N° d'ordre 19 /2020

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Mr. EL KINANY SAID

Discipline : Biologie

Spécialité : Biotechnologies

Sujet de la thèse **:**

[redacted]

Formation doctorale : Sciences et Génie de la matière, de la Terre et de la vie

Thèse présentée et soutenue le 16 Juillet 2020 devant le jury composé de :

Nom Prénom	Titre	Etablissement	Missions
Mohammed IRAQUI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Président
Lahcen OUAHMANE	PES	Faculté des Sciences de Marrakech	Rapporteur
Hamid MAZOUZ	PES	Faculté des Sciences de Meknès	Rapporteur
Naima EL GHACHTOULI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Rapporteur
El Hassan ACHBANI	PES	INRA de Meknès	Examinateur
Abdellatif HAGGOUD Rachid BOUAMRI	PES PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès Ecole Nationale d'Agriculture de Meknès	Directeurs de Thèse

Laboratoires d'accueil :

- Biotechnologie Microbienne et Molécules Bioactives (FST-Fès

[redacted]
B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES
212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 – 212 (35) 60 29 53 – **Fax** : 212 (35) 60 82 14

Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques de l'Ingénieur

Résumé

N° d'ordre 19 /2020

De nos jours, le palmier dattier est le pilier principal de l'agroéconomie oasienne. Il constitue la source essentielle de revenu de la population oasienne. La phoeniciculture est contrariée par plusieurs problèmes qui ont freiné son extension. Il s'agit des contraintes abiotiques (sécheresse, salinité, structure et texture du sol…) et biotiques, notamment la maladie du « Bayoud ». En outre, le sol oasien est très faible en terme de fertilité du sol, de ses caractères physico-chimiques difficiles et de son activité biologique, qui réduit significativement le rendement du palmier dattier malgré la disponibilité de la surface. Ajoutons à cela la très faible quantité de fertilisants appliqués par les agriculteurs, notamment en palmeraies traditionnelles. De ce fait, nos objectifs portent sur l'évaluation des effets de trois facteurs ; compost, champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) et rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) sur la fertilité du sol, la nutrition minérale, la croissance et la bioprotection contre le « Bayoud » chez les vitro-plants du palmier dattier.

Le premier objectif a porté sur l'évaluation *in vitro* de l'effet d'un extrait du compost sur la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa), agent causal du « Bayoud ». En deuxième objectif, on a évalué l'efficacité du compost enrichi d'une souche commerciale de CMA (*Glomus iranicum*) en matière de croissance et de nutrition foliaire des vitro-plants (cv. Boufeggous). Le troisième objectif a porté sur l'isolement et le criblage *in vitro* des PGPR, associées aux palmier dattier et aux plantes spontanées dans les oasis de Tafilalet, en matière de nutrition minérale des plantes et bioprotection contre le pathogène Foa. Finalement, on a évalué l'efficacité de trois composantes ; compost, CMA et un consortium de PGPR sélectionnées, en terme de croissance et de lutte contre Foa chez une variété sensible de Boufeggous.

Les résultats de l'identification moléculaire (PCR) du pathogène ont confirmé d'abord l'espèce pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Les doses de 30 et de 40 % d'extrait non stérilisé du compost ont inhibé la croissance mycélienne respectivement avec des taux de 93 et de 98 %, bien que ce taux n'a pas dépassé 18,5 % dans le cas de l'extrait stérilisé. Les résultats du premier essai agronomique ont montré que la variété Boufeggous a été plus réceptive à la souche de *G. iranicum* avec une fréquence et une intensité de colonization respectivement de 85 et de 52 % enregistrées après 12 mois de croissance sous serre. La biomasse, le taux de croissance des vitro-plants, la teneur en chlorophylle et celui des macro et microéléments ont été significativement améliorés, notamment, lorsque le compost a été enrichi de la souche de CMA.

L'isolement de différentes PGPRs a révélé que la collection récupérée vit dans des biotopes extrêmes (salinité, sol sablonneux, sécheresse, pH alcalin, stress thermique), notamment dans les palmeraies traditionnelles et le désert. Le screening de ces PGPRs a montré une grande efficience de celles-ci à solubiliser le phosphore (90 % de souches), le potassium (51 %) et le zinc (18%) inorganique, à fixer l'azote (96 %), à produire l'ammonium (36 %), l'acide indole 3-acétique (96 %), et les sidérophores (90 %) avec des concentrations significativement différentes selon le site d'isolement et le PGPR. En matière de lutte contre Foa, 78 % de ces PGPRs ont inhibé la croissance mycélienne avec une inhibition complète (100 %) enregistrée chez 42% des souches. Les métabolites secondaires de ces PGPR ont inhibé significativement la croissance mycélienne de Foa avec des taux d'inhibition qui dépassent 60 %. Ajouton à cela, l'efficacité de ces PGPR à produire l'amylase (24 % de souches), la chitinase (9 %), la cellulase (30 %) et la protéase (30 %).

Les résultats du 2 me et du 3 me essais agronomiques ont mis en évidence l'effet synergique de trois facteurs ; CMA, compost et PGPRs dans l'augmentation significative de la matière organique, de macros et de microéléments dans le sol rhizosphérique ainsi que dans l'amélioration du pH (jusqu'à 5,6) et du rapport C/N. En outre, les paramètres agronomiques (biomasse, nombre de feuilles et de racines) et nutritionnelles ont reflété une meilleure assimilation de ces éléments. D'ailleurs, tous ces paramètres ont été significativement améliorés par rapport aux vitro-plants témoins.

Finalement, en cas de lutte contre Foa, les vitro-plants ont été colonisés avec les deux inocula de CMA (AMF1 local et AMF2 commercial, même en présence du pathogène Foa et/ou du compost. Toutefois, les fréquences et les intensités de colonisation ont été relativement réduites lors de l'apport du compost par rapport aux vitro-plants uniquement inoculés avec les CMA. La biomasse et les éléments nutritifs foliaires ont été significativement améliorés par rapport au témoin. Les teneurs en polyphénols et en peroxyde d'hydrogène racinaires, composés impliqués dans les réactions de défense contre la fusariose vasculaire chez le palmier dattier, ont été augmentées respectivement d'un taux de 48 et de 21 % par rapport au témoin non infesté. Ces résultats montrent clairement l'efficacité de la synergie entre les trois composantes dans la nutrition minérale optimale, la croissance et la bioprotection du palmier dattier contre le « Bayoud ».

Mots clés : Palmier dattier, CMA, compost, PGPR, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, bio-fertilisation, bioprotection.

B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES
212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 – 212 (35) 60 29 53 – **Fax** : 212 (35) 60 82 14

Abstract

Currently, date palm is the main pillar of the oasis agro-economy. It is the essential source of income for the population in oases heavily influenced by arid climate. Date palm culture is hampered by several problems that have hindered its expansion. These are abiotic constraints (water stress, salinity, soil structure and texture...) and biotic one (pests and diseases), in particular the "Bayoud" disease. The oasis areas are very weak in term of soil fertility, its unfavorable characteristics and its weak biological activity, which significantly reduces date palm yield despite of the availability of cultivated area. In addition, farmers use a very low amount of fertilizers (specially traditional farmers). Therefore, we aimed to study the effect of compost, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on mineral nutrition, growth and biocontrol of micropropagated date palm against "Bayoud" disease.

The first experiment is an *in vitro* evaluation of compost extract effects on the mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa), the causal agent of Fusarium wilt (Bayoud). Secondly, a greenhouse experiment was carried out to study the efficiency of compost enriched with a commercial strain of AMF (*Glomus iranicum*) on the growth and leaf nutrition of micropropagated date palm (cv. Boufeggous). The third experiment is devoted to the isolation and *in vitro* screening of PGPR functions, associated with date palm and spontaneous plants in Tafilalet oases in term of plant nutrition and biological control of Foa. In the last greenhouse experiments we evaluated the efficiency of the combination of three factors; AMF, a consortium of selected (locally adapted) PGPR and two types of compost in term of plant growth and control of Foa under greenhouse conditions.

At first, results of the first trial confirmed the identity, using molecular technique PCR, of the Foa pathogen isolated from a naturally infested palm grove. Compost doses of 30 and 40 % of unsterilized extract inhibited mycelial growth with the rates of 93 and 98 % respectively, while 40 % of sterilized extract did not exceed the rate of 18.5 %.

The second trial showed that the Boufeggous cultivar was more receptive to the *G. iranicum* strain with a colonization frequency and intensity of 85 and 52% respectively recorded after 12 months of growth. Biomass, rate growth, roots number and chlorophyll content were significantly increased, especially when the compost (25%, v/v) was enriched with the CMA strain. Leaf nutrition was well improved, especially in the presence of the compost.

The isolation of different PGPR revealed that the recovered collection lives in extreme biotopes (salinity, drought, sandy soil, high temperature, alkalinity stress) especially in traditional palm groves and in the desert habitat. Screening of these PGPRs showed their high efficiency in phosphorus (90 % strains), potassium (51%) and inorganic zinc solubilizing (18%) as well as in nitrogen fixation (96 %), in ammonium (36%), indole-3-acetic acid (96%), and siderophores production (90%) with significantly different concentrations depending on the isolation sites and the PGPR. As for Foa control, 78% of these PGPRs inhibited mycelial growth with complete inhibition recorded in 42 % of strains. Secondary metabolites of these PGPRs significantly inhibited mycelial growth of Foa with inhibition rates exceeding 60 %. Additionally, these PGPR reveal their efficiency to produce amylase (24% of strains), chitinase (9%), cellulase (30%) and protease (30%).

The results of the last two greenhouse experiments showed the synergistic effect of three factors; AMF, compost and PGPRs in the significant increasing of organic matter, macro and microelements in the rhizosphere soil as well as in the improvement of pH (from over 8 to 5.6) and C/N ratio. In addition, biomass, roots and leaf number and leaf nutrition reflected a better assimilation of soil nutrients. Moreover, all these parameters were significantly improved compared to the control under greenhouse conditions.

Finally, in the case of Foa control under greenhouse conditions, plants were colonized with both local and commercial AMF, even in the presence of the pathogen and/or compost. Biomass and leaf nutrients content were significantly increased compared to the control. The levels of root polyphenols and hydrogen peroxide, compounds involved in the defense reactions against Fusarium wilt in date palms, were increased by rate of 48 and 21% respectively, compared to the control. These results clearly show the effectiveness of the synergistic functions between AMF, compost and PGPRs) for growth, nutrition and bioprotection of date palm against Foa.

Key words: date palm, AMF, compost, PGPR, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, bio-fertilization, biological control.

[redacted]

B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES

212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 – 212 (35) 60 29 53 – **Fax** : 212 (35) 60 82 14

DÉDICACE

A mes très chers parents: Merci, pour votre amour, votre patience, vos sacrifices et votre soutien tout au long de mon parcours. Qu'Allah vous garde et vous donne une longue vie pleine de bonheur et de santé ;

A mes chers frères et sœurs, qu'Allah vous aide durant vos parcours et vous réalise tous vos rêves ;

A tous mes professeurs ; source d'éducation, d'orientation, d'encouragement et de soutien durant mon parcours ;

A mes cher(e)s ami(e)s avec qui j'ai passé des moments inoubliables ;

A tous ceux et celles qui me sont cher(e)s

Je dédie ce travail de thèse du doctorat

REMERCIEMENT

On ne peut pas savoir la valeur du jus de ce travail de recherche sans faire recours à sa composition et aux mains qui ont été derrière sa préparation.

D'abord, je tiens à remercier mes ***chers parents*** *qui ont eu toute la patience, le courage, la motivation et le support pour faire réussir cette expérience pleine d'aventures et de curiosité scientifiques. Mes chers parents, je vous aime beaucoup pour l'éducation que vous m'aviez accordées. C'était une fierté d'être incubé dans une famille comme vous. Pour moi, les parents sont un support et tuteur dont on a besoin à tout moment. C'est grâce à eux qu'on peut dépasser des conditions difficiles.*

Au ***Doyen*** *de la FST de Fès,* ***Mr. Ijjaali Mustapha,*** *au* ***Directeur*** *de l'ENA de Meknès,* ***Mr. Taoufiq Benziane*** *et au* ***Chef du CRRA*** *de Meknès,* ***Mr. Bentaibi Abderrahim****, je dois vous dire* ***Merci*** *avec un grand* ***M****, pour votre confiance envers moi, pour tous vos encouragements et votre disponibilité. Je suis très reconnaissant de vos services et vos soutiens durant la période de la préparation de ma thèse de doctorat, notamment pour les besoins administratifs nécessaires.*

Je dois chaleureusement remercier ***Mr, Aboudrar Abdellah****, Directeur de Partenariat et de collaboration des recherches à l'ENA de Meknès, pour tous les services administratifs, les encouragements et les aides qu'il m'avait accordés tout au long de mon séjour à l'ENA.*

Mr Rachid Bouamri*, Enseignant chercheur à l'ENA de Meknès, département de protection des plantes et de l'environnement, coordinateur du Projet « Fertile Date Palm » et directeur de thèse, je vous dis que vous êtes le deuxième parent pour moi, je n'oublierais jamais tous vos efforts pour m'orienter, me diriger, m'encadrer et me supporter. C'était vraiment une très bonne opportunité d'avoir un directeur comme vous. Vous êtes toujours mon tuteur aussi bien dans mes recherches que dans ma vie personnelle. De votre part, j'ai acquis une très bonne expérience aussi bien professionnelle que scientifique et c'est une fierté pour moi d'être encadré par un professeur comme vous. Je suis très reconnaissant de vos soutiens et de vos conseils fructueux et ces remerciements ne suffisent plus pour vous exprimer votre vraie valeur en tant que professeur, co-directeur de thèse et professionnel. Que Allah vous donne tout le bonheur avec votre petite et grande famille.*

Mes remerciements s'adressent à ***Mr Abdellatif Haggoud****, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès et mon directeur de Thèse, pour son encouragement, ses directives, son aide et ses conseils tout au long de mon travail de thèse. Vous étiez toujours proche de moi malgré toutes vos occupations et même si mes travaux de recherche aient été réalisés à l'ENA ou à l'INRA de Meknès. Je vois de vous l'un de mes proches qui me connait depuis la première année du Master en Biotechnologie Microbienne. Durant cette période j'ai beaucoup bénéficié de vos conseils et vos orientations pédagogiques.*

Mr El Hassan Achbani*, coordinateur de recherche au Centre Régionale de la Recherche Agronomique de Meknès (Unité de recherche en protection des plantes), je vous remercie chaleureusement pour toute la confiance que vous m'avez accordée au sein du laboratoire en me donnant tout l'accès aux produits chimiques et tout l'équipement et le matériel de l'unité, d'autres unités de recherches et à Qualipôle de Meknès. Aussi, vos encouragements, vos motivations et vos orientations m'ont permis de voir vraiment le chemin scientifique avec un œil analytique et plus attentif. Je me rappelle très bien le moment de mon premier pas au Laboratoire lors de la préparation de mon mémoire du Master, vous m'avez donné toute la confiance dont j'avais besoin.*

Je ne dois pas oublier de remercier chaleureusement Prof. Mustapha Fagroud du département de Production Végétale à l'ENA du Meknès pour sa contribution effective dans la réalisation de toutes les analyses statistiques menées dans ce travail de recherche en plus de ses orientations et ses encouragements.

REMERCIEMENT

Je tiens à remercier ***Prof. Hamid Mazouz, Prof. Mme Naima El ghachtouli*** *et* ***Prof. Lahcen Ouahmane****, Professeurs de l'enseignement supérieur respectivement à la FSM de Meknès, à la FST de Fès et à la FSSM de Marrakech d'avoir accepté de rapporter et de juger ce présent travail de recherche ainsi qu'au* ***Prof. Mohammed Iraqui*** *qui a accepté de présider le Jury de soutenance.*

Au sein du Département de Protection des Plantes et de l'Environnement (DPPE) de l'ENA, je tiens à remercier tous mes collègues ou plutôt mes frères et sœurs en commençant par ***Rania El hilali*** *(Ph. D),* ***Ou-zine Mohamed*** *(Ph. D),* ***Meryem Rahhali*** *(Ph. D) et les ingénieurs agronomes* ***Ahlam Sentil, Yassine Bouhlal, Asmae Meknassi****,* ***Soumia Ait Jilali*** *et* ***Ikram Derouich*** *qui ont contribué à l'élaboration de ce travail. Mes remerciements s'adressent également aux professeurs* ***Fouad Rachidi, Ghizlane Echchgadda, Saadia Belmalha,*** *professeurs au DPPE de l'ENA et à* ***Mr Kessou Hossa*** *du Laboratoire d'Ecophysiologie et Biotechnologie Végétale qui a fait beaucoup d'efforts pour m'aider tout au long de mes travaux de thèse.*

J'adresse mes sincères remerciements à ***Mr Tahiri Abdeslam****, Professeur à l'ENA du Meknès et responsable du laboratoire de phytopathologie (DPPE), pour sa confiance, sa disponibilité et son aide durant la préparation et la manipulation au sein du laboratoire. Je vous dis Merci infiniment, à travers vous j'ai pu réaliser beaucoup de test et de manipulations.*

Au sein de l'unité de recherche en protection des plantes de l'INRA de Meknès, j'adresse mes remerciements chaleureux à tout l'équipe, notamment ***Abdellatif Benbouazza et les doctorants Abdelaaziz Bouaichi, Soumia Sadik, Khaoula Habbadi, Nadia Allaoui, Mhamed Oufli*** *qui ont tous contribué de près ou de loin pour réussir ces recherches.*

Au sein du Laboratoire de Biotechnologie microbienne et molécules bioactives de la FST de Fès, J'adresse mes remerciements à tous les professeurs appartenant à cette structure, particulièrement Mr. ***Saad Ibn Souda Koraichi, Mme Naima El ghachtouli et Mr Mohammed Iraqui*** *qui m'ont beaucoup aidé dans les corrections de ce document (notamment les analyses statistiques). Du même laboratoire, je remercie* ***Mme Kaoutar Fikri Benbrahim, Mme Khadija Bekhti et Mme Sanae Guissi, et Mr Samir Ananou de m'avoir orienté et encouragé*** *ainsi que à la famille des doctorants et jeunes docteurs qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail ;* ***Moulay Sadiki, Hassan Berkai, Mounyr Balouiri, Yassir Lekbach, Alae Elabed, Nabil Tirry, Sara Lebrazi….***

Finalement, j'aimerai bien exprimer toutes mes reconnaissances à tous les staffs du personnel de l'ENA, de l'INRA et de la FST qui ont laissé leurs pointes dans ce travail de recherche et je m'excuse si j'avais oublié quelqu'un, car j'avais reçu beaucoup d'aides, d'encouragements et de soutiens de leurs parts.

Liste des abréviations

ACC	1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase	MAPK	Mitogen activated protein kinase
AIA	Acide indole 3-acétique	MAPM	Ministère de l'Agriculture et de la pêche Maritime
AIB	Acide indole 3-butyrique	MAPMDREF	Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forets
AMF	Arbuscular mycorrhizal fungi	MO	Matière organique
ANDZOA	Agence National pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier	NAM	Nutrient Agar Medium
APP	Appareil de pré-pénétration	NF	Norme Française
AS	Acide salicylique	N-fix	N-fix
Avr	Avirulence	NPK	Azote-Phosphore-Potassium
CA	Compost A	NPR1	Non-expressor Pathogenesis-Related genes
CB	Compost B	OEPP	Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes
cfu	Colony forming unit	ORMVAT	Office Régional de Mise en Valeur Agricole de Tafilalet
CM	Champignon mycorhizien	ONCA	Office National de Conseil Agricole
CMA	Champignon mycorhizien arbusculaire	ONSSA	Office National de la Sécurité Sanitaire des Aliments
CTAB	Hexadecyl-Trimethyl-Ammonium Bromide	PAMPs	Pattern Associated Molecular Pathogen
Cv	Cultivar	PCR	Polymerization Chaine Reaction
DAPG	2,4-Diacetylphloroglucinol	PDA	Potato Dextrose Agar
DC	fungal growth diameter in the control plate	PGPB	Plant Growth-promoting Bacteria
DT	fungal growth diameter in plate containing the PGPR strain	PGPR	Plant Growth-promoting Rhizobacteria
DW	Dry weight	PMV	Plan Maroc Vert
EDTA	Ethylène Diamine Tri-acetic Acid	POX	Peroxidase
ENAM	Ecole National d'Agriculture de Meknès	PRP	Pathogens related proteins
Eq	Equivalent	PSI	P-solubization index
ERM	Extra-radical mycelia	PT	Transporteur fongique de CM
ERO	Espèces Réactive d'oxygène	PTI	PAMP-Triggered Immunity
ET	Ethylène	RCBD	Rondomized Complet Blocks design
F	Frequency	Réf	Référence
FAO	Food and Alimentation Organization	RGR	Rate Growth
FM	Fresh Matter	SABP2	SA-Binding Protein
Foa	*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*	SAR	Systemic Acquired Resistance
FW	Fresh weight	SCE	Sterilized Compost Extract
GA	Galic Acid	Sid	Siderophore
HCN	Hydrogen Cyanid	SIDATTE	Salon International des Datte
I	Intensity	SOD	Superoxide Dismutase
IAA	3-indol Acetic Acid	SOM	Soil Organic Matter
INVAM	International Collection of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi	TCA	Trichloro-acetic acid
IR	Inhibition rate	TGA	Facteur de transcription
ISO	Inetrnational Standardization Organization	TMA	Tris Minimal Agar
ISR	Induced Systemic Resistance	TNK	Total Nitrogen Kjeldal
JA	Jasmonic Acid	TSA	Tryptic Soya Agar
KSI	K-solubilization index	UCE	Unsterilized compost extract
LCO-Myc	lipochitooligosaccharides-Myc (myorrhizal factor)	YEM	
LOX	Lipoxygénase	YPGA	Yeast Pepton Glucose Agar
LPS	Lipopolysaccharids	ZnSI	Zn-solubilization index

Liste des figures

Figure 1: Superficies cultivées et productions dattières des principales régions productrices des dattes au Maroc (MAPMDREF, 2018) 9
Figure 2: Evolution de la production dattière au Maroc entre 2006 et 2019 (FAO, 2019) 9
Figure 3: Symptômes et caractéristiques morphologiques de la fusariose vasculaire du palmier dattier: 16
Figure 4: Différents types et structures d'associations mycorhiziennes (Selosse and Tacon, 1998). 19
Figure 5: Différents morphotypes et structure de CMA (Bouamri, 2006) 20
Figure 6: Arbre phylogénétique des mycorhizes à arbuscules 21
Figure 7: Structures morphologiques et cycle biologique des CMA. (Bago et al., 2000) 23
Figure 8: Schémas illustrant les différentes étapes de processus de mycorrhization (Dhanker et al., 2020) 24
Figure 9: Schémas illustrant la voie d'absorption mycorhizienne du P, d'N et d'autres élément minéraux (Zn, K, S..) (Wang et al., 2017) 26
Figure 10: Voie d'induction des réactions de défense par les CMA et par un phytopathogène dans une cellule racinaire (Singh et al., 2019) 30
Figure 11: Résistance systémique induite chez les plantes par des PGPR (Jourdan et al., 2008b). 37
Figure 12: Structure générale des LPS (Reitz et al., 2002). 38
Figure 13: Modèle illustrant des voies de transduction de signal impliquées dans la résistance systémique induite par un pathogène (SAR) ou par une PGPR (ISR) (Jourdan et al., 2008a). 40
Figure 14: Mécanismes d'actions indirectes des PGPR vis-à-vis de la plante (Ahemad and Kibret, 2014) 41
Figure 15: Mécanismes de contrôle biologique des phytopathogènes par compost (Mehta et al., 2014). 52
Figure 16: Bayoud symptoms (El Kinany et al., 2017a) 61
Figure 17: Electrophoresis profile of PCR-product amplified by ITS-fu-f and ITS-fu-r primers. 65
Figure 18: Electrophoresis profile of PCR-product amplified by FOA28 and TL3 R specific-primers. 65
Figure 19: Mycelium growth of F. oxysporum f.sp. albedinis in response to different unsterilized compost extract concentrations after 8 days of incubation in PDA medium. 67
Figure 20: Mycelium growth of F. oxysporum f.sp. albedinis in response to different sterilized compost extract concentrations after 8 days of incubation in PDA. 67
Figure 21: Evolution of mycelia growth of Fusarium oxysporum f.sp. albedinis, in presence of unsterilized compost extract (a) and sterilized compost extract (b). 67
Figure 22: Glomus iranicum structures in micro-propagated date palm roots (cv. Boufeggous); 79
Figure 23: (a and b) Date palm plantlets (cv. Boufeggous) grown for twelve month in the greenhouse conditions 80
Figure 24: Date palm root colonized by AMF 1 and AMF2 inoculums after coloration technique 128
Figure 25: Randomized complete-block designs (RCBD) in greenhouse conditions 146
Figure 26: Evolution of roots colonization; frequencies and intensities of micro-propagated date palm (Boufeggous) under greenhouse conditions. Data present mean ± standard deviation of three replicates) 150
Figure 27: Nitrogen (N), phosphorus (N) and potassium (K) contents in leaflet of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) grown under greenhouse conditions during 14 months. 154
Figure 28: Magnesium (Mg) and calcium (Ca) contents in leaflet of micro-propagated date palm (cv. Boufeggous) grown under greenhouse conditions during 14 months. 155

Liste des tableaux

Tableau 1: Superficie, rendement et production des dattes par les pays producteurs (FAO, 2019). 7
Tableau 2: Principales maladies du palmier dattier au Maroc 11
Tableau 3: Principaux ravageurs du palmier dattier au Maroc (El Bouhssini and Faleiro, 2018) 12
Tableau 4: Différents effets des CMA sur la nutrition et la croissance des plantes (partie 1) 27
Tableau 5: Différents effets des CMA sur la nutrition et la croissance des plantes (partie 2) 28
Tableau 6: Différentes pathogènes telluriques contrôlés par les CMA (partie 1) 31
Tableau 7: Différentes pathogènes telluriques contrôlés par les CMA (partie 2) 32
Tableau 8: Composés organiques libérés par les racines des plantes (Uren, 2007). 35
Tableau 9: Molécules d'élicitation de mécanismes de défense et les microorganismes producteurs (Jourdan et al., 2008a). 39
Tableau 10:Différents traits caractéristiques des PGPR 43
Tableau 11: Effets des PGPR sur la croissance et la tolérance des plantes aux stress 44
Tableau 12: Effets des PGPRs sur la protection des plantes contre les phytopathogènes 45
Tableau 13: Effets du compost sur les propriétés du sol, la nutrition et la croissance des plantes (partie 1) 49
Tableau 14: Effets du compost sur les propriétés du sol, la nutrition et la croissance des plantes (partie 2) 50
Tableau 15:Quelques résultats de l'utilisation du compost en lutte biologique contre les phytopathogènes. 54
Tableau 16: Quelques résultats de la synergie entre compost, CMA et /ou PGPR 55

Table List

Table 1: mixture compositions for two PCR-reactions (genus and specie identification) _____ 62
Table 2: Sequences of primers for genus (ITS-Fu-f / ITS-Fu-r) and specie (TL3/ FOA28) identification _____ 62
Table 3: Rates of raw materials used in composting process _____ 63
Table 4: Physical and chemical properties of different composting raw materials _____ 63
Table 5: Physical and chemical properties of mature compost _____ 66
Table 6: Significant correlations of compost extract and rate inhibition of radius growth of Foa _____ 66
Table 7:Model of linear correlation between compost extract and rate inhibition ou F.oxysporum f.sp albedinis 66
Table 8: Rate inhibition of F. oxysporum f.sp. albedinis at different concentration of sterilized and unsterilized compost extracts. _____ 66
Table 9: Treatments description of the greenhouse experiment using micro-propagated date palm plantlets (cv. Boufeggous). _____ 76
Table 10: Physical and chemical characteristic of sandy soil used as basic substrate for greenhouse experiment. Data present means of three soil samples. _____ 77
Table 11: Frequency (%) and intensity (%) of root colonization by Glomus iranicum in micropropagated date palm grown under greenhouse conditions. _____ 78
Table 12: Rooting parameters of seedlings grown in different media and/or inoculated with Glomus iranicum under greenhouse conditions during 12 months. _____ 80
Table 13: Relative growth rate (RGR) of shoot height and stem diameters of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) under greenhouse conditions during 12 months). _____ 81
Table 14: Leaf parameters and chlorophyll contents of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) under greenhouse conditions during 12 months. _____ 81
Table 15: Leaf macro-elements of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) under greenhouse conditions during 12 months. _____ 82
Table 16: Leaf microelements of of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) under greenhouse conditions during 12 months. _____ 82
Table 17: Coordinates of sampling sites, their management systems and associated plant species in oases. ___ 99
Table 18: Soil characteristics for sampling sites. Data present mean ± standard deviation (n=3) _____ 99
Table 19: Results of plant growth-promoting traits for all PGPR strains. _____ 105
Table 20: Results of antifungal and enzymatic activities for all PGPR strains. _____ 106
Table 21: Compatibility of twelve rhizobacteria. NC= incompatible combination; C= compatible combination. _____ 109
Table 22 : physical and chemical properties of two composts (CA and CB). _____ 120
Table 23 : Frequency (F), Intensity (I), and spores density (D) of tow inoculum: AMF1 and AMF2 used in greenhouse experiment _____ 121

Table 24 : Treatment of greenhouse experiments (CA and CB: tow commercial composts; AMF1: autochthonous mycorrhizal fungi, AMF2: commercial strain, PGPR: PGPR consortium) 122
Table 25: C/N ratio, pH-value, soil organic matter (SOM) and limestone levels in rhizosphere soil for eighteen treatments. Data present means of three replicates. 124
Table 26: Macroelement contents in rhizosphere soil sampled from each treatments. 126
Table 27: Microelements contents (mg/kg) in rhizosphere soil sampled from each treatments. 127
Table 28 : Frequency (F %) and intensity (I %) of date palm plantlets (Boufeggous cv.) in three stage of growth under greenhouse conditions 130
Table 29: Degree of signification of the effects of AMF, PGPR, compost and their interactions on root and shoot parameters of micropropagated date palm under greenhouse conditions during 14 months. 132
Table 30: Rooting parameters of micropropagated date palm after 14 months of growth. 132
Table 31: Degree of significant at $P < 0.05$ of the effect of Compost, AMF and PGPR on macro and microelements contents in micropropagated date palm. 135
Table 32: Leaf macro and microelements contents in micropropagated date palm after 14 months under greenhouse conditions. 135
Table 33: Treatment of greenhouse experiment (CA and CB: commercial composts; AMF1: autochthonous consortium of AMF; AMF2: commercial strain of Glomus iranicum; PGPR: autochthonous consortium of selected strains and Foa: Fusarium oxysporum f.sp albedinis). 146
Table 34: Root and Shoot parameters of micropropagated date palm undergo to different treatements under greenhouse conditions 152
Table 35: p-value of variance analysis of the effect of AMF, Compost and PGPR on macro- and micro-nutrient contents in leaves sampled from each treatments 152
Table 36: Leaf microelements of micro-propagated date palm (cv. Boufeggous) grown under greenhouse conditions during 14 months. 157
Table 37: p-value of variance analysis of the effect of AMF. Compost and PGPR on soluble polyphenols contents and hydrogen peroxide in roots system (at 0.05 level). 159
Table 38: Soluble polyphenols and hydrogen peroxide in root system of date palm plantlets 159

Tableau de matières

Liste des Abréviation v
Liste des figures vi
Liste des tableaux vii
Table List vii
Liste des Annexes xii
Introduction générale 1
Chapitre 1: 5
Synthèse bibliographique 5
1 Classification systématique du palmier dattier 6
2 Importance de la phoeniciculture 6
2.1 Secteur phoenicicole mondial 6
2.2 Secteur phoenicicole au Maroc 6
2.2.1 Superficie cultivée 6
2.2.2 Production dattière au Maroc 8
2.3 Profil variétal du patrimoine phoenicicole national 10
3 Principaux ravageurs et maladies du palmier dattier 10
4 Maladie de la fusariose vasculaire « Bayoud ». 13
4.1 Importance de la maladie 13
4.2 Caractères morphologiques de Fusarium oxysporum f. sp albedinis (Foa) 13
4.3 Symptômes de la maladie sur le palmier dattier 14
4.4 Moyens de dissémination du champignon pathogène Foa 14
4.5 Progression du champignon Foa dans les vaisseaux cribro-vasculaires 15
4.6 Méthodes de lutte contre la maladie du « Bayoud » 17
4.6.1 Mesures prophylactiques 17
4.6.2 Lutte chimique 17
4.6.3 Résistance variétale 18
5 Alternatives biologiques de l'amélioration de la croissance du palmier dattier et de lutte contre Fusarium oxysporum f. sp albedinis 18
5.1 Importance des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) 18
5.1.1 Définitions et types de mycorhizes 18
5.1.2 Taxonomie des champignons mycorhiziens 19
5.1.3 Cycle biologique et anatomie des CMA 21
5.1.4 Nutrition et croissance des plantes par les CMA 23
5.1.5 Protection des plantes par les CMA 29
5.1.6 Les CMA et le palmier dattier 33
5.2 Importance des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) 34
5.2.1 Définitions 34
5.2.2 Sources nutritionnelles des PGPR 34
5.2.3 Modes d'action directes des PGPR 35
5.2.4 Modes d'action indirectes des PGPR 40
5.2.5 Contributions des PGPR à la croissance et à la protection des plantes 42
5.2.6 Intérêt des consortia et considérations d'utilisation des PGPR 46
5.2.7 Les PGPR et le palmier dattier 46
5.3 Importance du compost 48
5.3.1 Définitions 48
5.3.2 Importance du compost dans la croissance et la protection des plantes 48
5.4 Le compost et le palmier dattier 53
5.5 Importance de la combinaison entre le compost, les CMA et/ou les PGPR 53
Chapitre 2: 55
Evaluation in vitro de l'effet d'un extrait du compost sur le biocontrol du Fusarium oxysporum f. sp albedinis 55
Résumé 56
6 Publication 1: 58
In vitro evaluation of compost extracts efficiency as biocontrol agent of date palm Fusarium wilt 58
6.1 Abstract 58
6.2 Introduction 58
6.3 Materials and methods 60
6.3.1 Fungus isolation 60

6.3.2 Molecular identification 61
6.3.3 Compost source 62
6.3.4 Compost extract preparation 62
6.3.5 In vitro suppressive effect of compost extract 63
6.3.6 Experimental design and statistical analysis 63
6.4 Results and discussion 64
6.5 Conclusion and perspective 68
Chapitre 3: 69
Effets d'un fertilisant organique et d'une souche commerciale de champignon mycorhizien sur la croissance des vitro-plants du palmier dattier (cv. Boufeggous) 69
Résumé 70
7 Publication 2: Effect of organic fertilizer and commercial arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micro-propagated date palm cv. Boufeggous 74
7.1 Abstract 74
7.2 Introduction 74
7.3 Materials and methods 76
7.3.1 Plant material and experimental design 76
7.3.2 Inoculation method 76
7.3.3 Estimation of mycorrhizal colonization 76
7.3.4 Growth measurements 77
7.3.5 Statistical analysis 78
7.4 Results 78
7.4.1 Root colonization 78
7.4.2 Rooting parameters 78
7.4.3 Leaf parameters 79
7.5 Discussion 82
7.6 Conclusions 84
7.7 Acknowledgements 84
Chapitre 4 : 85
Isolement et screening des rhizobactéries associées au palmier dattier et aux plantes spontanées dans les oasis de Tafilalet .. 85
Résumé 86
8 Publication 3: 92
Characterization of plant growth promoting traits of bacterial isolates from the rhizosphere of date palms in Tafilalet Oases 92
8.1 Abstract 92
8.2 Introduction 93
8.3 Materials and methods 94
8.3.1 Sampling sites 94
8.3.2 PGPR isolation 94
8.3.3 Screening of plant growth-promoting traits 95
8.3.4 Fusarium wilt control 97
8.3.5 Enzymes activity 97
8.3.6 Compatibility screening 98
8.3.7 Statistical analysis 98
8.4 Results and discussion 99
8.4.1 Soil properties 99
8.4.2 PGPR isolation 100
8.4.3 Screening of plant growth-promoting traits 100
8.4.4 Fusarium wilt control 106
8.4.5 Enzymes activities and compatibility 107
8.5 Conclusions 109
8.6 Acknowledgement 109
Chapitre 5: 111
Effets du compost, des champignons mycorhiziens arbusculaires et des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes sur les propriétés physico-chimiques du sol, la croissance et la nutrition du palmier dattier cv. Boufeggous 111
Résumé 112
9 Publication 4: 117
Improving growth and nutrition of micro-propagated date palm (cv. Boufeggous) by compost, arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria 117

9.1 Abstract ... 117
9.2 Introduction ... 117
9.3 Materials and methods ... 120
9.3.1 Plants and substrates sources ... 120
9.3.2 AMF and PGPR inoculum ... 120
9.3.3 Experimental set-up ... 121
9.3.4 Soil and root colonization analysis ... 122
9.3.5 Growth control ... 122
9.4 Statistical analyzes ... 123
9.5 Results and discussion ... 123
9.5.1 Rhizosphere soil characteristics ... 123
9.5.2 Root colonization by mycorrhizal fungi ... 127
9.5.3 Roots and shoots parameters ... 129
9.5.4 Chlorophyll content. ... 131
9.5.5 Leaf nutrition ... 133
9.6 Conclusion ... 135
9.7 Acknowledgement ... 136
Chapitre 6: ... 137
Effet du compost, des champignons mycorhiziens arbusculaires et des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes sur la bioprotection du palmier dattier contre la maladie du Bayoud ... 137
Résumé ... 138
10 Publication 6: ... 143
Fusarium wilt control in date palm (c.v Boufeggous) using compost, arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria: application on micro-propagated plantlets under acclimatization stage ... 143
10.1 Abstract ... 143
10.2 Introduction ... 144
10.3 Materials and methods ... 145
10.3.1 Experimental set up ... 145
10.3.2 Plants and substrates ... 146
10.3.3 PGPR, AMF and Foa inocula ... 147
10.3.4 Estimation of mycorrhizal colonization ... 147
10.3.5 Root and shoot parameters ... 147
10.3.6 Leaf nutrients evaluation ... 147
10.4 Biochemical analyzes ... 148
10.4.1 Soluble polyphenols quantification ... 148
10.4.2 Hydrogen peroxide quantification ... 148
10.5 Statistical analyses ... 149
10.6 Results and discussion ... 149
10.6.1 Root colonization with mycorrhiza ... 149
10.6.2 Shoot and root parameters ... 150
10.6.3 Leaf macro and micronutrients ... 151
10.6.4 Fusarium wilt control ... 156
10.7 Conclusions ... 159
Conclusions générales et perspectives ... 161
11 References ... 164
12 Annexes: Tableaux statistiques ... 183
12.1 In vitro screening of PGPRs and Fusarium wilt control ... 183
12.2 Essais agronomiques (sous serre) : Nutrition et croissance des plantes ... 194
12.3 Essais agronomiques (sous serre) : Lutte contre la fusariose vasculaire sous serre ... 212

Liste des annexes

Annexe 1: Homogénéité des variances (PGP screening) 183
Annexe 2: ANOVA 1: P, K and Zn solubilization and ammonia and IAA production 183
Annexe 3: ANOVA à 1 facteur ; Siderophores production by PGPR 183
Annexe 4: Multiple comparison (P solubilization); Duncan's test 184
Annexe 5: Multiple comparison (K solubilization); Duncan's test 185
Annexe 6: Multiple comparison (Zn solubilization); Duncan's test 186
Annexe 7: Multiple comparison (NH3 production); Duncan's test 187
Annexe 8: Multiple comparison (IAA production); Duncan's test 188
Annexe 9: Multiple comparison (Siderophore production); Duncan's test 189
Annexe 10: ANOVA 1: Amylase activity 189
Annexe 11: Multiple comparaison; amylase activity 190
Annexe 12: ANOVA 1; Chitinase activity (Duncan's test) 190
Annexe 13:Multiple comparaison; Chitinase activity (Duncan's test) 190
Annexe 14: ANOVA 1: Cellulase activity 190
Annexe 15: Multiple comparison; Cellulase activity (Duncan's test) 191
Annexe 16: ANOVA 1: In vitro Fusarium wilt control via antagonism 191
Annexe 17: Multiple comparison: Antagonism (Duncan's test) 192
Annexe 18: ANOVA 1: In vitro inhibition of Foa via Supernatant 192
Annexe 19: Multiple comparaison; Réduction de croissance du Foa par les métabolites du PGPR (Duncan's test) 193
Annexe 20: Factors inter-subjects 194
Annexe 21: Analyse de la variance (ANOVA 4) : Root number of plants 194
Annexe 22: ANOVA 4 ; Root weight 195
Annexe 23: ANOVA 4 ; Shoot weight 195
Annexe 24: ANOVA 4; Growth rate of length 196
Annexe 25: ANOVA 4; Growth rate of stem 196
Annexe 26: ANOVA 4; Chlorophyll content 197
Annexe 27: ANOVA 4 ; Leaf number 197
Annexe 28: ANOVA 4; Pinnate number 198
Annexe 29: ANOVA 4; leaf N-content 198
Annexe 30: ANOVA 4 ; leaf P- content 199
Annexe 31: ANOVA 4; leaf K-content 199
Annexe 32: ANOVA 4; Leaf Mg -content 200
Annexe 33: ANOVA 4; Leaf Ca-centent 200
Annexe 34: ANOVA 4; Leaf Mn-content 201
Annexe 35: ANOVA 4; leaf Fe-content 201
Annexe 36: ANOVA 4; Leaf Cu-content 202
Annexe 37: ANOVA 4; Leaf Zn-content 202
Annexe 38: ANOVA 4; Leaf B-content 203
Annexe 39: Multiple comparison; Root number (Duncan test) 203
Annexe 40 Multiple comparison; Root weight (Duncan's test) 204
Annexe 41: Multiple comparaison; Shoot weight (Duncan's test) 204
Annexe 42: Multiple comparison Leaf number (Duncan's test) 205
Annexe 43: Multiple comparison; Pinnate Number (Duncan's test) 205
Annexe 44: Multiple comparison ;Chlorophyll content (Duncan test) 206
Annexe 45: Multiple comparison Leaf N-content (Duncan's test) 206
Annexe 46: Multiple comparison Leaf P-content 207
Annexe 47: Multiple comparison; Lef K-content 207
Annexe 48: Multiple comparison ; Leaf Mg-content 208
Annexe 49: Multiple comparison; Leaf Ca-content 208

Annexe 50: Multiple comparison; Leaf Zn-content 209
Annexe 51: Multiple comparison ;Leaf Cu-content 209
Annexe 52: Multiple comparison ;Leaf Mn-content 210
Annexe 53: Multiple comparison ; Leaf Fe-content 210
Annexe 54: Multiple comparison ; Leaf B-content 211
Annexe 55: Five Way ANOVA (Root Fresh weight) 212
Annexe 56: Five way ANOVA (Root number) 213
Annexe 57: Five Way ANOVA (Shoot fresh weight) 213
Annexe 58: Five way ANOVA (Leaf N-content) 214
Annexe 59: Five way ANOVA (Leaf P-content) 214
Annexe 60: Five way ANOVA (Leaf K-content) 215
Annexe 61: Five way ANOVA (Leaf Mg-content) 215
Annexe 62: Five way ANOVA (Leaf Ca-content) 216
Annexe 63: Five way ANOVA (Leaf Zn-content) 216
Annexe 64: Five way ANOVA (Leaf Cu-content) 217
Annexe 65: Five way ANOVA (Leaf Mn-content) 217
Annexe 66: Five way ANOVA (Leaf Fe-content) 218
Annexe 67: Five way ANOVA (Leaf B-content) 218
Annexe 68: Five way ANOVA (Root polyphenols) 219
Annexe 69: Root hydrogen peroxid 219
Annexe 70: One Way ANOVA (treatment): root and shoot parameters 220
Annexe 71: One Way ANOVA (treatment); Leaf nutrients and biochemical parameters 221
Annexe 72: Comparison multiple (In vivo Fusarium wilt control); Root fresh weight 222
Annexe 73: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Shoot fresh weight 222
Annexe 74: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Root number 223
Annexe 75: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf N-content 223
Annexe 76 : comparaison multiple (Fusarium wilt control); Leaf P-content 224
Annexe 77: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Leaf K-content 224
Annexe 78: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf Mg-content 225
Annexe 79: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Leaf Ca-content 225
Annexe 80: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf Zn-content 226
Annexe 81: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf Cu-content 226
Annexe 82: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf Mn-content 227
Annexe 83: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Leaf Fe-content 228
Annexe 84: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf B-content 228
Annexe 85: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Soluble polyphenols 229
Annexe 86: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; H_2O_2 229

Introduction générale

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), appartenant à la famille des Palmaceae, constitue le pivot de l'écosystème oasien dans les régions sahariennes et présahariennes du Maroc. Il joue un rôle d'écran en protégeant les oasis contre les influences désertiques et crée un microclimat propice au développement de nombreuses cultures sous- jacentes, source de vie de plusieurs familles au sein des oasis (El Bouhssini and Faleiro, 2018; MAPMDREF, 2018; Sedra, 2015). L'importance nutritionnelle et diététique du palmier dattier, son adaptation aux différents types du sol et sa tolérance aux contraintes climatiques sévissant dans les régions arides et semi-arides, font que son rôle est crucial dans la vie oasienne ; d'ailleurs, c'est la source économique principale des agriculteurs locaux (Al-shahib and Marshall, 2003; Saafi et al., 2008).

Aujourd'hui la phoeniciculture est pratiquée dans 30 pays dans le monde, répartis dans les quatre continents ; l'Afrique, l'Amérique, l'Asie, et l'Europe avant qu'elle ait été limitée en Afrique et au Moyen-Orient (El Bouhssini and Faleiro, 2018). En effet, le secteur phoenicicole est en évolution à l'échelle mondiale. La production a atteint 8,17 millions de tonnes en 2019 répartie sur une superficie de plus de 1,1 millions ha et avec un rendement de 7,8 tonnes/ha (FAO, 2019). Toutefois, le Maroc est depuis longtemps classé en 12ème rang, derrière la Chine, malgré la disponibilité de 453 variétés comme patrimoine phoenicicole et d'une surface cultivée de plus de 60 000 ha (MAPMDREF, 2018). D'ailleurs, le rendement dattier au Maroc (2,4 tonnes/ha) reste encore en dessous du rendement moyen mondial (AgriMaroc, 2017; MAPMDREF, 2018).

Pour concourir le marché national et international, le Maroc a dû faire face aux problèmes liés aux différentes lacunes en matière de productivité, de la surface cultivée et du rendement du palmier dattier. D'où la naissance du Plant Maroc Vert à la fin de la compagne 2008 dont ses principaux objectifs sont l'extension de la surface cultivée, la plantation des vitro-plants sains appartenant aux variétés nobles, notamment « Mejhoul et Boufeggous », et l'adoption du système d'irrigation « Goutte à Goutte » (MAPM, 2013). D'ailleurs, la superficie cultivée a évolué de 48 000 ha en 2010 jusqu'à 63 000 ha, mais la production n'a pas dépassé 143 000 tonnes en 2019 (MAPMDREF, 2018). Cette discordance n'est expliquée que par la faible productivité du palmier dattier au Maroc. Les causes principales de cette faiblesse du secteur sont la pauvreté du sol dans les régions productrices (notamment celle d'Errachidia), les différents stress sévissant dans ces régions, à savoir la salinité, la sècheresse et la désertification, le manque de fertilisation, le faible taux de matière organique, les caractéristiques physicochimiques du sol défavorables (en particulier au niveau des palmeraies traditionnelles),

les maladies (le Bayoud, les pourritures des inflorescences etc.) et les ravageurs (la cochenille, les acariens etc.) dont leurs traitements phytosanitaires sont rarement effectués (Bouamri et al., 2006; El Bouhssini and Faleiro, 2018; Mainguet et al., 2011a; Sedra, 2012, 2015). Toutes ces problématiques limitent significativement la production et le rendement du palmier dattier et freinent la compétition du Maroc devant les autres pays producteurs. Ajoutons à cela que même les phoeniciculteurs, notamment ceux dont leurs palmeraies sont traditionnelles, n'appliquent rarement qu'une faible quantité de fertilisants organiques et/ou minéraux. De nos jours, les recherches pour résoudre ces problèmes et sauver les agriculteurs et les investisseurs au niveaux des oasis sont tellement manquantes, en particulier dans des conditions pédologiques et climatiques très difficiles.

D'une part, le compost est un produit fini du processus du compostage, récemment utilisé en agriculture pour ses rôles cruciaux en matière d'amélioration des propriétés physicochimiques du sol (Abou EL-Magd et al., 2016; Bueno et al., 2014; Zhang et al., 2014), de sa richesse en microorganismes phytobénéfiques actives (Das et al., 2017; Mehta et al., 2015; On et al., 2015; Suarez-Estrellaa et al., 2007) et de sa contribution à l'amélioration de la croissance et à la bioprotection des plantes (Chakroune et al., 2008; Markakis et al., 2016; Mehta et al., 2014; On et al., 2015; Suarez-Estrella et al., 2007). D'autre part, les champignons mycorhiziens (CM) font une association symbiotique avec plus de 95 % d'espèces végétales (Singh et al., 2019), alors que les champignon mycorhiziens arbusculaires (CMA) avec 80 % d'espèces végétales (Bouamri, 2006) et leur confèrent une bonne absorption hydrique et nutrition minérale (Abdel Latef and Chaoxing, 2011; Al-Karaki, 2013; Bai et al., 2008; Boutheina- et al., 2016) ainsi qu'une protection contre plusieurs phytopathogènes (Jaiti et al., 2008; Jeffries et al., 2003; Jung et al., 2012; Souna et al., 2010). Egalement, les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) sont des bactéries douées de nombreuses fonctions directes et indirectes sur la plante ; à titre d'exemples, fixation d'azote (Islam et al., 2016), la solubilisation du phosphate (Acevedo et al., 2014; Carlos et al., 2015; Iqbal et al., 2010; Laslo et al., 2012; Moreno-Ramirez et al., 2015), du potassium et du zinc inorganiques (Basak and Biswas, 2009; Dhaked et al., 2017; Meena et al., 2015; Parmar and Sindhu, 2019; Salama et al., 2014), la production des siderophores (Ahmad et al., 2008; Alexander and Zuberer, 1991; Budzikiewicz, 2004; Kumar et al., 2018; Marques et al., 2010; Sah and Singh, 2015), des phytohormones (Glick et al., 2007; Islam et al., 2016; Leinhos and Vacek, 1994) et des enzymes (Downer et al., 2001; Mehnaz et al., 2010; Siddikee et al., 2010) agissant directement sur des phytopathogènes. Ajoutons à cela que la combinaison entre le compost, les CMA et les PGPR autochtones bien adaptés aux conditions écologiques des oasis pourrait avoir des fonctions synergiques entre les trois

composantes sachant que les travaux menés sur le palmier dattier se limitent principalement à l'utilisation unique des complexes de CMA ou du compost sur des petite plantules issues de la germination des noyaux (Abohatem et al., 2011; Baslam et al., 2014; Chakroune et al., 2008; Jaiti et al., 2008; Sghir et al., 2015; Shabbir et al., 2010; Souna et al., 2010).

Dans ce contexte, sont nées nos hypothèses. En premier lieu, on a voulu voir si ces trois composantes (compost, CMA et PGPR) auront des effets sur les propriétés physico-chimiques du sol, la nutrition foliaire et la croissance des vitro-plants issus de la culture *in vitro*. En deuxième partie, on a voulu voir si ces mêmes composantes auraient un impact sur la fusariose vasculaire du palmier dattier (Bayoud). A l'issus de ces hypothèses, notre vision est l'élaboration d'un biofertilisant organique fiable et applicable chez les agriculteurs des régions productrices des dattes afin de maintenir une agriculture durable au niveau des oasis.

Les travaux de recherche menés jusqu'aujourd'hui sur le palmier dattier ont été effectués uniquement sur des plantules issues de la germination des noyaux. Ceci crée un problème de non-reproductibilité des résultats obtenus sur des plantules génétiquement hétérogènes. D'un autre côté, une contrainte de compatibilité entres les souches et les variétés du palmier dattier peut avoir lieu. Autrement dit, on ne peut pas savoir quelle souche de CMA ou de PGPR serait compatible avec quelle variété du palmier dattier. Pour ces raisons, on aura besoin des souches mycorhiziennes et bactériennes bien adaptées et compatibles avec des variétés nobles comme Boufeggous et Mejhoul et génétiquement identiques (vitro-plants) et ainsi des résultats fiables et reproductibles sur lesquels on pourra se baser pour élaborer un biofertilisant organique efficace.

Par ailleurs, des travaux de recherche récents ont rapporté que l'utilisation du compost inoculé avec des PGPR et/ou des CMA ou l'application des inocula incluant les CMA et les PGPR à la fois, a donné des résultats beaucoup plus prometteurs que l'application individuelle de chaque composante. Cette fonction synergique concerne aussi bien l'amélioration de la croissance que la protection des plantes comme le cas de la tomate (Lachisa and Dabassa, 2016), du Haricot (Mohamed et al., 2019) de l'Onion (Abou-el-hassan et al., 2018) de la Pomme de terre (Aguk et al., 2018) du Radis (Ahmad et al., 2018) et du Chou (Tran et al., 2019).

Par contre, chez le palmier dattier, uniquement des complexes ou des souches allochtones de CMA (Abohatem et al., 2011; Jaiti et al., 2008, 2007), du compost (Barje et al., 2016) ou des rhizobactéries allochtones et non adaptés aux régions arides (Dihazi et al., 2012; El Hassni et al., 2007; Majida El Hassni et al., 2004) ont été évalués sur des plantules issues de la germination des noyaux. Alors qu'aucune étude n'a été effectuée pour l'évaluation d'une

éventuelle synergie entre le compost, les CMA et les PGPRs localement adaptés aux climat de la croissance du palmier dattier et des cultures associées.

Dans ce contexte sort notre objectif principal qui porte sur l'évaluation de l'efficience du compost, des CMA et des PGPR pour leurs contributions à la fertilité du sol, à la nutrition minérale, à la croissance et à la bioprotection des vitro-plants du palmier dattier contre la fusariose vasculaire « Bayoud ». Pour cela, nos objectifs spécifiques ont porté sur :

- L'évaluation de l'effet des extraits du compost sur la croissance mycélienne de l'agent causal du Bayoud, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa) ;
- L'isolement et la caractérisation des fonctions des PGPR associés au palmier dattier dans les différentes oasis de Tafilalet (zones arides) et aux plantes spontanées fréquemment développées dans le désert ;
- L'évaluation de l'effet de différentes souches PGPR et leurs métabolites secondaires sur la croissance mycélienne du Foa;
- L'évaluation de l'effet du compost et d'une souche commerciale de CMA sur la croissance et la nutrition foliaire des vitro-plants du palmier dattier (cultivar Boufeggous) *;*
- L'évaluation de l'effet du compost, des souches de CMA et de PGPR localement adaptées sur les propriété physico-chimiques du sol, la nutrition foliaire et la croissance des vitro-plants (cultivar Boufeggous) ;
- L'évaluation de l'effet de ces trois composantes sur la nutrition foliaire, et la bioprotection des vitro-plants du palmier dattier contre la maladie du « Bayoud ».

Chapitre 1:

Synthèse bibliographique

1 Classification systématique du palmier dattier

Le palmier dattier est une espèce végétale dioïque, monocotylédone dont la classification systématique est la suivante (Dransfield and Uhl, 1986):

- Groupe : *Spadiciflora*
- Ordre : *Palmea*
- Famille : *Palmaceae*
- Sous famille : *Coryphyoideae*
- Genre : *Phoenix*
- Espèce *: Phoenix dactylifera L.*

2 Importance de la phoeniciculture

2.1 Secteur phoenicicole mondial

Depuis plusieurs décennies, le palmier dattier était principalement cultivé au Nord-africain et au Moyen-Orient, mais actuellement, sa culture est pratiquée dans 30 pays reparties entre les quatre continents (El Bouhssini and Faleiro, 2018). Par conséquent, la production mondiale en dattes a augmenté de 1,8 million tonnes en 1992 jusqu'à 8,17 millions de tonnes en 2019, avec un rendement moyen de 33 kg/pied et de 7,8 tonne/ha (FAO, 2019). De plus, le nombre de pieds existants dans le monde atteint actuellement plus de 100 millions pieds dont 60% se trouvent dans les régions de Moyen-Orient et le Nord-Africain ; 50% de ces pieds sont âgés de moins de 20 ans (El Bouhssini and Faleiro, 2018). Le tableau ci-dessous (tableau 1) illustre la superficie productive, la production et le rendement dattiers chez 25 pays producteurs des dattes dont l'Egypte vient en 1er rang et le Maroc en 12ème rang en terme de production.

2.2 Secteur phoenicicole au Maroc

2.2.1 Superficie cultivée

Depuis longtemps, le palmier dattier, planté principalement le long des vallées du Ziz (Errachidia) et du Drâa (Ouarzazate et Zagora), était considéré comme le pivot central autour duquel s'articule la vie dans les zones sahariennes et présahariennes. Actuellement, la surface cultivée a connu une évolution croissante en passant de 48 000 ha en 2010 à 63 000 ha à la fin du 2019 avec 7 million pieds (6,7% du patrimoine phoenicicole mondiale) dont 41% sont déjà productifs (MAPMDREF, 2018). Ce vaste territoire englobe plusieurs provinces du sud du Maroc : de Guelmim à l'Ouest, jusqu'à Figuig à l'Est, en passant par Tiznit, Tata, Zagora, Ouarzazate, Tinghir et Errachidia. (FAO, 2019; MAPMDREF, 2018).

Tableau 1: Superficie, rendement et production des dattes par les pays producteurs (FAO, 2019)**.**

Pays producteurs	Superficie* (ha)	Rendement (tonne/ha)	Production (tonnes)
Algérie	168855	6,5	1094700
Arabie saoudite	116125	11,3	1302859
Bahreïn	3177	3,4	10682
Chine	13876	11,4	158294
Égypte	49184	31,8	1562171
Émirats arabes unis	38117	9,1	345119
Espagne	465	3,5	1638
Etats-Unis d'Amérique	5301	7,0	37240
Iran	171647	7,0	1204158
Iraq	147900	4,2	614584
Israël	4733	9,4	44580
Jordanie	3146	6,2	19588
Koweït	3353	28,8	96656
Libye	32500	5,4	176229
Maroc	59127	2,4	143701
Mauritanie	9058	2,4	22049
Oman	25125	14,8	368808
Pakistan	100611	4,7	471670
Palestine	1428	2,5	3508
Qatar	2417	12,0	29012
République arabe syrienne	370	8,1	3000
Soudan	37225	11,8	440871
Turquie	57329	4,2	241333
Tunisie	2610	13,6	35577
Yémen	13736	3,5	48108

* : Superficie qui donne la production des dattes

Quant aux régions productrices au Maroc, Drâa-Tafilalet vient en premier rang avec une superficie cultivée de 48 453 hectares (Fig.1), y compris les zones d'extension nouvellement implantées. En plus, ce territoire regroupe à lui seul plus de 100 000 producteurs et 21 groupements d'intérêts économiques. En deuxième rang, la région Souss-Massa possède un territoire phoenicicole de 8 000 ha (Fig.1). Quant à la région de Figuig et celle de Guelmim-Oued Noun , la surface occupée par le palmier dattier et de l'ordre de 1 787 ha et 1400 ha respectivement (MAPMDREF, 2018) (Fig.1).

Par ailleurs, ce plan de développement du palmier dattier vise l'augmentation de la surface du palmier dattier de 48 000 ha en 2010 jusqu'à 65 000 ha à l'échéance 2020, avec la plantation de 3 millions pieds, en reconstituant et en densifiant la palmeraie déjà existante et en créant 17 000 ha de nouvelles plantations (MAPMDREF, 2018). Cette extension n'a fait recours qu'aux subventions dans les projets de plantation des vitro-plants au sein des foyer encore indemne de la maladie du « Bayoud » (MAPM, 2013). Parmi les mesures prises en compte lors de la plantation de nouveaux vergers, l'irrigation en goutte-à-goutte a été recommandée pour limiter

la dissémination rapide de la maladie via l'eau d'irrigation, la plantation des vitro-plants indemnes et l'interdiction de la plantation des rejets (MAPMDREF, 2018).

2.2.2 Production dattière au Maroc

La production dattière moyenne des dattes a été de l'ordre de 85 800 tonnes en 2010, avec environ 25% de dattes de bonne qualité marchande (Fig.1). Cependant, en fin 2019, elle a atteint 143 000 tonnes, soit une hausse de 41% (FAO, 2019). Ce changement rend la filière des dattes le principale support d'une activité commerciale importante entre le Sud et le Nord du pays et fournit presque 3,6 millions journées de travail pour plus de 2 millions d'habitants en contribuant avec 60 % dans la formation du revenu agricole au sein des oasis (MAPMDREF, 2018).

En se basant sur leurs productions, les principales régions productrices au Maroc sont les suivantes (SIDATTE, 2019) :

En premier rang, Drâa-Tafilalet a enregistré une production moyenne annuelle de 94 000 tonnes (85% de la production nationale) pendant la période de 2010-2018 (Fig.1). En deuxième rang, vient la région Souss-Massa avec une production moyenne annuelle de 8 041 tonnes (Fig.1). Ensuite, la région de Figuig dont la production moyenne annuelle est seulement de 4 000 tonnes (4% de la production nationale). En fin, la quatrième région est celle de Guelmim-Oued Noun avec une production moyenne de 3 000 tonnes récolté, soit 3% de la production nationale (SIDATTE, 2019) (Fig.1).

Cette mise à niveau de la filière phoenicicole au Maroc et la restauration de la palmeraie n'a été enclenchée qu'en 2008 par le fameux Plan Maroc Vert (PMV), qui a inclus plusieurs établissements du Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, de Développement Rural et des Eaux et Forêts (MAPMDREF) à savoir l'Office National du Conseil Agricole (ONCA), l'Office Nationale de la Sécurité Sanitaire des Aliments (ONSSA), Agence National pour le Développement des Zones oasiennes et de l'Arganier (ANDZOA). Le graphique ci-dessus (Fig. 1) illustre l'évolution de la production en datte marocaine durant la période 2006-2019 (MAPMDREF, 2018). Cette évolution cruciale ne revient qu'aux investissements et subventions dispensés grâce au PMV.

Ce plan devrait permettre d'atteindre 160 000 tonnes de production à l'horizon 2020 et 185 000 tonnes en 2030 (MAPMDREF, 2018). Les résultats à mi-parcours sont déjà très encourageants, avec 143 000 tonnes produites en fin 2019 sur une surface cultivée de 63 000 ha avec un rendement moyen de 33kg/pied qui maintient le Maroc au 12ème rang de production mondiale (FAO, 2019; MAPMDREF, 2018) (Fig.1).

Toutefois, la production nationale a dû faire face à des contraintes grandissantes, qu'elles soient agronomiques (faible disponibilité en eau, ensablement des terres arables, salinité d'eau , déficience du sol en éléments nutritifs et fragilité de l'écosystème oasien) ou climatiques (augmentation de la fréquence d'années de sècheresse, précipitations faibles et non-régulières) (El hafyani et al., 2019; Mainguet et al., 2011b). Pour ces raisons, des centaines de milliers de palmiers dattiers et même certaines variétés ont ainsi été disparues (El Bouhssini and Faleiro, 2018; Sedra, 2015). Ainsi, le Maroc ne cesse pas d'importer d'environ 30 % des dattes, particulièrement aux périodes de festivité et au mois de Ramadan (MAPMDREF, 2018). Cependant, à partir de 2020, le taux d'importation commencerait à diminuer suite à l'entrée en production des nouvelles plantations (MAPMDREF, 2018).

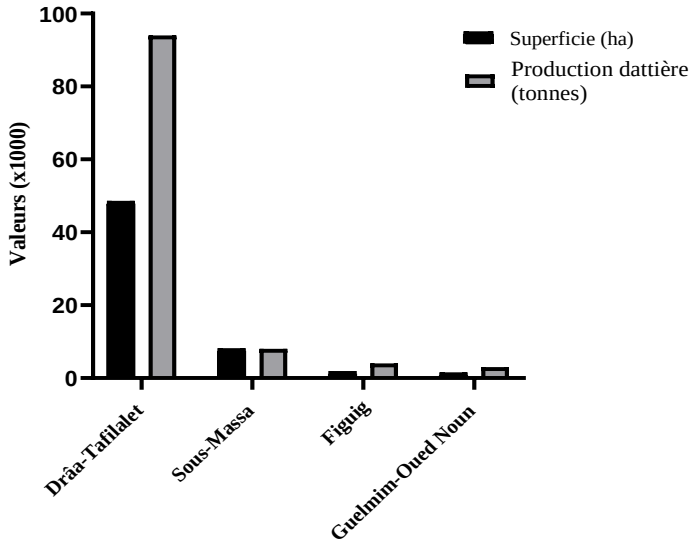

Figure 1: Superficies cultivées et productions dattières des principales régions productrices des dattes au Maroc (MAPMDREF, 2018)

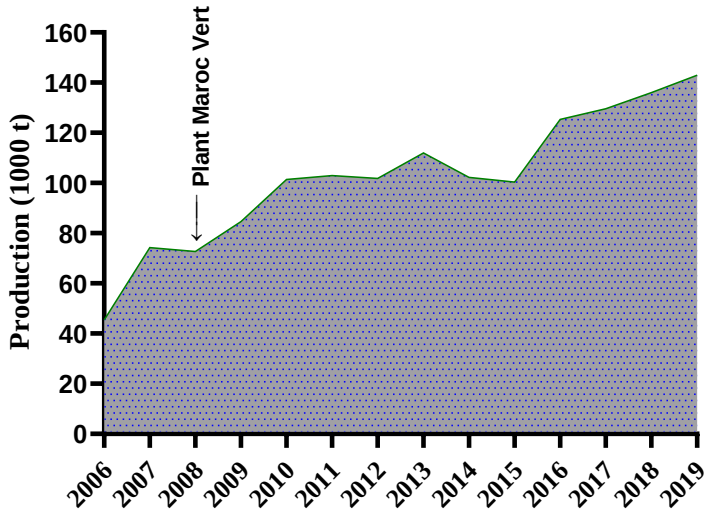

Figure 2: Evolution de la production dattière au Maroc entre 2006 et 2019 (FAO, 2019)

2.3 Profil variétal du patrimoine phoenicicole national

Contrairement à la majorité des pays producteurs des dattes qui possèdent des vergers composés quasiment de quelques dizaines de variétés (cas de l'Algérie, la Tunisie et la Lybie), la composition variétale du patrimoine marocain est constituée de plus de 453 variétés (Sedra, 2015). Ces variétés sont classées en catégories selon leurs importances agro-économiques. La variété Mejhoul se situe en première catégorie suivie des variétés Boufeggous, Boussekri, Nejda, Jihel (Sedra, 2012). Ces variétés sont les plus demandées et les plus marchandes dans le marché local, national et international (MAPMDREF, 2018). Ainsi, leur production est assurée par culture *in vitro* pour satisfaire les besoins des agriculteurs comme il est recommandé par le Plan Maroc Vert (MAPMDREF, 2018). En outre le MAPMDREF insiste sur la multiplication *in vitro* d'autre variétés comme Aziza, Nejda, Boussekri, les mâles…et même d'autres variétés étrangère pour concourir les autres pays du monde et conserver le patrimoine variétal marocain.

3 Principaux ravageurs et maladies du palmier dattier

En raison de l'extension des surfaces cultivées du palmier dattier à l'échelle régionale, nationale et internationale et du fait que la majorité des pieds (plus de 50%) sont en stade adulte (moins de 20 ans), les maladies du palmier dattier et les ravageurs deviennent de plus en plus divers (El Bouhssini and Faleiro, 2018). En effet, de nombreux problèmes phytosanitaires entravent l'extension et la production du palmier dattier dont les plus connus au Maroc sont décrits et illustrés sur les tableaux 2 et 3.

Tableau 2: Principales maladies du palmier dattier au Maroc

Maladie	Pathogènes	Symptômes	Réf.	Illustrations
« Bayoud » (*Fusarium* wilt)	*Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* Kill. & Maire (champignon imparfait, ordre des Moniliales, famille des Tuberculariaceae)	Flétrissement unilatéral qui devient général sur les palmes de la couronne moyenne. Celles-ci prennent l'aspect d'une plume mouillée.	(Sedra, 2012)	
« Khamedj » Pourriture des inflorescences	- Mauginiella scaettae Mich. & Sabet - Fusarium moniliforme J. Sheld. - Thielaviopsis paradoxa (Dade)	Les champignons affectent les inflorescences mâles et femelles au moment de l'émergence des spathes au printemps. Ils provoquent leur pourriture dont la couleur dépend de l'espèce fongique responsable.	(El Bouhssini and Faleiro, 2018)	
Pourriture du cœur (dessèchement noir des palmes)	-*Thielaviopsis paradoxa* - *Thielaviopsis punctulata*	- Pourriture terminale des palmes ; - Brulures des palmes -Brulure des inflorescences - Pourriture du bourgeon et/ou du tronc.	(El Bouhssini and Faleiro, 2018)	
Spots brunes des feuilles	- *Cladosporium herbarum* - *Alternaria alternata* - *Drechslera australiensis* - *Thielaviopsis paradoxa* - *Pestalotiopsis palmarummay*	Lésions noires sur les folioles et le rachis ; Taches grises avec une marge brune au centre ; Taches rouge-brunes sous forme des lignes parallèles ; Spots noirs, longitudinal et/ou circulaire; Brulures sur le rachi.	(Ammar and El-Naggar, 2011)	
Pourriture de fruit	Nombreuse espèces fongiques et/ ou bactériennes à savoir: *Aspergillus niger, Alternaria alternata, Acetobacter sp., Penicillium expansum,*	Taches brunes en stade maturité ; Pourriture des fruits durant le stockage et dans les magasins de commercialisation ;	(El Bouhssini and Faleiro, 2018)	

Tableau 3: Principaux ravageurs du palmier dattier au Maroc (El Bouhssini and Faleiro, 2018)

Ravageurs	**Non scientifique**	**Symptômes**	**dégâts**	**Illustrations**
Acarien jaune du palmier dattier ; « Boufar-oua »	*Oligonychus afrasiticus*	Présence de toiles soyeuses blanches ou grisâtres sur le fruit (parfois les feuilles) avant et/ou après la maturation	Les attaques commencent aux pédoncules puis gagnent tout le fruit vert. Les dattes deviennent impropres à la consommation.	
Cochenille blanche	*Parlatoria blanchardi*	Encroutement blanc sur la surface des feuilles et de rachis et fruits	Réduction de l'intensité de la photosynthèse et de la respiration. Rendement et qualité faibles (dattes moins marchandes.	
Pyrale des dattes	*Ectomoyelois ceratoniae*	Présence des grumeaux d'excréments des larves à l'intérieur du fruit	Les dattes attaquées se détachent facilement du régime de datte et par conséquent la perte de la production (jusqu'à 20 %).	 (Beladis et al., 2018)
Charançon rouge du palmier	*Rhynchophorus ferrugineus*	Flétrissement et dessèchement des palmes, trous au niveau du tronc avec un liquide brun qui dégage une odeur désagréable	La femelle de l'insecte pond ses œufs dans les blessures ou les plaies du tronc au niveau de la couronne foliaire. Les larves se développent dans les galeries et provoque la pourriture du tronc et la mort du pied infecté.	 **(El Bouhssini and Faleiro, 2018)**

4 Maladie de la fusariose vasculaire « Bayoud ».

4.1 Importance de la maladie

Le Bayoud ou fusariose vasculaire du palmier dattier, est une très grave maladie du palmier dattier qui décime les palmeraies du Maroc (El Bouhssini and Faleiro, 2018). Cette fusariose qui a détruit les 2/3 de la palmeraie marocaine (Dihazi, 2012) pose des problèmes sérieux d'ordre technique, économique et social (Fernandez et al., 1998; Saaidi, 1992). Au Maroc, elle a été détectée et décrite pour la première fois, dans la vallée de Drâa en 1870 et a atteint les palmeraies de Figuig et Béni Onif situées côte à côte des deux côtés de la frontière Algero-Marocaine en 1898 (Pereau-leroy, 1958; Toutain, 1965). Elle est causée par un champignon tellurique imparfait, *Fusarium oxysporum* f. sp *albedinis* (*Foa*). Parmi les 453 variétés répertoriées au Maroc, seulement six semblent résistantes et produisent des dattes de mauvaise qualité (Saaidi, 1992; Sedra, 2015).

L'évolution et l'apparition des symptômes de la maladie sont plus ou moins rapides : de quelques mois à plusieurs années. En effet, la propagation de la maladie est d'autant plus rapide que le verger est bien irrigué, particulièrement avec le système gravitaire (Toutain, 1965). Parmi les symptômes externes typiques de cette maladie figurent le dessèchement et le dépérissement unilatéral d'une ou de plusieurs palmes au niveau de la couronne moyenne qui finit par un flétrissement bilatéral et ainsi la mort du pied (Louvet et al., 1932) (Fig. 3).

A l'intérieur et sur des coupes transversales du rachis, une zone brun-rougeâtre, diffuse et piquetée de points plus foncés au niveau des vaisseaux conducteurs est très caractéristique de la maladie. La zone de couleur foncée peut atteindre l'extrémité des palmes ou s'estomper avant ; il arrive qu'on ne voit plus sur le trajet de certains vaisseaux que des taches colorées, espacées les unes des autres de quelques millimètres. Il est tout à fait remarquable de constater qu'il y a une continuité parfaite dans les symptômes vasculaires internes depuis les racines jusqu'à l'extrémité du rachis des palmes (Louvet et al., 1932).

A cause de cette maladie, les 17 000 ha de nouvelles plantations marocaines sont localisés à l'extérieur des palmeraies traditionnelles, dans de nouveaux terroirs vierges où le palmier dattier n'a jamais été planté. Ces surfaces se situent principalement sur le plateau d'Errachidia, qui bénéficie de l'eau d'irrigation du barrage Hassan Addakhil, et à Boudnib, qui se trouve à proximité d'un nouveau barrage en cours de construction (MAPMDREF, 2018).

4.2 Caractères morphologiques de *Fusarium oxysporum* f. sp *albedinis* (*Foa*)

La caractérisation morphologique de *Foa* montre que le mycélium sur le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) croit d'une manière arborescente et donne naissance à un aspect frisé

et une coloration blanchâtre qui devient saumon sous la lumière. Tandis que, après une longue incubation à l'obscurité, le mycélium devient pigmenté en violet. Cette pigmentation est une indication de la production des micro- et macroconidies (Bounaga, 1970).

L'observation microscopique du mycélium permet la distinction entre trois types de spores asexuées différentes, il s'agit de :

- Microconidies (m) : Sont les premières spores produites sur le milieu de culture, elles sont hyalines, sphériques ou allongées de 3 à 5 µm de diamètre et de 3 à 15 µm de longueur (Fig.3e). Elles sont formées et libérées à partir des microphialides (OEPP, 1990).

- Macroconidies (M) : Sont falciformes avec deux ou trois cloisons, leurs dimensions varient de 20 à 30 µm de longueur et de 3 à 5µm de diamètre avec une extrémité pointue (Fig.3). Elles sont générées asexuellement par des microphialides et ne se produisent qu'après 15 jours ou plus d'incubation sur milieu de culture. Ce type de spores est très caractéristique de toutes les espèces *Fusarium oxysporum* (OEPP, 1990). La figure (Fig. 3e) montre clairement ces deux types de spores.

- **Chlamydospores:** Sont des spores sphériques produites lorsque les conditions de la croissance mycélienne deviennent défavorables (hiver, sécheresse, palmes mortes, sol...). Généralement, elles sont intercalaires et se forment souvent entre deux cellules mycéliennes et parfois à partir d'une macroconidie. Leur parois est très épaisse et sert pour l'accumulation des réserves nutritionnelles de nature lipidique à l'intérieur des chlamydospores (Rahmania, 2000).

4.3 Symptômes de la maladie sur le palmier dattier

L'infection du palmier dattier par le *Foa* se fait d'une manière générale via les racines ou des blessures du pied, quel que soit son âge (jeune, adulte ou plus âgé). Le mycélium se multiplie à l'intérieur des vaisseaux cribro-vasculaires et provoque des nécroses aux niveau des racines en premier lieu. Par la suite, le mycélium atteint les rachis et y produit des nécroses unilatérales qui se manifestent par le flétrissement unilatéral de la palme infectée. Ce sont les premiers symptômes visibles à l'oïl nu (Fig.3a). De même itinéraire, le pathogène sévit dans le deuxième côté de la palme et donne naissance au flétrissement total de la palme (aspect d'une plume mouillée). Juste après quelques jours, le champignon attaque la deuxième palme et ainsi de suite jusqu'à l'infection de toute la couronne moyenne et la mort du pied (arbre) (Toutain and Louvet, 1974).

4.4 Moyens de dissémination du champignon pathogène *Foa*

La propagation de la maladie se fait de différentes manières, dont les plus importantes sont:

- Utilisation des plantes non certifiés (risque de contamination antérieure) ;

- Les cultures sous-jacentes à savoir le henné, la luzerne (porteurs sains du champignon) ;
- L'eau d'irrigation (principalement par le système gravitaire);
- Le sol contaminé;
- Les sous-produits (non traités et déplacés d'un endroit à un autre).
- L'échange de matériels et équipements contaminés.

F. oxysporum f.sp. *albedinis* peut également se disséminer par des rejets provenant de zones infectées, par des tissus du palmier dattier infecté ou par des morceaux de rachis infectés en particulier. Dans une palmeraie, la maladie se dissémine par contact entre racines saines et malades (OEPP, 1994).

4.5 Progression du champignon Foa dans les vaisseaux cribro-vasculaires

Sous des conditions défavorables à la germination et à la croissance du Foa, ses chlamydospores persistent dans le sol, dans les rachis ou tissus morts (hiver, hautes températures, climat sec...). La libération de ces formes de conservation se fait par la désintégration des tissus porteurs du pathogène ; ce dernier peut rester à l'état de dormance ou s'associer à certains porteurs sains comme le henné ou la luzerne. La difficulté d'éradication de ce champignon vient de sa présence dans le sol à une profondeur d'1m et plus et sa persistance pendant plus de 8 ans sous des conditions extrêmes (Sedra, 2012).

En outre, un petit nombre de propagules suffit pour provoquer l'infection de l'arbre au niveau des racines et cause sa mort dans quelques mois. On note également que les conditions favorables à une croissance optimale du palmier dattier favorisent aussi le développement rapide de la fusariose. En fait, le pathogène croit d'une manière optimale sous une température de 25 à 28 °C, mais il est ralenti en dessus et en dessous de cet intervalle de température ; cette croissance peut s'arrêter au-delà de 40 °C (Bounaga, 1975).

Dès que les conditions deviennent favorables, les chlamydospores germent et dans quelques jours le mycélium pénètre dans les tissus vasculaires des racines et provoque une nécrose locale (zone molle). A partir du site d'infection, le mycélium atteint la tige en prenant les vaisseaux cribro-vasculaires comme itinéraire. En effet, le mycélium du *Foa* produit des microconidies à l'intérieur des vaisseaux ; ces dernières sont transportées jusqu'aux bases de palmes puis sévissent la nervure principale (rachis) où elles germent et provoquent des nécroses unilatérales (Fig.3c). Toutefois, le passage du mycélium peut être empêché par les parois transversales des cellules du xylème. Alors, pour les traverser, les microconidies produites germent et le tube germinatif pénètre et atteint la cellule voisine dans laquelle la formation de microconidies reprend.

La pathogénicité de *Foa* réside principalement dans des toxines produites, lors de sa croissance à l'intérieur des tissus et elle est liée au degré de sensibilité de la variété attaquée (El Hadrami et al., 2005). A titre d'exemple, l'acide fusarique, succinique, 3-phenyl lactique et leurs dérivés, ainsi que d'autres peptides sont les principales toxines produites par le *Foa* (El Hadrami et al., 2005, El fakhouri et al., 1996a, El fakhouri et al., 1996b). Au cours de sa progression, le *Foa* échappe du xylème et colonise le parenchyme environnant par un mycélium inter et intracellulaire, ce qui aboutit plus tard à la coloration brune rougeâtre caractéristique de « Bayoud ». Après la mort de l'arbre (Fig.3b), le mycélium continue à se développer dans les tissus morts et y forme de nombreuses chlamydospores.

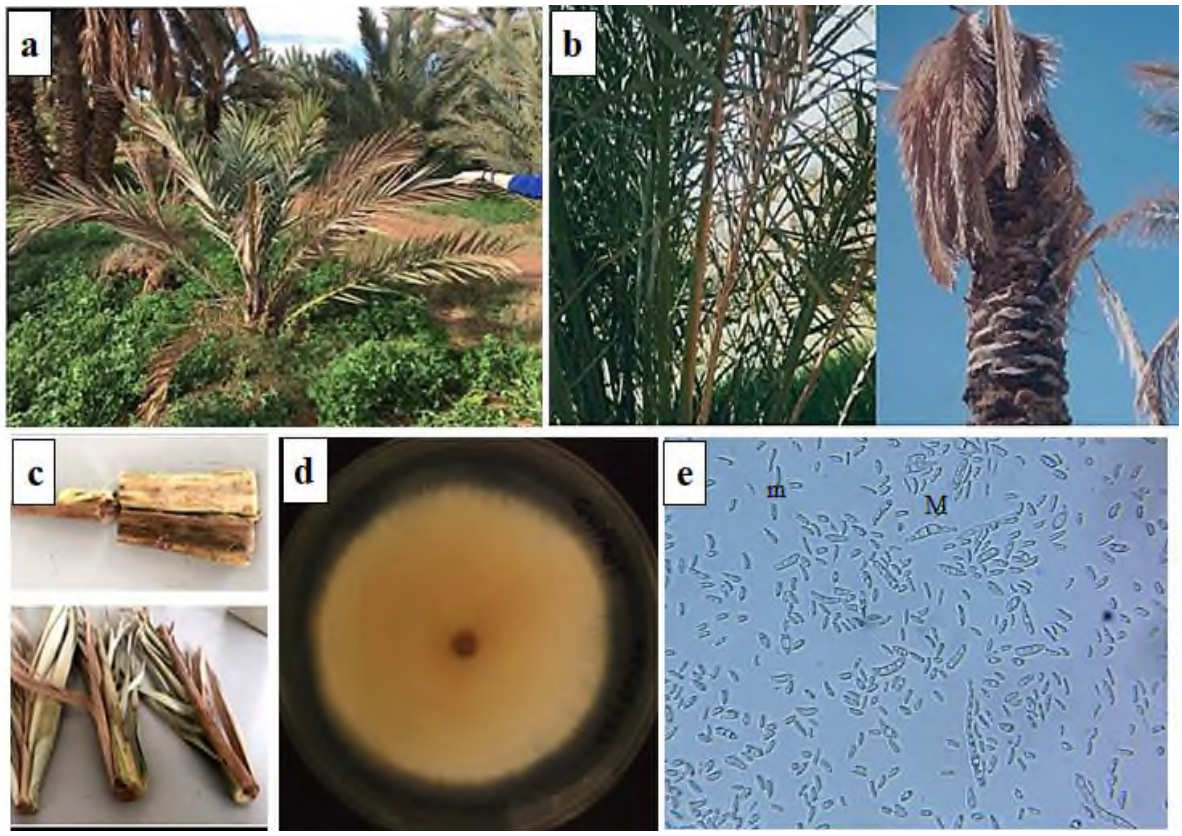

Figure 3: Symptômes et caractéristiques morphologiques de la fusariose vasculaire du palmier dattier

a) symptômes de desséchement des palmes de la couronne moyenne (cliché Bouamri, 2016) ; b) desséchement bilatéral des palmes et mort du pied préalablement attaqué par la maladie; c) nécrose au niveau des coupes transversal et longitudinales du rachis ; d) culture pure de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* sur le milieu PDA (El Kinany et al., 2017a) ; e) macro et microconidies de *Foa* observée sous microscope optique avec un grossissement de 80X (El Kinany et al., 2017a).

4.6 Méthodes de lutte contre la maladie du « Bayoud »

4.6.1 Mesures prophylactiques

Ces mesures restent toujours une nécessité absolue pour protéger les palmeraies non infectées par le *Foa* (exemple de la Tunisie) (Rhouma, 1993). Toutefois, au Maroc, ce type de mesures demeure moins efficient puisque la plupart des zones oasiennes sont déjà contaminés (El Bouhssini and Faleiro, 2018). Par contre, certains zones vierges sont réservées pour l'extension de la palmeraie en cultivant des vitro-plants certifiés par l'ONSSA (MAPMDREF, 2018). Cependant, en raison de l'absence des traitements chimiques efficaces, la prise de précautions techniques est une pratique cruciale pour réduire au moins la dissémination de la maladie. Elle consiste à utiliser les nouvelles techniques de la multiplication du palmier dattier (culture *in vitro* par organogénèse), à désinfecter tout matériel susceptible de contaminer la palmeraie lors des pratiques culturales et de la récolte, à éviter l'apport du matériel végétal issu d'une palmeraie sans avoir assuré qu'il est indemne de la maladie, à bruler tout pied contaminé, à remplacer le système gravitaire par le système « goutte à goutte » pour le bon contrôle de la maladie (Sedra, 2012). L'Office National de Sécurité Sanitaire des Aliments (ONSSA) a déjà limité la plantation des nouveaux vergers par les rejets et a obligé la plantation des vitro-plants certifiés lors de la restauration aussi bien des palmeraies traditionnelles que lors de l'extension de la palmeraie marocaine préexistante (MAPMDREF, 2018).

4.6.2 Lutte chimique

D'une manière classique, lorsqu'on se trouve confronté à une maladie vasculaire, on songe à l'utilisation des fongicides à action systémique.

Or, il est pratiquement impossible de savoir si un palmier est atteint de « Bayoud » (sauf après une analyse moléculaire) avant que les premiers symptômes ne se soient manifestés. On ne peut pas protéger un palmier toute sa vie alors qu'une attaque de quelques racines suffit à le condamner. Par ailleurs, ces produits systémiques sont reconnus de plus en plus comme des substances mutagènes, ce qui augmenterait les difficultés de la lutte contre la fusariose vasculaire par la création de nouvelles souches pathogènes de *Fusarium* (souches mutantes), ajoutons à cela la dégradation qu'ils engendrent dans les écosystèmes oasiens (Toutain and Louvet, 1974). De plus, le *Foa* produit des chlamydospores qui lui permettent de survivre sous des conditions environnementales hostiles et défavorables, dans les vaisseaux des plantes, au sein des sols plus profonds et sur des porteurs sains (Luzerne, Henné) (El Bouhssini and Faleiro, 2018).

4.6.3 Résistance variétale

La sélection et la multiplication des clones génétiquement résistantes/tolérantes constitue la solution efficiente pour contrarier la maladie du « Bayoud », mais l'établissement de la résistance par l'hybridation entre les cultivars sensibles et résistants reste toujours très difficile à cause de l'implication de plusieurs gènes (Oubraim et al., 2016). Des recherches ont été menées pendant 25 ans pour caractériser la réaction des différentes variétés du palmier dattier vis-à-vis de *Foa*. Néanmoins le problème majeur de la sélection des génotypes résistants à la maladie (Fayda, Bousthami, Al-amal, Iklane…) réside dans la mauvaise qualité des dattes produites par ceux-ci (El Bouhssini and Faleiro, 2018; Saaidi, 1992). La seule variété acceptée par les phoeniciculteurs, multipliée *in vitro* et vendue sur le marché est la variété Nejda (Benzohra et al., 2017; Sedra, 2011).

5 Alternatives biologiques de l'amélioration de la croissance du palmier dattier et de lutte contre *Fusarium oxysporum* f. sp *albedinis*

5.1 Importance des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA)

5.1.1 Définitions et types de mycorhizes

A travers ses études de l'interaction et la relation entre les microorganismes telluriques et les plantes, Frank (1885) avait introduit le terme mycorhize (en Grec : ‘’mycorrhiza’’ : ‘’mycos’’ : champignon et ‘’rhiza’’ : racine. La mycorhize est alors une relation symbiotique qui s'établit entre certains champignons du sol (dits mycorhiziens) et une plante hôte (Siddiqui et al., 2008). Selon les archives de fossiles, il a été déclaré que l'origine des champignons mycorhiziens (CM) remonte à 460 millions d'années, le moment où des premières plantes terrestres sont apparues. Cela suggère que la colonisation des terres par des plantes hors des milieux aquatiques a été assistée par des CM ancestraux (Dirk Redecker et al., 2000). D'ailleurs, plus de 80% des plantes vasculaires profitent de cette relation symbiotique (plante-CM), particulièrement avec les endomycorhizes à arbuscules, pour s'adapter aux différents types de sol et aux climats variés. En outre, la croissance de la plupart des plantes vasculaires dépend étroitement de leurs symbiotes (Brundrett and Brundrett, 2002). Cette relation mutuelle plante-CM est bien régulée et modulée par des métabolites secondaires dérivés de la plante hôte ; il s'agit de strigolactone, flavonoïdes, terpenoides et des hormones régulatrices impliquées dans le dialogue moléculaire entre les deux partenaires (Koltai, H., & Kapulnik, 2010).

Le rôle crucial de cette relation de symbiose réside dans l'absorption des nutriments dans les écosystèmes terrestres, principalement lorsque ceux-ci sont déficients en matière de nutritions

et/ou sous conditions stressantes. En effet, les champignons mycorhiziens, grâce à leurs structures typiques, fournissent des éléments minéraux et de l'eau à la plante, en échange de squelettes carbonés issus de la photosynthèse (Bago et al., 1998; Taktek, 2015).

Plusieurs types de mycorhizes (Fig.4) ont été largement décrits (Bouamri, 2006; Siddiqui et al., 2008), cependant les champignons mycorhiziens à arbuscules appartenant à la classe des Glomeromycètes sont ubiquistes et largement abondants dans tous les écosystèmes écologiques et agricoles (D Redecker et al., 2000). Ceux-ci entrent en relation symbiotique obligatoire avec tous les embranchements végétaux à l'exception de quelques familles telle que les *Brassicaceaes*, les *Chenopodiaceaes* et les *Caryophyllaceaes*.

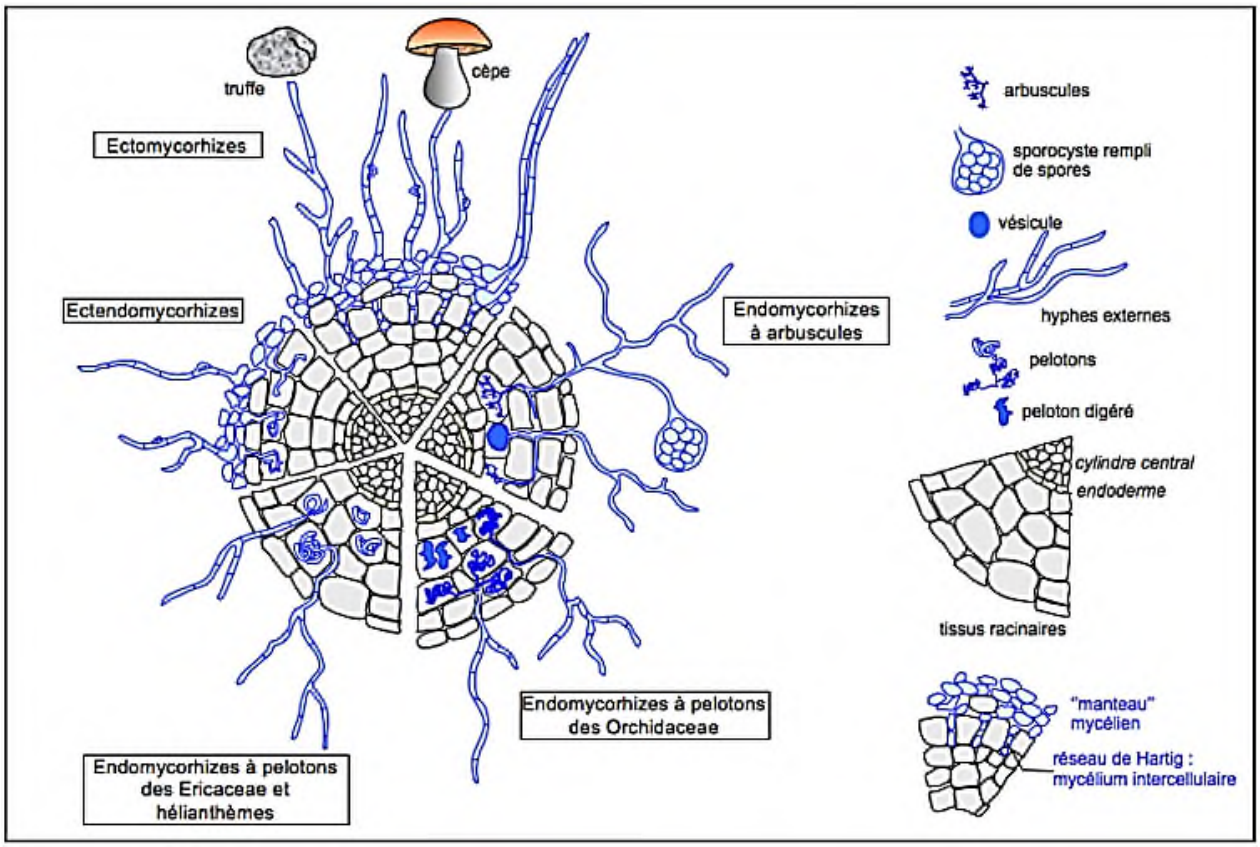

Figure 4: Différents types et structures d'associations mycorhiziennes (Selosse and Tacon, 1998).

5.1.2 Taxonomie des champignons mycorhiziens

La classification des CM est basée sur les caractères morphologiques (taille, couleur, parois, mode d'arrangement des spores) comme il a été décrit par (Bouamri et al., 2006) et moléculaires via le séquençage des gènes spécifiques (Al-Yahya'ei, 2008; Al-Yahya'ei et al., 2011). En effet, les familles et les genres sont distinguées par la morphologie des spores (Fig.5), mais principalement par l'ultrastructure de la paroi fongique (Bouamri et al., 2006; Sghir et al., 2014). Toutefois, la multiplication par la technique de la réaction de polymérisation en chaine (PCR) des séquences ribosomales SSU (small subunit (18S)), ITS1(Internal Transcribed

Spacer) et LSU (Large Subunit (28S)) avec des amorces spécifiques, suivie de leur séquençage permettent l'identification moléculaire de différentes espèces de CMA (Al-Yahya'ei, 2008; Blaszkowski et al., 2004; Błaszkowski et al., 2018). Par ailleurs, un arbre phylogénétique a été décrit et établi par l'INVAM (Fig.6) pour savoir les différentes familles et genres de CMA. En outre, grâce à ces techniques, de nouvelles espèces de CMA ont été identifiées : *Dominikia litorea* (Błaszkowski et al., 2018), *Dominikia duoreactiva* et *Dominikia difficilevidera* (Błaszkowski et al., 2015), *Glomus iranicum* et *Glomus africanum* (Błaszkowski et al., 2010), *Glomus drummondii and Glomus walker* (BŁaszkowski et al., 2006) et *Glomus perpusillum* (Błaszkowski et al., 2009)

La rhizosphère du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) constitue aussi une niche mycorhizienne potentielle dont l'exploitation n'est pas encore faite d'une manière rigoureuse. Les premiers genres isolés au Maroc n'ont vu leur description morphologique que récemment (Bouamri et al., 2014, 2006). L'identification moléculaire reste toujours la technique la plus fiable pour identifier les espèces associées à cette monocotylédone oasienne.

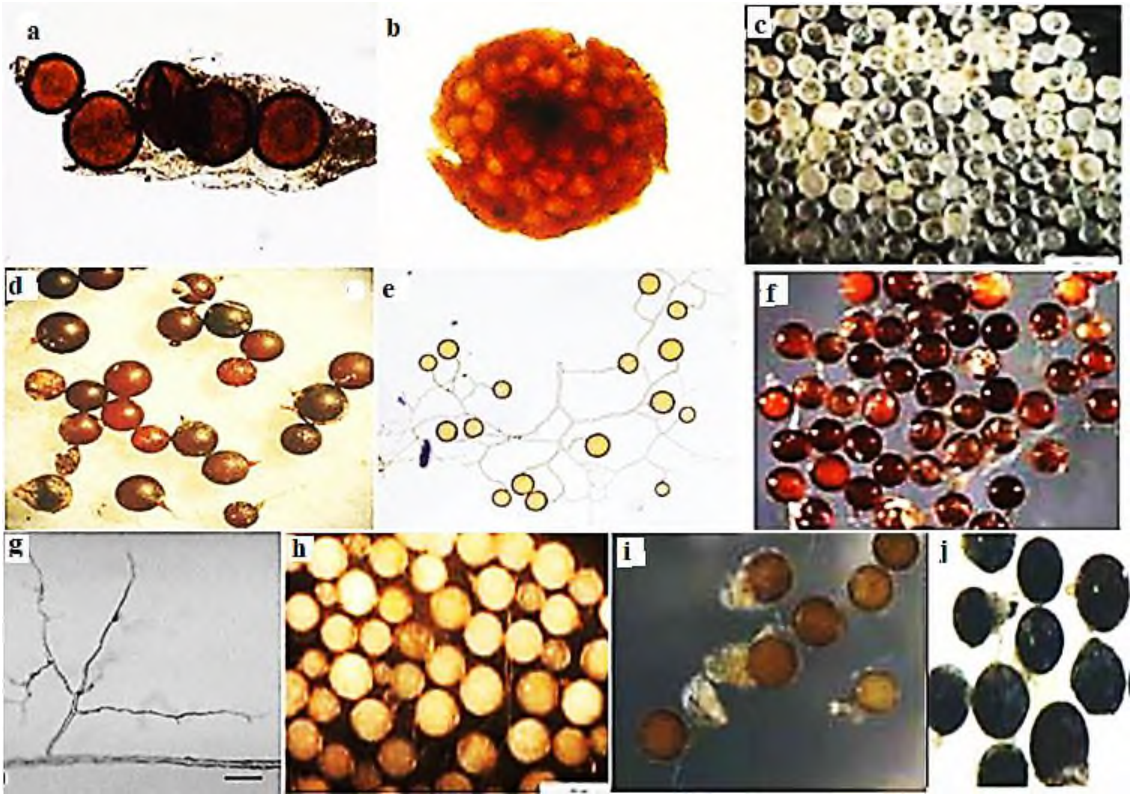

Figure 5: Différents morphotypes et structures de CMA (Bouamri, 2006)

a; spores regroupées; b ; sporocarpe, c ; spores d'*Entrophospora colombiana*, d ; spores individuels, e; spore associées au mycélium extra-racinaire, f ; spores de *Scutellospora rosa*, g ; structure similaire des arbuscules (BAS ; branched absorbing structures), h ; Spores de *Gigaspora margarita*, i ; spores de *Acaulospora tuberculata*, j ; Spores de *Scutellospora gregaria*

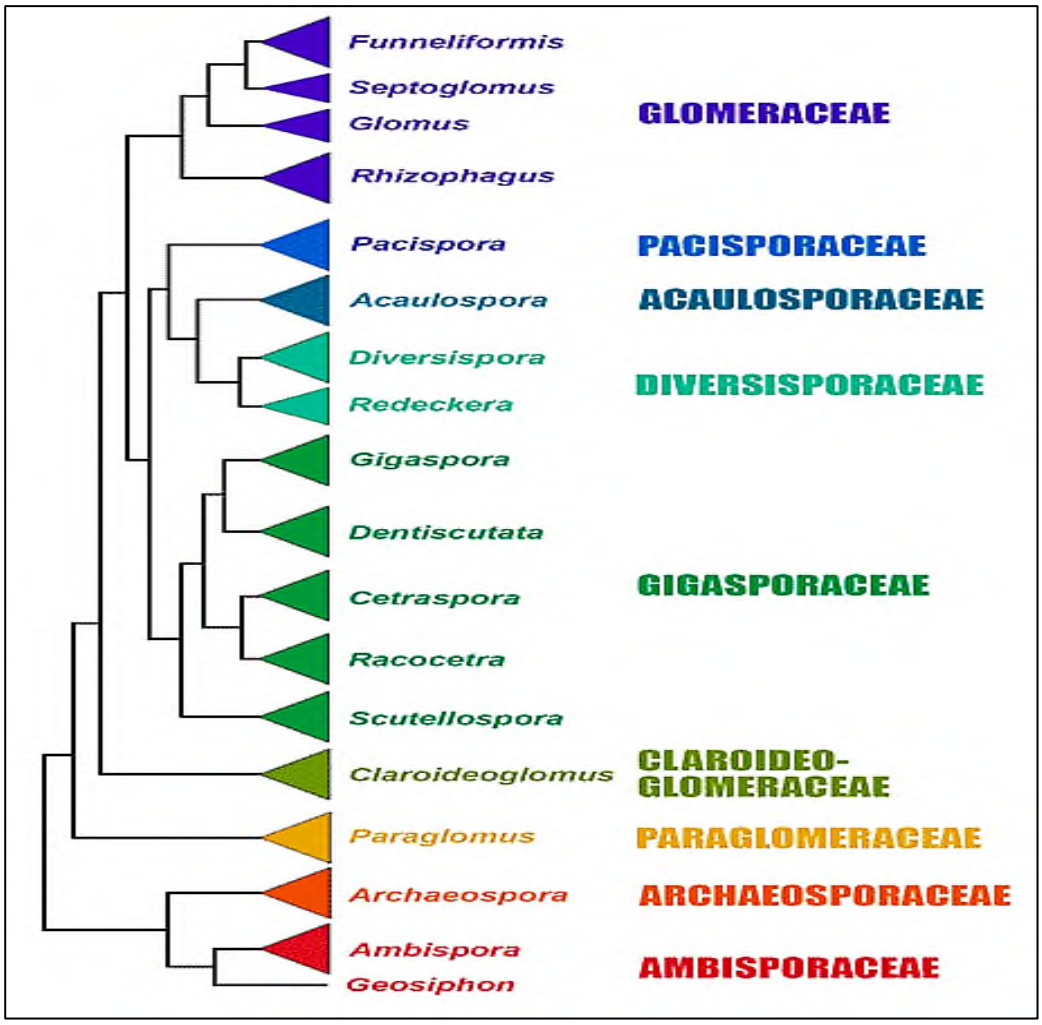

Figure 6: Arbre phylogénétique des mycorhizes à arbuscules **(INVAM, 2018)**

5.1.3 Cycle biologique et anatomie des CMA

Durant son cycle biologique (Fig. 7), le CMA se développe en une phase extra racinaire et une phase intra racinaire :

La phase extra racinaire comprend :

- Un réseau mycélien qui permet l'exploitation du substrat et l'absorption d'eau et des éléments nutritifs. Il est composé des hyphes colonisateurs « Runner Hyphae », d'hyphes secondaires et tertiaires. Le long de ces hyphes se différencient des ramifications secondaires et tertiaires « Branched Absorbing Structures » (BAS) ayant une ultrastructure similaire aux arbuscules (Fig.7). Elles se développent juste après l'établissement de la relation symbiotique et sont considérées comme des organes privilégiés pour l'absorption des nutriments du substrat (Bago et al., 1998).

- Des spores, organes de reproduction asexuée, de forme globoïde, à paroi plus ou moins épaisse et de taille variant de 30 à 700 µm selon les espèces. Elles peuvent être regroupées en grappes

ou en sporocarpes entourés ou non d'un péridium (Fig. 5). Elles jouent un rôle important dans la reproduction et la survie des champignons mycorhiziens (Bago et al., 2000).

La phase intra-racinaire est composée de :

- Arbuscules résultants d'une série des divisions dichotomiques d'un hyphe intra-racinaire mimant la ramure d'un arbre, les ramifications terminales sont très courtes et très tenues, d'un diamètre variant de 0,5 µm à 1µm (Fig.7). Elles sont distribuées au niveau des cellules du parenchyme cortical de la racine. En fait, l'hyphe perce la paroi cellulaire et repousse graduellement la membrane plasmique pour y occuper l'espace intracellulaire. L'interface créée entre les deux partenaires de la symbiote est très importante et constitue un apoplaste mixte, site privilégié pour les échanges nutritifs. Cette formation est éphémère et ne dure que 15 jours (Smith and Read, 1997). Une fois l'arbuscule dégradé, le cytoplasme de la cellule corticale retrouve sa position originale sans influencer la fonction de la cellule (Smith and Read, 1997).
- Les vésicules définies comme étant des gonflements terminaux ou intercalaires d'hyphes intra-racinaires. Elles peuvent être inter- ou intracellulaires. Leur contenu est riche en réserves nutritives (spécialement des lipides). Elles constituent des organes de réserve et peuvent assurer la survie du champignon car, tout comme les spores, elles peuvent régénérer une colonie viable (Declerck et al., 1998).
- Spores intra-racinaires formées particulièrement lorsque la plante se trouve dans des conditions extrêmes à savoir le stress hydrique.

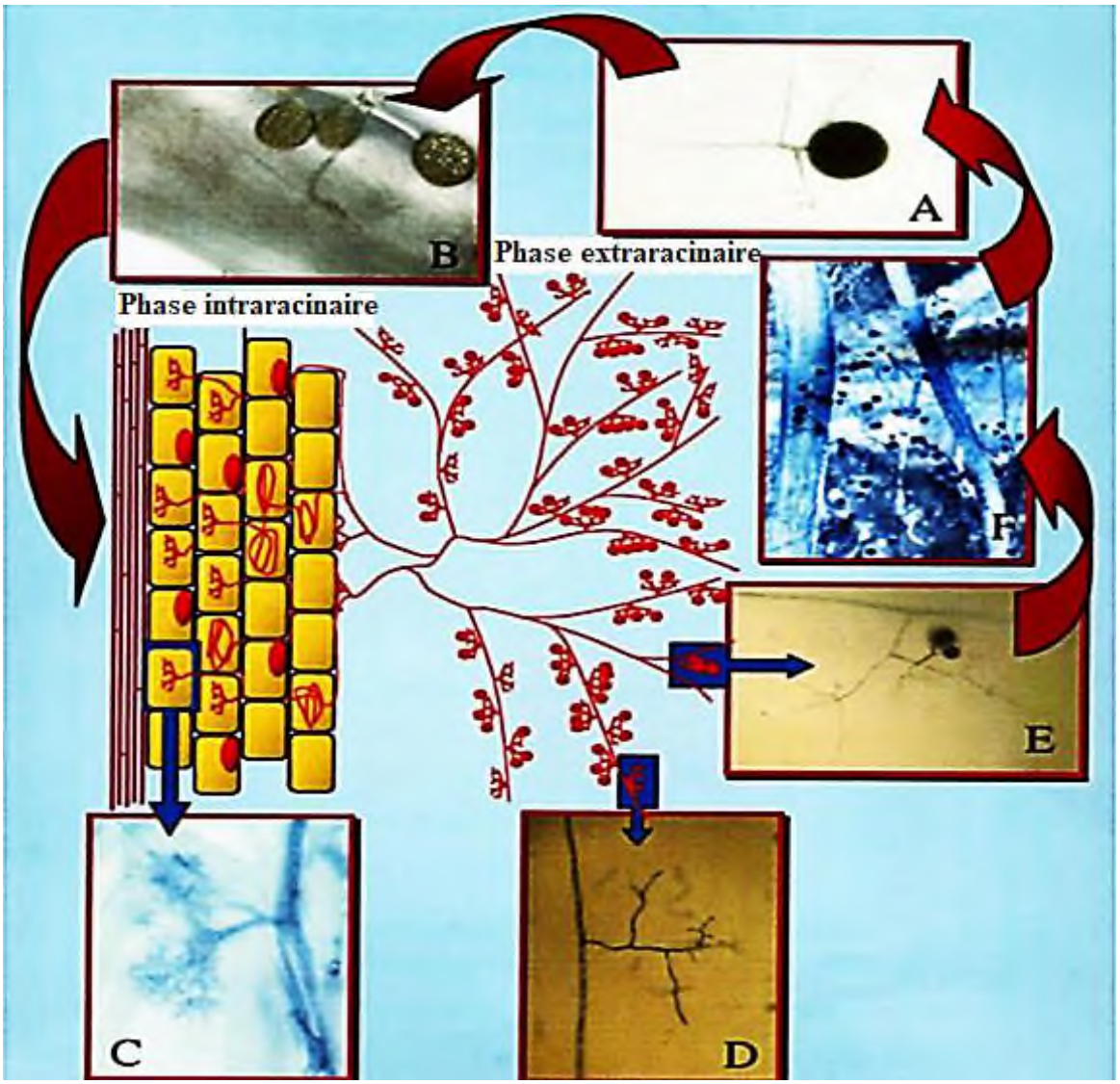

Figure 7: Structures morphologiques et cycle biologique des CMA. (Bago et al., 2000)

A ; spores dans le sol avec une croissance très limitée avant l'infection d'une plante hôte. B ; après une infection et colonisation racinaire, le CMA se différencie dans les cellules intra-racinaires en y développant des vésicules et des arbuscules (C). En parallèle, le CMA développe un mycélium extra-racinaire qui se ramifie et donne naissance aux structures similaires aux arbuscules (BAS) (D). E et F ; spores en dormance (Bago et al., 2000).

5.1.4 Nutrition et croissance des plantes par les CMA

5.1.4.1 Mécanismes et applications

Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) constituent le type le plus abondant des champignons mycorhiziens, ils confèrent aux plantes hôtes des effets multiples pour leur croissance (Bordoloi et al., 2015; Bouamri et al., 2014; Labidi et al., 2012; Sathiyadash et al., 2017; Trouvelot et al., 2015) et tolérance aux stress biotiques (Abohatem et al., 2011; Jaiti et al., 2007; Jung et al., 2012; Mollavali et al., 2015) et abiotiques (Baslam and Goicoechea, 2012; Trouvelot et al., 2015).

En effet, le réseau mycélien extra-racinaire qui atteint des volumes du sol à plus de 10 cm des racines principales, permet un meilleur accès aux minéraux mieux que le seul système racinaire avec une zone d'absorption limitée à quelques millimètres de la racine (Johansen et al., 1993; Strullu et al., 1991) (Fig.7). Les CMA profitent en retour de cette relation mutuelle au niveau des cellules racinaires colonisées par le mycélium et les arbuscules. Ceci est assuré par le transfert de différent nutriments organiques de la cellule racinaire vers la cellule fongique ; les lipides, les glucides ainsi que d'autres éléments (N, K, Ca...), *via* des transporteurs spécifiques et bien régulées aussi bien par la plante que par le champignon mycorhizien (Wang et al., 2017). Cet échange ne commence qu'après l'établissement de la symbiose qui met en jeux la participation de deux partenaires *via* un processus de mycorrhization (Fig. 8). La molécule de strigolactone (SL) libérée par les cellules racinaires de la plante l'hôte induit une ramification du mycélium chez les CMA. En parallèle, le flux des ions Ca^{2+} est induit par les facteurs Myc (Myc-LCO). Après la perception et la reconnaissance des facteurs Myc par des récepteurs spécifiques de la plante hôte comme le SYMRK (Symbiosi Receptor like-Kinase), des appressoria sont formées à l'extrémité des hyphes fongiques ramifiés. Juste en dessous des appressoria, l'appareil de pré-pénétration (APP) se développe encore pour orienter la pénétration des hyphes jusqu'au cortex interne où les arbuscules se développent. Celles-ci constituent le site d'échange de nutriments entre les CMA et les plantes hôtes (Dhanker et al., 2020) .

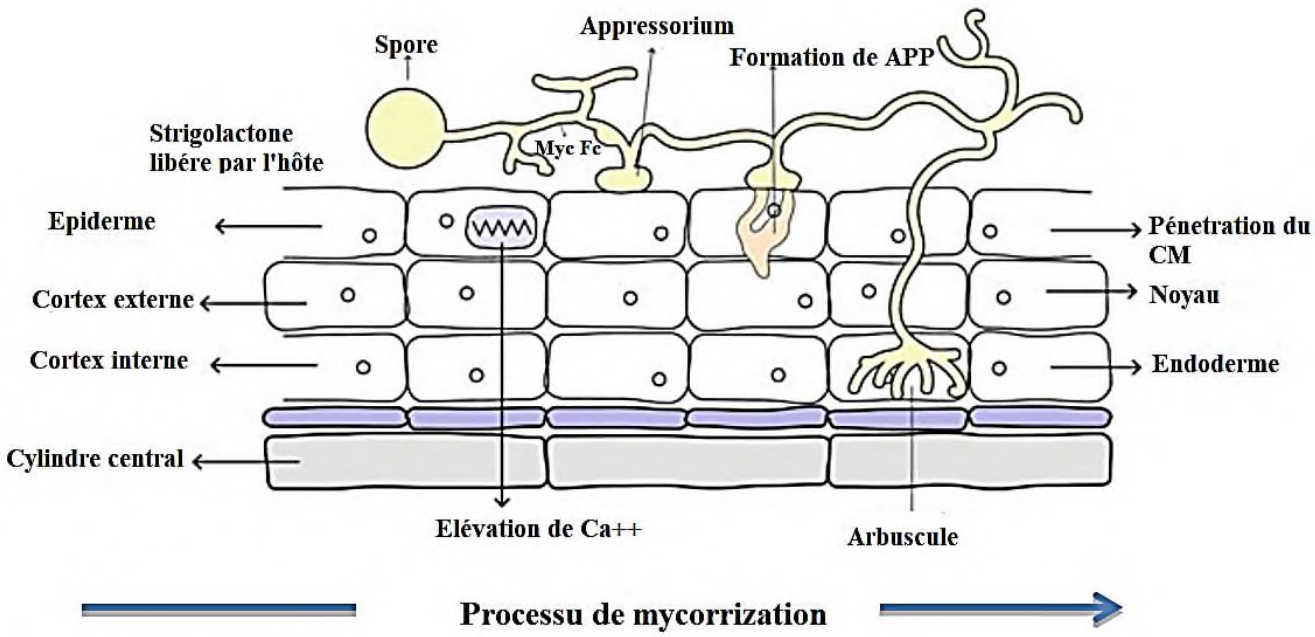

Figure 8: Schémas illustrant les différentes étapes de processus de mycorrhization (Dhanker et al., 2020)

APP : appareil de pré-pénétration
CM : champignons mycorhizien

En outre, le petit diamètre des hyphes permet l'exploration des micropores inaccessibles aux racines et aux poils absorbants (Oapos;KEEFE and SYLVIA, 1992; Peterson and Farquhar, 1996). D'ailleurs, des études plus récentes ont rapporté que les CMA peuvent assurer tout le besoin en phosphore chez la plante hôte et 20% du carbone fixé sert pour le maintien de cette relation symbiotique. La mobilisation du phosphore à partir du phosphate naturel et l'absorption du phosphate inorganique de la solution du sol par les CMA sont en grande partie à l'origine de l'amélioration de la croissance de la plante hôte (Cardoso et al., 2006).

Les CMA améliorent, aussi, chez la plante hôte, la nutrition azotée, qui est traduite par la transformation de l'azote ammoniacal, connu par sa faible solubilité, aux ions nitrate NO_3^- facilement assimilables (Ames et al., 1983) ou par l'incorporation des ions NH^{4+} dans l'acide aminée arginine qui est transloquée vers la cellule colonisée et métabolisé pour régénérer ces ions (Wang et al., 2017) (Fig.9). En plus, des recherches ont montré également le rôle des CMA dans la mobilisation et l'assimilation d'autres éléments peu mobiles dans le sol et indispensables à une nutrition équilibrée, à savoir le soufre, le potassium, le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer (Koide and Mosse, 2004).

Comme il est illustré sur la figure 9, la voie directe d'absorption se situe principalement à l'interface sol-racine où les plantes peuvent directement absorber les nutriments du sol. Dans la voie mycorhizienne, le Pi est absorbé par le mycélium extra-racinaire (ERM) à partir du sol environnant *via* des transporteurs fongiques (PT). L'ammonium (NH^{4+}) et/ou le nitrate (NO^{3-}) sont absorbés par le ERM et assimilés dans la glutamine (Gln), puis dans l'arginine (Arg). Cette assimilation génère un excès de H^+ ou de OH^- respectivement dans le cas du nitrate et d'ammonium. Le phosphore est principalement transporté sous forme de granules de polyphosphate (Fig. 9). La charge négative de ces dernières en fait des transporteurs possibles pour l'arginine et les ions métalliques de charge positives, qui sont transportés à partir des hyphes extra-racinaires aux hyphes intra-racinaires. Les mécanismes de translocation du Pi et du $NH4^+$ vers la voie apoplasmique sont encore inconnus. Les ions métalliques sont absorbés par le IRM ; les transporteurs d'ions métalliques dans les plantes hôtes et les CMA nécessitent des études plus approfondies.

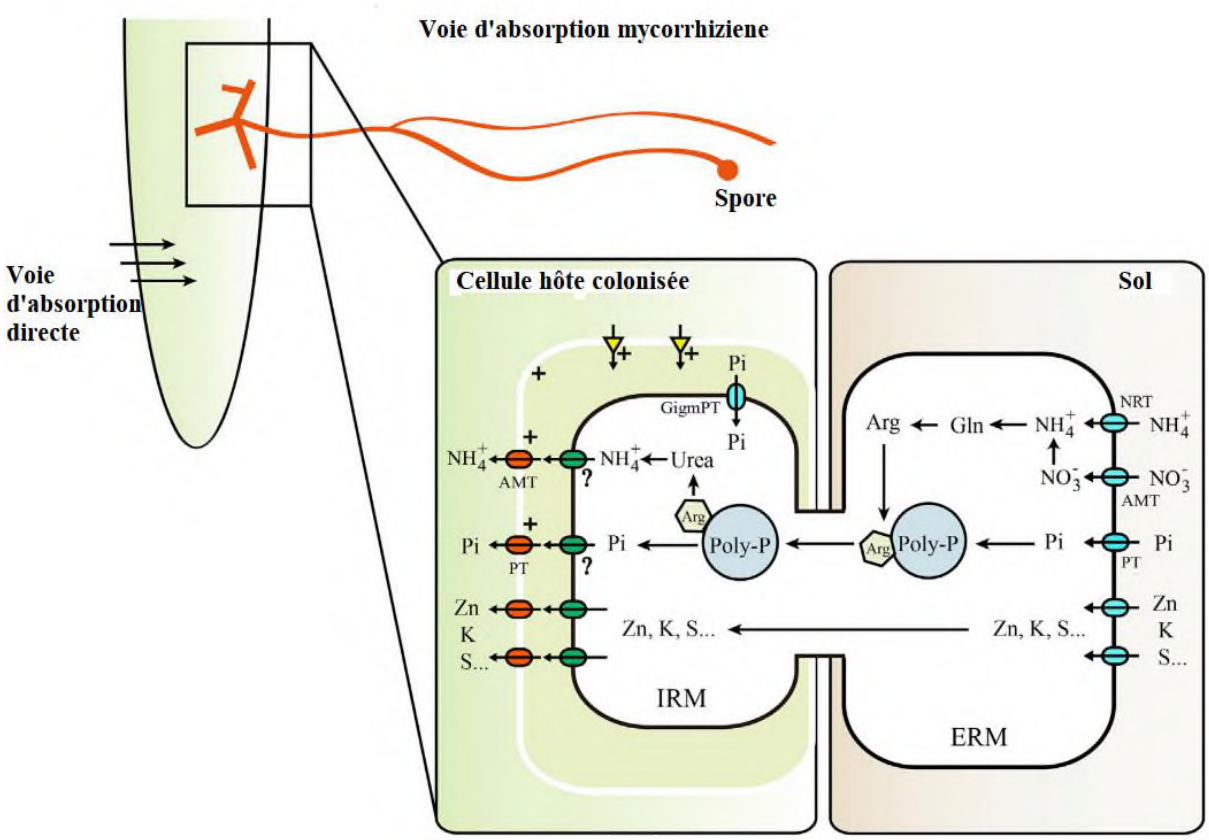

Figure 9: Schémas illustrant la voie d'absorption mycorhizienne du P, d'N et d'autres élément minéraux (Zn, K, S..) (Wang et al., 2017)

ERM et IRM sont respectivement mycélium extra-racinaire et mycélium intra-racinaire du CM

5.1.4.2 Effet des CMA sur la croissance des plantes

Récemment, plusieurs recherches ont été menées pour évaluer les différents impacts des CMA sur la croissance des plantes, y compris les plantes des cultures maraichères, les herbacées et les arbres fruitiers. Les tableaux ci-dessus (tableau 4 et 5) illustrent de nombreux effets de cette association symbiotique sur la nutrition des plantes.

Tableau 4: Différents effets des CMA sur la nutrition et la croissance des plantes (partie 1)

Espèce de CMA	plante hôte	Actions	Réf.
Consortium De trois espèces	Palmier dattier (sous serre)	Augmentation significative de l'absorption du P, K, N et Ca ; Teneurs élevées en chlorophylle, en caroténoïdes et protéines	(Ait-El-Mokhtar et al., 2019)
Complexe natif de : ***Glomus Scutellospora Acaulospora***	Arganier (en plein champs)	Augmentation de taux de croissance, de biomasse, de la hauteur et la nutrition phosphatée et azotée chez la plante, augmentation de phosphore et potassium assimilables dans le sol	(Mrabet et al., 2014)
Complexe mycorhizien	Luzerne (sous serre)	Amélioration de la nutrition foliaire (N, K), Régulation de pH et diminution de la densité du sol. Augmentation de la surface foliaire et de la biomasse.	(Akhzari et al., 2015)
Glomus versiforme, G. intraradices, G. mosseae	Oignon	-Teneurs significativement élevées de N, K et P foliaire -Augmentation du poids frais et sec de la plante. -Teneur en flavonoïde.	(Mollavali et al., 2015)
Glomus intraradices **and** ***Glomus mossae***	gommier marocain	-Augmentation significative du N et du P racinaires et foliaires ainsi que la biomasse des plantes	(Lahdachi and Bouamri, 2018)
Glomus mosseae, G. versiforme, Paraglomus occultum	Pêcher (sous serre)	- Augmentation significative de la biomasse ; -Amélioration significative des teneur foliaires et racinaires de K, Ca, Mg, Fe, et de Zn par toutes les souches. - Réduction des teneurs de certains éléments ; Cu et Mn.	(Wu et al., 2011)
Rhizophagus clarus	Soja et Coton (2 zones différents en plein champs)	- Meilleur colonisation avec des doses faible en fertilisant chimique (1/2 du besoin en N, P et K) ; - Meilleur résultat a été obtenus lors de l'application des CMA et le besoin de la culture en fertilisant chimiques, en terme de biomasse et des nutriments foliaires ; - Corrélation positive entre la nutrition foliaire et le rendement en graines.	(Cely et al., 2016)
Glomus intraradices	Stevia (culture en pots à l'air libre durant 4 mois) sous des condition normales	- Taux de colonization enlevé (76-88 %) malgré l'application de faible dose en phosphore ; - Diminution du P et d'N dans le sol rhizosphérique et leur augmentation dans les feuilles chez les plantes inoculées ; - Pas de différence significative en terme de la teneur en azote foliaire entre les plantes inoculées avec les CMA et celles fertilisées avec le phosphore. - Augmentation hautement significative de la teneur en phosphore foliaire et racinaire chez les plantes mycorhizées et amendées avec une dose modérée du P (25 mg P_2O_5 /kg du sol) - Bonne assimilation du P et d'N ; - Augmentation significative de la biomasse chez les plantes inoculées par rapport à celles amendées avec du P à moyenne dose. - Augmentation significative de la teneur en Steviol (glycoside).	(Tavarini et al., 2018)

Tableau 5: Différents effets des CMA sur la nutrition et la croissance des plantes (partie 2)

Espèce de CMA	plante hôte	Actions	Réf.
Funneliformis mosseae	Haricot et Aneth (plein champs) et sous des condition normales	- Plus de 60 % du taux de colonisation par le CMA chez les deux espèces végétales. - Amélioration significative du poids sec et des teneurs du P, K, Fe, Zn et Mn chez les deux espèces végétales ; - Rendement significativement élevé en huiles essentielles chez l'Aneth inoculé par rapport aux plantes non inoculées.	(Weisany et al., 2016)
Septoglomus viscosum	Salvia (avec application modérée du P inorganique	- Taux élevé de colonization (88 %) même avec application du P à dose faible (0.06g/kg du sol). - Augmentation significative du poids sec et de nombre de feuilles des plantes chez les plantes inoculées et amendées avec du P inorganique ; - Amélioration de l'absorption du P ; - Aucune augmentation significative n'est observée - Variation significative dans la composition chimique des huiles essentielles	(Tarraf et al., 2017)
Trois consortia : **- C1*: Claroideoglomus sp., Funneliformis sp., Diversispora sp., Glomus sp.,* and *Rhizophagus sp. ;*** **- C2 *: Glomus intraradices, G. microageregatum and G. Claroideum ;*** **- C3*: Funneliformis mosseae***	Concombre (conditions normales)	- Taux de colonization de 70 à 82% après 46 jours d'inoculation ; - Augmentation de l'activité de différentes enzymes intervenant dans le cycle de Calvin ; - Régulation des gènes impliqués dans le cycle de Calvin ; - Teneur élevées en macro et microéléments racinaires (N, P, K, Cu, Fe, Mg, Mn et le Zn ; - L'effet du consortium des CMA sur la croissance est beaucoup meilleur que celui d'une seule espèce.	(Chen et al., 2017)
- Glomus aggregatum ***- G. intraradices*** ***- G. etunicatum*** ***- G. versiforme***	Alfalfa (sous stress de métaux lourds)	- Taux de colonisation plus de 70 % ; - Augmentation significative du nombre de rhizobia suite à l'inoculation avec les CMA ; - Teneur significativement élevée en Ca et Mg foliaires et en Ca et K racinaires chez les plantes inoculées même en conditions stressantes de cadmium (métal lourd).	(F. Zhang et al., 2019)
Glomus clarum* et *Glomus intraradices	Tomate (sous serre sous stress salin, pH alcalin, sol pauvre en nutriments N, P et K)	- Dépendance mycorhizienne de plus de 45 % - Amélioration significative des glucides solubles, de la vitamine C et de lycopène dans le fruit ; - Promotion de l'absorption de N et réduction de l'absorption des ions Na^+ ; - Augmentation des rapports K/Na, Ca/Na et Mg/Na dans les feuilles et les tiges ; - Taux photosynthétique élevé ; - Augmentation de la population bactérienne et réduction de la population fongique au niveau de la rhizosphère ; - Taux élevée de proline et de glucides cumulées dans les feuilles et réduction des symptômes liés à la salinité.	(Kong et al., 2020)
- Glomus sp.2, ***- Gigaspora albida*** ***- Gigaspora decipiens***	Eucalyptus (sous stress salin) sous serre	L'amélioration de la teneur en chlorophylle dépend de l'espèce de CMA, de la concentration des sels dans le sol et de la variété d'Eucalyptus. La teneur de la proline dans les feuilles augmente selon le niveau de salinité, l'espèce mycorhizienne et la variété d'Eucalyptus.	(Klinsukon et al., 2020)
- Glomus intraradices, ***- Glomus mosseae,*** ***- Glomus aggregatum,*** ***- Glomus etunicatum***	Tournesol (sous déficience en Fe)	- Amélioration significative des teneurs du Fe et du Zn racinaires et foliaires ; - Augmentation significative des protéines solubles totales ; - Augmentation de l'intensité photosynthétique.	(Kabir et al., 2020)

5.1.5 Protection des plantes par les CMA

Les champignons pathogènes telluriques (principalement ceux qui causent des Trachéomycoses) sont plus difficiles à combattre via l'application des fongicides systémiques (Tourern, 1967), d'où la nécessité de la mise en place d'approches alternatives pour l'inhibition et/ou la réduction de l'infection des plantes. En fait, plusieurs mécanismes de protection par les CMA, récemment rapportés, sont mis en jeu pour contrôler les phytopathogènes. D'abord, des chercheurs ont montré que des altérations morphologiques du système racinaire et vasculaire chez les plantes mycorhizées ont été observées : durcissement des parois cellulaires, ramification multiple du système racinaire (Bagyaraj, 2018). Egalement, chez la tomate, l'accumulation de callose tout autour des cellules contenant des arbuscules des CMA a été détectée (Alizadeh et al., 2013). En plus, au niveau de la mycorhizosphère, des CMA peuvent abriter d'autres microorganismes, notamment des bactéries qui entrent en compétition et/ou en antagonisme avec des champignons phytopathogènes sans avoir des effets nuisibles sur les CMA et les bactéries bénéfiques à la plante (Bagyaraj, 2018).

En outre, des chercheurs ont rapporté que les espèces réactives d'oxygènes (ERO) comme les anions O_2^- et le H_2O_2 (mécanismes biochimiques) sont produites suite à la colonization du système racinaire et elles sont impliquées dans la peroxydation des lipides, la destruction de la membrane, l'inactivation des protéines, la réaction d'hypersensibilité et la résistance systémique acquise au niveau du site d'infection (Fig.10). En fait, après l'entrée de l'agent pathogène dans la cellule racinaire, il libère des éliciteurs qui sont perçus par la plante. Par la suite, ces derniers stimulent les gènes de défense dans la cellule racinaire qui codent pour des protéines d'attaque et de neutralisation du phytopathogène. On note également que ces gènes sont aussi stimulés par les protéines G et MAPK cytosoliques activées par le facteur Myc (LCO-Myc) issu du CMA. Cette activation induit parallèlement la génération des ERO et accentue l'activation des enzymes antioxydants comme la lipoxygénase (LOX) et la biosynthèse des acides impliqués dans les réactions de défense naturelle de la plante (Acide jasmonique, salicylique, chlorogénique…). D'autre part, ces enzymes et les ERO induisent directement la réaction d'hypersensibilité qui s'accompagne de la mort des cellules infectées et par conséquent la limitation de la propagation du pathogène (Benedetta et al., 2017; Singh et al., 2019) (Fig.10). D'un autre côté, la résistance systémique acquise contre les phytopathogènes est activée dès les premières étapes de l'infection de la plante avec le CMA (Singh et al., 2019) . L'amélioration de la nutrition de la plante hôte, la compétition nutritionnelle et spatiale vis-à-vis des pathogènes telluriques au sein de la mycorhizosphère sont des mécanismes énormément impliqués dans la lutte contre les phytopathogènes (Larsen and Bødker, 2001; Singh et al., 2019). Ajouton à cela

que la stimulation des réactions de défense contre les phytopathogènes tout en régulant la balance hormonale, en augmentant la teneur de l'acide jasmonique, de l'acide salicylique, de l'éthylène, du calcium cytosolique, de flavonoïdes, de l'acide chlorogénique et des phytoalexines interviennent dans la neutralisation des phytopathogènes et l'induction de la résistance chez les plantes contre ceux-ci (Aseel et al., 2019; Bagyaraj, 2018; Jaiti et al., 2009; Jung et al., 2012; Singh et al., 2019) (Fig. 10). Etant donné que les maladies fongiques sont les plus responsables des pertes de productivité et de rendement agricoles, suivies par les maladies bactériennes et virales (Jain and Pundir, 2019), les tableaux 6 et 7 montrent les différentes espèces de CMA utilisées en lutte contre divers pathogènes fongiques du sol.

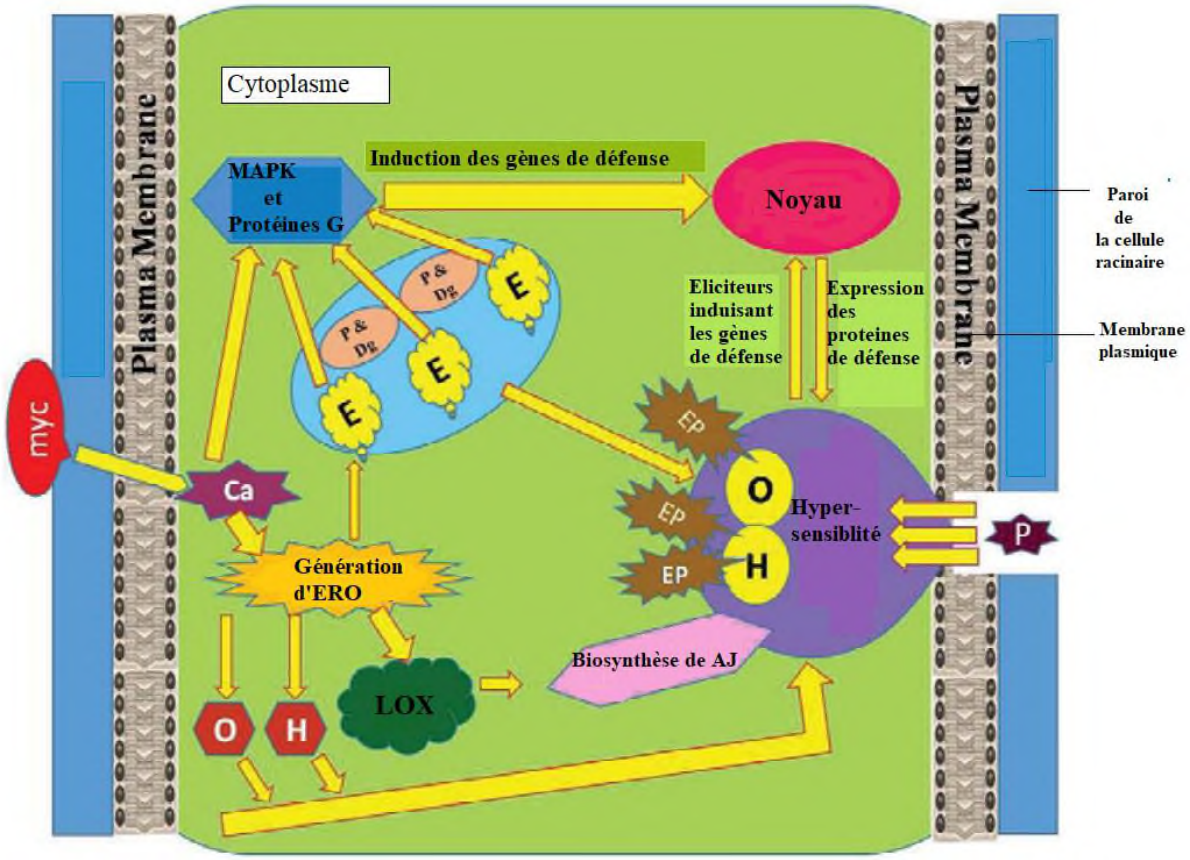

Figure 10: Voie d'induction des réactions de défense par les CMA et par un phytopathogène dans une cellule racinaire (Singh et al., 2019)

- Myc: Facteur mycélien du CMA appelé aussi (LCO-Myc);
- P : pathogène
- Ca: induction de Ca^{2+} cytosolique
- ERO : Espèces réactives d'oxygène
- MAPK: mitogen activated protein kinase
- O: anion superoxide (O_2^-),
- H: peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
- LOX: Lipoxygénase
- JA: Acide jasmonique
- E: Enzymes antioxydants (comme le superoxide dismutase, acrobate peroxydase, peroxydase, catalase)
- EP : métabolisme des ERO phosphorylées

Tableau 6: Différentes pathogènes telluriques contrôlés par les CMA (partie 1)

Espèce de CMA	Culture	Pathogène	Effets	Réf.
Glomus aggregatum* ,*Trichoderma harzianum	Onion	*Sclerotium cepivorum*	Inhibition de la croissance du pathogène (jusqu'à 65 %) ; Réduction de l'incidence de la maladie jusqu'à 53 % et amélioration de la croissance des plantes en pots.	(Leta, 2012)
G. intraradices	Concombre	*Pythium delicense*	Teneur élevée en macro et microéléments dans les feuilles ; Amélioration des paramètres de croissance ; Réduction de la sévérité de la maladie.	(Küçükyumuk et al., 2014)
Funneliformis mosseae	Tomate	*Alternaria solani*	La pré-inoculation avec le CMA induit l'activité des glucanase, chitinase, phénylalanine ammonia-lyase et lipoxygénase dans les feuilles juste après l'infection avec le pathogène ; L'activation des gène de défense (PRP)	(Song et al., 2015)
F. mosseae, G. fasciculatum Rhizophagus irregularis	Pois Chiche	*Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*	Réduction de la population du pathogène dans les tissus ; Le pathogène stimule la colonisation des racines par les CMA.	(Shukla et al., 2015)
Glomus intraradices	Tomate	*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*	Réduction de la pourriture des racines jusqu'à 50 %. Amélioration de la croissance des plantes	(Al Hmoud and Al Momany, 2015)
	Poivre	*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*	Réduction de la pourriture des racines. Amélioration de la croissance des plantes	
	Aubergines	*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*	Réduction de la pourriture des racines jusqu'à plus de 50 %. Amélioration de la croissance des plantes	
	Concombre	*Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*	Réduction de la pourriture des racines jusqu'à plus de 50 %. Amélioration de la croissance des plantes	
Rhizophagus intraradices	Soja	*Macrophomina phaseolina*	Amélioration de la biomasse des plantes La fertilisation azotée réduit le taux de colonization mycorhizienne ; Réduction de la sévérité de la maladie	(Spagnoletti et al., 2020)
Acaulospora tuberculata et ***Gigaspora margarita***	chou Caraïbe	*Pythium myriotylum*	- Amélioration de la nutrition minérale - Réduction de l'incidence de la maladie - Activité accentuée de phénylalanine ammonia lyase (PAL) et polyphénols oxydase - Teneur élevée en polyphénol totaux et flavones chez les plantes colonisées	(Ntengna et al., 2019)
Espèces autochtones ***-Paraglomus occultum*** ***- Glomus etunicatum*** ***-Glomus fasciculatum*** ***- Glomus clarum***	Olivier	*Verticillium Dahliae*	- Amélioration de la biomasse, du taux de croissance, et du nombre de feuilles chez les plantes infesté et inoculées avec les 4 CMA	(Khrieba et al., 2019)

Tableau 7: Différentes pathogènes telluriques contrôlés par les CMA (partie 2)

Espèce de CMA	Culture	Pathogène	Effets	Réf.
Glomus mosseae	Tomate	*Cladosporium fulvum*	- Amélioration de la biomasse et de l'intensité photosynthétique - Réduction de l'indice de la maladie jusqu'à 11,7 % - Activité significativement élevée des enzymes POX et SOD. - Réduction des taux des ERO (H_2O_2)	(Wang et al., 2018)
Glomus sp.	Renoncule asiatique	*Fusarium oxysporum* f. sp. *Ranunculi*	- Réduction du taux de mortalité de la maladie fongique jusqu'à 60 % ; - Exsudation de nouveaux métabolites secondaire dans la rhizosphère des plantes mycorhizées et infectées par le pathogènes : Acide cyringique, ferulique et l'isorutin.	(Benedetta et al., 2017)
Glomus clarum* et *G. deserticola were	Maïs	*Fusarium verticillioides*	Réduction significative de la sévérité de la maladie ; Amélioration de la biomasse et les paramètres agronomiques des plantes avec l'inoculation de 30 spores de chaque souche à part.	(Olowe et al., 2018)
Claroideoglomus etunicatum; Rhizophagus diaphanous; R. intraradices	Fraisier	*Pestalotiopsis clavispora*	Réduction de la sévérité de la maladie chez les plantes inoculées avec la mixture de trois espèces. Les CMA sont mieux que les fongicides systémiques en matière de réduction de la pourriture de la tige et de la racine. Le nombre et la longueur des racines, le diamètre du collet sont significativement élevés par rapport au témoins.	(Yehia Khaf et al., 2018)
Funneliformis mosseae	Orge	*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*	- Induction de la résistance systémique dans les feuilles - Réduction de l'infection jusqu'à 78 % - Accumulation des composés phénoliques et de H_2O_2 au niveau du site d'infection ; - Expression très accentuée des gènes codants pour plusieurs enzymes Peroxidase, phénylalanine ammonia lyase, chitinase et les protéines liées au pathogènes (PRP)	(Mustafa et al., 2017)
Consortia formés de ***- Glomus intraradices;*** ***- Glomus hoi,*** ***- Gigaspora margarita*** ***- Scutellospora gigantea***	Haricot	*Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli*	- Réduction de l'incidence et de la sévérité de la maladie ; - Taux de colonization par les CMA a été réduit après l'infestation par le pathogène. - Augmentation des polyphénols solubles et des flavonoïdes chez les plantes mycorhizées	(Eke et al., 2016)

5.1.6 Les CMA et le palmier dattier

Le palmier dattier croit et se développe principalement dans des régions désertiques où les conditions de croissance sont extrêmes ; sol pauvre en matière organique et en éléments minéraux, activité biologique très faible, faible précipitation et un taux d'évaporation élevé, d'où l'importance de l'association mycorhizienne dans sa croissance et son développement (Al-Yahya'ei, 2008; Baslam et al., 2014; Bouamri et al., 2014, 2006). Les premières observations des champignons mycorhiziens chez le palmier dattier étaient dans le désert Crescent, près de Bagdad, où ils prenaient la place des poils absorbants et contribuaient à une nutrition minérale et hydrique du palmier dattier (Khudairi, 1969).

Cependant, les recherches scientifiques à propos de l'identification de la communauté mycorhizienne associée au palmier dattier n'ont commencé qu'en 2006. En effet, des études menée dans les palmeraies de Tafilalet (Sud-Est du Maroc) ont montré la présence de certaines espèces de CMA: *Glomus arenarium, Glomus etunicatum, Glomus versiforme, Glomus fasciculatum, Glomus pulvinatum et Acaulospora longula* (Bouamri et al., 2006). Deux années plus tard, à Oman, d'autres espèces de CMA ont été identifiées chez le palmier dattier et certaines plantes spontanées dans le désert (Al-Yahya'ei et al., 2008). Cependant, la discussion quant aux rôles et applications des CMA autochtones sur la culture du palmier dattier n'a eu lieu qu'en 2013 (Al-Karaki, 2013).

Au Maroc, des recherches ont été menées afin d'évaluer les effets de certains complexes mycorhiziens sur la croissance, la protection contre la maladie du « Bayoud » et la tolérance à certains stresses abiotiques (hydrique principalement) (Jaiti et al., 2008, 2007; Wahbi et al., 2015) . Cependant, ces évaluations n'ont été effectuées que sur des petites plantules issues de la germination de noyaux dont les facteurs génétiques influencent certainement l'effet des champignons mycorhiziens en relation avec les génotypes des plantes. Ajoutons à cela que ces plantes issues de semis de noyaux n'atteignent le stade de production qu'après 10 ans et plus de leur culture (Teixeira, 2017). En outre, la multiplication du palmier dattier n'est fiable et productive que par les nouvelles techniques (notamment l'organogenèse) de la culture *in vitro* des tissus (Amine et al., 2016; Meziani et al., 2015; Othmani et al., 2009), obligatoirement utilisée pour restaurer et réaliser l'extension des palmeraies du Maroc (MAPMDREF, 2018). Ces nouvelles techniques deviennent indispensables pour régénérer des vitro-plants ayant le même génotype de la souche mère, indemnes de maladies et ne portant pas de pathogènes susceptibles de contaminer les foyers encore vierges par le « Bayoud » sachant que les rejets sont les vrais porteurs des maladies et des ravageurs (El Bouhssini and Faleiro, 2018). De ce fait, l'inoculation des vitro-plants avec les CMA, au stade d'acclimatation en pépinière, serait

cruciale et fiable pour faciliter leur colonisation et améliorer leur croissance en conditions hostiles des oasis ainsi que leur protection contre la maladie du « Bayoud » avant qu'ils seront transplantées dans le champs. Il s'agit d'une colonisation et une protection vraiment préventives.

5.2 Importance des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

5.2.1 Définitions

La rhizosphère est une zone étroite du sol entourant directement le système racinaire de la plante (Walker et al., 2003). Le terme «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria » (PGPR) ou Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (en français) inclut un groupe de microorganismes qui devraient être distingués par leur efficience à coloniser la surface racinaire, y survivre, s'y multiplier et se concourir face à d'autres microorganismes au moins au moment où ils contribuent à la croissance et/ou la protection de la plante (Ahemad and Kibret, 2014; Kloepper, 1994). Au sein de la rhizosphère, ces bactéries constituent la population la plus dominante et la plus favorable pour la croissance et le maintien de la plante, cependant certaines d'entre elles peuvent pénétrer à l'intérieur des tissus de la plante hôte et forment une population endophytique aussi bénéfique pour la plante (Soussi et al., 2015).

5.2.2 Sources nutritionnelles des PGPR

Le système racinaire des plantes secrète des nutriments très importants exploités par toute sorte de microorganismes telluriques ; ces composés appelés les exsudats racinaires constituent des sources nutritionnelles aux PGPR vivants dans l'interface sol-plante. Les exsudats incluent tous les composés existants dans les plantes à l'exception de la chlorophylle et d'autres composés dérivés. Le tableau 8 en montre les différents exsudas racinaires pouvant être libérés par le système racinaire de la plante (Uren, 2007).

En effet, plus de 40% de carbone fixé par le processus de la photosynthèse est libéré dans la rhizosphère (Ahemad and Kibret, 2014; Doornbos et al., 2012). Toutefois, la composition des exsudats racinaires dépend de l'espèce végétale, du cultivar, du stade de développement, du support de la croissance de la plante et les facteurs de stress. En outre, ces différents composés jouent un rôle très important dans le chimiotactisme entre les communautés microbiennes rhizosphériques et le système racinaire. Cependant, certains types d'exsudats racinaires agissent comme des agents répulsifs pour les micro-organismes alors que d'autres ont un effet attractif vis-à-vis de ces derniers. Les exsudats modifient également certaines propriétés physicochimiques du sol (notamment le pH et l'humidité). Ceci régule ainsi le fonctionnement

des microorganismes telluriques et leurs interactions dans l'interface sol-plante (Doornbos et al., 2012). Ils ont aussi un potentiel impliqué dans les interactions symbiotiques entre les microorganismes et la plante, y compris les associations mycorhiziennes (Lies et al., 2018). D'ailleurs, ils facilitent la mise en place rapide de la symbiose, dans laquelle les rhizobactéries en interviennent de leur part (Ahemad and Kibret, 2014).

Tableau 8: Composés organiques libérés par les racines des plantes (Uren, 2007)**.**

Catégorie	Exemples
Sucres et polysaccharides	Arabinose, Désoxyribose, fructose, galactose, glucose, maltose, mannose, mucilages, oligosaccharides.
Acides aminés	∝-alanine,γ-amino butyrique, arginine, asparagine, acide aspartique, citruline, cystéine, cystine, glutamine, glycine, Homoserine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, ornithine, phénylalanine, thréonine, tryptophane, tyrosine, valine.
Acides organiques	A. acétique, A. aconitique, A. aldonique, A. Ascorbique, A. Benzoïque, A. Butyrique, A. caféique, A. Citrique, A. Formique, A. Fumarique.
Acides gras	A. Linoléique, linolénique, oléique, palmitique et stéarique.
Stérols	Cholestérol, sitostérol, stigmastérol.
Facteurs de croissance	Biotine, choline, niacine, vitamines B1, B2 et B6.
Flavonones et nucléotides	Adénine, Flavonones, guanine, urédine et cytidine.
Divers	Auxines, β −benzoquinone, acide hydrocyanique, glucosides, protéines solubles non identifiés, dihydroquinone.

5.2.3 Modes d'action directes des PGPR

La colonisation des niches racinaires par les microorganismes rhizosphériques est un processus fondamental dans la lutte contre les microorganismes pathogènes et la stimulation de la croissance des plantes. Ainsi, les PGPR sont caractérisées par leur aptitude à coloniser le système racinaire en présence des microorganismes indigènes et pendant un intervalle de temps très important. Cette concurrence est à l'origine d'une interaction chimiotactique et de la mobilité de certains PGPR. Certains types des exsudats racinaires ont un effet antimicrobien (tableau 8), ceci favorise la colonisation des niches par des microorganismes pourvus d'un équipement enzymatique capable de détoxifier ces substances ; les PGPR en sont bien adaptés (Compant et al., 2005).

Il faut noter que les flagelles et les lipopolysaccharides (LPS) sont deux éléments essentiels pour l'efficacité de la colonisation (Jourdan et al., 2008a). Toutefois, ces deux composants sont présents à la fois chez les microorganismes phytobénéfiques et les phytopathogènes, d'où leurs actions en tant qu'une catégorie d'éliciteur de surface indispensables à l'interaction entre la rhizobactérie et son hôte (Jourdan et al., 2008a; Persello-Cartieaux et al., 2003). La colonisation et l'interaction avec la plante sont les principaux facteurs qui inhibent la pénétration des

phytopathogènes et la stimulation de la défense immunitaire chez les plantes (Persello-Cartieaux et al., 2003).

5.2.3.1 Induction de la résistance systémique (ISR) par les PGPR

Lors d'une agression de la plante par un agent pathogène, différents cas de figures pourraient se présenter : (1) l'interaction **incompatible** qui se manifeste par l'incapacité de l'agent agressif à infecter son hôte, cela réside dans la présence de barrières physiques et/ou chimiques (cuticule, parois végétales, substances antimicrobiennes secrétées par l'hôte) (Nurnberger and Lipka, 2005) ; (2) le pathogène est reconnu par son hôte, mais la mise en place d'une réponse rapide permettant de restreindre ou stopper l'invasion ; (3) la pénétration du pathogène à travers la paroi ou via des blessures et sa perception suite à l'existence de motifs moléculaires associés au pathogène (PAMPs : Pattern Associated Molecular Pathogen). Cette perception induit la réponse immunitaire de base (PTI ; PAMP-Triggered Immunity) afin de limiter l'invasion (Jones and Dangl, 2006). Dans le cas où ces réactions de défense ne sont pas performantes, l'interaction sera **compatible**. Ainsi, l'agent pathogène se multiplie et envahit les tissus végétaux adjacents. D'ailleurs les agents pathogènes ont appris à masquer leur présence en désactivant les réactions de défense en libérant des effecteurs, appelés protéines d'avirulence, dans le milieu intracellulaire (Abramovitch and Martin, 2004).

Les protéines d'avirulence (Avr) chez l'agent pathogène peuvent avoir deux rôles différents selon la sensibilité ou la résistance de la plante hôte. Si celle-ci est résistante, les protéines Avr interagissent avec les protéines de résistance R au niveau de la surface de la cellule végétale, les Avr seraient considérés dans ce cas comme des éliciteurs des réactions de défense. Cette interaction est suivie d'une transmission du signal pour enfin induire l'expression des gènes de défense contre le phytopathogène d'une façon systémique ; une telle réaction est appelée « réaction d'hypersensibilité ». Au moment où la plante est sensible (absence des protéines R), les protéines Avr faciliteront au contraire la pathogénicité du phytopathogène ; soit par retardement du renforcement de la paroi, soit par la modification de l'activité des protéines dans la cellule hôte ou par interférence avec la transcription des gènes de défense (Jones and Dangl, 2006; Jourdan et al., 2008a).

Les mécanismes de développement de la résistance systémique acquise (SAR) sont le plus souvent indépendants de la résistance systémique induite (ISR). La première est à l'origine des microorganismes pathogènes, alors que la deuxième est à l'origine des rhizobactéries phytobénifiques et ne présente pas des symptômes visuels au niveau de la plante hôte sauf dans certains cas où le mécanisme est similaire (Höfte and Bakker, 2007) (Fig.11 et 13)

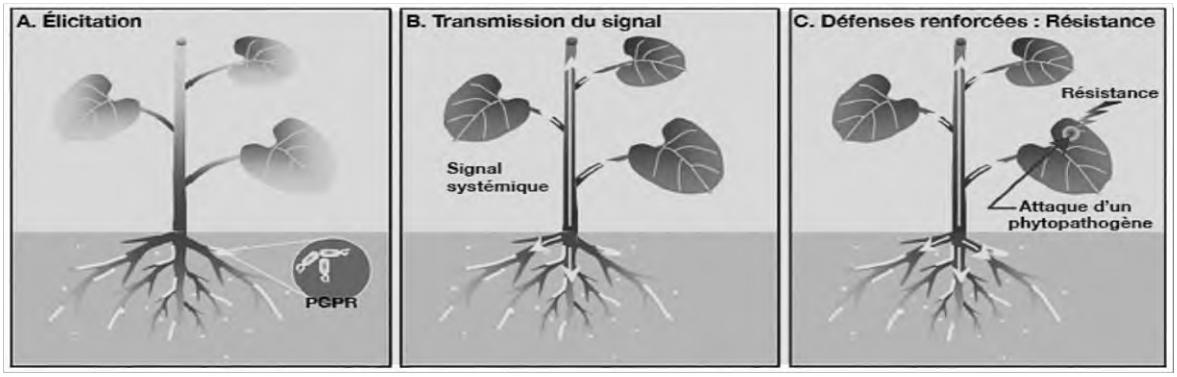

Figure 11: Résistance systémique induite chez les plantes par des PGPR (Jourdan et al., 2008b).
Les trois étapes de l'induction de la résistance systémique via les PGPR se résument en:
A : L'élicitation ; les PGPR interagissent avec les racines de l'hôte et produisent des éliciteurs qui sont perçus par la plante ;
B : Après la reconnaissance des déterminants, un signal est véhiculé dans l'ensemble de la plante afin de l'alerter ;
C : Enfin, lors d'une éventuelle attaque par un agent phytopathogène, la plante sera en mesure de répondre plus efficacement à l'agression lui conférant ainsi une résistance.

Les éliciteurs de l'ISR peuvent être subdivisés en plusieurs composantes :

- Les composantes de la surface cellulaire : d'abord l'importance des **flagelles** dans l'induction de l'ISR ou de la SAR chez les plantes a été mise en évidence via la comparaison des taux de protection élucidée par *Pseudomonas putida* contre *P. syringae* chez arabidopsis. Cependant les flagelles de la même souche ne semblent pas aptes à stimuler l'ISR chez la tomate et le haricot respectivement contre *Botrytis cinerea* et *Colletotrichum lindemuthianum*. Ceci révèle donc que l'activité des flagelles dans la mise en place de l'ISR dépend du pathosystème étudié (Meziane et al., 2005). D'autre part, les **lipopolysaccharides** (LPS) sont des motifs membranaires bactériens, constitués d'un noyau oligosaccharidique associant un groupement polysaccharidique (antigène O) vers l'extérieur à une chaine lipidique (lipide A) intégrée au sein de la membrane externe des bactéries à Gram négatif (Fig.12). Les LPS ont principalement un rôle arsenal dans la ISR ; comme exemple, on peut citer le cas de *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Burkholderia cepacia* et *Rhizobium elti* dont les effets protecteurs sont prometteurs sur divers pathosystèmes comme arabidopsis /*Fusarium oxysporum*, haricot/*Botrytis cinerea*, tabac/*Phytophtora nicotianeae* et pomme de terre/*cyst nematode* (Reitz et al., 2002).
- La deuxième catégorie des éliciteurs de l'ISR par les PGPR correspond aux métabolites régulés par le fer. Il s'agit des pyoverdines qui sont définies comme étant des **sidérophores** (molécules chélatrices de fer) ayant une grande affinité vis-à-vis du Fe. Appelés aussi pseudobactines, les pyoverdines présentent tous une structure générale

pareille : une séquence peptidique de 6-12 acides aminés (selon la souche bactérienne) liée à un chromophore ayant une activité chélatrice à l'instar des pyoverdines de la souche *P. fluorescens* WCS358 qui induisent l'ISR chez arabidopsis, le haricot, la tomate et l'eucalyptus (Höfte and Bakker, 2007).

L'acide salicylique est un éliciteur indispensable chez certains microorganismes pour induire l'ISR et dont l'activité chélatrice a été démontrée chez deux souches de *Pseudomonas aeruginosa :* 7NSK2 et KMPCH. Il intervient aussi comme un précurseur de la biosynthèse de pyocheline, un autre sidérophore capable de stimuler une réponse défensive chez les plantes (Audenaert et al., 2002).

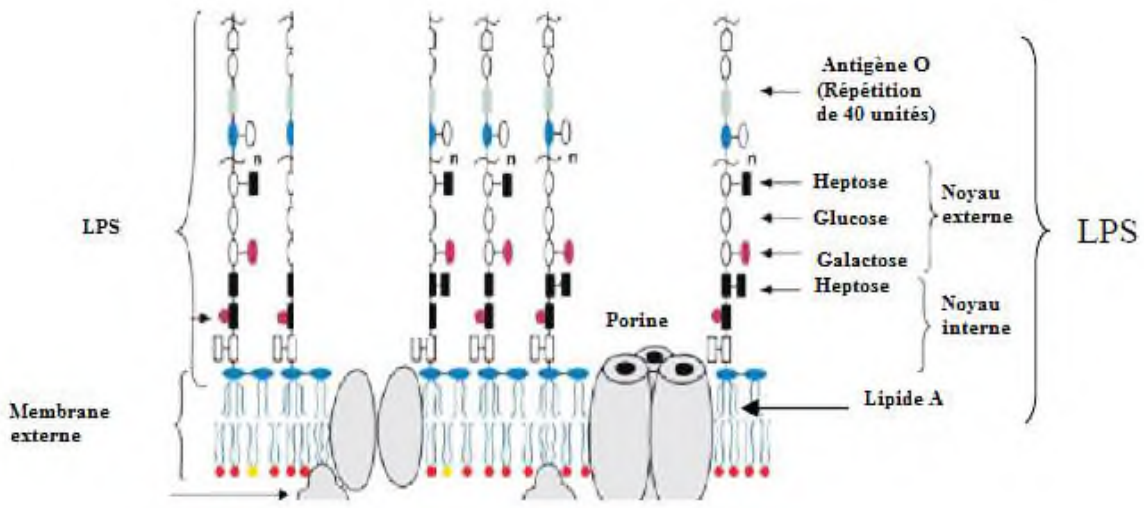

Figure 12: Structure générale des LPS (Reitz et al., 2002)**.**

De plus, d'autre chercheurs ont montré effectivement que la production de sidérophores a été détectée chez 36,2% des isolats testés, leur conférant ainsi un avantage concurrentiel dans la lutte biologique et contribue à la suppression de la maladie en raison de la quantité limitée d'oligo-éléments essentiels dans les habitats naturels (Laslo et al., 2012)

- Troisièmement, les éliciteurs appartenant aux substances antimicrobiennes sont aussi nombreux. Les rhizobactéries produisent un grand nombre de ces molécules (Tableau 9) qui inhibent la croissance des microorganismes pathogènes (Bactéries, virus, champignon ou nématodes). En 2011, certaines souches de l'espèce *Pseudomonas protégeons* produisent des métabolites secondaires antimicrobiens comme le 2,4-Diacetylphloroglucinol (DAPG), le pyoluteorine, le cyanure d'hydrogène (HCN) et le pyrrolnitrine (Ramette et al., 2011).

Le tableau 9 montre certains éliciteurs et leurs microorganismes producteurs pour la mise en place de la résistance et le contrôle des phytopathogènes. Le tableau reprend à la fois les éliciteurs présents chez des phytopathogènes et ceux issus de PGPR capables d'induire le phénomène d'ISR et les éliciteurs moins spécifiques présents chez les deux types de microorganismes (Jourdan et al., 2008a).

Tableau 9: Molécules d'élicitation de mécanismes de défense et les microorganismes producteurs (Jourdan et al., 2008a).

Eliciteurs	Microorganismes
Isolés de phytopathogènes	
Endopolygalacturonase (Pectinase)	Champignon (*Botrytis, Mucor*)
Invertase	Levure
Xylanase	Champignon (*Trichoderma*)
Protéines inductrices de nécrose	Bactérie (*Erwinia),* Oomycète (*Pythium, Fusarium, Phytophthora*
Protéines *Avr*	Champignon (*Cladosporium*)
Exopolysaccharides	Bactérie (*Pantoea*)
Communs aux phytopathogènes et aux PGPR	
Lipopolysaccharides (LPS),	Bactérie (*Xanthomonas, Pseudomonas, Sinorhizobium*)
Flagelline	Bactérie (*Pseudomonas, Acidovorax*)
Isolés de PGPR	
Pyoverdines	Bactérie (*Pseudomonas fluorescens)*
Acide salicylique, Pyocheline	Bactérie (*Pseudomonas fluorescens, putida*)
2,4-Diacetylphloroglucinol	Bactérie (*Pseudomonas fluorescens*)
Butandiol	Bactérie (*Bacillus subtilis, amyloliquefaciens)*
N-Acyl Homoserine lactone	Bactérie (*Serratia liquefaciens*)
Molécules chimiquement synthétisées	**Acide salicylique, acibenzolar-S-méthyl-benzothiadiazole, acide 2,6-dichloro-isonicotinique, acide arachidonique**

5.2.3.2 Voies de signalisation de l'ISR et de la SAR

La reconnaissance des protéines Avr produites par le pathogène, et éventuellement des PAMPs (Fig.13), provoque une réponse hypersensible au niveau du site d'infection. Un signal est ensuite transmis à l'ensemble de la plante via une voie dépendante de l'acide salicylique (AS). Celui-ci activerait la protéine SABP2 (*SA-Binding Protein*) et provoquerait une modification du potentiel redox dans le cytoplasme. La protéine NPR1 (Non-expressor Pathogenesis-Related genes) subirait alors un changement de conformation et de dissocient en monomères. Des monomères de NPR1 migreraient dans le noyau où ils s'associeraient avec le facteur de transcription TGA pour initier la transcription des gènes de défense.

Dans le cas de l'ISR induite par des rhizobactéries non pathogènes, la reconnaissance des éliciteurs activerait dans la plupart des cas une voie de transduction dépendante de la perception de l'acide jasmonique (JA) et l'éthylène (ET). Celle-ci a été mise en évidence via l'étude de mutants jar1 et etr1 qui sont respectivement insensibles au jasmonate et à l'éthylène, et incapables de développer l'ISR (Jourdan et al., 2008a).

La voie de signalisation de L'ISR peut converger vers celle de la SAR au niveau de la protéine NPR1, également indispensable pour le développement de l'ISR, et aboutirait à une mise en alerte de la plante, ou « *priming* » (Fig.13).

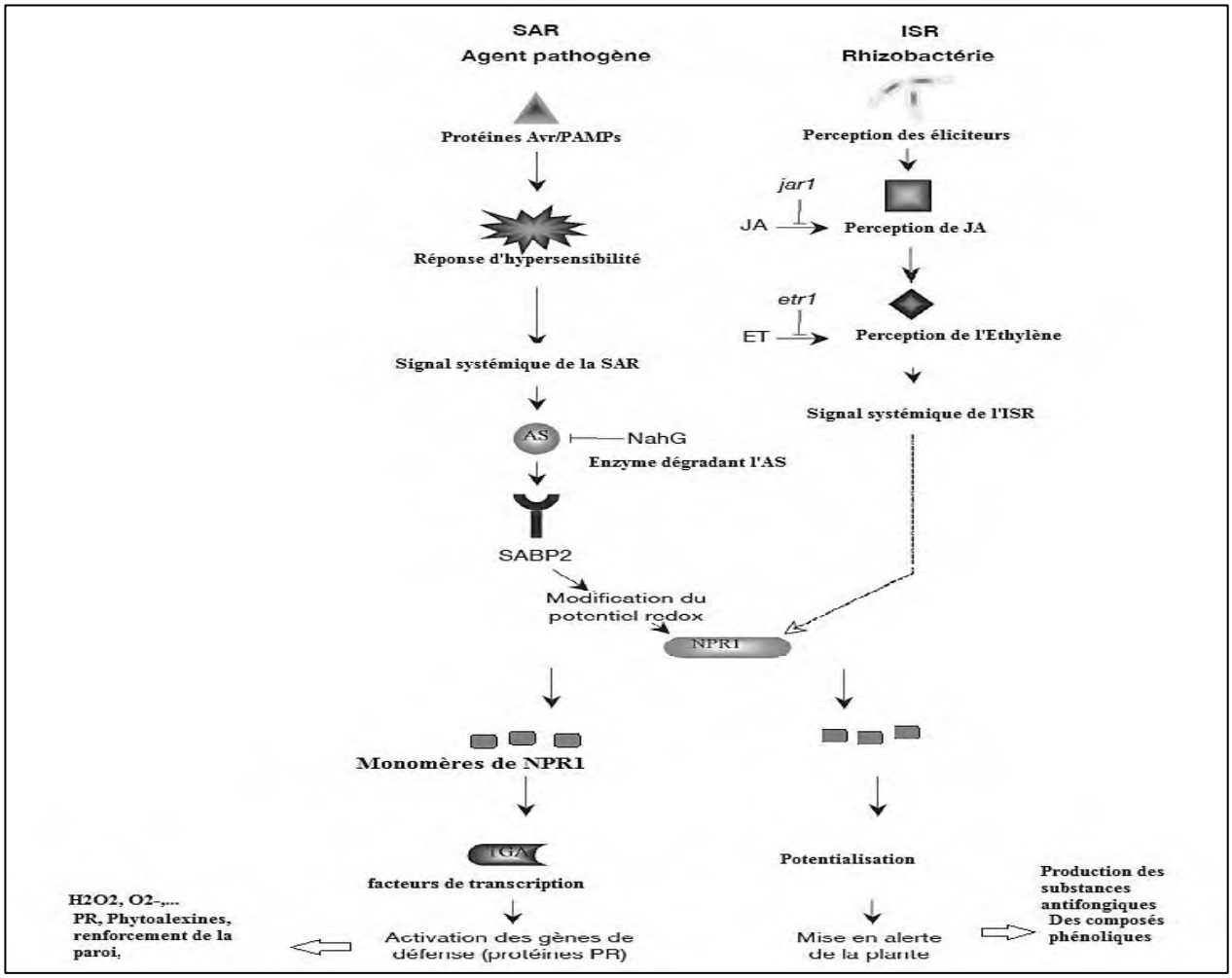

Figure 13: Modèle illustrant des voies de transduction de signal impliquées dans la résistance systémique induite par un pathogène (SAR) ou par une PGPR (ISR) (Jourdan et al., 2008a).

JA : Acide jasmonique, ET : Ethylène, ISR : Résistance systémique induite, SAR : Résistance systémique acquise, PAMP : Pattern Associated Molecular Pathogen (poule de molécules associées au pathogène), jar1 et etr1: Enzymes responsables respectivement de la synthèse de l'acide jasmonique et de l'éthylène, SABP (SA-Binding Protein) : protéine de fixation de l'acide salicylique

5.2.4 Modes d'action indirectes des PGPR

5.2.4.1 Fixation d'azote

Les PGPR fixatrices d'azote (N_2) comprennent généralement les bactéries symbiotiques (tableau 10) comme les genres de la famille des rhizobiaceae formants une association symbiotique avec les plantes légumineuses et non-légumineuses (exemple du genre *Frankia*) (Ahemad and Khan, 2012; Ahemad and Kibret, 2014; Zahran, 2001) et les bactéries non-symbiotiques comme les cyanobactéries (exemple du genre *Anabaena*, *Nostoc*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Gluconoacetobacter diazotrophicus* et *Azocarus* (Bhattacharyya and Jha, 2013). Cependant, les

microorganismes non symbiotiques fixent une quantité moins importante que celle indispensable à la plante hôte (Glick and Glick, 2012). Ce processus contribue efficacement à la disponibilité de l'azote assimilable par la plante au sein de la rhizosphère.

5.2.4.2 Solubilisation du phosphate

Les bactéries rhizosphériques solubilisatrices du phosphate (tableau 10) sont considérées comme des biofertilisants, car elles approvisionnent la plante en phosphore sous sa forme assimilable (monobasique H_2PO^{4-} ou dibasique HPO_4^{2-}) via des mécanismes variés (Zaidi et al., 2009). Les genres bactériens à savoir *Azotobacter, Bacillus, Beijerinckia, Burkholderia, Enterobacter, Erwinia, Flavobacterium, Microbacterium, Pseudomonas, Rhizobium et Serratia* ont été rapportés comme étant des microorganismes ayant un pouvoir crucial de solubilisation (Bhattacharyya and Jha, 2013). La solubilisation du phosphore inorganique est sous l'action de différents acides organiques de faible poids moléculaire ou des enzymes phosphatases synthétisées par des microorganismes telluriques (Zaidi et al., 2009). Inversement, la minéralisation du phosphore organique requiert l'intervention de différentes phosphatases catalysant l'hydrolyse des phospho-esters (Glick and Glick, 2012). Il est important de noter qu'une même souche bactérienne peut accomplir les deux activités ou plus ; la solubilisation et la minéralisation (Tao et al., 2008) (Fig.14)

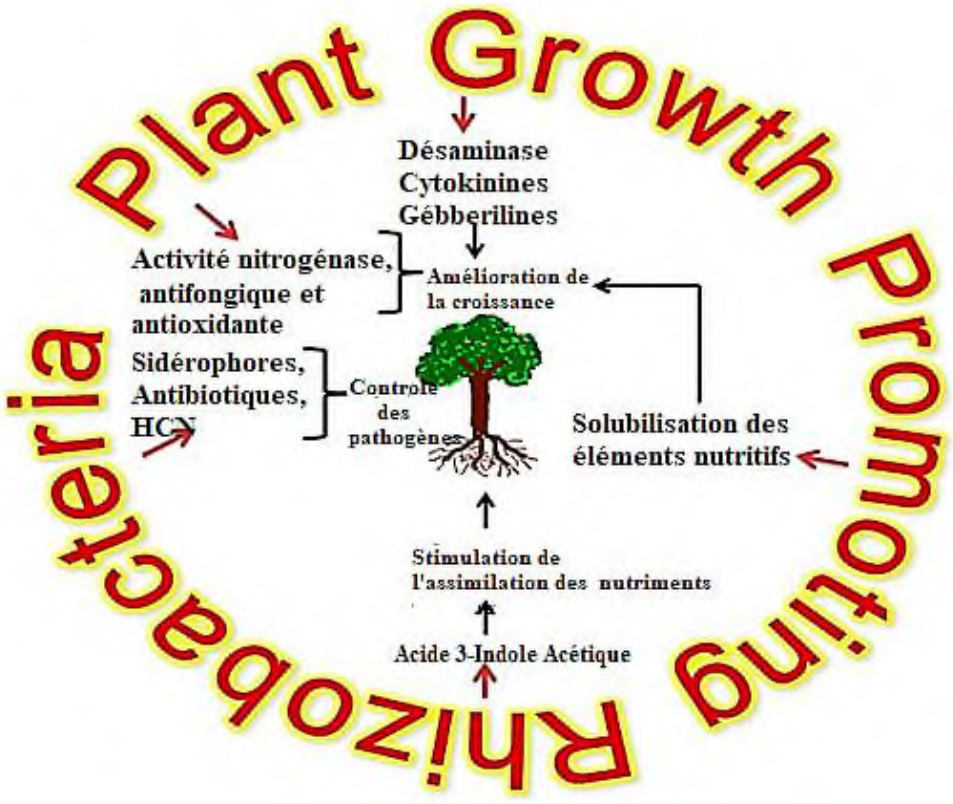

Figure 14: Mécanismes d'actions indirectes des PGPR vis-à-vis de la plante (Ahemad and Kibret, 2014)

5.2.4.3 Production des phytohormones

En se basant sur plusieurs travaux de recherche menés à propos de la production des phytohormones par les PGPR (tableau 10 et Fig.14), on déduit effectivement que les auxines sont les plus produites via le métabolisme de l'acide aminé tryptophane (précurseur de synthèse) (Carlos et al., 2015; Goswami et al., 2015b; Jayaprakashvel et al., 2014; Kavamura et al., 2013; Lim and Kim, 2009; Tsavkelova et al., 2007, 2005). En effet, les auxines ont des rôles multiples dans le contrôle de la croissance et le développement de la plante ; la division cellulaire, l'élongation cellulaire, la dominance apicale et la différenciation des tissus (Duca et al., 2014). La rhizosphère des plantes est une niche qui abrite plusieurs genres de PGPR capables de produire les auxines en quantités variables en fonction de l'espèce bactérienne. Des recherches ont montré que ces bactéries productrices appartiennent à différents genres à l'instar d'*Enterobacter, Pseudomonas, Klebsiella, Azospirillum, Rhizobium, Rahnella, Delftia, Caulobacter, Pannonibacter, Xanthomonas, and Stenotrophomonas* (Mehnaz et al., 2010).

Toutefois, d'autres travaux de recherches ont bien montré que les pourcentages de PGPR productrices des substances actives (phytohormones, sidérophores, HCN, NH_4^+ ou autres) sont plus variés en fonction du biotope d'isolement et de l'espèce bactérienne (Ferjani et al., 2015).

5.2.5 Contributions des PGPR à la croissance et à la protection des plantes

De nombreuses études impliquant les bactéries PGPR ont été menées sur des cultures maraichères et des arbres fruitiers dans le but de cribler leurs effets prometteurs dans l'amélioration de la croissance et la lutte biologique contre certains phytopathogènes et ainsi d'innover des procédés biologiques et écologiques alternatifs aux produits phytosanitaires de synthèse nocifs pour le manipulateur, le consommateur et à la microflore tellurique bénéfique. Les tableaux 11 et 12 montrent clairement l'efficience de plusieurs espèces PGPRs dans l'amélioration de la croissance et la protection des cultures.

Tableau 10:Différents traits caractéristiques des PGPR

PGPR	Trait/Mécanisme	Réf.
Bacillus spp.	Solubilisation de phosphate, la production de l'IAA, de l'ammoniaque, et de sidérophores, activité antifongique,	(Slama et al., 2019; Zaidi et al., 2009)
Pseudomonas fluorescens	Potentiel de lutte biologique, production de l'AIA, de sidérophores et de ACC. Activité désaminase, fixation d'azote, solubilisation de phosphate,	(Saravanakumar and Samiyappan, 2007; Tank and Saraf, 2010)
Azospirillum Brasilense	Production de l'IAA activité de la nitrogénase, antibiose, stimulation de la croissance des plantes sous stress hydrique	(Tien et al., 1979; Zahedi and Abbasi, 2015)
Azotobacter	Synthèse de cytokinines, de l'AIA, solubilisation de phosphate et production d'ammoniaque, activité antifongique contre plusieurs phytopathogènes	(Ahmad et al., 2008; Nieto and Rankenberger, 1989)
Agrobacterium tumefaciens *Rhizobium pusense* *Flavobacterium anhuiens* *Rhizobium rosettiforman*	Solubilisation du potassium à partir de la muscovite et de la biotite via la production des acides	(Meena et al., 2015)
Bacillus thuringiensis, *Pseudomonas fluorescens* *Pseudomonas poae*	Solubilisation du phosphate inorganique ; Production de l'AIA, de l'AG et des phénols. Inhibition de la croissance mycélienne de *F.oxysporum* et de *R. solani* par certaines souches	(Ahmed et al., 2014)
Pseudomonas stutzeri, Bacillus subtilis, Stenotrophomonas maltophilia, *Bacillus amyloliquefaciens*	Production de l'AIA, Réduction de l'acétylène,	(Islam et al., 2016)
Bacillus pumilis	Réduction de la maladie causée par *Ralstonia solanacearum* chez un génotype sensible de la culture de la tomate Induction de la résistance systémique chez la tomate	(Kurabachew and Wydra, 2014)
Bacillus sp. *Pseudomonas sp.*	Solubilisation du phosphate, fixation d'N atmosphérique et la production d'AIA.	(Sutariati et al., 2020)
Pseudomonas aeruginosa *Kocuria turfanensis* *B. subtilis* *B. licheniformis* *Kocuria flav*	Production de l'AIA et de l'AIB (Acide 3-indol butyrique)	(Goswami et al., 2015b)
Bacillus megaterium, Bacillus subtilis Paenibacillus polymyxa *P. fluorescens et P. putida*	Fixation d'azote atmosphérique et solubilisation du phosphate	(Kutlu et al., 2019)
Bacillus spp. *Brevibacterium spp.* *Paenibacillus sp.* *Microbacterium oxydans*	Production de sidérophores, production d'antibiotiques Réduction de la croissance *d'Aspergillus ochraceus* and *A. carbonarius,* agents causales d'orchratoxie chez la vigne.	(Arfaoui et al., 2019)
Streptomyces goshikiensis	Production des enzymes (Catalase, Glucanase, Chitinase, Urease), induction de la résistance systémique ; Production des substances antifongiques et des composés organique volatiles.	(Faheem et al., 2015)

Tableau 11: Effets des PGPR sur la croissance et la tolérance des plantes aux différents types de stress

PGPR	Plante hôte	Résultats/Effets	Réf.
Pseudomonas fluorescens	Lupin jaune	Augmentation à la fois de la biomasse et de la teneur en azote.	(Ahemad and Kibret, 2014)
	Cotton	Traitement préventif contre *Rhizoctonia solani, Pythium spp,* et inhibition des zoospores du pathogène.	(Beneduzi et al., 2012)
Bacillus spp.	pois chiche	Amélioration de la croissance, la nodulation, la chlorophylle, la leghémoglobine, le rendement grainier et la protéine de grain ; Réduction de l'absorption de chrome dans les racines, les pousses et les grains.	(Ahemad and Kibret, 2014)
Azospirillum brasilense	Haricot	Améliorer la croissance des racines.	(Ahemad and Kibret, 2014)
	Blé	Amélioration de la croissance du blé dans les conditions de salinité.	(Nia et al., 2012)
Azotobacter	Cotton	Augmentation de rendement en graines (21%), hauteur de la plante (5%) et de la population microbienne dans le sol (41 %)	(Ahemad and Kibret, 2014)
	Moutarde brune	Amélioration de la croissance de la plante et sa protection contre la toxicité des métaux lourds.	(Wu et al., 2006)
Burkholderia gladioli	palmier à huile	Amélioration de la croissance et de l'absorption de phosphore.	(Istina et al., 2015)
Bacillus amyloliquefaciens **et** ***Pseudomonas fluorescens***	Bananier	Elles ont les mêmes effets significatifs et parfois plus que ceux de la fertilisation à 100 % en terme de biomasse, de la surface foliaire et du nombre de feuilles ; Elles colonisent fortement les cellules racinaires du bananier juste après 55 jour d'inoculation	(Gamez et al., 2019)
Bacillus megaterium, Bacillus subtilis, Paenibacillus polymyxa, Pseudomonas putida **and** ***Pseudomonas fluorescens***	Origan	Amélioration du rendement en herbe, de la biomasse, de la hauteur, du diamètre, de la teneur en chlorophylle et du rendement en huiles essentielles ; Amélioration des macro et microéléments foliaires	(Kutlu et al., 2019)
Pseudomonas sp **et** ***Azotobacter***	Citronnelle	Effet significativement positif sur la biomasse et les activité enzymatiques de la plante ; Teneur en phénols significativement élevée suite à l'inoculation avec les PGPRs ; Augmentation de la teneur en flavonoïdes jusqu'à 18 % par rapport au témoin ; Elévation du rendement en huiles essentielles par les deux espèces PGPRs jusqu'à 14 % par rapport au témoin.	(Mirzaei et al., 2020)
Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus sp. Bacillus sp S2	**fraisier**	**Augmentation de la hauteur, de nombre de tiges, de la surface foliaire, de nombre de fruit/plant et de la teneur en chlorophylle,** **Taux photosynthétique élevés ;** **Amélioration de différents composés du fruit (acide ascorbique, acidité, sucres totaux et les anthocyanines.**	**(Seema et al., 2018)**

Tableau 12: Effets des PGPRs sur la protection des plantes contre les phytopathogènes

PGPR	Plante hôte	Pathogène	Résultats/Effets	Réf.
Pseudomonas fluorescens	Œillet	*Fusarium oxysporum*	Déclencher la résistance systémique induite	(Beneduzi et al., 2012)
	Cotton	*Rhizoctonia solani, Pythium spp*	Inhibition des zoospores du pathogène.	(Beneduzi et al., 2012)
Bacillus spp.	Tomate	*Clavibacter michiganensis.*	Suppression de chancre bactérien	(Boudyach et al., 2004)
	Haricot	*Macrophomina phaseolina Fusarium oxysporum, F. solani, Sclerotinia sclerotiorum, Rhizoctonia solani* et *Colletotricum sp*	Inhibitions de la croissance des phytopathogènes, *Fusarium oxysporum, F. solani, Sclerotinia sclerotiorum, Rhizoctonia solani et Colletotricum sp*	(G. Kumar et al., 2012)
Pantoea agglomerans Aureobasidium pullulans	Tomate	*Clavibacter michiganensis* susp. *michiganensis*	Réduction de l'incidence de la maladie du chancre bactérien jusqu'à 16 %.	(El kinany et al., 2017)
Pseudomonas parafulva	Soja	*Xanthomonas ax-onopodis pv. Glycines* et *Burkholderia glumae*	Protection des plantules via la production des sidérophores, la mobilité, la formation du biofilm et production d'un nouvel lipopepitde	(Kakembo and Lee, 2019)
Consortium de huit souches PGPR	Curcuma	*Rhizoctonia solani, Fusarium solani , Schizophyllum commune, Macrophomina phaseolina, Fusarium graminearum, Fusarium solani*	Réduction de la pourriture jusqu'à 69 % uniquement par *Pseudomonas aeruginosa* qui dépasse le taux enregistré chez le fongicide commercial (33 %).	(Chenniappan et al., 2019)
Bacillus amyloliquefaciens et *Bacillus pumilus*	Vigne	*Aspergillus ochraceus* et *A. carbonarius*	- Le taux d'inhibition de la croissance des pathogènes atteint 80 et 85 % respectivement dans le cas de *A. carbonarius* et *A. ochraceus* - Production des sidérophores et des substances antifongiques volatiles par les différentes souches. - Réduction de la pourriture des grappes.	(Arfaoui et al., 2019)
Bacillus spp	Poivron	*Verticillium dahliae*	- Production des antifongiques par les différentes espèces PGPRs : - Taux d'inhibition du pathogène atteint 73 % ; - Production des enzymes Cellulase, Protéase, Urease. - Détection des gènes de biosynthèse de lipopeptides antifongiques : Surfactines, fengycines, mycosubtiline.	(Guenoun et al., 2019)
Consortium de trois souches : Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Serratia sp.	Poivron doux	Mildiou causée par *Phytophtora*	Réduction de la prévalence de la maladie jusqu'à 6 % par rapport au témoins (44 %) ; Augmentation du rendement chez les plantes traitées par rapport au témoin. Amélioration de la qualité du fruit	(L. Zhang et al., 2019)

5.2.6 Intérêt des consortia et considérations d'utilisation des PGPR

Vue que des récents travaux de recherches ont bien montré l'efficacité des consortia de PGPR qui sont avérés plus performants et prometteurs en matière de nutrition, de la croissance et de la protection des plantes (Abbas et al., 2020; Armada et al., 2014; Chenniappan et al., 2019; L. Zhang et al., 2019), l'utilisation et le screening des combinaisons de plusieurs souches ayant des modes d'action différents deviennent fiables et efficientes. D'ailleurs, plusieurs stratégies peuvent être adoptées pour former ces mélanges (Raupach and Kloepper, 1998). Elles consistent à :

- Mélanger des microorganismes ayant des voies différentes de contrôle du pathogène ;
- Mélanger des microorganismes appartenant aux différentes classes taxonomiques ;
- Mélanger des microorganismes ayant des températures, des pH et des conditions d'humidité optimales différentes pour la colonisation de la plante hôte.

En outre, certaines souches PGPR peuvent remplir des fonctions multiples (production des enzymes lytiques, production des sidérophores, des phytohormones, des substances antifongiques…) et ainsi contribuer à l'amélioration de la croissance et à la protection des cultures (Amkraz et al., 2010; Dhaked et al., 2017; El kinany et al., 2017; Faheem et al., 2015; Jha et al., 2009).

La principale contrainte pouvant interférer avec l'efficacité et la performance des PGPRs est leur application en plein champs où d'autres microorganismes et protozoaires se retrouvent en compétition avec la population initiale dans la rhizosphère, ce qui diminuent pratiquement sa densité, en plus des facteurs écologiques et pédologiques du sol que les PGPR doivent avoir l'aptitude d'être adapté (Martínez-Viveros et al., 2010). D'autres facteurs cruciaux, qui doivent être pris en considération, sont la méthode d'inoculation des plantes hôtes ainsi que le pathosystème étudié (relation plante-PGPR-sol) (Martínez-Viveros et al., 2010; Zehnder et al., 2001), la fréquence d'application et la concentration de la population de PGPR inoculée pour maintenir une densité des cellules viables et efficaces des PGPR dans la rhizosphère (Steddom et al., 2002). Ajouton à cela que certaine souches PGPRs possèdent des spectres d'activités relativement étroits par rapport à certains pesticides synthétiques ayant un spectre large (Boer et al., 1998).

5.2.7 Les PGPR et le palmier dattier

Pour la première fois en Tunisie, la rhizosphère du palmier dattier a été explorée en tant qu'une niche riche en bactéries PGPR qui sont caractérisées par leur efficience *in vitro* à propos de la production de l'ammonium, des siderophores, la solubilisation du phosphore, la production de

l'acide 3-indole acétique ainsi que par leur tolérance au stress salin et thermique (Ferjani et al., 2015). En effet, de nombreux genre bactériens ont été identifiés et criblés; il s'agit de *Streptomyces, Arthrobacter, Microbacterium, Cellulomonas, Staphylococcus, Bacillus, Agrobacterium, Thalossospira, Rhizobium, Flavobacterium, Pantoea, Serratia, Providencia, Rahnella, Salinicola, Enterobacter* et *Pseudomonas* (Ferjani et al., 2015). En plus, des endophytes bactériens, *Arthrobacter agilis* et *Bacillus subtilis* ont présenté des propriétés antagonistes contre une large gamme d'espèces de *Fusarium,* y compris le Foa (Siala et al., 2016).

En outre, il a été montré que l'application de certaines PGPR sélectionnées et la putrescine (butane-1,4-diamine), composé chimique organique, chez du palmier dattier a permis d'augmenter les concentrations de N, P, K, des sucres totaux et des acides aminés libres dans les feuilles. Aussi, cette combinaison provoquent une augmentation de la concentration des phytohormones endogènes (gibbérellines, auxine et cytokinines) et une diminution de l'effet du stress dû à la sécheresse et à la salinité des sols et des eaux d'irrigation (Naser et al., 2016).

Afin de contrôler la maladie du « Bayoud », des chercheurs ont criblé deux bactéries endophytes pour le contrôle de la maladie du « Bayoud » induit sur des plantules du palmier dattier au Maroc. En fait, *Bacillus amyloliquefaciens* (souches Ag1) et *Burkholderia cepacia* (souche Cs5), ont été examinées pour leur potentiel de contrôler *in vitro* cette maladie. Les deux souches bactériennes ont inhibé à la fois la croissance et la sporulation de *Foa*. Elles ont libéré des enzymes dans le milieu de culture telles que la chitinase et la β-1,3-glucanase, ce qui a entraîné des changements cytologiques dans la structure mycélienne de *Foa* (Dihazi et al., 2012).

Egalement, lorsque des plantules de palmier dattier sensibles à la maladie (Jihel), ont été induites avec ces bactéries, la taille de la zone de nécrose, qui reflétait la propagation du pathogène, a été réduite de plus de 70% par rapport aux plantes témoins non induites. Pour plus étudier les mécanismes d'une telle inhibition de la maladie, les composés phénoliques et l'activité de la peroxydase ont été évalués. Un mois après l'inoculation, les réactions de défense du palmier dattier contre *Foa* étaient différentes selon la bactérie utilisée, *Burkholderia cepacia* provoquait une plus forte accumulation d'isomères constitutifs de l'acide caffeoylshikimique tandis que *B. amyloliquefaciens* déclenchait l'induction de nouveaux composés phénoliques identifiés comme dérivés de l'acide hydroxycinnamique. L'activité peroxydase a également été stimulée de manière significative et variée avec la souche bactérienne utilisée et avec l'inoculation de *Foa* (Dihazi et al., 2012). Dans la même optique, des isolats de *Pseudomonas*

spp. isolés de la rhizosphère de la pomme de terre ont montré une activité antagoniste appréciable sur la croissance de ce champignon (Mezaache-Aichour et al., 2012).

En outre, El Hassni et al., (2007) ont sélectionné *in vitro* quatre bactéries, *B. pumilus* W1, *Rahnella aquatilis* W2 et *B. cereus* X16 ayant une forte inhibition de la croissance mycélienne de *Foa* (70- 77%) et de sa sporulation (80-95 % d'inhibition). L'application de ces antagonistes bactériens sur des plantules de palmier dattier (issues de la germination des noyaux) a conduit au déclenchement des réactions de défense avec une accumulation de dérivés d'acide hydroxycinnamique non constitutifs, tels que le dérivé sinapique I2, connus pour jouer un rôle crucial dans la résistance du palmier dattier contre la maladie du « Bayoud » (Jaiti et al., 2008).

5.3 Importance du compost

5.3.1 Définitions

Le compostage est un processus de décomposition biologique contrôlé par lequel les matières organiques sont dégradées par les activités de groupes successifs de micro-organismes (Dees and Ghiorse, 2001). Ce processus transforme les déchets organiques bruts en substances humiques biologiquement stables qui apportent d'excellents amendements au sol (Adani et al., 1995). Le compostage a été utilisé en agriculture pour améliorer la fertilité des sols et la santé des cultures pendant des siècles, mais le processus a été quelque peu modernisé au XIXe siècle en Europe, avec le début de ce qu'on appelle l'agriculture biologique (Heckman, 2006). Alors, le compost, produit fini de ce processus, se définit comme un produit hygiénique, de composition stable, riche en substances humiques, issu d'une conversion biochimique par biodégradation aérobique et / ou anaérobique de la matière organique (Azim et al., 2018; Soudi, 2005).

5.3.2 Importance du compost dans la croissance et la protection des plantes

5.3.2.1 Effets du compost sur la nutrition minérale et la croissance des plantes

Le compost contribue à l'amélioration de la structure et de la porosité du sol grâce à la formation de l'humus stable. Ce dernier protège le sol contre toute source d'érosion, assure l'équilibre de la plante et apporte des éléments majeurs (N, P, K, Mg et Ca) et oligo-éléments (Fe, Cu, Mn, Zn…) indispensables à la survie et au développement optimal des plantes (Paper, 2016; Winarso et al., 2016). En plus, le compost améliore significativement les caractères physico-chimiques du sol et garantit une meilleure assimilation des nutriments par le système racinaire (Abou EL-Magd et al., 2016; Bueno et al., 2014; Gupta and Agrawal, 2014; Zeytin and Baran, 2003; Zhang et al., 2014).

En outre, son effet direct est crucial. Il fournit aux microorganismes telluriques un substrat sur lequel certaines espèces bactériennes ou fongiques favorables peuvent se développer et ainsi améliore l'activité biologique du sol (El Khaldi et al., 2016; El Kinany et al., 2017a; Mrabet et al., 2014; Sang et al., 2010; Sarwar et al., 2008a; Suarez-Estrellaa et al., 2007). Cependant, certains types de compost peuvent être toxiques en fonction de la nature de la matière première utilisée, de la procédure de préparation et de la dose utilisée (Ademir and Monteiro, 2005).

De nombreuses études ont récemment montré l'efficience du compost dans la croissance et l'augmentation du rendement de plusieurs cultures. Les tableaux 13 et 14 en illustrent plusieurs exemples.

Tableau 13: Effets du compost sur les propriétés du sol, la nutrition et la croissance des plantes (partie 1).

Culture	Effets/Résultats	Réf.
Maïs	Maintien du pH du sol (tampon) ; Augmentation de la conductivité, de la matière organique et les teneurs en macro et microéléments dans le sol ; Augmentation de la population microbienne, y compris les actinomycètes.	(Cozzolino et al., 2016)
Palmier dattier	Longueur de l'appareil caulinaire et racinaire plus élevé par rapport aux plantules non amendées avec du compost. 45% du compost dans le sol double le poids frais des plantules traitées.	(Barje et al., 2016)
Melon	Dédoublement du poids frais des plantules Le compost a le même effet que celui de l'AIA commercial sur la croissance en langueur des plantules ; Le compost augmente significativement la teneur en chlorophylle total.	(Bernal-Vicente et al., 2008)
Arganier	La hauteur des plantules est doublée chez les plantes inoculées avec le complexe mycorhizien par rapport aux témoins ; Augmentation de la production et le poids frais des plantules ; Diminution du taux de calcaire et augmentation de la matière organique et du P dans le sol ; Augmentation de la biomasse et les teneurs en macroéléments foliaires ;	(Mrabet et al., 2014)
Maïs	Amélioration des propriétés physico-chimiques du sol ; Augmentation des macroéléments (N, P, et K) foliaires ; Teneur élevée en chlorophylle totale par rapport aux plantes témoins ;	(Agegnehu et al., 2016)
Avoine	Amélioration de la texture et le statut nutritionnel du sol ; Augmentation de la langueur des plantes et du rendement en grains ; Teneur élevée en protéines et en fibres totales et en fibres.	(Yildiz et al., 2016)
Laitue	Poids frais de l'appareil caulinaire et racinaire élevés par rapport au témoin non amendé avec du compost ; Le compost stimule la colonisation racinaire avec les CMA ; Augmentation significative du carbone organique, des macros et des microéléments dans le sol.	(Solaiman et al., 2019)
Maïs	**Augmentation significative du poids secs des plantules durant tous les stades de la croissance des plantes** **Concentration foliaires élevées en Ca, Mn, Fe and Zn** **Corrélation positive entre la dose du compost et les nutriments foliaires**	**(Erdal et al., 2018)**

AIA : Acide 3-indol acétique, CMA : Champignons mycorhiziens arbusculaires

Tableau 14: Effets du compost sur les propriétés du sol, la nutrition et la croissance des plantes (partie 2)

Culture	Effets/Résultats	Réf.
Poireau	Augmentation significative du poids secs des plantes ; Aucun effet négatif du compost sur la colonisation racinaire par des CMA ; Amélioration des teneurs foliaires en P et K, Fe, Mn, Mg et Zn ; Les effets du compost sur le taux d'augmentation dépendent de la composition et de la matière première du compost.	(Akpinar et al., 2019)
Orge	Les meilleurs résultats correspondent à la combinaison de 50 % de fertilisants NPK et 50 du compost. Ces résultats sont à propos de : ▪ L'indice de la surface foliaire ▪ Surface foliaire cumulée au cours du temps (30, 45...jour après semi) ▪ Masse de la matière sèche cumulée ; ▪ Taux de croissance de la culture et langueur des plantes ; ▪ Nombre d'épis par m2, nombre de graines par épis et le poids de mille graines ; ▪ Production en grains ; ▪ Densité et pH du sol.	(Chattha et al., 2019)
Gombo	Le meilleur poids secs des plantes correspond au traitement avec la dose la plus élevée du compost, mais leur valeurs dépendent de type du sol utilisé (argileux-limoneux ou sablonneux).	(Reddy and Crohn, 2018)
Tomate	Le meilleur poids sec des plantes correspond au traitement avec la dose la plus élevée du compost, mais leur valeurs dépendent de type du sol utilisé (argileux-limoneux ou sablonneux).	(Reddy and Crohn, 2018)
Poivron	Le meilleur poids sec des plantes correspond au traitement avec la dose la plus élevée du compost, mais leur valeurs dépendent de type du sol utilisé (argileux-limoneux ou sablonneux).	(Reddy and Crohn, 2018)
Concombre	Taux de minéralisation du carbone élevée ; Augmentation de la masse microbienne du sol ; Nombre élève des racines secondaire et fines et nombre moindre des racines épaisses ; Production et la biomasse des plantes sont positivement corrélé avec la masse microbienne du sol et la minéralisation cumulative du carbone.	(Zhang et al., 2014)
Luzerne polymorphe	**Plus que le taux de matière organique augmente dans la rhizosphère, plus que les paramètre de croissance s'augmentent à savoir Ils correspondent aux :** ▪ **Poids secs l'appareil racinaire et caulinaire ;** ▪ **Teneur total en N et K ;** ▪ **La surface foliaire et la teneur relative en eau ;** ▪ **La capacité aux champs** ▪ **Le pH et la conductivité électrique** ▪ **Diminution de la densité du sol**	**(Akhzari et al., 2015)**

5.3.2.2 Contribution du compost à la bioprotection des plantes

5.3.2.2.1 Importance des microorganismes du compost en bioprotection des plantes

5.3.2.2.1.1 Compétition

La population microbienne constituant chaque écosystème se trouve en compétition pour les éléments nutritifs et les sites d'infection. Cette concurrence joue un rôle majeur dans la

réduction des maladies (Diánez et al., 2005) (Fig.15). D'ailleurs, une réduction considérable des maladies de la tomate causées par *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Pythium ultimum*, et *Rhizoctonia solani*, a été observée dans un sol amendé par le compost (De Brito Alvarez et al., 1995). Cet effet a été associé à une production massive de sidérophores conduisant à des taux faibles de fer qui sont indispensables à la germination de l'agent pathogène et à sa pénétration dans l'hôte.

5.3.2.2.1.2 Antibiose

C'est un processus d'antagonisme assuré par les populations microbiennes à travers la production des métabolites spécifiques ou non spécifiques comme les enzymes (à savoir la chitinase), des composés volatils et/ou des substances toxiques (cyanure d'hydrogène) (Mehta et al., 2014; Raviv, 2014) (Fig.15). D'ailleurs, des antibiotiques sont aussi produits par des espèces bactériennes au cours du compostage tel que celles du genre *Pseudomonas, Bacillus, Trichoderma* et *Gliocladium*. En effet, *Gliocladium* produit le gliotoxine qui peut protéger efficacement contre la fonte de semi causée par *Phytium ultimum* et *Rhizoctonia solani* (Lumsden *et al*, 1992).

5.3.2.2.1.3 Hyperparasitisme

C'est un mode d'antagonisme où un micro-organisme nuit directement un agent pathogène (Heydari et Pessarakli, 2010) (Fig.15). En général, il existe quatre classes principales d'hyperparasites : les bactéries pathogènes obligatoires, les hypoviruses, les parasites facultatifs et les prédateurs. La suppression de *Rhozoctonia solani* par *Trichoderma harzianum* est un exemple typique d'hyperparasitisme (Chet Baker et 1980), bien qu'il y en ait d'autres à savoir ; *Acremonium alternatum, Acrodontium crateriforme, Ampelomyces quisqualis, Cladosporium oxysporum,* et *Gliocladium virens* qui ont ainsi la capacité de contrôler l'oïdium par l'hyperparasitisme (Kiss, 2003).

5.3.2.2.1.4 La prolifération inefficace des agents pathogènes

Le compost joue un rôle crucial dans la réduction du potentiel de l'agent pathogène par imitation des signaux chimiques ou des exsudats racinaires indispensables à la reconnaissance entre le pathogène et son hôte, ce qui induit la germination précoce du pathogène avant qu'il y a eu contact entre les deux partenaires (Mehta et al., 2014). Dans ce cas de figure le pathogène devient inactif (Fig.15).

5.3.2.2.1.5 Propriétés physico-chimiques du compost

Les preuves suggèrent également que les propriétés physicochimiques des composts, à savoir les nutriments et les molécules organiques telles que les composés humiques, phénoliques ou bioactifs (Mehta et al., 2014; Siddiqui et al., 2008; Spatafora, 2012), peuvent protéger les plantes contre les maladies grâce à un meilleur état nutritionnel, une toxicité directe envers le pathogène ou une résistance systémique induite (Fig. 15).

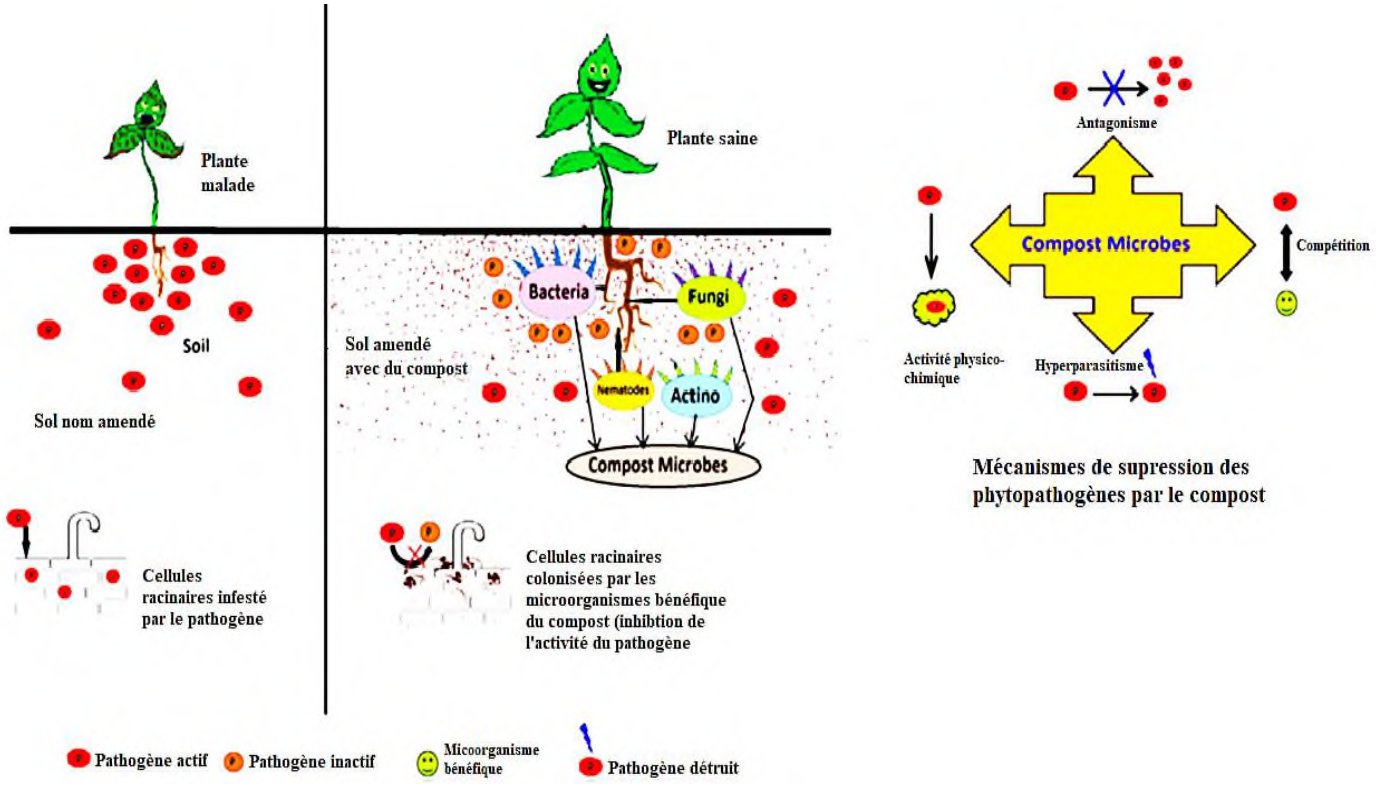

Figure 15: Mécanismes de contrôle biologique des phytopathogènes par compost (Mehta et al., 2014)**.**

5.3.2.2.2 Applications du compost en bioprotection des plantes

Lorsque le compost est produit dans les meilleures conditions de fermentation, les agents pathogènes seront détruits et/ou inhibés pendant la phase thermophile du processus tandis que des agents antagonistes seront développés pendant la phase de maturation (Albrecht, 2007). De nombreuses publications ont montré les effets positifs de l'application du compost sur la réduction des maladies des plantes.

D'abord, des chercheurs ont montré l'effet prometteur du compost en bioprotection d'une variété de la tomate (Campbell 33) contre la verticiliose, causée par *Verticillium dahlae* (Btissam et al., 2013). En 2006, une étude a été menée avec 18 composts testés sur 7 pathosystèmes ; *V. dahliae* sur l'aubergine, *Rhizoctonia solani* sur la culture de chou-fleur, *Rhizoctonia solani* sur la culture de pin, *Phytophthora nicotianae* sur la tomate, *Phytophtora.*

cinnamomi sur lupin, *Cylindrocladium spatiphylli* sur spathiphyllum, et *F. oxysporum* sur le lin. Les résultats ont montré que, après l'application du compost choisi (à raison de 20%), 54% de combinaisons ont un pouvoir suppressif significatif, 3% ont pu favoriser la progression de la maladie, alors que 43% n'ont aucune influence sur la maladie par rapport au témoin (sans compost) (Termorshuizen et al., 2006). Récemment, de nombreuses applications du compost sur différents pathosystèmes ont été menées, le tableau 15 en illustre quelques études.

5.4 Le compost et le palmier dattier

Des recherches antérieures ont montré que le compost pourrait être un moyen de contrôle biologique efficace, capable de réduire la sévérité de la fusariose vasculaire du palmier dattier. D'ailleurs, l'apport du compost aux sols contaminés par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* diminue considérablement la population de ce champignon (Chakroune et al., 2008) et améliore la croissance du palmier dattier (Souna et al., 2010). Dans le même contexte, l'application du compost dans le support de la culture des plantules de palmier dattier a amélioré effectivement la croissance de la plante, y compris la longueur, la surface foliaire, le poids frais racinaire et le poids frais de la partie aérienne (Marcel et al., 2015). Toutefois, tous ces travaux ont été menés sur des plantules issues de la germination des noyaux et non pas des vitro-plants de la même variété.

5.5 Importance de la combinaison entre le compost, les CMA et/ou les PGPR

Dernièrement, les travaux de recherches menés à propos de l'amélioration de la croissance et la protection des plantes *via* des alternatives biologiques sont orientés vers l'étude des fonctions synergiques de deux ou trois composantes et des consortia des souches CMA et/ou PGPR ayant des mécanismes variés pour leur contribution à la nutrition des plantes et à la gestion intégrée des problèmes phytosanitaires. D'abord, il a été prouvé que des consortia des souches PGPR se sont avérés plus efficients que l'application des souches individuelles (Abbas et al., 2020; Eke et al., 2019; L. Zhang et al., 2019). Par la suite, des études ont montré l'existence des bactéries assistantes de la mycorrhization (BAM) et qui activent et stimulent la colonisation racinaire par des CMA. Ces bactéries sont parfois associées aux spores des CMA (Fernández Bidondo et al., 2016; Xavier and Germida, 2003). En effet, l'utilisation des inocula constitués de CMA et/ou de PGPRs devient de plus en plus prometteuse tant sur la croissance des plantes que sur leur protection contre des phytopathogènes (Abd-Alla et al., 2014; Chen et al., 2017; Eke et al., 2019; Lim and Kim, 2009; Nadeem et al., 2014).

En outre, des chercheurs ont montré la performance du compost enrichi avec des inocula PGPR et/ou CMA qui sont extrêmement efficaces par rapport à l'application unique du compost

(Armada et al., 2014; Ruano-rosa and Mercado-Blanco, 2015). Le tableau 16 montre des travaux de recherche impliquant les diverses combinaisons possibles sur différentes cultures.

Tableau 15: Quelques résultats de l'utilisation du compost en lutte biologique contre les phytopathogènes.

Plante hôte	Espèce phytopathogène	Actions/Résultats	Réf.
Concombre	*Pythium ultimum*	Suppression des symptômes de flétrissement du concombre.	(Yu et al., 2015)
coton	*Rhizoctonia. solani*	Maintien de la vigueur et réduction de la quantité de l'inoculum dans le sol.	(Mehta et al., 2014)
Tomate	*F. oxysporum*	La suppression de la maladie de 20% à 90%.	
Lin		Réduction de la quantité de la population pathogène.	
Pomme de terre	*Verticillium dahliae*	Pas d'effet du fumier sur la réduction de la population du pathogène dans le sol ou la croissance des plantes ; Le compost réduit l'incidence et la sévérité de la maladie et améliore la croissance de le culture.	(Molina et al., 2014)
Tomate	*Alternaria alternata* *Botrytis cinerea* *Pyrenochaeta lycopersici*	Inhibition de la croissance mycélienne de différents phytopathogènes par l'extrait du compost ; Réduction de symptômes de la maladie sur la culture de la tomate via l'application de l'extrait aqueux du compost.	(Pane et al., 2012)
Tomate	*Alternaria solani* *Botrytis cinerea*	Inhibition de la croissance mycélienne avec un taux de plus de 60 % ; Réduction des lésion de provoquées par *A. Solani* et *B. cinerea.*	(On et al., 2015)
Poivron	*Phytophthora capsici*	Inhibition de la germination des zoospores, de la croissance mycélienne et de la population du pathogène ; Réduction de l'incidence et de la sévérité de la maladie ; Certains extrait du compost n'ont pas d'effet sur le pathogène.	(Sang et al., 2010)
Concombre	*Fusarium oxysporum f.sp. radicis-cucumerinum*	Réduction de l'incidence et de la sévérité de la maladie ; Augmentation de la teneur des polyphénols totaux dans les tissus de la plante et dans le substrat amendé ave du compost ; Certains types du compost n'on pat d'effet sur la maladie fongique.	(Markakis et al., 2016)
Aubergine	*V. dahliae*	Réduction de l'incidence et de la sévérité de la maladie ; Augmentation de la teneur des polyphénols totaux dans les tissus de la plante et dans le substrat amendé ave du compost ;	(Markakis et al., 2016)
Cresson alénois	*Rhizoctonia solani* *Sclerotinia minor*	Réduction du diamètre de la croissance mycélienne avec un taux variant de 5 à 37 % selon la source du compost et du phytopathogène ; Le compost non stérile est plus efficace par rapport au compost stérile. ; 20% (v/v) du compost réduit significativement la maladie ; La réduction de la maladie est due principalement à la communauté microbienne diverse du compost .	(Pane et al., 2013)
Poivron	*Phytophthora capsici;* *P. parasitica*	Taux d'inhibition *in vitro* de deux phytopathogène atteint 100 % pour certains types du compost ; Indice de sévérité plus faible, il varie de 4 jusqu'à 0 selon la source du compost.	(Marín et al., 2014)

Tableau 16: Quelques résultats de la synergie entre compost, CMA et /ou PGPR et leurs effets sur la croissance et/ou la protection des plantes.

Types de combinaison	Cultures	Effets/Résultats	Réf.
Compost/ PGPR	Tomate	Les meilleures valeurs de paramètres de croissance ont été obtenues suite à l'application du compost (10 %) et deux souches de *Pseudomonas sp*. et de *Bacillus* sp. ; L'incidence et la sévérité de la fusariose ont été nulles *via* l'application du compost et deux souches de *Pseudomonas* sp. et de *Bacillus* sp. ;	(Lachisa and Dabassa, 2016)
CMA/PGPR	Haricot	Le taux de colonisation racinaire a varié de 75 à 77 % dans le cas de la combinaison et moindre dans le cas contraire ; Meilleur valeurs de croissance ont été obtenues dans le cas de la combinaison. La combinaison entre les deux composantes a été plus efficace que le fongicide dans le cas du contrôle de la pourriture blanche.	(Mohamed et al., 2019)
Compost/PGPR (+ fertilisant chimique)	Chou doux; Chou ; Moutarde verte	En terme de croissance, l'enrichissement du compost avec deux souches PGPR a pu remplacer 50 % de fertilisants chimiques ; La biomasse des plantules augmente significativement avec l'augmentation de la dose du compost.	(Tran et al., 2019)
CMA/PGPR	Pomme de terre	La meilleure colonisation racinaire a été obtenue suite à l'inoculation avec *Glomus mosseae* et *Bacillus sp*. ; Les paramètres de croissance ont été meilleurs via la combinaison entre CMA et PGPR. La fertilisation chimique est parfois moins efficace que cette combinaison ; La combinaison de CMA et PGPR ou les PGPRs seules sont plus efficace que le fongicide en terme de contrôle de la maladie causée par *Ralstonia solanacearum*.	(Aguk et al., 2018)
Compost/ PGPRs	Radis (sous serre)	La synergie entre les deux composantes a stimulé la croissance et le taux photosynthétique préalablement affectés par la contamination du sol avec du Pb ; Cette synergie a réduit l'activité antioxydante et les espèces réactives d'oxygène induites par la phyto-toxicité du Pb ;	(Ahmad et al., 2018)
Compost/PGPRs	Onion (en plein champs)	Le Compost + PGPR locale a donné les meilleurs résultats de croissance et de rendement sans différence significative avec la fertilisation minérale recommandée (100 %) ; Les effets des traitements sur les cultures ont été influencés par le cultivar utilisé.	(Abou-el-hassan et al., 2018)
Compost/PGPRs	Tomate (sous serre et en plein champs)	L'inoculation du compost avec une souche de *Bacillus subtilis* a induit la résistance systémique via l'activation des enzymes de défense contre *Fusarium oxysporum* f. spp. *lycopersici ;* L'activité des peroxydases et des polyphénol oxydases a été respectivement dédoublé et triplée dans le cas de la combinaison ; L'incidence de la maladie est réduite jusqu'à 26,7 % dans le cas de la combinaison contre 40 et 50 % dans le cas du compost seul ou de PGPR seules ; La meilleure efficacité du contrôle de la maladie est attribuée à l'application du compost enrichi avec la souche de *Bacillus subtilis* (souche autochtone).	(Khan et al., 2020)
CMA/PGPR	lavande dentée	Amélioration de la croissance et la nutrition minérale sous stress hydrique ; Amélioration de la rétention d'eau par la plante et contribution à la protection des plantes contre les impacts négatifs de stress hydrique. Réduction de stress oxydatif chez les plantes suite à l'utilisation de PGPR et un consortium des souches autochtones de CMA mieux que l'inoculation individuelle.	(Armada et al., 2016)

Chapitre 2:

Evaluation *in vitro* de l'effet d'un extrait du compost sur le biocontrol du *Fusarium oxysporum* f. sp *albedinis*

academicJournals

Vol. 11(29), pp. 1155-1161, 7 August, 2017
DOI: 10.5897/AJMR2017.8567
Article Number: F6DB6AD65426
ISSN 1996-0808
Copyright © 2017
Author(s) retain the copyright of this article
http://www.academicjournals.org/AJMR

African Journal of Microbiology Research

Full Length Research Paper

In vitro evaluation of compost extracts efficiency as biocontrol agent of date palm *Fusarium* wilt

El kinany Said[1,2,3*], Achbani El hassan[2], Haggoud Abdellatif[3], Ibijbijen Jamal[4], Belmalha Saadia[1], Rachidi Fouad[1], Echchgadda Ghizlane[1] and Bouamri Rachid[1*]

[1]Department of Plant and Environment Protection, National School of Agriculture, Meknes, Morocco.
[2]Laboratory of Plant Protection URPP, National Institute for Agricultural Research, Meknes, Morocco.
[3]Laboratory of Microbial Biotechnology, Faculty of Sciences and Technology, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco.
[4]Department of Biology, Faculty of Sciences, Moulay Ismail University, Meknes, Morocco.

Received 20 April, 2017; Accepted 14 June, 2017

Bayoud, vascular wilt of date palm caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (*Foa*), is widely distributed in all date palm growing regions of Morocco. It is the most serious disease of the date palm. Compost is recognized for their ability to improve soil characteristics and to protect the crops against biotic and abiotic stress. In this experiment, *in vitro* effects of different concentrations of sterilized and unsterilized compost extract on the growth of *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* were evaluated. All concentration of unsterilized compost extract decreased radial growth of *Foa*. In fact, fungal radial growth inhibition ranged from 20 to 97%. Higher antifungal activity was noted in 30 and 40% concentration (more than 93%). Nevertheless, sterile compost extract inhibited mycelia growth only for the 40% concentration with 18% fungal growth inhibition, while lower concentrations were not effective.

Key words: Date palm, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, compost extract, mycelium growth, inhibition rate.

Résumé

Introduction et problématique

Le palmier dattier représente l'élément essentiel de l'écosystème oasien et l'ossature de l'économie des zones sahariennes. Cependant cette culture s'affronte à de nombreuses barrières qui freinent sa croissance et sa production optimales. La fusariose du palmier dattier causée par l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* constitue l'un des défis majeurs qui s'opposent au développement de la filière. Elle fait partie des maladies d'origine tellurique difficile à combattre (Sedra., 1993). Depuis son apparition au Maroc, la maladie a pu détruire plus de deux tiers de la palmeraie et continue de causer la mort de 4,5% à 12% des palmiers dattiers par an (El Bouhssini and Faleiro, 2018) et ce sont surtout les cultivars Mejhoul et Boufeggous de haute valeur commerciale qui sont attaqués (El Hadrami et al., 2005). En plus, au Maroc, cette maladie a été détectée la première fois dans la vallée de Darâ, mais actuellement les études par satellites et les contrôles effectués ont montré la présence de 60 foyers du Bayoud dans la vallée de Ziz uniquement (El Bouhssini and Faleiro, 2018). Son éradication par les pesticides chimiques n'est plus efficace et la seule approche raisonnable de lutte est la culture de variétés résistantes sélectionnées. Cependant, ces dernières sont de moindre qualité marchande, en plus de la priorité donnée aux cultivars les plus nobles (Mejhoul et Boufeggous) dans le cadre du plan Maroc Verts (MAPM, 2013).

Le compost et/ou son extrait aqueux sont connus par leurs effets antifongiques vis à vis de plusieurs champignons telluriques, y compris l'espèce *Fusarium oxysporum* (El-Masry et al., 2002; Sang et al., 2010; Suarez-Estrella et al., 2007). De ce fait, l'objectif de ce chapitre est l'utilisation *in vitro* des extraits d'un compost commerciale (W11AB) stérilisés ou non pour évaluer leurs effets sur la croissance du *Foa*.

Matériel et méthodes

L'isolement de l'agent pathogène *Foa* a été effectué à partir d'une palmeraie symptomatique dans les oasis de Tafilalet. Il a été identifié et caractérisé en se basant sur des caractères culturaux (Dihazi, 2012) et des marqueurs moléculaires par la technique PCR (Polymerase Chain Reaction) avec deux paires d'amorces (table 1 et 2) pour confirmer le genre (Singh and Kumar, 2001) et l'espèce (Fernandez et al., 1998).

Le compost utilisé a été importé d'une unité de compostage privée « Eléphant Vert, Meknès » ; sa composition et ses caractéristiques physico-chimiques sont mentionnées (tables 3 et 4 et 5).

L'incorporation de différentes doses (0, 10, 15, 20, 30 et 40 %) de chaque extrait du compost et l'évaluation de son effet inhibiteur sont effectuées sur le milieu PDA (Potato-Dextrose Agar).

L'incubation a été faite pendant 8 jours sous une température de 28°C, y compris le témoin positif (*Foa* seul) et négatif (milieu PDA non inoculé), afin de suivre l'évolution du diamètre de croissance de *Foa*. Pour chaque type d'extrait, cinq répétitions ont été réalisées.

Résultats et conclusions

Les résultats de ce chapitre confirment d'abord le genre et l'espèce, via la technique de la PCR, de la souche de *Foa* isolée du rachis nécrosé d'un pied symptomatique du palmier dattier de Tafilalet. L'évaluation de la croissance *in vitro* de Foa en présence de l'extrait du compost non stérilisé montre une meilleure efficacité d'inhibition de la croissance mycélienne avec un taux d'inhibition de plus de 93 % pour la dose de 30 % d'extrait et 98 % d'inhibition pour la dose de de 40 % d'extrait. Cette forte inhibition est due principalement aux activités antagonistes des microorganismes du compost car ce taux d'inhibition n'a pas dépassé 18,5 % même avec une dose de 40% d'extrait stérilisé. De plus, l'analyse statistique a montré une corrélation positive entre la dose d'extrait du compost, stérilisé ou non stérilisé, et le taux de la réduction de la croissance mycélienne de *Foa* ($p = 0.008$). Plus la concentration de l'extrait augmente plus le taux d'inhibition devient plus élevé avec $r = 0,97$.

Ce chapitre a donné naissance à une publication dans le journal « *African Journal of Microbiology Research* ».

6 Publication 1:

In vitro evaluation of compost extracts efficiency as biocontrol agent of date palm Fusarium wilt

6.1 Abstract

Bayoud, vascular wilt of date palm caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (*Foa*), is widely distributed in all date palm growing regions of Morocco. It is the most serious disease of the date palm. Compost is recognized for their ability to improve soil characteristics and to protect the crops against biotic and abiotic stress. In this work, we aimed to (i) isolate and identify a pathogen strain of *Foa* using PCR (polymerase chain reaction) amplification and specific primers *FOA28* et *TL3*, (ii) *in vitro* evaluate the inhibitory effects of different concentrations of sterilized and unsterilized compost extract on the growth of *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*. Macro and microscopic observation showed clearly the *Fusarium* characteristic and all spore types (micro and macro conidia). Molecular identification revealed and confirmed the presence of the specific sequence of 400 bp after revelation by electrophoresis.

All concentration of unsterilized compost extract decreased radial growth of *Foa*. In fact, fungal radial growth inhibition ranged from 20 to 97%. Higher antifungal activity was noted in 30 and 40% concentration (more than 93%). Nevertheless, sterile compost extract inhibited mycelia growth only for the 40% concentration with 18% fungal growth inhibition, while lower concentrations were not effective.

Key word: Date palm, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, PCR, compost extract, *in vitro*-inhibition.

6.2 Introduction

The date palm, *Phoenix dactylifera* L. is one of the most important species in the palm family (Palmaceae) which includes 200 genus and more than 2500 species (El Hadrami and Al-Khayri, 2012; Hadrami and Hadrami, 2009). The genus *Phoenix* consists of fourteen species distributed in the tropical and sub-tropical regions (Al Antary et al., 2015). *P. dactylifera* L. is claimed to encompass over 5000 cultivars, some of which have been more or less characterized in detail (El Hadrami and Al-Khayri, 2012). Date palm is of great economic importance to oasis agriculture where abiotic factors are extreme. Otherwise, it creates favorable conditions for improving growth of secondary crops like olive tree, wheat and others leguminous plants. In the world, 100 million trees were estimated with an average of production of 7.62 million tons (FAO, 2019). Moroccan palm groves alone cover 50 000 ha corresponding to 5 million tree and

100.000 tons/year (Sedra, 2012). In Morocco, recently 453 cultivars have been characterized (Sedra, 2015). Economically, the date palm fruit and by-product are precious for their nutritional and dietetic properties and income generating for oasis populations (Al-shahib and Marshall, 2003; Chao and Krueger, 2007; Saafi et al., 2008). "Bayoud" disease (Fig.16) is the most destructive fungal disease of date palm. Its causal agent is *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (*Foa*). The impact of the disease is very serious in North Africa, particularly in Morocco where 2/3 of palm tree were destroyed so far (Chakroune et al., 2008). In addition, Fusarium wilt has killed more than 10 million palm trees during the last 100 years (Dihazi, 2012; Saaidi, 1992). The control of the disease using chemicals products is not effective and implies negative effects on environmental and human health (Bernal-Vicente et al., 2008; Boulter et al., 2000; Brimner and Boland, 2003). Prophylactic methods are not of interest due to the contamination of several date palm groves and to their non-durable impact (Jaiti et al., 2007; Saaidi, 1992). Planting resistant cultivars constitutes the only efficient and economic method to control *Fusarium* wilt despite the fact the available cultivars have produced poor date (Saaidi, 1992). In Morocco, cultivars that are the most sensitive are economically important (Mejhoul and Boufeggous). Another alternative method to control phytopathogenic fungi consists of applications of compost and/or its extract (El-Masry et al., 2002; Markakis et al., 2016; Pane et al., 2013; Sghir et al., 2014). The compost extract is an organic product obtained after fermentation of compost in liquid phase for a few days to up two weeks or just for few hours of mixing with or without aeration (short preparation) (Ingham, 2003; Lanthier, 2007). A number of factors, which are involved in the compost extraction process, such as temperature, aeration, organic matter and microbiological properties, are responsible for their efficiency in plant disease suppression (Pane et al., 2012). The use of compost extract as a biological control agent (BCA) against soil borne diseases has increased in the last years. Several researchers showed that the compost extract can control several pathogenic fungi like *Botrytis cinerea, Alternaria alternata*, *Pyrenochaeta lycopersici* (Palou et al., 2013; Pane et al., 2012), *Pythium debaryanum, Sclerotium bataticola* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (El-Masry et al., 2002). Nine compost extracts based on animal manures, were used *in vitro* against numerous pathogenic fungi causing different plant diseases (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radici-lycopercisi, Fusarium solani, Fusarium graminerum, Fusicoccum amugdalis, Alternaria sp., Colletotrichum coccodes, Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorumn Aspergillus niger*, *Rhizoctonia solani, Rhizoctonia bataticola, Pythium sp.* and *Verticillium dahliae*) and revealed important results (Kerkeni and Khedher, 2014). The suppressiveness of compost extract is mostly due to its microbial community (Koné et al., 2010; Mengesha et al., 2017; Pane et al.,

2012; Suárez-Estrella et al., 2013; Ventorino et al., 2016). These microbes exert their antagonism by microbiostasis, antibiosis and hyperparasitism and/or stimulate systemic resistance in host plants (Maheshwari, 2007). However, other researchers reported that compost actions are due to physical, chemical, biochemical and microbiological dynamic interactions with plant-pathogen system (Maheshwari, 2007). Indeed, several organic chemicals present in compost or released by compost inhabiting microorganisms have been identified as providing disease suppressive effects, including phenolic compounds, volatile fatty acids and salicylic acid (Maheshwari, 2007). It is also demonstrated that compost or its extract induce systemic resistance against pathogenic fungi in numerous plants (Kavroulakis et al., 2005; Sang et al., 2010). Therefore, the main objective of this study was to investigate the suppressive capacity of unsterilized (UCE) and sterilized (SCE) compost extract against *Foa* growth, focusing on the abiotic and biotic factors involved in this suppressive mechanism.

6.3 Materials and methods

6.3.1 Fungus isolation

In the Tafilalet date palm grove, the leaf samples were collected from symptomatic and non-symptomatic Mejhoul cultivar trees and used for Fusarium species isolation and identification. Twenty fragments of date palm leaf of each sample were surface-sterilized for 5 min with a 4% sodium hypochlorite solution, rinsed twice in sterile distilled water and dried in a laminar flow cabinet. The growth medium potato dextrose agar (PDA) was used for fungal isolation. The plates were incubated at 28 °C in the dark for 7 days. All Fusarium isolates were subcultured on PDA medium and incubated for purification and spores production for 7 days in the dark and two weeks of light. After that, cultural characters were assessed by microscopic examination. The morphology of macro-conidia, micro-conidia and the chlamydospores was assessed and the identification was made using the typical criteria (Sedra, 2012) .

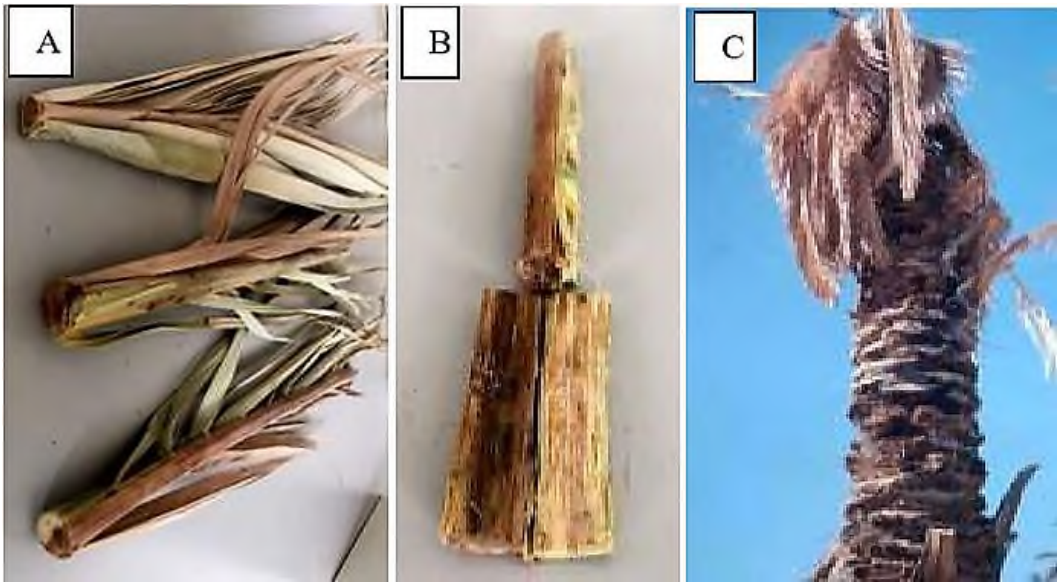

Figure 16: Bayoud symptoms (El Kinany et al., 2017a)

A, unilateral wilting of rachis; B, necrosis of Fusarium wilt within rachis; C, late stage of infection (plant death)

6.3.2 Molecular identification

6.3.2.1 Genomic DNA-extraction

Genomic DNA-extraction was done according to method of Doyle (1990) from a fresh culture of *Foa* (5 days old). To control the genomic DNA-extraction, the extract was analyzed by 1 % (w/v) agarose gel electrophoresis. Effectively, 15µl of DNA-extract was mixed with 5µl of loading buffer (50 % glycerol, 0.01 % each xylene cyanol and bromphenol blue) and the DNA-samples were put into gel. The migration was done in TBE 1x (Tris 1M, EDTA 0.5M, Boric Acid 1M and pH=8) under 100 V and Ethidium bromide-stained DNA was viewed with UV light.

6.3.2.2 Polymerase Chain Reaction and gel electrophoresis

Tow PCR-reactions were carried out to identify the genus and the specie of *Foa* respectively with different couple's primers. The table 1 illustrate all PCR-conditions, including initial and final concentrations for two PCR-mixtures. The primers pair ITS-Fu-f and ITS-Fu-r were used for *Fusarium* identification basing on the protocol described by Singh and Kumar (2001). However, *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* was identified using the *Foa* specific-primersTL3 and *FOA*28 according to protocol of Fernandez et al., (1998) (table 2). One PCR-tube, without DNA sample, containing all reagents, was used as control.

The reaction was incubated for 35 cycle (94°C for 30 s denaturation, 65°C for 1 min primer annealing and 72°C for 2 min extension) using a PTC-100 thermocycler. One cycle for 15 min at 72 °C was conducted after the 35 cycles (Fernandez et al., 1998). Agarose gel (1%) was prepared to visualize the PCR-product for each reaction. 10 µl of PCR-product was mixed with

2µl of loading buffer and the migration was done for 30 minutes under 100 V. 3µl of standard molecular weight markers (50pb Hyper-Leadder^{TM} 50pb) was used to estimate the molecular weight of specific DNA-region.

Table 1: mixture compositions for two PCR-reactions (genus and specie identification)

reagents	Volume (µl)	[C]i	[C]f	reagents	Volume	[C]i	[C]f
For genus identification				For specie identification			
DNA	1	-----	------	DNA	1		
ITS-fu-F Primer	0,25	10 µM	0,1 µM	*FOA* 28 primer	1.25	10µM	0.5µM
ITS-fu-R Primer	0,25	10 µM	0,1 µM	TL3 primer	1.25	10µM	0.5µM
TP 10x	2	10 X	10 X	TP 10X	2.5	10X	10X
$MgCl_2$	0,75	50 mM	1,5 mM	$MgCl_2$	0.75	50 mM	1,5 mM
DNA-Polymerase	0,25	5 U/µl	0,05 U/µl	DNA-Polymerase	0.25	5U/µl	0.05 U/µl
DNTP	0,25	10 mM	0,1 mM	DNTP	0.25	10 mM	0.1 mM
H_2O	20,25	-------	--------	H2O	17.75	--------	------
Final volume	25			Final volume	25	--------	------

Table 2: Sequences of primers for genus (ITS-Fu-f / ITS-Fu-r) and specie (TL3/ *FOA*28) identification

Primers for genus	Sequence	Molecular weight	Primers for specie	Sequence	Molecular weight
ITS-Fu-f	3' CAACTCCCAAA CCCCTGTGA 5'	398bp	TL3	3' GGTCGTCCGCAG AGTATACCGGC 5'	400bp
ITS-Fu-r	3'GCGACGATTACCAG TAACGA 5'		*FOA*28	3' ATCCCCGTAAA GCCCTGAAGC 5'	

6.3.3 Compost source

The compost used in this experiment was produced in a private composting unit in Meknes, Morocco using a mixture of agricultural waste (chicken manure and vine shoot) and agro-industrial waste (olive mill waste and olive mill waste water) (table 3). The windrow composting system was used in which mixtures were subjected to interval turning over every two weeks. Different raw material and compost were analyzed in a private laboratory to determine their physical and chemical characteristics (table 4).

6.3.4 Compost extract preparation

Compost extract were prepared following the method of El-Masry et al., (2002). The mature compost was suspended in phosphate buffer containing K_2HPO_4 (8 g/l) and NaH_2PO_4 (0.34 g/l) at a ratio of 1:2 (w/v). Then, it was shacked well (150 rpm) for 72 h under room temperature (24°C/11°C day/night) and natural photoperiod. The mixture was splitted in sterile centrifuge tubes (50 ml) and centrifuged at 500 g for 10 min, to remove large particles, then, at 1000 g for 10 min to obtain the active supernatant (compost extract). A portion of compost extract was autoclaved (120°C for 20 min) to obtain a sterile compost extract (SCE).

Table 3: Rates of raw materials used in composting process

Raw matter	CM (%)	OMWW (%)	DOMW (%)	OMW (%)	VS (%)
Rate (%)	47	5	12	17	19

CM: Chicken manure, OMWW: olive mill Wastewater, DOMW: Dry olive mill waste, OMW: Two phases olive mill waste, VS: vine shoot.

Table 4: Physical and chemical properties of different composting raw materials

Parameter	CM	OMWW	DOMW	OMW	VS
Moisture (%)	63.5	77.7	19.8	54.2	39.2
pH	7.9	4.9	8.5	6.3	8.7
CE (mS. Cm-1)	12.0	29.9	6.6	2.4	3.3
C/N	7.4	27.0	44.8	29	41
Organic carbon (%)	13.2	6.7	76.1	20.3	29.2
Total nitrogen (%)	1.8	0.3	1.7	0.7	0.7
P_2O_5 (%)	1.3	0.3	0.3	1.0	0.2
K_2O (%)	1.1	3.0	1.0	0.4	0.5

6.3.5 *In vitro* suppressive effect of compost extract

The suppressive effect of the compost extract against *F. oxysporum* f. sp. albedinis (*Foa*) was examined using well-cut diffusion technique (Pane et al., 2013). Both sterilized and unsterilized composts extracts were used in five different concentrations: 10, 15, 20, 30 and 40% (v/v). PDA medium (before cooling step) was used for preparation of compost extract concentrations, and mixtures were cooled into Petri dishes (90 mm of diameter). For control plates, the PDA medium was supplemented with phosphate buffer PBS sterile. An active mycelia disk (5 mm in diameter) of pathogen was placed at the center of the Petri plates. All Petri plates were then incubated at 28 °C and evaluated for pathogen growth monitoring during 8 days. Five replicate were used per elementary concentration and experiment was repeated twice. To determine the inhibition rate (IR) of the pathogen by applying each of the tested compost extract, the radial fungal growth of *Foa* was monitored by measuring the colony diameters for the control and treated plates at 0, 2, 4, 6 and 8 days. The inhibition rate was calculated according to the formula used by Hibar et al., (2006):

IR (%) = (1– (*Foa* diameter in the treated medium / diameter of the control medium)) x 100

6.3.6 Experimental design and statistical analysis

Petri plates were distributed in a completely randomized design with five Petri plates per elementary treatment and the whole experiment was repeated two times. Data were analyzed using SPSS statistical software (version 12.0) and subjected to the analysis of correlation between compost extract concentration and rate inhibition of *Foa*.

6.4 Results and discussion

Microscopic observations of *Foa* culture on PDA media revealed clearly the presence of all structures of *Fusarium oxysporum;* mycelium with septa, macro and micro-conidia. This findings corroborate those found by Dihazi et al., (2012) who isolated a *Foa* strain from symptomatic tissues of date palm in "Aoufous" oases (Errachidia, Morocco). In addition, the Doyle's protocol (Doyle, 1990) was the best to extract the genomic DNA from PDA media such as illustrated in figure 17.

Using a pairs of primers, ITS-fu-F and ITS-fu-R, to amplify the specific nucleotides fragment was a reliable method to identify the genus of *Fusarium* from symptomatic tissue of date palm. Basing on the PCR-program described above, we found the sequence of 398bp such as found by Singh and Kumar (2001). Effectively, the figure 17 illustrated the PCR-product on electrophoresis gel and showed the presence of the genus specific band. Moreover, the specie identification by specific-primers *FOA*28 and TL3 exhibited that the pathogen isolated from symptomatic tissue was effectively the *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Fig. 18). These results were in agreement with those previously found by Fernandez et al., (1998). They used the same primers and showed the presence of specific sequence of 400 bp after PCR amplification of DNA extracted from four *Foa* isolates. These *Foa* species were isolated from soil, leaf, root of date palm, and were effectively detected by the same specific primers; *FOA* 28 and TL3.

Organic matter, C/N ratio, total nitrogen, phosphorus, potassium and pH of raw material and final compost are mentioned in Table 5. The compost analyze showed a suitable value of pH (6.69) and the electrical conductivity of 24.69 $ms.cm^{-1}$. Compost had more than 32% organic matter content. The total nitrogen, the phosphorus and the potassium were greater than 1%. The C/N ration is suitable for sustainable agriculture, because ratio of 27 in OMSW (Table 4) in raw materials was previously confirmed for increasing pore space and allowing bulk oxygenation (Barje et al., 2016). In addition, the same compost composition was used to promote date palm (cv. Mejhoul) at 1:3 ratio (v/v). It has increased significantly all growth parameters as well as nutrient and chlorophyll content without any toxicity (data not shown).



Figure 17: Electrophoresis profile of PCR-product amplified by ITS-fu-f and ITS-fu-r primers. M: molecular weight markers, 1 and 2: DNA-samples, TE: control.



Figure 18: Electrophoresis profile of PCR-product amplified by *FOA*28 and TL3 R specific-primers. M: molecular weight markers, 1, 2 and 3: PCR products of the same Foa strain, TE: control.

After 8 days of incubation at 28°C, results shown in Figures 19, 20 and 21 revealed that unsterilized compost extract caused an inhibiting effect on mycelium development of *Foa* when compared with untreated control. However, the mycelia growth of Foa measured in the different Petri plates during incubation varied with the compost extract concentration (Fig. 19 and 20). The results of the correlation analysis showed a significant relationship, at 5% levels, between suppressive effect and concentration of unsterilized compost extract (Table 6). The correlation coefficient was 0.97 (Table 7).

Table 5: Physical and chemical properties of mature compost

Parameters	**Values**	**Method references**
Moisture (%)	44.83	Desiccation at 100 °C
pH water	6.69	pH meter
Organic matter (%)	32.48	Desiccation at 500 °C
Total Nitrogen (%)	1.29	Kjeldal technique
Phosphorus anhydrous (P_2O_5) (%)	1.74	Continuous flow
Potassium Oxide (K_2O) (%)	1.22	Atomic absorption
Organic carbon (%)	16.24	Calculated
C/N	12.59	Calculated
Electric conductivity (mS/cm)	**24.69**	**NF ISO 11265**

Table 6: Significant correlations of compost extract and rate inhibition of radius growth of *Foa*

Model	**Sum of squares**	**ddl**	**Average of squares**	**F**	**Sig.**
Correlation	4532,931	1	4532,931	41,623	0.008
Residue	326,717	3	108,906		
Total	4859,648	4			

Table 7:Model of linear correlation between compost extract and rate inhibition ou F.oxysporum f.sp albedinis

Model	**R**	**R^2**	**R^2adjusted**	**standard error of the estimation**
1	**0.966**	**0.933**	**0.910**	**10,43578**

Table 8: Rate inhibition of *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* at different concentration of sterilized and unsterilized compost extracts.

Concentration	0%	10%	15%	20%	30%	40%
UCE	0	20.1±0.5	37.3±2.7	44.5 ± 3.2	93.0 ± 5.1	97.9±1.7
SCE	**0**	**4.8±0.5**	**6.6±0.7**	**5.6±0.1**	**5.9±0.53**	**18.4±2.6**

The most effective concentrations were 30 and 40% where the pathogen development was completely inhibited (more than 97%). For the remaining concentrations (10, 15 and 20%), mycelium growth decrease ranged from 20 to 44% as compared to the control (Fig.19 and 20 and table 8). After the period of incubation, some compost-inhabiting microorganisms (bacteria and fungi species) were observed to develop in the Petri dishes and had antagonistic effect against Foa (Fig.19). On the other hand, no suppressive effect towards *Foa* was observed in the sterilized compost extract except for high concentration (40%) which showed an inhibitory effect of about 18% (Fig. 20 and 21 and table 8). This reduction of mycelium growth in the 40% concentration of sterilized compost extract may be due to some chemical compounds elaborated during composting process and remained after the sterilization step or some thermostable extracellular metabolites.

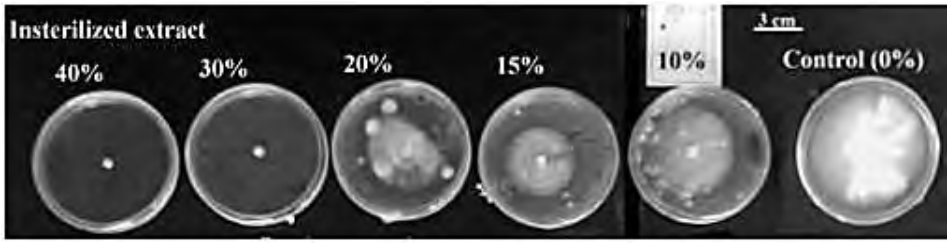

Figure 19: Mycelium growth of *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* in response to different unsterilized compost extract concentrations after 8 days of incubation in PDA medium.

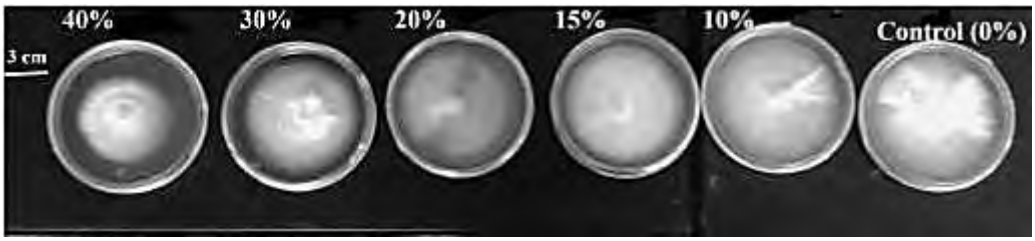

Figure 20: Mycelium growth of *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* in response to different sterilized compost extract concentrations after 8 days of incubation in PDA.

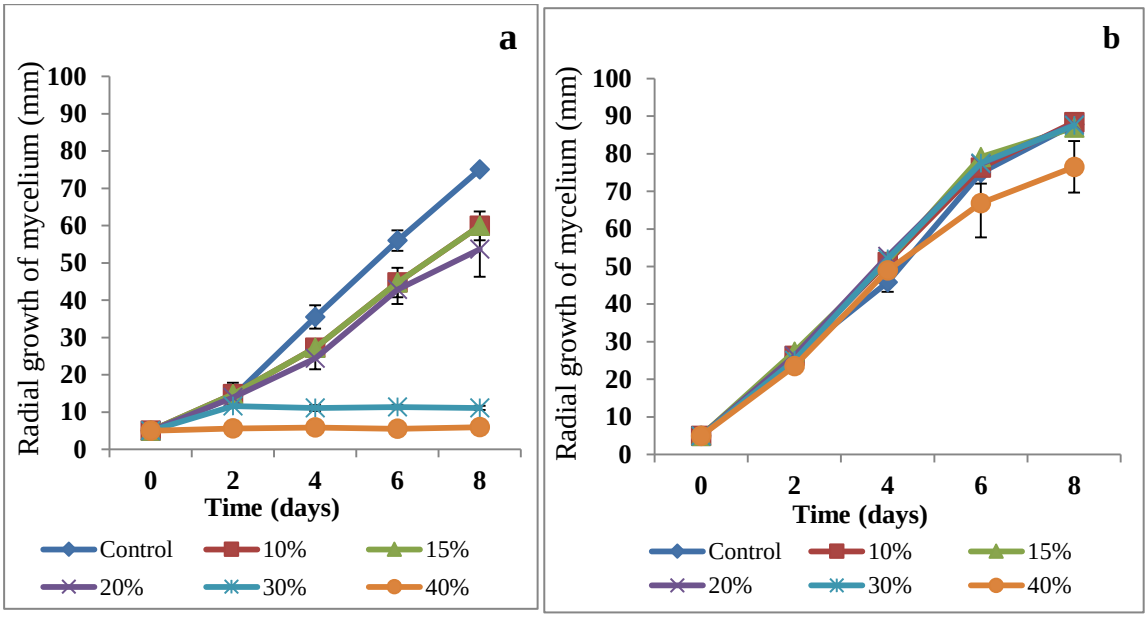

Figure 21: Evolution of mycelia growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* in presence of unsterilized compost extract (a) and sterilized compost extract (b).

These results confirm the findings of other researchers who showed that compost extract prepared from various animal manures had high inhibitory effects of *F. oxysporum* f. sp. *radices-lycopersici* that can be attributed to active microorganisms inhabiting the unsterilized compost extract (El-Masry et al., 2002). Indeed, as confirmed by other research, compost extract might have contained antagonistic mycoparasites, such as *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp. and *Petriella* sp. (Danon et al., 2007; Zmora-nahum et al., 2008). Compost can also harbour plant growth promoting bacteria (PGPB) like genus of *Azotobacter, Pseudomonas,*

Stenotrophomonas, Bacillus, Flavobacterium, Streptomyces or Actinomyces group found in the chestnut compost which has colonized mycelia and inhibited sclerotia germination of *Sclerotium rolfsii* (Danon et al., 2007; Ventorino et al., 2016; Zmora-nahum et al., 2008). In addition, it could be other antagonistic microorganisms inhabiting compost such as *Nocardiopsis* sp., *Streptomyces violaceorubidus* and *Streptomyces* sp. which were identified and screened for their antifungal activities by bio-active substance production (peptides) (Ting et al., 2014). These peptides were characterized for their antibiosis mechanism (surfactins) and tested for growth inhibition of tomato pathogens such as *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea* (On et al., 2015). It was also reported that the sterilization of compost destroyed its active microorganisms and consequently nullified their antagonistic effect (El Khaldi et al., 2016; Hoitink et al., 1997; Raviv, 2014; Zhang et al., 1998) and the growth inhibition was related to pH value and ammonium (NH4+) concentration in the culture medium (Danon et al., 2007; Zmora-nahum et al., 2008). Fungal colonies grown in plates containing weak concentration of UCE showed that fungal species inhabiting compost were inhibited by high compost extract (Fig.19). Hence, microbial activities have particularly reduced growth radius of *Foa* pathogen. For sterilized compost extract, no limited growth was detected in weak percentage because only chemical factors have influenced mycelium growth in elevated SCE concentration.

6.5 Conclusions and perspectives

This study revealed that unsterilized compost extracts were efficient for *in vitro* suppression of *Foa*. They could constitute an alternative for biological control of "Bayoud" which no effective chemical fungicide is effective. However, further studies are required to isolate and select effective microorganisms inhabiting this efficient compost. In addition, it is necessary to evaluate the antifungal activity of this compost *in vivo* and in naturally infected soils in date palm grove to manage date palm culture in oases zones.

Chapitre 3:

Effets d'un fertilisant organique et d'une souche commerciale de champignon mycorhizien sur la croissance des vitro-plants du palmier dattier (cv. Boufeggous)

Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 18 (2019) 411–417

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences

journal homepage: www.sciencedirect.com

Full length article

Effect of organic fertilizer and commercial arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated date palm cv. Feggouss

S. El Kinany [a,b,e], E. Achbani [b], M. Faggroud [c], L. Ouahmane [d], R. El Hilali [a,d], A. Haggoud [e], R. Bouamri [a,*]

[a] Department of Plant and Environment Protection, National School of Agriculture, Meknes, Morocco
[b] Laboratory of Plant Protection URPP-National Institute for Agricultural Research, Meknes, Morocco
[c] Department of Agronomy, National School of Agriculture, Meknes, Morocco
[d] Laboratory of Ecology & Environment, Faculty of Sciences Semlalia, Cadi Ayyad University, Marrakesh, Morocco
[e] Laboratory of Microbial Biotechnology, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Faculty of Sciences and Technologies, Fez, Morocco

ARTICLE INFO

Article history:
Received 17 September 2017
Revised 20 December 2017
Accepted 21 January 2018
Available online 6 February 2018

Keywords:
Phoenix dactylifera L.
Compost
Mycorrhizal fungi
Organic fertilizer

ABSTRACT

Date palm is an important crop in Morocco, Tunisia and many other drylands of the world, but its growth is often limited due to the low soil fertility and harsh environmental conditions of oases ecosystems, which can hardly be compensated by the sole application of high dosages of chemical fertilizers. For the first time, we investigated the effects of compost application and inoculation with a commercial strain of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), *Glomus iranicum*, on the growth of micropropagated date palm plantlets (cv. Feggous). After twelve months of growth, plantlets transplanted into compost amended substrate inoculated with AMF showed increased biomass production (root and shoot biomass), chlorophyll and mineral nutrient contents than plantlets transplanted into compost amended substrate or without compost addition. Thus, this inoculum reinforced the promoting effect of compost and was successful in colonizing the root system. According to our results, sandy substrate enriched with compost and inoculated with *G. iranicum* can be recommended for improving the growth and nutrition of micropropagated date palm plantlets.

© 2018 The Authors. Production and hosting by Elsevier B.V. on behalf of King Saud University. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Résumé

Introduction et problématique

Dans le milieu oasien, la phoeniciculture revêt une importance socio-économique certaine permettant la subsistance de nombreuses familles dont les moyens financiers reposent sur les produits générés directement ou indirectement par cette culture. En effet, le palmier dattier est cultivé essentiellement dans plusieurs pays de l'oriental (Emirates Arabe Unis, Arabie Saoudite, Iraq…) et maghrébins (Maroc, Egypte, Tunisie), pour ses dattes qui représentent la base de l'alimentation des populations oasiennes et la composante vitale dans les oasis compte tenu de leur importance nutritionnelle et économique (Baloch et al., 2014). Les dattes sont des fruits hautement énergétiques riches en hydrates de carbone, en éléments minéraux et en vitamines en plus d'un grand pouvoir antioxydant attribué à leur richesse en composés phénoliques. Ceci permet de classer les dattes parmi les fruits les plus chers au monde faisant ainsi de la phœniciculture l'un des secteurs les plus rémunérateurs (Chao and Krueger, 2007; El Hadrami and Al-Khayri, 2012). Cependant, cette dernière est contrariée par des conditions telluriques et environnementale extrêmes : stress hydrique, stress salin, sècheresse, pauvreté du sol en éléments nutritifs et matière organique, alcalinité du sol…, ce qui réduit significativement la croissance de la plante et son rendement ainsi que la qualité dattière (Darwesh, 2013; Sperling et al., 2014). Par conséquent, les nouveaux investisseurs adoptent une stratégie d'utilisation abusive des engrais chimiques dont la plupart ne sont pas absorbés par le palmier dattier en raison de la mauvaise qualité du sol et de ses propriétés physico-chimiques défavorables. Alors que les petits agriculteurs n'appliquent aucun engrais chimique et seulement des quantités très limitées du fumier sont apportées par certains agriculteurs. Les doses des engrais chimiques ne cessent d'augmenter vue l'extension rapide des plantations modernes au milieu et à l'extérieur des oasis durant ces dernières années, notamment avec le déclanchement du Plan Maroc Vert (MAPMDREF, 2018). On constate donc que ce problème de fertilité du sol ne peut plus être géré par l'application énorme des fertilisants chimiques qui, d'autre part, polluent l'écosystème oasien fragile et créent des problèmes sanitaires pour l'homme oasien. D'où le recours vers une alternative biologique susceptible d'améliorer aussi bien les propriétés physico-chimiques du sol que la croissance et la nutrition minérale du palmier dattier.

Le compost et les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) se sont révélés adéquats et doués de propriétés intéressantes par leur contribution à l'amélioration de la croissance de certaines espèces végétales (Akhter et al., 2015; Mrabet et al., 2014; Yang et al., 2018). Cependant, les travaux menés sur la culture du palmier dattier ont étudié uniquement l'effet

séparé du compost ou des CMA sur des plantules issues de la germination des noyaux (Barje et al., 2016; Baslam et al., 2014; Shabbir et al., 2010; Souna et al., 2010). Notre hypothèse dans ce chapitre est de chercher si une synergie entre les CMA et le compost pourra avoir lieu, en terme de colonisation mycorhizienne du palmier dattier, de la croissance et de la nutrition minérale des vitro-plants issus de la culture *in vitro* via la technique de l'organogenèse (Amine et al., 2016). Cette approche pourrait constituer une alternative pour assurer une meilleure nutrition des vitro-plants après leur plantation dans le champ et leur garantir une zone rhizosphérique adéquate pour une bonne assimilation des éléments minéraux et une meilleure adaptation aux conditions stressantes qui sévirent dans les zones arides.

Matériels et méthodes

Le compost utilisé dans cette expérimentation (table 9) est celui utilisé au chapitre 1 (El Kinany et al., 2017a). Les vitro-plants (cv. Boufeggous), à la fin du stade d'acclimatation, ont été procurés du « Laboratoire Oasis Biotechnologie, Maroc ». Leur culture a été réalisée sous serre dans un sol sablonneux (substrats de base) et très pauvre en éléments nutritifs (table 10) afin de s'approcher la nature du sol des oasis dans les régions arides.

La souche commerciale de CMA, *Glomus iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs (440 spores/100 g du substrat) a été importée de la société Eléphant Vert (Meknès, Maroc) puis inoculée en deux reprises : au cours de la transplantation et deux mois après. En fait, 10 g d'inoculum a été appliqué sur le système racinaire. L'application du compost a été faite uniquement lors de la transplantation des plantules dans des pots plastiques de 14 litres préalablement désinfectés avec l'hypochlorite de sodium 5 %. La dose du compost utilisée est de 25 % (v/v) du volume du pot ; la composante de chaque traitement est décrite ci-dessous (table 9). L'essai a été conduit sous serre avec une T° de 30 °C et une humidité relative de 40 % à l'Ecole Nationale d'Agriculture de Meknès (ENAM).

Afin d'évaluer la croissance des vitro-plants traités et non-traités (témoins), les taux de croissance de longueur et de diamètre du collet des vitro-plants ont été déterminés par la formule de Schultz (Schultz, 2001). En outre, le nombre de racines ainsi que leur poids frais et sec ont été mesurés. Par ailleurs, les paramètres de colonisation du système racinaire ont été calculés après leur coloration via la technique de (Phillips and Hayman, 1970). Egalement, le nombre de feuilles et les poids frais et sec de l'appareil caulinaire ont été déterminés. Finalement, l'évaluation de la nutrition minérale a été réalisée d'abord par la détermination de la teneur en chlorophylle total au moyen d'un chlorophylle-mètre (model CCM-200) et l'analyse des teneurs en macro et microéléments dans les feuilles de la couronne moyenne.

Les analyses statistiques des données ont été réalisées comme suit : la normalité a été testée par le test Shapiro-Wilk, l'analyse de variance à un facteur (traitement) a été faite au seuil $\alpha = 0,05$ et le test Duncan a été utilisé pour comparer les moyennes des différents traitements.

Résultats et conclusions

Les résultats obtenus montrent que les vitro-plants de cv. Boufeggous sont plus réceptifs à la souche commerciale inoculée (*G. iranicum*) vue le taux de colonisation atteint après 12 mois de croissance (fréquence de 85% et intensité de 52%). Par contre, en présence du compost à 25%, ce taux a été réduit jusqu'à 35% de fréquence et 1% d'intensité (table 11 et Fig. 22). Le compost a significativement amélioré le nombre moyen de racines et leur poids moyens (frais et secs) et cette augmentation a été renforcée par l'inoculation de la souche commerciale de CMA (table 12 and Fig. 23). Bien que les analyses statistiques ne révèlent pas de différences significatives entre les traitements concernant les taux de croissance de diamètre de collet, une différence hautement significative a été statistiquement détectée pour le taux de croissance en longueur. Ainsi, le compost seul a augmenté ce dernier jusqu'à plus de 5.21 mm/mois alors qu'en présence de la souche *G. iranicum* ce taux atteignait 13 mm/mois (table 13). D'une manière similaire, les résultats (table 14) montrent clairement l'augmentation de nombre moyen de feuilles, le poids moyen frais et sec de l'appareil caulinaire ainsi que la teneur en chlorophylle par l'application du compost. Cette amélioration a été renforcée par l'inoculation des plantes avec la souche commerciale en présence du compost (25%). Toutefois, le test Duncan de comparaison multiple des moyennes ne révèle pas une différence significative entre les vitro-plant transplantés dans la mixture sable + compost (T1) et ceux transplantés dans cette mixture et inoculés avec la souche de CMA (*G. iranicum*) (T3).

Les teneurs de N, P et K dans les feuilles ont été élevées pour les traitements amendés avec du compost (25%), alors que la teneur de certains éléments (exemple du phosphore) a été encore plus élevée chez les vitro-plants inoculés par la souche commerciale *G. iranicum* (table 15). Par contre, les teneurs en microéléments, Zn, Mn et Fe, ont été significativement plus élevées chez les vitro-plants inoculés seulement avec la souche commerciale et non amendés avec du compost (table 16). Egalement, les teneurs d'autres éléments (Mg, Mn, Cu et B) a été plus élevées chez les plants témoins bien qu'elles ne diffèrent pas beaucoup de celle trouvée chez les vitro-plants amendés avec du compost. On a pu conclure que cette dose du compost a éventuellement inhibé l'assimilation de certains éléments. D'où la suggestion de répartir cette quantité sur deux applications durant cette période de croissance (12 mois).

A partir de cette expérimentation, on a pu conclure qu'une synergie entre le compost et les CMA a été possible, vue d'abord, la meilleure colonisation des vitro-plants du palmier dattier (cv. Boufeggous) et l'amélioration de nombreux paramètres de croissance végétatives, y compris le nombre de feuilles, le nombre de racines et leurs biomasses. D'autre part, une meilleure nutrition est enregistrée en raison de l'augmentation de la teneur en chlorophylle totale et celle de nutriments dans les feuilles.

Ce chapitre a fait l'objet d'une publication dans « Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences ».

7 Publication 2: Effect of organic fertilizer and commercial arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micro-propagated date palm cv. Boufeggous

7.1 Abstract

Date palm is an important crop in Morocco, Tunisia and many other drylands of the world, but its growth is often limited due to the low soil fertility and harsh environmental conditions of oases ecosystems, which can hardly be compensated by the sole application of high dosages of chemical fertilizers. For the first time, we investigated the effects of compost application and inoculation with a commercial strain of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), *Glomus iranicum*, on the growth of micro-propagated date palm plantlets (cv.Boufeggous). After twelve months of growth, plantlets transplanted into compost amended substrate inoculated with AMF showed increased biomass production (root and shoot biomass), chlorophyll and mineral nutrient contents than plantlets transplanted into compost amended substrate or without compost addition. Thus, this inoculum reinforced the promoting effect of compost and was successful in colonizing the root system. According to our results, sandy substrate enriched with compost and inoculated with *G. iranicum* can be recommended for improving the growth and nutrition of micro-propagated date palm plantlets.

Keywords: *Phoenix dactylifera* L. Compost, Mycorrhizal fungi, Organic fertilizer

7.2 Introduction

Date palm, *Phoenix dactylifera* L. is claimed to encompass over 5000 cultivars, with some of them being characterized more or less in detail (El Hadrami and Al-Khayri, 2012). Economically, date palm fruits and their by-products are precious for their nutritional and dietetic properties and their income for oasis populations (Al-shahib and Marshall, 2003; Chao and Krueger, 2007; Saafi et al., 2008). Although date palm is thought to be drought tolerant, water is required for full growth and improved productivity (Faghire et al., 2010). Since date palms are mainly grown in hot and dry desert regions characterized by a poor soil structure and low soil nutrient contents (Al-Karaki, 2013), it heavily rely on its symbiotic relationship with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in order to improve their growth and performance particularly under saline and hydric stress conditions (Radi et al., 2014; Shabbir et al., 2010). Recent studies have been reported about the symbiotic relationship between date palms and range of AMF species such as *Glomus mosseae, G. fasciculatum, G. macrocarpum, Acaulospora sp., Scutellospore sp*., (Bouamri et al., 2014, 2006) as well as *G. sinuosum* and *G. eburneum* (Radi et al., 2014). AMF were shown to confer numerous benefits to their host plants

including the enhancement of plant growth and mineral nutrition and the improvement of soil properties (Bousselmane and Achouri, 2002; Diouf et al., 2013; Mrabet et al., 2014). Previous studies also investigated the mycorrhizal fungi for their systemic resistance induction and signaling plant defense against phytopathogens (Srivastava et al., 2010). In addition, other work have showed the higher colonization of root system and reduction of infection sites of pathogen (Podila, 2010). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance the drought tolerance (Benhiba et al., 2015; Estrada-Luna and Davies, 2003), the tolerance at metal toxicity (Al-Karaki, 2013; Hashem et al., 2016) and salinity (Liu et al., 2016). Additionally, research has shown that AMF were not host specific, but a strong functional variability from fungal species was detected (Klironomos, 2000). Composting process has been evaluated as one of the most feasible alternative for the valorization of olive mill waste-water, production of organic fertilizers and their use to increase the growth and yield of plants and improve the physical and chemical soil properties (Sarwar et al., 2008b; Souna et al., 2010). Other research has also shown the potential role of compost prepared olive mill waste-water for fungal disease suppression and growth promotion of germinated seedlings of date palm (Barje et al., 2016; El Kinany et al., 2017a) or other crop plants (Markakis et al., 2016; Mehta et al., 2014; Pane et al., 2012). Nevertheless, the production of micro-propagated date palm is become the sole solution to satisfy demand of date palm culture and date palm fruit, but the challenge of date palm micropropagation is the ex-vitro acclimatization, transplantation and survival rate of plantlets (Al-khayri and Naik, 2017). To obtain productive date palm derived from seed germination, more than ten years were required (Ben Abdallah, 1990). The date palm plantlets derived from tissue culture have a genetic stability and conformity versus germinated seeds, which are genetically heterogeneous (Zidar et al., 2008). Only the micro-propagated oil palm had been inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi in post acclimatization (Schultz, 2001)[16]. Another traditional technique of multiplication is offshoots or suckers, but it has the several limitations. For example, offshoots are produced in a limited number for a certain period in the lifetime of a young palm tree and transmission of disease-causing pathogens and insects along with the offshoot (Taha et al., 2002). The use of compost and mycorrhiza had not assessed for their efficiency on growth of plantlets obtained from tissue culture of date palm (cv. Boufeggous). In this study we aim to assess, for the first time, the effect of compost and commercial strain of AMF (*Glomus iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs) on growth promotion of micro-propagated date palm (cv. Boufeggous) obtained from *in vitro* tissue culture in greenhouse conditions after acclimatization stage.

7.3 Materials and methods

7.3.1 Plant material and experimental design

Uniform, one-year-old micro-propagated date palm plantlets (cv.Boufeggous) were purchased from a private date palm tissue culture laboratory at 3–4 leaves stage. Date palm plantlets were individually transplanted into 14 liter-pots filled with sterilized sandy soil (dual sterilization at 120 °C for 30 min) supplemented or not with compost as described in table 9. Compost used in this experiment was produced in a private composting unit in Meknes, Morocco such as previously described (El Kinany et al., 2017a). Physical and chemical properties of the soil and compost were analyzed in advance ((El Kinany et al., 2017a) and table 10 respectively). Plantlets were watered with tap water according to their needs and fertilized weekly with 100 ml Long Ashton nutritive solution (Hewitt and Smith, 1975). The experiment was carried out in a greenhouse at the National School of Agriculture (Meknes, Morocco) with a temperature of 30 ± 2 °C and a relative humidity of 40%. The experiment was set up in a completely randomized design with five replicates per treatment.

Table 9: Treatments description of the greenhouse experiment using micro-propagated date palm plantlets (cv. Boufeggous).

Treatments	Description
T0	Sandy soil (control)
T1	25% of compost + 75% of sandy soil(v/v)
T2	Sandy soil amended with *Glomus. iranicum*
T3	**25% of compost + 75% of sandy soil (v/v)inoculated with *G.iranicum***

7.3.2 Inoculation method

Commercial AMF inoculum of *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs (440 spores/100 g) was used to inoculate micro-propagated plantlets following the treatments described in table 9. The inoculum was applied twice to the root system, the first time during transplantation and the second time after two month of growth by spreading method. Ten gram of commercial inoculum was dissolved in 50 ml of sterile distilled water and spread on the root system of each plantlet. Autoclaved inoculum was applied to control plantlets.

7.3.3 Estimation of mycorrhizal colonization

Mycorrhizal colonization was assessed after two and twelve month following the technique of Phillips and Hayman (Phillips and Hayman, 1970). In brief, roots of micro-propagated plantlets were sampled at two opposite directions of the pot using a soil corer and gently washed to remove adhering soil to form a composite sample. Root fragments were cleared with 10% potassium hydroxide (10% in water, w: v), neutralized in hydrochloride acid (4% in water, w:

v) and stained in a Trypan blue solution (0.05% in glycerol and lactic acid, w: v). Root colonization levels were estimated according the Trouvelot et al., (1986) method on three subsets of 20 randomly chosen root segments of one cm length and scored under the light microscope. Two parameters were retained; the colonization intensity i.e. the proportion of cortical cells colonized by mycorrhizal structures and the colonization frequency; determined as the ratio of colonized versus non-colonized root fragments.

Table 10: Physical and chemical characteristic of sandy soil used as basic substrate for greenhouse experiment. Data present means of three soil samples.

Parameters		**Values**
Particles size (%)	Sand	91,2
	Silt	6,3
	Clay	2,5
Total limestone (%)		0,0
Active Limestone		0,0
pH-Water		7,1
Electrical conductivity (ds m^{-1})		0,05
Exchangeable sodium (mg kg^{-1})		Traces
Organic matter (%)		0,2
Nitrogen (mg kg^{-1}N-No3)		Traces
Available Phosphorus (mg kg^{-1})		3,0
Exchangeable Potassium (mg kg-1)		29,0

7.3.4 Growth measurements

Relative growth rate (RGR) of total shoot length (mm/month) and stem diameter (mm month-1) were monitored between month two and twelve and calculated using the Schultz formula as described below (Schultz, 2001).

$$RGR = (\ln TSL2 - \ln TSL1) / (t2-t1)$$

Where, ln = logarithm; TSL2 = total shoot length at final measurement; TSL1 = total shoot length at initial measurement; t2-t1 = the time between measurements).

Before harvest, total chlorophyll content in shoots (mg.g-1of fresh weight) was measured using chlorophyll-meter (model CCM-200). At harvest, numbers of leaves and shoot and root fresh weights (g) were measured by separating the shoots from the roots and drying both compartments separately at 70 °C (for 96 h) to measure dry weights. To assess macro- and micronutrients content of shoots, four fresh leaves samples were collected randomly for each treatment and send to a private laboratory to analyze nitrogen, phosphorus, potassium, magnesium and calcium (% of fresh matter) as well as zinc, copper, manganese, iron and bore (mg/kg).

7.3.5 Statistical analysis

Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's test (multiple comparison) with a significance level of $\alpha = 0.05$. The normality of residuals was assessed by Shapiro-Wilk test and the analyses were performed using SPSS statistical software (version 21.0, IBM).

7.4 Results

7.4.1 Root colonization

Table 11 reports the frequency and intensity of root colonization by AMF for all treatments. When commercial inoculum was applied to plants grown in sandy soil (T2), the intensity and frequency of colonization was significantly increased compared to plants grown in sandy soil amended with compost (T3). This table showed clearly the higher colonization of rooting system (T2) by *G. iranicum* strain in sandy substrate (Fig. 22), whereas, the compost reduced significantly the colonization rate.

Table 11: Frequency (%) and intensity (%) of root colonization by *Glomus iranicum* in micropropagated date palm grown under greenhouse conditions.

Treatment	2 months		12 months	
	Frequency	Intensity	Frequency	Intensity
T0	0.00	0.00	0.00	0.00
T1	0.00	0.00	0.00	0.00
T2	11.5 ± 3.40b	0.54 ± 0.21b	85.85 ± 11.91a	52.59 ± 7.08a
T3	29.165 ± 5.89a	1.46 ± 0.29a	35.34 ± 9.14b	0.89 ± 0.29b

Data present mean±standard deviation. Means followed by the same letters in the same column are not significantly different at $P < 0.05$ according to Duncan's multiple-range test.

7.4.2 Rooting parameters

After twelve months of growth, plant survival was at 100% suggesting that the amount of compost used for plant growth is reliable and did not affect root growth. Significant differences were noted between plants grown in sandy soil alone and those grown in the mixture of compost and sandy soil (Fig. 23 and table 12).

Inoculation with *G. iranicum* improved the numbers of roots and root fresh and dry weights of date palms grown in the mixture of compost and sandy soil (table 12). Root fresh weight was doubled (337.23 g) in plants inoculated with *G. iranicum* and grown soil amended with compost compared to non-inoculated control plants (170.73 g). Furthermore, root dry weight was significantly enhanced by *G. iranicum* and compost (T3) compared to non-inoculated plants grown in the same substrate (T1).

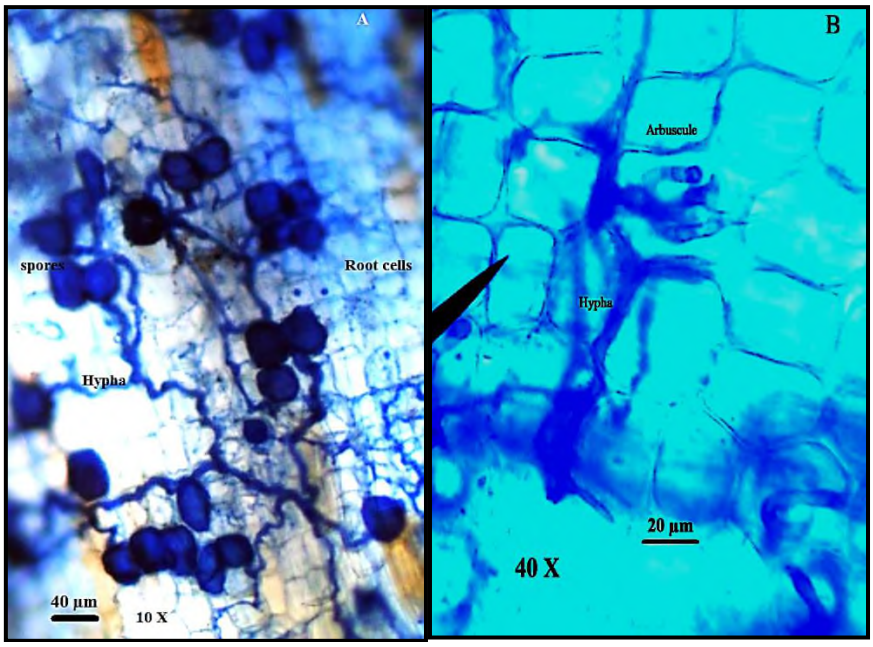

Figure 22: *Glomus iranicum* structures in micro-propagated date palm roots (cv. Boufeggous); (A) Intra-radical hypha and spores; (B) arbuscules with continuous intra-radical hypha

7.4.3 Leaf parameters

Data in Table 13 and figure 23 indicates that both treatments of compost (T1 and T3) showed high significant RGR of shoot height (5.21and 12.99 mm/months respectively) compared to control treatment (T0) (1.71 mm/month). *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs-inoculation on the date palm plantlets in compost mixture (T3) significantly affected the RGR of shoots height compared with those grown in compost without mycorrhizal inoculation. Despite the increased RGR of stem diameter in substrate containing compost or compost with *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs inoculum (T1 and T3), statistical analysis does not showed significant differences between all treatments including non-inoculated plants (table 13) concerning the RGR of stem. The calculation of the average leaf numbers in the five replicates confirmed the significant effect of medium supplemented with compost on plant growth during this plant stage despite the non-significant effect of mycorrhizal fungus *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs inoculation in sandy soil. This neutral effect can be due to the poor soil and its very low nutrients content.

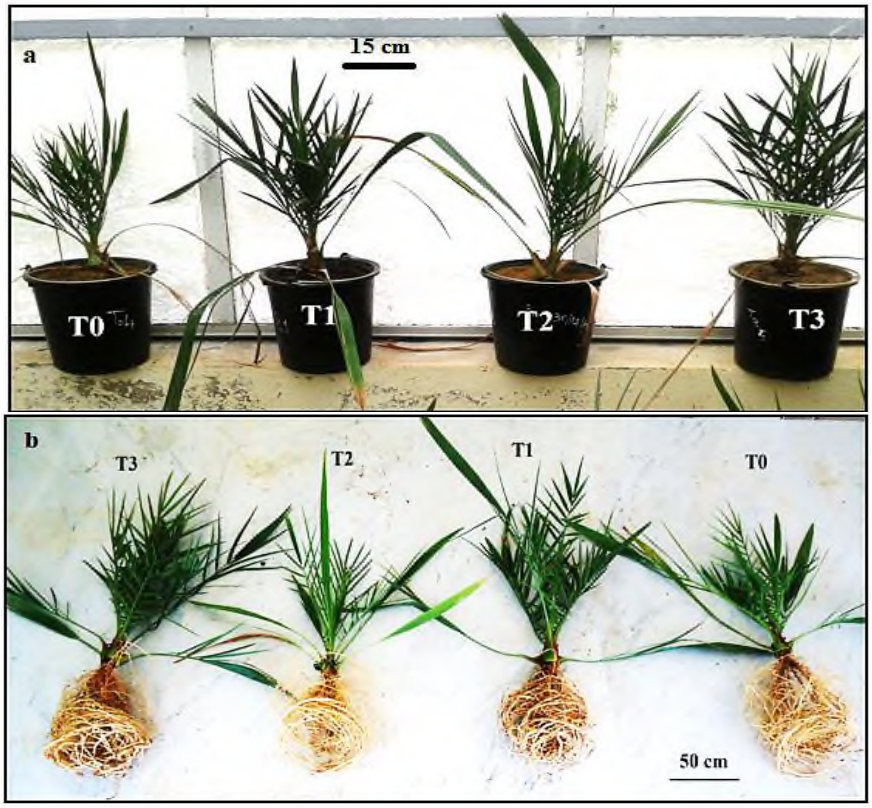

Figure 23: (a and b) Date palm plantlets (cv. Boufeggous) grown for twelve month in the greenhouse conditions

Table 12: Rooting parameters of seedlings grown in different media and/or inoculated with *Glomus iranicum* under greenhouse conditions during 12 months.

Treatments	Root number	Root fresh weight (g/plant)	Root dry weight (g/plant)
T0	14.67±0.57b	170.73±5.93c	73.21±0.71c
T1	21.00±1a	278.85±9.27b	94.57±4.30b
T2	13.00±1.73b	139.12±9.61d	67.57±8.52c
T3	21.00±1.73a	337.23±9.53a	109.26± 2.15a

Data present mean±standard deviation of six replicates. Means followed by the same letters in the same column are not significantly different at $P < 0.05$ according to Duncan's multiple-range test

Leaf fresh and dry weight were significantly increased in the mixture of sandy soil and compost compared to the control plants, but mycorrhizal inoculation significantly improved these two parameters of date palm seedling (cv. Boufeggous) compared with compost alone (table 14). The total chlorophyll content in the control and plants inoculated with commercial AMF (3.23 and 3.42 mg/g respectively) was statistically similar to those transplanted in compost mixture or in compost mixture with *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs inoculum (4.27 and 4.07 mg/g respectively) (Table 14). There is no significant effect of *G. iranicum* on chlorophyll content despite the strength of root colonization. However, compost mixture positively affected

chlorophyll content, but mycorrhizal inoculation with commercial inoculum using sandy substrate did not improve this parameter despite root colonization. It seems that an excess of this type of compost amendment (25%) affect the role of AMF in nutrient assimilation. Mineral nutrition in leaves is a key factor to assess the effects of compost amendment on date palm growth in different culture media with or without AMF inoculum (*G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs). From data analysis, we noted the important contribution of compost on nitrogen, potassium and phosphorus uptake. This result was reinforced with AMF inoculation, especially for phosphorus leaf content (table 15). The application of compost and 10 g of AMF inoculum produced the highest phosphorus content (0.19%). This result could be due to the role of AMF inoculum in phosphorus exchange with root system. However, statistical analysis showed that compost significantly and negatively affected some nutrients assimilation, especially microelements, compared with AMF-inoculated seedling. Thus, *G. iranicum* inoculation alone contributed significantly to the successful assimilation of Mg, Ca, Zn, Mn and Fe (tables 15 and 16).

Table 13: Relative growth rate (RGR) of shoot height and stem diameters of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) under greenhouse conditions during 12 months).

Treatment	RGR of shoot height	RGR of Stem diameter
	--------mm month-1------	------µm month-1------
T0	1.71±0.89c	254.00±8.25a
T1	5.21±1.64b	260.00±4.90a
T2	1.45±0.21c	254.83±2.77a
T3	12.99±1.83a	261.60±4.50a

Data present mean± standard deviation. Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test

Table 14: Leaf parameters and chlorophyll contents of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) under greenhouse conditions during 12 months.

Treat.	Average of leave number	Leaf fresh weight (g/plant)	Leaf dry weight (g/plant)	Chlorophyll (mg. g^{-1} of FW)
T0	6.8 b	242.00±37.6 b	133.24±17.10 b	3.23±0.12 b
T1	7.2 a	354.23±17.75 a	153.47±5.59 a	4.27±0.21 a
T2	6.8 b	180.26±10.37 c	104.19±3.33 c	3.42±0.04 b
T3	7.0 a	362.68±27.18 a	164,36±1,36 a	4.07±0.15 a

Data present mean± standard deviation. Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test

Table 15: Leaf macro-elements of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) under greenhouse conditions during 12 months.

Treatment Total Nitrogen Phosphor Potassium Magnesium Calcium

Treatment	Total Nitrogen	Phosphor	Potassium	Magnesium	Calcium
	---------- % ----------				
T0	1.29±0.03 c	0.18±0.02 ab	0.72±0.03 c	0.47±0.02 a	1.11±0.03 a
T1	2.13±0.03 a	0.16±0.02 ab	2.53±0.04 a	0.26±0.01c	0.32±0.02 d
T2	1.19±0.02 d	0.15±0.01 b	0.75±0.02 c	0.42±0.03 b	1.01±0.04 b
T3	2.05±0.02 b	0.19±0.02 a	2.02±0.08 b	0.28±0.02 c	0.58±0.02 c

Data present mean± standard deviation. Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test

Table 16: Leaf microelements of of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) under greenhouse conditions during 12 months.

Tr.	Zn	Cu	Mn	Fe	B
	---------- (mg kg^{-1}) ----------				
T0	50.01±2.00 b	7.21±0.10 a	154.45±1.25 a	76.50±1.47 a	22.84±1.01 a
T1	30.30±0.70 c	2.49±0.02 c	121.86±1.06 c	72.29±1.10 b	17.09±0.83 b
T2	56.24±1.24 a	2.56±0.10 c	140.44±1.49 b	77.41±1.03 a	17.32±0.98 b
T3	50.45±1.45 b	3.86±0.06 b	113.71±0.67 d	65.71±0.96 c	21.06±1.58 a

Data present mean± standard deviation. Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test

7.5 Discussion

Nutrients are the determinant factors for date palm growth and productivity, particularly under oases conditions. In our study, we assessed for the first time, the effect of compost amendment (25% v.v-1) and commercial AMF strain, *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs on micro-propagated plantlet growth (cv.Boufeggous) under greenhouse conditions. Our results demonstrated the efficiency of compost on growth promotion using sandy soil as basic substrate. Compost amendment has clearly increased chlorophyll amount and leaf mineral nutrition, particularly the macro- elements. *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs strains (commercial inoculum) efficiently reinforced the effectiveness of com- post on plant growth. Contrasting, AMF increased uptake of microelement like iron and zinc compared with control plants. The mixture of compost and AMF had contributed to uptake another microelement such as Bor. However, the weak root colonization in the substrate supplemented by compost (25%), compared with AMF strain alone might be explained by the high availability of macro- and micronutrients added to the soil via the compost. In particular, the amount of phosphorus that reached 40 mg/g substrate might have reduced the root colonization. This result confirmed the negative correlation found between phosphorus amount and colonization rate of date palm (Bouamri et al., 2006). In addition, colonization level depended composition and maturity of compost such as recently found in *Zeya mays* culture (Cozzolino et al., 2016) where the compost

of 60 and 120 days maturity affect negatively plant growth and root colonization in pot experiment.

Our results concerning growth of micro-propagated date palm corroborated those found in micro-propagated plantlets of oil palm, where the inoculation of plantlets with mycorrhizal fungi has significantly increased the percentage of plant survival and enhanced plantlets growth in post-vitro establishment (Schultz, 2001). Despite of the some related results about enhancement of plantlets growth, originated from seeds germination in substrate amended with 45% of compost (Abohatem et al., 2011; Barje et al., 2016), it should be noted that the rate of compost is more expensive and 50% of plant give a male since the date palm is a dioecious plant (Ben Abdallah, 1990). Other research was also conducted to affirm the role of compost on soil fertility, it decreased the pH and some undesirable elements (like Sodium), increased the soil conductivity, nutrients availability (N, K, P and Ca), C/N ration and organic matter amount (Sarwar et al., 2008b). It is reported that compost retain nutrients in the soil around the plants, hence additional fertilizer will not be needed for well growth of plant (Ingham, 2003). Other researchers have showed a significant effect of compost and AMF complex on tomato growth in greenhouse experiment, where the root colonization and root dry weight have been improved (Akhter et al., 2015). In our result, there are no significant differences in chlorophyll and some micronutrients contain in leaves when all treatments were compared. It seems that an excess, maturity or the composition of this compost amendment (25%) affect the role of AMF in some nutrients assimilation in our conditions, Indeed, Cozzolino et al., (2016) have showed that the 60 and 120 day maturity of some compost types decreased *Zea mays* growth and root colonization with AMF.

However, it is important to note that date palm in saline conditions depend the mycorrhizal symbiosis, hence the application of commercial inoculum of AMF (BioMycvital) and low fertilization level (1/3 of full dose) on *in vitro* seedling of (cv. Khenizi) enhanced trunk diameter and plant height under saline conditions (Shabbir et al., 2010). Besides, indigenous or commercial AMF and compost were recently involved to improve plant growth and mineral nutrition of many species such as *Argania spinosa* (Mrabet et al., 2014), *Triticum aestivum* and *Trifolium alexandrium* where a full and half dose of compost inoculated with commercial or indigenous AMF increased significantly root and shoot biomass (Jan et al., 2014). In addition, the use of compost and mycorrhizal fungi have increased growth of *Medicago polymorpha* and a positive correlation was found between biomass production and compost rate (from 0 to 75%) (Akhzari et al., 2015). Besides, Prayudyaningsih (2016) has inoculated Tectona grandis (Lamiaceae) with two AMF species, *Acaulospora* sp. and *Gigaspora* sp. and used 5% of

compost in post-minin soil to improve soil fertility and plant growth. In addition, Akhzari et al., (2015) have revealed the efficiency of vermicompost and AMF on nutrient acquisition, e.g. total nitrogen and potassium as well as pH improving (from 3.05 to 7.96) and conductivity increasing in contrast with application of vermicompost alone (Akhzari et al., 2015). In this work, we conclude that the most efficient treatment for enhancing rooting system growth was T3. It consist of application of compost mixture (25% compost and 75% sandy substrate), as basic medium, and *Glomus iranicum* inoculum.

7.6 Conclusions

In this study, we assessed for the first time the effect of compost enriched with commercial AMF strain, *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs, on date palm (cv. Boufeggous) growth using tissue culture-derived date palm plantlets. Our results revealed that the growth of micro-propagated date palm plantlets in sandy soil amended with compost had been enhanced compared with control plantlets (in sandy soil). The root inoculation with G. iranicum Błaszkowski, Kovács & Balázs strain significantly reinforced compost effect, particularly for up taking of some microelement. This sustainable alternative suggested the reliable application of com- post and commercial inoculum in sandy soil to increase growth of micro-propagated date palm (without chemical fertilizers). The results also indicated that mycorrhizal inoculation combined with compost amendment clearly reinforced growth performance of ‘‘Boufeggous” cultivar, including, dry and fresh biomass, root and leaf numbers, mineral content and total chlorophyll. These biological approaches constitute a support for field experiment in order to investigate its reliability and efficiency in the promotion of yield and crop quality of date palm.

7.7 Acknowledgements

This work was partly supported by the r4d project ‘‘Application of organic bio-fertilizer technology to improve the sustainability of date palm production and cultivation” with the grand number IZ07Z0_160904 funded by the r4d program, the Swiss Program for Research on global Issues for Development, a partnership of the Swiss Agency for Development and Cooperation and the Swiss National Science Foundation.

Chapitre 4 :

Isolement et screening des rhizobactéries associées au palmier dattier et aux plantes spontanées dans les oasis de Tafilalet

Résumé

Introduction et problématique

Les problèmes majeurs des zones oasiennes, notamment celles de la région Draa-Tafilalet du Maroc, sont la pauvreté du sol en élément nutritifs, principalement la matière organique, et sa faible activité biologique (Bouamri et al., 2014, 2006). Ajouton à cela le stress hydrique, la désertification, la salinité et les effets grandissants du changement climatique qui réduisent les surfaces arables (Mainguet et al., 2011a). Ceux-ci fragilisent le sol et diminuent considérablement sa fertilité et sa durabilité. En outre, en parallèle avec l'extension de la palmeraie marocaine sur des grandes surfaces aux alentours des oasis (MAPMDREF, 2019), les agriculteurs font recours immédiatement à l'utilisation abusive des engrais chimiques dans une optique d'améliorer la productivité du palmier dattier. Toutefois, ils aggravent encore la situation car l'activité biologique du sol serait condamnée par ces composés chimiques nocifs. Par contre, l'agroécologie est le système agricole le plus propice et convenable sous le climat aride et semi-aride des oasis au Maroc (Lamqadem et al., 2019, 2018). Une autre problématique qui menace gravement les oasis, est la maladie de la fusariose vasculaire (Bayoud), dont les pesticides chimiques ne sont plus efficaces et les variétés nobles sont les plus sensibles (El Bouhssini and Faleiro, 2018).

Pour toutes ces raisons, une autre alternative biotechnologique devient nécessaire pour pallier à ces problèmes et préserver le système agricole oasien. Dans cette optique, notre principal objectif était de chercher, puis développer un fertilisant organique à base du compost, des rhizobactéries promotrices de la croissance (PGPR) et des champignons mycorhizien qui sera à la disposition des agriculteurs. Ce produit sera utilisé pour assurer deux rôles cruciaux : d'une part, la fertilisation du sol et la restauration de l'activité biologique et d'autre part, la lutte biologique contre la maladie du « Bayoud ». Il sera donc très prometteur dans les nouvelles extensions de la palmeraie en termes de l'amélioration des caractéristiques physico-chimiques du sol, de la durabilité de l'agriculture oasienne, de la promotion de la croissance des vitro-plantes du palmier dattier, de leur protection contre la fusariose vasculaire et d'atténuation d'autres effets néfastes des stress abiotiques. Ce chapitre est consacré à l'isolement de différents PGPR associés au palmier dattier et aux plantes spontanées fréquemment développées dans les oasis de Tafilalet et à la caractérisation de leurs modes d'action.

Les PGPR sont très influencés par les exsudas racinaires sur lesquelles elles se nourrissent tout en stimulant la croissance des plantes et/ou en contribuant à leur protection contre des phytopathogènes (Ahemad and Kibret, 2014; Kloepper, 1994) . De nombreux travaux ont été

effectués en vue de l'isolement, de la caractérisation et de l'identification de souches au niveau de la rhizosphère des plantes (Dinesh et al., 2015; Goswami et al., 2015b; Islam et al., 2016; Laslo et al., 2012; Zerrouk et al., 2016). Certains de ces PGPR sont efficientes dans la solubilisation du phosphore (Laslo et al., 2012), d'autres dans la fixation d'azote (Goswami et al., 2015b), la solubilisation du potassium ou la production des phytohormones (Goteti et al., 2013; Saravanakumar and Samiyappan, 2007). En outre, les PGPR sont connus par leur potentialité de de lutte contre les phytopathogènes, notamment ceux de nature fongique et bactérienne (Amkraz et al., 2010; El kinany et al., 2017). Elles peuvent aussi stimuler directement les réactions de défense chez la plante hôte contre plusieurs phytopathogènes (Jourdan et al., 2008a; Kurabachew and Wydra, 2014; Xue et al., 2015). Cependant, les palmeraies oasiennes du Maroc restent à explorer pour chercher et sélectionner des souches PGPR autochtones, performantes et tolérantes aux plusieurs stress abiotiques et biotiques qui sévissent dans cet écosystème fragile. En outre, les zones arides et semi-arides, comme celles de la zone de Tafilalet, où les biotopes des rhizobactéries sont extrêmes (sècheresse, salinité, très hautes ou basses températures…), peuvent constituer une niche de PGPR efficientes et adaptées aux conditions de la culture du palmier dattier. Ces PGPR seront sélectionnées et identifiées pour être incorporées, par la suite, dans un compost.

Dans cette optique, les travaux présentés dans ce chapitre visent à :

- Isoler et purifier les PGPR associées au palmier dattier et à d'autres plantes spontanées dans les oasis de Tafilalet (Sud-Est du Maroc).
- Cribler *in vitro* ces isolats pour leurs traits de promotion de la croissance des plantes et leurs effets antifongiques contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent causal de la maladie du « Bayoud ».

Ce chapitre a fait partie du deuxième objectif du projet « Fertile Date Palm » financé par le programme r4d, le programme suisse de recherche sur les questions mondiales pour le développement, un partenariat entre la Direction du développement et de la coopération et le Fonds National Suisse de la recherche scientifique.

Matériels et méthodes

Au total, 7 sites d'échantillonnage ont été choisis (Table 17): deux palmeraies traditionnelles, trois modernes et deux plantes spontanées, fréquemment développées aux alentours (zones arides vierges): *Retama blanca* et *Zizyphus lotus.* Les échantillons du sol rhizosphérique ont été prélevés en deux côtés opposés de la zone rhizosphérique et à un horizon de 20–60 cm selon qu'il s'agit du palmier dattier ou d'une plante spontanée. Pour tous les échantillons du sol, les

analyses physico-chimiques (Table 18) ont été réalisées au laboratoire LaboMag (Casablanca, Maroc).

La technique adoptée pour l'isolement de toutes les rhizobactéries cultivables est celle de suspension-dilution (Jäderlund et al., 2008) suivie de l'inoculation par étalement de deux milieux de culutre YPGA et King B. Après une incubation de 72h - 94h à une température de 27°C, les colonies isolées ont été ré-ensemncées par stries (épuisement) pour leur purification. Ensuite, le criblage de ces bactéries a inclut plusieurs traits PGP (Plant growth-promoting traits). Ils s'agit de leur capacité à fixer l'azote dans un milieu de culture déporvu d'une source d'azote (El-Sayed et al., 2014), à produire l'ammonium (Ahmad et al., 2008), à solubiliser le phosphore (Ghosh et al., 2016; Nautiyal, 1999), le potassium (Setiawati and Mutmainnah, 2016) et le zinc (Fasim et al., 2002) inorganiques. En outre, ces mêmes isolats ont été criblés qualitativement et quantitativement pour la production des sidérophores (Schwyn and Neilands, 1987; Taktek, 2015), de l'acide 3-indolacétique (AIA) (Tsavkelova et al., 2005) et de la production de cyanure d'hydrogène (HCN) (Wei et al., 1992). Les isolats performants ont été testés pour leurs mobilités et leurs compatibilités dans le but de leurs utilisations ultérieures sous forme de consortia efficaces.

Afin d'étudier l'effet antagoniste des différents isolats contre *Foa*, le test de confrontation *in vitro* a été réalisé (Laslo et al., 2012). Ensuite, les métabolites secondaires des isolats ont été produits en milieu liquide. Le surnageant issu de chaque isolat a été filtré à travers des filtres micropores (0.22 µm) puis dilué (10%) et testé pour son activité antifongique contre *Foa* (Balouiri et al., 2016). Quant aux activités enzymatiques des isolats, les activités chitinase, amylase, cellulase et protéase ont été évaluées sur des milieux de culture sélectifs (Cattelan et al., 1999; Dinesh et al., 2015; Hsu and Lockwood, 1975; Velusamy and Kim, 2011).

Afin de mettre en évidence les isolats performants, d'abord le test de normalité de Shapiro-Wilk a été réalisé et suivi par l'analyse de la variance à un facteur (isolat). Egalement, le test de comparaison multiple (test de Duncan) a été adopté. Ces différentes analyses ont été réalisées au moyen du logiciel SPSS (V20).

Résultats et conclusions

Les caractéristiques physico-chimiques des échantillons du sol rhizosphérique sont reportées sur le tableau 18 (table 18). Tous les sites d'échantillonnage sont caractérisés par une texture sablonneuse ou sablo-limoneuse; les taux de sable dépassent souvent 44 % avec des taux maximaux de 61,2 et 70,2 % % enregistrés respectivement dans les sites N° 3 et 4. Le taux de matière organique est généralement faible, à l'exception des sites N° 5, 6 et 7 où il dépasse 4,5 %. Tous les sols des sites prospectés ont un pH basique (sols alcalins); il est supérieur ou égal

à 8.1 (table 18). Les teneurs en phosphore sont généralement faibles, à l'exception des site N° 5, 6 et 7 (plus de 37 µg P/g). L'isolement a abouti à la purification de trente-trois isolats bactériens à partir des différents sites de prospection (table 19). Ces résultats montrent que la plupart des isolats (78 %) ont été trouvés dans les sites de palmeraies modernes (site N° 5, 6 et 7). Les autres isolats ont été isolés à partir des palmerais traditionnelles et des plantes spontanées ; sites N° 1, 2, 3 et 4 dont les pourcentages sont respectivement 15% (site 1 et 2) et 6 % (site 3 et 4).

Le criblage *in vitro* a permis de déduire que 97 % d'isolats fixent l'azote atmosphérique (table 19) dont 75 % a été associé à la rhizosphère du palmier dattier (site N° 5, 6 et 7). Aussi, la production de l'ammonium a été détectée chez 12 isolats dont trois sont isolés de la rhizosphère des plantes spontanées (sites N° 1 et 2). L'analyse de la variance (Annexe 2 et 7) de la quantité d'ammonium produite a révélé que la différence entre les isolats est hautement significative (p-value < 0.0001 et F= 9341.47), bien que la production varie de 0.2 jusqu'à 3 µmol/mL enregistrée chez la souche *M015*.

L'analyse qualitative de la solubilisation du phosphore inorganique, détectée chez 81 % des souches PGPRs, a montré que la différence entre ces derniers (Annexe 2 et 4) a été hautement significative (p < 0,0001 et F = 3697,111). Ainsi, leurs index de solubilisation varient de 0.6 à 2.1 selon la souche PGPR (Table 19). Quantitativement, 88 % des isolats ont été performants dans la solubilisation du P inorganique dont leurs quantités solubles correspondantes varient de 2.8 à 591.8 µg/mL. Les isolats *M012*, *M013* et *M014* isolés respectivement de sites N° 7, 6 et 2, ont pu solubiliser le phosphore inorganique en milieu liquide malgré leur inefficacité sur le milieu solide. Egalement, une différence très significative (p < 0.0001 et F=4272.34) a été détectée en terme de la quantité du phosphore soluble produite en milieu liquide (Annexe 2 et 4). D'un autre côté, 17 isolats ont montré leurs capacités à solubiliser le potassium inorganique sur milieu solide avec un index de solubilisation significativement différent (p < 0,0001) en fonction de la souche PGPR (Annexe 2 et 5). Le meilleur index (2.7) a été trouvé chez les souches *M021* et *M026* associées au palmier dattier du site N° 5 et 7 respectivement (Table 19). A propos de la solubilisation du Zn inorganique (ZnO), 18 % des souches ont été efficientes avec un meilleur index de 3.1 enregistré chez les souches *M01* et *M08* isolés du site 5 (plantation moderne du palmier dattier) (Annexe 2 et 6).

Quant à la production des sidérophores et de l'AIA, les résultats reportés dans le tableau (table 19) mettent en exergue le degré d'efficacité des isolats bactériens à produire ces composés. Les meilleures souches productrices de sidérophores sont *M015* et *M030* avec des pourcentages respectifs de 62 et 60 % ; ces souches sont associées respectivement aux *Z. lotus* et *P.*

dactylifera (site N° 6 et 2). Egalement, l'analyse de la variance montre que les souches PGPRs diffèrent significativement (Annexes 2 et 9) en matière de taux de production des sidérophores ($F=8,212$ and $p < 0.0001$). Dans le même sens, les résultats du criblage de la production de l'AIA ont permis de déduire que 32 isolats sont efficaces avec une différence hautement significative entre les souches PGPRs (Annexe 2 et 8). La meilleure concentration de 61.8 µg/ml a été détectée chez la souche *M020* de la rhizosphère de *P. dactylifera*. On note aussi que cinq isolats producteurs de l'AIA sont isolés des rhizosphères de plantes spontanées ; *Z. lotus* et *R. blanca* (site 1 et 2). Par ailleurs, la production de HCN (cyanure d'hydrogène) par les différents isolats a été démontrée chez 15% de la collection. Cependant, les isolats *M010* et *M013* de la rhizosphère du palmier dattier (site N° 5 et 6) se sont avérés les plus performants en terme d'intensité de colleur de papier Wattman ; indicateur d'une production intense de HCN.

Quant à l'évaluation de l'activité antifongique des différents isolats, 26 souches (78%) ont montré un effet inhibiteur de la croissance de *Foa* en milieu solide dont 14 (42%) ont exercé une inhibition complète (100%) contre ce champignon (table 20). L'analyse de la variance a bien montré que les isolats sont significativement différents (Annexes 16 et 17) en terme d'inhibition de *Foa* ($F = 844.809$, $p < 0.0001$, $\alpha = 0.05$). En outre, l'examen microscopique du mycélium du *Foa* confronté aux isolats antagonistes a montré la désintégration et le gonflement des cellules prises au front de la croissance sur milieu solide. D'autre part, l'effet inhibiteur du surnageant, trouvé chez 28 isolats, a été efficace dans la mesure où 10% de surnageant brut a inhibé la croissance mycélienne avec un taux maximal de plus de 65 %, détecté chez les isolats *M014* et *M030,* associés à *Z. lotus* (table 20). L'analyse de la variance a mis en exergue une différence hautement significative (Annexes 18 et 19) entre les isolats ($F = 227,063$, $p < 0.0001$) au seuil de risque $\alpha = 0.05$.

Finalement, les résultats des activités enzymatiques reportés sur le tableau (table 20) montrent que les rhizobactéries sont très différentes en termes de production des enzymes et du degré de production (index de production). D'ailleurs les analyses statistiques ont montré une différence significative entre les souches (Annexe 10 - 15). A titre d'exemple, les index des activités amylase et cellulase ont été plus importants chez l'isolat *M022* (site N°10) par rapport aux autres isolats. Leurs valeurs sont respectivement de 2,74 et 3,82. Par contre l'activité chitinolytique et protéolytique ont été élevées respectivement chez les isolats *M031 et M024*.

En guise de conclusion, l'ensemble de ces résultats montre la richesse en rhizobactéries de la rhizosphère du palmier dattier, particulièrement les palmeraies modernes avec 78 % des souches, et des plantes spontanées (15 % des souches) des régions arides du Maroc (oasis de

Tafilalet) en dépit des conditions extrêmes qui gouvernent ces biotopes. En plus, ces résultats ont permis de sélectionner certaines rhizobactéries efficaces en matière de nombreux traits de promotion de la croissance des plantes et de protection du palmier contre la maladie du Bayoud causée par *Fusarium oxysporum* f. sp *albedinis*. Ces rhizobactéries ont fait l'objet d'une sélection de différents PGPR performants en se basant sur les résultats de screening et qui seront inoculés en conditions contrôlées sur les vitro-plants du palmier dattier.

Ce chapitre fera l'objet d'une publication (soumise au Journal Helyion dans la base de données Scopus (under revision)

8 Publication 3:

Characterization of plant growth promoting traits of bacterial isolates from the rhizosphere of date palms in Tafilalet Oases

Said El kinany [1, 2, 3], El Hassan Achbani[3], Sarah Symanczik[4], Mohamed Ou-zine [1,2], M'hamed Oufli[3], Abdellatif Haggoud[2], Rachid Bouamri[1]

[1]Department of Plant and Environment Protection, National School of Agriculture, Meknes, Morocco
[2]Laboratory of Microbial Biotechnology, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Faculty of Sciences and Techniques, Fez, Morocco
[3]Laboratory of Plant Protection URPP-National Institute for Agricultural Research, Meknes, Morocco
[4]Soil Science Department, Research Institute of Organic Agriculture (FiBL), Ackerstrasse 113, 5070 Frick, Switzerland
Email of corresponding author: said.elkinany@usmba.ac.ma

8.1 Abstract

Tafilalet is the largest oases in Morocco, but its ecosystem is threatened by climatic and environmental stress like drought, salinity, soil degradation as well as diseases and pests. In particular, Fusarium wilt disease of date palm caused by *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (Foa). In addition, soils are poor in terms of organic matter, nutrient concentrations and biological activity resulting in a dramatic decrease in date palm growth and yield. Improving date palm productivity is regularly achieved by the excessive application of chemical fertilizers, which are harmful for health and environment, especially in oasis ecosystem. In this work, we aimed at finding a biological alternative to improve the supply of nutrients for date palms and the same time acting as biocontrol agent against Foa. One of these alternatives, which recently gained in importance, are plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). For this reason, rhizobacteria associated with date palm and spontaneous plants in Tafilalet oases have been isolated and functionally characterized. Several plant growth promoting and biocontrol traits were investigated, including nitrogen fixation, nutrient solubilization, and the production of siderophores, auxins, hydrogen cyanide and several hydrolytic enzymes. In addition, antibiosis and antagonistic activity against Foa was assessed. Our screening revealed the richness of potassium, phosphorus and zinc solubilizing PGPRs in Tafilalet oases. Moreover, 42 % of the PGPR strains in our collection completely inhibited Foa growth and several strains produced cellulase, protease, amylase, chitinase and other secondary metabolites. Based on these results, consortia of efficient PGPR strains can be selected and used as inocula for future greenhouse and field experiments.

Key word: Biocontrol, date palm, Fusarium wilt, oases ecosystem, plant growth promoting rhizobacteria

8.2 Introduction

Following the restoration of the decimated plantations, the Tafilalet oases have recently become an extensive area of date palm groves again, in order to increase the date yields in this area. Before the initiation of the extension program in 2008, farmers did not use chemical fertilizers but only applied agro-ecological practices to ensure their self-alimentation and income under the prevailing harsh environmental conditions like soil and water salinity, irregular and low precipitation, and soil degradation (El hafyani et al., 2019; Mainguet et al., 2011b). After the launching of the extension program, they started to apply abusively chemical fertilizers, which are not fully assimilated due to the given soil characteristics, in particular low organic matter contents and soil alkalinity (Bouamri et al., 2006). Moreover, Fusarium wilt of date palm also called "Bayoud", caused by *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (Foa), is a serious disease that threatens date palm groves due to the lack of an effective control (El Bouhssini and Faleiro, 2018). However, the application of chemical fertilizers and pesticides did not solve the problems related to the unfavorable soil characteristic and "Bayoud" (El Bouhssini and Faleiro, 2018). Hence, looking for other alternatives became the sole solution to save the oases agroecosystem with their date palms, the main crop in Tafilalet.

One possible alternative, which has recently become increasingly popular, is the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). PGPR colonize the rhizosphere and have the ability to improve plant growth and/or act as biocontrol agent against pests and diseases (Acevedo et al., 2014; Ahemad and Kibret, 2014). Plant growth promotion can be accomplished by several mechanisms. At first, biological nitrogen (N) fixation, a process in which atmospheric N is converted into ammonium by free-living N-fixing rhizobacteria. The ammonium is released into the rhizosphere, where it is taken up by plant roots (Islam et al., 2016; Sutariati et al., 2020). In addition to N fixation, the solubilization of nutrients is an important mechanism of PGPRs to improve plant nutrition. Phosphorus (P) provisioning can be increased by the release of P from inorganic insoluble phosphates like apatite, or from organic phosphate like inositol phosphate by the secretion of organic acids or phosphatases (Bhattacharyya and Jha, 2013; Laslo et al., 2012). Also potassium (K) and zinc (Zn) can be solubilized by the release of acids, chelation and exchange reactions (Goteti et al., 2013; Mumtaz et al., 2017). In addition, some PGPRs can induce plant growth by stimulating the plants' own synthesis of auxins (Spaepen and Vanderleyden, 2011), gibberellins (Vacheron et al., 2013) and cytokines (Primo et al., 2015) or by the direct production of hormone-like compounds (Jila Baharlouei Yancheshmeh, 2011; Saravanakumar and Samiyappan, 2007). PGPR can also act as biocontrol agents against plant pathogens either by stimulation of plant's own defense mechanisms, antagonism or

antibiosis (El kinany et al., 2017; Kurabachew and Wydra, 2014; Siddiqui and Shaukat, 2003). This is achieved by several mechanisms such as the production of hydrogen cyanide (HCN) (Goswami et al., 2015a) or the direct competition for nutrients and space within the rhizosphere (Laslo et al., 2012). Due to the challenging environmental conditions, arid regions like Tafilalet oases might represent a biodiversity hotspot creating a variety of functionally divers PGPRs. Thus, we assume that locally isolated PGPR strains can promote plant growth and control plant disease even in poor soils. However, efforts to screen a broad range of autochthonous PGPR strains from arid region such as oases ecosystems are still missing. In order to establish a collection of locally-adapted and efficient PGPRs, the study aimed at; (i) isolating PGPR stains from the rhizosphere of date palms and spontaneous plants in date palm groves of Tafilalet region and perform *in vitro* screenings of their effectiveness as (ii) plant growth promoters and (iii) biocontrol agents against Foa, the causal agent of Fusarium wilt in date palm.

8.3 Materials and methods

8.3.1 Sampling sites

The study area located in Tafilalet region of Morocco is the largest oasis ecosystem of the Sahara desert (Lamqadem et al., 2019). The climate is characterized by annual precipitation of 60 to 265 mm from north to south and a mean of 25 rainy days per year. Temperatures range from -1.5 °C (January) to 50 °C (July) with annual mean potential evaporation of 2500 mm (ORMVAT, 2009). Besides, this region is classified as one of the most arid regions with a low aridity index (0.05 to 0.2), water scarcity and high salinity level (FAO, 2011).

For soil sampling, we selected seven different sites, two traditional and three modern date palm plantations and in addition two undisturbed sites without agricultural activity and covered with the spontaneous plants *Retama blanca* and *Zizyphus lotus.* From each site, 1 kg of rhizosphere soil of either date palms or the spontaneous plants was collected from a depth of 10–40 cm using a soil corer. Soil samples were homogenized, sieved at 2 mm, and stored at 4°C until use. A subsample of 500 g was sent to a private laboratory (LaboMag, Casablanca, Morocco) for physical and chemical analysis (soil texture, soil organic matter (SOM) content, pH-value and P content.

8.3.2 PGPR isolation

Ten gram of each soil sample was homogenized in 150 mL Erlenmeyer flasks containing 90 mL of sterile phosphate-buffered saline and shaken at 290 rpm according to the method described by Jäderlund et al., (2008). Suspensions were serially diluted and 50 µl of each

dilution was plated on YPGA (Yeast, Peptone, Glucose and Agar) and King's B media (El kinany et al., 2017). After incubation, individual colonies were purified and morphologically characterized.

8.3.3 Screening of plant growth-promoting traits

8.3.3.1 Nitrogen fixation and ammonia production

To screen for N fixing potential, the method described by El-Sayed et al., (2014) was adopted. Briefly, each bacterial isolate was inoculated by spreading 50 µL on N free medium. At the same time, isolates were inoculated on the same medium supplemented with 0.5 g/L ammonium sulfate. Isolates continuously growing for 48 h at 26 °C after five culturing cycles on N free medium were considered effective for N fixation. Ammonia production was screened according to Ahmad et al., (2008). Bacterial suspensions (3.5 $x10^7$ colony forming units (cfu)/mL) were inoculated individually in 50 mL tubes containing 10 mL of peptone water. After incubation in an incubator-shaker for 96 h at 30 °C, 500 µL of Nessler's reagent was added to each tube. Subsequently, development of yellow to brownish color indicated ammonia production by the isolates. Quantitative analysis was assessed by measuring the optical densities (450 nm) using a spectroscope (UV-mini 1240, Shimadzu). The concentration was estimated based on established curve of commercial ammonium sulfate (Ammonium sulfate *ReagentPlus*®, ≥ 99.0%, Sigma-Aldrich, Saint-Louis, America) (Ahmad et al., 2008).

8.3.3.2 Phosphate, potassium and zinc solubilization

Solubilization of P was assessed according to the method described by Nautiyal (1999). Five µL of bacterial suspension (10^8 cfu/mL) was inoculated in triplicates on NBRIP agar medium containing inorganic insoluble calcium phosphate ($Ca_3(PO_4)_2$) and incubated for ten days at 28 °C. Solubilization of P results in the appearance of a clear halo around the effective colonies. Phosphorus solubilization index (PSI) was calculated using the formula of Ghosh et al., (2016).

$$\text{PSI} = \frac{\text{diameter of clear halo and colony (mm)}}{\text{diameter of colony (mm)}} \quad (1)$$

To quantify P solubilization, 100 µL of bacterial suspension (10^8 cfu/mL) positively tested by the method described above was transferred into 10 mL of liquid NBRIP medium. Cultures were incubated for 10 days at 28 °C and biomass was separated by double-centrifugation (10,000 x g) and microfiltration (0.22 µm). 1 mL of filtrate was added to 4.5 mL of chloromolybdic acid and 25 µL of stannous chloride. Final volume was adjusted to 6 mL with sterile distilled water. The optical density was measured at 600 nm and concentrations were determined using a standard curve of different concentrations of potassium dihydrogen phosphate (Jha et al., 2009).

To assess K solubilization, 5 µL of bacterial suspension (10^8 cfu/mL) were inoculated on Aleksandrov solid media containing kaolin as sole K source (pH 6,5) and incubated for 96 h at 30 °C (Setiawati and Mutmainnah, 2016). Potassium solubilization index (KSI) was also calculated using formula (1). Similarly, Zn solubilization was assessed by inoculating 5 µL of bacterial suspension (10^8 cfu/mL) on Tris-minimal salts medium supplemented with 14 mM monoxide zinc (ZnO) as sole source of Zn, incubated for 14 days at 28 °C following the method of Fasim et al., (2002). The Zn solubilization index (ZnSI) was also calculated using formula (1). For all solubilization assays, control plates inoculated with sterile distilled water were incubated under the same conditions as the bacterial isolates and each assay was repeated twice.

8.3.3.3 Siderophores, indole-3-acetic acid and hydrogen cyanide production

Siderophores production was screened by the universal method of Schwyn and Neilands (1987) with some modifications adopted by Taktek (Taktek, 2015). Briefly, 25 mL tubes containing 10 mL of liquid iron-free medium were inoculated with 100 µL of fresh bacterial suspensions (10^8 cfu/mL). Cultures were incubated for 96 h in an incubator shaker (150 rpm at 28 °C), before supernatants were recovered by centrifugation for 10 min at 4 °C at 10000 rpm (MPW 260R centrifuge, MPW med. instruments, Poland). The amount of produced siderophores was quantified by spectrophotometer (UV-mini 1240, Shimadzu) according to Payne (1994) slightly modified by Taktek, (2015). Briefly, 500 µL of CAS/HDTMA solution (Chrome azurol S-hexadecyl-trimethylammonium bromide) was added to 500 µL of the supernatant and the optical density measured at 630 nm. Siderophores production (US) was calculated as follow:

$$\boldsymbol{US}(\%) = [(\boldsymbol{Ar} - \boldsymbol{As})/\boldsymbol{Ar}] \times \mathbf{100} \quad \textbf{(2)}$$

US: Unit of siderophores (expressed in percent), Ar: reference absorbance, As: sample absorbance.

Production of indole-3-acetic acid (IAA) was investigated on liquid Czapek medium supplemented with L-tryptophan (200 µg/mL) according to method described by Tsavkelova et al., (2005). 15 mL tubes containing 10 mL of this medium were inoculated with 20 µL of bacterial suspension (10^8 cfu/mL). After incubation for 72 h at 30 °C in an incubator shaker, supernatant was recovered by centrifugation at 4 °C as described above and 1 mL was supplemented with Salkowski reagent. IAA concentrations were estimated by measuring the optical density at 530 nm and quantified using a standard curve of commercial IAA.

Production of hydrogen cyanide (HCN) was assessed following the method of Wei et al., (1992). In brief, 100 µL of bacterial suspension (10^8 cfu/mL) was inoculated in Petri dish containing the YPGA solid medium (El kinany et al., 2017) supplemented with glycin. A disc of sterile Wathman paper soaked in picric acid solution was placed on the surface. Cultures

were incubated for 96 h at 28 °C and HCN production detected by a color change of the Wathman paper from yellow to reddish brown. For all production assays, uninoculated control plates were incubated under the same conditions as the bacterial isolates and each assay was repeated twice.

8.3.3.4 Motility by swarming

Motility is an important factor for dynamic evaluation of PGPRs and was assessed according to the method of Jahid et al., (2015). In brief, bacterial suspensions (10^8 cfu/mL) were inoculated (1.5 µL) in the center of nutrient agar plates and incubated for 48 h at 28 °C. The motility was estimated by measuring the diameter of migration.

8.3.4 Fusarium wilt control

The biocontrol effectiveness of our PGPR strains was assessed against a pathogenic strain of Foa, previously isolated and characterized (El Kinany et al., 2017a), following the co-culture method (Laslo et al., 2012). 100 µL of bacterial suspension (10^8 cfu/ml) was individually spread on the Czapek solid medium. In addition, a mycelial agar plug of 5 mm diameter from a 7-day-old culture of Foa was placed on the plate center. Cultures were incubated at 28 °C for 8 days and the inhibition rate (I) on mycelium growth by antagonistic PGPR strains was calculated as follows (Dihazi, 2012):

$$\mathbf{I\ (\%) = (}\boldsymbol{DC - DT / DC}\mathbf{) \times 100} \qquad \mathbf{(3)}$$

DC: fungal growth diameter in the control plate, DT: fungal growth diameter in plate containing the PGPR strain.

To check for mycelia alteration induced by antagonistic PGPR strains, a sample of mycelium was observed under a light microscope and characterized as described by Dihazi, (2012).

To assess the effectiveness of secondary metabolites produced by PGPR strains, the poisoned food technique based on the incorporation of supernatant into culture medium was adopted (Balouiri et al., 2016; Christhudas et al., 2015). Briefly, the supernatant of liquid bacterial cultures was centrifuged (6000 rpm for 15 min), filtered (0.22 µm) and incorporated in PDA solid medium with a concentration of 10 %. Mycelial agar plugs of 5 mm diameter from a 7-day-old culture of Foa were placed gently on the plate center and incubated at 28 °C for 6 days. Control plates without supernatant were treated similarly and the assay repeated twice. The inhibition rate was calculated using formula (3).

8.3.5 Enzymes activity

Chitinase activity was assessed by inoculating 10 µL of bacterial suspension (10^8 cfu/mL) on solid media containing colloidal chitin as sole source of carbon (Hsu and Lockwood, 1975;

Velusamy and Kim, 2011). Plates were incubated for 96 h at 28 °C and the chitinase activity index was calculated as the ratio of the total diameter (colony + halo zone) and the colony diameter. Amylase activity was assessed by inoculating 10 µL of bacterial suspension (10^8 cfu/mL) on solid media containing starch as sole source of carbon (Dinesh et al., 2015). Plates were incubated for 72 h at 28 °C and iodine solution was flooded on cultures and the effective isolates were surrounded by a discolored halo. The amylase activity index was calculated as described above. Cellulase activity was assessed based on the cellulose decomposition in the medium containing carboxymethyl cellulose as sole source of carbon and energy (Cattelan et al., 1999). 10 µL of bacterial suspension (10^8 cfu/mL) was inoculated on solid media as described above and incubated at 28 °C for 8 days. After incubation, 0.1 % of Congo red was spread on the plate surface for 15 min followed by washing with a 1 mM NaCl solution. Colonies showing a clear halo indicated the production of cellulase. To assess protease activity, Skimmed milk Agar was inoculated (Kumar et al., 2005), incubated for 72 h at 28 °C and protease activity index calculated as described above For all enzymes activity assays, control plates were inoculated with sterile distilled water and incubated under the same conditions as the bacterial isolates. Each assay was repeated twice.

8.3.6 Compatibility screening

Compatibility assays were conducted following the diffusion through agar method described by Balouiri et al., (2016) to select compatible PGPR strains for potential application in PGPR consortia. Based on the screening results, we tested twelve PGPR strains of our collection against each other by streaking 100 µL bacterial suspension (10^8 cfu/mL) of one isolate on YPGA media and placing an agar disk containing another 5 day-old-PGPR strain (from YPGA medium) on the center of the plate. After incubation for 72 h at 28 °C, the presence of an inhibition zone around the agar disc means antagonism between co-inoculated strains. For each assay, control plates was prepared by spreading the bacteria suspension without additional agar disc of another isolate.

8.3.7 Statistical analysis

Data were analyzed using one-way analyses of variance (ANOVA) followed by Duncan's multiple range test with a significance level of α=0.05. Normality of residuals was assessed by Shapiro-Wilk test. All analysis were made using SPSS software (V. 21).

8.4 Results and discussion

8.4.1 Soil properties

Physicochemical characteristics of soil samples are presented in table 18. All sites were mainly selected based on their contrasting properties. Most sites were characterized by a pH > 8 and low SOM concentrations (0.7 to 1.3 %) except of sites 5, 6 and 7, with SOM concentrations above 4.8 %. In these sites, where the agriculture system has been modernized, farmers use regularly a high amount of manure; about 50 kg per tree at least twice a year (personal communication). It is quite normal that their SOM rates were found to be very high compared to other sites where farmers rarely use very low amounts of manure (Bouamri, 2006).

Most sites contain more than 44 % of sand, especially sites 3 and 4 with 61.2 and 70.2 % respectively. Sites 5, 6 and 7 contained the lowest percentage of sand (31 %) but the highest percentage of clay (31 %). The non-agriculturally managed sites hosting the spontaneous plants (site 1 and 2) were characterized by low Olsen P concentrations. Especially, both sites were selected due to their marginal soil properties such as low SOM and nutrient concentrations as described earlier (El hafyani et al., 2019; Mainguet et al., 2011b) with the goal to isolate extremely adapted PGPR strains. Soil properties of sites 3 and 4 were similar to those previously described in Tafilalet oasis ecosystem where soils are poor in term of SOM and mineral nutrient concentrations (Bouamri et al., 2014). Similarly, Sghir et al., (2014) observed a pH of 8.2 in site 3 and 8.3 in site 4 and P concentrations ranging from 8 ppm (site 4) to 61 ppm (site 3).

Table 17: Coordinates of sampling sites, their management systems and associated plant species in oases.

Site N°	Coordinates	Management system	Plant species
1	31°42'28.2"N4°08'19.8"W	Non cultivated	*Retama blanca*
2	31°42'28.2"N4°08'19.8"W	Non cultivated	*Zizyphus lotus*
3	31°47'21.9"N4°14'39.0"W	Traditional plantation	*Phoenix dactylifera*
4	31°51'33.2"N4°16'13.5"W	Traditional plantation	*Phoenix. dactylifera*
5	31°41'15.0"N4°54'32.4"W	Modern plantation	*Phoenix dactylifera*
6	31°41'16.0"N4°54'40.5"W	Modern plantation	*Phoenix dactylifera*
7	31°41'12.4"N4°54'36.3"W	Modern plantation	*Phoenix dactylifera*

Table 18: Soil characteristics for sampling sites. Data present mean ± standard deviation (n=3)

Site N°	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	pH	SOM[a] (%)	P[b] (µg/g)
1	45.2 ± 1.8	40.2 ± 1.4	15.6 ± 1.1	8.2 ± 0.2	0.69 ± 0.13	12.4 ± 1.2
2	44.5 ± 1.9	40.2 ± 1.6	15.6 ± 0.9	8.3 ± 0.2	0.70 ± 0.17	12.5 ± 1.2
3	61.2 ± 1.1	29.5 ± 1.0	9.2 ± 0.3	8.2 ± 0.2	1.27 ± 0.03	24.4 ± 1.1
4	70.2 ± 1.3	23.3 ± 1.5	6.4 ± 0.7	8.3 ± 0.3	1.06 ± 0.07	32.4 ± 0.8
5	31.0 ± 0.6	11.7 ± 0.7	31.4 ± 1.0	8.1 ± 0.1	4.90 ± 0.18	37.4 ± 0.6
6	31.0 ± 0.8	11.8 ± 0.6	31.4 ± 1.1	8.2 ± 0.1	4.81 ± 0.24	37.4 ± 0.3
7	31.2 ± 1.7	11.8 ± 0.9	31.4 ± 1.1	8.2 ± 0.2	4.83 ± 0.30	37.3 ± 0.8

[a] Soil Organic Matter, [b] Phosphorus (Olsen). Data present means of three replicate of rhizosphere soil samples from each sampling sites.

8.4.2 PGPR isolation

Isolation and purification of PGPRs yielded a total of 33 strains (table 19). Twenty-six (78 %) strains were isolated from date palm rhizosphere of sites 5, 6 and 7, two strains (6 %), M09 and M024 were isolated form sites 3 and 4 respectively, and five (15 %) strains were associated with the spontaneous plants *R. blanca* and *Z. lotus* of site 1 and 2. We found the majority of PGPR strains associated with date palm cultivated under modern agricultural management which involves the application of manure. Other studies have already shown that the application of manure promotes the occurrence of PGPR (Sun et al., 2014). On the one hand, this is due to the direct input of PGPR coming along with the manure, on the other hand, by providing food for the native PGPRs which promotes their proliferation and diversity (Xu et al., 2018). Similarly**,** Ferjani et al., (2015) have shown that organic fertilization positively affect PGPR abundance in the rhizosphere of date palm. They investigated PGPRs distribution in seven date palm plantations under traditional management in Tunisia which involves organic fertilization. Indeed, using three different cultivation media, TSA (Tryptic Soy Agar), YEM (Yeast Extract Mannitol), and King' B, they were able to recovered 440 PGPR strain**.** Similarly, Shanthpure et al., (2019) observed that organic fertilization increased the population of rhizobacteria like *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Bradyrhizobium* in a long-term fertilization experiment comparing organic and inorganic fertilizers. In contrast**,** Choubane et al., (2016), who studied PGPR abundance in date palm plantations at a unique site in Oran (Bir El Djir)**,** Algeria, where SOM levels are low, recovered only 18 isolates using Nutrient Agar media**.** The abundance of PGPRs depends strongly on the fertilization regime, but also on other factors such as the host plant species, its nutritional status, and plant age (O'Brien et al., 2018; J. Zhang et al., 2019).

8.4.3 Screening of plant growth-promoting traits

8.4.3.1 Nitrogen-fixation and ammonia production

We observed that 32 strains were effective in N fixation **(**97 %) (table 19) except of strain *M09* isolated from site 3. 25 N-fixing PGPR strains (75%) were associated with date palm at sites 5, 6 and 7, while, only one isolate, *M024*, was isolated from site 4 (table 19). The others were isolated from spontaneous plant rhizospheres (site 1 and 2). In contrast, El-Sayed et al., (2014) who isolated rhizobacteria from the rhizosphere of *Capparis spinosa*, *Tribulus terrestris, Citrullus colocynthis, Tamarix amplexicaulis, Glinus lotoides* and *Notoceras bicorne* grown in an arid region of Saudi Arabia, recovered only eight strains (18 %) with the potential for N fixation. Similarly, Mehnaz et al., (2010) observed that only nine rhizobacteria (28 %) were able to fix N using the acetylene reduction assay (nitrogenase activity) in the rhizosphere soil

of sugarcane in Pakistan. Besides N fixation, we observed twelve of our strains being able to produce ammonia. The concentrations of ammonia produced statistically different between all our strains ($p < 0.0001$ and $F = 9341.47$) and ranged from 0.2 to 3.0 µmol/mL with the highest concentration observed for *M015* (table 19). Ammonia is essential for different biological processes and serves as a precursor for amino acid and nucleotide synthesis (Howeell, C.R et al., 1988). Ferjani et al., (2015) have shown that ammonia production is the second most abundant trait found in rhizobacteria associated with the root system of date palm cultivated in seven oases in Tunisia. In addition, Laslo et al., (2012) reported that 37 PGPR from a total of 47 isolates produced ammonia.

8.4.3.2 Screening of phosphorus, potassium and zinc solubilization

Phosphorus availability in the soil is a key factor for plant nutrition and growth. However, calcium phosphate which is formed when calcium is highly dominant in soils, as particularly found in arid ecosystems (Bouamri et al., 2014), is not plant available. Thus, its solubilization by PGPRs is a valuable trait in the alkaline soils of date palm plantations. Among our collection, 90 % of our strains were able to solubilize tricalcium phosphate with PSI ranging from 0.6 (*M016*) up to 2.1 (*M010*) ($p < 0.0001$ and $F= 3697.11$) (table 19). Quantitative analyzes in liquid media revealed that P solubilization significantly (Annex 2) differed among strains ($p < 0.0001$ and $F = 4272.34$) and ranged from 2.8 to 591.8 µg P/mL released by *M016* and *M010*, respectively. Few strains like *M012, M013* and *M014* could only solubilize P in liquid medium but not on solid medium. This might be due to low diffusion rates of organic acids secreted by those strains on solid media as already described by Johnston and Freiser (1952). As reported by Oliveira et al., (2009) as well as Bhattacharyya and Jha (2013), mechanisms by which PGPRs solubilize phosphate include the production of organic acids, phytases and phosphatases. Fankem et al., (2006) isolated ten PGPR strains from the rhizosphere and root fragments of oil palms in Cameroun and observed highest PSI of 2.33, 2.48 and 2.40 when using Nutrient Agar amended with calcium phosphate (Ca3(PO4)2), aluminium phosphate ($AlPO_4$) and iron phosphate ($FePO_4$) as sources of inorganic phosphate respectively (Fankem et al., 2006). Besides, it was shown that phosphate solubilizing-bacteria are more abundant in the rhizosphere zone of Salix alba as compared to bulk soil zone (Chatli et al., 2008). In addition, this study showed that the PSI and soluble P-concentration strongly depended on the media used for PGPR screening and that the best medium for P solubilization and quantification is the NBRP and MPVK (modified Pikovskaya) medium.

Besides P, also K availability is often very limited under marginal soil conditions. Among our collection, 17 strains (51 %) were effective in K solubilization. Indexes significantly (Annex 2)

differed among strains ($p < 0.0001$, $F= 3766.027$) and ranged from 1.0 (*M09*) to 2.7 (*M026*) (table 19). It has been shown that K solubilization by PGPR in Aleksandrov medium was dependent on the pH-value of the medium and the K source i.e. aluminum potassium silicate ($AlKO_6Si_2$) or kaolin (Sheng and He, 2006). Thus, the lack of K solubilization by some strains might be due to potentially suboptimal conditions for the respective strains or by limited release rates of organic acids into the solid medium as reported previously (Nautiyal, 1999). In addition, using the same medium (Aleksandrov medium) and waste mica as sole K mineral, researchers have isolated twelve effective PGPR (among 30 isolates) from maize, banana, sugarcane, potato, pigeon pea, and tobacco (Meena et al., 2015). Setiawati and Mutmainnah (2016), who isolated PGPR strains from sugarcane rhizosphere observed that 15 out of 45 strains were able to solubilize K using different K sources (Feldspar, trachyte, Leucite Pati, Leucite Situbondo). The authors reported about highest KSI of more than four on Aleksandrov medium supplemented with different K sources; Feldspar, leucite or trachyte, and claimed that the KSI greatly depend on the mineral source and PGPR strains.

A high quantity of inorganic Zn in soils is converted into unavailable forms such as zinc oxide (ZnO) or zinc phosphate [$Zn3(PO_4)_2 \cdot 4H_2O$] (Goteti et al., 2013; Iqbal et al., 2010). Hence, inoculation of Zn solubilizing PGPRs into the rhizosphere to increase Zn assimilation and growth of crop plants has proven to be promising (Iqbal et al., 2010). In our study, we recovered six strains (18%) effective in ZnO solubilization, all isolated from date palm rhizosphere of modern plantations (sites 5, 6 and 7). Solubilization indexes differed between strains ($p < 0.0001$, $F=17713.67$) and ranged between 2.3 (*M017*) and 3.1 (*M08*). Yaish et al., (2015) who studied endophyte communities of date palms in Oman, observed that strains isolated from four soil samples were able to solubilize K from mica and Zn from ZnO and could enhance root elongation of canola under salt stress as well. Manasa S. G. et al., (2019) isolated 40 zinc solubilizing PGPR using a TMA medium (TRIS-minimal agar medium) supplemented with ZnO (0.1%) with a maximum ZnSI of 21 mm). In India, eight Zn- and four K-solubilizing rhizobacteria (from a total of 14 isolates) were isolated from maize, rice and cotton rhizosphere using ZnO and aluminum potassium silicate as mineral sources (Dhaked et al., 2017). A study conducted in Saudi Arabia reported about 37.63% of rhizobacteria associated with the rhizosphere and rhizoplane of elven spontaneous plants to be able to solubilize Zn from ZnO (El-Sayed et al., 2014).

8.4.3.3 Siderophores, IAA and HCN production and swarming motility

The role of siderophores in plant growth promotion and control of fungal diseases was previously described (Ahmed and Holmström, 2014; Kumar et al., 2018; Oldal and Jevcsák,

2002; Verma et al., 2011). When iron is limited, the secretion of siderophores by PGPRs can promote plant growth under stressful conditions (Silva et al., 2015). Since the majority of PGPRs produce siderophores possessing a high affinity to plants, they can protect these plants in a preventive way against a wide range of pathogens (Oldal and Jevcsák, 2002). Among our collection, 30 strains were able to produce siderophores (table 19), and significantly (Annex 3) differed regarding their production rates ($p< 0.0001$, $F = 8.212$) and ranged between 11.9 % (*M018*) and 61.9 % (*M015*). Similarly, in the southern region of Tunisia, where aridity is one of the the major factors that strongly influencing the functionality and diversity of rhizobacteria associated with date palm, researchers showed that siderophores production is the fourth common trait in PGPR (Ferjani et al., 2015). Siderophore production rates ranged from 20 to 62 % depending on the site characteristics from where the PGPR strains were isolated from. Similarly, El-Sayed et al., (2014) have that spontaneous plants in arid regions of Saudi Arabia are niches for siderophore producing rhizobacteria. Their PGPR strains possessed siderophore production rates ranging between 10 % and 64 % depending on the sampling sites. Differences between PGPRs in term of siderophores production, might depend on environmental conditions of the sampling site such as climate, soil properties and crop species as well as on the genus and PGPRs species (Jayaprakashvel et al., 2014).

Indole-3-acetic acid is one kind of auxin that is responsible for division, extension, and differentiation of plant cells and tissues and stimulate seed germination, control processes of vegetative growth, tropism, florescence, and fructification of plants (Cohen and Bandurski, 1982). In this work, 32 PGPR strains were able to produce IAA (table 19). Production of IAA significantly (Annex 8) differed between strains ($p < 0.0001$ and $F = 4375.29$) and ranged between 3.8 and 61.8 µg IAA/mL with *M020* being the most productive PGPR strain. Studies investigating IAA production in rhizobacteria associated with plants growing in arid regions of India showed that IAA amounts produced did not exceed 42 µg IAA /mL (Ali et al., 2015; Verma et al., 2011). In another study, the *Pseudomonas fluorescens* 002 (P.f.002 strain), associated with date palms growing in the in Algerian Sahara (Ghardaia region) was characterized as an IAA producing PGPR. In contrast to our PGPR strains P.f.002 was only able to produce IAA concentrations of 1.05 µg/mL when it was incubated in the Czapek medium amended with 1mM Tryptophan for 24h at 30 °C (Zerrouk et al., 2016). One reason for the high IAA concentration observed for some of our PGPR strains might have resulted from the longer incubation period of 72 h compared to 24 h and/or the higher Tryptophan concentration added to the Czapek media ($98. 10^4$ nM). According to Tsavkelova et al., (2005),

Tryptophan concentration as applied in our study and an incubation temperature of 30 °C the optimal conditions to test for IAA production.

The production of HCN was low to moderate for all productive strains (15%). *M010* and *M013* isolates showed the highest HCN production as reflected by the higher color intensity of the Wathman paper (table 20). Similarly, El-Sayed et al., (2014) observed that only 6.5 % of their PGPRs strains were able to produce HCN in TSA media supplemented with glycine and picric acid and that their efficiency was related to plant species and microhabitat from which they were isolated from. This low number of effective isolates could be due to extreme climatic conditions such as reported by Kavamura et al., (2013) who could not detected any HCN producing strain among cacti-associated rhizobacteria isolated from Brazilian semi-arid regions. It has been suggested that the limited availability of the amino acid glycine in the rhizosphere of study plants could be the reason for the low abundance of HCN producing rhizobacteria (Mehnaz et al., 2010). This might also be the reason why we only observed few PGPR strains able to produce HCN. The production of volatile compounds, including HCN is an important trait PGPRs and contribute to the control of phytopathogens by blocking the transfer of electrons and altering the functioning of cytochrome oxidase in the respiratory chain and the energetic potential of pathogens (Majumdar and Chakraborty, 2015). Thus, such PGPR strains can effectively compete with root pathogens and consequently improve plant growth. (Ramyabharathi and Raguchander, 2014).

Swarming motility is another important factor to select for PGPR strains with a higher motility for a more effective colonization of the rhizosphere (Motaher and Farjana, 2018). Screening of swarming motility (table 20) revealed that 27 isolates (81%) showed different efficiencies of movement on semi-solid medium ($p < 0.0001$, $F = 3293.63$). Strains *M013*, *M08*, *M01* and *M021* were the most mobile ones reaching 86.2, 86.3, 85.5 and 85.5 mm diameter respectively, while *M05* was the slowest one reaching only 7.5 mm. However, the motility depend generally on the type of mobility agents, its disposition as well as involved genes or proteins such as proved in mutant strains of *Pseudomonas aeruginosa* which loss their motility (Merritt et al., 2007; Overhage et al., 2007). Similarly, Chebotar et al., (2001) described that the motility depends on the PGPR species and the mobility agent used for the assay.

Table 19: Results of plant growth-promoting traits for all PGPR strains.

Isolate	Site	N-fix[c]	NH_3 [d] (µmol/ml)	PSI [e]	P (µg/ml)	KSI [f]	Sid (%) [g]	IAA (µg/ml)[h]	ZnSI [i]
M01	5	+	2.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	185.5 ± 2.7	Nd	22.6 ± 2.1	31.4 ± 0.3	3.1 ± 0.1
M02	7	+	Nd	1.2 ± 0.1	359.6 ± 1.7	Nd	42.1 ± 2.4	42.1 ± 1.1	Nd
M03	5	+	Nd	1.9 ± 0.1	357.6 ± 2.8	Nd	15.0 ± 1.5	4.7 ± 0.1	Nd
M04	2	+	2.2 ± 0.1	1.6 ± 0.1	258.8 ± 4.5	1.6 ± 0.2	33.1 ± 1.6	39.7 ± 0.3	Nd
M05	1	+	0.2 ± 0.1	1.8 ± 0.1	385.9 ± 2.9	1.6 ± 0.3	29.9 ± 2.1	13.4 ± 0.1	Nd
M06	5	+	Nd	1.9 ± 0.2	258.4 ± 3.9	1.4 ± 0.1	40.0 ± 1.0	16.8 ± 0.2	Nd
M07	5	+	Nd	1.7 ± 0.1	320.2 ± 1.5	Nd	36.2 ± 1.8	9.7 ± 0.2	Nd
M08	5	+	2.2 ± 0.1	1.8 ± 0.1	313.5 ± 2.2	Nd	33.0 ± 1.0	16.2 ± 0.1	3.1 ± 0.1
M09	3	0	Nd	1.7 ± 0.2	455.8 ± 1.9	1.0 ± 0.1	28.1 ± 2.6	14.4 ± 0.3	Nd
M010	5	+	2.5 ± 0.1	2.1 ± 0.1	591.8 ± 1.5	2.2 ± 0.2	50.9 ± 4.8	40.8 ± 0.2	Nd
M011	7	+	Nd	1.3 ± 0.1	158.4 ± 1.7	Nd	40.2 ± 0.2	7.6 ± 0.1	Nd
M012	7	+	2.6 ± 0.1	Nd	58.5 ± 2.5	Nd	12.6 ± 2.1	22.4 ± 0.3	Nd
M013	6	+	1.9 ± 0.1	Nd	98.7 ± 2.7	1.9 ± 0.1	24.3 ± 0.5	4.2 ± 0.1	Nd
M014	2	+	1.8 ± 0.1	Nd	70.3 ± 1.6	1.5 ± 0.2	22.5 ± 1.8	8.3 ± 0.1	Nd
M015	6	+	3.0 ± 0.1	1.6 ± 0.1	319.0 ± 1.9	1.5 ± 0.4	61.9 ± 4.0	4.9 ± 0.1	Nd
M016	7	+	Nd	0.6 ± 0.1	2.8 ± 0.1	Nd	44.7 ± 2.1	32.4 ± 0.1	Nd
M017	7	+	Nd	1.6 ± 0.1	170.3 ± 2.2	1.4 ± 0.2	21.9 ± 2.7	3.8 ± 0.1	2.3 ± 0.1
M018	2	+	Nd	1.4 ± 0.1	392.2 ± 1.7	1.1 ± 0.1	11.9 ± 2.1	21.0 ± 0.5	Nd
M019	6	+	1.9±0.1	1.2 ± 0.2	384.2 ± 2.2	1.8 ± 0.3	35.9 ± 4.4	27.3 ± 0.1	Nd
M020	6	+	2.0±0.1	1.9 ± 0.1	311.8 ± 1.4	Nd	53.7 ± 5.3	61.8 ± 0.1	Nd
M021	5	+	Nd	1.7 ± 0.1	4.9 ± 0.6	2.7 ± 0.2	14.7 ± 0.9	46.5 ± 0.3	Nd
M022	7	+	Nd	1.2 ± 0.1	191.9 ± 3.0	Nd	44.6 ± 2.3	6.3 ± 0.2	Nd
M023	7	+	Nd	1.4 ± 0.1	192.3 ± 2.1	1.2 ± 0.1	56.6 ± 1.3	41.3 ± 0.1	2.7±0.1
M024	4	+	Nd	1.9 ± 0.1	467.7 ± 1.6	Nd	46.2 ± 0.6	4.3 ± 0.1	Nd
M025	6	+	2.1±0.1	1.8 ± 0.1	242.7 ± 2.4	Nd	53.2 ± 3.1	30.3 ± 0.5	Nd
M026	7	+	Nd	1.4 ± 0.1	261.8 ± 1.6	2.7 ± 0.1	35.3 ± 1.4	46.8 ± 0.1	Nd
M027	7	+	Nd	1.6 ± 0.2	245.7 ± 2.2	Nd	35.8 ± 1.4	4.4 ± 0.2	Nd
M028	7	+	Nd	1.3 ± 0.2	22.9 ± 0.9	2.6 ± 0.2	48.5 ± 0.6	12.1 ± 0.1	Nd
M029	5	+	Nd	1.6 ± 0.1	312.6 ± 1.3	2.6 ± 0.3	25.5 ± 1.5	4.5 ± 0.1	2.9±0.1
M030	2	+	Nd	1.5 ± 0.3	Nd	Nd	59.8 ± 4.1	4.5 ± 0.1	Nd
M031	5	+	Nd	Nd	Nd	1.9± 0.1	Nd	10.8 ± 0.1	2.5±0.1
M032	7	+	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
M033	5	+	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	51.7 ± 0.1	Nd

[c] Nitrogen fixation, [d] Ammonia production, [e] P- solubilization index, [f] K- solubilization index, [i] Zn-solubilization index, [g] Siderophores production, [h] Indole 3-Acetic Acid. Data present mean ± standard deviation, n= 6; +, fixation; Nd = non-detected.

Table 20: Results of antifungal and enzymatic activities for all PGPR strains.

Isolate	Site	HCN [j]	Motility (mm)	IR (%) [l]	SI (%)[m]	Amylase [n]	Cellulase [o]	Chitinase [p]	Protease [q]
M01	5	Nd	85.5 ± 0.5	39.3 ± 2.2	41.3 ± 1.0	Nd	Nd	Nd	+
M02	7	Nd	65.3 ± 0.7	100 ± 0.0	54.2 ± 3.9	Nd	Nd	Nd	Nd
M03	5	Nd	55.2 ± 0.2	77.5 ± 1.2	61.7 ± 0.8	Nd	Nd	Nd	Nd
M04	2	Nd	20.8 ± 0.1	87 ± 0.5	48.5 ± 1.5	1.7 ± 0.1	3.3 ± 0.0	Nd	+
M05	1	Nd	7.5 ± 0.5	26.6 ± 1.9	55.6 ± 5.2	Nd	Nd	Nd	Nd
M06	5	+	76.5 ± 0.5	36.67 ± 2.6	31.9 ± 1.7	Nd	Nd	Nd	Nd
M07	5	Nd	Nd	Nd	26.4 ± 2.1	Nd	Nd	Nd	Nd
M08	5	Nd	86.3 ± 0.7	100 ± 0.0	9.0 ± 0.7	Nd	Nd	1.4±0.2	Nd
M09	3	Nd	60.7 ± 0.2	Nd	57.9 ± 1.0	1.7 ± 0.1	Nd	Nd	++
M010	5	++	52.6 ± 0.5	100 ± 0.0	51.2 ± 1.6	Nd	Nd	Nd	+
M011	7	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
M012	7	Nd	68.9 ± 0.2	100 ± 0.0	50.0 ± 1.4	Nd	1.6 ± 0.1	Nd	Nd
M013	6	++	86.2 ± 0.2	63.5 ± 0.3	26.4 ± 2.3	1.3 ± 0.01	1.9 ± 0.2	Nd	Nd
M014	2	Nd	67.5 ± 0.5	48.8 ± 0.3	66.0 ± 0.7	1.3 ± 0.1	3.2 ± 0.1	Nd	Nd
M015	6	Nd	54.9 ± 0.1	100 ± 0.0	44.4 ± 1.4	nd	Nd	Nd	+
M016	7	Nd	67.1 ± 0.5	6.5 ± 0.5	25.3 ± 1.7	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.2	Nd	Nd
M017	7	Nd	37.3 ± 0.5	100 ± 0.0	20.3 ± 0.5	Nd	1.8±0.1	Nd	Nd
M018	2	Nd	37.2 ± 0.2	100 ± 0.0	29.2 ± 1.4	Nd	nd	Nd	Nd
M019	6	+	72.2 ± 0.2	87.6 ± 0.7	15.3 ± 0.4	Nd	2.3± 0.01	Nd	Nd
M020	6	Nd	20.5 ± 0.5	54.5 ± 2.3	51.2 ± 0.6	Nd	Nd	Nd	Nd
M021	5	Nd	85.5 ± 0.5	100 ± 0.0	32.8 ± 0.8	Nd	Nd	1.4 ± 0.1	+
M022	7	Nd	77.0 ± 0.7	100 ± 0.0	57.1 ± 0.2	2.7 ± 0.3	3.8 ± 0.2	Nd	Nd
M023	7	Nd	64.0 ± 0.1	100 ± 0.0	52.1 ± 0.7	Nd	Nd	Nd	Nd
M024	4	Nd	44.7 ± 0.7	100 ± 0.0	28.1 ± 0.3	Nd	Nd	Nd	++
M025	6	+	34.2 ± 0.2	100 ± 0.0	09.4 ± 1.0	Nd	Nd	Nd	+
M026	7	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
M027	7	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
M028	7	Nd	32.3 ± 0.5	94.1 ± 0.5	16.0 ± 0.7	Nd	Nd	Nd	Nd
M029	5	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	+
M030	2	Nd	31.5 ± 0.5	100 ± 0.0	65.5 ± 1.1	1.7 ± 0.1	3.4 ± 0.1	Nd	Nd
M031	5	Nd	81.5 ± 0.5	47.6 ± 2.0	29.9 ± 0.7	Nd	nd	2.7 ± 0.2	Nd
M032	7	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	nd	Nd	Nd
M033	5	Nd	24.5 ± 0.5	100 ± 0.0	51.0 ± 1.7	1.4 ± 0.1	2.3 ± 0.1	Nd	+

[j] Hydrogen cyanide production, [k] Swarming motility [l] inhibition rate by antagonism, [m] inhibition rate by supernatant (secondary metabolites) [n] Amylase index, [o] Cellulase index, [p] Chitinase index and [q] Protease production. Data present mean ± standard deviation, n = 4. ++, high production; +, moderate production; Nd= non-detected

8.4.4 Fusarium wilt control

Among our culture, 26 strains (78.8 %) exerted antifungal activity against Foa on solid media (table 20) with significant (Annex 16 and 17) differences between the strains ($p < 0.0001$, $F = 844.81$). Fourteen isolates (42.4%) showed an inhibition rate (IR) of 100 % including *M017*, *M018*, *M021* and *M030*. All strains associated with spontaneous plants (sites 1 and 2) had an inhibitory effect on Foa with two strains which completely inhibited its growth. Inhibition rates (IR) observed for other PGPR stains ranged between 6.5 (*M016*) and 94.1% (*M028*). In parallel, we could also observe some cytological alterations (e.g vacuolization, enlargement and swelling) of Foa mycelia co-inoculated with some antagonistic PGPR strains without reported

results. Using the supernatant of our cultures we observed 28 of our PGPRs (84.9 %) to inhibit the growth of Foa mycelia (table 20) with a significant difference (Annex 18 and 19) in efficiency between the strains ($p < 0.0001$, $F = 227.06$). The supernatant of *M014* and *M030*, originally associated with *Zizyphus lotus* showed the highest inhibition rates (SI) of more than 65 %. However, *M025*, *M08* and *M028* exerted growth inhibition rate less than 16 %. Similarly, El Arbi et al., (2016) isolated PGPRs associated with date palm grown in the oasis ecosystem in Tunisia and screened their biocontrol potential against Foa. In their study, only two *Bacillus* spp. effectively inhibited Foa growth most likely due to the production of surfactin, fengycin or iturin. In addition, siderophores, HCN and enzyme production are other mechanisms by which PGPRs can antagonize fungal pathogens (Geetha et al., 2014; Vejan et al., 2016). Adesina et al., (2007) showed that 11.5 % of bacteria isolated from soils known for their suppressive effect against phytopathogens, were effective for *in vitro* inhibition of *F. oxysporum*. These antagonist bacteria were isolated from six locations in Europe (France, Germany/ Berlin, Germany/ Braunschweig, Netherlands and United Kingdom) and have been shown as sidérophore and lytic enzymes (chitinase, cellulase and protease) producing (Adesina et al., 2007). Other research showed that six rhizobacteria from 14 isolates associated with maize plants were able to inhibit *Fusarium verticillioides*, a pathogenic fungus of *Z. mays* in Benin. The highest inhibition rate was only 52.24% on the PDA medium (Potato Dextrose Agar) using the dual culture method (Pacome et al., 2015). On the other hand, all rhizobacteria isolated from rhizosphere of common bean were screened for their ability to inhibit plant pathogenic fungi and have been shown effective in term of inhibition rate on medium containing 1:1 ratio of potato dextrose agar (PDA) and nutrient agar medium (NAM). These rates reached a maximum of 65.91% for *F. oxysporum* and 64.38 % for *F. solani* (P. Kumar et al., 2012).

8.4.5 Enzymes activities and compatibility

Amylase production was detected in eight strains (24 %) which differed significantly (Annex 10 and 11) in their efficiency ($p < 0.0001$, $F=175.04$). *M022* exhibited the highest activity with an index of 2.7, while *M014* and *M013* had the lowest activity with an index of 1.3 (table 20). Besides, three isolates (9 %) were able to produce chitinase with a significant difference (Annex 12 and 13) in term of their efficiency ($p < 0.0001$, $F = 1795.11$). The highest index of 2.7 was observed for *M031* and the lowest index of 1.3 for *M08*. Cellulase activity was detected in five strains which differed significantly (Annex 14 and 15) in their efficiency ($p < 0.0001$, $F=2714.50$) with indexes ranging from 1.1 to 3.8 and *M022* being the most efficient strain. Protease activity was detected in eleven strains (32 %) with *M024* and *M09* being more efficient

as compared to the other strains. All these enzymatic activities are important for the characterization of PGPRs and represent fundamental functions of biocontrol agents and plant growth promoters (G. Kumar et al., 2012; Siala et al., 2016). Amylase has been considered a plant growth-promoting trait, as it hydrolyzes starch and thus provides energy for the growth of root and shoots (Majumdar and Chakraborty, 2015). In Oran (Algeria), rhizosphere of some plants species, including date palm and carob tree were sampled and 18 amylase producers were found to be associated with date palm with an index ranged between 1.65 and 2.16 (Choubane et al., 2016). Besides, Siala et al., (2016) investigated endophytic bacteria in Jouli oasis in Tunisia isolated from roots and shoots of date palms grown in soils possessing similar characteristics than ours located. In contrast to our results, most of their PGPR strains proved to be effective in terms of amylase (38.46%), protease (69.23%) and cellulase (76.92%) activity. A study conducted in seven oases of Tunisia, observed that the efficiency of cellulase and protease activity of PGPR strains isolated from date palms were closely related to the sampling site and the PGPR species (Ferjani et al., 2015). Another study conducted in the arid region of Saudi Arabia, showed that protease activity was the most commonly shared enzymatic trait between all isolated PGPR strains (23.7 %), followed by chitinase activity (13.9 %) and cellulase activity (10.7 %) (El-Sayed et al., 2014). These functional traits might represent crucial factors to control against fungal pathogens in the rhizosphere and thus to promote plant growth. Indeed, when enzymatic activities (cellulase and laminarinase) and the population of pathogen *Phytophtora cinnamomi* were measured in upper and lower soil depths of 15 cm, enzyme activities were positively correlated with the population of saprophytic fungi and negatively with the population of *Phytophtora cinnamomi* (causal agent of Rot Root disease) and rot incidence in root of avocado (Downer et al., 2001). Similarly, it was found that *Bacillus amyloliquefaciens* that synthesized proteases exerted a direct inhibitory effect on fungal growth, including *Fusarium oxysporum* species, by degrading fungal cell walls (Guleria et al., 2016; Majumdar and Chakraborty, 2015).

Finally, compatibility tests are a crucial trait to select efficient PGPR strains, which will be combined in consortia to be used in greenhouse and/or field experiments. Among twelve PGPRs strains, 10 combinations have showed antagonism on solid media as revealed by an inhibition zone between incompatible strains (table 21). These inhibitory effects of bacteria toward each other could be due to the secretion and diffusion of antibacterial substances such as antibiotics (Hossain and Rahman, 2014), bacteriocins, organic acids (Ebrahimipour et al., 2011), cyanide hydrogen, siderophores or enzymes (Pacome et al., 2015) .

Table 21: Compatibility of twelve rhizobacteria. NC= incompatible combination; C= compatible combination.

Strains	*M01*	*M04*	*M05*	*M010*	*M012*	*M013*	*M014*	*M015*	*M019*	*M020*	*M025*	M08
M01												
M04	C											
M05	C	C										
M010	C	NC	C									
M012	C	NC	C	C								
M013	NC	C	C	C	C							
M014	C	C	C	C	C	C						
M015	C	C	C	C	NC	C	C					
M019	C	C	C	NC	C	C	C	C				
M020	C	C	C	NC	NC	NC	C	C	NC			
M025	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C		
M08	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	NC	

8.5 Conclusions

A collection of PGPR strains was recovered from the rhizosphere of date palms and spontaneous plants of Tafilalet oases under stressful conditions (salinity, drought, alkaline soil...). A series of plant growth promotion and biocontrol traits against Fusarium wilt disease were investigated to functionally characterize PGPR strains potentially adapted to the harsh conditions of arid oases ecosystems. Screening have revealed the richness of efficient PGPR in term of nutrient solubilization as well as IAA, siderophores, ammonia and enzymes production. In addition, we observed that the majority of our PGPR strains efficiently antagonized the growth of Foa via competitions and antibiosis and that 42% even completely inhibited its growth. Based on these results, consortia of four efficient PGPRs, *M08, M010, M025* and *M013,* with contrasting plant growth and biocontrol traits can be assembled for *in vivo* inoculations to further test their efficiency in pot trials and assess their effects on date palm growth and/or its protection against *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

8.6 Acknowledgement

This work was partly supported by the r4d project: ‘‘Application of organic bio-fertilizer technology to improve the sustainability of date palm production and cultivation with the grand number IZ07Z0_160904” funded by the r4d program. It is a Swiss Program for Research on global Issues for Development, a partnership of the Swiss Agency for Development and Cooperation and the Swiss National Science Foundation.

Chapitre 5:

Effets du compost, des champignons mycorhiziens arbusculaires et des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes sur les propriétés physico-chimiques du sol, la croissance et la nutrition du palmier dattier cv. Boufeggous

Résumé

Introduction et problématique

Depuis le lancement du Plan Maroc Vert (2008), la filière du palmier dattier a connu de profonds changements. Tout d'abord, le programme de plantation de 3 millions pieds sur la région Drâa-Tafilalet a beaucoup progressé ; il reste seulement 3000 pieds à planter au cours de l'année 2020 (MAPMDREF, 2019). De plus, la production dattière nationale a augmenté de 41% avec une superficie cultivée de 63 000 ha (MAPMDREF, 2019). Toutefois, cette extension de la palmeraie dans l'écosystème fragile comme celle de Tafilalet est menacée par de multiples contraintes de nature climatique et/ou pédologique à savoir la désertification, la salinité de l'eau et du sol, la structure et les caractères physico-chimiques du sol, la faible activité biologique, des taux faibles en matière organique et en éléments minéraux et des taux élevés de calcaire. Les agriculteurs ont par conséquent fait recours à des doses hyper-élevées de fertilisants de synthèse chimique dont la plupart ne sont que partiellement assimilables et ont des effets néfastes aussi bien sur la santé humaine que sur la fertilité et l'activité biologique du sol. La mise en place d'une stratégie biotechnologique devient nécessaire afin de combler les pertes de nutriments, d'atténuer l'impact de la salinité, d'augmenter le taux de matière organique dans le sol, d'améliorer la structure, les propriétés physico-chimiques et l'activité biologique de ce dernier. Ainsi, les objectifs de ce chapitre consistent à évaluer l'effet d'un compost, de CMA et d'un consortium de bactéries (PGPR), isolées, criblées et sélectionnées (chapitre 3), sur les propriétés physico-chimiques du sol, la nutrition minérale et la croissance des vitro-plants du palmier dattier de la variété « Boufeggous » sous conditions contrôlées.

Matériels et méthodes

Au total, 108 vitro-plants du même lot, en stade d'acclimatation, ont été importés du Laboratoire de la culture *in vitro* (Oasis Biotechnologie, Erfoud). Elles ont fait l'objet de 18 traitements avec un témoin contenant le substrat de base stérile (sol sablonneux) seul (chapitre 2). Deux composts, CA et CB ont été utilisés ; le taux de la matière organique de CB étant presque le double de celle de CA (table 22).

En outre, deux types d'inoculum de CMA ont été évalués ; AMF1 (consortium de 4 souches autochtones) précédemment isolées et identifiées (Bouamri et al., 2006), et AMF2 (souche commerciale de *Glomus iranicum*). Leurs paramètres de colonisation sont présentés sur le tableau (table 23). L'application du compost a été faite au moment de la transplantation et un deuxième rappel est appliqué 5 mois après. L'inoculation des CMA au niveau de la rhizosphère a été aussi réalisée en deux reprises : au moment de la transplantation et deux mois plus tard.

En effet, 50 g de chaque inoculum (sol + racines colonisées) a été pulvérisé sur le système racinaire d'une façon à favoriser l'infection du cortex. De même, le consortium de PGPR a été inoculé en deux fois : juste après la deuxième application du CMA et 4 mois plus tard. En fait, 80 ml du consortium bactérien, préalablement préparé dans des boites de Pétri et suspendu dans l'eau distillée stérile (10^8 UFC/ml), a été incorporé dans la zone rhizosphérique de chaque plante destinée à l'inoculation. L'essai agronomique a été conduit sous serre à l'Ecole Nationale de l'Agriculture de Meknès, pendant la période Août 2017- Octobre 2018, avec des conditions d'humidité relative ambiante, de température de 32 °C, et d'une photopériode naturelle. L'irrigation a été faite selon le besoin et en se basant sur la capacité au champ de traitement témoin. Aucun fertilisant de synthèse chimique n'a été utilisé à l'exception de l'«Osmocot Exact » (N :15%- P :9%- K :12% et traces de microéléments) appliqué en infime quantité au moment de la transplantation (50 g/pot).

Pour évaluer l'influence de ces traitements (table 24) sur la fertilité du sol, d'abord les analyses des propriétés physico-chimiques de ce dernier ont été réalisées en deux stades de la croissance sous serre (Aout 2017 et Octobre 2018). Il s'agit du taux de la matière organique et celui du calcaire, du rapport C/N, du pH et des macro- et microéléments. En parallèle, la colonisation racinaire avec les deux inocula, AMF1 et AMF2, a été suivie en trois stades ; 2, 4 et 14 mois après l'inoculation. Son évaluation consiste à déterminer la fréquence et l'intensité de mycorrhization au niveau du cortex racinaire des vitro-plants selon la méthode de coloration de (Phillips and Hayman, 1970) et les formules de calcules de Trouvelot et al., (1986).

En terme de croissance, plusieurs paramètres ont été évalués dans une finalité d'évaluer l'effet de trois composantes ; Composts, CMA et PGPR, sur la croissance des vitro-plants. Ces paramètres sont :

- Le taux de la croissance en longueur ;
- Le taux de la croissance en largeur (diamètre du collet) ;
- Le poids frais racinaire ;
- Le poids frais de l'appareil végétatif ;
- Le nombre de racines ;
- Le nombre de feuilles ;
- Teneur en Chlorophyll ;
- Les macro et microéléments foliaires.

Résultats et conclusions

Le monitoring des paramètres physico-chimiques (Table 25, 26 et 27) du sol a montré clairement que le taux de la matière organique, le rapport C/N et le pH ont été améliorés et sont

devenus plus favorables pour une bonne assimilation des éléments nutritifs. A tire d'exemple, les premières analyses (Aout 2017) ont montré que le pH du sol a diminué jusqu'à 7,4 suite à l'amendement avec du compost CA seul ou enrichi avec les PGPR (T7 et T8). Sa valeur a été diminué jusqu'à 7,08 lors de la combinaison de trois composantes ; compost, PGPR et CMA (T16). En outre, le taux de matière organique est passé de 0,21% chez les vitro-plants témoins (T1) jusqu'à 0,92 et 1,56 % enregistrés respectivement chez les traitements T7 et T15, bien que ces taux sont devenus plus faibles après 14 mois de croissance (Octobre 2018). Le pH de la rhizosphère a atteint 5,5 enregistré chez le traitement T3 où les vitro-plants ont été inoculés seulement avec le consortium AMF1. Egalement, les traitements amendés avec du compost et inoculés avec les CMA ou les PGPR ont montré des valeurs proches (de 5,6 jusqu'à 6,11).

Dans la même mesure, les teneurs en macro et microéléments dans le sol rhizosphérique ont été améliorés, notamment, avec la combinaison du compost, du CMA et des PGPR. Par exemple, en comparant la teneur en potassium chez les plantes témoins et les autres traitements (Table 26), on a pu déduire que la teneur en K dans le sol a dédoublé chez les traitements contenant le compost et les deux inocula CMA et PGPR. En effet, les dernières analyses ont montré que les valeurs enregistrées chez les traitements T12, T13 et T14 ont été respectivement 1275,32, 1238,71 et 1365,00 mg/kg. D'une manière similaire, les teneurs de tous les microéléments ont été élevés chez les traitements amendés avec du compost dès le premier stade de croissance. Cependant, les analyses finales du sol rhizosphérique ont montré clairement que la combinaison de trois composantes a été meilleure pour tous les microéléments. A titre d'exemple, la teneur en fer (Fe) en Octobre 2018, trouvé chez les plantes inoculées seulement avec les AMF1 (T3) a été plus élevée par rapport au traitement témoin (T1). Toutefois, les meilleures teneurs de cet élément (Table 27) ont été enregistrées chez les traitements où les CMA, les PGPR et le composté ont été appliqués ensemble (exemple de T11, T12, T13, T14). Quel que soit le stade de croissance, les teneurs du Zn ont été élevés chez les traitements amendés avec du compost. Tandis que les résultats les plus prometteurs ont été trouvés lorsque les inocula AMF et/ou PGPR et le compost ont été utilisés (T11, T12, T13 et T14).

Quant à la colonisation racinaire par les CMA, les résultats ont montré que le taux de colonisation racinaire a augmenté progressivement en passant du stade 1 jusqu'au stade 3 où la fréquence et l'intensité de mycorrhization ont atteint respectivement 85,32 et 66,41% chez les vitro-plants inoculés avec AMF1 (Table 28), alors que les valeurs enregistrées chez ceux inoculés avec AMF2 ont été respectivement 81,12 et 49,3%. Ajoutons à cela, que l'amendement avec du compost CA ou CB n'a pas affecté significativement ces taux de colonisation. D'ailleurs, la fréquence et l'intensité de colonisation enregistrées chez le traitement T11 ont été

respectivement 88,23 et 45,31%. Aussi, les valeurs trouvées chez le T13 ont été 78,91 et 40,81%. En outre, même si l'inoculation des PGPR ait été combinée avec les CMA (T4 et T6), ces paramètres ne sont pas beaucoup affectés par rapport aux CMA seuls (Table 28).

En matière de croissance végétative, l'effet de toutes les composantes (compost, CMA, PGPR) et de leurs interactions a été hautement significatif au seuil de 5% aussi bien sur le poids frais racinaire (Annexe 22) que le poids frais de l'appareil caulinaire (Table 29 et 30 and Annexe 23). En effet, les traitements T16 et T18 ont doublé le poids frais racinaire avec des valeurs respectives de 100,4 et de 108.6 g/plante. D'une manière similaire, les poids frais de l'appareil caulinaire trouvés chez les deux traitements ont été de 160,10 et 172.1 g/plante, bien que les valeurs trouvées chez le témoin aient été seulement 50 et 141,90 g/plante respectivement pour le poids frais racinaire et caulinaire (Table 30).

En outre, l'inoculation avec les PGPR et/ou les CMA et l'amendement avec du compost ainsi que leur interaction ont affecté significativement le taux de croissance en longueur (Annexe 24) et en largeur (Annexe 25) des plantes par rapport au traitement témoin (Table 29 et 30). A titre d'exemple, le meilleur taux de croissance en longueur a atteint 1,03 mm/mois chez le traitement T12. De plus, le même traitement a enregistré un taux de croissance de diamètre du collet de 83,12 µm/mois. Cependant, il est important de noter que l'inoculation avec les PGPR et/ou les CMA uniquement a augmenté significativement ce taux de croissance (T2, T3 et T4). D'ailleurs, leurs valeurs respectives ont été de 73,67, 92,44 et 84,76 µm/mois (tableau 30), alors que celle des plantes témoins ait été seulement 69,80 µm/mois. La même constatation a été observée pour la teneur en chlorophylle totale (Annexe 26), sauf que dans ce cas, les analyses statistiques n'ont révélé aucun effet significatif des CMA (AMF) et de leur interaction avec les PGPR (AMF * PGPR) (Table 29 et 30).

Après 14 mois semaines de la croissance, l'analyse de la variance (ANOVA 4) a montré que seule l'interaction, AMF*Compost, qui a significativement (Annexe 27) affecté le nombre de feuilles (Table 29). D'ailleurs, le nombre moyen de feuilles enregistré chez les traitements T17 et T11 a été respectivement de 8,67 et 9,00 (Table 30). La comparaison multiple entre tous les traitements a permis de classer les plantes témoins en dernier group avec un nombre moyen de 7.2, suivi de celles inoculées avec les AMF et/ou PGPR (T2, T3, T4, T5 et T6). Les meilleurs résultats obtenus correspondent aux traitements T4 et T12 dont leurs valeurs moyennes ont été respectivement de 9,5 et 9,33 (table 30).

En ce qui concerne le nombre de feuilles pennées, l'analyse de la variance a montré que les PGPR et l'interaction, AMF * Compost, ont significativement (table 29 and Annexe 28) influencé ce paramètre au seuil 5%. Effectivement, les traitements T4 et T8 (table 30) ont

augmenté le nombre de feuilles pennées respectivement jusqu'à 5,3 et 4,8 par rapport aux vitro-plants témoins (2,2). On note également que l'inoculation unique avec les PGPR s'est révélée efficace avec un nombre moyen de 3,17 comme il est obtenu par le test de la comparaison multiple (Annexe 43).

En fin, l'analyse de la nutrition foliaire et de la variance (ANOVA 4) pour, les macros et les microéléments, ont permis de mettre en évidence l'effet hautement significatif de AMF, PGPR, et du compost ainsi que leur interaction (Annexes 29-38) sur les teneurs en macro- et microéléments foliaires (table 31). Prenons l'exemple de la teneur en azote où les traitements T4 et T14 ont augmenté sa teneur respectivement jusqu'à 7,10 et 5,36 % (table 32). Du même itinéraire, la meilleure teneur en phosphore foliaire a été trouvée chez le traitement T4 (1.06 %), bien que celle de traitement témoin (T1) ait été seulement 0,77 %. Ajoutons à cela que la teneur la plus élevée en K a été détectée chez le traitement T10 suivi de T9 dans lesquelles le compost CB et/ou les PGPR ont bien montré leurs efficiences (table 32).

Quant aux microéléments foliaires, leurs teneurs ont été significativement influencées (Annexes 34-38) aussi bien par les AMF, PGPR et compost que par leurs interactions (Table 31). Effectivement, les teneurs du Mn et du Fe ont atteint respectivement 822,19 et 162,15 mg/kg de matière sèche (table 32). Ces meilleures teneurs ont été trouvées chez les traitements T4 (AMF1+ PGPR) et T9 (CB). Par contre, les teneurs de ces deux éléments ont été seulement de 445.50 et 116.90 mg/kg de matière sèche chez le traitement témoin.

En guise de conclusion, l'effet synergique du compost, PGPR et CMA sur les propriétés physico-chimiques du sol, la croissance végétative et la nutrition foliaire des vitro-plants du palmier dattier (cv. Boufeggous) a été bien démontré. D'ailleurs, les analyses statistiques (ANOVA 4 et la comparaison multiple) ont mis en exergue l'effet significatif de l'interaction entre les facteurs. Autrement dit, l'effet significatif d'un tel facteur dépend des modalités des autres facteurs. Ceci s'est bien révélé sur les tableaux de résultats où chaque paramètre était meilleur pour un traitement spécifique bien que, en général, les meilleurs résultats aient été obtenus lorsque les deux ou trois facteurs sont mis en jeu. Ajoutons à cela que la seule inoculation avec les PGPR et/ou CMA a été prometteuse en terme d'amélioration de plusieurs paramètres et les vitro-plants témoins ont enregistré les plus faibles valeurs que ce soit au niveau des paramètres de croissance ou des analyses du sol ou des feuilles.

Ce chapitre fera l'objet d'une publication (*soumission est en cours*).

9 Publication 4:

Improving growth and nutrition of micro-propagated date palm (cv. Boufeggous) by compost, arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria

9.1 Abstract

Currently, the extensive program of date palm plantation with monoculture system enhance the abusive use of chemical fertilizers in oasis soil, which is poor and undergo to agro-ecological management. This extension surely increase the pollution of soil and negatively influence the biological activity in oases ecosystem. In order to reduce the overuse of chemical compounds, improve soil properties as well as biological activities in rhizosphere soil, our hypothesis was the evaluation of commercial composts, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and locally adapted Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) effects on: (i) soil characteristics and AMF colonization, (ii) growth and leaf nutrition of micro-propagated date palm in poor soil. As results, all soil properties, roots and leaves number as well as fresh biomass of micro-propagated plants were significantly improved by both single inoculation of AMF and/or PGPR and their interactive effect with compost. Leaf macro and microelements contents were significantly increased compared to control plants, especially by the synergetic functions of at least two factors (compost, AMF and PGPR). For instance, root and leaf number reached 17 and 9 respectively. Root fresh weight (more than 274 g/plant) and leaf N-content (more than 6 %) were doubled by some treatments. Total chlorophyll, K, P, Mg, Mn, Fe and Ca leaf contents were highly increased when at least two factors interact together compared to non-treated plants. Variance analysis showed that the increasing rate of such parameter depends on the interaction and compost kinds. These results suggest a promising effect of these amendments to make success the growth of micro-propagated date palm in poor soil like oasis.

Key words; micro-propagated date palm, compost, mycorrhiza, PGPR, rhizosphere soil, leaf nutrition.

9.2 Introduction

Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) is grown widely in hot, dry and deserted regions of the Arabian Peninsula, North Africa and the Middle East, but also, it was introduced in many parts of the world like India, Pakistan, South America and United State (Al-Karaki, 2013). The area of date palm cultivation has increased dramatically during the past few years and is expected to continue to increase (El Bouhssini and Faleiro, 2018). In Morocco, date palm cover 63 000 ha and 7 million trees in which 41% are productive (MAPMDREF, 2019). However, this

expansion based on the micropropagated plants cultivation lead to overuse of chemical fertilizers that have a negative effects on biological activities, and human health in oases, where usually no inorganic fertilizers have been used before (Bouamri, 2006; Zhai et al., 2017; Zhang et al., 2018). In addition, oases soils are characterized by low organic matter and minerals content and only few quantity of local manure is used by some farmers (Bouamri et al., 2014, 2006). Hence, the cultivation of micro-propagated plants should be managed in a sustainable way to maximize yield, reduce the impact of chemical compounds on ecosystem and improve soil properties as well as biological activity within rhizosphere.

Compost is an organic amendment, which can be used on date palm and other plant species. Indeed, researches have also shown the potential role of compost for growth promotion of germinated seedlings of date palm (Barje et al., 2016) or other plant species like cucumber, eggplant, tomato, pine and onion (Abou-el-hassan et al., 2018; Markakis et al., 2016; Mehta et al., 2015; Riley et al., 2016). Besides, compost can improve soil characteristics and increase soil organic matter, minerals content (Bueno et al., 2014) and biological activities (Das et al., 2017). Consequently, compost could improve plant growth and soil fertility such as shown on wheat (Chattha et al., 2019), rice (Sarwar et al., 2008b), maize (Erdal et al., 2018), tomato (Reddy and Crohn, 2018), leek (Akpinar et al., 2019) and saffron (Jami et al., 2020). Moreover, other researchers showed that compost contains a high biomass of beneficial microorganisms, including bacteria, fungi, actinomycetes and yeasts, which contribute to biological activity improvement, growth and plant protection (Alfano et al., 2011; Dees and Ghiorse, 2001; Mengesha et al., 2017; Suárez-Estrella et al., 2013).

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are microorganisms that can be beneficial for both soil fertility and plant growth promotion. Indeed, they can form symbiotic relationship with over than 80% of higher plants (Al-Yahya'ei et al., 2008; El Kinany et al., 2019), although the degree to which plant benefit from mycorrhiza might vary greatly due to variation in plant species dependency on mycorrhizae (Janos, 2007). Besides, it was reported that plants regulated the level of fungal proliferation within the roots to prevent excessive colonization and carbon drainage; thus, maintaining the interaction at mutualistic levels (Breuillin et al., 2010). For example, under conditions of high exogenous phosphate supply, the plant actively inhibits proliferation of the fungus within the roots (Breuillin et al., 2010; Jung et al., 2012). AMF associations increase the nutrients acquisition of colonized plants by various mechanisms like spatial availability of nutrients and mobilization of sparingly available nutrients (Sathiyadash et al., 2017). In addition, AMF enhance plant growth by increasing the absorption of N, P, K, Ca, S, Cu, Zn, Fe, and Mn through the higher absorbing surface areas compared to non-

colonized plant (Kong et al., 2020; Sathiyadash et al., 2017; Scrase et al., 2019). For date palm, the limited development of the root system and its potential colonization with AMF (Al-Yahya'ei et al., 2011; Bouamri et al., 2006) suggested that it benefit greatly from mycorrhizal relationship. Furthermore, AMF may play a role in the formation of stable soil aggregates, building up a macro porous structure and allow penetration of water and air through glomalin formation (Jeffries et al., 2003). Previous studies were conducted on date palm using seedling growing from seeds germination and showed some positive effects of AMF on date palm growth under stressful conditions (Ait-El-Mokhtar et al., 2019; Baslam et al., 2014).

On the other hand, researchers have shown the significant effects of PGPR on plant growth and leaf nutrition under stressful conditions of different plant species like tomato (El kinany et al., 2017), lemongrass (Mirzaei et al., 2020), strawberry (Pii et al., 2018; Seema et al., 2018), maize (Lin et al., 2018) and chickpea (Abd El-Rahman and Abo Taleb, 2020). These effects concerned soil properties, root and shoots biomass, some secondary metabolites (vitamins, organic acid, amines) and yield. For instance, researchers isolated and identified some plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) from cucumber rhizosphere and showed their effectiveness on seeds germination rate, seedlings vigor, root and shoot nitrogen in treated seedlings compared with non-treated ones (Islam et al., 2015). Besides, the use of PGPR consortia was reported as a new strategy to improve some plant growth parameters and control pathogens more than the single inoculation (Abbas et al., 2020; Armada et al., 2014; Raklami et al., 2019). However, the inoculation of date palm rhizosphere with autochthonous and locally adapted PGPR isolated from date palm rhizosphere is still missing.

Recently, researchers focused on the study of synergetic interaction of AMF and PGPR on plant growth and nutrition. They showed the potential role and significant growth enhancing recorded by their synergetic functions (Abd-Alla et al., 2014; Artursson et al., 2006; Mohamed et al., 2019; Nadeem et al., 2014; Sharma and Sharma, 2017). It was reported that dual inoculation of AMF and PGPR significantly improves soil characteristics, enhances some growth parameters and antioxidant enzymes of tomato plant (Sharma and Sharma, 2017) common bean (Mohamed et al., 2019) and wheat (Raklami et al., 2019) more than the single inoculation. In addition, a synergetic role of compost, AMF and/or PGPR were proved as an approach to enhance greatly plant growth under stressful conditions such as found on tomato (Lachisa and Dabassa, 2016), bean (Mohamed et al., 2019), potato (Aguk et al., 2018), onion (Abou-el-hassan et al., 2018), radish (Ahmad et al., 2018) and wheat (Raklami et al., 2019). While, the application of locally adapted AMF or PGPR on date palm cultivation is still missing.

Our hypothesis is the use of commercial composts, autochthonous and commercial AMF as well as a consortium of locally adapted PGPR isolated from date palm rhizosphere (El kinany, data not shown) to assess their effects on (i) soil characteristics and (ii) growth and nutrition of micro-propagated date palm (cv. Boufeggous).

9.3 Materials and methods

9.3.1 Plants and substrates sources

Uniform 10-month-old micro-propagated plants were purchased from a private laboratory of date palm tissue culture (Erfoud). They belongs to the same plot from Boufeggous cultivar from acclimatization stage. A sandy soil was used as basic substrate whom physical and chemical characteristic were previously reported (El Kinany et al., 2019). The soil undergo two subsequent sterilizations (120 °C for 30 min) separated by 24 hours. Besides, tow commercial composts (CA and CB) were purchased from a private company of Meknes using a raw matter previously described by (El Kinany et al., 2017b). Their physical and chemical characteristics are described in table 1.

Table 22 : physical and chemical properties of two composts (CA and CB).

Compost kind	Compost CA		Compost CB	
	Fresh matter	Dry matter	Fresh matter	Dry matter
pH	9,69	---	8,26	---
Electric conductivity (mS/cm)	5,51	---	10,12	---
Humidity (%)	26,9	---	42,56	---
Dry matter (%)	73,1	---	57,44	---
Organic matter (%)	25,73	35,2	40,32	70,2
Organic carbon (%)	12,87	17,6	20,16	35,1
Mineral matter	47,37	64,8	17,12	29,8
Nitrogen (TNK)	1,18	1,62	0,72	1,26
C/N	10,86		27,86	
Phosphorus (P_2O_5) (%)	1,19	1,62	0,17	0,3
Potassium (K_2O) (%)	2,21	3,02	0,36	0,62
Magnesium (%)	1,29	1,77	0,24	0,41
Calcium (%)	6,72	9,2	1,59	2,77
Sodium (%)	0,38	0,52	1,39	2,42

9.3.2 AMF and PGPR inoculum

Tow mycorrhizal inoculums were assessed; AMF1 is a propagules and root colonized with autochthonous consortium of four mycorrhizal species isolated from date palm rhizosphere (Bouamri et al., 2006). AMF2, propagules and root colonized with commercial strain *Glomus iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs. Colonization frequency and intensity as well as density of AMF spores were assessed after coloration method (El Kinany et al., 2019) and

spores extraction technique (Bouamri et al., 2006) respectively. These parameters are presented in Table 23. Locally adapted PGPR (autochthonous); *M08, M010, M013* and *M029* were isolated and selected basing on functionally screening results recently obtained by El kinany et al., (data not shown). Each bacterial strain was prepared in YPGA media and suspended in sterile distilled water to adjust its concentration (10^8 CFU/ml) according to (El kinany et al., 2017)'s method.

Table 23 : Frequency (F), Intensity (I), and spores density (D) of tow inoculum: AMF1 and AMF2 used in greenhouse experiment

Cod	origin	F (%)	I (%)	D (Spore /100g)
AMF1	Date palm rhizosphere	88.33	35.72	656
AMF2	*G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs	73.5	29.33	440

9.3.3 Experimental set-up

The experiment was set up in a complete randomized block design with six replicates for each individual treatment (table 24). Indeed, a group of 108 micro-propagated plantlets was used for the greenhouse experiment. At first, they have been divided into three plots of 36 plants each. Two plots of 36 plants each were amended with CA and CB respectively. The other 36 plants constitute a control (without compost). Compost amendment is 500 g applied from CA or CB in order to reach respectively 1 and 2 % of organic matter (table 24 and 25). Subsequently, each plot of 36 plants was divided into three lots of 12 plants each; one lot was inoculated with AMF1 (50 g of inoculum/plant), the second with AMF2 (50 g of inoculum/plant) and the third one constitute the control (without mycorrhiza). Compost and AMF-amendments were applied at the same time of transplantation. However, three months later, each lot was divided into two groups of six plants each; one group was inoculated with PGPRs but the second one was non-inoculated. Finally, we could establish 18 treatments as illustrated in table 24. PGPR-suspension was inoculated twice: three months after experiment establishment and seven months later. The inoculation method was carried out by spreading 80 ml of bacterial suspension in rhizosphere zone according to method of El kinany et al., (2017). Similarly, control plants were inoculated with sterile distilled water.

All plants were irrigated with tap water according to the field capacity of control plants. The experiment was carried out in greenhouse conditions; temperature of 32 ± 2 °C, natural light and room humidity at the National School of Agriculture (Meknes, Morocco). All plants, including control, received a weak dose of 50 g/pot of "Osmocot Exact" containing NPK (15 % - 9 % - 12 %) and few microelements traces. It was applied at transplanting process as a sole chemical fertilizer in sandy and poor soil.

9.3.4 Rhizosphere soil characteristics and root colonization analysis

Soil properties evaluation were assessed for all treatments in the beginning and in the end of greenhouse experiment. Composite soil samples (500g) were collected from each treatment and analyzed in a private laboratory in Meknes (LAQ). Analysis consist on the organic matter (NF ISO 14235 (MO=Carb. Org*1.72)), total nitrogen (NF ISO 11261), C/N ratio, pH (NF ISO 10390), limestone (NF ISO 10693), phosphorus (NF ISO 11263 (Olsen)), potassium, magnesium and calcium (NF × 31 -108), copper, zinc, manganese and iron (NF × 31 -121). Root colonization was assessed on three replicates for all treatments; it was analyzed after two and fourteen months basing on the technique of (Phillips and Hayman, 1970). Briefly, root fragments (1 cm length) were cleared with a solution of potassium hydroxide then neutralized in hydrochloride acid solution. Afterwards, fragments were stained in a Trypan blue solution and colonization frequencies (F) and intensities (I) were calculated according to formula of (Trouvelot et al., 1986).

$$\boldsymbol{F}(\%) = \frac{(\boldsymbol{N} - \boldsymbol{N0})}{\boldsymbol{N}} \boldsymbol{X\ 100}$$

$$\mathbf{I}\ (\%) = \frac{[(\mathbf{95x\ n5}) + (\mathbf{70x\ n4}) + (\mathbf{30\ x\ n3}) + (\mathbf{5\ x\ n2 + n1})]}{\mathbf{N}}$$

Where N = number of fragments observed and N0 = number of non-colonized fragments;
n5, n4, n3, n2 and n1 are the respective numbers of fragments noted 5, 4, 3, 2 and 1. Class 5, more than 90 %, Class 4, from 51 to 90 %, Class 3, from 11 to 50 %, Class 2, less than 10 % and Class 1, traces.

Table 24 : Treatment of greenhouse experiments (CA and CB: tow commercial composts; AMF1: autochthonous mycorrhizal fungi, AMF2: commercial strain, PGPR: PGPR consortium)

Tr.	Signification	Tr.	Signification
T1	Control	T10	CB+PGPR
T2	PGPR	T11	CA+AMF1
T3	AMF1	T12	CA+AMF1+PGPR
T4	AMF1+ PGPR	T13	CA+AMF2
T5	AMF2	T14	CA+AMF2+PGPR
T6	AMF2+PGPR	T15	CB+AMF1
T7	CA	T16	CB+AMF1+PGPR
T8	CA+PGPR	T17	CB+AMF2
T9	CB	T18	CB+AMF2+PGPR

9.3.5 Growth control

Relative growth rate (RGR) of shoot length and stem diameter were calculated basing on the measurement at transplanting time and at the end of experiment. It was calculated using the Schultz formula as described below (Schultz, 2001). The stem diameter and length were measured respectively by slide caliper (Stainless Hardened) and graduated scale.

$$RGR = (Ln\ TSL2 - Ln\ TSL\ 1)/(t2 - t1)$$

Ln = logarithm; TSL2 = final measure of parameter; TSL1 = first measure of parameter,

(t2 - t1) =Δt: the time between subsequent measurements.

Leaves and pinnates number was monitored at the end of experiment to assess the vegetative growth of micro-propagated plants. In addition, total chlorophyll content in leaves was measured for each plant using chlorophyll-meter (CCM-200) and the means were expressed in mg/g of fresh weight. In order to evaluate plant nutrition, leaf macro- and micro-nutrients were analyzed. Indeed, 250 g of fresh leaves were randomly collected from middle crown of plants and made in plastic bags under 4°C. Analysis were perfected in a private laboratory in Meknes (LAQ). They consist of nitrogen, phosphorus, potassium, magnesium, calcium as well as zinc, copper, manganese, iron and boron. At the end of experiment, shoot and roots fresh weights (g) as well as roots number were determined for all treatments.

9.4 Statistical analyzes

Effects of experimental factors (AMF, PGPR and compost) and their interactions were determined by variance analyses at 5% level using the SPSS software (V20) and normality of residuals was assessed by Shapiro-Wilk test. Multiple comparison was analyzed by post-hoc analysis (Tukey tests).

9.5 Results and discussion

9.5.1 Rhizosphere soil characteristics

For pH evolution, in the beginning, soil solution was alkaline either by inoculation with PGPR (T2) or with AMF (T3), it ranged from 8.5 to 8.6. However, the compost amendment, especially for CB (T10 and T17), decreased the pH-value until 7.08 (table 25). At the end of the experiment, the pH value fully decreased up to 5.7 and 5.5 respectively for T14 and T3. This may be explained by acids production during composting process and/or by acids generated from microbial metabolism within rhizosphere. Indeed, a recent research conducted on *Argania spinosa* in field condition revealed this pH decreasing (up to 8,5) in alkaline soil inoculated with AMF or amended with compost (Mrabet et al., 2014). What is more, this pH decreasing (up to 5.5) is favorable for nutrients availability and nutrients uptake by plants.

Mineralization of the organic matter was very remarkable between the beginning and the end of experiment. Indeed, PGPR (T2, T4 and T6) or mycorrhizal fungi-inoculation (T3 and T5) decreased slightly the organic matter level in rhizosphere soil. For treatments amended with compost CA (T7 for example), it was found that organic matter level was decreased from 0.92 to 0.23%, while it decreased from 1.55 to 0.83% by CB amendment (T9 as example). Besides, for control plants, it became very weak at the end of greenhouse experiment (0.08%). Without compost amendment, the C/N ratio was weak (about 8.30) in T1, T2, T3, T4, T5 and T6 (table

25). However, compost amendment increased its value until at least 10.45 (T7), in spite of its weakness at the end of experiment. This result suggested the richness of used composts with some spore-forming bacteria, which are able to mineralize the organic carbon such as found in other work (Pane et al., 2012), despite their dependency on raw materials, maturity and composting-process (Suarez-Estrella et al., 2007; Suárez-Estrella et al., 2013).

In addition, the limestone rate was also reduced from the first to the last analysis, especially for compost-amended substrates. Its rate was reduced by compost amendment (0.41%) compared with control (0.68%) such as observed in T7 and T14. Similarly, a study was conducted on wheat and rice and affirmed the role of compost on soil fertility, on pH soil improvement, on electrical conductivity as well as nutrients availability (Sarwar et al., 2008b).

Table 25: C/N ratio, pH-value, soil organic matter (SOM) and limestone levels in rhizosphere soil for eighteen treatments. Data present means of three replicates.

Tr.	pH-water		SOM (%)		C/N		Limestone (%)	
	Aug. 2017	Oct. 2018	Aug. 2017	Oct. 2018	Aug. 2017	Oct. 2018	Aug. 2017	Oct. 2018
T1	8.51	6.11	0.21	0.08	8.38	6.89	0.68	0.10
T2	8.60	6.10	0.19	0.07	8.33	6.78	0.70	0.11
T3	8.53	5.51	0.20	0.07	8.43	7.40	0.69	0.10
T4	8.49	5.71	0.21	0.04	8.29	7.32	0.67	< 0.1
T5	8.52	6.02	0.19	0.09	8.72	7.04	0.66	< 0.1
T6	8.50	5.96	0.20	0.05	8.42	7.31	0.67	0.21
T7	7.46	6.01	0.92	0.23	10.67	6.93	0.41	0.10
T8	7.44	5.72	0.90	0.22	10.45	7.30	0.42	0.30
T9	7.10	5.64	1.55	0.83	10.64	7.40	0.80	< 0.1
T10	7.09	5.90	1.52	0.73	10.61	7.30	0.78	0.21
T11	7.43	5.90	0.91	0.25	10.71	6.91	0.44	0.21
T12	7.41	6.04	0.89	0.24	10.56	7.10	0.45	0.22
T13	7.47	5.99	0.90	0.22	10.77	6.92	0.43	0.21
T14	7.40	5.71	0.87	0.27	10.55	7.33	0.41	0.10
T15	7.11	6.04	1.56	0.73	10.62	6.45	0.81	0.10
T16	7.08	6.01	1.53	0.65	10.53	6.87	0.78	0.21
T17	7.09	5.85	1.55	0.81	10.56	6.83	0.81	0.10
T18	7.10	6.11	1.50	0.82	10.54	7.50	0.77	0.20

In general, mineral nutrients content within rhizosphere soil was higher in CA-amended plant, in particular, at the last analysis because CA contains normally a high mineral matter level compared to compost CB. However, based on the comparison between treatments, nitrogen level was better only in treatments containing compost CA or CB, particularly at the end of the experiment (October 2018). Its level reached 0.16 and 0.15 % in T12 (CA+AMF1+PGPR) and T16 (CB+AMF1+PGPR) respectively (table 26), while, the lowest N-value (0.04%) was found at T6 (AMF2+PGPR). Besides, the K-content was highly increased in all treatments compared

with control plants. The sole inoculation with PGPR and/or AMF increased its content in rhizosphere soil such as observe in T2 (PGPR), T3 (AMF1), T4 (AMF1+PGPR), T5 (AMF2) and T6 (AMF2+PGPR). At the end (October 2018), it reached 728 mg/kg for T3 (AMF1) compared to control (518 mg/kg). However, the interactive effect of compost-AMF-PGPR increased its content up to 486, 336 and 326 mg/kg at the first analysis and 1384, 1365 and 1218 mg/kg at the last. These values were observed at T17 (CB+AMF2), T14 (CA+AMF2+PGPR) and T7 (CA) respectively (table 26). Without compost-amendment, soil rhizosphere P-content was increased by PGPR application (623 mg/kg) compared to control plants (597 mg/kg). However, compost amendment (CA or CB) revealed a high level of phosphorus such as found at T7 and T9. It reached 924 and 805 mg/kg for soil amended with CA and CB respectively, whereas the combination of compost, PGPR and AMF increased its level up to 1057 mg/kg such as found at T13 (CA+AMF2) for example. For Mg-content, it increased from August 2017 to October 2018 for all treatments. However, it was reinforced only in soil amended with compost and inoculated with PGPR and/or AMF. For instance, their values reached 890 and 760 mg/kg for T13 (CA+AMF2) and T12 (CA+AFM1+PGPR) respectively (table 26). At the same time, the unique inoculation with PGPR and/or AMF enhanced Cu-level up to 5.31mg/kg and 5.83 mg/kg respectively (T2 and T3), while the value of control treatment did not exceed 3.9 mg/kg (table 27). Moreover, it reached 6.22 mg/kg in T8 that include PGPR and compost CA. Since the first analysis, Mn-content was higher in rhizosphere soil amended with compost compared to non-amended ones (table 27). Its value varied between 7.61 and 8.9 mg/kg depending on treatments. At the end of experiment, Mn-content reached 55 and 53 mg/kg observed in T10 (CB+PGPR) and T16 (CB+AMF1+PGPR), whereas it was just 30.70 mg/kg in control (T1). Based on Fe analyses, its amount was highly increased, especially when we used compost CA (e.g. T7, T8 and T14). Sure, their corresponding values, reached 12.78, 14.47 and 16.88 mg/kg respectively (table 27). As for Zn-content, only treatments containing compost CA or CB increased its content compared to control plants. Furthermore, it has been reinforced by PGPR and AMF inoculation. For example, in T11, T13 and T14 treatments, their values were respectively 8.06, 6.30 and 7.21 mg/kg. We concluded that the CA-amendment enhanced the macro and microelements content in rhizosphere soil more than CB. This is related to the highest mineral matter and lowest organic matter levels observed in CA (table 22).

Previous researches conducted on date palm seedlings using AMF and/or compost amendment did not monitor soil properties variation (Barje et al., 2016; Baslam and Goicoechea, 2012; Shabbir et al., 2010; Souna et al., 2010). In the other research conducted on cucumber plants, it

was found that the rate of mineralization was higher in treatments amended with compost and it was reinforced by rhizosphere inoculation with bacteria like *Bacillus subtilis* (Islam et al., 2016). Besides, other researches showed that compost is the best buffer of soil solution because it could maintains a favorite pH value within rhizosphere, increases the organic matter, electric conductivity and C/N ratio (Agegnehu et al., 2016; Cozzolino et al., 2016; Yildiz et al., 2016). Recently the co-inoculation by PGPR and AMF and compost amendment improved greatly soil organic matter and soil nutrients for maize, wheat, alfalfa, leek and lettuce culture in field and greenhouse experiment (Meddich et al., 2019). In our work, the mineralization of compost increase the release of nutrients in rhizosphere zone as clearly observed in the last analysis. The same results were observed on cucumber (Zhang et al., 2014) and Lucerne plants (Akhzari et al., 2015).

In addition, (Bueno et al., 2014) showed that the sandy soil amended with olive by-product compost, maintained a high level of macro-elements and organic matter during the first 90 days, but in 180 days, both organic matter and electrical conductivity started to decrease. Thus, the soil organic matter and nutrient level depend on plant species, soil characteristics, compost dose and their properties as well.

Table 26: Macroelement contents in rhizosphere soil sampled from each treatments.

code	N total (%)		K_2O mg/kg		P2O5 (mg/kg)		Mg (mg/kg)	
	Aug. 2017	Oct. 2018	Aug. 2017	Oct. 2018	Aug. 2017	Oct. 2018	Aug. 2017	Oct. 2018
T1	0.01	0.10	32.99	518.01	9.00	597.05	127.00	500.39
T2	0.01	0.07	34.21	668.11	9.05	623.19	126.28	740.19
T3	0.01	0.08	37.32	728.12	8.98	526.20	128.01	340.21
T4	0.01	0.05	36.45	668.30	9.02	425.01	126.82	350.43
T5	0.01	0.07	38.40	491.18	8.96	410.16	127.51	480.26
T6	0.01	0.04	35.23	484.21	9.00	507.27	129.05	439.74
T7	0.05	0.11	326.00	1218.74	159.00	924.15	240.61	750.32
T8	0.06	0.08	324.56	1039.10	157.92	999.06	241.59	570.45
T9	0.09	0.07	484.00	1127.99	230.33	805.04	318.70	480.42
T10	0.08	0.09	490.12	1062.00	228.10	780.50	319.02	710.42
T11	0.07	0.13	330.12	914.08	164.00	938.60	240.72	410.44
T12	0.07	0.16	334.72	1275.32	155.10	994.31	242.60	760.31
T13	0.08	0.11	329.83	1238.71	162.29	1057.00	239.91	890.26
T14	0.06	0.09	336.24	1365.00	168.09	819.91	240.29	710.46
T15	0.09	0.13	489.81	566.00	257.09	665.13	318.39	540.32
T16	0.10	0.15	491.73	976.98	260.01	842.87	319.07	620.33
T17	0.08	0.07	486.29	1384.00	255.00	917.22	320.01	610.45
T18	0.10	0.09	490.19	680.33	263.29	755.00	317.31	520.42

Data present mean of three replicates (three samples from each treatment)

Table 27: Microelements contents (mg/kg) in rhizosphere soil sampled from each treatments.

Tr.	Cu		Mn		Fe		Zn	
	Aug. 2017	Oct. 2018	Aug. 2017	Oct. 2018	Aug. 2017	Oct. 2018	Aug. 2017	Oct. 2018
T1	0.12	3.90	1.65	30.70	4.76	7.37	0.19	2.31
T2	0.13	5.31	1.63	43.70	4.83	8.80	0.18	2.31
T3	0.11	5.83	1.67	37.51	4.64	12.91	0.16	2.45
T4	0.14	4.40	1.62	31.12	4.77	8.61	0.20	1.62
T5	0.10	4.70	1.66	40.79	4.74	10.02	0.17	1.69
T6	0.12	4.42	1.65	42.23	4.79	8.08	0.18	1.04
T7	0.26	6.07	7.61	50.30	10.13	12.78	1.32	5.42
T8	0.27	6.22	7.63	39.27	10.17	14.47	1.33	5.10
T9	3.51	5.03	7.90	37.08	8.48	9.13	1.96	4.00
T10	3.51	4.61	7.89	55.14	8.52	9.79	1.97	4.01
T11	0.25	5.89	7.79	40.74	10.15	16.69	1.35	8.06
T12	0.28	4.03	7.81	42.39	10.12	12.10	1.34	6.02
T13	0.27	5.71	8.38	43.39	10.14	13.40	1.33	6.30
T14	0.28	4.31	8.61	33.54	10.13	16.88	1.35	7.21
T15	3.51	4.40	8.26	30.67	8.61	9.87	1.98	2.63
T16	3.53	5.50	8.72	53.30	8.47	13.26	2.00	3.85
T17	3.55	5.21	8.54	41.04	8.48	9.83	1.97	4.41
T18	3.54	3.41	8.73	33.28	8.53	8.47	2.03	2.31

Data present mean of three replicates.

9.5.2 Root colonization by mycorrhizal fungi

Generally, root colonization of micro-propagated plants by either AMF1 or AMF2 was weak during two months after transplanting (table 28). However, four and twelve months ago, we observed clearly the intra and extra-radical mycelia, vesicles and arbuscules (fig.24). Frequencies ranged between 27 and 45% regardless of the presence or the absence of compost and AMF kind. The colonization intensities also ranged between 18 and 34% after 4 months. Besides, both kinds of composts slightly decreased the root colonization compared with non-amended treatments, especially during the first 4 months. Indeed, roots of plants amended with CA (33 %) or CB-compost (30 %) were less colonized than plant only inoculated with AMF1 (F= 45 %) or AMF2 (F= 42 %). These results seemed to be normal for the raison that AMF1 is a consortium of four mycorrhizal strains (Bouamri et al., 2006), whereas, AMF2 correspond to unique strain of *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs. Moreover, CA-mineral matter level is higher than this of CB, especially N and P-contents, which limit the AMF-proliferation such as reported by Bouamri et al., (2006). Besides, it was shown that organic matter and mineral nutrients increase and decrease respectively the mycorrhizal proliferation (Gryndler et al., 2006).

By the end of experiment, frequencies and intensities reached 85.32 and 66.41 % for T3, but 81.12 and 49.31 % for T5 respectively (table 28). Recently, the first colonization of micro-

propagated date palm (cv. Boufeggous) by AMF2 was shown with a frequency of 85.85% and intensity of 52.59 % under greenhouse conditions, while in the presence of compost theses parameters were decreased (El Kinany et al., 2019). Nevertheless, its combination with PGPR and compost was assessed for the first time in this study and the root colonization was not greatly affected. The sole work conducted on vitro-seedling of date palm (cv.'Khenizi') using commercial AMF inoculum (BioMyc^{vital}) did not control root colonization but only some root and leaf parameters like plant length and trunk diameter (Shabbir et al., 2010). Furthermore, a work conducted on oldest date palm (Zaghloul cv.) showed the effect of AMF fungi combined with PGPR (*Azospirillum lipoferum*, *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus circulans*) on tree

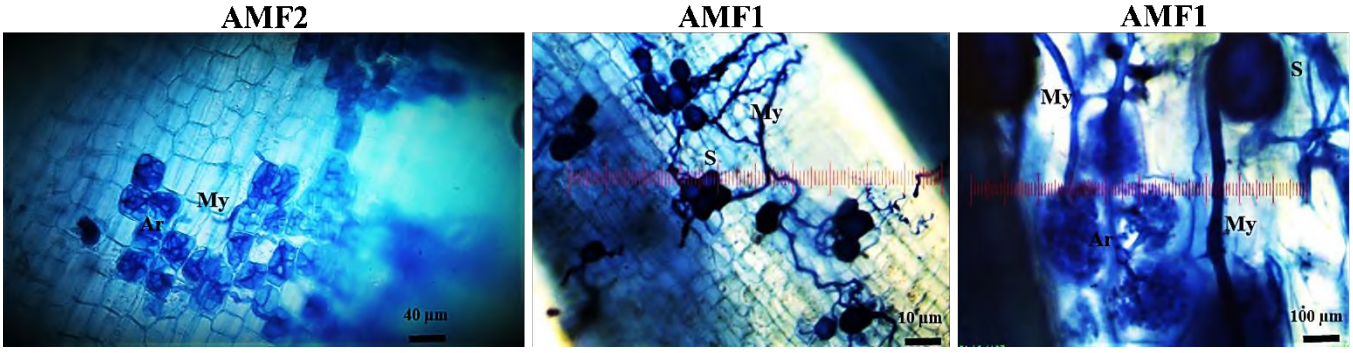

Figure 24: Date palm root colonized by AMF 1 and AMF2 inoculums after coloration technique

growth without any roots colonization assessment (Naser et al., 2016).

My: mycelium, S: AMF spore, Ar: arbuscules.

However, other researchers showed that root colonization frequency in date palm seedling (from seed germination) reached 85 % without compost amendment or PGPR inoculation (Abohatem et al., 2011). In the case of combination between of AMF and PGPR, it was observed that the dual inoculation enhanced more the colonization rate than the unique AMF-inoculation of common bean (Mohamed et al., 2019). Similarly, it was shown that the colonization rate were higher when potato plants were inoculated with *Bacillus sp*. and *Glomus mosseae* (Aguk et al., 2018). On the other side, when compost (20% v/v) was inoculated with AMF (*Claroideoglomus etunicatum*, *Glomus microagregatum*, *Rhizophagus intraradices*, *Glomus claroideum*, *Funneliformis mosseae*, and *Funneliformis geosporum*), colonization intensity was the best (32 %) on tomato plants cultivated under greenhouse for six weeks (Akhter et al., 2015). On lettuce plants cultivated under greenhouse conditions (for 10 weeks), the inoculation of five kind of compost (46 cm^3/pot of 2.5 kg soil) with *Rhizophagus irregularis* increased root colonization intensity (from 35 to 41 %) more than the sole AMF- inoculation (less than 25%) (Solaiman et al., 2019). However, other researcher observed that the colonization rate depend the AMF species and the kind of compost (raw material) (Akpinar et

al., 2019). Surely, Meddich et al., (2019) showed that root colonization intensity was negatively affected by some kind of compost and enhanced by others. Besides, it was shown that colonization intensity was related to compost dose and AMF strain, but local AMF was better than the commercial one regarding colonization rate and some plant growth parameters (Jan et al., 2014).

9.5.3 Roots and shoots parameters

Statistical analysis (table 29) showed that the use of AMF or compost increased significantly the root number of plants. Certainly, the sole CB-amendment (T9) revealed a root number of 14 (table 30). However, based on the multiple comparison, the best root number (17.33) was observed in T18 treatment (CB+AMF2+PGPR), while control plant did not exceed nine roots. As for root weight, all factors, including the sole inoculation with PGPR, affected significantly this parameter at 0.05 level (table 29). The sole inoculation with AMF1 increased the root fresh weight until 52.4 g/plant (T3) compared to control (50.25 g). Moreover, T9 treatment significantly increased the root fresh weight up to 85.2 g/plant (table 30). The interaction between AMF and PGPR also increased this parameter with respective values of 60.35 and 58.3g/plant observed in T4 (AMF1+PGPR) and T6 (AMF2+PGPR). However, the best result was recorded when all factors synergistically functioned with values of 109.1 and 108.6 g/plant found at T17 (CB+AMF2) and T18 (CB+AMF2+PGPR) respectively. At the same time, PGPR, AMF, compost and their interactive action affected significantly the shoot fresh weight of plants (table 29). Indeed, the unique application of compost and AMF gave the values of 169.10 and 156.10 g/plant observed in T5 (AMF 2) and T7 (compost CA) respectively. While, the interaction between factors gave the best values of 174.6 and 172.1 g/plant recorded in T13 (CA+AMF2) and T18 (CB+AMF2+PGPR) respectively. In addition, data analysis (table 29) revealed that both growth rate of length and stem diameter were significantly influenced by AMF, PGPR or compost. The unique inoculation with AMF1 (T3) increased the stem diameter up to 92.44 µm/month (table 30). However, T13 and T18 showed a respective growth rates of 97.93 and 99.53 µm/month compared to control plants (69.80 µm/month). Besides, the inoculation with PGPR (T2) or AMF1 (T3) significantly increased growth rate of length up to 0.98 and 0.92 mm/month respectively. However, the interaction between three factors together increased more this rate. For instance, the best treatments, T2 (PGPR) T12 (CA+AMF1+PGPR) and T18 (CB+AMF2+PGPR), gave the rates of 0.98, 1.03 and 0.91 mm/month (table 30).

Table 28 : Frequency (F %) and intensity (I %) of date palm plantlets (Boufeggous cv.) in three stage of growth under greenhouse conditions

	2 months		4 months		14 months	
Tr.	F	I	F	I	F	I
T1	0	0	0	0	0	0
T2	0	0	0	0	0	0
T3	20.21±3.85	16.5±1.43	45.41±2.25	34.5±2.18	85.32±1.74	66.41±3.81
T4	15.39±5.31	11.75±2.1	33.82±3.29	22.45±2.45	75.43±2.38	51.25±2.46
T5	21.41±4.81	9.75±1.23	42.26±2.81	23.15±3.91	81.12±2.64	49.31±2.71
T6	5.94±1.76	4.75±1.85	27.32±3.27	18.04±2.51	63.81±3.20	35.71±3.16
T7	0	0	0	0	0	0
T8	0	0	0	0	0	0
T9	0	0	0	0	0	0
T10	0	0	0	0	0	0
T11	19.54±3.73	14.83±2.11	33.91±4.13	21.84±3.11	88.23±3.23	45.31±2.81
T12	21.81±2.85	15.31±1.81	34.02±2.89	27.25±2.51	81.4±3.27	49.52±1.41
T13	17.92±1.71	13.28±2.51	29.32±2.81	23.98±2.10	78.91±2.23	40.81±2.18
T14	18.04±2.71	11.71±1.43	31.62±2.31	19.9±2.34	75.32±2.81	43.98±3.91
T15	16.81±2.47	10.21±3.71	30.03±1.36	21.92±3.18	85.71±2.94	48.09±2.44
T16	19.51±1.81	10.95±2.31	28.91±2.71	18.42±2.12	83.17±3.74	44.22±3.61
T17	18.41±2.61	12.71±1.31	29.05±3.51	22.74±2.51	74.12±2.95	47.15±4.11
T18	17.03±3.43	11.71±2.71	30.91±2.46	20.07±3.71	72.03±3.05	43.04±3.21

Data present mean±standard deviation of three replicates.

Regarding the leaves number, variance analyses revealed that it was significantly (table 29) affected by the interaction of AMF and compost. Indeed, the values obtained by T15 (CB+AMF1) and T17 (CB+AMF2) were respectively 7.3 and 8.7 leaves even though the best result (9 and 9.3 leaves) were related to T18 (CB+AMF2+PGPR) and T4 (AMF1+PGPR) (table 30). Similarly, variance analyses showed that the PGPR-inoculation and the interaction between compost and AMF significantly affected the pinnates number (table 29). Based on the multiple comparison, this number was significantly enhanced in all treatments compared to control (table 30). Undeniably, the pinnate number reached a mean value of 3.2 only by PGPR inoculation (T2). What is more, T17 and T18 treatments increased this value up to 4.3 pinnates although the best value (5.3 pinnates) was observed in T4 treatment (AMF1+PGPR). These results corroborated some finding on micro-propagated date palm (Boufeggous cv.) inoculated with AMF2 and amended with compost (25% (v/v)), where growth rate of length and stem diameter were significantly increased, especially by the interaction of these factors (El Kinany et al., 2019). Moreover, the first use of autochthonous PGPR (associated with date palm) was carried out on maize seedlings. It was a *Pseudomonas flurescencs* strain and it significantly improved root number under controlled conditions (Zerrouk et al., 2016). On the other plant species, AMF, PGPR and compost were applied and shown promising results on plant growth and soil fertility. As example, Meddich et al., (2019) showed that plant biomass and leaf nutrients of

date palm seedlings, tomato, wheat, alfalfa and maize were more higher by the compost-AMF-PGPR interation than those only treated by either AMF or compost, while the increasing rate depend absolutely compost sources, plant species and AMF strains. In the same work, it was reported that AMF consortia was better than the single strain regarding colonization intensity and numerous growth parameter or leaf nutrition (Meddich et al., 2019). On lettuce, leek plants and wheat, it was shown that the best plant growth promotion was related to the combination of AMF and compost, but the enhancing rate depend the raw materials, compost properties and compost dose (Akpinar et al., 2019; Jan et al., 2014; Solaiman et al., 2019).

9.5.4 Chlorophyll content.

All treatments induced significant differences regarding the total leaf chlorophyll content in micropropagated date palm cv. Boufeggous (table 29). Indeed, the best value of 4.4 mg/g FW was observed in T2 (PGPR), T3 (AMF1), T5 (AMF2) and T6 (AMF2+PGPR) respectively and the lowest one (4.1 mg/g FW) was related to T15 (CB+AMF1) and T7 (CA) (table 30). It was observed that the interaction PGPR x compost x AMF gave also promising results with values of 4.3 mg/g FW recorded in T14 (CA+AMF2+PGPR), T12 (CA+AMF1+PGPR) and T18 (CB+AMF2+PGPR). Compared to other work, a recent study conducted on micro-propagated date palm (cv. Boufeggous) under greenhouse conditions showed that *G.iranicum* (AMF2) exhibited its significant increasing of chlorophyll content (El Kinany et al., 2019). In addition, under field conditions, other researchers inoculated oldest date palm (cv. Zaghloul) by AMF and PGPR consortium (*Azospirillum lipoferum, Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus circulans*) and showed that chlorophyll content was enhanced in the inoculated trees more than non-inoculated ones (Naser et al., 2016). On the cv. Hayani, in Egypt, some effective microorganisms were applied with dose of 60 and 90 ml/palm/year in field conditions and increased the leaf chlorophyll content compared to non-inoculated trees (Salama et al., 2014). Besides, (Ait-El-Mokhtar et al., 2019) observed that the inoculation of germinated date palm seedling with AMF consortium under greenhouse conditions improved total chlorophyll contents, which was spectrophotometric method after extraction. On tomato plants, it was reported that *Pantoea agglomerans* and *Aureobasidium pullulans* did not reveal a significant difference between control and inoculated plants when the inoculation time is longer (30 day), while a significant increasing of chlorophyll content was observed when the interval between inoculations was only 15 days (El kinany et al., 2017). Thus, the interval between subsequent applications of PGPR can influence the plant response to plant-PGPR interaction. In addition, other researchers showed that the unique inoculation with PGPR consortium significantly

increased the total chlorophyll content after 60 day of transplanting of sweet pepper plants under field conditions (L. Zhang et al., 2019). When the PGPR interact with AMF, (Nadeem et al., 2014) reported that its effect on plant growth parameters depend the PGPR and AMF strains and plant species. However, it was observed that the best growth promotion was recorded by AMF and PGPR and/or compost interaction (Aguk et al., 2018; Armada et al., 2016, 2014; Meddich et al., 2019; Sharma and Sharma, 2017).

Table 29: Degree of signification of the effects of AMF, PGPR, compost and their interactions on root and shoot parameters of micropropagated date palm under greenhouse conditions during 14 months.

source	Root number	Root weight	Shoot weight	Growth rate of stem	Growth rate of length	Chlorophyll content	Leaves number	Pinnates number
AMF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.341	0.439	0.904
PGPR	0.170	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.051	0.018
Compost	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.621	0.594
AMF * PGPR	0.468	0.000	0.000	0.100	0.000	0.021	0.090	0.034
AMF * Compost	0.527	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000
PGPR * Compost	0.433	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009	1.000	0.384
AMF*PGPR * compost	0.107	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.512	0.417

Table 30: Rooting parameters of micropropagated date palm after 14 months of growth.

Tr.	Root number	Root fresh weight (g/plant)	Shoot fresh Weight (g/plant)	Growth rate of Stem (µm/month)	Growth rate of plant length (mm/month)	Chlorophyll Contents (mg/g FW)	Leaves number	Pinnates number
T1	9 k	50.2 h	141.9 d	69.8 d	0.87 c	4.3 ab	7.2 d	2.2 f
T2	10.3 ijk	25.9 i	96.2 i	73.67 d	0.98 a	4.4 a	7.8 bcd	3.2 cdef
T3	11.7ghij	52.4 h	142 d	92.44 b	0.82 d	4.4 a	8.8 ab	4.0 abcd
T4	10 jk	60.3 g	133.1 ef	84.76 c	0.82 d	4.3 ab	9.3 a	5.3 a
T5	11 hijk	45.3 g	169.1 b	67.29 d	0.92 b	4.4 a	8.2 abcd	3.8 abcde
T6	11 hijk	58.3 g	124.7 g	66.9 d	0.92 b	4.4 a	8.2 abcd	3.8 abcde
T7	12.3 fghi	58.8 g	156.1 c	78.1 d	0.75 d	4.1 cd	8.5 abcd	3.7 bcde
T8	12.7 efgh	77.6 e	131.1 f	71.73 d	0.76 d	4.3 ab	8.8 ab	4.8 ab
T9	14 bcdef	85.2 d	134.3 ef	88.15 c	0.62 e	4.3 ab	8.8 ab	3.8 abcde
T10	13 defgh	94.2 c	160.3 c	75.13 d	0.62 e	4.3 ab	8.5 abcd	4.2 abcd
T11	13.7 cdefg	96.2 c	136 e	85.96 c	0.9 b	4.3 ab	8 ab	3.5 bcdef
T12	14.7 bcde	69.1 f	156.3 c	83.12 d	1.03 a	4.3 ab	9.3 a	3.5 bcdef
T13	14.3 bcdef	75.8 e	174.6 a	97.93 a	0.68 e	4.2 bc	8 ab	3.3 cde
T14	15.7 abc	83.5 d	145.9 d	71.94 d	0.86 d	4.3 ab	7.67 bcd	2.5 def
T15	15 bcd	69.4 f	111.3 h	66.43 d	0.65 e	4.1 a	7.33 ab	2.3 ef
T16	16 ab	100.4 b	160.1 c	67.28 4	0.66 e	4.2 c	8.5 abcd	3.8 abcde
T17	15.7 abc	109.1 a	159.5 c	91.05 b	0.55 f	4.1 d	8.7 abc	4.3 abc
T18	17.3 a	108.6 a	172.1 ab	99.53 a	0.91 b	4.3 ab	9 ab	4.3 abc

Data present the mean of six replicates**.** Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test.

9.5.5 Leaf nutrition

As shown in the table 31, compost, AMF and PGPR as well as their interactive effect significantly affected the N-contents in leaf, except the AMF-PGPR interaction. Indeed, the inoculation with AMF1 (T3) or AMF2 (T5) increased the total nitrogen up to 4.23 and 4.26 % respectively (table 32). Furthermore, the AMF1- PGPR interaction (T4) gave a more promising result (6.78 %) compared with control plants (3.17 %). As for P-content, only the compost-PGPR interaction that did not significantly affect its level in leaf (table 31). In fact, T5, T7, T9 and T18 treatments gave a higher P-content basing on the multiple comparison test, while, the best value was observed by AMF1-PGPR interaction (T4) as recorded for N-content (table 32). The K-content was significantly affected by either individual factors or their interactions (table 31). The highest contents were found at T9 (CB) and T10 (CB+PGPR) treatments with respective values of 5.23 and 4.62 %. Similarly, either PGPR, AMF, compost or their interactive effect significantly affected the Mg-content (table 31). The best content of 0.44 % was obtained by T9 treatment compared with control (0.39 %). Finally, only PGPR inoculation that did not significantly affect the Ca-content (table 31) and its value was significantly higher for the T9 (CB) and T10 (CB+PGPR) treatments compared to control (table 32). Their values were respectively 1.48 and 1.31%.

Leaf micronutrient analysis showed that AMF, PGPR and compost as well as their interaction highly and significantly affected the Zn, Cu and Mn-contents in leaf (table 31). The highest Zn-contents were found at T9 (CB) and T15 (CB+AMF1) treatments with respective values of 23.20 and 26.1 mg/kg DW, while the value of control plants did not exceed 18.84 mg/kg DW (table 32). However, Cu-content was better for T15 (CB+AMF1) treatment followed by T2 (PGPR) and T3 (AMF1). Their values reached 5.30, 3.11 and 2.81 mg/kg DW compared to control plants (2.52 mg/kg DW). As for Mn-content, it was also affected significantly by AMF, PGPR, compost and their interactive effects as well (Table 31). Surely, their best values were observed with T2 (PGPR), T4 (AMF1+PGPR) and T6 (AMF2+PGPR) compared with control plants (table 32). They were respectively 731.69, 822.19 and 730.06 mg/kg DW, while control plant did not exceed 445 mg/kg DW. At the same time, leaf Fe-content was significantly affected by AMF and PGPR-inoculation and compost-PGPR-AMF interaction (table 31). However, the synergetic effect gave the best results such as illustrated in Table 32. Indeed, Fe-content was the highest for T9 (CB), T11 (CA+AMF1), T12 (CA+AMF1+PGPR) and T15 (CB+AMF1) more than control (T1). These findings were in agreement with those found by (El Kinany et al., 2019) who showed that the sole compost amendment (25% v/v), increased N and P-contents until 2.13 and 0.16% respectively in micropropagated date palm seedling (cv.

Boufeggous) . In our study, we could increase these values up to 5.36 % (N) and 0.84% (P) by the interaction of compost, PGPR and AMF. What is more, the single dual inoculation of AMF1 and PGPR increased more these values. Previous study showed that compost amendment and AMF2 alone did not increase the leaf Ca-content more than control plant under greenhouse conditions (El Kinany et al., 2019). In field conditions, researchers inoculated oldest date palm by AMF and PGPR-consortium and showed a significant increasing of N, P and K-content for inoculated plants (Naser et al., 2016). This nutrition improvement may be attributed to effect of compost, as a buffering agent, and PGPR inoculum on soil fertility such as described by (Formowitz et al., 2007; Higa, 1991; Ibrahim, 2012). In the other hand, microelements enhancement can be related to the synergetic functions of compost and AMF such as previously reported (El Kinany et al., 2019; Meddich et al., 2019; Raklami et al., 2019). Indeed, (Bona et al., 2017) reported that the co-inoculation of tomato plant under field conditions with AMF (*Rhizophagus intraradices, Glomus aggregatum, Glomus viscosum, Claroideoglomus etunicatum and C. Claroideum* and PGPR strains (*Pseudomonas fluorescens*) increased more the fruits quality including nitrogen, amines and organic acids compared to the single inoculation. Moreover, study showed the presence of compatible-PGPR strains with AMF in mycorhizosphère, they can promote growth of corn plants in growth chamber experiment (Magallon-Servín et al., 2019). Under field conditions, effective microorganism could increase leaf microelements of Hayani cultivar, especially Fe, Zn, Cu and Mn-contents (Sheren Adel Abd-ElHamied, 2014). Besides, Meddich et al., (2019) showed that leaf contents of macro and microelement were significantly enhanced by AMF-PGPR-compost interaction on various plant species under filed conditions (alfalfa, lettuce, leek, wheat and date palm seedlings). The same work revealed that the local AMF consortium was the best in the case of some growth parameters and plant species like date palm, but the single strain (*Glomus irregularis* was better for other plants species like maize and alfalfa. That suggested that plant growth promotion was related to the kind of interaction, plant species and microbial strains. As our results revealed, some microelements content was negatively affected depending the factors. This statement was also deduced by other researchers when different AMF species of *Glomus* (*G. constrictum*, *G. deserticola* and *G. mosseae*) resulted in an increase in leaf copper (Cu) concentrations and in a decrease of B, Mn, and Zn concentrations depending on the mycorrhizal species (El Kinany et al., 2019; Trouvelot et al., 2015). We deduced that the majority of macro and micronutrients were improved by the interaction between at least two factors (AMF, PGPR or compost). Thus, synergetic functions were suggested to improve micro-propagated date palm nutrition.

Table 31: Degree of significant at P <0.05 of the effect of Compost, AMF and PGPR on macro and microelements contents in micropropagated date palm.

Source	N	P	k	Mg	Ca	Zn	Cu	Mn	Fe	B
AMF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
PGPR	0.000	0.002	0.000	0.298	0.240	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Compost	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.101	0.000
AMF * PGPR	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	0.06	0.000	0.000	0.010	0.000
AMF * Compost	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
PGPR * Compost	0.000	0.000	0.000	0.114	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AMF * PGPR * compost	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000

Table 32: Leaf macro and microelements contents in micropropagated date palm after 14 months under greenhouse conditions.

Tr.	Leaf Macro elements (%)					Leaf Microelements (mg/kg DW)				
	N	P	K	Mg	Ca	Zn	Cu	Mn	Fe	B
T1	3.17 f	0.77 bcd	4.53 b	0.39 b	1.18 c	18.84 c	2.52 e	445.00 g	116.9 cde	124.33 c
T2	4.98 bc	0.78 bcd	2.78 h	0.25 ef	0.74 g	17.50 c	3.11 b	731.69 b	108.23 def	119.12 d
T3	4.23 d	0.58 hij	2.58 i	0.21 gh	0.60 h	13.60 ef	2.81 c	461.14 f	86.36 fgh	65.73 ij
T4	6.78 a	1.06 a	2.66 j	0.24 ef	0.78 g	13.36 ef	1.64 i	822.19 a	75.17 gh	70.28 h
T5	4.26 d	0.84 b	2.96 hi	0.22 gh	0.66 h	12.67 fg	1.90 g	505.22 d	110.94 def	70.42 h
T6	4.82 c	0.73 cdef	2.77 h	0.25 ef	0.97 f	17.39 c	1.79 h	730.06 b	93.23 efgh	137.22 b
T7	3.22 f	0.81 b	3.99 c	0.29 de	0.92 f	17.33 c	1.91 g	286.42 k	99.46 defgh	50.02 k
T8	3.81 de	0.77 b	3.91 c	0.35 bc	1.16 cd	13.54 ef	0.7 l	272.03 l	96.45 efgh	108.25 e
T9	2.69 g	1.03 a	5.23 a	0.44 a	1.48 a	23.20 b	2.32 f	374.98 h	162.15 a	179.50 a
T10	3.43 ef	0.74 cde	4.62 b	0.38 b	1.31 b	17.84 c	2.62 d	214.24 j	74.1 h	92.04 f
T11	2.69 g	0.69 defg	3.91 c	0.36 bc	1.16 cd	15.57 d	1.94 g	319.19 i	143.08 abc	86.27 g
T12	3.92 d	0.56 ij	3.72 d	0.31 d	1.11 d	12.52 fg	1.63 i	223.02 n	128.12 bcd	65.25 j
T13	3.31 f	0.65 efgh	3.48 e	0.25 ef	0.74 g	17.42 c	0.60 m	246.17 m	86.00 fgh	39.04 l
T14	5.36 b	0.74 cde	3.22 f	0.23 g	0.61 h	12.54 fg	0.51 n	495.77 e	98.67 efgh	47.0 k
T15	3.31 f	0.51 k	3.63 d	0.33 cd	1.03 e	26.1 a	5.30 a	270.42 l	153.15 ab	69.39 hi
T16	3.82 de	0.66 efgh	3.33 f	0.28 de	0 .94 f	14.43 de	1.5 j	296.27 j	104.36 defg	84.88 g
T17	3.45 ef	0.61 ghi	3.24 f	0.18 h	0.54 i	10.27 h	0.40 o	198.00 o	76.04 gh	63.00 j
T18	4.87 c	0.84 b	2.74 h	0.29 de	0.74 g	11.70 g	1.23 k	666 c	77.28 gh	47.40 k

Data present the mean of three replicates**.** Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test.

9.6 Conclusion

This work constitute a scientific approach to assess the effectiveness of organic fertilizers (tow compost CA and CB) combined with AMF and/or PGPR inoculums on micro-propagated date palm growth (cv. Boufeggous). At first, we could show that micro-propagated date palm could be strongly colonized with both autochthonous consortium and commercial AMF. Experiment showed clearly the significant and synergetic effects of AMF and PGPR and both CA and CB-composts on soil properties improvement. Furthermore, the synergetic functions of three factors was the best for all growth parameters and nutrient status of date palm. Besides, only the inoculation with AMF and/or PGPR would be effective in term of growth promotion, including

leaf and soil nutrition. Moreover, the best interaction recorded for micropropagated date palm growth promotion is compost (CB)-AMF1-PGPR, because the majority of soil properties, growth parameters, leaf macro and microelement were greatly improved by this treatment. In addition, CB-compost is more compatible with AMF1 inoculum (autochthonous) than AMF2 as this compost contains high level of organic matter and low mineral matter, which increased root colonization and soil organic matter in poor soil like oasis. These findings could constitute supporting results for filed application of these biofertilizers in the oasis and arid regions where date palm is the main culture and income for population.

9.7 Acknowledgement

This work was partly supported by the r4d project: ‘‘Application of organic bio-fertilizer technology to improve the sustainability of date palm production and cultivation with the grand number IZ07Z0_160904” funded by the r4d program. It is a Swiss Program for Research on global Issues for Development, a partnership of the Swiss Agency for Development and Cooperation and the Swiss National Science Foundation.

Chapitre 6:

Effet du compost, des champignons mycorhiziens arbusculaires et des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes sur la bioprotection du palmier dattier contre la maladie du Bayoud

Résumé

Introduction et problématique

Depuis 2008, la culture du palmier dattier a bénéficié d'une grande importance au Maroc. En effet sa mise à niveau n'a commencé qu'avec le lancement du Plan Maroc Vert comme il est décrit au chapitre N°5, après la destruction de 2/3 de la palmeraie marocaine en un seul siècle à cause de la maladie de la fusariose vasculaire « Bayoud » (El Bouhssini and Faleiro, 2018). Les objectifs cruciaux de ce Plan sont la reconstitution des palmeraies préexistantes et l'extension de nouvelles plantations sur une surface supplémentaire de 17 000 ha, ainsi que l'établissement de plusieurs unités frigorifiques, notamment, dans la région Drâa-Tafilalet (MAPMDREF, 2013). Malgré le succès des plantations des vitro-plants tout au long des axes vierges comme celui de Meski-Boudnib, ceux-ci restent toujours menacés par la maladie du « Bayoud » qui peut sévir toutes les palmeraies si les pratiques culturales et les mesures prophylactiques ne sont pas strictement appliquées par les agriculteur (El Bouhssini and Faleiro, 2018). En outre, ces zones sont plus vulnérables à toute contamination par l'agent pathogène, *Fusarium oxysporum* f. sp. albedinis (*Foa*), car les voies de contamination sont plus diverses, à savoir, l'échange du matériel d'une palmeraie infestée vers une autre indemne, l'eau d'irrigation issue des inondations ou des barrages (El Bouhssini and Faleiro, 2018; Sedra, 2012). De ce fait, la protection des vitro-plants devienne une nécessité incontournable pour deux principales raisons ; d'abord, les palmeraies nouvellement crées sont cultivées par des variétés noble et très sensibles (Mejhoul et Boufeggous) et ont une valeur très marchande au niveau national et internationale. Deuxièmement, l'application des fongicides de synthèse chimique n'est plus efficace et ne sert que pour une désinfection superficielle du matériel végétal ou traitement préventif dans les zones qui sont encore indemnes de la maladie comme les palmeraies de la Tunisie (El Bouhssini and Faleiro, 2018; El Modafar, 2010; Jaiti et al., 2007). De plus, ces nouvelles plantations sont entourées de palmeraies traditionnelles déjà connues en tant que foyers du « Bayoud ». Ajoutons à cela que l'activité biologique du sol, notamment celle des microorganismes plus performants en terme d'induction de la résistance contre le « Bayoud », est trop faible, particulièrement dans les nouvelles zone d'extension influencé par le phénomène de désertification et la salinité (El hafyani et al., 2019; Lamqadem et al., 2018; Mainguet et al., 2011b) .

Dans ce contexte s'inscrivent les objectifs de ce chapitre qui portent sur l'étude de l'effet de trois facteurs ; compost, champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF) et bactéries promotrices de la croissance (PGPR), dans le contrôle de la maladie à travers :

L'évaluation des paramètres de croissance des vitro-plants (cv. Boufeggous) suite à leur inoculation avec une souche pathogène de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* ;

Les analyses de la nutrition foliaire de ces vitro-plants ;

L'évaluation des teneurs en polyphénols et en peroxyde d'hydrogène ; deux composés intervenant dans les réactions de défense du palmier dattier contre le « Bayoud »

Matériels et méthodes

Le dispositif expérimental (Fig. 25) adopté est un dispositif en blocs aléatoires complets (DBAC) avec deux répétitions de chaque traitement au sein du bloc (Table 33). Le substrat de base est un sol sablonneux pauvre en matière organique et en élément nutritifs (chapitre 4). Ce type du sol a été choisi pour se rapprocher des conditions de terrain oasiens dont le sol est pauvre en matière d'activité biologique et de nutrition minérale (chapitre 4), tandis que les vitro-plants, au stade d'acclimatation, ont été importés d'un laboratoire privé de la culture in-vitro (Oasis Biotechnologie, Maroc). Les traitements ont été réalisés comme il illustré sur le tableau 33 1. En effet, deux différents composts, dont les propriété physico-chimiques ont été décrits auparavant (chapitre 5), ont été utilisés, CA et CB, afin d'aboutir respectivement à un taux de matière organique de 1 et de 2 %. Après les calculs, et en prenant en considération les analyses du sol, la dose de chaque compost a été de 500g par pot de 10 litre.

Les champignons mycorhiziens testés sont au nombre de 2 inocula, AMF1 ; un consortium local de 4 souches isolées et identifiées précédemment (Bouamri et al., 2006). Le deuxième inoculum est une souche commerciale de *G. iranicum* Błaszkowski, Kovács & Balázs (chapitre 5). Ces deux inocula sont préalablement multipliés par la culture de piégeage dans laquelle *Zea mays* et *Sorghum bicolor* ont été impliqués en tant que plantes hôtes. Cette étape de multiplication a été réalisée en deux cycles successifs sous serre à l'Ecole Nationale d'Agriculture de Meknès (28°C, humidité relative ambiante). Par la suite, les substrats riches en spores et en racines colonisées des plantes hôtes sont récolté pour être utilisé comme inoculum comme il a été détaillé en chapitre 5. La dose de chaque inoculum utilisé et 100g/pots réparti en deux reprises (50g chacune). La première inoculation a été fait au cours de transplantation des vitro-plants sous serre, bien que la deuxième soit effectuée après deux mois de croissance sous serre. Afin d'inoculer les CMA, une masse de 50g d'inoculum a été appliquée sur le système racinaire des vitro-plants au niveau de 5 cm en dessous de plateau (collet) de la plante.

En ce qui concerne les PGPR, il s'agit d'un consortium sélectionné de quatre souches précédemment isolées et criblées (chapitre 3). La préparation de l'inoculum PGPR a été réalisée dans le milieu solide YPGA. En fait, les souches pures ont été ensemencés par la technique de stries rapprochées et incubé à 28°C pendant 72 heures. La récupération de l'inoculum PGPR a été faite dans l'eau distillée stérile au moyen d'un racleur. La suspension de chaque souche PGPR a été ajustée à une concentration de 10^9 ufc/ml à l'aide d'un spectrophotomètre et sous une longueur d'onde de 600 nm. Chaque vitro-plant destiné à l'inoculation avec les PGPR (table 33) a reçu un volume de 80 ml au niveau de la rhizosphère, précisément à une zone de 3 cm du plateau (collet) de la plante. L'inoculation des vitro-plants a été effectuée en deux reprises ; trois mois après la transplantation et deux semaines avant l'infestation avec la souche pathogène *Foa.* Les plants de traitement témoins sont inoculé en parallèle et d'une façon similaire avec 80 ml d'eau distillée stérile.

Afin d'induire la maladie de la fusariose vasculaire, une souche pathogène de *Foa* a été isolée et identifiée (chapitre 1). La régénération et la production en masse des spores sont réalisées dans le milieu de culture PDA à 28°C et pendant 15 jours d'incubation. Ensuite, la récupération des spores a été faite dans l'eau distillée stérile, le jour d'inoculation, et ajustée à 10^6spore/ml sous un microscope optique en utilisant la cellule de Bürker. Dans le sens de faire une analogie avec les conditions au champ, l'infestation des vitro-plants a été faite par l'incorporation de la suspension sporale au sein de la rhizosphère. Pour ce faire, 25 ml de celle-ci a été introduit à une distance de 5 cm du collet et une profondeur de 3 cm. En même temps, les vitro-plants témoins ont été traité avec 25 ml d'eau distillée stérile.

Pour que l'évaluation du compost, de CMA et de PGPR soit rigoureuse, le suivi de la colonisation racinaire par les champignons mycorrhiziens (AMF1 et AMF2) a été abordé en trois stades (2, 4 et 12 mois après l'inoculation). Pour ceci, la technique de coloration de adoptée est celle décrite par (Phillips and Hayman, 1970). Par la suite, les analyses de la nutrition foliaire, y compris les microéléments ont été réalisées à la fin de l'essai. En même temps, les analyses biochimiques ; teneurs en polyphénols solubles totaux et en peroxyde d'hydrogène ont été déterminées sur des échantillons racinaires de tous les traitements, y compris les vitro-plants témoins (négatifs et positifs). L'essai a été conduit sous serre à l'Ecole Nationale de l'Agriculture de Meknès avec une photopériode et une humidité relative ambiante, bien que la température ait été réglée à 32°C.

Les données ont été analysées statistiquement en adoptant l'analyse de la variance avec 4 facteurs fixes (Compost, CMA, PGPR et *Foa*) et un facteur aléatoire (bloc) au seuil $\alpha = 5\%$ à l'aide du logiciel SPSS V20. Par la suite, les histogrammes et les courbes en été édités par le

logiciel Graph Pad Prisme (V8). La comparaison multiple entre les traitements a été obtenu par le test de Duncan.

Résultats et conclusions

Les résultats ont montré, d'abord, une évolution exponentielle de la colonisation racinaire par les deux inocula AMF1 et AMF2, bien que les premières structures mycéliennes intra-racinaires n'aient apparus qu'après 2 mois d'inoculation (Fig. 25).

Les paramètres racinaires ont été significativement affectés (Annexes 55, 56 and 57) par le compost, les CMA, les PGPR et l'infestation par le pathogène Foa. D'ailleurs, l'inoculation avec le pathogène a réduit d'une moitié le poids frais racinaire et a baissé significativement le poids frais de l'appareil caulinaire (table 34). L'inoculation unique avec les CMA ou les PGPRs ne rétablis pas la biomasse normale des vitro-plants (celle enregistrée chez les plants non inoculé et non infesté par le pathogène Foa). Cependant l'amendement avec du compost seul et/ou les inocula (PGPR et les CMA) augmente significativement le pois frais racinaire et caulinaire (table 34). A titre d'exemples, les traitement T7, T8 et T15 ont donné des poids frais respectifs de 59 77 et 81 g/plant. Alors que les poids frais de l'appareil caulinaire enregistrés chez les mêmes traitements sont respectivement 159, 125 et 122 g/plant, sachant que ceux de témoins sont 50 g/plant pour le poids racinaire et 141 g/plant pour le poids de l'appareil caulinaire. Ajoutons à cela que les meilleures valeurs de la biomasse ont été de 98 g/plant dans le cas de l'appareil racinaire et de 181 g/plant dans le cas de l'appareil caulinaire. Ces deux valeurs sont enregistrées respectivement chez les traitement T10 et T4. En outre, le nombre de racines a été significativement amélioré chez tous les traitements par rapport au témoins (infesté et non infesté par le pathogène). Le meilleur nombre de racine (15.7 en moyenne) est enregistré chez le traitement T17 (table 34).

L'analyse de la variance a révélé qu'aussi bien les macro- et les microéléments foliaires ont été significativement affectés (Annexes 58-67) par le pathogène *Foa*, les inocula de PGPR et des AMF et le compost (table 35). Seulement AMF1 et AMF2 ou PGPR ont augmenté les teneurs de certains éléments par rapport aux vitro-plants témoins infesté ou non avec le pathogène *Foa*, à savoir, l'azote, le potassium, le magnésium et le zinc (table 36 et Fig. 27). Cependant l'effet de l'interaction de trois ou quatre facteurs s'est avéré cruciale et hautement significatif ($p < 0.0001$). D'ailleurs, les meilleurs teneurs de macro- et de microéléments ont été enregistrées chez les combinaisons. A titre d'exemple, les plus grandes valeurs de N, du P, du K, et du Mg foliaires ont été trouvés chez le traitement T6, ce sont respectivement 5,32, 1,12, 4,81 et 0,45 % (Fig. 27 et 28). Par contre, la meilleure valeur du Calcium foliaire a été obtenue lorsque les 4 facteur s'interagissent ; c'est le cas de traitement T17 (Fig. 28).

D'autre part, les analyses biochimiques ont mis en exergue l'effet hautement significatif (Annexes 68 and 69) de facteurs étudiées (AMF, PGPR, Compost et *Foa*) et de leur interaction (Table 37). La première constatation est que l'inoculation avec le pathogène seule a induit une production élevée de polyphénols solubles et du peroxyde d'hydrogène par rapport aux témoins négatifs (vitro-plants non infestés) (Table 38). De plus, l'inoculation avec les PGPR et AMF2 augmenté le taux de production de polyphénols solubles respectivement jusqu'à 15,23 et 24.87%, tandis que ceux de la production de peroxyde d'hydrogène ont été respectivement 8,17 et 12,52 % (table 38). L'interaction de tous les facteurs a enregistré les meilleurs taux de production par rapport aux vitro-plants témoins (infestés avec *Foa*). Effectivement, les traitements T16 et T18 ont donné respectivement des taux de productions de polyphénols de 42,67 et de 47,98 %. Les vitro-plants de mêmes traitements ont abouti aux taux respectifs de production de peroxyde d'hydrogène de 20,02 et 21,59 % (table 38).

Ces résultats sont avérés prometteurs dans le sens où les AMF (AMF1 et AMF2), les PGPR et le compost (CA et CB) ont tous significativement affecté la nutrition des vitro-plants même si le pathogène seule ait affecté négativement l'assimilation de certains éléments nutritifs. En outre, l'analyse de l'interaction a mis en évidence que l'effet de chaque facteur dépend de la modalité des autres facteurs. Pour cela, on a pu remarquer que les PGPR affectent différemment les teneurs en élément nutritifs et celles des composés de défense selon qu'ils s'interagissent avec AMF1, AMF2, CA ou CB. La même constatation pourrait être projetée sur les autres facteurs et modalités. A titre d'exemple, le taux de production de peroxyde d'hydrogène chez les vitro-plants inoculés avec les PGPR a été 15.06 % lorsqu'ils ont été combiné avec AMF1 et 16.77 % lorsqu'ils ont été combinés avec AMF2.

Ce chapitre a donné naissance à une publication qui serait soumise par la suite.

10 Publication 6:

Fusarium wilt control in date palm (c.v Boufeggous) using compost, arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria: application on micro-propagated plantlets under acclimatization stage

10.1 Abstract

To restore date palm grove and establish a new plantation in oases, the culture of micro-propagated plantlets is exclusively adopted. However, the problem of Fusarium wilt ("Bayoud" disease) constitute a challenging obstacle as serious disease. To limit its dissemination, inhibit the infection of new plantation and enhance the defense reaction in date palm, a biological and ecological approach was assessed in this work. For this reason, we aimed to investigate the synergetic effects of compost, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to protect mircopropropagted plantlets (cv. Boufeggous) infested with *Foa*. Two commercial compost; CA and CB, and two inoculums; autochthonous AMF1 and commercial AMF2 were used. In addition, autochthonous PGPR-consortium associated with date palm rhizosphere was involved. Efficiencies of these three factors (AMF, compost and PGPR) were examined on micro-propagated plantlets infested with a pathogen strain of *Foa* to control Fusarium wilt disease under greenhouse conditions. Firstly, the monitoring of roots colonization showed that the colonization of root system of micro-propagated plantlets by either AMF1 or AMF2 increased exponentially during 12 months. The frequency and intensity exceed respectively 80 and 52%. In addition, compost doses did not greatly influence these parameters. Leaf macronutrients contents were significantly increased ($p < 0.05$), especially for plantlets amended with compost. Besides, micronutrients contents were significantly and highly increased by either PGPR, AMF or compost amendment. The best results were recorded from the combination of three factors and variance analysis revealed that the interaction between factors affected greatly the macro and micro-nutrient contents in leaves. On the other hand *Foa* inoculation was necessary to trigger phenolic compound and hydrogen peroxide increasing in roots system. However, the best levels were detected when compost, AMF and PGPR functioned together. This finding suggested clearly the synergetic effects of compost, AMF and PGPR to limit Fusarium wilt and enhance the defense in noble cultivar (Boufeggous) of micro-propagated plant since their acclimatization stage.

Key words: micro-propagated date palm, Fusarium wilt disease, AMF, compost, PGPR, biological control

10.2 Introduction

To restore the palm groves and establish novels groves, Morocco adopt exclusively the culture of micro-propagated, healthy and vigorous plantlets from tissue culture technique (MAPM, 2013). The plantation of date palm offshoot was absolutely stopped, especially in "*Bayoud"*-free zones (MAPM, 2013). "Bayoud" disease or Fusarium wilt of date palm is caused by the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (*Foa*) Kill. & Maire (Imperfect fungi, Moniliales, Tuberculariaceae) and now it affect most of Morocco's palm groves (previously established) (El Bouhssini and Faleiro, 2018). Chemical fungicides are inefficient and harmful for oases ecosystem and human health (Saaidi, 1992). The naturally resistant/tolerant cultivars produce a worse quality of date fruit and its tolerance/resistance due to only the activity of some peroxidase and phenolic compounds accumulation (Abohatem et al., 2011; Jaiti et al., 2008, 2007). Consequently, vascular wilt of date palm become a challenging problem, especially in free-zone and its control must be based on other approaches to limit the infection of newly established farms.

At first, the limited development of the root system in date palm and its potential colonization with AMF in arid regions (Al-Yahya'ei et al., 2011; Bouamri et al., 2006), suggested that they benefit greatly from mycorrhizal relationship. Furthermore, AMF may play a role in the formation of stable soil aggregates, building up a macro porous structure and allow penetration of water and air through glomalin formation (Jeffries et al., 2003). In addition, it was reported that arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) might be control soil born-plant pathogens including *Phytophtora* and *Fusarium* species (Al-Karaki, 2013; Vigo et al., 2000). Their involvement in *Fusarium* wilt management was studied previously on germinated seedlings of date palm and results showed that their contribution is related to the accumulation of some phenolic compounds like hydroxycinnamic acid and their derivatives (Jaiti et al., 2008, 2007). On the another side, compost extract was *in vitro* effective to control date palm Fusarium wilt (El Kinany et al., 2017a). These findings suggest that the application of compost in date palm rhizosphere may guaranty a protection zone around plants. Another approach, for Bayoud disease control, was the use of antagonist bacterial species against *Foa* (Dihazi, 2012). On the other pathosystem, researchers isolated and identified some plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) from cucumber rhizosphere and showed their effectiveness on suppression of *Phytophthora capsici* in treated seedlings compared with non-treated ones (Islam et al., 2016). However, studies on autochthonous PGPR and their application on micropropagated date palm are still missed. Besides, researches carried out on date palm

rhizosphere showed clearly that the rhizosphere might be rich with effective PGPR (chapter 4).

For this reason, we aimed to assess the effect of compost, AMF and PGPR on date palm vitro-plants in term of Fusarium wilt control. In this experiment, for the first time we combine between compost amendment, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) previously isolated and functionally characterized (chapter 4). Two different composts (CA and CB), a consortium of PGPRs and two AMF inoculums; commercial (AMF2) and autochthonous (AMF1) (chapter 5), were involved. This approach aimed to (i) monitor roots colonization of micro-propagated date palm (c.v Boufeggous) in the acclimatization stage and the assessment of root and shoots parameters and leaf nutrition as well; and (iii) the quantification of soluble phenolic compounds and hydrogen peroxide within root system.

10.3 Materials and methods

10.3.1 Experimental set up

A total of 108-micropropagated plants (cv.Boufeggous) were used for the greenhouse experiment. They have been divided firstly into three plots of 36 plants each. Two plots of 36 plants each were amended with compost CA and compost CB respectively. The other plot (36 plants) constitute a non-amended control plot. Subsequently, each plot of 36, including control plants, was divided into three subsets of 12 plants each; one subset was inoculated with AMF1 (autochthonous consortium), the second with AMF2 (*G.iranicum*) and the third one constituted the control subset. Three months ago, each subset of 12 plants, including control subset, was divided into 2 small-groups of 6 plants each. The first one was inoculated with PGPR (chapter 5), but the second one was non-inoculated. Four months later, treatments (table 33) were inoculated with pathogen *Foa*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, previously isolated and identified (El Kinany et al., 2017a). Similarly, 6-micropropagated plantlets were used for control treatment (non-infested plants). Finally, we could establish 18 treatments to control date palm defense against Fusarium wilt and control treatment. Besides, positive control was added, where plants were only inoculated with pathogen (*Foa*). Thus, there are 19 treatments and three blocks, each one contains 38 experimental units (plants).

All treatments were perfected in three replicates according to completely randomized design (Fig. 25).

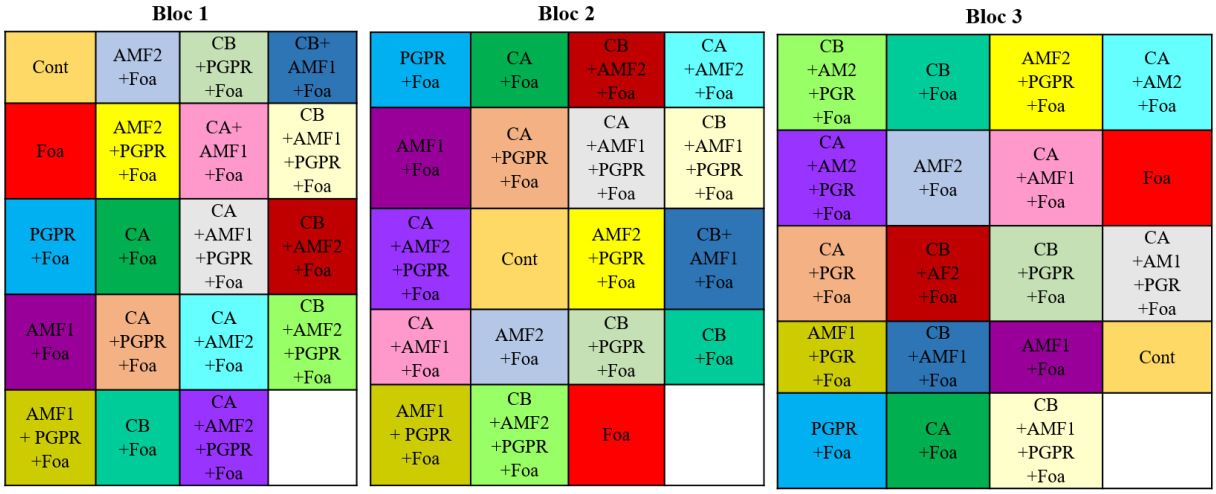

Figure 25: Randomized complete-block designs (RCBD) in greenhouse conditions

AMF1: Autochthonous inoculum, AMF2: *Glomus iranicum* strain, PGPR: autochthonous consortium and Foa: *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, CA = compost CA, CB = compost CB, each treatment means two replicates (six experimental units).

Table 33: Treatment of greenhouse experiment (CA and CB: commercial composts; AMF1: autochthonous consortium of AMF; AMF2: commercial strain of *Glomus iranicum*; PGPR: autochthonous consortium of selected strains and *Foa*: *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*).

Cod	Signification	Cod	Signification
T0	Control	T10	CB + PGPR + *Foa*
T1	*Foa*	T11	CA + AMF1 + *Foa*
T2	PGPR + *Foa*	T12	CA + AMF1 + PGPR + *Foa*
T3	AMF1 + *Foa*	T13	CA + AMF2 + *Foa*
T4	AMF1 + PGPR + *Foa*	T14	CA + AMF2 + PGPR + *Foa*
T5	AMF2 + *Foa*	T15	CB + AMF1 + *Foa*
T6	AMF2 + PGPR + *Foa*	T16	CB + AMF1 + PGPR + *Foa*
T7	CA + *Foa*	T17	CB + AMF2 + *Foa*
T8	CA + PGPR + *Foa*	T18	CB + AMF2 + PGPR + *Foa*
T9	CB + *Foa*		

10.3.2 Plants and substrates

Uniform, 10-month-old micro-propagated date palm plantlets (cv. Boufeggous) were purchased from a private date palm tissue culture laboratory (Oasis Biotechnology, Morocco). They were selected basing on two reasons; the first one is the authenticity of cultivar and genetic stability and homogeneity of plantlets. The second one, this technique of multiplication is the best one recently used for date palm production (Mazri and Meziani, 2013). In addition, the date palm produced by tissue culture become the sole way for restoration of palm grove (MAPMDREF, 2013). Each plantlets was transplanted into 10 liters-pot field with autoclaved sandy soil that it was previously characterized (El Kinany et al., 2019). Commercial composts were produced in a private composting unit and their physical and chemical characteristics were described in

chapter 5. The compost dose (500g/pot) was well homogenized with substrate for all amended treatment either by CA or by CB (chapter 5).

10.3.3 PGPR, AMF and *Foa* inocula

Four rhizobacteria (PGPR-consortium), *M08, M010, M013* and *M029,* were isolated from date palm rhizosphere in arid regions and subsequently screened for their plant growth promoting traits and for Fusarium wilt control (chapter 4). The inoculum was a suspension of PGPR-consortium (10^9 UFC/ml each). It was inoculated twice at the rhizosphere of each plant (Table 33); three months after transplantation step and seven months before closing of the experiment (two week before *Foa*-inoculation). The inoculation method was carried out by spreading a 80 ml of suspension in rhizosphere zone (El kinany et al., 2017). Control plants were similarly inoculated with sterile distilled water. Two AMF-inoculums were involved for Fusarium wilt control, AMF1 and AMF2 such described in Chapter 5.

The pathogen strains of *Foa* was isolated from Tafilalet palm grove and then identified such as previously described in chapter 2. *Foa*-spores suspension was prepared on PDA media and adjusted to 10^6 spore/ml using Bürker cell. The pathogen inoculation was carried out at a distance of 5 cm and at a depth of 3 cm around the collar.

10.3.4 Estimation of mycorrhizal colonization

Root colonization with either AMF1 or AMF2 was assessed for all treatment such as described in detail (chapter 4) after roots coloration basing on the Phillips and Hayman method (Phillips and Hayman, 1970).

10.3.5 Root and shoot parameters

To investigate the effects of *Foa*-infection and all factors (Compost, AMF and PGPR) on plant growth, some parameters were taken in account; root and shoot fresh weight and root number as well. Thus, at the end of experiment, these parameters were measured for all treatments and means were compared.

10.3.6 Leaf nutrients evaluation

Leaf macro- and micro-nutrients were analyzed in a private laboratory in Meknes, Morocco. Indeed, 250g of fresh leaves were collected randomly from middle crown of plant and for all treatments, and samples were stored at 4°C for analyses. Nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), magnesium (Mg), calcium (Ca) (%) as well as zinc (Zn), copper (Cu), manganese(Mn), iron (Fe) and boron (Br) (mg/kg DW) were analyzed to assess the contribution of mineral nutrition on Fusarium wilt control.

10.4 Biochemical analyzes

The effectiveness of compost, PGPR and AMF on date palm defense against *Foa* was assessed by biochemical analyses in root system. Two biochemical compounds involved in plant response to pathogen inoculation were quantified in infested and non- infested (control) plant; total soluble polyphenols and hydrogen peroxide-concentration in rooting system.

10.4.1 Soluble polyphenols quantification

A colorimetric procedure based on electron transfer (into an alkaline medium) between phenolic compounds and a phosphomolibdic / phosphotungstic acid complex was used. This transfer was determined by spectrophotometer at 765 nm using Folin-Ciocalteu reagent (Ainsworth and Gillespie, 2007). Polyphenols were a priori extracted from root tissues of infested and non-infested plants for all treatments following the method of El Hadrami et al., (1997). In brief, 400 mg of root system was taken from each plant (including controls) and ground in a mortar containing 3 ml of methanol (95%). The homogenate was stirred for 10 minutes and incubated in the dark for 48 h (room temperature). The dosage method was based on the method of Ainsworth and Gillespie (2007). After three subsequent centrifugations of homogenate (at 7000 g for 3 min), one ml of supernatant was recovered in 2 ml of Folin-Ciocalteu reagent (10%). The mixture was incubated for 10 minutes before the addition of 8 ml of sodium carbonate (700 mM). After incubation for 2 hours in dark and development of the typical coloration, optical density (at 765nm) was measured by spectrophotometer for all samples. The content of total phenolic compounds was expressed as mg of Gallic acid equivalent in 1g of fresh weight. The standard curve of galic acid was established with commercial product (0 – 0.5mg/ml).

10.4.2 Hydrogen peroxide quantification

Hydrogen peroxide (H_2O_2) extraction and quantification were carried out basing on the method described by Sergiev et al. (1997). Briefly, 100 mg of fresh roots was gently prepared and ground in 2 ml of Trichloro-acetic acid (0.1% TCA). The homogenate was centrifuged three subsequent times at 7000 g for 3 minutes, and then 800 µl of the supernatant was recovered in 2 ml-tubes containing 800 µl of KH_2PO_4 (10 mM). Subsequently, 1.6 ml of potassium iodide (1M) was added to the mixture and the incubation was carried out for 3-5 minutes. In order to quantify the hydrogen peroxide content the optical density was measured at 390 nm and the concentration was obtained on the standard curve of commercial H_2O_2.

10.5 Statistical analyses

The software SPSS V21 was used for the normality test basing on Shapiro-Wilk method and the homogeneity of variance with Levene test. In addition, variance analysis of four factors (AMF, PGPR, Compost and Bloc) were carried out. For multiple comparison of treatments, they were done at level of 0.05 using Tukey multiple range test. Graphs and histograms were made with GraphPad Prism (version 8) software.

10.6 Results and discussion

10.6.1 Root colonization with mycorrhiza

The monitoring of colonization rate (Fig.26) showed that frequency and intensity of AMF1 (T3) were higher than those of AMF2 (T5). Indeed, roots colonized with autochthonous inoculum AMF1 revealed a frequency of 85.71% and intensity of 67.29% at the end of experiment. However, these parameters were only 82,42and 50.41% for AMF2. These results seemed to be normal because AMF1 was a complex of four mycorrhizal strains (Bouamri et al., 2006). Furthermore, before inoculation, spore densities of AMF1 and AMF2 were respectively 656 and 440 spore/100 g of inoculum (chapter 5). Moreover, the monitoring of frequencies and intensities of root colonization showed clearly the exponential evolution of these parameters during the growth under greenhouse conditions (Fig. 26). For the non-inoculated treatments, no colonization were detected. Similarly, in recent research frequency and intensity of micropropagated plantlet roots, inoculated with AMF2 (commercial inoculums) resembled to ours (El Kinany et al., 2019). Their frequency and intensity were respectively 85.55 and 52.59 %. However, these parameters did not exceed 35 and 0.89% when AMF2 inoculum were combined with compost amendment (25% v/v). It seems that the compost amount slightly inhibited root colonization (El Kinany et al., 2019). As it is illustrated on figures 26, the root infection with AMF1 and AMF2 was very weak after few months (2 months). In contrast, no other study involved a commercial inoculum on date palm, but only an AMF-consortium on seedlings growing from seed germination (Benhiba et al., 2015; Jaiti et al., 2008, 2007). Benhiba et al., (2015) showed that date palm roots were colonized by *Funneliformis mosseae* and *Rhizophagus intraradices* with respective frequencies of 54.3 and 61% (Benhiba et al., 2015). Similarly, Jaiti et al., (2007) have used seedlings of “Boufeggous” grown under greenhouse conditions and they inoculated them with *Glomus monosporus, G. deserticola* and *G. clarum* as well as an AMF-consortium. These AMF-species colonized the seedlings of Boufeggous cultivar with frequencies ranging from 65 to 86% and intensities from 27% to 45% depending species (Jaiti et al., 2007). However, these parameters were 83% and 45% for AMF-

consortium (Jaiti et al., 2007). On the other hand, Jaiti et al., (2008) showed that the same AMF-species inoculated on date palm seedling of Boufeggous cultivar, under greenhouse conditions, had frequencies of 86%, 65% and 80% respectively, while intensities were 42, 27 and 43% respectively (Jaiti et al., 2008). In our study, we could monitor the root colonization and demonstrated that the root colonization with AMF increased exponentially either by AMF1 or AMF2 inoculation.

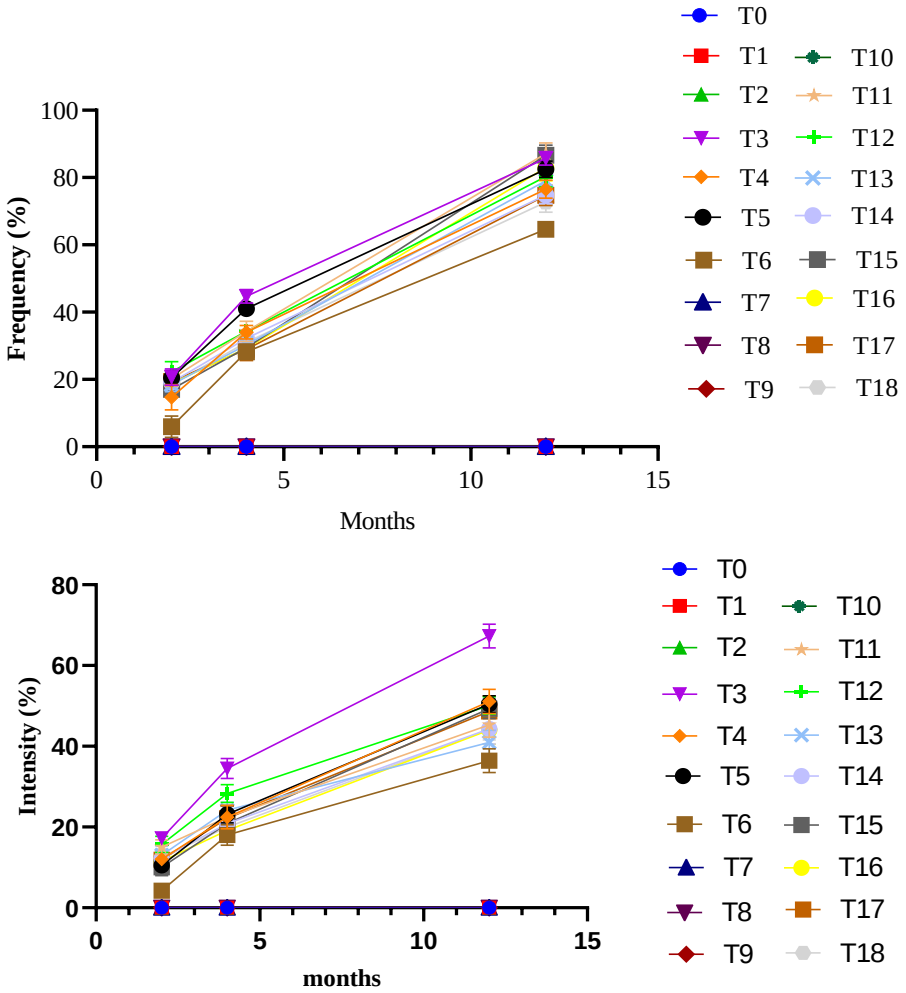

Figure 26: Evolution of roots colonization; frequencies and intensities of micro-propagated date palm (Boufeggous) under greenhouse conditions. Data present mean ± standard deviation of three replicates)

10.6.2 Shoot and root parameters

Root fresh weight was significantly influenced by five factors, including the pathogen Foa (Annex 56). Table 34 showed the different mean values for each treatment. Statistically, tow interactions did not significantly affect this parameter; "PGPR*Foa" and "compost *PGPRs*Foa". The Foa pathogen significantly reduced the root fresh weight up to 24.3 g/plant compared to the uninfected control plants (50.25 g/plant). Moreover, inoculation with AMF or PGPRs alone did not even reach the control value. In contrast, the application of compost such

as the case of treatment T7 and T9, was able to increase its value until 59.37 and 60.77 g/plant respectively. Compost application and inoculation with PGPR or AMF further enhanced this increasing. For instance, treatment T8, T10, T11 and T13 recorded values of 76.97, 98.09, 77.64 and 75.38 g/plant respectively. Also, better values in terms of root biomass were obtained by the combination of three factors, compost, AMF and PGPR even if the infestation with pathogen Foa; for example, the case of treatment T15, T17 and T18.

Similarly, AMF, PGPRs and compost have significantly affected the shoot fresh weight (Annex 57). With the exception of the interaction "PGPRs*Foa" and "compost *PGPRs*Foa", all other interactions significantly affected the fresh weight. Infestation with the pathogen reduced significantly this parameter up to 115.68 g/plant (Table 34) compared to control plants (141.9 g/plant). Compost amendment (T7 and T9) increased newly this parameter up to 159.07 and 158.08 g/plant respectively. The best weight (180.98 g/plant) was recorded in plants amended with compost and inoculated with both AMF2 and PGPR. Besides, root number of plant was surely and significantly affected by Foa as well as its interaction with compost, AMF and PGPR, excepted the "AMF * Compost * Foa" and "AMF * Compost * PGPR * Foa" interactions (Annexe 56). As presented on table 34, AMF and PGPR increased significantly this parameter more than ten roots. However, with compost amendment (e.g T9) root number exceeded eleven roots/plant. The best mean values of 15.67 was obtained in T17 when plants were amended with compost and inoculated with AMF2. We could conclude that, for all these roots and shoots biomass were better when at least two factors synergistically functioned more than unique factor.

10.6.3 Leaf macro and micronutrients

Leaf N-content showed that all factors (AMF, Compost and PGPR) and their interaction significantly (Annex 58) affected the nitrogen contents in leaf ($p < 0.0001$), while no difference was detected between random variable (Bloc) (Table 35). Indeed, based on the multiple comparison between treatments (Fig.27), high significant difference was detected between control treatment, infested with *Foa* and other treatments ($p = 0.0003$ and $F = 740.5$). The best values were found in T6, T1, T4 and T14 treatments (5.32, 4.75 and 4.71 % respectively), while the value of control non-infested plants was only 3.17 %. There are no significant difference between T1 (*Foa*-infested plants) and T2 (*Foa* + PGPR) ($p = 0.9632$). However, *Foa*-infested plants (T1) showed a significant increasing of N-content compared with control non-infested plants [Control] ($p= 0.0094$). Indeed, the N-content value of *Foa*-infested plants was 3.88% (Fig. 27). This increasing of N-content suggested that micropropagated plantlets could defend

toward *Foa*-infestation by leaf nitrogen increasing. Exceptionally for T2, T9, T11 and T17, all other treatments significantly increased the N-content compared with control plants (Fig.27). We conclude that the interaction of two or three factors has a synergetic effect on N-content despite of plantlets infestation with *Foa* such as found at T14 with a mean value of 4.70 %.

Table 34: Root and Shoot parameters of micropropagated date palm undergo to different treatements under greenhouse conditions

Tr.	Root fresh weight (g)	Shoot fresh weight (g)	Root number
T0	50,25 g	141,90 cde	9 gh
T1	24,3 h	115,68 fg	9 gh
T2	25,43 h	125,81 efg	8,67 h
T3	49,14 g	116,77 fg	10 fgh
T4	47,24 g	121,33 efg	9 gh
T5	47,78 g	111,94 g	11,67 def
T6	42,85 g	114,51 fg	8,67 h
T7	59,37 f	159,07 bc	11 efg
T8	76,97bc	125,69 efg	11,67 def
T9	60,77ef	158,08 bc	11,67 def
T10	98,09 a	148,86 bcd	11,33 def
T11	77,64 bc	135,47 def	12 cdef
T12	62,15 ef	153,34 bcd	14 abc
T13	75,38 cd	169,94ab	13,33 bcd
T14	62,05 ef	180,98 a	10,67 efgh
T15	80,87 bc	122,46 efg	14,33 ab
T16	68,95 de	151,05 bcd	12,33 bcde
T17	84,71 b	155,64 bcd	15,67 a
T18	64,59 ef	165,79 ab	11 efg

Data present the mean of six replicates. Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at $P < 0.05$ according to Duncan's multiple-range test.

Table 35: p-value of variance analysis of the effect of AMF, Compost and PGPR on macro- and micro-nutrient contents in leaves sampled from each treatments

Source	N	P	k	Mg	Ca	Zn	Cu	Mn	Fe	B	Na
Bloc	0.369	0.004	0.094	0.104	0.005	0.003	0.871	0.808	0.118	0.002	0.422
Foa	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000	0.161
AMF * *Foa*	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Compost * *Foa*	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
PGPR * *Foa*	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.699
AMF * Compost * *Foa*	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AMF * PGPR * *Foa*	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Compost * PGPR * *Foa*	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AMF * Compost * PGPR * *Foa*	0.000	0.000	0.000	0.020	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Similarly, the P-content was significantly affected by Foa, AMF and PGPR inoculation as well as compost amendment (Table 35 and Annex 59). The Foa inoculation decreased significantly the phosphorus mean values up to 0.67 % (Fig. 27) compared with non-infested plantlets (0.80%), while AMF1 significantly and highly improved the P-content until 1.06 % (T3). However, the interaction of factors increased more this values. Indeed, basing on multiple comparison, P-contents were significantly different depending the treatment ($p = 0.0003$ and $F = 124.6$). T6, T3 and T17 gave the best P-levels with a respective values of 1.12, 1.06 and 0.86 % (Fig. 27). Besides, the PGPR-inoculation (T2) did not increase the P-content ($p = 0.105$) compared with infested plants (T1). We conclude that interactions between factors exhibited a significant P-increasing as found in T8 and T17 in spite of the fact that the highest values were related to AMF inoculation.

Regarding K-content in leaves, results (Table 35 and Annex 60) reported that individual factors and different interactions highly and significantly affected its value at 0.05 level ($p < 0.0001$). The *Foa*-inoculation on date palm (T1) decreased significantly its level compared with non-infested plants in (T0) (Fig. 27). Their respective values were 3.04 and 4.52%. The multiple comparison showed a significant differences between treatments ($p = 0.0001$ and $F = 287.4$). The best value was found when AMF and PGPR were co-inoculated (T16), it was 4.81 % (Fig.27).

As for Mg-content, we found that AMF, PGPR, compost and their interactions affected significantly Mg-content in leaves (Table 35 and Annex 61). At first, *Foa*-inoculation reduced it level up to 0.23% (Fig. 28), while it was 0.38% for control non-infested plant (T0). All other treatments significantly increased this macro element, but the highest contents were detected in the interaction between three or four factors such as found at T6 and T17 treatments. Their respective values were 0.45 and 0.40%. Indeed, basing on the multiple comparison, these treatments significantly and highly increased this nutrient with a p-value of 0.006 (Fig.28). Similar results were obtained for Ca-content analysis with a significant increasing ($F= 195.2$ and p-value = 0.0002) detected in T17 followed by T0 and T6. Their respective values were 1.48, 1.12 and 1.18 %.

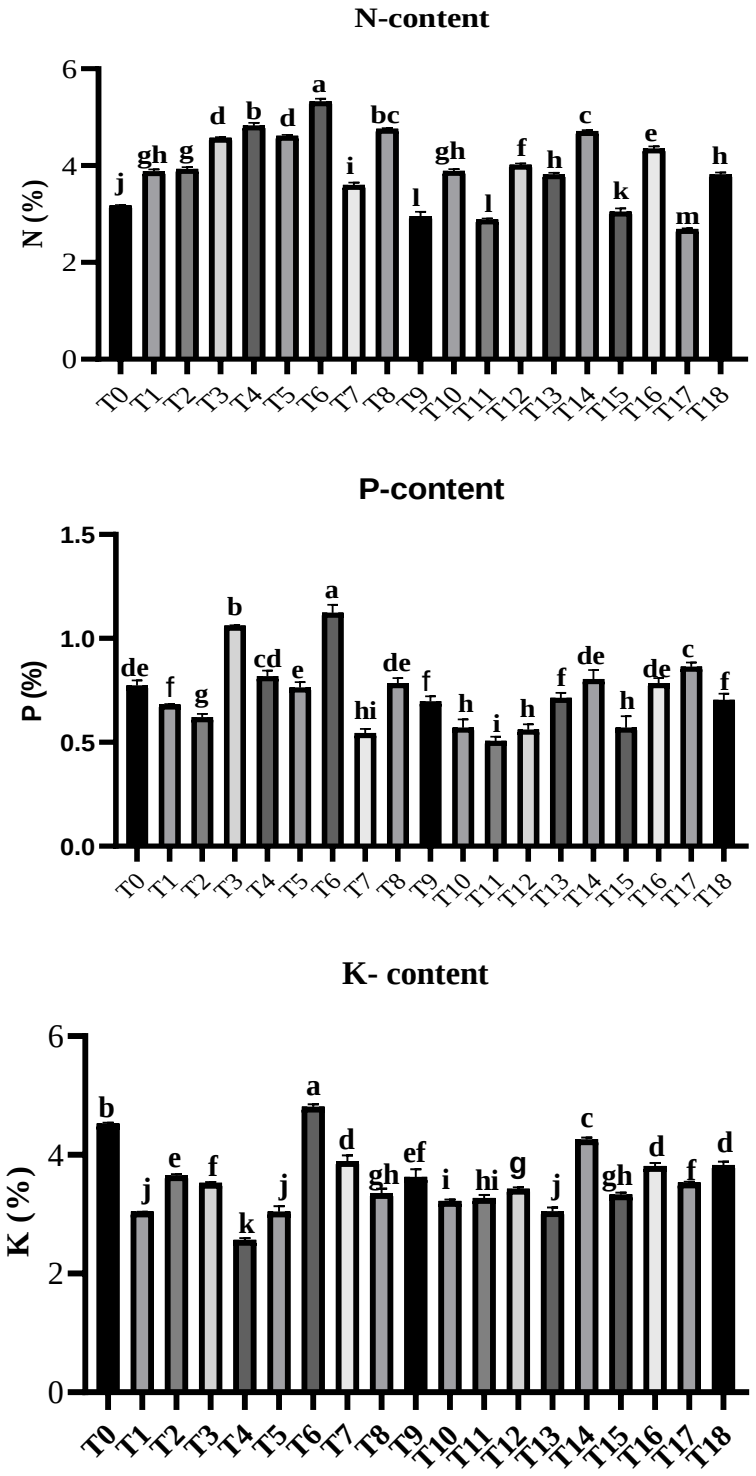

Figure 27: Nitrogen (N), phosphorus (N) and potassium (K) contents in leaflet of micropropagated date palm (cv. Boufeggous) grown under greenhouse conditions during 14 months.

Data present the mean of three replicates. Means followed by the same letters are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test.

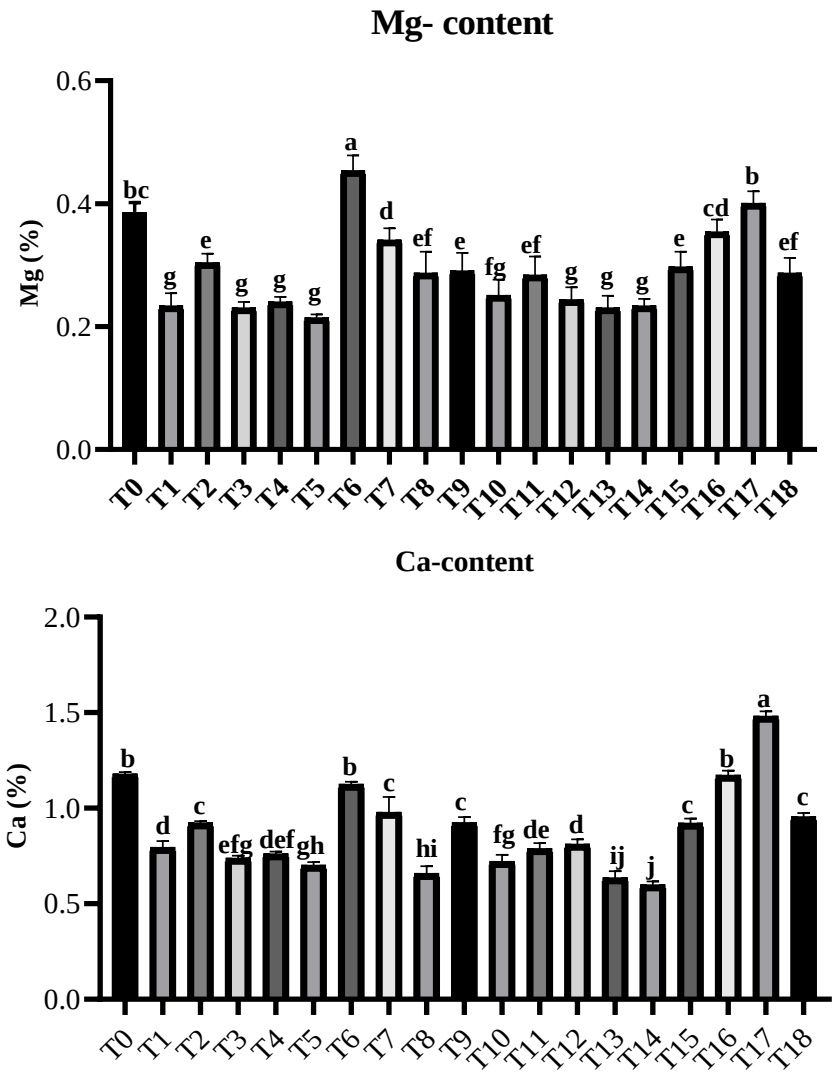

Figure 28: Magnesium (Mg) and calcium (Ca) contents in leaflet of micro-propagated date palm (cv. Boufeggous) grown under greenhouse conditions during 14 months.

Data present the mean of three replicates. Means followed by the same letters are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test.

Variance analysis of Zn-content in leaves revealed that it was influenced by *Foa*-infestation, AMF, PGPR and Compost and their interactions as well (Table 34 and Annex 63). Comparing the control and infested plants, *Foa* reduced significantly the Zn-content (Table 36 and Annexe). Their values were respectively 16.84 and 16.92 mg/kg. However, the AMF and PGPR inoculation (T6) significantly increased this Zn-level up to 27.42 mg/kg even though plants were infested with *Foa* (Table 36). Similarly, all factors and interactions exhibited a significant effect on Cu-content (Table 35 and Annex 64) and it was higher when all factors interacted together. For example, the Cu-contents in T16 and T6 treatments reached 3.20 and 3.32 mg/kg respectively. The value of control treatment was only 2.52 mg/kg. In contrast, the Mn-content value was the best in T4 treatment (Table 36). Thus, it suggested that AMF and PGPR have

synergistically functioned to increase the Mn-content in leaves. Its value was 914.48 mg/kg, where the AMF1 and PGPR (T4) were inoculated together on infested plants (Table 36). The variance analysis of Fe and B-contents showed the high significant effect of factors and their interactions (table 35 and Annex 66, 67). However, the best values were obtained when all factors functioned in synergy such as reported in Table 36. The highest levels were found at T6 for iron and T18 for boron. Their respective values were 211.54 and 127.30 mg/kg.

The first evaluation of AMF2 and compost on micropropagated date palm growth under greenhouse conditions was done in 2019 (El Kinany et al., 2019). They showed that N, K and P contents were significantly augmented when the combination of compost (25% v/v) and 10g of commercial AMF2 was involved. In the same work, it had been shown that only compost increased significantly some micronutrients in leaves (Fe and Zn-content), while micronutrients contents were not improved by the combination of AMF2 and compost (El Kinany et al., 2019). Besides, no study had been previously investigated on the effect of compost, PGPR and AMF on leaf nutrients of micropropagated date palm infested with *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis.*

However, some work assessed previously the effectiveness of AMF alone on induced *Fusarium* wilt using seedlings of date palm. Effectively, AMF significantly the P and K in Jihel seedlings (Abohatem et al., 2011) . In addition, researchers inoculated seedlings with AMF alone and showed the significant increasing ($p < 0.0001$) of P, K and Ca uptake compared to control (Ait-El-Mokhtar et al., 2019). Although researchers have isolated and in *vitro*-screened several endophytic bacteria associated with date palm, but no application under greenhouse conditions was conducted (Siala et al., 2016; Slama et al., 2019). In contrast, control of Fusarium wilt on date palm have based on the application of AMF alone (Jaiti et al., 2008), hypo-aggressive *Foa* (El Hassni et al., 2004a) and chitosan (El Hassni et al., 2004b) to enhance the defense reaction of seedlings toward induced-Fusarium wilt.

10.6.4 Fusarium wilt control

10.6.4.1 Phenolic compounds and hydrogen peroxide production

At first, the inoculation with *Foa* significantly ($p \leq 0.000$) increased soluble phenols and hydrogen peroxide contents in roots of infested plants (table 37 and 38). Basing on the multiple comparison, we found that these plants augmented the H_2O_2 and polyphenols contents by increasing rates of 7.93 and 4.21 % respectively (Table 38). Moreover, AMF, PGPR, compost and their interactions highly and significantly (Annexes 68 and 69) affected phenols and hydrogen peroxide production (table 37). Indeed, they increased rates of production more than

those found in plants that only infested with *Foa.* As described in table 38, even if plants were infested with pathogen strain of *Foa*, the polyphenols contents reached 0.53 and 0.69 mgEq AG/g FM respectively for T2 and T4 treatments with increasing rates of 15.23 and 35.73% respectively. At the same time, hydrogen peroxide contents were 3.09 and 3.34 µg Eq H2O2 /g FM with increasing rates of 8.17 and 15.06 % (Table 38).

Table 36: Leaf microelements of micro-propagated date palm (cv. Boufeggous) grown under greenhouse conditions during 14 months.

	Leaf microelement (mg/kg of DW)				
Tr	Zn	Cu	Mn	Fe	B
T0	18.84 de	2.52 c	445.00 f	116.90 c	124.33 a
T1	16.92 fg	2.69 b	633.00 d	97.93 efg	97.95 c
T2	14.41 hi	1.20 j	253.60 l	93.67 g	84.47 d
T3	14.08 hi	1.70 fg	848.47 c	95.22 g	72.20 e
T4	15.64 gh	1.11j	914.48 a	80.30 h	51.16 g
T5	17.96 ef	2.10 d	590.76 e	100.20 efg	52.18 g
T6	27.42a	3.32a	860.16 b	211.54 a	117.25 b
T7	23.53b	1.41 i	275.24 jk	96.13 fg	90.10 d
T8	14.34 hi	0.43 l	268.89 k	77.18 h	52.80 g
T9	22.61bc	1.50 hi	159.48 o	95.00 g	54.22 g
T10	11.62 j	0.71 k	175.26 n	104.12 de	63.24 f
T11	14.25 hi	2.11 d	212.16 m	114.11 c	85.00 d
T12	13.82 i	1.50 hi	143.20 p	139.00 b	63.00 f
T13	21.49 c	1.51 hi	282.23 j	102.41 ef	88.07 d
T14	13.20 i	1.80 f	369.38 h	103.33 e	64.41 f
T15	23.21b	1.94 e	129.30 q	116.08 c	54.04 g
T16	19.72 d	3.20 a	373.08 h	112.23 c	126.02 a
T17	19.49 de	1.61 gh	429.04 g	117.04 c	61.05 f
T18	13.42 i	1.40 i	354.00 i	110.40 cd	127.30 a

Data present the mean of three replicates. Means followed by the same letters in the same column are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test.

Besides, the comparison between all treatments showed that total polyphenols contents in roots were highly and significantly affected (F= 35.520 and p < 0.0001). A highest polyphenols contents were recorded when all factors functioned synergistically. For instance, its value was 0.86 mg EAG/g of FW found in T18 treatment with increasing rate of 47.98% compared to non-infested plants (Table 38). Similarly, hydrogen peroxide contents in our treatments compared with non-infested plants were significantly increased (F= 57.019 and p < 0.0001). The best treatment (T18) gave a value of 3.62µg Eq H_2O_2 /g FW. Its increasing rate reached 21.58%. Furthermore, without compost amendment. Only PGPR and/or AMF-inoculations improved the rate of production. For example (Tale 38), rates reached 8.18, 7.22 and 15.06 % inT2, T3 and T4 treatment respectively. We conclude that soluble polyphenols and hydrogen

peroxide contents were highly improved by the infestation and by the synergetic effect of interactions of AMF, PGPR and compost. However, comparison test (Duncan's multiple range test) revealed that AMF2 and CA were better than AMF1 and CA. Besides, the interaction of AMF2, PGPR and CB enhanced more the polyphenols and H2O2 production than AMF1, PGPR and CA interaction (Table 38).

Furthermore, no previous study have been conducted to control *Fusarium* wilt of date palm basing on the combination of AMF, PGPR, and compost. Firstly, we showed that the infestation with *Foa* seems necessary to trigger the phenolic compound production such as previously reported (Jaiti et al., 2008). Moreover, researchers used some AMF-species alone and showed their effectiveness for enhancing phenolic compounds in *Foa*-infested and AMF-inoculated plants (Abohatem et al., 2011; Jaiti et al., 2008). They also showed that the AMF-inoculation of date palm seedlings led to the accumulation of non-constitutive phenols like hydroxycinnamic acid derivatives, especially the sinapic acid derivative. Moreover. Abohatem et al., (2011) revealed that the use of AMF increased significantly the total phenols content until 136 mg/g FW after 30 days following the inoculation by micro-injection of sporale suspension into root system. On the other side, researchers have used hypo-aggressive strain of *Foa* to control date palm *Fusarium* wilt and showed that the enhancement of defense mechanism was related to increasing of phenolic compounds productions in inoculated seedlings (M. El Hassni et al., 2004).

Even though micro-propagated plantlets were infested with *Foa*, apparent symptoms of *Fusarium* wilt disease were not recorded. This could be a results of plant age and time following the infestation (4 months) that it was lacking. Furthermore, it was reported that symptoms development was fast (8 days after inoculation) on juvenile seedlings (2 leaves) that did not have the enzymatic pool to resist against physiologic alterations (Jaiti et al., 2009). In addition, to get a quick typical symptoms of Bayoud disease , the micro-injecting of spore's suspension was necessary (Jaiti et al., 2009). In our work, we aimed to carry out the *Foa*-inoculation within rhizosphere without artificial injury. This approach was adopted to have an analogy with field condition where the natural infection is a results of contaminated soil, root contact or water (El Bouhssini and Faleiro, 2018). Besides, we looked for a strategy for living with disease and, at the same time, inhibit the infestation and pathogen penetration because all date palm growing area have been infested and pathogen existed in deep soil and elsewhere (by-product, death organs) (El Bouhssini and Faleiro, 2018; Sedra, 2012).

Table 37: p-value of variance analysis of the effect of AMF. Compost and PGPR on soluble polyphenols contents and hydrogen peroxide in roots system (at 0.05 level).

Variable	µg Eq H2O2 Commercial/g de Mf			mg EAG/g de Mf		
Source	ddl	F	p-value	ddl	F	Sig.
Bloc	2	2.896	0.068	2	183	0.834
Foa	1	348.751	0.000	1	152.970	0.000
AMF * *Foa*	2	86.995	0.000	2	31.646	0.000
Compost * *Foa*	2	213.942	0.000	2	107.714	0.000
PGPR * *Foa*	1	127.638	0.000	1	85.991	0.000
AMF * Compost * *Foa*	4	6.974	0.000	4	6.635	0.000
AMF * PGPR * *Foa*	2	1.028	0.368	2	10.043	0.000
Compost * PGPR * *Foa*	2	4.166	0.024	2	8.682	0.001
AMF * Compost * PGPR * *Foa*	4	3.053	0.029	4	7.547	0.000

Table 38: Soluble polyphenols and hydrogen peroxide in root system of date palm plantlets

Treatments	**mgEq GA/g FM**	**Increasing rate (%)**	**µg Eq H2O2 /g FM**	**Increasing rate (%)**
T0	0.44±0.00 f	0	2.83±0.02 h	0
T1	0.48±0.01i	7.93	2.96±0.03 gh	4.211
T2	0.53±0.01 gh	15.23	3.09±0.02 fg	8.176
T3	0.53±0.02 gh	16.75	3.06±0.05 g	7.222
T4	0.69±0.04bcde	35.73	3.34±0.04 de	15.059
T5	0.59±0.03 fg	24.87	3.24±0.04 ef	12.518
T6	0.7±0.0 bcde	36.68	3.41±0.05 cd	16.774
T7	0.63±0.03 def	29.61	3.23±0.04 ef	12.154
T8	0.68±0.05 cdef	34.14	3.36±0.05 cde	15.657
T9	0.7±0.04 bcde	36.26	3.35±0.1 de	15.342
T10	0.73±0.03 bc	38.92	3.56±0.02 ab	20.477
T11	0.72±0.06 bcd	38.53	3.37±0.07 cde	15.814
T12	0.72±0.01bcde	37.8	3.45±0.07 bcd	17.809
T13	0.67±0.03 cdef	33.29	3.48±0.06 abcd	18.485
T14	0.72±0.01 bcde	37.95	3.56±0.05 ab	20.417
T15	0.73±0.02 bc	38.75	3.43±0.05 bcd	17.284
T16	0.77±0.01 ab	42.67	3.55±0.01ab	20.016
T17	0.73±0.01 bc	39.11	3.51±0.03 abc	19.108
T18	0.86±0.05 a	47.98	3.62±0.03 a	21.587

Data present the mean ± standard deviation of three replicates. Means followed by the same letters in the same column are not significantly different at P <0.05 according to Duncan's multiple-range test.

10.7 Conclusions

The present work reported the efficiency of compost, AMF and PGPR in *vitro*-screened and selected for their efficiency as potential agents to control *Fusarium* wilt of date palm. At first, commercial and autochthonous AMF efficiently colonized the micropropagated date palm roots with a high frequency and intensity either in presence or in absence of compost and/or PGPR. Besides, the AMF and PGPR-inoculation on micropropagated date palm (cv. Boufeggous) significantly increased leaf macro and microelement despite of the infestation with pathogen *Foa*. Nevertheless, we found that only AMF and PGPR could increase the micronutrient

contents in leaf. The triggering of phenolic compounds production was related to *Foa*-inoculation. However, the total soluble phenols production were improved more when compost, AMF and PGPR were combined. At the same time, the H_2O_2 production was higher in roots by the synergetic effect of these factors. This approach of synergy between AMF, PGPR and compost was conducted for the first time on date palm and especially on micropropagated date palm (cv. Boufeggous), a noble and sensitive variety. These results might be a supporting strategy to limit Fusarium wilt and improve date palm nutrition in oases ecosystem even though the soil was previously contaminated with *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* where date palm plantation is the sole income for population.

Conclusions générales et perspectives

Ce travail de recherche qui porte sur la promotion de la croissance et la protection du palmier dattier contre la maladie de la fusariose vasculaire chez les vitro-plants (cv. Boufeggous) *via* l'application des CMA, des PGPR et composts est le fruit de plusieurs expérimentations *in vitro* au niveau du laboratoire et des essais agronomiques conduites sous serre à l'Ecole Nationale d'Agriculture du Meknès. En fait, au niveau du laboratoire, l'extrait du compost s'est révélé très efficace dans l'inhibition totale de la croissance mycélienne du pathogène responsable de la maladie, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa), isolé et identifié par voie moléculaire à partir d'un foyer du Bayoud d'une palmeraie traditionnelle du Tafilalet (chapitre 2). En outre, l'isolement et le criblage *in vitro* d'une collection des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) a permis de montrer la richesse de la rhizosphère du palmier dattier et des plantes spontanées, désertiques de la région de Tafilalet, par des PGPR très performants tant sur le plan de la promotion de la croissance des plantes (solubilisation des nutriments, production des sidérophores, des auxines, fixation d'azote et production des enzymes) que sur le plan de lutte contre Foa (inhibition complète de Foa par certaines souches (42 %) et la réduction de sa croissance mycéliennes par d'autres, production des métabolites antifongiques inhibitrices de sa croissance) (chapitre 4). Le premier essai agronomique sous serre a permis d'évaluer *in vivo* l'efficacité d'un compost commercial, d'une souche commerciale de champignons mycorhizien arbusculaire (CMA), *G. iranicum* dans la croissance et la nutrition minérale des vitro-plants de cv. Boufeggous (chapitre 3). A l'issue de ces expérimentations précédentes, deux composts commerciaux (CA et CB), quatre souches PGPR autochtones sélectionnées (*M08, M010, M013* et *M029*), et deux types de CMA, locale (AMF1) et commerciale (AMF2) ont été sélectionnés. L'interaction de ces trois composantes a été évaluée en deux essais agronomiques sous serre sur des vitro-plants du palmier dattier du cv. Boufeggous sensible à la maladie du Bayoud (Foa). D'après ces expérimentations *in vivo*, on a déduit l'ample efficacité et la fonction synergique des interactions AMF*PGPR, Compost*PGPR, AMF*Compost et AMF*Compost*PGPR dans la fertilité du sol, y compris le pH, le taux de la matière organique du sol rhizosphérique, le rapport C/N, les macro- et les microéléments du sol, dans l'amélioration de la croissance du palmier dattier (biomasse, taux de croissance, nombre de feuilles et de racines produites durant 14 mois), ainsi que sa nutrition foliaire (macro- et microéléments et la teneur en chlorophylle totale). D'ailleurs, les meilleures valeurs ont été enregistrées chez les vitro-plants traités avec du compost, notamment le compost CB, et/ou inoculés avec des AMF et/ou des PGPR. Cependant, uniquement l'interaction

AMF*PGPR a pu augmenter significativement certains paramètres de croissance. Il est constaté que l'interaction AMF1*Compost-CB*PGPR est la meilleure, vue sa contribution à l'amélioration de la croissance de la majorité des paramètres, y compris les éléments foliaires (chapitre 5). A partir du dernier chapitre portant sur l'évaluation de la performance de différentes interactions dans la protection des vitro-plants du cv. Boufeggous contre la maladie de la fusariose vasculaire, on a conclu que l'interaction de trois composantes (AMF*Compost*PGPR) a assuré une meilleure nutrition et une bonne croissance des vitro-plants infestés par le pathogène Foa par rapport aux témoins infestés (témoin positif) ou non infestés (témoin négatif). D'ailleurs, une augmentation hautement significative des teneurs en macro- et microéléments foliaires, du nombre de racines, du poids frais racinaire et du poids frais de l'appareil caulinaire a été enregistrées. D'autre part, les concentrations des composés intervenant dans les réactions de défense du palmier dattier contre le Foa, polyphénols et peroxyde d'hydrogène racinaires, ont été significativement améliorés. Leurs teneurs sont augmentées par un taux de 48 et 22 % respectivement par rapport aux vitro-plants témoins. Ajoutons à cela que la seule inoculation avec des AMF et/ou des PGPR ou l'application du compost seule ont amélioré significativement la nutrition minérale et les teneurs en polyphénols et en peroxyde d'hydrogène racinaires chez les vitro-plants du palmier dattier cv. Boufeggous sensible à la maladie.

Finalement, ces résultats suggèrent d'une part, une très bonne compatibilité entre les doses du compost et les souches de PGPR et d'AMF utilisées et d'autre part, la possibilité d'élaboration d'un biofertilisant organique constitué de ces trois composantes étudiées pour assurer trois fonctions principales aux vitro-plants du palmier dattier : i) une meilleure fertilisation même dans un sol pauvre et sous des conditions stressantes comme celles de la région de Tafilalet , ii) une meilleure croissance et nutrition foliaire et iii) une protection optimale contre la maladie du Bayoud.

Cependant, ces trois composantes doivent être évaluées sur d'autres variétés des vitro-plants, notamment celles demandées sur le marché. En outre, les souches PGPR doivent être identifiées et évaluées en terme de leur stabilité et leur dynamique au sein de la rhizosphère. Ajoutons à cela, leurs compatibilité avec d'autres composts, particulièrement ceux qui sont riches en matière organique et pauvres en matière minérale. D'un autre côté, vue que les espèces de CMA sont négativement influencées par des teneurs élevées de matière minérale, notamment le phosphore et l'azote, le défi majeur qui vient en perspectives est de trouver des composts riches en matière organique et pauvres en matière minérale. Afin d'obtenir plus d'informations sur ces trois composantes, elles doivent être appliquées et évaluées sur différentes zones productrices

des dattes et qui sont caractérisées par différentes conditions pédologiques, climatiques, voir environnementales et sur les deux types de management de la palmeraie (traditionnel et moderne).

11 References

Abbas, T., Naveed, M., Siddique, S., Aziz, M.Z., Khan, K.S., Zhang, J., Mustafa, A., Sardar, M.F., 2020. Biological weeds control in rice (Oryza sativa) using beneficial plant growth promoting rhizobacteria. International Journal of Agriculture and Biology 23, 522–528.

Abd-Alla, M.H., El-Enany, A.-W.E., Nafady, N.A., Khalaf, D.M., Morsy, F.M., 2014. Synergistic interaction of Rhizobium leguminosarum bv. viciae and arbuscular mycorrhizal fungi as a plant growth promoting biofertilizers for faba bean (Vicia faba L.) in alkaline soil. Microbiological Research 169, 49–58.

Abd El-Rahman, R., Abo Taleb, H., 2020. Response of some New Chickpea Genotypes to Rhizobial Inoculation and Foliar Application with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). Journal of Plant Production 11, 89–94.

Abdel Latef, A.A.H., Chaoxing, H., 2011. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. Scientia Horticulturae 127, 228–233. doi:10.1016/j.scienta.2010.09.020

Abohatem, M., Chakrafi, F., Jaiti, F., Dihazi, A., Baaziz, M., 2011. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Limit Incidence of Fusarium oxysporum f.sp. albedinis on Date Palm Seedlings by Increasing Nutrient Contents, Total Phenols and Peroxidase Activities. The Open Horticulture Journal 4, 10–16.

Abou-el-hassan, S., Elmehrat, H.G., Ragab, A.A., A, A.M.M., 2018. Growth , yield , bulb quality and storability of some onion cultivars response to compost , vermicompost and plant growth promoting rhizobacteria. Middle East Journal of Agriculture Research 7, 292–306.

Abou EL-Magd, B.., Abd El-Azeem, S.., Ali O.A.M, 2016. Impact of compost and forliar spray with magnesium on some soil properties, photosynthetic pigments and sugar beet. J. Agric. Res 6, 1481–1500.

Abramovitch, R.B., Martin, G.B., 2004. Strategies used by bacterial pathogens to suppress plant defenses. Current Opinion in Plant Biology.

Acevedo, E., Galindo-Castañeda, T., Prada, F., Navia, M., Romero, H.M., 2014. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) in Colombia. Applied Soil Ecology 80, 26–33.

Adani, F., Genevini, P.L., Tambone, F., 1995. A new index of organic matter stability. Compost Science and Utilization 3, 25–37.

Ademir, S.F.A., Monteiro, R.T.R., 2005. Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost. Sci. Agric. 62, 286–290.

Adesina, M.F., Lembke, A., Costa, R., Speksnijder, A., Smalla, K., 2007. Screening of bacterial isolates from various European soils for in vitro antagonistic activity towards Rhizoctonia solani and Fusarium oxysporum: Site-dependent composition and diversity revealed. Soil Biology and Biochemistry 39, 2818–2828.

Agegnehu, G., Bass, A.M., Nelson, P.N., Bird, M.I., 2016. Benefits of biochar, compost and biochar-compost for soil quality, maize yield and greenhouse gas emissions in a tropical agricultural soil. Science of the Total Environment 543, 295–306.

AgriMaroc, 2017. Dattes: Une production en baisse - AgriMaroc.ma [WWW Document]. URL https://www.agrimaroc.ma/dattes-production-baisse/ (accessed 4.25.20).

Aguk, J.A., Karanja, N., Schulte-Geldermann, E., Bruns, C., Kinyua, Z., Parker, M., 2018. Control of bacterial wilt (Ralstoniasolanacearum) in potato (Solanum tuberosum) using rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza fungi. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development 18, 13371–13387.

Ahemad, M., Khan, M.S., 2012. Effects of pesticides on plant growth promoting traits of Mesorhizobium strain MRC4. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 11, 63–71.

Ahemad, M., Kibret, M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. Journal of King Saud University - Science.

Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M.S., 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Research 163, 173–181.

Ahmad, I., Akhtar, M.J., Mehmood, S., Akhter, K., Tahir, M., Saeed, M.F., Hussain, M.B., Hussain, S., 2018. Combined application of compost and Bacillus sp. CIK-512 ameliorated the lead toxicity in radish by regulating the homeostasis of antioxidants and lead. Ecotoxicology and Environmental Safety 148, 805–812.

Ahmed, E., Holmström, S.J.M., 2014. Siderophores in environmental research: Roles and applications. Microbial Biotechnology 7, 196–208.

Ahmed, E.A., Hassan, E.A., Tobgy, K.M.K. El, Ramadan, E.M., 2014. Evaluation of rhizobacteria of some medicinal plants for plant growth promotion and biological control. Annals of Agricultural Sciences 59, 273–280.

Ainsworth, E. a, Gillespie, K.M., 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. Nature Protocols 2, 875–877.

Ait-El-Mokhtar, M., Laouane, R. Ben, Anli, M., Boutasknit, A., Wahbi, S., Meddich, A., 2019. Use of mycorrhizal fungi in improving tolerance of the date palm (Phoenix dactylifera L.) seedlings to salt stress. Scientia Horticulturae 253, 429–438.

Akhter, A., Hage-Ahmed, K., Soja, G., Steinkellner, S., 2015. Compost and biochar alter mycorrhization, tomato root exudation, and development of Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. Frontiers in Plant Science 6, 529.

Akhzari, D., Attaeian, B., Arami, A., Mahmoodi, F., Aslani, F., 2015. Effects of vermicompost and arbuscular mycorrhizal fungi on soil properties and growth of medicago polymorpha l. Compost Science and Utilization 23, 142–153.

Akpinar, C., Demirbas, A., Ortas, I., 2019. The Effect of Different Compost Compositions on Arbuscular Mycorrhizal Colonization and Nutrients Concentration of Leek (allium Porrum L.) Plant. Communications in Soil Science and Plant Analysis 50, 2309–2320.

Al-Karaki, G.N., 2013. Application of mycorrhizae in sustainable date palm cultivation. Emirates Journal of Food and Agriculture 25, 854–862.

Al-shahib, W., Marshall, R.J., 2003. The fruit of the date palm : its possible use as the best food for the future ? International Journal OfFood Sciences and Nutrition 54, 247–259.

Al-Yahya'ei, M.N., 2008. Arbuscular mycorrhizal fungal communities associated with date palms in a traditional and a modern experimental plantation and with desert plants in the adjacent natural habitats in Southern Arabia. Sultanat Oman.

Al-Yahya'ei, M.N., Fakult, P., Dissertazione, B., Tecnologia, A., 2008. Arbuscular mycorrhizal fungal communities associated with date palms in a traditional and a modern experimental plantation and with desert plants in the adjacent natural habitats in Southern Arabia. Sultanat Oman.

Al-Yahya'ei, M.N., Oehl, F., Vallino, M., Lumini, E., Redecker, D., Wiemken, A., Bonfante, P., 2011. Unique arbuscular mycorrhizal fungal communities uncovered in date palm plantations and surrounding desert habitats of Southern Arabia. Mycorrhiza 21, 195–209.

Al Antary, T.M., Al-Khawaldeh, M.M., Ateyyat, M.A., 2015. Economic importance of date palm Phoenix dactylifera L. (Liliopsida: Arecales: Arecaceae) pests in Jordan Valley. Brazilian Journal of Biological Sciences 2, 101–109.

Al Hmoud, G., Al Momany, A., 2015. Effect of Four Mycorrhizal Products on Fusarium Root Rot on Different Vegetable Crops. Journal of Plant Pathology & Microbiology 06, 1–5. doi:10.4172/2157-7471.1000255

Albrecht, R., 2007. Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts : Nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique. Doctorat En Biosciences de l'Environnement. Université Paul Cezanne Aix-Marseille III.

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, 39–45. doi:10.1007/BF00369386

Alfano, G., Lustrato, G., Lima, G., Vitullo, D., Ranalli, G., 2011. Characterization of composted olive mill wastes to predict potential plant disease suppressiveness. Biological Control 58, 199–207.

Ali, A., Khalid, R., Ali, S., Akram, Z., Hayat, R., 2015. Characterization of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Isolated from Chickpea (Cicer arietinum). British Microbiology Research Journal 6, 32–40.

Alizadeh, O., Azarpanah, A., Ariana, L., 2013. Induction and modulation of resistance in crop plants against disease by bioagent fungi (arbuscular mycorrhiza) and hormonal elicitors and Plant Growth Promoting Bacteria. International Journal of Fatming and Allied Sciences 2, 982–998.

Ames, R.N., Reid, C.P.P., Porter, L.K., Cambardella, C., 1983. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two 15N-Labelled sources by Glomus mosseae, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytologist 95, 381–396.

Amine, M., Reda, M., Jamal, M., Fadile, E., 2016. Optimization of medium composition for in vitro shoot proliferation and growth of date palm cv . Mejhoul. 3 Biotech.

Amkraz, N., Boudyach, E.H., Boubaker, H., Bouizgarne, B., Ait Ben Aoumar, A., 2010. Screening for fluorescent pseudomonades, isolated from the rhizosphere of tomato, for antagonistic activity toward Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis. World Journal of Microbiology and Biotechnology 26, 1059–1065.

Ammar, M., El-Naggar, M.A., 2011. Date Palm (Phoenix dactylifera L.) Fungal Diseases in Najran, Saudi Arabia. International Journal of Plant Pathology 2, 126–135.

Arfaoui, M., Vallance, J., Bruez, E., Rezgui, A., Melki, I., Chebil, S., Sadfi-Zouaoui, N., Rey, P., 2019. Isolation , identification and in vitro characterization of grapevine rhizobacteria to control ochratoxigenic Aspergillus spp . on grapes. Biological Control 129, 201–211.

Armada, E., Portela, G., Roldán, A., Azcón, R., 2014. Combined use of beneficial soil microorganism and agrowaste residue to cope with plant water limitation under semiarid conditions. Geoderma 232–234, 640–648.

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. Journal of Plant Physiology 192, 1–12.
Artursson, V., Finlay, R.D., Jansson, J.K., 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Environmental Microbiology 8, 1–10.
Aseel, D.G., Rashad, Y.M., Hammad, S.M., 2019. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Trigger Transcriptional Expression of Flavonoid and Chlorogenic Acid Biosynthetic Pathways Genes in Tomato against Tomato Mosaic Virus. Scientific Reports 9, 1–10. doi:10.1038/s41598-019-46281-x
Audenaert, K., Pattery, T., Cornelis, P., Höfte, M., 2002. Induction of systemic resistance to Botrytis cinerea in tomato by Pseudomonas aeruginosa 7NSK2: role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin. Molecular Plant-Microbe Interactions 15, 1147–1156.
Azim, K., Soudi, B., Boukhari, S., Perissol, C., Roussos, S., Thami Alami, I., 2018. Composting parameters and compost quality: a literature review. Organic Agriculture.
Bago, B., Azcon-Aguilar, C., Goulet, A., Piché, Y., 1998. Branched absorbing structures (BAS): A feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist 139, 375–388.
Bago, B., Pfeffer, P.E., Shachar-Hill, Y., 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. Plant Physiology.
Bagyaraj, D.J., 2018. Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens. KAVAKA 51, 1–6.
Bai, J., Lin, X., Yin, R., Zhang, H., Junhua, W., Xueming, C., Yongming, L., 2008. The influence of arbuscular mycorrhizal fungi on As and P uptake by maize (Zea mays L.) from As-contaminated soils. Applied Soil Ecology 38, 137–145. doi:10.1016/j.apsoil.2007.10.002
Baloch, J., Baloch, S.U., Baloch, S.K., Sunyyingying, Waseem, B., Baloch, H.N., L Sabiel, S., Shabeer, A.B., Dad, R., 2014. Economics of Date Palm (Phoenix dactylifera L .) Production and Its Development in District Kech , Balochistan Province of. Journal of Economics and Sustainable Developmen 5, 68–81.
Balouiri, M., Sadiki, M., Ibnsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review $. Journal of Pharmaceutical Analysis 6, 71–79.
Barje, F., Meddich, A., El Hajjouji, H., El Asli, A., Ait Baddi, G., El Faiz, A., Hafidi, M., 2016. Growth of Date Palm (Phoenix dactylifera L.) in Composts of Olive Oil Mill Waste with Organic Household Refuse. Compost Science & Utilization 24, 273–280.
Basak, B.B., Biswas, D.R., 2009. Influence of potassium solubilizing microorganism (Bacillus mucilaginosus) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (Sorghum vulgare Pers.) grown under two Alfisols. Plant and Soil 317, 235–255. doi:10.1007/s11104-008-9805-z
Baslam, M., Goicoechea, N., 2012. Water deficit improved the capacity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of antioxidant compounds in lettuce leaves. Mycorrhiza 22, 347–359.
Baslam, M., Qaddoury, A., Goicoechea, N., 2014. Role of native and exotic mycorrhizal symbiosis to develop morphological, physiological and biochemical responses coping with water drought of date palm, Phoenix dactylifera. Trees - Structure and Function 28, 161–172.
Beladis, B., Verheggen, F., Baba Aissa, N., Boukraa, S., Salah Ou Elhadj, B., Yagoub, L., Doumandji, S., Guezoul, O., 2018. Premier signalement de Deudorix livia (Lepidoptera: Lycanidae) en Algérie: Un ravageur important du grenadier et du palmier dattier. EPPO Bulletin 48, 281–286.
Ben Abdallah, A., 1990. La phoeniciculture, Dollé V. (. ed, CIHEAM - Options Mediterraneenes. Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT), Montpellier :
Benedetta, C., Paolo, C., Margherita, B., Fernando, M., Roberto, B., 2017. Protective Effects of Arbuscular Mycorrhizae against Fusarium Oxysporum F. Sp. Ranunculi in Ranunculus Asiaticus Cultivations for Flower Crop. Journal of Horticultural Science and Research 1, 36–41.
Beneduzi, A., Ambrosini, A., Passaglia, L.M.P., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. Genetics and Molecular Biology 35, 1044–1051.
Benhiba, L., Fouad, M.O., Essahibi, A., Ghoulam, C., Qaddoury, A., 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis enhanced growth and antioxidant metabolism in date palm subjected to long-term drought. Trees - Structure and Function 29, 1725–1733.
Benzohra, I.E., Megateli, M., Elayachi, B.A., Zekraoui, M., Djillali, K., Bouafia, A., Benouis, S., Benaziza, A., Rekis, A., 2017. Integrated management of Bayoud disease on date palm (Phoenix dactylifera L .) caused by Fusarium Journal Algérien des Régions Arides. Journal Algérien Des Régions Arides 14, 41–48.
Bernal-Vicente, A., Ros, M., Tittarelli, F., Intrigliolo, F., Pascual, J.A., 2008. Citrus compost and its water extract for cultivation of melon plants in greenhouse nurseries. Evaluation of nutriactive and biocontrol effects. Bioresource Technology 99, 8722–8728.
Bhattacharyya, P.N., Jha, D.K., 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology 28, 1327–1350.
Blaszkowski, J., Adamska, I., Czerniawska, B., 2004. Glomus insculptum, a new arbuscular mycorrhizal species from Poland. Mycotaxon 89, 225–234.
Błaszkowski, J., Chwat, G., Symanczik, S., Góralska, A., 2015. Dominikia duoreactive sp. nov. and Dominikia

difficilevidera sp . nov ., two new species in the Glomeromycota. Botany 93, 389–396.
Błaszkowski, J., Kovács, G.M., Balázs, T., 2009. Glomus perpusillum, a new arbuscular mycorrhizal fungus. Mycologia 101, 247–255.
Błaszkowski, J., Kovács, G.M., Balázs, T.K., Orłowska, E., Sadravi, M., Wubet, T., Buscot, F., 2010. Glomus africanum and G. iranicum, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). Mycologia 102, 1450–1462.
BŁaszkowski, J., Renker, C., Buscot, F., 2006. Glomus drummondii and G. walkeri, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). Mycological Research 110, 555–566.
Błaszkowski, J., Ryszka, P., Kozłowska, A., 2018. Dominikia litorea, a new species in the Glomeromycotina, and biogeographic distribution of Dominikia. Phytotaxa 338, 241–254.
Boer, M. de, Sluis, I. van der, Loon, L.C. van, Bakker, P., de Boer, M., van der Sluis, I., van Loon, L.C., Duffy, B., Rosenberger, U., Defago, G., 1998. In vitro compatibility between fluorescent Pseudomonas spp. strains can increase effectivity of Fusarium wilt control by combinations of these strains. Bulletin OILB SROP 21, 257–261.
Bona, E., Cantamessa, S., Massa, N., Manassero, P., Marsano, F., Copetta, A., Lingua, G., D'Agostino, G., Gamalero, E., Berta, G., 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads improve yield, quality and nutritional value of tomato: a field study. Mycorrhiza 27.
Bordoloi, A., Nath, P.C., Shukla, A.K., 2015. Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi associated with different land use systems of Arunachal Pradesh of Eastern Himalayan region. World Journal of Microbiology and Biotechnology 31, 1587–1593. doi:10.1007/s11274-015-1909-z
Bouamri, R., 2006. Diversité et variation saisonniére des champignons mycorhiziens à arbuscules au niveau de la rhizosphère du palmier dattier. Moulay Ismail University, Meknès, Meknès, Morocco.
Bouamri, R., Dalpé, Y., Serrhini, M.N., 2014. Effect of seasonal variation on arbuscular mycorrhizal fungi associated with date palm. Emirates Journal of Food and Agriculture 26, 977–986.
Bouamri, R., Dalpé, Y., Serrhini, M.N., Bennani, A., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi species associated with rhizosphere of Phoenix dactylifera L. in Morocco. African Journal of Biotechnology 5, 510–516.
Boudyach, E.H., Fatmi, M., Boubaker, H., Ben Aoumar, A.A., Akhayat, O., 2004. Effectiveness of fluorescent pseudomonads strains HF22 and HF142 to control bacterial canker of tomato. Journal of Food Agriculture & Environment 2, 115–120.
Boulter, J.I., Boland, G.J., Trevors, J.T., 2000. Compost: A study of the development process and end-product potential for suppression of turfgrass disease. World Journal of Microbiology and Biotechnology 16, 115–134.
Bounaga, N., 1975. The date palm and fusariosis V. Comparative study of the germination of microconidia and macroconidia of Fusarium oxysporum f. sp. albedinis (Killian & Maire). Bulletin de La Societe d'Histoire Naturelle de l'Afrique 66, 39–44.
Bounaga, N., 1970. Quelques aspects de la physiologie d'une souche de Fusarium oxysporum f. sp. albedinis, agent de la maladie du bayoud. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. 60, 137–163.
Bousselmane, F., Achouri, M., 2002. Effet des mycorhizes à vésicules et arbuscules sur la croissance et la nutrition de l'arganier (Argania spinosa L.). Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc) 22, 193–198.
Boutheina-, Z.E., Mustapha, S., Hasna, G., 2016. Effet des mycorhizes sur la nutrition minérale des plantules du palmier dattier (Phoenix dactylifera L .) 9–10. doi:10.1007/s00572-011-0405-z
Breuillin, F., Schramm, J., Hajirezaei, M., Ahkami, A., Favre, P., Druege, U., Hause, B., Bucher, M., Kretzschmar, T., Bossolini, E., Kuhlemeier, C., Martinoia, E., Franken, P., Scholz, U., Reinhardt, D., 2010. Phosphate systemically inhibits development of arbuscular mycorrhiza in Petunia hybrida and represses genes involved in mycorrhizal functioning. Plant Journal 64, 1002–1017.
Brimner, T.A., Boland, G.J., 2003. A review of the non-target effects of fungi used to biologically control plant diseases. Agriculture, Ecosystems and Environment 100, 3–16.
Brundrett, M.C., Brundrett, M.C., 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. New Phytologist 154, 275–304.
Btissam, M., Amina, O., Allal, D., 2013. Nature & Technologie Isolement et identification de la mycoflore du compost des déchets urbains solides. Nature & Technologie 13 C-Science, 13–28.
Budzikiewicz, H., 2004. Siderophores of the Pseudomonadaceae sensu stricto (Fluorescent and Non-Fluorescent Pseudomonas spp .).
Bueno, L.A., Bosch-Rubia, G., Sanchez-Montilla, R., 2014. Use of compost from olive oil by-products as soil amendment : Effect on physical and chemical properties of loamy-sand soils, in: F. Vita Serman et al. (Ed.), Proc. VIIth IS on Olive Growing. pp. 417–422.
Cardoso, I., Boddington, C., Janssen, B., Oenema, O., Kuyper, T., 2006. Differential access to phosphorus pools of an oxisol by mycorrhizal and nonmycorrhizal maize. Communications in Soil Science and Plant Analysis 37, 1537–1551.
Carlos, L., Cristina, I., Cardoso, M., Soares, M.A., Souchie, E.L., Costa, A.C., 2015. Isolation and selection of P-

solubilizing and IAA-synthesizing microorganisms from the rhizosphere of Guanandi (Calophyllum brasiliensis) 10, 4455–4460.
Cattelan, A.J., Hartel, P.G., Fuhrmann, J.J., 1999. Screening for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. Soil Sci. Soc. Am. J. 63, 1670–1680.
Cely, M.V.T., de Oliveira, A.G., de Freitas, V.F., de Luca, M.B., Barazetti, A.R., dos Santos, I.M.O., Gionco, B., Garcia, G. V., Prete, C.E.C., Andrade, G., 2016. Inoculant of arbuscular mycorrhizal fungi (Rhizophagus clarus) increase yield of soybean and cotton under field conditions. Frontiers in Microbiology 7, 1–9. doi:10.3389/fmicb.2016.00720
Chakroune, K., Bouakka, M., Lahlali, R., Hakkou, A., 2008. Suppressive effect of mature compost of date palm by-products on fusarium oxysporum f. sp. albedinis. Plant Pathology Journal 7, 148–154.
Chao, C.T., Krueger, R.R., 2007. The date palm (Phoenix dactylifera L.): Overview of biology, uses, and cultivation. HortScience 42, 1077–1082.
Chatli, A.S., Beri, V., Sidhu, B.S., 2008. Isolation and characterisation of phosphate solubilising microorganisms from the cold desert habitat of Salix alba Linn. in trans Himalayan region of Himachal Pradesh. Indian Journal of Microbiology 48, 267–273.
Chattha, M.U., Hassan, M.U., Barbanti, L., Chattha, M.B., Khan, I., Usman, M., Ali, A., Nawaz, M., 2019. Composted Sugarcane By-product Press Mud Cake Supports Wheat Growth and Improves Soil Properties. International Journal of Plant Production 13, 241–249.
Chebotar, V.K., Asis, C.A., Akao, S., 2001. Production of growth-promoting substances and high colonization ability of rhizobacteria enhance the nitrogen fixation of soybean when coinoculated with Bradyrhizobium japonicum. Biology and Fertility of Soils 34, 427–432.
Chen, S., Zhao, H., Zou, C., Li, Y., Chen, Y., Wang, Z., Jiang, Y., Liu, A., Zhao, P., Wang, M., Ahammed, G.J., 2017. Combined inoculation with multiple arbuscular mycorrhizal fungi improves growth, nutrient uptake and photosynthesis in cucumber seedlings. Frontiers in Microbiology 8, 1–11.
Chenniappan, C., Narayanasamy, M., Daniel, G.M., Ramaraj, G.B., Ponnusamy, P., Sekar, J., Ramalingam, P.V., 2019. Biocontrol effi ciency of native plant growth promoting rhizobacteria against rhizome rot disease of turmeric. Biological Control 129, 55–64.
Choubane, S., Cheba, B.A., Benourrad, A., 2016. Screening and Phenotypic Diversity of Amylase Producing Rhizospheric Bacteria from Some North African Plants. Procedia Technology 22, 1197–1204.
Christhudas, N., Praveen Kumar, P., Preetam Raj, J.P., Nimal Christhudas, I.V.S., Sagaya Jansi, R., Murugan, N., Agastian, P., Arunachalam, C., Ali Alharbi, S., 2015. Screening of Actinomycetes for Enzyme and Antimicrobial Activities from the Soil Sediments of Northern Tamil Nadu, South India. Journal of Biologically Active Products from Nature 5, 58–70.
Cohen, J.D., Bandurski, R.S., 1982. Chemistry and Physiology of the Bound Auxins. Annual Review of Plant Physiology 33, 403–430.
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. Applied and Environmental Microbiology.
Cozzolino, V., Di Meo, V., Monda, H., Spaccini, R., Piccolo, A., 2016. The molecular characteristics of compost affect plant growth, arbuscular mycorrhizal fungi, and soil microbial community composition. Biology and Fertility of Soils 52, 15–29.
Danon, M., Zmora-Nahum, S., Chen, Y., Hadar, Y., 2007. Prolonged compost curing reduces suppression of Sclerotium rolfsii. Soil Biology and Biochemistry 39, 1936–1946.
Darwesh, R.S.S., 2013. Improving growth of date palm plantlets grown under salt stress with yeast and amino acids applications. Annals of Agricultural Sciences 58, 247–256.
Das, Suvendu, Jeong, S.T., Das, Subhasis, Kim, P.J., 2017. Composted cattle manure increases microbial activity and soil fertility more than composted swine manure in a submerged rice paddy. Frontiers in Microbiology 8, 1–10.
De Brito Alvarez, M.A., Gagne, S., Antoun, H., 1995. Effect of compost on rhizosphere microflora of the tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizobacteria. Applied and Environmental Microbiology 61, 194–199.
Declerck, S., Strullu, D.G., Plenchette, C., 1998. Monoxenic culture of the intraradical forms of Glomus sp. isolated from a tropical ecosystem: a proposed methodology for germplasm collection. Mycologia 90, 579–585.
Dees, P.M., Ghiorse, W.C., 2001. Microbial diversity in hot synthetic compost as revealed by PCR-amplified rRNA sequences from cultivated isolates and extracted DNA. FEMS Microbiology Ecology 35, 207–216.
Dhaked, B.S., Triveni, S., Reddy, R.S., Padmaja, G., 2017. Isolation and Screening of Potassium and Zinc Solubilizing Bacteria from Different Rhizosphere Soil. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 6, 1271–1281.
Dhanker, R., Chaudhary, S., Kumari, A., Kumar, R., Goyal, S., 2020. Symbiotic Signaling: Insights from

Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis, in: Varma, A., Tripathi, S., Prasad, R. (Eds.), Plant-Microbe Symbiosis. Springer Nature Switzerland, pp. 1–331.

Diánez, F., Santos, M., Tello, J.C., 2005. Suppression of soilborne pathogens by compost: Suppressive effects of grape marc compost on phytopathogenic oomycetes, in: M. Urrestarazu Gavilán (Ed.), IS on Soilless Cult. and Hydroponics. pp. 441–460.

Dihazi, A., 2012. Interaction Palmier dattier-Fusarium oxysporum f. sp. albedinis : Induction des réactions de défense par l'acide salicylique et rôle de quelques microorganismes antagonistes de l'agent pathogène dans le contrôle de la maladie du Bayoud. Université Ibn Zohr-Agadir, Maroc.

Dihazi, A., Jaiti, F., WafaTaktak, Kilani-Feki, O., Jaoua, S., Driouich, A., Baaziz, M., Daayf, F., Serghini, M.A., 2012. Use of two bacteria for biological control of bayoud disease caused by Fusarium oxysporum in date palm (Phoenix dactylifera L) seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 55, 7–15.

Dinesh, R., Anandaraj, M., Kumar, A., Kundil, Y., Purayil, K., Aravind, R., 2015. Isolation , characterization , and evaluation of multi-trait plant growth promoting rhizobacteria for their growth promoting and disease suppressing effects on ginger. Microbiological Research 173, 34–43.

Diouf, D., Fall, D., Kané, A., Duponnois, R., 2013. Effet de l ' inoculation avec des souches de Mesorhizobium sp . et / ou des champignons mycorhiziens a arbuscules sur la croissance et la nutrition minérale de plants d ' Acacia seyal Del ... Des Champignons Symbiotiques Contre La Desertification 235–265.

Doornbos, R.F., Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., 2012. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. Agronomy for Sustainable Development 32, 227–243.

Downer, A.J., Menge, J.A., Pond, E., 2001. Association of cellulytic enzyme activities in eucalyptus mulches with biological control of Phytophthora cinnamomi. Phytopathology 91, 847–855.

Doyle, J., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12, 13–15.

Dransfield, J., Uhl, N.W., 1986. An outline of a classification of palms. Principes 30, 3–11.

Duca, D., Lorv, J., Patten, C.L., David, R., Glick, B.R., 2014. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. Canadian Journal of Microbiology 106, 85–125.

Ebrahimipour, G., Moradi, A., Mehrdad, M., Marzban, A., Alaee, H., 2011. Evaluation of antimicrobial substance produced by a bacterium isolated from Parmacella iberica. Jundishapur Journal of Microbiology 4, 131–140.

Eke, P., Chatue Chatue, G., Wakam, L.N., Kouipou, R.M.T., Fokou, P.V.T., Boyom, F.F., 2016. Mycorrhiza consortia suppress the fusarium root rot (Fusarium solani f. sp. Phaseoli) in common bean (Phaseolus vulgaris L.). Biological Control 103, 240–250.

Eke, P., Wakam, L.N., Fokou, P.V.T., Ekounda, T.V., Sahu, K.P., Kamdem Wankeu, T.H., Boyom, F.F., 2019. Improved nutrient status and Fusarium root rot mitigation with an inoculant of two biocontrol fungi in the common bean (Phaseolus vulgaris L.). Rhizosphere 12, 100172.

El-Masry, M.H., Khalil, A.I., Hassouna, M.S., Ibrahim, H.A.H., 2002. In situ and in vitro suppressive effect of agricultural composts and their water extracts on some phytopathogenic fungi. World Journal of Microbiology and Biotechnology 18, 551–558.

El-Sayed, W.S., Akhkha, A., El-Naggar, M.Y., Elbadry, M., 2014. In vitro antagonistic activity, plant growth promoting traits and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with wild plants grown in arid soil. Frontiers in Microbiology 5, 1–11.

El Arbi, A., Rochex, A., Chataigné, G., Béchet, M., Lecouturier, D., Arnauld, S., Gharsallah, N., Jacques, P., 2016. The Tunisian oasis ecosystem is a source of antagonistic Bacillus spp. producing diverse antifungal lipopeptides. Research in Microbiology 167, 46–57.

El Bouhssini, M., Faleiro, J.R., 2018. Date Palm Pests and Diseases Integrated Management Guide. Beirut, Lebanon.

El Hadrami, A., Al-Khayri, J.M., 2012. Socioeconomic and traditional importance of date palm. Emirates Journal of Food and Agriculture 24, 371–385.

El Hadrami, A., El Idrissi-Tourane, A., El Hassni, M., Daayf, F., El Hadrami, I., 2005. Toxin-based in-vitro selection and its potential application to date palm for resistance to the bayoud Fusarium wilt. Comptes Rendus - Biologies 328, 732–744.

El Hadrami, I., Ramos, T., El Bellaj, M., El Idrissi-Tourane, A., Macheix, J.J., 1997. A Sinapic Derivative as an Induced Defence Compound of Date Palm Against Fusarium oxysporum f.sp. albedinis, the Agent Causing Bayoud Disease. Journal of Phytopathology 145, 329–333.

El hafyani, M., Essahlaoui, A., El baghdadi, M., Teodoro, A.C., Mohajane, M., El hmaidi, A., El ouali, A., 2019. Modeling and mapping of soil salinity in Tafilalet plain (Morocco). Arabian Journal of Geosciences 12, 1–7.

El Hassni, Majida, El Hadrami, A., Daayf, F., Barka, E.A., El Hadrami, I., 2004. Chitosan, antifungal product against Fusarium oxysporum f. sp. albedinis and elicitor of defence reactions in date palm roots. Phytopathologia Mediterranea 43, 195–204.

El Hassni, M., El Hadrami, A., Daayf, F., Chérif, M., Barka, E.A., El Hadrami, I., 2007. Biological control of bayoud disease in date palm: Selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense

reactions. Environmental and Experimental Botany 59, 224–234.
El Hassni, M., Jaiti, F., Dihazi, A., Ait Barka, E., Daayf, F., El Hadrami, I., 2004. Enhancement of defence responses against Bayoud disease by treatment of date palm seedlings with an hypoaggressive Fusarium oxysporum isolate. Journal of Phytopathology 152, 182–189.
El Khaldi, R., Daami-Remadi, M., Cherif, M., 2016. Biological Control of Stem Canker and Black Scurf on Potato by Date Palm Compost and its Associated Fungi. Journal of Phytopathology 164, 40–51.
El Kinany, S., Achbani, E., Faggroud, M., Ouahmane, L., El Hilali, R., Haggoud, A., Bouamri, R., 2019. Effect of organic fertilizer and commercial arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated date palm cv. Feggouss. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 18, 411–417.
El Kinany, S., Achbani, E.H., Haggoud, A., Ibijbijen, J., Belmalha, S., Rachidi, F., Echchgadda, G., Bouamri, R., 2017a. In vitro evaluation of compost extracts efficiency as biocontrol agent of date palm Fusarium wilt. African Journal of Microbiology Research 11, 1155–1161.
El Kinany, S., Achbani, E.H., Haggoud, A., Ibijbijen, J., Belmelha, S., Rachidi, F., Echchgadda, G., Bouamri, R., Haggoud, A., Ibijbijen, J., Belmalha, S., Rachidi, F., Echchgadda, G., Bouamri, R., 2017b. In vitro evaluation of compost extracts efficiency as biocontrol agent of date palm Fusarium wilt. African Journal of Microbiology Research 11, 1155–1161.
El kinany, S., Haggoud, A., Benbouaza, A., Bouaichi, A., Achbani, E. hassan, 2017. Plant growth promotion and bacterial canker control of Lycopersicon esculentum L . cv . Campbell 33 by biocontrol agents. Journal of Crop Protection 6, 235–244.
El Modafar, C., 2010. Mechanisms of date palm resistance to Bayoud disease: Current state of knowledge and research prospects. Physiological and Molecular Plant Pathology 74, 287–294.
Erdal, I., Dogan, A., Yaylaci, C., Alaboz, P., 2018. Comparing the effects of compost and vermicompost on corn growth, nutrient concentration and uptake during the different growth periods. Scientific Papers. Series A. Agronomy LXI, 77–83.
Estrada-Luna, A., Davies, F.T., 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi influence water relations, gas exchange, abscisic acid and growth of micropropagated chile ancho pepper (Capsicum annuum) plantlets during acclimatization and post-acclimatization. Journal of Plant Physiology 160, 1073–1083.
Faghire, M., Samri, S., Meddich, A., Baslam, M., Goicoechea, N., Qaddoury, A., 2010. Positive effects of arbuscular mycorrhizal fungi on biomass production, nutrient status and waer relations in date palm seedlings under water deficiency. IV International Date Palm Conference 833–838.
Faheem, M., Raza, W., Zhong, W., Nan, Z., Shen, Q., Xu, Y., 2015. Evaluation of the biocontrol potential of Streptomyces goshikiensis YCXU against Fusarium oxysporum f. sp. niveum. Biological Control 81, 101–110. doi:10.1016/j.biocontrol.2014.11.012
Fankem, H., Nwaga, D., Deubel, A., Dieng, L., Merbach, W., Etoa, F.X., 2006. Occurrence and functioning of phosphate solubilizing microorganisms from oil palm tree (Elaeis guineensis) rhizosphere in Cameroon. African Journal of Biotechnology 5, 2450–2460.
FAO, 2019. FAOSTAT [WWW Document]. FAOSTAT. URL http://www.fao.org/faostat/fr/#home (accessed 4.14.20).
FAO, 2011. GeoNetwork - The portal to spatial data and information http://www.fao.org/geonetwork/srv/en/metadata.show?id=29031&currTa... [WWW Document]. GeoNetwork. URL http://www.fao.org/geonetwork/srv/en/metadata.show?currTab=simple&id=37040 (accessed 4.12.20).
Fasim, F., Ahmed, N., Parsons, R., Gadd, G.M., 2002. Solubilization of zinc salts by a bacterium isolated from the air environment of a tannery. FEMS Microbiology Letters 213, 1–6.
Ferjani, R., Marasco, R., Rolli, E., Cherif, H., Cherif, A., Gtari, M., Boudabous, A., Daffonchio, D., Ouzari, H.I., 2015. The date palm tree rhizosphere is a niche for plant growth promoting bacteria in the oasis ecosystem. BioMed Research International 2015, 1–10.
Fernández Bidondo, L., Colombo, R., Bompadre, J., Benavides, M., Scorza, V., Silvani, V., P??rgola, M., Godeas, A., 2016. Cultivable bacteria associated with infective propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. Implications for mycorrhizal activity. Applied Soil Ecology 105, 86–90. doi:10.1016/j.apsoil.2016.04.013
Fernandez, D., Ouinten, M., Tantaoui, A., Geiger, J.P., Daboussi, M.J., Langin, T., 1998. Fot 1 insertions in the Fusarium oxysporum f. sp. albedinis genome provide diagnostic PCR targets for detection of the date palm pathogen. Applied and Environmental Microbiology 64, 633–636.
Formowitz, B., Elango, F., Okumoto, S., Müller, T., Buerkert, A., 2007. The role of “effective microorganisms” in the composting of banana (Musa ssp.) residues. J. Plant Nutr. Soil Sci 170, 649–656.
Frank, B., 1885. Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. Berichte Der Deutschen Botanischen Gesellschaft 3, 128–145.
Gamez, R., Cardinale, M., Montes, M., Ramirez, S., Schnell, S., Rodriguez, F., 2019. Screening, plant growth promotion and root colonization pattern of two rhizobacteria (Pseudomonas fluorescens Ps006 and Bacillus amyloliquefaciens Bs006) on banana cv. Williams (Musa acuminata Colla). Microbiological Research 220,

12–20.
Geetha, K., Venkatesham, E., Hindumathi, A., Bhadraiah, B., 2014. Isolation , screening and characterization of plant growth promoting bacteria and their effect on Vigna Radita (L .) R . Wilczek. Int J Curr Microbiol Appl Sci, 3, 799–809.
Ghosh, R., Barman, S., Mukherjee, R., Mandal, N.C., 2016. Role of phosphate solubilizing Burkholderia spp. for successful colonization and growth promotion of Lycopodium cernuum L. (Lycopodiaceae) in lateritic belt of Birbhum district of West Bengal, India. Microbiological Research 183, 80–91.
Glick, B.R., Glick, B.R., 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Scientifica 2012, 1–15.
Glick, B.R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., McConkey, B., 2007. Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. Critical Reviews in Plant Sciences 26, 227–242. doi:10.1080/07352680701572966
Goswami, D., Patel, K., Parmar, S., Vaghela, H., Muley, N., Dhandhukia, P., Thakker, J.N., 2015a. Elucidating multifaceted urease producing marine Pseudomonas aeruginosa BG as a cogent PGPR and bio-control agent. Plant Growth Regulation 75, 253–263.
Goswami, D., Thakker, J.N., Dhandhukia, P.C., 2015b. Simultaneous detection and quantification of indole-3-acetic acid (IAA) and indole-3-butyric acid (IBA) produced by rhizobacteria from l-tryptophan (Trp) using HPTLC. Journal of Microbiological Methods 110, 7–14.
Goteti, P.K., Emmanuel, L.D.A., Desai, S., Shaik, M.H.A., 2013. Prospective zinc solubilising bacteria for enhanced nutrient uptake and growth promotion in maize (Zea mays L.). International Journal of Microbiology 2013, 1–7.
Gryndler, M., Larsen, J., Hrselova, H., Rezacova, V., Gryndlerova, H., Kubat, J., 2006. Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment. Mycorrhiza 16, 159–166.
Guenoun, K., Chattaoui, M., Bouri, M., Rhouma, A., Naghmouchi, K., Raies, A., 2019. Biological control of growth promoting rhizobacteria against verticillium wilt of pepper plant. Biologia 74, 237–250. doi:10.2478/s11756-018-00169-9
Guleria, S., Walia, A., Chauhan, A., Shirkot, C.K., 2016. Molecular characterization of alkaline protease of Bacillus amyloliquefaciens SP1 involved in biocontrol of Fusarium oxysporum. International Journal of Food Microbiology 232, 134–143.
Gupta, N., Agrawal, M., 2014. Improvement of Soil Physical and Chemical Properties with Municipal Solid Waste Compost Application in soya bean (Glycine max) , Mung (Vignaradiate) , Lentil (Lens culinaris) Seeds . International Journal of Scientific Engineering and Technology 3, 1418–1423.
Hadrami, I. El, Hadrami, A. El, 2009. Breeding date palm, in: Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species. Springer Science+Business Media, pp. 191–216.
Hashem, A., Abd_Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Al Huqail, A.A., Egamberdieva, D., Wirth, S., 2016. Alleviation of cadmium stress in Solanum lycopersicum L. by arbuscular mycorrhizal fungi via induction of acquired systemic tolerance. Saudi Journal of Biological Sciences 23, 272–281.
Heckman, J., 2006. A history of organic farming: Transitions from Sir Albert Howard's War in the Soil to USDA National Organic Program. Renewable Agriculture and Food Systems 21, 143–150.
Hibar, K., Daami-Remadi, M., Jabnoun-Khiareddine, H., El Akram ZnaïDi, I., Mahjoub, M. El, 2006. Effet des extraits de compost sur la croissance mycélienne et l'agressivité du Fusarium oxysporum f. sp. radicis lycopersici. Biotechnology, Agronomy and Society and Environment 10, 101–108.
Higa, T., 1991. Effective Microorganisms: A Biotechnology for Mankind, in: Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming. Washington, pp. 8–14.
Höfte, M., Bakker, P.A.H.M., 2007. Competition for Iron and Induced Systemic Resistance by Siderophores of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Microbial Siderophores 12, 121–133.
Hoitink, H.A.J., Stone, A.G., Han, D.Y., 1997. Suppression of plant diseases by composts. HortScience 32, 184–187.
Hossain, N., Rahman, M., 2014. Antagonistic Activity of Antibiotic Producing Streptomyces sp . against Fish and Human Pathogenic Bacteria. Brazilian Archives of Biology and Technology 57, 233–237.
Howeell, C.R, ., Beier, R.C., Stipanovic, R.D., 1988. Production of ammonia by Enterobacter clacae and its possible role in the biological control of Pythium Preemergence damping - off by the bacterium. Ecology and Epidemiology 78, 1075–1078.
Hsu, S.C., Lockwood, J.L., 1975. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. Applied Microbiology 29, 422–6.
Ibrahim, W.M.., 2012. Behaviour of Taimour mango trees to inorganic and organic fertilization and application of EM. Fac. of Agric. Minia Univ., Egypt).
Ingham, E., 2003. Compost tea. Acres USA 33, 1–6.
INVAM, 2018. Classification Davis - INVAM West Virginia University [WWW Document]. URL

http://fungi.invam.wvu.edu/the-fungi/classification.html (accessed 4.13.20).
Iqbal, U., Jamil, N., Ali, I., Hasnain, S., 2010. Effect of zinc-phosphate-solubilizing bacterial isolates on growth of Vigna radiata. Annals of Microbiology 60, 243–248.
Islam, S., Akanda, A.M., Prova, A., Islam, M.T., Hossain, M.M., 2016. Isolation and Identification of Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Cucumber Rhizosphere and Their Effect on Plant Growth Promotion and Disease Suppression. Frontiers in Microbiology 6, 1–12.
Islam, S., Akanda, A.M., Prova, A., Islam, M.T., Hossain, M.M., 2015. Isolation and Identification of Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Cucumber Rhizosphere and Their Effect on Plant Growth Promotion and Disease Suppression. Frontiers in Microbiology 7, 44–51.
Istina, I.N., Widiastuti, H., Joy, B., Antralina, M., 2015. Phosphate-solubilizing Microbe from Saprists Peat Soil and their Potency to Enhance Oil Palm Growth and P Uptake. Procedia Food Science 3, 426–435.
Jäderlund, L., Arthurson, V., Granhall, U., Jansson, J.K., 2008. Specific interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria: As revealed by different combinations. FEMS Microbiology Letters 287, 174–180.
Jahid, I.K., Mizan, M.F.R., Ha, A.J., Ha, S. Do, 2015. Effect of salinity and incubation time of planktonic cells on biofilm formation, motility, exoprotease production, and quorum sensing of Aeromonas hydrophila. Food Microbiology 49, 142–151.
Jain, P., Pundir, R.K., 2019. Biocontrol of Soil Phytopathogens by Arbuscular Mycorrhiza – A Review, in: Mycorrhizosphere and Pedogenesis. Springer Nature Singapore Pte Ltd.2019, pp. 221–237.
Jaiti, F., Kassami, M., Meddich, A., El Hadrami, I., 2008. Effect of arbuscular mycorrhization on the accumulation of hydroxycinnamic acid derivatives in date palm seedlings challenged with Fusarium oxysporum f. sp. albedinis. Journal of Phytopathology 156, 641–646.
Jaiti, F., Meddich, A., El Hadrami, I., 2007. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of date palm (Phoenix dactylifera L.) against bayoud disease. Physiological and Molecular Plant Pathology 71, 166–173.
Jaiti, F., Verdeil, J.L., El Hadrami, I., 2009. Effect of jasmonic acid on the induction of polyphenoloxidase and peroxidase activities in relation to date palm resistance against Fusarium oxysporum f. sp. albedinis. Physiological and Molecular Plant Pathology 74, 84–90.
Jami, N., Rahimi, A., Naghizadeh, M., Sedaghati, E., 2020. Investigating the use of different levels of Mycorrhiza and Vermicompost on quantitative and qualitative yield of saffron (Crocus sativus L.). Scientia Horticulturae 262, 109027.
Jan, B., Ali, A., Wahid, F., Shah, S.N.M., Khan, A., Khan, F., 2014. Effect of Arbuscular Mycorrhiza Fungal Inoculation with Compost on Yield and Phosphorous Uptake of Berseem in Alkaline Calcareous Soil. American Journal of Plant Sciences 05, 1359–1369.
Janos, D.P., 2007. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. Mycorrhiza.
Jayaprakashvel, M., Kumar, V.K., Abideen, J., Swarnakala, Venkatramani, M., Hussain, A.J., 2014. Production of indole acetic acid and plant growth promotion by Rhizobacteria from a less studied marine ecosystem. Biosciences Biotechnology Research Asia 11, 179–185.
Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, J.M., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils 37, 1–16.
Jha, B.K., Gandhi Pragash, M., Cletus, J., Raman, G., Sakthivel, N., 2009. Simultaneous phosphate solubilization potential and antifungal activity of new fluorescent pseudomonad strains, Pseudomonas aeruginosa, P. plecoglossicida and P. mosselii. World Journal of Microbiology and Biotechnology 25, 573–581.
Jila Baharlouei Yancheshmeh, 2011. Evaluation of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on cadmium and lead uptake by canola and barley. African Journal of Microbiology Research 5, 128–132.
Johansen, A., Jakobsen, I., Jensen, E.S., 1993. External hyphae of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi associated with Trifolium subterraneum L. 3. Hyphal transport of 32P and 15N. New Phytologist 124, 61–68.
Johnston, W.D., Freiser, H., 1952. Structure and Behavior of Organic Analytical Reagents. III. Stability of Chelates of 8-Hydroxyquinoline and Analogous Reagents1. Journal of the American Chemical Society 74, 5239–5242.
Jones, J.D.G., Dangl, J.L., 2006. The plant immune system. Nature 444, 323–9.
Jourdan, E., Ongena, M., Thonart, P., 2008a. Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. Biotechnol. Agron. Soc. Environ 12, 437–449.
Jourdan, E., Ongena, M., Thonart, P., 2008b. Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. Biotechnology, Agronomy and Society and Environment 12, 749–760.
Jung, S.C., Martinez-Medina, A., Lopez-Raez, J.A., Pozo, M.J., 2012. Mycorrhiza-Induced Resistance and Priming of Plant Defenses. Journal of Chemical Ecology 38, 651–664.
Kabir, A.H., Debnath, T., Das, U., Prity, S.A., Haque, A., Rahman, M.M., Parvez, M.S., 2020. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate Fe-deficiency symptoms in sunflower by increasing iron uptake and its

availability along with antioxidant defense. Plant Physiology and Biochemistry 150, 254–262.
Kakembo, D., Lee, Y.H., 2019. Analysis of traits for biocontrol performance of Pseudomonas parafulva JBCS1880 against bacterial pustule in soybean plants. Biological Control 134, 72–81.
Kavamura, V.N., Santos, S.N., Silva, J.L. da, Parma, M.M., Ávila, L.A., Visconti, A., Zucchi, T.D., Taketani, R.G., Andreote, F.D., Melo, I.S. de, 2013. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. Microbiological Research 168, 183–191.
Kavroulakis, N., Ehaliotis, C., Ntougias, S., Zervakis, G.I., Papadopoulou, K.K., 2005. Local and systemic resistance against fungal pathogens of tomato plants elicited by a compost derived from agricultural residues. Physiological and Molecular Plant Pathology 66, 163–174.
Kerkeni, A., Khedher, M. Ben, 2014. In vitro Bioassay Of The Antagonistic Activity Of Some Bacteria Isolated From Compost Extracts. Scientia Agriculturae 2, 2–7.
Khan, A.R., Elkomy, M.H., Ibrahim, Y.E., Hamad, Y.K., Molan, Y.Y., Saleh, A.A., 2020. Organic management of tomato fusarium wilt using a native bacillus subtilis strain and compost combination in Saudi Arabia. International Journal of Agriculture and Biology 23, 1003–1012.
Khrieba, M.I., Sharifnabi, B., Zangeneh, S., 2019. Interaction between Arbuscular Mycorrhiza Fungi (AMF) with Verticillium dahliae Kleb . on Olive Tree under Greenhouse Conditions. World Research Journal of Agricultural Sciences 6, 185–191.
Klinsukon, C., Kuyper, T.W., Lumyong, S., 2020. Colonization of Arbuscular mycorrhizal fungi improve salinity tolerance of Eucalyptus (Eucalyptus camaldulensis Dehn .) seedlings. Research Square 1–26. doi:10.21203/rs.3.rs-15418/v1
Klironomos, J.J., 2000. Host-specificity and functional diversity among arbuscular mycorrhizal fungi. Plant-Microbe Interactions 845–851.
Kloepper, J.W., 1994. Plant-Growth Promoting Rhizobacteria, Azospirillum/Plant Associations. Rehovot.
Koide, R.T., Mosse, B., 2004. A history of research on arbuscular mycorrhiza. Mycorrhiza.
Koltai, H., & Kapulnik, Y., 2010. Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function.
Koné, S.B., Dionne, A., Tweddell, R.J., Antoun, H., Avis, T.J., 2010. Suppressive effect of non-aerated compost teas on foliar fungal pathogens of tomato. Biological Control 52, 167–173.
Kong, L., Gong, X., Zhang, X., Zhang, W., Sun, J., Chen, B., 2020. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthesis, ion balance of tomato plants under saline-alkali soil condition. Journal of Plant Nutrition 43, 682–698.
Küçükyumuk, Z., Özgönen, H., Erdal, İ., Eraslan, F., 2014. Effect of Zinc and Glomus intraradices on Control of Pythium deliense, Plant Growth Parameters and Nutrient Concentrations of Cucumber, Not Bot Horti Agrobo.
Kumar, G., Kanaujia, N., Bafana, A., 2012. Functional and phylogenetic diversity of root-associated bacteria of Ajuga bracteosa in Kangra valley. Microbiological Research 167, 220–225.
Kumar, P., Dubey, R., Maheshwari, D.K., 2012. Bacillus strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. Microbiological Research 167, 493–499.
Kumar, P., Thakur, S., Dhingra, G.K., Singh, A., Pal, M.K., Harshvardhan, K., Dubey, R.C., Maheshwari, D.K., 2018. Inoculation of siderophore producing rhizobacteria and their consortium for growth enhancement of wheat plant. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 15, 264–269.
Kumar, R.S., Ayyadurai, N., Pandiaraja, P., Reddy, A.V., Venkateswarlu, Y., Prakash, O., N. Sakthivel, 2005. Characterization of antifungal metabolite produced by a new strain Pseudomonas aeruginosa PUPa3 that exhibits broad-spectrum antifungal activity and biofertilizing traits. Journal of AppliedMicrobiology 98, 145–154.
Kurabachew, H., Wydra, K., 2014. Induction of systemic resistance and defense-related enzymes after elicitation of resistance by rhizobacteria and silicon application against Ralstonia solanacearum in tomato (Solanum lycopersicum). Crop Protection 57, 1–7.
Kutlu, M., Cakmakci, R., Hosseinpour, A., Karagöz, H., 2019. The use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)‘s effect on essential oil rate, essential oil content, some morphological parameters and nutrient uptake of Turkish oregano. Applied Ecology and Environmental Research 17, 1641–1653.
Labidi, S., Jeddi, F. Ben, Tisserant, B., Debiane, D., Rezgui, S., Grandmougin-Ferjani, A., Lounès-Hadj Sahraoui, A., 2012. Role of arbuscular mycorrhizal symbiosis in root mineral uptake under CaCO 3 stress. Mycorrhiza 22, 337–345. doi:10.1007/s00572-011-0405-z
Lachisa, L., Dabassa, A., 2016. Synergetic effect of rhizosphere bacteria isolates and composted manure on fusarium wilt disease of tomato plants. Research Journal of Microbiology 11, 20–27.
Lahdachi, F.Z., Bouamri, R., 2018. Rock phosphate and arbuscular mycorrhiza effects on growth and mineral nutrition of Acacia gummifera Wild. International Journal of Innovation and Applied Studies 23, 384–389.
Lamqadem, A.A., Afrasinei, G.M., Saber, H., 2019. Analysis of Landsat-derived multitemporal vegetation cover to understand drivers of oasis agroecosystems change. Journal of Applied Remote Sensing 13, 1–20.
Lamqadem, A.A., Pradhan, B., Saber, H., Rahimi, A., 2018. Desertification sensitivity analysis using medalus

model and gis: A case study of the oases of middle draa valley, morocco. Sensors (Switzerland) 18, 1–19.
Lanthier, M., 2007. Compost Tea and Its impact On Plant Diseases. Organic Grower 10, 8.
Larsen, J., Bødker, L., 2001. Interactions between pea root-inhabiting fungi examined using signature fatty acids. New Phytologist 149, 487–493.
Laslo, É., György, É., Mara, G., Tamás, É., Ábrahám, B., Lányi, S., 2012. Screening of plant growth promoting rhizobacteria as potential microbial inoculants. Crop Protection 40, 43–48.
Leinhos, V., Vacek, O., 1994. Biosynthesis of auxins by phosphate-solubilizing rhizobacteria from wheat (Triticum aestivum) and rye (Secale cereale). Microbiological Research 149, 31–35. doi:10.1016/S0944-5013(11)80132-1
Leta, A., 2012. Evaluation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Trichoderma Species for the Control of Onion White Rot (Sclerotium cepivorum Berk). Journal of Plant Pathology & Microbiology 04. doi:10.4172/2157-7471.1000159
Lies, A., Delteil, A., Prin, Y., Duponnois, R., 2018. Using Mycorrhiza Helper Microorganisms (MHM) to Improve the Mycorrhizal Efficiency on Plant Growth, in: Role of Rhizospheric Microbes in Soil. Springer Nature Singapore, France, pp. 277–298.
Lim, J., Kim, S., 2009. Synergistic Plant Growth Promotion by the Indigenous Auxins-producing PGPR Bacillus subtilis AH18 and Bacillus licheniforims K11 52, 531–538.
Lin, Y., Watts, D.B., Kloepper, J.W., Torbert, H.A., 2018. Influence of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Corn Growth Under Different Fertility Sources. Communications in Soil Science and Plant Analysis 49, 1239–1255.
Liu, S., Guo, X., Feng, G., Maimaitiaili, B., Fan, J., He, X., 2016. Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi can alleviate salt stress and promote growth of cotton and maize in saline fields. Plant and Soil 398, 195–206.
Louvet, J., Bulit, J., Toutain, G., Rieuf, P., 1932. Le bayoud, Fusariose vasculaire du palmier dattier; symptomes et nature de la maladie, moyens de lutte, INRA. ed. France.
Magallon-Servín, P., Antoun, H., Taktek, S., Bashan, Y., De-Bashan, L., 2019. The maize mycorrhizosphere as a source for isolation of arbuscular mycorrhizae-compatible phosphate rock-solubilizing bacteria. Plant and Soil 1–18.
Maheshwari, D.K., 2007. Composting for Sustainable Agriculature. Springer, Udaipur, Rajasthan, India.
Mainguet, M., Dumay, F., Kabiri, L., Rémini, B., 2011a. Prodromes of Desertification in the Oasis of Tafilalet (Morocco) and Specific Local Solutions, in: Coping with Global Environmental Change, Disasters and Security, Hexagon Series on Human and Environmental Security and Peace. Springer, Verlag Berlin Heidelberg, pp. 901–919.
Mainguet, M., Dumay, F., Kabiri, L., Rémini, B., 2011b. Prodromes of Desertification in the Oasis of Tafilalet (Morocco) and Specific Local Solutions, Coping with Global Environmental Change, Disasters and Security, Hexagon Series on Human and Environmental Security and Peace. Verlag Berlin Heidelberg.
Majumdar, S., Chakraborty, U., 2015. Screening of free-living bacteria from the rhizosphere of Jute for their multiple plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. Journal of Plant Siences 9, 54–61.
Manasa S. G., Mahadevaswamy, Naik, N.M., Ramesh, Y., Gundappagol, R.C., 2019. CIsolation and Characterization of Zinc Solubilizing Bacteria from Rhizosphere Soils of Paddy Grown in Tungabhadra Command Area. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci 8, 215–222.
MAPM, 2013. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime: Directives stratégiques pour la filière phoénicicole, Maroc. MAPM.
MAPMDREF, 2018. Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural, et des Eaux et Forêts.
Marcel, M., Allain, E., George, T., 2015. Optimisation de la croissance et du developpement du palmier dattier en pépinière par l'utilisation d'amendements biologiques , organiques et chimiques. European Scientific Journal 11, 396–408.
Marín, F., Diánez, F., Santos, M., Carretero, F., Gea, F.J., Castañeda, C., Navarro, M.J., Yau, J.A., 2014. Control of Phytophthora capsici and Phytophthora parasitica on pepper (Capsicum annuum L.) with compost teas from different sources, and their effects on plant growth promotion. Phytopathologia Mediterranea 53, 14–26. doi:10.14601/Phytopathol_Mediterr-12173
Markakis, E.A., Fountoulakis, M.S., Daskalakis, G.C., Kokkinis, M., Ligoxigakis, E.K., 2016. The suppressive effect of compost amendments on Fusarium oxysporum f.sp. radicis-cucumerinum in cucumber and Verticillium dahliae in eggplant. Crop Protection 79, 70–79.
Marques, A.P.G.C., Pires, C., Moreira, H., Rangel, A.O.S.S., Castro, P.M.L., 2010. Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using Zea mays as indicator plant. Soil Biology and Biochemistry 42, 1229–1235. doi:10.1016/j.soilbio.2010.04.014
Martínez-Viveros, O., Jorquera, M.A., Crowley, D.E., Gajardo, G., Mora, M.L., 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by Rhizobacteria. Journal of Soil Science and Plant

Nutrition 10, 293–319.
Mazri, M.A., Meziani, R., 2013. An improved method for micropropagation and regeneration of date palm (Phoenix dactylifera L.). Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 22, 176–184.
Meddich, A., Oufdou, K., Boutasknit, A., Raklami, A., Tahiri, A., Ben-Laouane, R., Ait-El-Mokhtar, M., Anli, M., Mitsui, T., Wahbi, S., Baslam, M., 2019. Use of organic and biological fertilizers as strategies to improve crop biomass, yields and physicochemical parameters of soil, Nutrient Dynamics for Sustainable Crop Production.
Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., Aeron, A., Kumar, A., Kim, K., Bajpai, V.K., 2015. Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): Isolation, identification, and K-release dynamics from waste mica. Ecological Engineering 81, 340–347.
Mehnaz, S., Baig, D.N., Lazarovits, G., 2010. Genetic and phenotypic diversity of plant growth promoting rhizobacteria isolated from sugarcane plants growing in Pakistan. Journal of Microbiology and Biotechnology 20, 1614–1623.
Mehta, C.M., Palni, U., Franke-Whittle, I.H., Sharma, A.K., 2014. Compost: Its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. Waste Management 34, 607–622.
Mehta, C.M., Yu, D., Srivastava, R., Sinkkonen, A., Kurola, J.M., Gupta, V., Jääskeläinen, H., Palni, U., Sharma, A.K., Romantschuk, M., 2015. Microbial Diversity and Bioactive Substances in Disease suppressive Composts from India. Compost Science and Utilization 24, 105–116.
Mengesha, W.K., Powell, S.M., Evans, K.J., K. M. Barry, 2017. Diverse microbial communities in non-aerated compost teas suppress bacterial wilt. World Journal of Microbiology and Biotechnology 33, 1–14.
Merritt, J.H., Brothers, K.M., Kuchma, S.L., O'Toole, G.A., 2007. SadC reciprocally influences biofilm formation and swarming motility via modulation of exopolysaccharide production and flagellar function. Journal of Bacteriology 189, 8154–8164.
Mezaache-Aichour, S., Guechi, A., Nicklin, J., Drider, D., Prévost, H., Strange, R., 2012. Isolation, Identification and antimicrobial activity of pseudomonads isolated from the rhizosphere of popatoes growing in Algeria. Journal of Plant Pathology 94, 89–98.
Meziane, H., Van Der Sluis, I., Van Loon, L.C., Höfte, M., Bakker, P.A.H.M., 2005. Determinants of Pseudomonas putida WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. Molecular Plant Pathology 6, 177–185.
Meziani, R., Jaiti, F., Mazri, M.A., Anjarne, M., Chitt, M.A., Fadile, J. El, 2015. Effects of Plant Growth Regulators and Light Intensity on the Micropropagation of Date Palm (Phoenix dactylifera L .) cv . Mejhoul.
Mirzaei, M., Moghadam, A.L., Hakimi, L., Danaee, E., 2020. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) improve plant growth , antioxidant capacity , and essential oil properties of lemongrass (Cymbopogon citratus) under water stress. Iranian Journal of Plant Physiology 10, 3155–3166.
Mohamed, I., Eid, K.E., Abbas, M.H.H., Salem, A.A., Ahmed, N., Ali, M., Shah, G.M., Fang, C., 2019. Use of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) and mycorrhizae to improve the growth and nutrient utilization of common bean in a soil infected with white rot fungi. Ecotoxicology and Environmental Safety 171, 539–548.
Molina, O.I., Tenuta, M., El Hadrami, A., Buckley, K., Cavers, C., Daayf, F., 2014. Potato Early Dying and Yield Responses to Compost, Green Manures, Seed Meal and Chemical Treatments. American Journal of Potato Research 91, 414–428.
Mollavali, M., Bolandnazar, S., Nazemieh, H., Zare, F., Aliasgharzad, N., 2015. The effect of mycorrhizal fungi on antioxidant activity of various cultivars of onion (Allium cepa L). International Journal of Biosciences (IJB) 6, 66–79.
Moreno-Ramirez, L., Gonzalez-Mendoza, D., Cecena-Duran, C., Grimaldo-Juarez, O., 2015. Molecular identification of phosphate-solubilizing native bacteria isolated from the rhizosphere of Prosopis glandulosa in Mexicali valley. Genetics and Molecular Research 14, 2793–2798.
Motaher, Farjana, 2018. Methods for the Characterization of Plant-Growth Promoting Rhizobacteria, in: Host-Pathogen Interactions: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology. Springer Science+Business Media, pp. 307–328.
Mrabet, S. El, Ouahmane, L., Mousadik, A. El, Msanda, F., Abbas, Y., 2014. The Effectiveness of Arbuscular Mycorrhizal Inoculation and Bio-Compost Addition for Enhancing Reforestation with Argania spinosa in Morocco. Open Journal of Forestry 04, 14–23.
Mumtaz, M.Z., Ahmad, M., Jamil, M., Hussain, T., 2017. Zinc solubilizing Bacillus spp. potential candidates for biofortification in maize. Microbiological Research 202, 51–60. doi:10.1016/j.micres.2017.06.001
Mustafa, G., Khong, N.G., Tisserant, B., Randoux, B., Fontaine, J., Magnin-Robert, M., Reignault, P., Sahraoui, A.L.H., 2017. Defence mechanisms associated with mycorrhiza-induced resistance in wheat against powdery milde. Functional Plant Biology 44, 443–454.
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.

Biotechnology Advances 32, 429–448.
Naser, H.M., Hanan, E.H., Elsheery, N.I., Kalaji, H.M., 2016. Effect of biofertilizers and putrescine amine on the physiological features and productivity of date palm (Phoenix dactylifera, L.) grown on reclaimed-salinized soil. Trees - Structure and Function 30, 1149–1161.
Nautiyal, C.S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiology Letters 170, 265–270.
Nia, S.H., Zarea, M.J., Rejali, F., Varma, A., 2012. Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with Azospirillum strains from saline or non-saline soil. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 11, 113–121.
Nieto, K.F., Rankenberger, W.T.F., 1989. Biosynthesis of Cytokinins By Azotobacter. Soil Biology & Biochemistry 21, 967–972.
Ntengna, Y.F., Tchameni, N.S., Fokom, R., Sameza, M.L., Minyaka, E., Ngonkeu, M.E.L., L, N.W., Etoa, F.X., Nwaga, D., 2019. Effects of arbuscular mycorrhiza fungi on stimulation of nutrient content and induction of biochemical defense response in Xanthosoma sagittifolium plants against root rot disease caused by Pythium myriotylum. International Journal of Advance Agricultural Research 7, 98–107.
Nurnberger, T., Lipka, V., 2005. Non-host resistance in plants: new insights into an old phenomenon. Molecular Plant Pathology 6, 335–345.
O'Brien, F.J.M., Dumont, M.G., Webb, J.S., Poppy, G.M., 2018. Rhizosphere bacterial communities differ according to fertilizer regimes and cabbage (Brassica oleracea var. capitata l.) harvest time, but not aphid herbivory. Frontiers in Microbiology 9, 1–18.
Oapos;KEEFE, D.M., SYLVIA, D.M., 1992. Chronology and mechanisms of P uptake by mycorrhizal sweet potato plants. New Phytologist 122, 651–659.
Oldal, B., Jevcsák, I., 2002. The role of siderophore producing activity in the biological investigation of the antagonistic effect of Pseudomonas sp. strains against plant pathogens. Biokemia 26, 57–73.
Oliveira, C.A., Alves, V.M.C., Marriel, I.E., Gomes, E.A., Scotti, M.R., Carneiro, N.P., Guimarães, C.T., Schaffert, R.E., Sá, N.M.H., 2009. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. Soil Biology and Biochemistry 41, 1782–1787.
Olowe, O.M., Olawuyi, O.J., Sobowale, A.A., Odebode, A.C., 2018. Role of arbuscular mycorrhizal fungi as biocontrol agents against Fusarium verticillioides causing ear rot of Zea mays L. (Maize). Current Plant Biology 15, 30–37. doi:10.1016/j.cpb.2018.11.005
On, A., Wong, F., Ko, Q., Tweddell, R.J., Antoun, H., Avis, T.J., 2015. Antifungal effects of compost tea microorganisms on tomato pathogens. Biological Control 80, 63–69.
ORMVAT, 2009. Office Régional de Mise en Valeur Agricole du Tafilalet (ORMVAT). Errachidia, Morocco.
Othmani, A., Bayoudh, C., Drira, N., Marrakchi, M., Trifi, M., 2009. Somatic embryogenesis and plant regeneration in date palm Phœnix dactylifera L ., cv . Boufeggous is significantly improved by fine chopping and partial desiccation of embryogenic callus. Plant Cell Tiss Organ Cult 97, 71–79.
Oubraim, S., Sedra, M.H., Lazrek, H.B., 2016. A relationship between Bayoud disease severity and toxin susceptibility of date palm cultivars. Emirates Journal of Food and Agriculture 28, 45–51.
Overhage, J., Lewenza, S., Marr, A.K., Hancock, R.E.W., 2007. Identification of genes involved in swarming motility using a Pseudomonas aeruginosa PAO1 mini-Tn5-lux mutant library. Journal of Bacteriology 189, 2164–2169.
Pacome, A.N., Nadege, A.A., Emma, W.G., Hafiz, A.S., Farid, B.-M., Adolphe, A., Simeon, O.K., Lamine, B.-M., 2015. Metabolic and biofungicidal properties of maize rhizobacteria for growth promotion and plant disease resistance. African Journal of Biotechnology 14, 811–819.
Palou, L., Taberner, V., Guardado, A., Del Río, M.Á., Montesinos-Herero, C., 2013. Incidence and etiology of postharvest fungal diseases of pomegranate (Punica granatum cv. Mollar de Elche) in Spain. Phytopathologia Mediterranea 52, 478–489.
Pane, C., Celano, G., Villecco, D., Zaccardelli, M., 2012. Control of Botrytis cinerea, Alternaria alternata and Pyrenochaeta lycopersici on tomato with whey compost-tea applications. Crop Protection 38, 80–86.
Pane, C., Piccolo, A., Spaccini, R., Celano, G., Villecco, D., Zaccardelli, M., 2013. Agricultural waste-based composts exhibiting suppressivity to diseases caused by the phytopathogenic soil-borne fungi Rhizoctonia solani and Sclerotinia minor. Applied Soil Ecology 65, 43–51.
Paper, C., 2016. Effect of accelerated compost on soil physical and chemical properties of an Alfisol.
Parmar, P., Sindhu, S.S., 2019. The novel and efficient method for isolating potassium solubilizing bacteria from rhizosphere soil. Geomicrobiology Journal 36, 130–136.
Payne, S.M., 1994. Detection, isolation, and characterization of siderophores. Methods in Enzymology 235, 329–344.
Pereau-leroy, 1958. Le Dattier au Maroc. Revue de Botanique Appliquée et d'agriculture Coloniale 6, 129–136.
Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L., Robaglia, C., 2003. Tales from the underground: Molecular plant-

rhizobacteria interactions. Plant, Cell and Environment.
Peterson, R.L., Farquhar, M.L., 1996. Root Hairs: Specialized Tubular Cells Extending Root Surfaces. Botanical Review.
Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55, 158–161.
Pii, Y., Graf, H., Valentinuzzi, F., Cesco, S., Mimmo, T., 2018. The effects of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on the growth and quality of strawberries. Acta Horticulturae 1217, 231–238. doi:10.17660/ActaHortic.2018.1217.29
Podila, G.K., 2010. Obituary. Symbiosis 50, 117–118.
Primo, E.D., Ruiz, F., Masciarelli, O., Giordano, W., 2015. Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem 12, 337–349.
Radi, M., Hamdali, H., Meddich, A., Ouahmane, L., Hafidi, M., 2014. Le potentiel mycorhizogène des sols urbains en zones semi-arides et la tolérance du Palmier dattier (Phoenix dactylifera L.) au déficit hydrique. Journal of Materials and Environmental Science 5, 1957–1967.
Rahmania, F., 2000. Contribution à la connaissance des relations histo-cytophysiologiques entre le palmier dattier, Phoenix dactylifera L. et l'agent du bayoud, Fusarium (Killian et Maire). USTHB, Alger.
Raklami, A., Bechtaoui, N., Tahiri, A.I., Anli, M., Meddich, A., Oufdou, K., 2019. Use of rhizobacteria and mycorrhizae consortium in the open field as a strategy for improving crop nutrition, productivity and soil fertility. Frontiers in Microbiology 10, 1–11.
Ramette, A., Frapolli, M., Saux, M.F. Le, Gruffaz, C., Meyer, J.M., Défago, G., Sutra, L., Moënne-Loccoz, Y., 2011. Pseudomonas protegens sp. nov., widespread plant-protecting bacteria producing the biocontrol compounds 2,4-diacetylphloroglucinol and pyoluteorin. Systematic and Applied Microbiology 34, 180–188.
Ramyabharathi, S.A., Raguchander, T., 2014. Mode of action of bacillus subtilis EPCO16 against tomato fusarium wilt. Biochemical and Cellular Archives 14, 47–50.
Raupach, G.S., Kloepper, J.W., 1998. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. Phytopathology 88, 1158–1164.
Raviv, M., 2014. Compost as a Tool to Suppress Plant Diseases : Established and Putative Mechanisms, in: M. Cayuela et al. (Ed.), AIII Int. Sym. on Organic Matter Mgt. and Compost Use in Hort. pp. 11–24.
Reddy, N., Crohn, D.M., 2018. Effect of Composted Greenwaste and Rockwool on Plant Growth of Okra, Tomato, and Chili Peppers. Compost Science and Utilization 26, 217–224.
Redecker, Dirk, Morton, J.B., Bruns, T.D., 2000. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). Molecular Phylogenetics and Evolution 14, 276–284.
Redecker, D, Morton, J.B., Bruns, T.D., 2000. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). Molecular Phylogenetics and Evolution 14, 276–284. doi:10.1006/mpev.1999.0713
Reitz, M., Oger, P., Meyer, A., Niehaus, K., Farrand, S.K., Hallmann, J., Sikora, R.A., 2002. Importance of the O-antigen, core-region and lipid A of rhizobial lipopolysaccharides for the induction of systemic resistance in potato to Globodera pallida. Nematology 4, 73–79.
Rhouma, A., 1993. Le palmier dattier en Tunisie : Un secteur en pleine expansion, Option Méd. ed. CIHEAM, Zaragoza.
Riley, E., Kraus, H.T., Bilderback, T.E., 2016. Composted Cotton Stalks and Cotton Gin Trash Substrate Amendments and Irrigation / Ground Cover Management I . Effect on Physical and Chemical Properties of Pine Bark and Pine Tree Su ... Composted Cotton Stalks and Cotton Gin Trash Substrate Amendments a.
Ruano-rosa, D., Mercado-Blanco, J., 2015. Combining Biocontrol Agents and Organics Amendments to Manage Soil-Borne Phytopathogens, in: M.K. Meghvansi, A.V. (Ed.), Organic Amendments and Soil Suppressiveness in Plant Disease Managemen. Springer International Publishing Switzerland, pp. 457–478. doi:10.1007/978-3-319-23075-7
Saafi, E.B., Trigui, M., Thabet, R., Hammami, M., Achour, L., 2008. Common date palm in Tunisia: Chemical composition of pulp and pits. International Journal of Food Science and Technology 43, 2033–2037.
Saaidi, M., 1992. Comportement au champ de 32 cultivars de palmier dattier vis-à-vis du bayoud : 25 années d'observations. Agronomie 12, 359–370.
Sah, S., Singh, R., 2015. Siderophore: Structural And Functional Characterisation – A Comprehensive Review. Agriculture (Polnohospodárstvo) 61. doi:10.1515/agri-2015-0015
Salama, A.S.M., Sayed, O.M.E.-, Gammal, O.H.M. El, 2014. Effect of Effective Microorganisms (EM) and Potassium Sulphate on Productivity and Fruit Quality of " Hayany " Date Palm Grown Under Salinity Stress. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science 7, 90–99.
Sang, M.K., Kim, J.-G., Kim, K.D., 2010. Biocontrol Activity and Induction of Systemic Resistance in Pepper by Compost Water Extracts Against Phytophthora capsici. Phytopathology 100, 774–783.
Saravanakumar, D., Samiyappan, R., 2007. ACC deaminase from Pseudomonas fluorescens mediated saline resistance in groundnut (Arachis hypogea) plants. Journal of Applied Microbiology 102, 1283–1292.

Sarwar, G., Schmeisky, H., Hussain, N., Muhammad, S., Ibrahim, M., Safdar, E., 2008a. Improvement of soil physical and chemical properties with compost application in Rice- wheat cropping system. Pak. J. Bot. 40, 275–282.

Sarwar, G., Schmeisky, H., Hussain, N., Muhammad, S., Ibrahim, M., Safdar, E., 2008b. Improvement of soil physical and chemical properties with compost application in rice-wheat cropping system. Pakistan Journal of Botany 40, 275–282.

Sathiyadash, K., Rajendran, K., Karthikeyan, V., Muthukumar, T., 2017. Modulation of plant micronutrient uptake by arbuscular mycorrhizal fungi, in: Probiotics and Plant Health. Springer Singapore, pp. 337–352.

Schultz, C., 2001. Effect of (vesicular-) arbuscular mycorrhizs on survival and post vitro development of micropropagated oil palms (Elaeis guineensis Jacq .). der Georg-August-Universität Göttingen.

Schwyn, B., Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry 160, 47–56.

Scrase, F.M., Sinclair, F.L., Farrar, J.F., Pavinato, P.S., Jones, D.L., 2019. Mycorrhizas improve the absorption of non-available phosphorus by the green manure Tithonia diversifolia in poor soils. Rhizosphere 9, 27–33.

Sedra, H., 2012. Guide du phoeniciculteur: Mise en place et conduite des vergers phoénicicoles, INRA-Editi. ed. Rabat Maroc.

Sedra, M., 2011. Molecular Markers for Genetic Diversity and Bayoud Disease Resistance in Date Palm, in: S.M Jain et al. (Ed.), Date Palm Biotechnology. Springer Science+Business Media B.V . 2011, Marrakech, pp. 533–549.

Sedra, M.H., 2015. Date palm status and perspective in Morocco. Date Palm Genetic Resources and Utilization 1, 257–323.

Seema, K., Mehta, K., Singh, N., 2018. Studies on the effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on growth, physiological parameters, yield and fruit quality of strawberry cv. chandler. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 7, 383–387.

Selosse, M.-A., Tacon, F. Le, 1998. Selosse & Le The land flora: a phototroph–fungus partnership?The land flora: a phototroph–fungus partnership? TREE 13, 15–20.

Setiawati, T.C., Mutmainnah, L., 2016. Solubilization of Potassium Containing Mineral by Microorganisms From Sugarcane Rhizosphere. Agriculture and Agricultural Science Procedia 9, 108–117.

Sghir, F., Touati, J., Chliyeh, M., Mouria, B., Touhami, O., Filali-maltouf, A., Modafar, C. El, Moukhli, A., Benkirane, R., Douira, A., 2015. Effect of Trichoderma harzianum and endomycorrhizae on the suppression of Fusarium wilt in plants of two date palm varieties : Majhoul and Boufeggous 4, 378–396.

Sghir, F., Touati, J., Chliyeh, M., Touhami, A.O., Filali-, A., 2014. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of date palm tree (Phoenix dactylifera) in Tafilalt and Zagora regions (Morocco). The American Journal of SCIENCE AND MEDICAL RESEARCH 2, 1–11.

Shabbir, G., Dakheel, A.J., Al-Naqbi, M.R.S., 2010. The effect of arbuscular mycorrhize (AM) fungi on the establishment of date palm (phoenix dactylifera l.) under saline conditions in the UAE, in: A. Zaid and G.A. Alhadrami (Ed.), Acta Horticulturae. pp. 303–314.

Shanthpure, A., Girija, D., Sidharthan, P.P., Peedikakkal, M.P., Nair, S.S., 2019. Variation in soil bacterial communities by long-term application of organic and inorganic fertilizers in rice. Wheat and Barley Research 11, 286–292.

Sharma, I.P., Sharma, A.K., 2017. Physiological and biochemical changes in tomato cultivar PT-3 with dual inoculation of mycorrhiza and PGPR against root-knot nematode. Symbiosis 71, 175–183.

Sheng, X.F., He, L.Y., 2006. Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild-type strain of Bacillus edaphicus and its mutants and increased potassium uptake by wheat. Canadian Journal of Microbiology 52, 66–72.

Sheren Adel Abd-ElHamied, 2014. Effect of Some Agro-Management Systems on Growth and Production of Date Palm Off-Shoots under North Sinai Conditions. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS) 7, 41–52.

Shukla, A., Dehariya, K., Vyas, D., Jha, A., 2015. Interactions between arbuscular mycorrhizae and Fusarium oxysporum f. sp. ciceris: effects on fungal development, seedling growth and wilt disease suppression in Cicer arietinum L. Archives of Phytopathology and Plant Protection 48, 240–252. doi:10.1080/03235408.2014.884831

Siala, R., Chobba, I. Ben, Tatiana Vallaeys, M.A.T., Jrad, M., Cheffi, M., Ayedi, I., Elleuch, A., Nemsi, A., Cerqueira, F., Gdoura, R., Drira, N., Gharsallah, N., 2016. Analysis of the Cultivable Endophytic Bacterial Diversity in the Date Palm (Phoenix dactylifera L.) and Evaluation of Its Antagonistic Potential against Pathogenic Fusarium Species that Cause Date Palm Bayound Disease. Journal of Applied & Environmental Microbiology 4, 93–104.

SIDATTE, 2019. Salon International des Dattes - Erfoud [WWW Document]. URL http://www.sidattes.ma/fr/ (accessed 4.15.20).

Siddikee, M.A., Chauhan, P.S., Anandham, R., Han, G.H., Sa, T., 2010. Isolation, characterization, and use for

plant growth promotion under salt stress, of ACC deaminase-producing halotolerant bacteria derived from coastal soil. Journal of Microbiology and Biotechnology 20, 1577–1584. doi:10.4014/jmb.1007.07011

Siddiqui, I.A., Shaukat, S.S., 2003. Suppression of root-knot disease by Pseudomonas fluorescens CHA0 in tomato: Importance of bacterial secondary metabolite, 2,4-diacetylpholoroglucinol. Soil Biology and Biochemistry 35, 1615–1623.

Siddiqui, Z.A., Akhtar, M.S., Futai, K., 2008. Mycorrhizae: Sustainable agriculture and forestry, Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry. Springer Science+Business Media.

Silva, L., Garcia-fraile, P., Flores-félix, J.D., Silva, L.R., Rivera, L.P., Marcos-garcía, M., 2015. Plants Probiotics as a Tool to Produce Highly Functional Fruits : The Case of Phyllobacterium and Vitamin C in Strawberries. PLoS ONE 10.

Singh, V., Naveenkumar, R., Muthukumar, A., Khan, M.R., Mukhopadhyay, A.N., Pandey, R.N., Thakur, M.P., Singh, D., Siddiqui, M.A., Haque, Z., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi and their effectiveness against soil borne diseases. New Delhi, India.

Singh, V.K., Kumar, A., 2001. PCR Primer Design. Molecular Biology Today 2, 27–32.

Slama, H. Ben, Cherif-Silini, H., Bouket, A.C., 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 halotoleransas plant warden against fusarium. Frontiers in Microbiology 10, 1–24.

Smith, S., Read, D., 1997. Mycorrhizal Symbiosis, Annals of Botany.

Solaiman, Z.M., Yang, H., Archdeacon, D., Tippett, O., Tibi, M., Whiteley, A.S., 2019. Humus-Rich Compost Increases Lettuce Growth, Nutrient Uptake, Mycorrhizal Colonisation, and Soil Fertility. Pedosphere 29, 170–179.

Song, Y., Chen, D., Lu, K., Sun, Z., Zeng, R., 2015. Enhanced tomato disease resistance primed by arbuscular mycorrhizal fungus. Frontiers in Plant Science 6. doi:10.3389/fpls.2015.00786

Soudi, B., 2005. Le compostage des déchets de cultures sous serre et du fumier - Transfert de Technologie en Agriculture Maroc. Bulletin Mensuel d'Information et de Liaison Du PNTTA 129, 77–81.

Souna, F., Chafi, A., Chakroune, K., Himri, I., Bouakka, M., Hakkou, A., 2010. Effect of mycorhization and compost on the growth and the protection of date palm (Phoenix dactylifera l.) against bayoud disease. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture 4, 260–267.

Soussi, A., Ferjani, R., Marasco, R., Guesmi, A., Cherif, H., Rolli, E., Mapelli, F., Ouzari, H.I., Daffonchio, D., Cherif, A., 2015. Plant-associated microbiomes in arid lands: diversity, ecology and biotechnological potential. Plant and Soil 405, 357–370.

Spaepen, S., Vanderleyden, J., 2011. Auxin and Plant-Microbe Interactions. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 3, 1–14.

Spagnoletti, F.N., Cornero, M., Chiocchio, V., Lavado, R.S., Roberts, I.N., 2020. Arbuscular mycorrhiza protects soybean plants against Macrophomina phaseolina even under nitrogen fertilization. European Journal of Plant Pathology 156, 839–849. doi:10.1007/s10658-020-01934-w

Spatafora, C., 2012. Valorization of Vegetable Waste: Identification of Bioactive Compounds and Their Chemo-Enzymatic Optimization. The Open Agriculture Journal 6, 9–16.

Sperling, O., Lazarovitch, N., Schwartz, A., Shapira, O., 2014. Effects of high salinity irrigation on growth, gas-exchange, and photoprotection in date palms (Phoenix dactylifera L., cv. Medjool). Environmental and Experimental Botany 99, 100–109.

Srivastava, R., Khalid, A., Singh, U.S., Sharma, A.K., 2010. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent Pseudomonas and Trichoderma harzianum formulation against Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici for the management of tomato wilt. Biological Control 53, 24–31. doi:10.1016/j.biocontrol.2009.11.012

Steddom, K., Menge, J.A., Crowley, D., Borneman, J., 2002. Effect of repetitive applications of the biocontrol bacterium Pseudomonas putida 06909-rif/nal on citrus soil microbial communities. Phytopathology 92, 857–862. doi:10.1094/PHYTO.2002.92.8.857

Strullu, D., J., G., R., P., C., P., 1991. Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivés. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 250.

Suárez-Estrella, F., Jurado, M.M., Vargas-García, M.C., López, M.J., Moreno, J., 2013. Isolation of bio-protective microbial agents from eco-composts. Biological Control 67, 66–74.

Suarez-Estrella, F., Vargas-Garcia, C., Lopez, M.J., Capel, C., Moreno, J., 2007. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against Fusarium oxysporum f. sp. melonis. Crop Protection 26, 46–53.

Suarez-Estrellaa, F., Vargas-Garcia, C., Lopez, M.., Capelb, C., Moreno, J., 2007. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against Fusarium oxysporum f. sp. melonis. Crop Protection 26, 46–53.

Sun, J., Zhang, Q., Zhou, J., Wei, Q., 2014. Pyrosequencing technology reveals the impact of different manure

doses on the bacterial community in apple rhizosphere soil. Applied Soil Ecology 78, 28–36.
Sutariati, G.A.K., Rahni, N.M., Madiki, A., Mudi, L., Guyasa, I.M., Zahrima, 2020. Characterization of endophytic-rhizobacteria from areca nut rhizosphere to dissolve phosphates, nitrogen fixation of iaa hormone synthesis. Pakistan Journal of Biological Sciences 23, 240–247.
Taktek, S., 2015. Dissolution biologique des phosphates : Interaction bactéries - mycorhizes. LAVAL, Québec, Canada.
Tank, N., Saraf, M., 2010. Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. Journal of Plant Interactions 5, 51–58.
Tao, G.C., Tian, S.J., Cai, M.Y., XIE, G.H., 2008. Phosphate-Solubilizing and -Mineralizing Abilities of Bacteria Isolated from Soils1 1 Project supported by the Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, the Ministry of Education of the P.R. China. Pedosphere 18, 515–523.
Tarraf, W., Ruta, C., Tagarelli, A., De Cillis, F., De Mastro, G., 2017. Influence of arbuscular mycorrhizae on plant growth, essential oil production and phosphorus uptake of Salvia officinalis L. Industrial Crops and Products 102, 144–153.
Tavarini, S., Passera, B., Martini, A., Avio, L., Sbrana, C., Giovannetti, M., Angelini, L.G., 2018. Plant growth, steviol glycosides and nutrient uptake as affected by arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorous fertilization in Stevia rebaudiana Bert. Industrial Crops and Products 111, 899–907.
Teixeira, J.A., 2017. Date palm (Phoenix dactylifera L .) biotechnology : A mini-review a mini-review. doi:10.5114/bta.2017.68315
Termorshuizen, A.J., van Rijn, E., van der Gaag, D.J., Alabouvette, C., Chen, Y., Lagerlöf, J., Malandrakis, A.A., Paplomatas, E.J., Rämert, B., Ryckeboer, J., Steinberg, C., Zmora-Nahum, S., 2006. Suppressiveness of 18 composts against 7 pathosystems: Variability in pathogen response. Soil Biology and Biochemistry 38, 2461–2477.
Tien, T.M., Gaskins, M.H., Hubbell, D.H., 1979. Plant Growth Substances Produced by Azospirillum brasilense and Their Effect on the Growth of Pearl Millet (Pennisetum americanum L.). Applied and Environmental Microbiology 37, 1016–24.
Ting, A.S.Y., Hermanto, A., Peh, K.L., 2014. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Indigenous actinomycetes from empty fruit bunch compost of oil palm : Evaluation on enzymatic and antagonistic properties. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 3, 1–6.
Tourern, G., 1967. Le Palmier Dattier Culture Et Production.
Toutain, G., 1965. Note Sur L ' Epidemiologie Du Bayoud En Afrique Du Nord. AL-Awamia 37–45.
Toutain, G., Louvet, J., 1974. Lutte contre le Bayoud. AL-Awamiya; Orientation de Lutte Au Maroc 53, 141–162.
Tran, Phat, Tran, Phuong, Cao, D., 2019. Effect of Compost, NPK and Plant Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Growth and Yield of Three Vegetables cultivated on Arenosols. International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR) 5, 27–34.
Trouvelot, A., Kough, J.L., Gianinazzi-Pearson, V., 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthode d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae 217–221. doi:10.1177/004057368303900411
Trouvelot, S., Bonneau, L., Redecker, D., van Tuinen, D., Adrian, M., Wipf, D., 2015. Arbuscular mycorrhiza symbiosis in viticulture: a review. Agronomy for Sustainable Development 35, 1449–1467.
Tsavkelova, E.A., Cherdyntseva, T.A., Botina, S.G., Netrusov, A.I., 2007. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. Microbiological Research 162, 69–76.
Tsavkelova, E.A., Cherdyntseva, T.A., Netrusov, A.I., 2005. Auxin production by bacteria associated with orchid roots. Microbiology 74, 46–53.
Uren, N., 2007. Types, Amounts, and Possible Functions of Compounds Released into the Rhizosphere by Soil-Grown Plants. CRC Press, pp. 1–21.
Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M.L., Touraine, B., Moënne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., Prigent-Combaret, C., 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. Frontiers in Plant Science 4, 1–19.
Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., Nasrulhaq Boyce, A., 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-A review. Molecules 21, 1–17.
Velusamy, P., Kim, K.Y., 2011. Chitinolytic activity of Enterobacter sp . KB3 antagonistic to Rhizoctonia solani and its role in the degradation of living fungal hyphae. International Research Journal of Microbiology 2, 206–214.
Ventorino, V., Parillo, R., Testa, A., Viscardi, S., Espresso, F., Pepe, O., 2016. Chestnut green waste composting for sustainable forest management : Microbiota dynamics and impact on plant disease control. Journal of Environmental Management 166, 168–177.
Verma, V.C., Singh, S.K., Prakash, S., 2011. Bio-control and plant growth promotion potential of siderophore producing endophytic Streptomyces from Azadirachta indica A. Juss. Journal of Basic Microbiology 51, 550–556.

Vigo, C., Norman, J.R., Hooker, J.E., 2000. Biocontrol of the pathogen Phytophthora parasitica by arbuscular mycorrhizal fungi is a consequence of effects on infection loci. Plant Pathology 49, 509–514.

Wahbi, S., Prin, Y., Maghraoui, T., Sanguin, H., Thioulouse, J., Oufdou, K., Hafidi, M., Duponnois, R., 2015. Field Application of the Mycorrhizal Fungus Rhizophagus irregularis Increases the Yield of Wheat Crop and Affects Soil Microbial Functionalities. American Journal of Plant Sciences 6, 3205–321.

Walker, T.S., Bais, H.P., Grotewold, E., Vivanco, J.M., 2003. Update on Root Exudation and Rhizosphere Biology Root Exudation and Rhizosphere Biology 1. Plant Physiology 132, 44–51.

Wang, W., Shi, J., Xie, Q., Jiang, Y., Yu, N., Wang, E., 2017. Nutrient Exchange and Regulation in Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. Molecular Plant.

Wang, Y.Y., Yin, Q.S., Qu, Y., Li, G.Z., Hao, L., 2018. Arbuscular mycorrhiza-mediated resistance in tomato against Cladosporium fulvum-induced mould disease. Journal of Phytopathology 166, 67–74.

Wei, G., Kloepper, J.W., Tuzun, S., 1992. Induction of systemic resistance with seed treatment by PGPR strains. Bulletin OILB SROP (France) 14, 1.

Weisany, W., Raei, Y., Salmasi, S.Z., Sohrabi, Y., Ghassemi-Golezani, K., 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi induced changes in rhizosphere, essential oil and mineral nutrients uptake in dill/common bean intercropping system. Annals of Applied Biology 169, 384–397.

Winarso, S., Pandutama, M.H., Purwanto, L.D., 2016. Effectivity of Humic Substance Extracted from Palm Oil Compost as Liquid Fertilizer and Heavy Metal Bioremediation. Agriculture and Agricultural Science Procedia 9, 146–157.

Wu, Q.S., Li, G.H., Zou, Y.N., 2011. Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient acquisition of peach (Prunus persica L. Batsch) seedlings. Journal of Animal and Plant Sciences 21, 746–750.

Wu, S.C., Cheung, K.C., Luo, Y.M., Wong, M.H., 2006. Effects of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on metal uptake by Brassica juncea. Environmental Pollution 140, 124–135.

Xavier, L.J.C., Germida, J.J., 2003. Bacteria associated with Glomus clarum spores influence mycorrhizal activity. Soil Biology and Biochemistry 35, 471–478. doi:10.1016/S0038-0717(03)00003-8

Xu, L., Yi, M., Yi, H., Guo, E., Zhang, A., 2018. Manure and mineral fertilization change enzyme activity and bacterial community in millet rhizosphere soils. World Journal of Microbiology and Biotechnology 34, 1–13.

Xue, C., Penton, C.R., Shen, Z., Zhang, R., Huang, Q., Li, R., Ruan, Y., Shen, Q., 2015. Manipulating the banana rhizosphere microbiome for biological control of Panama disease. Scientific Reports 5, 11124.

Yaish, M.W., Antony, I., Glick, B.R., 2015. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting bacteria from date palm tree (Phoenix dactylifera L.) and their potential role in salinity tolerance. Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology 107, 1519–1532.

Yang, Q., Li, Z., Lu, X., Duan, Q., Huang, L., Bi, J., 2018. A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: Pollution and risk assessment. Science of the Total Environment 642, 690–700.

Yehia Khaf, E., Eid El-Abe, S., Shaker Sol, M., Mohamed El, S.E.-S., Ahmed, Y., 2018. Role of Arbuscular Mycorrhizae Fungi and Humic Acid in Controlling Root and Crown Rot of Strawberry. Plant Pathology Journal 17, 65–74.

Yildiz, S., Degirmenci, M., Kaplan, M., 2016. Windrow Composting of Waste Sludge and Effects Composts On Plant Growth and Soil Characteristics. Global NEST Journal 18, 652–664.

Yu, D., Sinkkonen, A., Hui, N., Kurola, J.M., Kukkonen, S., Parikka, P., Vestberg, M., Romantschuk, M., 2015. Molecular profile of microbiota of Finnish commercial compost suppressive against Pythium disease on cucumber plants. Applied Soil Ecology 92, 47–53. doi:10.1016/j.apsoil.2015.03.005

Zahedi, H., Abbasi, S., 2015. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and water stress on phytohormones and polyamines of soybean. Indian Journal of Agricultural Research 49, 427–431.

Zahran, H.H., 2001. Rhizobia from wild legumes: Diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology, in: Journal of Biotechnology. pp. 143–153.

Zaidi, a, Khan, M.S., Ahemad, M., Oves, M., 2009. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 56, 263–284.

Zehnder, G.W., Murphy, J.F., Sikora, E.J., Kloepper, J.W., 2001. Application of rhizobacteria for induced resistance. European Journal of Plant Pathology 107, 39–50.

Zerrouk, I.Z., Benchabane, M., Khelifi, L., Yokawa, K., Ludwig-Müller, J., Baluska, F., Ludwig-M??ller, J., Baluska, F., 2016. A Pseudomonas strain isolated from date-palm rhizospheres improves root growth and promotes root formation in maize exposed to salt and aluminum stress. Journal of Plant Physiology 191, 111–119.

Zeytin, S., Baran, A., 2003. Influences of composted hazelnut husk on some physical properties of soils. Bioresource Technology 88, 241–244.

Zhai, Y., Zhao, X., Teng, Y., Li, X., Zhang, J., Wu, J., Zuo, R., 2017. Groundwater nitrate pollution and human health risk assessment by using HHRA model in an agricultural area, NE China. Ecotoxicology and

Environmental Safety 137, 130–142.
Zhang, F., Liu, M., Li, Y., Che, Y., Xiao, Y., 2019. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, biochar and cadmium on the yield and element uptake of Medicago sativa. Science of the Total Environment 655, 1150–1158.
Zhang, J., Bei, S., Li, B., Zhang, Junling, Christie, P., Li, X., 2019. Organic fertilizer, but not heavy liming, enhances banana biomass, increases soil organic carbon and modifies soil microbiota. Applied Soil Ecology 136, 67–79.
Zhang, L., Wang, D., Hu, Q., Dai, X., Xie, Y., Li, Q., Liu, H.-M., Guo, J.-H., 2019. Consortium of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Strains Suppresses Sweet Pepper Disease by Altering the Rhizosphere Microbiota. Frontiers in Microbiology 10, 1–10.
Zhang, W., Han, D.Y., Dick, W.A., Davis, K.R., Hoitink, H.A.J., 1998. Compost and compost water extract-induced systemic acquired resistance in cucumber and Arabidopsis. Phytopathology 88, 450–455.
Zhang, X., Cao, Y., Tian, Y., Li, J., 2014. Short-term compost application increases rhizosphere soil carbon mineralization and stimulates root growth in long-term continuously cropped cucumber. Scientia Horticulturae 175, 269–277.
Zhang, Y., Wu, J., Xu, B., 2018. Human health risk assessment of groundwater nitrogen pollution in Jinghui canal irrigation area of the loess region, northwest China. Environmental Earth Sciences 77, 1–12.
Zmora-nahum, S., Danon, M., Hadar, Y., Chen, Y., 2008. Chemical properties of compost extracts inhibitory to germination of Sclerotium rolfsii. Soil Biology & Biochemistry 40, 2523–2529.

12 Annexes: Tableaux statistiques

12.1 *In vitro* screening of PGPRs and Fusarium wilt control

Annexe 1: Homogénéité des variances (PGP screening)

Test d'homogénéité des variances

	Statistique de Levene	ddl1	ddl2	Signification
P-solubilization	7,525	33	68	,000
K-solubilization with PGPR	6,049	33	68	,000
Zn solubilization	8,073	33	68	,000
Ammonia concentration	5,599	33	68	,000
IAA-amount (µg/ml)	5,512	33	68	,000

Annexe 2: ANOVA 1: P, K and Zn solubilization and ammonia and IAA production

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	Ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
P-solubilization	Inter-groupes	65,189	33	1,975	3697,111	,000
	Intra-groupes	,036	68	,001		
	Total	65,225	101			
K-solubilization with PGPR	Inter-groupes	98,682	33	2,990	3766,027	,000
	Intra-groupes	,054	68	,001		
	Total	98,736	101			
Zn solubilization	Inter-groupes	113,838	33	3,450	17713,673	,000
	Intra-groupes	,013	68	,000		
	Total	113,851	101			
Ammonia concentration	Inter-groupes	116,284	33	3,524	9341,471	,000
	Intra-groupes	,026	68	,000		
	Total	116,309	101			
IAA-amount (µg/ml)	Inter-groupes	29852,081	33	904,609	4375,291	,000
	Intra-groupes	14,059	68	,207		
	Total	29866,141	101			

Annexe 3: ANOVA à 1 facteur ; Siderophores production by PGPR

ANOVA à 1 facteur

Siderophores unit %

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	17751,794	29	612,131	8,212	,000
Intra-groupes	4472,585	60	74,543		
Total	22224,379	89			

Annexe 4: Multiple comparison (P solubilization); Duncan's test

P-solubilization : comparaison multiple

Duncan[a]

Rhizobacterium	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
M02	3	,0000									
M03	3	,0000									
M06	3	,0000									
M08	3	,0000									
M010	3	,0000									
M012	3	,0000									
M013	3	,0000									
M016	3	,0000									
M022	3	,0000									
M023	3	,0000									
M025	3	,0000									
M026	3	,0000									
M027	3	,0000									
M029	3	,0000									
M031	3	,0000									
M032	3	,0000									
M033	3	,0000									
M014	3	,0000									
M019	3		1,1900								
M028	3			1,3000							
M011	3			1,3033							
M018	3				1,4233						
M030	3					1,4800					
M01	3					1,4933					
M015	3						1,6000				
M017	3						1,6100				
M04	3						1,6333	1,6333			
M09	3							1,6700	1,6700		
M021	3								1,6900		
M07	3								1,6967		
M05	3									1,8433	
M024	3									1,8767	
M020	3										1,9567
Signification		1,000	1,000	,860	1,000	,482	,099	,056	,188	,082	1,000

Annexe 5: Multiple comparison (K solubilization); Duncan's test

K-solubilization with PGPR : comparaison multiple

Duncan[a]

RhizoB	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
M01	3	,000												
M02	3	,000												
M03	3	,000												
M07	3	,000												
M030	3	,000												
M08	3	,000												
M011	3	,000												
M012	3	,000												
M016	3	,000												
M020	3	,000												
M022	3	,000												
M024	3	,000												
M025	3	,000												
M027	3	,000												
M032	3	,000												
M033	3	,000												
M09	3		1,05											
M018	3		1,06											
M023	3			1,23										
M06	3				1,36									
M017	3					1,44								
M014	3					1,45								
M015	3						1,51							
M04	3							1,56						
M05	3								1,62					
M019	3									1,78				
M013	3										1,89			
M031	3										1,91			
M010	3											2,18		
M029	3												2,61	
M028	3												2,62	
M021	3													2,69
M026	3													2,71
Sig		1,00	,76	1,000	1,000	,616	1,000	1,00	1,00	1,00	,33	1,00	,75	,29

Annexe 6: Multiple comparison (Zn solubilization); Duncan's test

Zn solubilization : comparaison multiple

Duncan[a]

RhizoB	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
M02	3	,0000					
M03	3	,0000					
M04	3	,0000					
M05	3	,0000					
M06	3	,0000					
M07	3	,0000					
M030	3	,0000					
M09	3	,0000					
M010	3	,0000					
M011	3	,0000					
M012	3	,0000					
M013	3	,0000					
M015	3	,0000					
M016	3	,0000					
M018	3	,0000					
M019	3	,0000					
M020	3	,0000					
M021	3	,0000					
M022	3	,0000					
M024	3	,0000					
M025	3	,0000					
M026	3	,0000					
M027	3	,0000					
M028	3	,0000					
M032	3	,0000					
M033	3	,0000					
M014	3	,0000					
M017	3		2,3147				
M031	3			2,4644			
M023	3				2,6958		
M029	3					2,9071	
M01	3						3,0619
M08	3						3,0734
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,316

Annexe 7: Multiple comparison (NH3 production); Duncan's test

Ammonia concentration : comparaison multiple

Duncan[a]

RhizoB	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
M02	3	,0000								
M03	3	,0000								
M06	3	,0000								
M07	3	,0000								
M030	3	,0000								
M09	3	,0000								
M011	3	,0000								
M016	3	,0000								
M017	3	,0000								
M018	3	,0000								
M021	3	,0000								
M022	3	,0000								
M023	3	,0000								
M024	3	,0000								
M026	3	,0000								
M027	3	,0000								
M028	3	,0000								
M029	3	,0000								
M031	3	,0000								
M032	3	,0000								
M033	3	,0000								
M05	3		,1657							
M014	3			1,8500						
M013	3			1,8800						
M019	3				1,9267					
M020	3					1,9900				
M025	3						2,1367			
M08	3						2,1533			
M04	3							2,2067		
M01	3								2,5400	
M010	3								2,5433	
M012	3								2,5700	
M015	3									2,9633
Sig.		1,000	1,000	,063	1,000	1,000	,297	1,000	,077	1,000

Annexe 8: Multiple comparaison (IAA production); Duncan's test

Rhizo	IAA production Sous-ensemble pour alpha = 0.05																							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
33,00	3,51																							
M017	3,81	3,81																						
M013	4,22	4,22	4,22																					
M024	4,29	4,29	4,29																					
M027		4,45	4,45																					
M029		4,55	4,55																					
M030		4,55	4,55																					
M003			4,67																					
M015			4,91																					
M022				6,27																				
M011					7,63																			
M014					8,34																			
M007						9,71																		
M031							10,85																	
M028								12,15																
M005									13,37															
M009										14,39														
M008											16,23													
M006											16,85													
M018												21,01												
M012													22,41											
M019														27,30										
M025															30,30									
M001																31,38								
M016																	32,43							
M004																		39,67						
M010																			40,81					
M023																			41,26					
M002																				42,05				
M032																					44,85			
M021																						46,49		
M026																						46,78		
M033																							51,68	
M020																								61,84
Sig.	0,06	0,08	0,11	1,00	0,06	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,10	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,23	1,00	1,00	0,44	1,00	1,00

Annexe 9: Multiple comparison (Siderophore production); Duncan's test

RhizB	Sous-ensemble pour alpha = 0.05											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
M018	11,93											
M012	12,65											
M021	14,71	14,71										
M03	15,03	15,03										
M017	21,94	21,94	21,94									
M014	22,53	22,53	22,53									
M01	22,60	22,60	22,60									
M013	24,29	24,29	24,29	24,29								
M029	25,51	25,51	25,51	25,51	25,51							
M09	28,0	28,09	28,09	28,09	28,09	28,09						
M05		29,91	29,91	29,91	29,91	29,91	29,91					
M08			33,00	33,00	33,00	33,00	33,00	33,00				
M04			33,06	33,06	33,06	33,06	33,06	33,062				
M026			35,27	35,27	35,27	35,27	35,27	35,27	35,27			
M027			35,78	35,78	35,78	35,78	35,78	35,78	35,78			
M019			35,92	35,92	35,92	35,92	35,92	35,92	35,92			
M07			36,23	36,23	36,23	36,23	36,23	36,22	36,23			
M06				40,03	40,03	40,03	40,03	40,03	40,03	40,03		
M011				40,03	40,03	40,03	40,03	40,03	40,03	40,03		
M02					42,07	42,07	42,07	42,07	42,07	42,07		
M022						44,65	44,65	44,65	44,65	44,65	44,651	
M016						44,73	44,73	44,73	44,73	44,73	44,73	
M024							46,22	46,22	46,22	46,22	46,22	46,22
M028								48,49	48,49	48,49	48,49	48,49
M010									50,88	50,88	50,88	50,88
M025										53,21	53,21	53,21
M020										53,69	53,69	53,69
M023										56,62	56,62	56,62
M030											59,84	59,84
M015												61,89
Sig.	,057	,071	,099	,064	,054	,054	,059	,073	,069	,052	,072	,060

Annexe 10: ANOVA 1: Amylase activity

ANOVA à 1 facteur

index of amylase activity

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	11,973	8	1,497	175,048	,000
Intra-groupes	,077	9	,009		
Total	12,050	17			

Annexe 11: Multiple comparaison; amylase activity

index of amylase activity

Test de Duncan

Rhizobacterium	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
		1	2	3	4
M013	2	1,2600			
M016	2	1,2900			
M014	2	1,3350			
M033	2	1,4450	1,4450		
M04	2		1,7200		
M030	2		1,7400		
M022	2			2,7400	
Sign.		,576	,141	1,000	1,000

Annexe 12: ANOVA 1; Chitinase activity (Duncan's test)

ANOVA à 1 facteur

Chitinase Index

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	3,231	2	1,616	1795,111	,000
Intra-groupes	,005	6	,001		
Total	3,237	8			

Annexe 13:Multiple comparaison; Chitinase activity (Duncan's test)

Chitinase Index

Duncan[a]

Effective isolates	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
M08	3	1,3700		
M021	3		1,4300	
M031	3			2,6700
Signification		1,000	1,000	1,000

Annexe 14: ANOVA 1: Cellulase activity

ANOVA à 1 facteur

Cellulase index

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	24,800	11	2,255	2714,502	,000
Intra-groupes	,020	24	,001		
Total	24,820	35			

Annexe 15: Multiple comparison; Cellulase activity (Duncan's test)

Cellulase index

Duncan[a]

PGPR isolate	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
M016	3	1,0700							
M012	3		1,5900						
M017	3			1,8200					
M013	3			1,8700					
M033	3				2,2600				
M019	3				2,2800				
M014	3					3,2033			
M04	3						3,3000		
M030	3							3,4333	
M022	3								3,8200
Signification		1,000	1,000	,062	,404	1,000	1,000	1,000	1,000

Annexe 16: ANOVA 1: *In vitro* Fusarium wilt control via antagonism

ANOVA à 1 facteur

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
antagonisme	Inter-groupes	91944,712	29	3170,507	844,809	,000
	Intra-groupes	337,764	90	3,753		
	Total	92282,476	119			

Annexe 17: Multiple comparison: Antagonism (Duncan's test)

Antagonisme

Duncan[a]

Isolate	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
M016	4	6,49											
M05	4		26,64										
M06	4			36,66	36,66								
M01	4				39,33								
M031	4					47,60							
M014	4					48,79							
M020	4						54,46						
M013	4							63,55					
M03	4								77,49				
M04	4										86,98		
M019	4										87,58		
M028	4											94,07	
M021	4												100,00
M010	4												100,00
M08	4												100,00
M033	4												100,00
M015	4												100,00
M025	4												100,00
M024	4												100,00
M018	4												100,00
M030	4												100,00
M09	4												100,00
M022	4												100,00
M02	4												100,00
M012	4												100,00
M017	4												100,00
M023	4												100,00
Signification		1,000	1,000	,493	,055	,386	1,000	1,000	1,000	,275	,661	1,000	1,000

Annexe 18: ANOVA 1: *In vitro* inhibition of *Foa* via Supernatant

ANOVA à 1 facteur

reduction

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sign.
Inter-groupes	18175,268	30	605,842	228,696	,000
Intra-groupes	82,122	31	2,649		
Total	18257,391	61			

Annexe 19: Multiple comparaison; Réduction de croissance du Foa par les métabolites du PGPR (Duncan's test)

Isolats	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
6,00	2	9,0														
13,00	2	9,4														
28,00	2		12,9													
11,00	2		15,3													
25,00	2		15,9													
24,00	2			20,27												
27,00	2				25,27											
5,00	2				26,38	26,38										
31,00	2				26,38	26,38										
14,00	2				28,12	28,12										
16,00	2					29,16	29,16									
8,00	2					29,86	29,86	29,86								
1,00	2						31,94	31,94								
2,00	2							32,77								
4,00	2								41,31							
10,00	2								44,44							
18,00	2									48,47						
23,00	2									50,00						
29,00	2									50,70	50,70					
9,00	2									51,04	51,04					
3,00	2									51,18	51,18					
12,00	2									51,18	51,18					
26,00	2									52,08	52,08	52,08				
30,00	2									52,08	52,08	52,08				
22,00	2										54,16	54,16	54,16			
15,00	2											55,55	55,55	55,55		
21,00	2												57,15	57,15		
20,00	2													57,91		
7,00	2														61,66	
17,00	2															65,55
19,00	2															65,97
Significan		,832	,092	1,000	,119	,064	,116	,099	,064	,064	,072	,058	,092	,180	1,000	,800

12.2 Essais agronomiques (sous serre) : Nutrition et croissance des plantes

Annexe 20: Factors inter-subjects

Facteurs inter-sujets		
		N
Mycorhize (AMF)	0	18
	AMF1	18
	AMF2	18
PGPRs consortium	0	27
	1	27
Compost (C)	0	18
	CA	18
	CB	18
Bloc	1	18
	2	18
	3	**18**

Treatments significations

Tr.	Signification	Tr.	Signification
T1	Control	T10	CB+PGPR
T2	PGPR	T11	CA+AMF1
T3	AMF1	T12	CA+AMF1+PGPR
T4	AMF1+ PGPR	T13	CA+AMF2
T5	AMF2	T14	CA+AMF2+PGPR
T6	AMF2+PGPR	T15	CB+AMF1
T7	CA	T16	CB+AMF1+PGPR
T8	CA+PGPR	T17	CB+AMF2
T9	**CB**	**T18**	**CB+AMF2+PGPR**

Annexe 21: Analyse de la variance (ANOVA 4) : Root number of plants

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: Root number of plants

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	9387,852	1	9387,852	19687,146	,000
	Erreur	,954	2	,477[a]		
AMF	Hypothèse	49,370	2	24,685	18,161	,000
	Erreur	46,213	34	1,359[b]		
PGPR	Hypothèse	2,667	1	2,667	1,962	,170
	Erreur	46,213	34	1,359[b]		
Compost	Hypothèse	209,370	2	104,685	77,019	,000
	Erreur	46,213	34	1,359[b]		
Bloc	Hypothèse	,954	2	,477	,351	,707
	Erreur	46,213	34	1,359[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	2,111	2	1,056	,777	,468
	Erreur	46,213	34	1,359[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	4,407	4	1,102	,811	,527
	Erreur	46,213	34	1,359[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	2,333	2	1,167	,858	,433
	Erreur	46,213	34	1,359[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	11,222	4	2,806	2,064	,107
	Erreur	46,213	34	1,359[b]		

Annexe 22: ANOVA 4 ; Root weight

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: Root weight (g)

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	290557,688	1	290557,688	38169,401	,000
	Erreur	15,225	2	7,612[a]		
AMF	Hypothèse	2005,080	2	1002,540	284,518	,000
	Erreur	119,804	34	3,524[b]		
PGPR	Hypothèse	211,761	1	211,761	60,097	,000
	Erreur	119,804	34	3,524[b]		
Compost	Hypothèse	19150,481	2	9575,241	2717,431	,000
	Erreur	119,804	34	3,524[b]		
Bloc	Hypothèse	15,225	2	7,612	2,160	,131
	Erreur	119,804	34	3,524[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	70,886	2	35,443	10,059	,000
	Erreur	119,804	34	3,524[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	1705,819	4	426,455	121,027	,000
	Erreur	119,804	34	3,524[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	576,947	2	288,474	81,868	,000
	Erreur	119,804	34	3,524[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	3657,908	4	914,477	259,526	,000
	Erreur	119,804	34	3,524[b]		

Annexe 23: ANOVA 4 ; Shoot weight

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: Shoot fresh weight (g)

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	1130593,193	1	1130593,193	3617490,915	,000
	Erreur	,625	2	,313[a]		
AMF	Hypothèse	4623,881	2	2311,940	324,060	,000
	Erreur	242,566	34	7,134[b]		
PGPR	Hypothèse	340,909	1	340,909	47,784	,000
	Erreur	242,566	34	7,134[b]		
Compost	Hypothèse	2814,405	2	1407,203	197,245	,000
	Erreur	242,566	34	7,134[b]		
Bloc	Hypothèse	,625	2	,313	,044	,957
	Erreur	242,566	34	7,134[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	4300,355	2	2150,178	301,386	,000
	Erreur	242,566	34	7,134[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	1525,076	4	381,269	53,442	,000
	Erreur	242,566	34	7,134[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	8927,424	2	4463,712	625,669	,000
	Erreur	242,566	34	7,134[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	245,685	4	61,421	8,609	,000
	Erreur	242,566	34	7,134[b]		

Annexe 24: ANOVA 4; Growth rate of length

Tests des effets inter-sujets
Variable dependent: Growth rate of length (mm/month)

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	34,358	1	34,358	146067,738	,000
	Erreur	,000	2	,000[a]		
AMF	Hypothèse	,029	2	,015	165,226	,000
	Erreur	,003	34	8,908E-005[b]		
PGPR	Hypothèse	,102	1	,102	1141,260	,000
	Erreur	,003	34	8,908E-005[b]		
Compost	Hypothèse	,496	2	,248	2782,457	,000
	Erreur	,003	34	8,908E-005[b]		
Bloc	Hypothèse	,000	2	,000	2,640	,086
	Erreur	,003	34	8,908E-005[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	,061	2	,030	341,399	,000
	Erreur	,003	34	8,908E-005[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	,249	4	,062	698,223	,000
	Erreur	,003	34	8,908E-005[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	,019	2	,009	104,553	,000
	Erreur	,003	34	8,908E-005[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	,112	4	,028	314,952	,000
	Erreur	,003	34	8,908E-005[b]		

Annexe 25: ANOVA 4; Growth rate of stem

Tests des effets inter-sujets

Variable dependent: Growth rate of stem (µm/month)

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	342691,956	1	342691,956	146011,222	,000
	Erreur	4,694	2	2,347[a]		
AMF	Hypothèse	366,880	2	183,440	59,237	,000
	Erreur	105,288	34	3,097[b]		
PGPR	Hypothèse	319,055	1	319,055	103,031	,000
	Erreur	105,288	34	3,097[b]		
Compost	Hypothèse	453,714	2	226,857	73,258	,000
	Erreur	105,288	34	3,097[b]		
Bloc	Hypothèse	4,694	2	2,347	,758	,476
	Erreur	105,288	34	3,097[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	15,306	2	7,653	2,471	,100
	Erreur	105,288	34	3,097[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	4072,087	4	1018,022	328,744	,000
	Erreur	105,288	34	3,097[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	318,992	2	159,496	51,505	,000
	Erreur	105,288	34	3,097[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	851,240	4	212,810	68,722	,000
	Erreur	105,288	34	3,097[b]		

Annexe 26: ANOVA 4; Chlorophyll content

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: Chlorophyll content (mg/g FW)

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	1000,008	1	1000,008	87059,575	,000
	Erreur	,023	2	,011[a]		
AMF	Hypothèse	,007	2	,004	1,110	,341
	Erreur	,112	34	,003[b]		
PGPR	Hypothèse	,077	1	,077	23,337	,000
	Erreur	,112	34	,003[b]		
Compost	Hypothèse	,179	2	,090	27,259	,000
	Erreur	,112	34	,003[b]		
Bloc	Hypothèse	,023	2	,011	3,490	,042
	Erreur	,112	34	,003[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	,028	2	,014	4,320	,021
	Erreur	,112	34	,003[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	,127	4	,032	9,610	,000
	Erreur	,112	34	,003[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	,036	2	,018	5,472	,009
	Erreur	,112	34	,003[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	,071	4	,018	5,392	,002
	Erreur	,112	34	,003[b]		

Annexe 27: ANOVA 4 ; Leaf number

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: Leaf number

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	3791,782	1	3791,782	2804,880	,000
	Erreur	2,704	2	1,352[a]		
AMF	Hypothèse	,843	2	,421	,844	,439
	Erreur	16,963	34	,499[b]		
PGPR	Hypothèse	2,042	1	2,042	4,092	,051
	Erreur	16,963	34	,499[b]		
Compost	Hypothèse	,481	2	,241	,483	,621
	Erreur	16,963	34	,499[b]		
Bloc	Hypothèse	2,704	2	1,352	2,710	,081
	Erreur	16,963	34	,499[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	2,583	2	1,292	2,589	,090
	Erreur	16,963	34	,499[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	12,685	4	3,171	6,356	,001
	Erreur	16,963	34	,499[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	,000	2	,000	,000	1,000
	Erreur	16,963	34	,499[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	1,667	4	,417	,835	,512
	Erreur	16,963	34	,499[b]		

Annexe 28: ANOVA 4; Pinnate number

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: Pinnates number

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	737,042	1	737,042	473,812	,002
	Erreur	3,111	2	1,556[a]		
AMF	Hypothèse	,111	2	,056	,101	,904
	Erreur	18,722	34	,551[b]		
PGPR	Hypothèse	3,375	1	3,375	6,129	,018
	Erreur	18,722	34	,551[b]		
Compost	Hypothèse	,583	2	,292	,530	,594
	Erreur	18,722	34	,551[b]		
Bloc	Hypothèse	3,111	2	1,556	2,825	,073
	Erreur	18,722	34	,551[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	4,111	2	2,056	3,733	,034
	Erreur	18,722	34	,551[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	22,389	4	5,597	10,165	,000
	Erreur	18,722	34	,551[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	1,083	2	,542	,984	,384
	Erreur	18,722	34	,551[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	2,222	4	,556	1,009	,417
	Erreur	18,722	34	,551[b]		

Annexe 29: ANOVA 4; leaf N-content

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: N-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	866,802	1	866,802	15977,377	,000
	Erreur	,109	2	,054[a]		
AMF	Hypothèse	6,037	2	3,018	45,949	,000
	Erreur	2,233	34	,066[b]		
PGPR	Hypothèse	21,901	1	21,901	333,419	,000
	Erreur	2,233	34	,066[b]		
Compost	Hypothèse	13,353	2	6,676	101,640	,000
	Erreur	2,233	34	,066[b]		
Bloc	Hypothèse	,109	2	,054	,826	,446
	Erreur	2,233	34	,066[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	,353	2	,176	2,684	,083
	Erreur	2,233	34	,066[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	7,533	4	1,883	28,670	,000
	Erreur	2,233	34	,066[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	1,264	2	,632	9,623	,000
	Erreur	2,233	34	,066[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	4,926	4	1,231	18,748	,000
	Erreur	2,233	34	,066[b]		

Annexe 30: ANOVA 4 ; leaf P- content

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: P-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	29,823	1	29,823	16551,047	,000
	Erreur	,004	2	,002[a]		
AMF	Hypothèse	,176	2	,088	39,679	,000
	Erreur	,075	34	,002[b]		
PGPR	Hypothèse	,025	1	,025	11,421	,002
	Erreur	,075	34	,002[b]		
Compost	Hypothèse	,077	2	,039	17,352	,000
	Erreur	,075	34	,002[b]		
Bloc	Hypothèse	,004	2	,002	,812	,452
	Erreur	,075	34	,002[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	,171	2	,086	38,555	,000
	Erreur	,075	34	,002[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	,177	4	,044	19,939	,000
	Erreur	,075	34	,002[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	,053	2	,027	11,972	,000
	Erreur	,075	34	,002[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	,393	4	,098	44,321	,000
	Erreur	,075	34	,002[b]		

Annexe 31: ANOVA 4; leaf K-content

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: K-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	665,145	1	665,145	1047167,067	,000
	Erreur	,001	2	,001[a]		
AMF	Hypothèse	11,825	2	5,912	1078,472	,000
	Erreur	,186	34	,005[b]		
PGPR	Hypothèse	2,561	1	2,561	467,157	,000
	Erreur	,186	34	,005[b]		
Compost	Hypothèse	5,946	2	2,973	542,252	,000
	Erreur	,186	34	,005[b]		
Bloc	Hypothèse	,001	2	,001	,116	,891
	Erreur	,186	34	,005[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	1,242	2	,621	113,284	,000
	Erreur	,186	34	,005[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	4,901	4	1,225	223,506	,000
	Erreur	,186	34	,005[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	,373	2	,186	33,977	,000
	Erreur	,186	34	,005[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	1,736	4	,434	79,163	,000
	Erreur	,186	34	,005[b]		

Annexe 32: ANOVA 4; Leaf Mg -content

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: Mg-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	4,576	1	4,576	11283,945	,000
	Erreur	,001	2	,000[a]		
AMF	Hypothèse	,116	2	,058	87,482	,000
	Erreur	,023	34	,001[b]		
PGPR	Hypothèse	,001	1	,001	1,118	,298
	Erreur	,023	34	,001[b]		
Compost	Hypothèse	,034	2	,017	25,991	,000
	Erreur	,023	34	,001[b]		
Bloc	Hypothèse	,001	2	,000	,612	,548
	Erreur	,023	34	,001[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	,016	2	,008	12,029	,000
	Erreur	,023	34	,001[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	,034	4	,009	12,932	,000
	Erreur	,023	34	,001[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	,003	2	,002	2,318	,114
	Erreur	,023	34	,001[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	,049	4	,012	18,663	,000
	Erreur	,023	34	,001[b]		

Annexe 33: ANOVA 4; Leaf Ca-centent

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: Ca-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	45,542	1	45,542	55089,879	,000
	Erreur	,002	2	,001[a]		
AMF	Hypothèse	1,447	2	,723	759,678	,000
	Erreur	,032	34	,001[b]		
PGPR	Hypothèse	,001	1	,001	1,428	,240
	Erreur	,032	34	,001[b]		
Compost	Hypothèse	,420	2	,210	220,611	,000
	Erreur	,032	34	,001[b]		
Bloc	Hypothèse	,002	2	,001	,868	,429
	Erreur	,032	34	,001[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	,201	2	,100	105,471	,000
	Erreur	,032	34	,001[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	,960	4	,240	251,938	,000
	Erreur	,032	34	,001[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	,037	2	,019	19,516	,000
	Erreur	,032	34	,001[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	,464	4	,116	121,900	,000
	Erreur	,032	34	,001[b]		

Annexe 34: ANOVA 4; Leaf Mn-content

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: Mn-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	9520123,987	1	9520123,987	4282671,064	,000
	Erreur	4,446	2	2,223[a]		
AMF	Hypothèse	78888,093	2	39444,046	4059,314	,000
	Erreur	330,375	34	9,717[b]		
PGPR	Hypothèse	301381,635	1	301381,635	31016,159	,000
	Erreur	330,375	34	9,717[b]		
Compost	Hypothèse	1045141,301	2	522570,650	53779,437	,000
	Erreur	330,375	34	9,717[b]		
Bloc	Hypothèse	4,446	2	2,223	,229	,797
	Erreur	330,375	34	9,717[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	191193,814	2	95596,907	9838,187	,000
	Erreur	330,375	34	9,717[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	48783,662	4	12195,915	1255,121	,000
	Erreur	330,375	34	9,717[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	144461,229	2	72230,614	7433,486	,000
	Erreur	330,375	34	9,717[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	233536,140	4	58384,035	6008,490	,000
	Erreur	330,375	34	9,717[b]		

Annexe 35: ANOVA 4; leaf Fe-content

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: Fe-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	595135,819	1	595135,819	2199,507	,000
	Erreur	541,154	2	270,577[a]		
AMF	Hypothèse	6043,840	2	3021,920	12,900	,000
	Erreur	7964,878	34	234,261[b]		
PGPR	Hypothèse	5309,185	1	5309,185	22,664	,000
	Erreur	7964,878	34	234,261[b]		
Compost	Hypothèse	1150,192	2	575,096	2,455	,101
	Erreur	7964,878	34	234,261[b]		
Bloc	Hypothèse	541,154	2	270,577	1,155	,327
	Erreur	7964,878	34	234,261[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	2480,390	2	1240,195	5,294	,010
	Erreur	7964,878	34	234,261[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	12841,466	4	3210,367	13,704	,000
	Erreur	7964,878	34	234,261[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	4605,107	2	2302,553	9,829	,000
	Erreur	7964,878	34	234,261[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	4170,787	4	1042,697	4,451	,005
	Erreur	7964,878	34	234,261[b]		

Annexe 36: ANOVA 4; Leaf Cu-content

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: Cu-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	197,609	1	197,609	260901,956	,000
	Erreur	,002	2	,001[a]		
AMF	Hypothèse	19,757	2	9,879	5450,839	,000
	Erreur	,062	34	,002[b]		
PGPR	Hypothèse	4,133	1	4,133	2280,736	,000
	Erreur	,062	34	,002[b]		
Compost	Hypothèse	13,218	2	6,609	3646,772	,000
	Erreur	,062	34	,002[b]		
Bloc	Hypothèse	,002	2	,001	,418	,662
	Erreur	,062	34	,002[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	10,056	2	5,028	2774,226	,000
	Erreur	,062	34	,002[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	8,324	4	2,081	1148,229	,000
	Erreur	,062	34	,002[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	,988	2	,494	272,675	,000
	Erreur	,062	34	,002[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	12,616	4	3,154	1740,263	,000
	Erreur	,062	34	,002[b]		

Annexe 37: ANOVA 4; Leaf Zn-content

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: Zn-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	13618,370	1	13618,370	6647,305	,000
	Erreur	4,097	2	2,049[a]		
AMF	Hypothèse	172,730	2	86,365	129,369	,000
	Erreur	22,698	34	,668[b]		
PGPR	Hypothèse	97,365	1	97,365	145,846	,000
	Erreur	22,698	34	,668[b]		
Compost	Hypothèse	56,133	2	28,067	42,042	,000
	Erreur	22,698	34	,668[b]		
Bloc	Hypothèse	4,097	2	2,049	3,069	,060
	Erreur	22,698	34	,668[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	70,243	2	35,121	52,609	,000
	Erreur	22,698	34	,668[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	256,133	4	64,033	95,917	,000
	Erreur	22,698	34	,668[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	97,732	2	48,866	73,198	,000
	Erreur	22,698	34	,668[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	92,377	4	23,094	34,594	,000
	Erreur	22,698	34	,668[b]		

Annexe 38: ANOVA 4; Leaf B-content

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: B-content in leaf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	384632,745	1	384632,745	229552,053	,000
	Erreur	3,351	2	1,676[a]		
AMF	Hypothèse	21233,859	2	10616,930	1818,055	,000
	Erreur	198,550	34	5,840[b]		
PGPR	Hypothèse	94,433	1	94,433	16,171	,000
	Erreur	198,550	34	5,840[b]		
Compost	Hypothèse	9808,039	2	4904,019	839,770	,000
	Erreur	198,550	34	5,840[b]		
Bloc	Hypothèse	3,351	2	1,676	,287	,752
	Erreur	198,550	34	5,840[b]		
AMF * PGPR	Hypothèse	2250,420	2	1125,210	192,682	,000
	Erreur	198,550	34	5,840[b]		
AMF * Compost	Hypothèse	13329,363	4	3332,341	570,634	,000
	Erreur	198,550	34	5,840[b]		
PGPR * Compost	Hypothèse	6947,301	2	3473,651	594,832	,000
	Erreur	198,550	34	5,840[b]		
AMF * PGPR * Compost	Hypothèse	15509,313	4	3877,328	663,958	,000
	Erreur	198,550	34	5,840[b]		

Comparaisons multiple

Annexe 39: Multiple comparison; Root number (Duncan test)

Root number

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
control	6	9,0000										
AMF1+ PGPR	6	10,0000	10,0000									
PGPR	6	10,3333	10,3333	10,3333								
AMF2	6	11,0000	11,0000	11,0000	11,0000							
AMF2+PGPR	6	11,0000	11,0000	11,0000	11,0000							
AMF1	6		11,6667	11,6667	11,6667	11,6667						
CA	6			12,3333	12,3333	12,3333	12,3333					
CA+PGPR	6				12,6667	12,6667	12,6667	12,6667				
CB+PGPR	6				13,0000	13,0000	13,0000	13,0000	13,0000			
CA+AMF1	6					13,6667	13,6667	13,6667	13,6667	13,6667		
CB	6						14,0000	14,0000	14,0000	14,0000	14,0000	
CA+AMF2	6						14,3333	14,3333	14,3333	14,3333	14,3333	
CA+AMF1+PGPR	6							14,6667	14,6667	14,6667	14,6667	
CB+AMF1	6								15,0000	15,0000	15,0000	
CA+AMF2+PGPR	6									15,6667	15,6667	15,6667
CB+AMF2	6									15,6667	15,6667	15,6667
CB+AMF1+PGPR	6										16,0000	16,0000
CB+AMF2+PGPR	6											17,3333
Signification		,062	,119	,062	,066	,062	,066	,066	,066	,070	,070	,111

Annexe 40 Multiple comparison; Root weight (Duncan's test)

Root weight

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PGPR	6	25,9267									
AMF2	6		45,2667								
control	6			50,2500							
AMF1	6			52,4000							
AMF2+PGPR	6				58,3000						
CA	6				58,7967						
AMF1+ PGPR	6				60,3500						
CA+AMF1+PGPR	6					69,0967					
CB+AMF1	6					69,4100					
CA+AMF2	6						75,7867				
CA+PGPR	6						77,5933				
CA+AMF2+PGPR	6							83,5000			
CB	6							85,2000			
CB+PGPR	6								94,2250		
CA+AMF1	6								96,1933		
CB+AMF1+PGPR	6									100,3667	
CB+AMF2+PGPR	6										108,6433
CB+AMF2	6										109,0533
Signification		1,000	1,000	,182	,230	,844	,261	,289	,221	1,000	,797

Annexe 41: Multiple comparaison; Shoot weight (Duncan's test)

Shoot weight

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
PGPR	6	96,1667								
CB+AMF1	6		111,3200							
AMF2+PGPR	6			124,7333						
CA+PGPR	6				131,0533					
AMF1+ PGPR	6				133,0667	133,0667				
CB	6				134,3233	134,3233				
CA+AMF1	6					136,0000				
control	6						141,9000			
AMF1	6						142,0000			
CA+AMF2+PGPR	6						145,9033			
CA	6							156,1033		
CA+AMF1+PGPR	6							156,3000		
CB+AMF2	6							159,5233		
CB+AMF1+PGPR	6							160,0533		
CB+PGPR	6							160,3067		
AMF2	6								169,0667	
CB+AMF2+PGPR	6								172,0667	172,0667
CA+AMF2	6									174,6400
Signification		1,000	1,000	1,000	,154	,200	,082	,084	,166	,233

Annexe 42: Multiple comparison Leaf number (Duncan's test)

Leaf number

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
		1	2	3	4
control	6	7,1667			
CB+AMF1	6	7,3333	7,3333		
CA+AMF2+PGPR	6	7,6667	7,6667	7,6667	
PGPR	6	7,8333	7,8333	7,8333	
CA+AMF1	6	8,0000	8,0000	8,0000	8,0000
CA+AMF2	6	8,0000	8,0000	8,0000	8,0000
AMF2	6	8,1667	8,1667	8,1667	8,1667
AMF2+PGPR	6	8,1667	8,1667	8,1667	8,1667
CA	6	8,5000	8,5000	8,5000	8,5000
CB+PGPR	6	8,5000	8,5000	8,5000	8,5000
CB+AMF1+PGPR	6	8,5000	8,5000	8,5000	8,5000
CB+AMF2	6		8,6667	8,6667	8,6667
AMF1	6			8,8333	8,8333
CA+PGPR	6			8,8333	8,8333
CB	6			8,8333	8,8333
CB+AMF2+PGPR	6			9,0000	9,0000
AMF1+ PGPR	6				9,3333
CA+AMF1+PGPR	6				9,3333
Signification		,065	,065	,068	,068

Annexe 43: Multiple comparison; Pinnate Number (Duncan's test)

Pinnate number

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
control	6	2,1667					
CB+AMF1	6	2,3333	2,3333				
CA+AMF2+PGPR	6	2,5000	2,5000	2,5000			
PGPR	6	3,1667	3,1667	3,1667	3,1667		
CA+AMF2	6	3,3333	3,3333	3,3333	3,3333	3,3333	
CA+AMF1	6	3,5000	3,5000	3,5000	3,5000	3,5000	
CA+AMF1+PGPR	6	3,5000	3,5000	3,5000	3,5000	3,5000	
CA	6		3,6667	3,6667	3,6667	3,6667	
AMF2	6		3,8333	3,8333	3,8333	3,8333	3,8333
AMF2+PGPR	6		3,8333	3,8333	3,8333	3,8333	3,8333
CB	6		3,8333	3,8333	3,8333	3,8333	3,8333
CB+AMF1+PGPR	6		3,8333	3,8333	3,8333	3,8333	3,8333
AMF1	6			4,0000	4,0000	4,0000	4,0000
CB+PGPR	6				4,1667	4,1667	4,1667
CB+AMF2	6				4,3333	4,3333	4,3333
CB+AMF2+PGPR	6				4,3333	4,3333	4,3333
CA+PGPR	6					4,8333	4,8333
AMF1+ PGPR	6						5,3333
Signification		,076	,053	,053	,133	,055	,051

Annexe 44: Multiple comparison ;Chlorophyll content (Duncan test)

Chlorophylle content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
		1	2	3	4
CB+AMF1	6	4,0785			
CB+AMF2	6	4,0922			
CA	6	4,1592	4,1592		
CB+AMF1+PGPR	6		4,2108		
CA+AMF2	6		4,2646	4,2646	
control	6			4,3220	4,3220
CB	6			4,3279	4,3279
CB+PGPR	6			4,3304	4,3304
AMF1+ PGPR	6			4,3333	4,3333
CA+AMF1+PGPR	6			4,3383	4,3383
CA+AMF2+PGPR	6			4,3519	4,3519
CB+AMF2+PGPR	6			4,3531	4,3531
CA+PGPR	6			4,3545	4,3545
CA+AMF1	6			4,3588	4,3588
AMF2	6				4,3845
PGPR	6				4,3877
AMF1	6				4,4029
AMF2+PGPR	6				4,4096
Signification		,135	,053	,118	,151

Annexe 45: Multiple comparison Leaf N-content (Duncan's test)

Leaf N-content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
CA+AMF1	3	2,6867						
CB	3	2,6933						
control	3		3,1667					
CA	3		3,2167					
CB+AMF1	3		3,3067					
CA+AMF2	3		3,3133					
CB+PGPR	3		3,4333	3,4333				
CB+AMF2	3		3,4500	3,4500				
CA+PGPR	3			3,8133	3,8133			
CB+AMF1+PGPR	3			3,8200	3,8200			
CA+AMF1+PGPR	3				3,9200			
AMF1	3				4,2333			
AMF2	3				4,2600			
AMF2+PGPR	3					4,8167		
CB+AMF2+PGPR	3					4,8667		
PGPR	3					4,9833	4,9833	
CA+AMF2+PGPR	3						5,3600	
AMF1+ PGPR	3							6,7767
Signification		,975	,242	,097	,061	,457	,079	1,000

Annexe 46: Multiple comparison Leaf P-content

Leaf P-content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CB+AMF1	3	,5100									
CA+AMF1+PGPR	3	,5600	,5600								
AMF1	3	,5767	,5767	,5767							
CB+AMF2	3		,6133	,6133	,6133						
CA+AMF2	3			,6500	,6500	,6500					
CB+AMF1+PGPR	3			,6600	,6600	,6600	,6600				
CA+PGPR	3				,6933	,6933	,6933	,6933			
CA+AMF1	3				,6933	,6933	,6933	,6933			
AMF2+PGPR	3					,7300	,7300	,7300	,7300		
CB+PGPR	3						,7433	,7433	,7433		
CA+AMF2+PGPR	3						,7433	,7433	,7433		
control	3							,7733	,7733	,7733	
PGPR	3							,7800	,7800	,7800	
CA	3								,8067	,8067	
CB+AMF2+PGPR	3									,8400	
AMF2	3									,8433	
CB	3										1,0267
AMF1+ PGPR	3										1,0600
Signification		,105	,193	,050	,066	,066	,059	,053	,083	,107	,385

Annexe 47: Multiple comparison; Lef K-content

Leaf K-content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
AMF1	3	2,5767								
AMF1+ PGPR	3	2,6567	2,6567							
CB+AMF2+PGPR	3		2,7400							
AMF2+PGPR	3		2,7667							
PGPR	3		2,7833							
AMF2	3			2,9600						
CA+AMF2+PGPR	3				3,2233					
CB+AMF2	3				3,2367					
CB+AMF1+PGPR	3				3,3300					
CA+AMF2	3					3,4800				
CB+AMF1	3						3,6333			
CA+AMF1+PGPR	3						3,7167			
CA+PGPR	3							3,9100		
CA+AMF1	3							3,9100		
CA	3							3,9900		
control	3								4,5267	
CB+PGPR	3								4,6200	
CB	3									5,2333
Signification		,183	,055	1,000	,095	1,000	,166	,209	,122	1,000

Annexe 48: Multiple comparison ; Leaf Mg-content

Leaf Mg-content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
CB+AMF2	3	,1800						
AMF1	3	,2067	,2067					
AMF2	3	,2200	,2200					
CA+AMF2+PGPR	3		,2300					
AMF1+ PGPR	3		,2433	,2433				
PGPR	3		,2467	,2467				
AMF2+PGPR	3		,2500	,2500				
CA+AMF2	3		,2500	,2500				
CA+AMF1+PGPR	3			,2833	,2833			
CB+AMF2+PGPR	3			,2867	,2867			
CA	3			,2900	,2900			
CB+AMF1+PGPR	3				,3100			
CB+AMF1	3				,3267	,3267		
CA+PGPR	3					,3567	,3567	
CA+AMF1	3					,3567	,3567	
CB+PGPR	3						,3833	
control	3						,3867	
CB	3							,4367
Signification		,076	,077	,057	,069	,181	,197	1,000

Annexe 49: Multiple comparison; Leaf Ca-content

Leaf Ca-content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
CB+AMF2	3	,5367								
AMF1	3		,6067							
CA+AMF2+PGPR	3		,6100							
AMF2	3		,6570							
PGPR	3			,7400						
CA+AMF2	3			,7400						
CB+AMF2+PGPR	3			,7400						
AMF1+ PGPR	3			,7833						
CA	3				,9200					
CA+AMF1+PGPR	3				,9400					
AMF2+PGPR	3				,9667					
CB+AMF1	3					1,0333				
CB+AMF1+PGPR	3						1,1100			
CA+PGPR	3						1,1600	1,1600		
CA+AMF1	3						1,1600	1,1600		
control	3							1,1767		
CB+PGPR	3								1,3100	
CB	3									1,4800
Signification		1,000	,056	,110	,076	1,000	,057	,522	1,000	1,000

Annexe 50: Multiple comparison; Leaf Zn-content

Leaf Zn-content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
CB+AMF2	3	10,2667							
CB+AMF2+PGPR	3		11,7033						
CA+AMF1+PGPR	3		12,5233	12,5233					
CA+AMF2+PGPR	3		12,5400	12,5400					
AMF2	3		12,6733	12,6733					
AMF1+ PGPR	3			13,3633	13,3633				
CA+PGPR	3			13,5467	13,5467				
AMF1	3			13,6033	13,6033				
CB+AMF1+PGPR	3				14,4300	14,4300			
CA+AMF1	3					15,5700			
CA	3						17,3333		
AMF2+PGPR	3						17,3867		
CA+AMF2	3						17,4200		
PGPR	3						17,5033		
CB+PGPR	3						17,8433		
control	3						18,8400		
CB	3							23,2033	
CB+AMF1	3								26,1000
Signification		1,000	,218	,187	,176	,114	,066	1,000	1,000

Annexe 51: Multiple comparison ;Leaf Cu-content

Leaf Cu-content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
CB+AMF2	3	,3967														
CA+AMF2+PGPR	3		,5100													
CA+AMF2	3			,6033												
CA+PGPR	3				,7000											
CB+AMF2+PGPR	3					1,2267										
CB+AMF1+PGPR	3						1,5000									
CA+AMF1+PGPR	3							1,6267								
AMF1+ PGPR	3							1,6433								
AMF2+PGPR	3								1,7933							
AMF2	3									1,9033						
CA	3									1,9100						
CA+AMF1	3									1,9367						
CB	3										2,3200					
control	3											2,5233				
CB+PGPR	3												2,6167			
AMF1	3													2,8100		
PGPR	3														3,1100	
CB+AMF1	3															5,3033
Signification		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,629	1,000	,365	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Annexe 52: Multiple comparison ;Leaf Mn-content

Leaf Mn-content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CB+AMF2	3	198,0033															
CB+PGPR	3		214,2433														
CA+AMF1+PGPR	3			223,0200													
CA+AMF2	3				246,1700												
CB+AMF1	3					270,4200											
CA+PGPR	3					272,0300											
CA	3						286,4200										
CB+AMF1+PGPR	3							296,2733									
CA+AMF1	3								319,1933								
CB	3									374,9800							
control	3										445,0000						
AMF1	3											461,1433					
CA+AMF2+PGPR	3												495,7700				
AMF2	3													505,2200			
CB+AMF2+PGPR	3														666,0000		
AMF2+PGPR	3															730,0567	
PGPR	3															731,6900	
AMF1+ PGPR	3																822,1933
Signification		1,000	1,000	1,000	1,000	,522	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,516	1,000

Annexe 53: Multiple comparison ; Leaf Fe-content

Leaf Fe-content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
CB+PGPR	3	74,0933							
AMF1+ PGPR	3	75,1667	75,1667						
CB+AMF2	3	76,0367	76,0367						
CB+AMF2+PGPR	3	77,2800	77,2800						
CA+AMF2	3	86,0033	86,0033	86,0033					
AMF1	3	86,3567	86,3567	86,3567					
AMF2+PGPR	3	93,2333	93,2333	93,2333	93,2333				
CA+PGPR	3	96,4467	96,4467	96,4467	96,4467				
CA+AMF2+PGPR	3	98,6667	98,6667	98,6667	98,6667				
CA	3	99,4567	99,4567	99,4567	99,4567	99,4567			
CB+AMF1+PGPR	3		104,3567	104,3567	104,3567	104,3567			
PGPR	3			108,2267	108,2267	108,2267			
AMF2	3			110,9367	110,9367	110,9367			
control	3				116,9000	116,9000	116,9000		
CA+AMF1+PGPR	3					128,1200	128,1200	128,1200	
CA+AMF1	3						143,0800	143,0800	143,0800
CB+AMF1	3							153,1467	153,1467
CB	3								162,1533
Signification		,095	,055	,098	,113	,050	,055	,066	,160

Annexe 54: Multiple comparison ; Leaf B-content

Leaf B-content

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CA+AMF2	3	39,0367											
CA+AMF2+PGPR	3		47,0433										
CB+AMF2+PGPR	3		47,3967										
CA	3		50,0167										
CB+AMF2	3			63,0033									
CA+AMF1+PGPR	3			65,2533									
AMF1	3			65,7267	65,7267								
CB+AMF1	3				69,3900	69,3900							
AMF1+ PGPR	3					70,2767							
AMF2	3					70,4200							
CB+AMF1+PGPR	3						84,8800						
CA+AMF1	3						86,2700						
CB+PGPR	3							92,0400					
CA+PGPR	3								108,2467				
PGPR	3									119,1200			
control	3										124,3333		
AMF2+PGPR	3											137,2167	
CB	3												179,4733
Signification		1,000	,155	,192	,066	,620	,477	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

12.3 Essais agronomiques (sous serre) : Lutte contre la fusariose vasculaire sous serre

Analyse de la variance à 5 facteurs (ANOVA) de tous les paramètres mesurés

Facteurs inter-sujets		
		N
AMF	0	21
	AMF1	18
	AMF2	18
Compost	0	21
	CA	18
	CB	18
PGPR	0	30
	1	27
Foa	0	3
	1	54
Bloc	1	19
	2	19
	3	**19**

Annexe 55: Five Way ANOVA (Root Fresh weight)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: RFW

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	110420,757	1	110420,757	10177,276	,000
	Erreur	374,442	34,512	10,850[a]		
Foa	Hypothèse	364,385	1	364,385	16,808	,000
	Erreur	780,453	36	21,679[b]		
Bloc	Hypothèse	4,778	2	2,389	,110	,896
	Erreur	780,453	36	21,679[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	469,035	2	234,518	10,818	,000
	Erreur	780,453	36	21,679[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	13699,220	2	6849,610	315,952	,000
	Erreur	780,453	36	21,679[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	22,607	1	22,607	1,043	,314
	Erreur	780,453	36	21,679[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	1568,108	4	392,027	18,083	,000
	Erreur	780,453	36	21,679[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	2713,840	2	1356,920	62,591	,000
	Erreur	780,453	36	21,679[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	70,596	2	35,298	1,628	,210
	Erreur	780,453	36	21,679[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	1236,334	4	309,083	14,257	,000
	Erreur	780,453	36	21,679[b]		

Annexe 56: Five way ANOVA (Root number)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: RNb

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	3755,556	1	3755,556	1162,821	,000
	Erreur	8,908	2,758	3,230[a]		
Foa	Hypothèse	16,982	1	16,982	15,461	,000
	Erreur	39,544	36	1,098[b]		
Bloc	Hypothèse	9,789	2	4,895	4,456	,019
	Erreur	39,544	36	1,098[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	21,444	2	10,722	9,761	,000
	Erreur	39,544	36	1,098[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	105,444	2	52,722	47,997	,000
	Erreur	39,544	36	1,098[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	21,407	1	21,407	19,489	,000
	Erreur	39,544	36	1,098[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	5,778	4	1,444	1,315	,283
	Erreur	39,544	36	1,098[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	32,481	2	16,241	14,785	,000
	Erreur	39,544	36	1,098[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	12,481	2	6,241	5,681	,007
	Erreur	39,544	36	1,098[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	4,963	4	1,241	1,130	,358
	Erreur	39,544	36	1,098[b]		

Annexe 57: Five Way ANOVA (Shoot fresh weight)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: SFW

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	636128,082	1	636128,082	4771,551	,000
	Erreur	750,804	5,632	133,317[a]		
Foa	Hypothèse	4,188	1	4,188	,033	,856
	Erreur	4508,790	36	125,244[b]		
Bloc	Hypothèse	279,247	2	139,624	1,115	,339
	Erreur	4508,790	36	125,244[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	2509,419	2	1254,710	10,018	,000
	Erreur	4508,790	36	125,244[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	14430,971	2	7215,485	57,611	,000
	Erreur	4508,790	36	125,244[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	297,980	1	297,980	2,379	,132
	Erreur	4508,790	36	125,244[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	3613,665	4	903,416	7,213	,000
	Erreur	4508,790	36	125,244[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	1812,616	2	906,308	7,236	,002
	Erreur	4508,790	36	125,244[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	296,282	2	148,141	1,183	,318
	Erreur	4508,790	36	125,244[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	1628,932	4	407,233	3,252	,022
	Erreur	4508,790	36	125,244[b]		

Annexe 58: Five way ANOVA (Leaf N-content)

Tests des effets inter-sujets
Variable dépendante: N

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	455,819	1	455,819	196071,598	,000
	Erreur	,014	6,020	,002[a]		
Bloc	Hypothèse	,005	2	,002	1,024	,369
	Erreur	,083	36	,002[b]		
Foa	Hypothèse	1,865	1	1,865	813,015	,000
	Erreur	,083	36	,002[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	,993	2	,496	216,405	,000
	Erreur	,083	36	,002[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	10,238	2	5,119	2231,984	,000
	Erreur	,083	36	,002[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	9,542	1	9,542	4160,509	,000
	Erreur	,083	36	,002[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	5,698	4	1,425	621,130	,000
	Erreur	,083	36	,002[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	,112	2	,056	24,441	,000
	Erreur	,083	36	,002[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	1,716	2	,858	374,149	,000
	Erreur	,083	36	,002[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,404	4	,101	44,026	,000
	Erreur	,083	36	,002[b]		

Annexe 59: Five way ANOVA (Leaf P-content)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: P

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	17,610	1	17,610	6593,028	,000
	Erreur	,007	2,502	,003[a]		
Bloc	Hypothèse	,009	2	,004	6,567	,004
	Erreur	,023	36	,001[b]		
Foa	Hypothèse	,005	1	,005	7,743	,009
	Erreur	,023	36	,001[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	,295	2	,147	227,651	,000
	Erreur	,023	36	,001[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	,365	2	,183	282,057	,000
	Erreur	,023	36	,001[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	,022	1	,022	34,607	,000
	Erreur	,023	36	,001[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	,266	4	,067	102,884	,000
	Erreur	,023	36	,001[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	,021	2	,011	16,386	,000
	Erreur	,023	36	,001[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,055	2	,028	42,749	,000
	Erreur	,023	36	,001[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,422	4	,106	162,950	,000
	Erreur	,023	36	,001[b]		

Annexe 60: Five way ANOVA (Leaf K-content)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: K

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	453,781	1	453,781	78670,094	,000
	Erreur	,020	3,407	,006[a]		
Bloc	Hypothèse	,016	2	,008	2,531	,094
	Erreur	,112	36	,003[b]		
Foa	Hypothèse	2,926	1	2,926	943,077	,000
	Erreur	,112	36	,003[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	1,738	2	,869	280,170	,000
	Erreur	,112	36	,003[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	,147	2	,073	23,667	,000
	Erreur	,112	36	,003[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	1,140	1	1,140	367,474	,000
	Erreur	,112	36	,003[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	1,192	4	,298	96,054	,000
	Erreur	,112	36	,003[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	4,350	2	2,175	701,053	,000
	Erreur	,112	36	,003[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,276	2	,138	44,557	,000
	Erreur	,112	36	,003[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	4,280	4	1,070	344,873	,000
	Erreur	,112	36	,003[b]		

Annexe 61: Five way ANOVA (Leaf Mg-content)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: Mg

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	3,114	1	3,114	3486,579	,000
	Erreur	,003	3,488	,001[a]		
Bloc	Hypothèse	,002	2	,001	2,408	,104
	Erreur	,018	36	,000[b]		
Foa	Hypothèse	,028	1	,028	56,559	,000
	Erreur	,018	36	,000[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	,008	2	,004	7,568	,002
	Erreur	,018	36	,000[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	,019	2	,009	18,738	,000
	Erreur	,018	36	,000[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	,003	1	,003	5,881	,020
	Erreur	,018	36	,000[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	,060	4	,015	30,314	,000
	Erreur	,018	36	,000[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	,006	2	,003	6,107	,005
	Erreur	,018	36	,000[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,057	2	,028	56,914	,000
	Erreur	,018	36	,000[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,061	4	,015	30,582	,000
	Erreur	,018	36	,000[b]		

Annexe 62: Five way ANOVA (Leaf Ca-content)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: Ca

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	28,679	1	28,679	9296,162	,000
	Erreur	,008	2,529	,003[a]		
Bloc	Hypothèse	,010	2	,005	6,245	,005
	Erreur	,028	36	,001[b]		
Foa	Hypothèse	,267	1	,267	341,671	,000
	Erreur	,028	36	,001[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	,062	2	,031	39,850	,000
	Erreur	,028	36	,001[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	,754	2	,377	482,158	,000
	Erreur	,028	36	,001[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	,009	1	,009	12,071	,001
	Erreur	,028	36	,001[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	,641	4	,160	204,978	,000
	Erreur	,028	36	,001[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	,122	2	,061	78,300	,000
	Erreur	,028	36	,001[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,327	2	,163	208,938	,000
	Erreur	,028	36	,001[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,564	4	,141	180,250	,000
	Erreur	,028	36	,001[b]		

Annexe 63: Five way ANOVA (Leaf Zn-content)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: Zn

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	10282,577	1	10282,577	3499,570	,000
	Erreur	7,248	2,467	2,938[a]		
Bloc	Hypothèse	9,422	2	4,711	7,040	,003
	Erreur	24,091	36	,669[b]		
Foa	Hypothèse	4,224	1	4,224	6,312	,017
	Erreur	24,091	36	,669[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	41,388	2	20,694	30,924	,000
	Erreur	24,091	36	,669[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	22,708	2	11,354	16,967	,000
	Erreur	24,091	36	,669[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	149,833	1	149,833	223,902	,000
	Erreur	24,091	36	,669[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	344,926	4	86,231	128,859	,000
	Erreur	24,091	36	,669[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	122,555	2	61,278	91,569	,000
	Erreur	24,091	36	,669[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	258,095	2	129,048	192,841	,000
	Erreur	24,091	36	,669[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	101,795	4	25,449	38,029	,000
	Erreur	24,091	36	,669[b]		

Annexe 64: Five way ANOVA (Leaf Cu-content)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: Cu

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	119,575	1	119,575	108566,230	,000
	Erreur	,035	31,811	,001[a]		
Bloc	Hypothèse	,001	2	,000	,139	,871
	Erreur	,077	36	,002[b]		
Foa	Hypothèse	1,760	1	1,760	825,865	,000
	Erreur	,077	36	,002[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	4,613	2	2,307	1082,070	,000
	Erreur	,077	36	,002[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	2,841	2	1,421	666,482	,000
	Erreur	,077	36	,002[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	,597	1	,597	280,273	,000
	Erreur	,077	36	,002[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	10,170	4	2,543	1192,758	,000
	Erreur	,077	36	,002[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	5,568	2	2,784	1305,942	,000
	Erreur	,077	36	,002[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,646	2	,323	151,582	,000
	Erreur	,077	36	,002[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	4,785	4	1,196	561,226	,000
	Erreur	,077	36	,002[b]		

Annexe 65: Five way ANOVA (Leaf Mn-content)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: Mn

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	5491036,565	1	5491036,565	1037605,451	,000
	Erreur	131,286	24,808	5,292[a]		
Bloc	Hypothèse	4,062	2	2,031	,215	,808
	Erreur	340,780	36	9,466[b]		
Foa	Hypothèse	4780,644	1	4780,644	505,028	,000
	Erreur	340,780	36	9,466[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	342686,149	2	171343,074	18100,704	,000
	Erreur	340,780	36	9,466[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	2109329,026	2	1054664,513	111414,892	,000
	Erreur	340,780	36	9,466[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	3869,436	1	3869,436	408,768	,000
	Erreur	340,780	36	9,466[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	470614,758	4	117653,690	12428,951	,000
	Erreur	340,780	36	9,466[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	133194,985	2	66597,492	7035,368	,000
	Erreur	340,780	36	9,466[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	14191,642	2	7095,821	749,603	,000
	Erreur	340,780	36	9,466[b]		
AMF * Compost *PGPR * Foa	Hypothèse	296602,542	4	74150,636	7833,283	,000
	Erreur	340,780	36	9,466[b]		

Annexe 66: Five way ANOVA (Leaf Fe-content)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: Fe

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	395259,284	1	395259,284	50811,069	,000
	Erreur	27,910	3,588	7,779[a]		
Bloc	Hypothèse	20,623	2	10,312	2,273	,118
	Erreur	163,344	36	4,537[b]		
Foa	Hypothèse	167,699	1	167,699	36,960	,000
	Erreur	163,344	36	4,537[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	8183,828	2	4091,914	901,832	,000
	Erreur	163,344	36	4,537[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	545,989	2	272,995	60,166	,000
	Erreur	163,344	36	4,537[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	1589,362	1	1589,362	350,285	,000
	Erreur	163,344	36	4,537[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	14100,131	4	3525,033	776,895	,000
	Erreur	163,344	36	4,537[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	4105,312	2	2052,656	452,392	,000
	Erreur	163,344	36	4,537[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	2681,266	2	1340,633	295,467	,000
	Erreur	163,344	36	4,537[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	12257,398	4	3064,349	675,363	,000
	Erreur	163,344	36	4,537[b]		

Annexe 67: Five way ANOVA (Leaf B-content)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: B

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	256919,439	1	256919,439	17811,251	,000
	Erreur	35,308	2,448	14,425[a]		
Bloc	Hypothèse	46,435	2	23,218	7,325	,002
	Erreur	114,101	36	3,169[b]		
Foa	Hypothèse	6094,396	1	6094,396	1922,846	,000
	Erreur	114,101	36	3,169[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	1348,251	2	674,125	212,694	,000
	Erreur	114,101	36	3,169[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	488,709	2	244,354	77,096	,000
	Erreur	114,101	36	3,169[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	1499,210	1	1499,210	473,016	,000
	Erreur	114,101	36	3,169[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	6115,550	4	1528,888	482,380	,000
	Erreur	114,101	36	3,169[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	5587,198	2	2793,599	881,410	,000
	Erreur	114,101	36	3,169[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	13250,384	2	6625,192	2090,318	,000
	Erreur	114,101	36	3,169[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	5081,959	4	1270,490	400,853	,000
	Erreur	114,101	36	3,169[b]		

Annexe 68: Five way ANOVA (Root polyphenols)

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: mg EAG/g de Mf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	12,096	1	12,096	23527,194	,000
	Erreur	,014	27,589	,001[a]		
Foa	Hypothèse	,145	1	,145	152,970	,000
	Erreur	,034	36	,001[b]		
Bloc	Hypothèse	,000	2	,000	,183	,834
	Erreur	,034	36	,001[b]		
Mycor * Foa	Hypothèse	,060	2	,030	31,646	,000
	Erreur	,034	36	,001[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	,205	2	,102	107,714	,000
	Erreur	,034	36	,001[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	,082	1	,082	85,991	,000
	Erreur	,034	36	,001[b]		
Mycor * Compost * Foa	Hypothèse	,025	4	,006	6,635	,000
	Erreur	,034	36	,001[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,016	2	,008	8,682	,001
	Erreur	,034	36	,001[b]		
Mycor * PGPR * Foa	Hypothèse	,019	2	,010	10,043	,000
	Erreur	,034	36	,001[b]		
Mycor * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,029	4	,007	7,547	,000
	Erreur	,034	36	,001[b]		

Annexe 69: Root hydrogen peroxid

Tests des effets inter-sujets

Variable dépendante: µg Eq H2O2 Commercial/g de Mf

Source		Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Ordonnée à l'origine	Hypothèse	334,472	1	334,472	71165,989	,000
	Erreur	,015	3,212	,005[a]		
Bloc	Hypothèse	,013	2	,007	2,896	,068
	Erreur	,082	36	,002[b]		
Foa	Hypothèse	,794	1	,794	348,751	,000
	Erreur	,082	36	,002[b]		
AMF * Foa	Hypothèse	,396	2	,198	86,995	,000
	Erreur	,082	36	,002[b]		
Compost * Foa	Hypothèse	,974	2	,487	213,942	,000
	Erreur	,082	36	,002[b]		
PGPR * Foa	Hypothèse	,291	1	,291	127,638	,000
	Erreur	,082	36	,002[b]		
AMF * Compost * Foa	Hypothèse	,064	4	,016	6,974	,000
	Erreur	,082	36	,002[b]		
AMF * PGPR * Foa	Hypothèse	,005	2	,002	1,028	,368
	Erreur	,082	36	,002[b]		
Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,019	2	,009	4,166	,024
	Erreur	,082	36	,002[b]		
AMF * Compost * PGPR * Foa	Hypothèse	,028	4	,007	3,053	,029
	Erreur	,082	36	,002[b]		

Tests de comparaison multiple (Duncan's test)

Test d'homogénéité des variances : paramètres biomasse				
	Statistique de Levene	ddl1	ddl2	Signification
Root fresh weight	3,175	18	38	,001
Shoot fresh weight	3,726	18	38	,000
Root number	1,482	18	38	,151

Test d'homogénéité des variances : Leaf nutrients, polyphenols and hydrgen peroxid

	Statistique de Levene	ddl1	ddl2	Signification
Leaf N-Content	1,101	18	38	,388
Leaf P-Content	1,270	18	38	,260
Leaf K-content	1,920	18	38	,045
Leaf Mg-Content	,973	18	38	,507
Ca-Content	2,704	18	38	,005
Zn-Content	3,256	18	38	,001
Cu-content	1,767	18	38	,069
Mn-Content	,947	18	38	,534
Fe-Content	1,109	18	38	,381
B-Content	,810	18	38	,677
Na-content	4,549	18	38	,000
mgEq AG/g FM	2,965	18	38	,002
µg Eq H2O2 /g FM	1,553	18	38	,125

Annexe 70: One Way ANOVA (treatment): root and shoot parameters

:One Way ANOVA (traitement)

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Root fresh weight	Inter-groupes	20144,125	18	1119,118	54,158	,000
	Intra-groupes	785,232	38	20,664		
	Total	20929,357	56			
Shoot fresh weight	Inter-groupes	24594,053	18	1366,336	10,844	,000
	Intra-groupes	4788,037	38	126,001		
	Total	29382,090	56			
Root number	Inter-groupes	220,982	18	12,277	9,456	,000
	Intra-groupes	49,333	38	1,298		
	Total	270,316	56			

Annexe 71: One Way ANOVA (treatment); Leaf nutrients and biochemical parameters

One Way ANOVA (traitement)

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Leaf N-Content	Inter-groupes	30,569	18	1,698	739,508	,000
	Intra-groupes	,087	38	,002		
	Total	30,656	56			
Leaf P-Content	Inter-groupes	1,453	18	,081	96,390	,000
	Intra-groupes	,032	38	,001		
	Total	1,484	56			
Leaf K-content	Inter-groupes	16,048	18	,892	265,970	,000
	Intra-groupes	,127	38	,003		
	Total	16,176	56			
Leaf Mg-Content	Inter-groupes	,242	18	,013	25,069	,000
	Intra-groupes	,020	38	,001		
	Total	,262	56			
Ca-Content	Inter-groupes	2,748	18	,153	152,951	,000
	Intra-groupes	,038	38	,001		
	Total	2,786	56			
Zn-Content	Inter-groupes	1045,524	18	58,085	65,862	,000
	Intra-groupes	33,513	38	,882		
	Total	1079,037	56			
Cu-content	Inter-groupes	30,982	18	1,721	845,780	,000
	Intra-groupes	,077	38	,002		
	Total	31,060	56			
Mn-Content	Inter-groupes	3375269,183	18	187514,955	20663,304	,000
	Intra-groupes	344,842	38	9,075		
	Total	3375614,025	56			
Fe-Content	Inter-groupes	43630,985	18	2423,944	500,686	,000
	Intra-groupes	183,967	38	4,841		
	Total	43814,952	56			
B-Content	Inter-groupes	39465,656	18	2192,536	518,989	,000
	Intra-groupes	160,536	38	4,225		
	Total	39626,192	56			
Na-content	Inter-groupes	,016	18	,001	21,990	,000
	Intra-groupes	,001	38	,000		
	Total	,017	56			
mgEq AG/g FM	Inter-groupes	,581	18	,032	35,520	,000
	Intra-groupes	,035	38	,001		
	Total	,616	56			
µg Eq H2O2 /g FM	Inter-groupes	2,570	18	,143	57,019	,000
	Intra-groupes	,095	38	,003		
	Total	2,665	56			

Annexe 72: Comparison multiple (*In vivo Fusarium* wilt control); Root fresh weight

Root fresh weight

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
T1	3	24,3000							
T2	3	25,4300							
T6	3		42,8500						
T4	3		47,2367						
T5	3		47,7833						
T3	3		49,1433						
T0	3		50,2500						
T7	3			59,3700					
T9	3			60,7733	60,7733				
T14	3			62,0567	62,0567				
T12	3			62,1533	62,1533				
T18	3			64,5967	64,5967				
T16	3				68,9533	68,9533			
T13	3					75,3867	75,3867		
T8	3						76,9667	76,9667	
T11	3						77,6400	77,6400	
T15	3						80,8733	80,8733	
T17	3							84,7100	
T10	3								98,0900
Sign		,762	,082	,218	,054	,091	,186	,062	1,000

Annexe 73: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Shoot fresh weight

Shoot fresh weight

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
T5	3	111,9433						
T6	3	114,5100	114,5100					
T1	3	115,6833	115,6833					
T3	3	116,7700	116,7700					
T4	3	121,3267	121,3267	121,3267				
T15	3	122,4633	122,4633	122,4633				
T8	3	125,6900	125,6900	125,6900				
T2	3	125,8067	125,8067	125,8067				
T11	3		135,4733	135,4733	135,4733			
T0	3			141,9033	141,9033	141,9033		
T10	3				148,8567	148,8567	148,8567	
T16	3				151,0500	151,0500	151,0500	
T12	3				153,3400	153,3400	153,3400	
T17	3				155,6400	155,6400	155,6400	
T9	3					158,0767	158,0767	
T7	3					159,0733	159,0733	
T18	3						165,7867	165,7867
T13	3						169,9400	169,9400
T14	3							180,9800
Signification		,203	,055	,054	,059	,112	,054	,125

Annexe 74: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Root number

Root number

Duncan[a]

Treatment	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
T2	3	8,6667							
T6	3	8,6667							
T0	3	9,0000	9,0000						
T1	3	9,0000	9,0000						
T4	3	9,0000	9,0000						
T3	3	10,0000	10,0000	10,0000					
T14	3	10,6667	10,6667	10,6667	10,6667				
T7	3		11,0000	11,0000	11,0000				
T18	3		11,0000	11,0000	11,0000				
T10	3			11,3333	11,3333	11,3333			
T5	3			11,6667	11,6667	11,6667			
T8	3			11,6667	11,6667	11,6667			
T9	3			11,6667	11,6667	11,6667			
T11	3			12,0000	12,0000	12,0000	12,0000		
T16	3				12,3333	12,3333	12,3333	12,3333	
T13	3					13,3333	13,3333	13,3333	
T12	3						14,0000	14,0000	14,0000
T15	3							14,3333	14,3333
T17	3								15,6667
Signification		,068	,068	,073	,135	,068	,055	,055	,098

Annexe 75: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf N-content

Leaf N-Content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
T17	3	2,6800												
T11	3		2,8767											
T9	3		2,9500											
T15	3			3,0433										
T0	3				3,1667									
T7	3					3,5933								
T18	3						3,8133							
T13	3						3,8133							
T1	3						3,8767	3,8767						
T10	3						3,8833	3,8833						
T2	3							3,9233						
T12	3								4,0100					
T16	3									4,3467				
T3	3										4,5667			
T5	3										4,6067			
T14	3											4,7067		
T8	3											4,7500	4,7500	
T4	3												4,8200	
T6	3													5,3200
Sign.		1,000	,069	1,000	1,000	1,000	,110	,268	1,000	1,000	,313	,275	,082	1,000

Annexe 76 : comparaison multiple (Fusarium wilt control); Leaf P-content

Leaf P-Content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
T11	3	,5067								
T7	3	,5433	,5433							
T12	3		,5600							
T10	3		,5700							
T15	3		,5700							
T2	3			,6207						
T1	3				,6817					
T9	3				,6967					
T18	3				,7033					
T13	3				,7133					
T5	3					,7637				
T0	3					,7733	,7733			
T8	3					,7833	,7833			
T16	3					,7833	,7833			
T14	3					,8033	,8033			
T4	3						,8180	,8180		
T17	3							,8633		
T3	3								1,0600	
T6	3									1,1233
Sign		,129	,312	1,000	,230	,142	,099	,063	1,000	1,000

Annexe 77: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Leaf K-content

Leaf K-content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
T4	3	2,5663										
T5	3		3,0400									
T1	3		3,0410									
T13	3		3,0467									
T10	3			3,2200								
T11	3			3,2700	3,2700							
T15	3				3,3300	3,3300						
T8	3				3,3500	3,3500						
T12	3					3,4233						
T3	3						3,5267					
T17	3						3,5300					
T9	3						3,6267	3,6267				
T2	3							3,6500				
T16	3								3,8100			
T18	3								3,8267			
T7	3								3,8900			
T14	3									4,2600		
T0	3										4,5267	
T6	3											4,8100
Sign		1,000	,896	,297	,118	,069	,051	,624	,118	1,000	1,000	1,000

Annexe 78: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf Mg-content

Leaf Mg-Content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
T5	3	,2137								
T3	3	,2300								
T13	3	,2300								
T1	3	,2333								
T14	3	,2333								
T4	3	,2397								
T12	3	,2433	,2433							
T10	3	,2500	,2500	,2500						
T11	3		,2833	,2833	,2833					
T8	3			,2867	,2867					
T18	3			,2867	,2867					
T9	3			,2900	,2900					
T15	3				,2967					
T2	3				,3033	,3033				
T7	3					,3400	,3400			
T16	3						,3533	,3533		
T0	3							,3867	,3867	
T17	3								,4000	
T6	3									,4533
Sign.		,106	,051	,065	,362	,060	,485	,086	,485	1,000

Annexe 79: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Leaf Ca-content

Ca-Content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
T14	3	,5967									
T13	3	,6333	,6333								
T8	3		,6567	,6567							
T5	3			,7000	,7000						
T10	3				,7200	,7200					
T3	3				,7360	,7360	,7360				
T4	3					,7597	,7597	,7597			
T11	3						,7867	,7867			
T1	3							,7933			
T12	3							,8100			
T15	3								,9200		
T2	3								,9217		
T9	3								,9233		
T18	3								,9533		
T7	3								,9767		
T6	3									1,1233	
T16	3									1,1700	
T0	3									1,1767	
T17	3										1,4800
Sign.		,163	,371	,101	,196	,154	,070	,081	,055	,057	1,000

Annexe 80: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf Zn-content

Zn-Content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
T10	3	11,6267									
T14	3		13,2000								
T18	3		13,4167								
T12	3		13,8200								
T3	3		14,0867	14,0867							
T11	3		14,2567	14,2567							
T8	3		14,3433	14,3433							
T2	3		14,4100	14,4100							
T4	3			15,6367	15,6367						
T1	3				16,9267	16,9267					
T5	3					17,9600	17,9600				
T0	3						18,8400	18,8400			
T17	3						19,4967	19,4967			
T16	3							19,7233			
T13	3								21,4933		
T9	3								22,6167	22,6167	
T15	3									23,2133	
T7	3									23,5300	
T6	3										27,4200
Sign.		1,000	,180	,077	,101	,186	,065	,285	,151	,269	1,000

Annexe 81: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf Cu-content

Cu-content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
T8	3	,4300														
T10	3		,7067													
T4	3			1,1067												
T2	3				1,2033											
T18	3					1,4033										
T7	3					1,4100										
T9	3						1,5000									
T12	3						1,5033									
T13	3						1,5100									
T17	3							1,6100								
T3	3								1,7033							
T14	3									1,8000						
T15	3										1,9400					
T5	3											2,1033				
T11	3											2,1067				
T0	3												2,5233			
T1	3													2,6900		
T16	3														3,2033	
T6	3															3,3233
Sign.		1,000	1,000	1,000	1,000	,857	,801	1,000	1,000	1,000	1,000	,928	1,000	1,000	1,000	1,000

Annexe 82: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf Mn-content

Mn-Content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
T15	3	129,30																	
T12	3		143,2																
T9	3			159,48															
T10	3				175,26														
T11	3					212,16													
T2	3						253,60												
T8	3							268,89											
T7	3								275,24										
T13	3									282,23									
T18	3										354,00								
T14	3											369,38							
T16	3											373,07							
T17	3												429,03						
T0	3													445,00					
T5	3														590,76				
T1	3															633,00			
T3	3																848,47		
T6	3																	860,16	
T4	3																		914,48
Sig n.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,141	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Annexe 83: comparaison multiple (Fusarium wilt control); Leaf Fe-content

Fe-Content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
T8	3	77,1833								
T4	3	80,3067								
T2	3		93,6767							
T9	3		95,0000	95,0000						
T3	3		95,2233	95,2233						
T7	3		96,1267	96,1267						
T1	3			97,9333	97,9333					
T5	3				100,2133	100,2133				
T13	3					102,4167				
T14	3					103,3333				
T10	3					104,1167				
T18	3						110,4033			
T16	3						112,2333			
T11	3						114,1067	114,1067		
T15	3							116,0833		
T0	3							116,9000		
T17	3							117,0367		
T12	3								139,0000	
T6	3									211,5400
Sign.		,090	,222	,144	,212	,052	,057	,145	1,000	1,000

Annexe 84: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Leaf B-content

B-Content

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
T4	3	51,1633								
T5	3	52,1800								
T8	3	52,8000								
T15	3	54,0400								
T9	3	54,2200								
T17	3		61,0500							
T12	3		63,0033							
T10	3		63,2433							
T14	3		64,4067							
T3	3			72,2033						
T2	3				84,4700					
T11	3				85,0000	85,0000				
T13	3					88,0700	88,0700			
T7	3						90,1033			
T1	3							97,9500		
T6	3								117,2567	
T0	3									124,3333
T16	3									126,0167
T18	3									127,3000
Sign.		,111	,074	1,000	,754	,075	,233	1,000	1,000	,102

Annexe 85: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; Soluble polyphenols mgEq AG/g FM

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
T0	3	,4453							
T1	3	,4836	,4836						
T2	3		,5252						
T3	3		,5348						
T5	3			,5927					
T17	3			,6312	,6312				
T7	3			,6326	,6326				
T13	3				,6674	,6674			
T8	3				,6761	,6761	,6761		
T4	3					,6928	,6928		
T9	3					,6985	,6985		
T6	3					,7031	,7031		
T12	3					,7158	,7158		
T14	3					,7175	,7175		
T11	3					,7243	,7243	,7243	
T15	3						,7270	,7270	
T10	3						,7290	,7290	
T16	3							,7766	
T18	3								,8560
Sign.		,127	,055	,133	,103	,052	,074	,058	1,000

Annexe 86: comparaison multiple (Fusarium wilt control) ; H_2O_2 µg Eq H2O2 /g FM

Duncan[a]

Tr.	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
T0	3	2,8366									
T1	3		2,9613								
T3	3			3,0574							
T2	3			3,0891							
T7	3				3,2290						
T5	3				3,2425						
T4	3					3,3395					
T9	3					3,3506					
T8	3					3,3631	3,3631				
T11	3					3,3694	3,3694				
T6	3					3,4083	3,4083	3,4083			
T15	3					3,4293	3,4293	3,4293	3,4293		
T12	3						3,4512	3,4512	3,4512		
T13	3							3,4798	3,4798	3,4798	
T17	3								3,5066	3,5066	
T16	3									3,5464	3,5464
T14	3									3,5643	3,5643
T10	3									3,5670	3,5670
T18	3										3,6175
Sign.		1,000	1,000	,442	,745	,059	,060	,117	,091	,062	,120