. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1719-1728.2006>
- Jia, K.-P., Baz, L., Al-Babili, S., 2017. From carotenoids to strigolactones. *J. Exp. Bot.* 69, 2189–2204. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx476>
- Jiménez-Díaz, R.M., Cirulli, M., Bubici, G., del Mar Jiménez-Gasco, M., Antoniou, P.P., Tjamos, E.C., 2012. Verticillium Wilt, A Major Threat to Olive Production: Current Status and Future Prospects for its Management. *Plant Dis.* 96, 304–329. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-11-0496>
- Jin, C.W., Li, G.X., Yu, X.H., Zheng, S.J., 2010. Plant Fe status affects the composition of siderophore-secreting microbes in the rhizosphere. *Ann. Bot.* 105, 835–841. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq071>
- Johnson, N.C., Graham, J.H., Smith, F.A., 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytol.* 135, 575–585. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00729.x>
- Jones, J.D.G., Dangl, J.L., 2006. The plant immune system. *Nature* 444, 323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Jones, K.M., Kobayashi, H., Davies, B.W., Taga, M.E., Walker, G.C., 2007. How rhizobial symbionts invade plants: the Sinorhizobium–Medicago model. *Nat. Rev. Microbiol.* 5, 619–633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1705>
- Jung, K.-W., Hwang, M.-J., Ahn, K.-H., Ok, Y.-S., 2015. Kinetic study on phosphate removal from aqueous solution by biochar derived from peanut shell as renewable adsorptive media. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 12, 3363–3372. <https://doi.org/10.1007/s13762-015-0766-5>
- Kafarski, P., 2019. Phosphonates: Their natural occurrence and physiological role. *Contemp. Top. Phosphorus Biol. Mater.* 1–19.
- Kamoun, S., 2006. A Catalogue of the Effector Secretome of Plant Pathogenic Oomycetes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44, 41–60. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143436>
- Kanchiswamy, C.N., Malnoy, M., Maffei, M.E., 2015. Bioprospecting bacterial and fungal volatiles for sustainable agriculture. *Trends Plant Sci.* 20, 206–211. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.01.004>
- Kara, Z., Arslan, D., Güler, M., Güler, Ş., 2015. Inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and application of micronized calcite to olive plant: Effects on some biochemical constituents of olive fruit and oil. *Sci. Hort.* 185, 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.001>
- Karpagam, T., Nagalakshmi, P., 2014. Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from agricultural soil. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3, 601–614.
- Katznelson, H., SIROIS, J.C., COLE, S.E., 1962. Production of a Gibberellin-like Substance by *Arthrobacter globiformis*. *Nature* 196, 1012–1013. <https://doi.org/10.1038/1961012b0>
- Kaur, G., Reddy, M.S., 2015. Effects of Phosphate-Solubilizing Bacteria, Rock Phosphate and Chemical Fertilizers on Maize-Wheat Cropping Cycle and Economics. *Pedosphere* 25, 428–437. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)30010-2](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)30010-2)
- Kaymak, H.C., 2011. Potential of PGPR in Agricultural Innovations, in: Maheshwari, D.K. (Ed.), *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 45–79. https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_3
- Kennedy, I., Islam, N., 2001. The current and potential contribution of asymbiotic nitrogen fixation to nitrogen requirements on farms: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 41, 447–457.
- Keykhasaber, M., Thomma, B.P.H.J., Hiemstra, J.A., 2018. Verticillium wilt caused by *Verticillium dahliae* in woody plants with emphasis on olive and shade trees. *Eur. J. Plant Pathol.* 150, 21–37. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1273-y>
- Khan, A.L., Waqas, M., Kang, S.-M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., Al-Khiziri, S., Ullah, I., Ali, L., Jung, H.-Y., Lee, I.-J., 2014. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *J. Microbiol.* 52, 689–695. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4002-7>
- Khan, M.S., Zaidi, A., Ahmad, E., 2014. Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. *Phosphate Solubilizing Microorg. Princ. Appl. Microphos Technol.* 31–62.

- Kirui, C.K., Njeru, E.M., Runo, S., 2022. Diversity and Phosphate Solubilization Efficiency of Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Semi-Arid Agroecosystems of Eastern Kenya. *Microbiol. Insights* 15, 11786361221088991. <https://doi.org/10.1177/11786361221088991>
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M.N., 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286, 885–886. <https://doi.org/10.1038/286885a0>
- Klosterman, S.J., Atallah, Z.K., Vallad, G.E., Subbarao, K.V., 2009. Diversity, Pathogenicity, and Management of *Verticillium* Species. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47, 39–62. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081748>
- Kobayashi, M., Suzuki, T., Fujita, T., Masuda, M., Shimizu, S., 1995. Occurrence of enzymes involved in biosynthesis of indole-3-acetic acid from indole-3-acetonitrile in plant-associated bacteria, *Agrobacterium* and *Rhizobium*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92, 714–718. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.3.714>
- Koga, J., Adachi, T., Hidaka, H., 1991. Molecular cloning of the gene for indolepyruvate decarboxylase from *Enterobacter cloacae*. *Mol. Gen. Genet.* MGG 226, 10–16. <https://doi.org/10.1007/BF00273581>
- Kohler, J., Hernández, J.A., Caravaca, F., Roldán, A., 2008. Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. *Funct. Plant Biol.* 35, 141–151.
- Kozdrój, J., van Elsas, J.D., 2000. Response of the bacterial community to root exudates in soil polluted with heavy metals assessed by molecular and cultural approaches. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1405–1417.
- Kyndt, T., Fernandez, D., Gheysen, G., 2014. Plant-Parasitic Nematode Infections in Rice: Molecular and Cellular Insights. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52, 135–153. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-050111>
- Landa, B.B., Pérez, A.G., Luaces, P., Montes-Borrego, M., Navas-Cortés, J.A., Sanz, C., 2019. Insights Into the Effect of *Verticillium dahliae* Defoliating-Pathotype Infection on the Content of Phenolic and Volatile Compounds Related to the Sensory Properties of Virgin Olive Oil. *Front. Plant Sci.* 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00232>
- Lasley, P., Duffy, M., Kettner, K., Chase, C., 1990. Factors affecting farmers' use of practices to reduce commercial fertilizers and pesticides. *J. Soil Water Conserv.*
- Lee, K.-E., Adhikari, A., Kang, S.-M., You, Y.-H., Joo, G.-J., Kim, J.-H., Kim, S.-J., Lee, I.-J., 2019. Isolation and Characterization of the High Silicate and Phosphate Solubilizing Novel Strain *Enterobacter ludwigii* GAK2 that Promotes Growth in Rice Plants. *Agronomy* 9, 144. <https://doi.org/10.3390/agronomy9030144>
- Leventhal, G.E., Ackermann, M., Schiessl, K.T., 2019. Why microbes secrete molecules to modify their environment: the case of iron-chelating siderophores. *J. R. Soc. Interface* 16, 20180674. <https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0674>
- Li, B., Ravnskov, S., Xie, G., Larsen, J., 2008. Differential effects of *Paenibacillus* spp. on cucumber mycorrhizas. *Mycol. Prog.* 7, 277–284. <https://doi.org/10.1007/s11557-008-0570-4>
- Li, G.-E., Kong, W.-L., Wu, X.-Q., Ma, S.-B., 2021. Phytase-Producing *Rahnella aquatilis* JZ-GX1 Promotes Seed Germination and Growth in Corn (*Zea mays* L.). *Microorganisms* 9. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081647>
- Liu, L., Kloepper, J., Tuzun, S., 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85, 695–698.
- Liu, X., Zhu, X., Pan, Y., Li, S., Liu, Y., Ma, Y., 2016. Agricultural drought monitoring: Progress, challenges, and prospects. *J. Geogr. Sci.* 26, 750–767. <https://doi.org/10.1007/s11442-016-1297-9>
- Lombardi, N., Vitale, S., Turrà, D., Reverberi, M., Fanelli, C., Vinale, F., Marra, R., Ruocco, M., Pascale, A., d'Errico, G., Woo, S.L., Lorito, M., 2018. Root Exudates of Stressed Plants Stimulate and Attract *Trichoderma* Soil Fungi. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 31, 982–994. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-17-0310-R>
- López-Escudero, F., Blanco-López, M., 2001. Effect of a single or double soil solarization to control *Verticillium* wilt in established olive orchards in Spain. *Plant Dis.* 85, 489–496.

- Lucena, J.J., 2006. Synthetic Iron Chelates to Correct Iron Deficiency in Plants, in: Barton, L.L., Abadia, J. (Eds.), *Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 103–128. https://doi.org/10.1007/1-4020-4743-6_5
- Lugtenberg, B.J.J., Dekkers, L., Bloemberg, G.V., 2001. MOLECULAR DETERMINANTS OF RHIZOSPHERE COLONIZATION BY PSEUDOMONAS. *Annu. Rev. Phytopathol.* 39, 461–490. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.461>
- Lynch, J., 1995. Root Architecture and Plant Productivity. *Plant Physiol.* 109, 7–13. <https://doi.org/10.1104/pp.109.1.7>
- MacDonald, G.K., Bennett, E.M., Potter, P.A., Ramankutty, N., 2011. Agronomic phosphorus imbalances across the world's croplands. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 3086–3091. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010808108>
- Mahdi, H.H., Mouhamad, R.S., 2018. Behavior of phosphorus in the calcareous soil. *Adv. Agric. Technol. Plant Sci.* 1, 180018.
- Maheshwari, D.K., Dheeman, S., Agarwal, M., 2015. Phytohormone-Producing PGPR for Sustainable Agriculture, in: Maheshwari, Dinesh K. (Ed.), *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*. Springer International Publishing, Cham, pp. 159–182. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24654-3_7
- Mahmood, I., Rizvi, R., Sumbul, A., Ansari, R.A., 2019. Potential Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Alleviation of Biotic Stress, in: Ansari, R.A., Mahmood, I. (Eds.), *Plant Health Under Biotic Stress: Volume 2: Microbial Interactions*. Springer Singapore, Singapore, pp. 177–188. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6040-4_9
- Maksoud, M., Saleh, M.A., El-Shamma, M., Fouad, A.A., 2009. The beneficial effect of biofertilizers and antioxidants on olive trees under calcareous soil conditions. *World J Agric Sci* 5, 350–352.
- Maldonado-González, M.M., Prieto, P., Ramos, C., Mercado-Blanco, J., 2013. From the root to the stem: interaction between the biocontrol root endophyte *Pseudomonas fluorescens* PICF 7 and the pathogen *Pseudomonas savastanoi* NCPPB 3335 in olive knots. *Microb. Biotechnol.* 6, 275–287.
- Malinovskiy, F.G., Fangel, J.U., Willats, W.G.T., 2014. The role of the cell wall in plant immunity. *Front. Plant Sci.* 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00178>
- Marina, T.A.-E., Maythsulene, I.S.O., Valacia, L.S.-L., Marta, C.C.F., Amadou, H.B., Edemilson, C.C., Marcio, V.D.C.B.C., 2018. Shelf life enhancement of plant growth promoting rhizobacteria using a simple formulation screening method. *Afr. J. Microbiol. Res.* 12, 115–126. <https://doi.org/10.5897/AJMR2017.8787>
- Martin, B.D., Schwab, E., 2012. Current usage of symbiosis and associated terminology. *Int. J. Biol.* 5, 32–45.
- M'barki, N., Chehab, H., Aissaoui, F., Dabbaghi, O., Attia, F., Mahjoub, Z., Laamari, S., Chihaoui, B., del Giudice, T., Jemai, A., 2018. Effects of mycorrhizal fungi inoculation and soil amendment with hydrogel on leaf anatomy, growth and physiology performance of olive plantlets under two contrasting water regimes. *Acta Physiol. Plant.* 40, 1–10.
- Mechri, B., Attia, F., Tekaya, M., Cheheb, H., Hammami, M., 2014. Colonization of olive trees (*Olea europaea* L.) with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus* sp. modified the glycolipids biosynthesis and resulted in accumulation of unsaturated fatty acids. *J. Plant Physiol.* 171, 1217–1220. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.04.005>
- Meena, M., Swapnil, P., Zehra, A., Aamir, M., Dubey, M.K., Patel, C.B., Upadhyay, R.S., 2019. Virulence Factors and Their Associated Genes in Microbes, in: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, pp. 181–208. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63503-7.00011-5>
- Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., 2014. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils? *Microbiol. Res.* 169, 337–347. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.003>
- Miché, L., Battistoni, F., Gemmer, S., Belghazi, M., Reinhold-Hurek, B., 2006. Upregulation of Jasmonate-Inducible Defense Proteins and Differential Colonization of Roots of *Oryza sativa* Cultivars with the Endophyte *Azoarcus* sp. *Mol. Plant-Microbe Interactions*® 19, 502–511. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0502>

- Miethke, M., Marahiel, M.A., 2007. Siderophore-Based Iron Acquisition and Pathogen Control. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 71, 413–451. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00012-07>
- Mishra, P., Singh, P.P., Singh, S.K., Verma, H., 2019. 5 - Sustainable agriculture and benefits of organic farming to special emphasis on PGPR, in: Kumar, A., Singh, A.K., Choudhary, K.K. (Eds.), *Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology*. Woodhead Publishing, pp. 75–87. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817004-5.00005-1>
- Mongodin, E.F., Shapir, N., Daugherty, S.C., DeBoy, R.T., Emerson, J.B., Shvartzbeyn, A., Radune, D., Vamathevan, J., Riggs, F., Grinberg, V., Khouri, H., Wackett, L.P., Nelson, K.E., Sadowsky, M.J., 2006. Secrets of Soil Survival Revealed by the Genome Sequence of *Arthrobacter aurescens* TC1. *PLOS Genet.* 2, 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020214>
- Montero-Calasan, M.C., Santamaría, C., Albareda, M., Daza, A., Duan, J., Glick, B.R., Camacho, M., 2013. Alternative rooting induction of semi-hardwood olive cuttings by several auxin-producing bacteria for organic agriculture systems. *Span. J. Agric. Res.* 11, 146. <https://doi.org/10.5424/sjar/2013111-2686>
- Montes-Osuna, N., Cernava, T., Gómez-Lama Cabanás, C., Berg, G., Mercado-Blanco, J., 2022. Identification of Volatile Organic Compounds Emitted by Two Beneficial Endophytic *Pseudomonas* Strains from Olive Roots. *Plants* 11. <https://doi.org/10.3390/plants11030318>
- Montes-Osuna, N., Mercado-Blanco, J., 2020. Verticillium Wilt of Olive and Its Control: What Did We Learn during the Last Decade? *Plants* 9, 735. <https://doi.org/10.3390/plants9060735>
- Morelli, M., García-Madero, J.M., Jos, Á., Saldarelli, P., Dongiovanni, C., Kovacova, M., Saponari, M., Baños Arjona, A., Hackl, E., Webb, S., 2021. *Xylella fastidiosa* in olive: A review of control attempts and current management. *Microorganisms* 9, 1771.
- Morris, R.O., 1995. Genes Specifying Auxin and Cytokinin Biosynthesis in Prokaryotes, in: Davies, P.J. (Ed.), *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 318–339. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0473-9_15
- Mulero-Aparicio, A., Varo, A., Agustí-Brisach, C., López-Escudero, F.J., Trapero, A., 2020. Biological control of Verticillium wilt of olive in the field. *Crop Prot.* 128, 104993. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104993>
- Na, X., Xu, T., Li, M., Zhou, Z., Ma, S., Wang, J., He, J., Jiao, B., Ma, F., 2018. Variations of Bacterial Community Diversity Within the Rhizosphere of Three Phylogenetically Related Perennial Shrub Plant Species Across Environmental Gradients. *Front. Microbiol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00709>
- Nadeem, S.M., Ahmad, M., Zahir, Z.A., Javaid, A., Ashraf, M., 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnol. Adv.* 32, 429–448. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.005>
- Nagarajah, S., POSNER, A.M., QUIRK, J.P., 1970. Competitive Adsorption of Phosphate with Polygalacturonate and other Organic Anions on Kaolinite and Oxide Surfaces. *Nature* 228, 83–85. <https://doi.org/10.1038/228083a0>
- Nanjani, S.G., 2012. Diversity and EPS Production Potential of Halotolerant Bacteria from Veraval and Dwarka. *IOSR J. Pharm. Biol. Sci.* 2, 20–25. <https://doi.org/10.9790/3008-0222025>
- Nanjundappa, A., Bagyaraj, D.J., Saxena, A.K., Kumar, M., Chakdar, H., 2019. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus* spp. in soil enhancing growth of crop plants. *Fungal Biol. Biotechnol.* 6, 23. <https://doi.org/10.1186/s40694-019-0086-5>
- Navas-Cortés, J.A., Landa, B.B., Mercado-Blanco, J., Trapero-Casas, J.L., Rodríguez-Jurado, D., Jiménez-Díaz, R.M., 2008. Spatiotemporal analysis of spread of infections by *Verticillium dahliae* pathotypes within a high tree density olive orchard in southern Spain. *Phytopathology* 98, 167–180.
- Neal, A.L., Ahmad, S., Gordon-Weeks, R., Ton, J., 2012. Benzoxazinoids in Root Exudates of Maize Attract *Pseudomonas putida* to the Rhizosphere. *PLOS ONE* 7, 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035498>

- Newton, A.C., Fitt, B.D.L., Atkins, S.D., Walters, D.R., Daniell, T.J., 2010. Pathogenesis, parasitism and mutualism in the trophic space of microbe–plant interactions. *Trends Microbiol.* 18, 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.06.002>
- Niu, X., Song, L., Xiao, Y., Ge, W., 2018. Drought-Tolerant Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Associated with Foxtail Millet in a Semi-arid Agroecosystem and Their Potential in Alleviating Drought Stress. *Front. Microbiol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02580>
- Nwodo, U.U., Green, E., Okoh, A.I., 2012. Bacterial Exopolysaccharides: Functionality and Prospects. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 14002–14015. <https://doi.org/10.3390/ijms131114002>
- 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>
- Orozco-Mosqueda, M. del C., Glick, B.R., Santoyo, G., 2020. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt stress in crops. *Microbiol. Res.* 235, 126439. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126439>
- Oteino, N., Lally, R.D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K.J., Dowling, D.N., 2015. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Front. Microbiol.* 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00745>
- Otieno, N., Lally, R., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K., Dowling, D., 2015. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Front. Microbiol.* 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00745>
- Pal, K.K., Dey, R., Sherathia, D.N., Devidayal, Mangalassery, S., Kumar, A., Rupapara, R.B., Mandaliya, M., Rawal, P., Bhadania, R.A., Thomas, M., Patel, M.B., Maida, P., Nawade, B.D., Ahmad, S., Dash, P., Radhakrishnan, T., 2021. Alleviation of Salinity Stress in Peanut by Application of Endophytic Bacteria. *Front. Microbiol.* 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.650771>
- Pan, J., Huang, T., Yao, F., Huang, Z., Powell, C.A., Qiu, S., Guan, X., 2008. Expression and characterization of *aiiA* gene from *Bacillus subtilis* BS-1. *Microbiol. Res.* 163, 711–716. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2007.12.002>
- Panicker, S., Sayyed, R.Z., 2022. Hydrolytic Enzymes from PGPR Against Plant Fungal Pathogens, in: Sayyed, R.Z., Singh, A., Ilyas, N. (Eds.), *Antifungal Metabolites of Rhizobacteria for Sustainable Agriculture*. Springer International Publishing, Cham, pp. 211–238. https://doi.org/10.1007/978-3-031-04805-0_10
- Panigrahi, S., Mohanty, S., Rath, C.C., 2020. Characterization of endophytic bacteria *Enterobacter cloacae* MG00145 isolated from *Ocimum sanctum* with Indole Acetic Acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. *South Afr. J. Bot.* 134, 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.09.017>
- Park, J.H., Bolan, N., Megharaj, M., Naidu, R., 2011. Isolation of phosphate solubilizing bacteria and their potential for lead immobilization in soil. *J. Hazard. Mater.* 185, 829–836.
- Parke, J.L., 1991. Root colonization by indigenous and introduced microorganisms, in: Keister, D.L., Cregan, P.B. (Eds.), *The Rhizosphere and Plant Growth: Papers Presented at a Symposium Held May 8–11, 1989, at the Beltsville Agricultural Research Center (BARC), Beltsville, Maryland*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 33–42. https://doi.org/10.1007/978-94-011-3336-4_4
- Patani, A., Prajapati, D., Ali, D., Kalasariya, H., Yadav, V.K., Tank, J., Bagatharia, S., Joshi, M., Patel, A., 2023. Evaluation of the growth-inducing efficacy of various *Bacillus* species on the salt-stressed tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Front. Plant Sci.* 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1168155>
- Pathania, A., Singh, L., Sharma, P.N., 2021. Host Plant Resistance: An Eco-Friendly Approach for Crop Disease Management, in: Kaushal, M., Prasad, R. (Eds.), *Microbial Biotechnology in Crop Protection*. Springer Singapore, Singapore, pp. 395–449. https://doi.org/10.1007/978-981-16-0049-4_16
- Penrose, D.M., Glick, B.R., 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol. Plant.* 118, 10–15. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x>

- Peoples, M.B., Herridge, D.F., Ladha, J.K., 1995. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? Presented at the Management of Biological Nitrogen Fixation for the Development of More Productive and Sustainable Agricultural Systems: Extended versions of papers presented at the Symposium on Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture at the 15th Congress of Soil Science, Acapulco, Mexico, 1994, Springer, pp. 3–28.
- Peoples, M.B., Unkovich, M.J., Herridge, D.F., 2009. Measuring Symbiotic Nitrogen Fixation by Legumes, in: Nitrogen Fixation in Crop Production. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 125–170. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr52.c6>
- Pérez-García, A., Romero, D., Vicente, A. de, 2011. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Curr. Opin. Biotechnol.* 22, 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.12.003>
- Pérez-Rodríguez, M.M., Pontin, M., Piccoli, P., Lobato Ureche, M.A., Gordillo, M.G., Funes-Pinter, I., Cohen, A.C., 2022. Halotolerant native bacteria *Enterobacter* 64S1 and *Pseudomonas* 42P4 alleviate saline stress in tomato plants. *Physiol. Plant.* 174, e13742. <https://doi.org/10.1111/ppl.13742>
- Peters, N.K., Frost, J.W., Long, S.R., 1986. A Plant Flavone, Luteolin, Induces Expression of *Rhizobium meliloti* Nodulation Genes. *Science* 233, 977–980. <https://doi.org/10.1126/science.3738520>
- Peyvandi, M., Farahani, F., Mazinani, M.H., Noormohamadi, Z., Ataii, S., Asgharzade, A., 2010. PSEUDOMONAS FLUORESCENT AND ITS ABILITY TO PROMOTE ROOT FORMATION OF OLIVE MICROSHOOTS. *Int. J. Plant Prod.*
- Pham, V.H.T., Kim, J., 2012. Cultivation of unculturable soil bacteria. *Trends Biotechnol.* 30, 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.05.007>
- Philippot, L., Raaijmakers, J.M., Lemanceau, P., van der Putten, W.H., 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 789–799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- Pieterse, C.M.J., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., Van Wees, S.C.M., Bakker, P.A.H.M., 2014. Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52, 347–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Pio, R., Bastos, D.C., Berti, A.J., Scarpore Filho, J.A., Mourão Filho, F. de A.A., Entelmann, F.A., Alves, A.S.R., Bettiol Neto, J.E., 2005. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.) utilizando ácido indolbutírico. *Ciênc. E Agrotecnologia* 29, 562–567.
- Poland, J.A., Balint-Kurti, P.J., Wissler, R.J., Pratt, R.C., Nelson, R.J., 2009. Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.006>
- Poli, A., Anzelmo, G., Nicolaus, B., 2010. Bacterial Exopolysaccharides from Extreme Marine Habitats: Production, Characterization and Biological Activities. *Mar. Drugs* 8, 1779–1802. <https://doi.org/10.3390/md8061779>
- Postma, J., Nijhuis, E.H., Someus, E., 2010. Selection of phosphorus solubilizing bacteria with biocontrol potential for growth in phosphorus rich animal bone charcoal. *Appl. Soil Ecol.* 46, 464–469. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.08.016>
- Poupin, M.J., Timmermann, T., Vega, A., Zuñiga, A., González, B., 2013. Effects of the Plant Growth-Promoting Bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN throughout the Life Cycle of *Arabidopsis thaliana*. *PLOS ONE* 8, null. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069435>
- Poveda, J., González-Andrés, F., 2021. *Bacillus* as a source of phytohormones for use in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1–17.
- Prinsen, E., Costacurta, A., Michiels, K., Vanderleyden, J., Van Onckelen, H., 1993. *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway. *Mol. Plant Microbe Interact.* 6, 609–609.
- Quiñones, B., Dulla, G., Lindow, S.E., 2005. Quorum Sensing Regulates Exopolysaccharide Production, Motility, and Virulence in *Pseudomonas syringae*. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 18, 682–693. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0682>
- Raaijmakers, J.M., Vlami, M., De Souza, J.T., 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81, 537–547.

- Ramakrishna, W., Yadav, R., Li, K., 2019. Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. *Appl. Soil Ecol.* 138, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.019>
- Ramasamy, K., Joe, M.M., Kim, K., Kim, K., Lee, S., Shagol, C., Rangasamy, A., Chung, J., Islam, M.R., Sa, T., 2011. Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. *한국토양비료학회지* 44, 637–649.
- Ramírez-Flores, M.R., Bello-Bello, E., Rellán-Álvarez, R., Sawers, R.J.H., Olalde-Portugal, V., 2019. Inoculation with the mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* modulates the relationship between root growth and nutrient content in maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.). *Plant Direct* 3, e00192. <https://doi.org/10.1002/pld3.192>
- Rapoport, H.F., Fabbri, A., Sebastiani, L., 2016. Olive Biology, in: Rugini, E., Baldoni, L., Muleo, R., Sebastiani, L. (Eds.), *The Olive Tree Genome, Compendium of Plant Genomes*. Springer International Publishing, Cham, pp. 13–25. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48887-5_2
- Rappe, M.S., Giovannoni, S.J., 2003. The Uncultured Microbial Majority. *Annu. Rev. Microbiol.* 57, 369–394. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.090759>
- Rashid, U., Yasmin, H., Hassan, M.N., Naz, R., Nosheen, A., Sajjad, M., Ilyas, N., Keyani, R., Jabeen, Z., Mumtaz, S., 2021. Drought-tolerant *Bacillus megaterium* isolated from semi-arid conditions induces systemic tolerance of wheat under drought conditions. *Plant Cell Rep.* 1–21.
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., Shankhdhar, S.C., 2021. Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 21, 49–68. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00342-7>
- Regragui, A., Lahlou, H., 2005. Effect of salinity on in vitro *Trichoderma harzianum* antagonism against *Verticillium dahliae*. *Pak J Biol Sci* 8, 872–876. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2005.872.876>
- Reinhold-Hurek, B., Bünker, W., Burbano, C.S., Sabale, M., Hurek, T., 2015. Roots Shaping Their Microbiome: Global Hotspots for Microbial Activity. *Annu. Rev. Phytopathol.* 53, 403–424. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102342>
- Reinhold-Hurek, B., Hurek, T., 1998. Life in grasses: diazotrophic endophytes. *Trends Microbiol.* 6, 139–144. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(98\)01229-3](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(98)01229-3)
- Reller, L.B., Weinstein, M.P., Petti, C.A., 2007. Detection and Identification of Microorganisms by Gene Amplification and Sequencing. *Clin. Infect. Dis.* 44, 1108–1114. <https://doi.org/10.1086/512818>
- Rengasamy, P., 2006. World salinization with emphasis on Australia. *J. Exp. Bot.* 57, 1017–1023. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj108>
- Richardson, A.E., Lynch, J.P., Ryan, P.R., Delhaize, E., Smith, F.A., Smith, S.E., Harvey, P.R., Ryan, M.H., Veneklaas, E.J., Lambers, H., Oberson, A., Culvenor, R.A., Simpson, R.J., 2011. Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant Soil* 349, 121–156. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0950-4>
- Richmond, N.T., 2015. Chemical soil degradation as a result of contamination: A review. *J. Soil Sci. Environ. Manag.* 6, 301–308. <https://doi.org/10.5897/JSSEM15.0499>
- Rijavec, T., Lapanje, A., 2016. Hydrogen cyanide in the rhizosphere: not suppressing plant pathogens, but rather regulating availability of phosphate. *Front. Microbiol.* 7, 1785.
- Rizaludin, M.S., Stopnisek, N., Raaijmakers, J.M., Garbeva, P., 2021. The Chemistry of Stress: Understanding the ‘Cry for Help’ of Plant Roots. *Metabolites* 11. <https://doi.org/10.3390/metabo11060357>
- Rockström, J., Falkenmark, M., 2000. Semiarid Crop Production from a Hydrological Perspective: Gap between Potential and Actual Yields. *Crit. Rev. Plant Sci.* 19, 319–346. <https://doi.org/10.1080/07352680091139259>
- Rodrigues, P., Micael, J., 2021. The importance of guano birds to the Inca Empire and the first conservation measures implemented by humans. *Ibis* 163, 283–291. <https://doi.org/10.1111/ibi.12867>
- Rodríguez-Moreno, L., Jiménez, A.J., Ramos, C., 2009. Endopathogenic lifestyle of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive knots. *Microb. Biotechnol.* 2, 476–488.

- Rodri-guez-Navarro, D.N., Dardanelli, M.S., RuÃ-z-SaÃ-nz, J.E., 2007. Attachment of bacteria to the roots of higher plants. *FEMS Microbiol. Lett.* 272, 127–136. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00761.x>
- 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)
- Romeiro, R.S., Kimura, O., 1997. Induced Resistance in Pepper Leaves Infiltrated with Purified Bacterial Elicitors from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *J. Phytopathol.* 145, 495–498. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1997.tb00356.x>
- Rosenblueth, M., Martínez-Romero, E., 2006. Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts. *Mol. Plant-Microbe Interactions®* 19, 827–837. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0827>
- Roy, S., Chakraborty, A.P., Chakraborty, R., 2021. Understanding the potential of root microbiome influencing salt-tolerance in plants and mechanisms involved at the transcriptional and translational level. *Physiol. Plant.* 173, 1657–1681. <https://doi.org/10.1111/ppl.13570>
- Rudrappa, T., Czymmek, K.J., Paré, P.W., Bais, H.P., 2008. Root-Secreted Malic Acid Recruits Beneficial Soil Bacteria. *Plant Physiol.* 148, 1547–1556. <https://doi.org/10.1104/pp.108.127613>
- Ryu, C.-M., Farag, M.A., Hu, C.-H., Reddy, M.S., Kloepper, J.W., Paré, P.W., 2004. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 134, 1017–1026. <https://doi.org/10.1104/pp.103.026583>
- Saadatmand, A.R., Banihashemi, Z., Sepaskhah, A.R., Maftoun, M., 2008. Soil Salinity and Water Stress and Their Effect on Susceptibility to *Verticillium* Wilt Disease, Ion Composition and Growth of Pistachio. *J. Phytopathol.* 156, 287–292. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01360.x>
- Sadeghipour, O., 2019. Polyamines protect mung bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] plants against drought stress. *Biol. Futura* 70, 71–78. <https://doi.org/10.1556/019.70.2019.09>
- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B.K., Bhattacharjee, S., Tribedi, P., 2016. Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 3984–3999. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4294-0>
- Saha, R., Saha, N., Donofrio, R.S., Bestervelt, L.L., 2013. Microbial siderophores: a mini review: Microbial Siderophores. *J. Basic Microbiol.* 53, 303–317. <https://doi.org/10.1002/jobm.201100552>
- Saikia, J., Kotoky, R., Debnath, R., Kumar, N., Gogoi, P., Yadav, A., Saikia, R., 2022. De novogenomic analysis of *Enterobacter asburiae* EBRJ12, a plant growth-promoting rhizobacteria isolated from the rhizosphere of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Appl. Microbiol.* 134, 1xac090. <https://doi.org/10.1093/jambio/1xac090>
- Salimi, F., Hamed, J., 2021. Biofertilizers: Microbes for Agricultural Productivity. *Soil Microbiomes Sustain. Agric. Funct. Annot.* 407–469.
- Sandhya, V., Ali, Sk.Z., Grover, M., Reddy, G., Venkateswarlu, B., 2010. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regul.* 62, 21–30. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9479-4>
- Santner, A., Calderon-Villalobos, L.I.A., Estelle, M., 2009. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nat. Chem. Biol.* 5, 301–307. <https://doi.org/10.1038/nchembio.165>
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Del Carmen Orozco-Mosqueda, Ma., Glick, B.R., 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiol. Res.* 183, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M. del C., Govindappa, M., 2012. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. *Biocontrol Sci. Technol.* 22, 855–872.
- Santoyo, G., Urtis-Flores, C.A., Loeza-Lara, P.D., Orozco-Mosqueda, Ma. del C., Glick, B.R., 2021. Rhizosphere Colonization Determinants by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Biology* 10. <https://doi.org/10.3390/biology10060475>

- Scagliola, M., Valentinuzzi, F., Mimmo, T., Cesco, S., Crecchio, C., Pii, Y., 2021. Bioinoculants as Promising Complement of Chemical Fertilizers for a More Sustainable Agricultural Practice. *Front. Sustain. Food Syst.* 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.622169>
- Schisler, D.A., Slininger, P.J., Behle, R.W., Jackson, M.A., 2004. Formulation of *Bacillus* spp. for Biological Control of Plant Diseases. *Phytopathology*® 94, 1267–1271. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1267>
- Schlaeppli, K., Bulgarelli, D., 2015. The Plant Microbiome at Work. *Mol. Plant-Microbe Interactions*® 28, 212–217. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-14-0334-FI>
- Schulz, B., Boyle, C., 2005. The endophytic continuum. *Mycol. Res.* 109, 661–686. <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>
- Seifi, E., Teymoor, Y.S., Alizadeh, M., Fereydooni, H., 2014. Olive mycorrhization: Influences of genotype, mycorrhiza, and growing periods. *Sci. Hortic.* 180, 214–219. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.10.042>
- Selvakumar, G., Bindu, G.H., Bhatt, R.M., Upreti, K.K., Paul, A.M., Asha, A., Shweta, K., Sharma, M., 2018. Osmotolerant Cytokinin Producing Microbes Enhance Tomato Growth in Deficit Irrigation Conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect. B Biol. Sci.* 88, 459–465. <https://doi.org/10.1007/s40011-016-0766-3>
- Shafi, J., Tian, H., Ji, M., 2017. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 31, 446–459. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>
- Shahid, S.A., Zaman, M., Heng, L., 2018. Soil Salinity: Historical Perspectives and a World Overview of the Problem, in: Zaman, M., Shahid, S.A., Heng, L. (Eds.), *Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques*. Springer International Publishing, Cham, pp. 43–53. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96190-3_2
- Shameer, S., Prasad, T., 2018. Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regul.* 84, 603–615.
- Sharma, A., Singh, P., Sarmah, B.K., Nandi, S.P., 2020. Quorum sensing: its role in microbial social networking. *Res. Microbiol.* 171, 159–164. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2020.06.003>
- 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>
- Sibponkrung, S., Kondo, T., Tanaka, K., Tittabutr, P., Boonkerd, N., Yoshida, K., Teaumroong, N., 2020. Co-Inoculation of *Bacillus velezensis* Strain S141 and *Bradyrhizobium* Strains Promotes Nodule Growth and Nitrogen Fixation. *Microorganisms* 8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050678>
- Singh, B., Satyanarayana, T., 2011. Microbial phytases in phosphorus acquisition and plant growth promotion. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 17, 93–103.
- Singh, D., Seager, R., Cook, B.I., Cane, M., Ting, M., Cook, E., Davis, M., 2018. Climate and the Global Famine of 1876–78. *J. Clim.* 31, 9445–9467. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-18-0159.1>
- Singh, R.P., Jha, P.N., 2017. The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 Augments Resistance against Biotic and Abiotic Stress in Wheat Plants. *Front. Microbiol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01945>
- Singh, S.K., Jha, S.S., Singh, P.P., 2022. Omics Approaches to Unravel the Features of Rhizospheric Microbiome, in: Singh, U.B., Rai, J.P., Sharma, A.K. (Eds.), *Re-Visiting the Rhizosphere Eco-System for Agricultural Sustainability*. Springer Nature Singapore, Singapore, pp. 391–402. https://doi.org/10.1007/978-981-19-4101-6_19
- Singh, U.B., Malviya, D., Wasiullah, Singh, S., Pradhan, J.K., Singh, B.P., Roy, M., Imram, M., Pathak, N., Baisyal, B.M., Rai, J.P., Sarma, B.K., Singh, R.K., Sharma, P.K., Kaur, S.D., Manna, M.C., Sharma, S.K., Sharma, A.K., 2016. Bio-protective microbial agents from rhizosphere eco-systems trigger plant defense responses provide protection against sheath blight disease in rice (*Oryza sativa* L.). *Microbiol. Res.* 192, 300–312. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.08.007>
- Someya, N., NAKAJIMA, M., HIRAYAE, K., HIBI, T., AKUTSU, K., 2001. Synergistic Antifungal Activity of Chitinolytic Enzymes and Prodigiosin Produced by Biocontrol Bacterium, *Serratia*

- marcescens Strain B2 against Gray Mold Pathogen, *Botrytis cinerea*. *J. Gen. Plant Pathol.* 67, 312–317. <https://doi.org/10.1007/PL00013038>
- 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>
- Son, Y., 2001. Non-symbiotic nitrogen fixation in forest ecosystems. *Ecol. Res.* 16, 183–196. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1703.2001.00385.x>
- Song, K., Xue, Y., Zheng, X., Lv, W., Qiao, H., Qin, Q., Yang, J., 2017. Effects of the continuous use of organic manure and chemical fertilizer on soil inorganic phosphorus fractions in calcareous soil. *Sci. Rep.* 7, 1164. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01232-2>
- Song, R., Li, J., Xie, C., Jian, W., Yang, X., 2020. An Overview of the Molecular Genetics of Plant Resistance to the Verticillium Wilt Pathogen *Verticillium dahliae*. *Int. J. Mol. Sci.* 21. <https://doi.org/10.3390/ijms21031120>
- Spaepen, S., 2015. Plant Hormones Produced by Microbes, in: Lugtenberg, B. (Ed.), *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture*. Springer International Publishing, Cham, pp. 247–256. https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_26
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., 2011. Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 3, a001438.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., Remans, R., 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31, 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
- Sprent, J.I., Ardley, J., James, E.K., 2017. Biogeography of nodulated legumes and their nitrogen-fixing symbionts. *New Phytol.* 215, 40–56. <https://doi.org/10.1111/nph.14474>
- Srinivasan, V., Bhavan, P.S., Krishnakumar, J., 2014. Bioremediation of textile dye effluent by *Bacillus* and *Pseudomonas* spp. *Int. J. Sci. Environ. Technol.* 3, 2215–2224.
- Steenhoudt, O., Vanderleyden, J., 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Rev.* 24, 487–506. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00552.x>
- Stewart, W.D.P., 1973. Nitrogen Fixation by Photosynthetic Microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* 27, 283–316. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.27.100173.001435>
- Sytar, O., Kumari, P., Yadav, S., Brestic, M., Rastogi, A., 2019. Phytohormone Priming: Regulator for Heavy Metal Stress in Plants. *J. Plant Growth Regul.* 38, 739–752. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9886-8>
- Talebi Atouei, M., Pourbabae, A.A., Shorafa, M., 2019. Alleviation of salinity stress on some growth parameters of wheat by exopolysaccharide-producing bacteria. *Iran. J. Sci. Technol. Trans. Sci.* 43, 2725–2733.
- Tchuisseu Tchakounté, G.V., Berger, B., Patz, S., Fankem, H., Ruppel, S., 2018. Community structure and plant growth-promoting potential of cultivable bacteria isolated from Cameroon soil. *Microbiol. Res.* 214, 47–59. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.05.008>
- Tekaya, M., Mechri, B., Mbarki, N., Cheheb, H., Hammami, M., Attia, F., 2017. Arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* influences key physiological parameters of olive trees (*Olea europaea* L.) and mineral nutrient profile. *Photosynthetica* 55, 308–316. <https://doi.org/10.1007/s11099-016-0243-5>
- Theis, K.R., Dheilly, N.M., Klassen, J.L., Brucker, R.M., Baines, J.F., Bosch, T.C.G., Cryan, J.F., Gilbert, S.F., Goodnight, C.J., Lloyd, E.A., Sapp, J., Vandenkoornhuys, P., Zilber-Rosenberg, I., Rosenberg, E., Bordenstein, S.R., 2016. Getting the Hologenome Concept Right: an Eco-Evolutionary Framework for Hosts and Their Microbiomes. *mSystems* 1, e00028-16. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00028-16>
- Toljander, J.F., Lindahl, B.D., Paul, L.R., Elfstrand, M., Finlay, R.D., 2007. Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure. *FEMS Microbiol. Ecol.* 61, 295–304. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00337.x>
- Tomlinson, I., 2013. Doubling food production to feed the 9 billion: A critical perspective on a key discourse of food security in the UK. *J. Rural Stud.* 29, 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2011.09.001>

- Toro, M., 2007. Phosphate solubilizing microorganisms in the rhizosphere of native plants from tropical savannas: An adaptive strategy to acid soils?, in: Velázquez, E., Rodríguez-Barrueco, C. (Eds.), First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 249–252.
- Torres, M., Llamas, I., Torres, B., Toral, L., Sampedro, I., Béjar, V., 2020. Growth promotion on horticultural crops and antifungal activity of *Bacillus velezensis* XT1. *Appl. Soil Ecol.* 150, 103453. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103453>
- Tsuchisaka, A., Theologis, A., 2004. Unique and Overlapping Expression Patterns among the Arabidopsis 1-Amino-Cyclopropane-1-Carboxylate Synthase Gene Family Members. *Plant Physiol.* 136, 2982–3000. <https://doi.org/10.1104/pp.104.049999>
- Tsukanova, K., Meyer, J., Bibikova, T., 2017. Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South Afr. J. Bot.* 113, 91–102.
- Turner, T.R., James, E.K., Poole, P.S., 2013. The plant microbiome. *Genome Biol.* 14, 209. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-6-209>
- Typas, M.A., Heale, J.B., 1976. Heterokaryosis and the role of cytoplasmic inheritance in dark resting structure formation in *Verticillium* spp. *Mol. Gen. Genet.* MGG 146, 17–26. <https://doi.org/10.1007/BF00267978>
- Unkovich, M.J., Pate, J.S., 2000. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N₂ fixation by annual legumes. *Field Crops Res.* 65, 211–228. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00088-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00088-X)
- Upadhyay, S., Singh, J., Singh, D., 2011. Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. *Pedosphere* 21, 214–222.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M.-L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., Prigent-Combaret, C., 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front. Plant Sci.* 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>
- Vafadar, F., Amooaghaie, R., Otroshy, M., 2014. Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*. *J. Plant Interact.* 9, 128–136. <https://doi.org/10.1080/17429145.2013.779035>
- Vahedi, R., Rasouli-Sadaghiani, M.H., Barin, M., Vetukuri, R.R., 2022. Effect of Biochar and Microbial Inoculation on P, Fe, and Zn Bioavailability in a Calcareous Soil. *Processes* 10. <https://doi.org/10.3390/pr10020343>
- Van Der Biezen, E.A., Jones, J.D.G., 1998. Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends Biochem. Sci.* 23, 454–456. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01311-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01311-5)
- Van Peer, R., Niemann, G., Schippers, B., 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS 417 r. *Phytopathology* 81, 728–734.
- Vargas, P., Muñoz Garmendia, F., Hess, J., Kadereit, J., 2000. *Olea europaea* subsp. *guanchica* and subsp. *maroccana* (Oleaceae), two new names for olive tree relatives. Presented at the Anales del Jardín Botánico de Madrid, Instituto Botánico, Real Jardín de Botánico CSIC, pp. 360–361.
- Varo, A., Raya-Ortega, M., Trapero, A., 2016. Selection and evaluation of micro-organisms for biocontrol of *Verticillium dahliae* in olive. *J. Appl. Microbiol.* 121, 767–777.
- 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>
- Versalovic, J., 1994. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Methods Mol Cell Biol* 5, 25–40.
- Vesper, S.J., 1987. Production of Pili (Fimbriae) by *Pseudomonas fluorescens* and Correlation with Attachment to Corn Roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1397–1405. <https://doi.org/10.1128/aem.53.7.1397-1405.1987>
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255, 571–586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>

- Voges, M.J.E.E., Bai, Y., Schulze-Lefert, P., Sattely, E.S., 2019. Plant-derived coumarins shape the composition of an *Arabidopsis* synthetic root microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116, 12558–12565. <https://doi.org/10.1073/pnas.1820691116>
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. van de, Hornes, M., Friters, A., Pot, J., Paleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23, 4407–4414. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>
- Vurukonda, S.S.K.P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., SkZ, A., 2016. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiol. Res.* 184, 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>
- Vuuren, D.P.V., Bouwman, A.F., Beusen, A.H.W., 2010. Phosphorus demand for the 1970–2100 period: A scenario analysis of resource depletion. *Glob. Environ. Change* 20, 428–439. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2010.04.004>
- Wagner, M.R., Lundberg, D.S., del Rio, T.G., Tringe, S.G., Dangl, J.L., Mitchell-Olds, T., 2016. Host genotype and age shape the leaf and root microbiomes of a wild perennial plant. *Nat. Commun.* 7, 12151. <https://doi.org/10.1038/ncomms12151>
- Wahl, V., Ponnu, J., Schlereth, A., Arrivault, S., Langenecker, T., Franke, A., Feil, R., Lunn, J.E., Stitt, M., Schmid, M., 2013. Regulation of Flowering by Trehalose-6-Phosphate Signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Science* 339, 704–707. <https://doi.org/10.1126/science.1230406>
- Wang, D., Li, Y., Yuan, Y., Chu, D., Cao, J., Sun, G., Ai, Y., Cui, Z., Zhang, Y., Wang, F., Wang, X., 2022. Identification of non-volatile and volatile organic compounds produced by *Bacillus siamensis* LZ88 and their antifungal activity against *Alternaria alternata*. *Biol. Control* 169, 104901. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104901>
- Wang, D., Xu, A., Elmerich, C., Ma, L.Z., 2017. Biofilm formation enables free-living nitrogen-fixing rhizobacteria to fix nitrogen under aerobic conditions. *ISME J.* 11, 1602–1613. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.30>
- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., Guo, S., 2013. The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 7370–7390. <https://doi.org/10.3390/ijms14047370>
- Wang, Z., Song, Y., 2022. Toward understanding the genetic bases underlying plant-mediated “cry for help” to the microbiota. *iMeta* 1, e8. <https://doi.org/10.1002/imt2.8>
- 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, 1508–1512.
- Wei, H.-L., Zhang, L.-Q., 2006. Quorum-sensing system influences root colonization and biological control ability in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. *Antonie Van Leeuwenhoek* 89, 267–280. <https://doi.org/10.1007/s10482-005-9028-8>
- Weselowski, B., Nathoo, N., Eastman, A.W., MacDonald, J., Yuan, Z.-C., 2016. Isolation, identification and characterization of *Paenibacillus polymyxa* CR1 with potentials for biopesticide, biofertilization, biomass degradation and biofuel production. *BMC Microbiol.* 16, 244. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0860-y>
- Xie, Z., Li, M., Wang, D., Wang, F., Shen, H., Sun, G., Feng, C., Wang, X., Chen, D., Sun, X., 2021. Biocontrol efficacy of *Bacillus siamensis* LZ88 against brown spot disease of tobacco caused by *Alternaria alternata*. *Biol. Control* 154, 104508. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104508>
- Yadav, B.K., Sidhu, A.S., 2016. Dynamics of Potassium and Their Bioavailability for Plant Nutrition, in: Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., Meena, R.S. (Eds.), *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*. Springer India, New Delhi, pp. 187–201. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2_14
- Yaghoubi Khanghahi, M., Pirdashti, H., Rahimian, H., Nematzadeh, G.A., Ghajar Sepanlou, M., 2018. Nutrient Use Efficiency and Nutrient Uptake Promoting of Rice by Potassium Solubilizing Bacteria (KSB). *Cereal Res. Commun.* 46, 739–750. <https://doi.org/10.1556/0806.46.2018.042>
- Yaghoubi Khanghahi, M., Strafella, S., Allegretta, I., Crecchio, C., 2021. Isolation of Bacteria with Potential Plant-Promoting Traits and Optimization of Their Growth Conditions. *Curr. Microbiol.* 78, 464–478. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02303-w>
- Yamamoto, S., Shiraishi, S., Suzuki, S., 2015. Are cyclic lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3 responsible for the plant defence response in strawberry against

- Colletotrichum gloeosporioides*? Lett. Appl. Microbiol. 60, 379–386.
<https://doi.org/10.1111/lam.12382>
- Yasin, N.A., Akram, W., Khan, W.U., Ahmad, S.R., Ahmad, A., Ali, A., 2018. Halotolerant plant-growth promoting rhizobacteria modulate gene expression and osmolyte production to improve salinity tolerance and growth in *Capsicum annum* L. Environ. Sci. Pollut. Res. 25, 23236–23250. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2381-8>
- Yi, Y., Huang, W., Ge, Y., 2008. Exopolysaccharide: a novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate. World J. Microbiol. Biotechnol. 24, 1059–1065.
- Yusran, Y., Roemheld, V., Mueller, T., 2009. Effects of *Pseudomonas* sp. "Proradix" and *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 on the Establishment of AMF Infection, Nutrient Acquisition and Growth of Tomato Affected by *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis and Shoemaker.
- Zahran, H.H., 2001. Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. J. Biotechnol. 91, 143–153. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00342-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00342-X)
- Zerkle, A.L., Mikhail, S., 2017. The geobiological nitrogen cycle: From microbes to the mantle. Geobiology 15, 343–352. <https://doi.org/10.1111/gbi.12228>
- Zerrouk, I.Z., Rahmoune, B., Auer, S., Rößler, S., Lin, T., Baluska, F., Dobrev, P.I., Motyka, V., Ludwig-Müller, J., 2020. Growth and aluminum tolerance of maize roots mediated by auxin- and cytokinin-producing *Bacillus toyonensis* requires polar auxin transport. Environ. Exp. Bot. 176, 104064. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104064>
- Zhalnina, K., Louie, K.B., Hao, Z., Mansoori, N., Da Rocha, U.N., Shi, S., Cho, H., Karaoz, U., Loqué, D., Bowen, B.P., Firestone, M.K., Northen, T.R., Brodie, E.L., 2018. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. Nat. Microbiol. 3, 470–480. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0129-3>
- Zhang, J., Shao, F., Li, Y., Cui, H., Chen, L., Li, H., Zou, Y., Long, C., Lan, L., Chai, J., Chen, S., Tang, X., Zhou, J.-M., 2007. A *Pseudomonas syringae* Effector Inactivates MAPKs to Suppress PAMP-Induced Immunity in Plants. Cell Host Microbe 1, 175–185.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2007.03.006>
- Ziazia, P., Poulaki, E.G., Gkizi, D., Lozano, L., Serrano, M., Tjamos, S.E., 2021. Feeding the Microbes: A Strategy to Control *Verticillium* Wilt. Agronomy 11.
<https://doi.org/10.3390/agronomy111101946>
- Zörb, C., Geilfus, C.-M., Dietz, K.-J., 2019. Salinity and crop yield. Plant Biol. 21, 31–38.
<https://doi.org/10.1111/plb.12884>
- Zörb, C., Senbayram, M., Peiter, E., 2014. Potassium in agriculture – Status and perspectives. J. Plant Physiol. 171, 656–669. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.08.008>