



UNIVERSITÉ
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem

Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie
Département de Biologie



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par

**MENOUER Yamina
&
HAMOUDI Fatma Amira**

Thème :

Optimisation de la solubilisation du phosphate par une rhizobactérie

Soutenue le 23/06/2026 devant le jury composé de :

Président	MEKHALDI Abdelkader	Pr	Université de Mostaganem
Encadreur	NAIMI Mehdi	MCA	Université de Mostaganem
Examineur	BOUZNAD Ahcene	MCB	Université de Mostaganem
Co-encadreur	HAMOUM Hakim	MCB	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciement :

Nous tenons tout d'abord à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à Dieu le tout-puissant, de nous avoir donné la force, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

Nous remercions nos parents, pour leur soutien, leurs encouragements et leurs sacrifices tout au long de notre parcours universitaire.

Nous tenons à remercier très sincèrement notre encadrant de mémoire, *M. NAIMI Mehdi* pour sa disponibilité, sa gentillesse, ses précieux conseils, ainsi que son soutien tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous adressons également nos sincères remerciements à *M. HAMOUM Hakim* pour son accompagnement, ses conseils.

Nous exprimons notre gratitude au *M. MEKHALDI Abdelkader* pour avoir accepté de présider ce travail.

Nous exprimons nos remerciements à *M. BOUZNAD Ahcene* pour avoir accepté d'examiner ce travail

Nous remercions aussi *Mme. TAHLAITI Amina*, technicienne de laboratoire « LMBV » de recherche pour leur aide précieuse et leur valeureux conseils.

Nous souhaitons également à exprimer notre gratitude à l'ensemble des professeurs qui nous ont accompagné et formés durant notre parcours universitaire, et plus particulièrement à *M.*

DJIBAOUI Rachid et *Mme BOUABSA Foufa*.

Nous remercions enfin toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail à :

*À la mémoire de **mon cher père**, que Dieu ait son âme en sa sainte miséricorde. À celui qui a toujours cru en moi, m'a soutenue sans relâche et s'est sacrifié pour mon épanouissement et ma réussite.*

À ma chère mère

Pour son amour, sa tendresse infinie, ses sacrifices et son soutien qui m'ont accompagnée tout au long de mon parcours.

À mon cher frère Mohamed

Pour son soutien, sa présence et ses encouragements qui m'ont donné la force d'avancer.

À mon cher frère Sid Ali ainsi qu'à ma chère sœur Meriem, pour leur présence et leurs encouragements.

À mes chères amies:

Maria, Hind, Sarah, Aya, Sanaa, Ismahene, Imene, Lina et Zina, pour leur amitié sincère, leurs bienveillances et tous les beaux moments partagés.

À mes chères cousines : Fouzia, Hamida et Houria.

À ma chère tante Hadjira

À tous les membres des familles Menouer et Terha.

MENOUER Yamina

Dédicace :

À la mémoire de mon cher père, qu'Allah lui accorde sa miséricorde infinie.

Ton absence reste une douleur profonde, mais ton amour, tes sacrifices demeurent gravés dans mon cœur à jamais. Ce travail est le fruit de tout ce que tu m'as appris.

À ma très chère mère,

Source de tendresse, de courage et de prière, merci pour ton soutien et tes sacrifices.

À mon cher oncle Rashid,

Qui a été un véritable soutien pour moi après le décès de mon père. Merci pour ton aide, ta présence et ton encouragement dans les moments difficiles.

À mes chers frères : Abderrahim, Said, Abdelhak et Djilali et ma sœur Amira , pour leur encouragement et leur présence à mes côtés.

À mon cher mari Ahmed, merci pour ton soutien et sa patience tout au long de ce parcours

À toute ma famille, mes amies

Pour leur affection et leurs encouragements.

Je dédie ce travail avec tout mon amour et ma gratitude.

Hamoudi Fatma Amira

Sommaire

Liste des abréviations.

Liste des tableaux.

Listes des figures

Résumé.

Abstract.

الملخص.

Liste des abréviations	7
Liste des tableaux	8
Liste des figures	9
Résumé	10
Introduction	1
<i>Chapitre I :</i>	3
<i>Revue bibliographique</i>	3
I.1. Rhizosphère	4
I.1.1. Étymologie	4
I.1.2. Définition	4
I.2. Rhizobactéries	4
I.3. Bactéries promotrices de la croissance des plants (PGPR)	5
I.3.1. Définition	5
I.3.2. Mécanismes d'action des PGPR	5
I.4. Généralités sur le phosphate	6
I.4.1. Formes du phosphate	6
I.4.2. Mécanismes de solubilisation du phosphate	7
I.4.2.1 Solubilisation du phosphate inorganique	7
I.4.2.2. Solubilisation du phosphate organique	8
I.4.3. Importance du phosphate pour les plantes	8
I.4.4. Facteurs influençant la solubilisation du phosphate	8
<i>Chapitre II :</i>	17
<i>Matériel et méthodes</i>	17
II.1. Matériel et méthode	18

<i>II.1.1. Cadre de l'étude</i>	18
<i>II.1.2. Isolât utilisée</i>	18
<i>II.1.3. Réactivation de l'isolât bactérien</i>	18
II.2. Evaluation du potentiel de solubilisation du P par l'isolât « LP1a »	19
<i>II.2.1. Estimation qualitative</i>	19
<i>II.2.2. Estimation quantitative</i>	19
II.3. Optimisation de la solubilisation du phosphate	21
<i>II.3.1. Plan de Plackett-Burman</i>	21
Chapitre III : Résultat et discussion	26
III.1. Evaluation du potentiel de solubilisation du phosphate par l'isolât LP1a	27
<i>III.1.1. Estimation qualitative</i>	27
<i>III.1.2. Estimation quantitative</i>	27
III.2. Criblage des facteurs affectant la solubilisation de phosphate	28
<i>III.2.1. Plan de Plackett-Burman</i>	28
Conclusion	44
Références bibliographiques	47
Références bibliographiques	48
Annexes	56

Liste des abréviations

ANN : Artificiel neural network.

ANOVA: Analyse of variance.

BSP : Bactéries solubilisant le phosphate.

CCD : Central composite design.

DO : Densité optique.

DOE : Design of experiment.

GN :Gélose nutritive.

IS : Indice de Solubilisation.

PMC : Perceptron multicouche.

NBRIP : “National Botanical Research Institute of Phosphate medium”

P : Phosphate.

PBD: Plackett-Burman design.

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

PVK : Pikovskaya.

RNA : Réseaux de neurones artificiels.

RPM : Rotation par minute.

RSM: Response surface methodology.

TCP : Phosphate tricalcique.

Liste des tableaux

Tableau 1	Facteurs étudiés et leurs niveaux dans le plan de Plackett-Burman.	21
Tableau 2	Matrice expérimentale générée par le plan de Plackett-Burman en unités codées.	22
Tableau 3	Effet des facteurs testés sur la solubilisation de phosphate (Plan de Plackett-Burman).	29
Tableau 4	ANOVA avec signe de l'effet et significativité	29
Tableau 5	Résultats des essais.	32

Liste des figures

Figure 1	Représentation schématique des zones de la rhizosphère.	4
Figure 2	Mécanismes d'action des PGPR.	5
Figure 3	Formes et disponibilité du phosphore dans le sol.	6
Figure 4	Mécanisme de solubilisation des phosphates inorganique et organiques par les microorganismes.	7
Figure 5	Domaine du facteur.	10
Figure 6	Domaine d'étude.	10
Figure 7	Surface de réponse.	12
Figure 8	Plan composite pour deux facteurs.	13
Figure 9	Modèle d'un neurone artificiel.	15
Figure 10	Schéma représentatif de la réactivation et de la préparation d'inoculum.	18
Figure 11	Schéma représentatif de l'estimation qualitative de la solubilisation du phosphate.	19
Figure 12	Schéma illustratif de l'estimation quantitative de la solubilisation.	20
Figure 13	Schéma illustratif de l'estimation quantitative de la solubilisation.	24
Figure 14	Test qualitatif sur milieu PVK.	27
Figure 15	Test qualitatif sur milieu NBRIP.	28
Figure 16	Diagramme de Pareto.	30
Figure 17	Variation de la solubilisation du phosphate en fonction des facteurs étudiés.	32

Résumé

La solubilisation du phosphate par les bactéries constitue une alternative prometteuse pour améliorer la disponibilité de ce macronutriment dans le sol. Dans notre étude, un isolat bactérien « LP1a » préalablement isolée par le laboratoire « LMBV », a été estimée pour sa capacité à solubiliser le phosphate tri-calcique à l'aide d'un test qualitatif et quantitatif. L'estimation de la solubilisation sur milieu NBRIP a montré une concentration de phosphate soluble atteignant 250 µg/mL. Afin d'optimiser cette capacité et d'améliorer les conditions de culture, des approches statistiques ont été utilisées. Dans un premier temps, un plan de Plackett Burman a été utilisé pour évaluer l'influence de 8 facteurs sur la solubilisation et identifier lesquelles sont les plus significatifs. La méthode du Steepest Ascent a été appliquée afin de se rapprocher à la zone optimale de réponse. Par ailleurs, l'optimisation a permis de déterminer un point stationnaire (Glucose = 8.723 , (NH₄)₂SO₄ = 1.549 , pH = 6.519) associé à une solubilisation maximale prédite (287,97 µg/L). De même, une prédiction des conditions optimales conduisant à une solubilisation maximale (312 µg/L).

Mots clés : solubilisation de phosphate , BSP, Plackett Burman, surface réponse (RSM), Steepest Ascent, ANN.

Abstract

Phosphate solubilization by bacteria represents a promising alternative for improving the availability of this macronutrient in the soil. In our study, a bacterial isolate "LP1a", previously isolated by the "LMBV" laboratory, was assessed for its ability to solubilize tricalcium phosphate using qualitative and quantitative tests. The solubilization assessment on NBRIP medium showed a soluble phosphate concentration reaching 250 µg/mL. In order to optimize this capacity and improve the culture conditions, statistical approaches were employed. First, a Plackett–Burman design was used to evaluate the influence of 8 factors on solubilization and to identify which ones are the most significant. The steepest ascent method was then applied to approach the optimal response zone. Furthermore, the optimization allowed the determination of a stationary point (Glucose = 8.723, (NH₄)₂SO₄ = 1.549, pH = 6.519) associated with a predicted maximum solubilization of 287.97 µg/L. Similarly, a prediction of the optimal conditions leading to a maximum solubilization of 312 µg/L was obtained.

Keywords: phosphate solubilization, PSB, Plackett–Burman design, RSM, steepest ascent,

الملخص

تشكّل إذابة الفوسفات بواسطة البكتيريا بديلاً واعداً لتحسين توفر هذا المغذّي الكبير (العنصر الكبير) في التربة. في دراستنا، تم تقييم عزلة بكتيرية "LP1a"، سبق عزلها من قبل مختبر "LMBV"، من حيث قدرتها على إذابة فوسفات ثلاثي الكالسيوم باستخدام اختبار نوعي وكمي. أظهر تقدير الإذابة على وسط NBRIP تركيزاً من الفوسفات المذاب بلغ 250 ميكروغرام/مل.

من أجل تحسين هذه القدرة وتحسين ظروف الاستنبات (الزراعة)، تم استخدام مناهج إحصائية. في البداية، تم تطبيق تصميم (مخطط) بلاكيت-بورمان (Plackett-Burman) لتقييم تأثير 8 عوامل على عملية الإذابة وتحديد العوامل الأكثر تأثيراً (الأكثر دلالة إحصائية). ثم طُبِّقت طريقة الانحدار الأكثر انحداراً (Steepest Ascent) للاقتراب من منطقة الاستجابة المثلى.

وعلاوة على ذلك، أتاحت عملية التحسين تحديد نقطة ثابتة الجلوكوز = 8.723، كبريتات الأمونيوم $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 1.549$ ، الأس الهيدروجيني $\text{pH} = 6.519$ مرتبطة بإذابة قصوى متوقعة قدرها 287.97 ميكروغرام/لتر. وكذلك، تم التنبؤ بالظروف المثلى التي تؤدي إلى إذابة قصوى مقدارها 312 ميكروغرام/لتر.

الكلمات المفتاحية: إذابة الفوسفات، BSP، Plackett-Burman، سطح الاستجابة، Steepest Ascent،

Introduction

Introduction

Le phosphore (P) est un élément nutritif très important pour tout type d'organismes vivants. Il représente l'élément clé de tous les processus biologiques des plantes, tels que la croissance, la photosynthèse, la production d'énergie, les réactions d'oxydoréduction, la fixation symbiotique de l'azote ainsi que le métabolisme des glucides. Il participe aussi à la synthèse des acides nucléiques et entre dans la composition des phospholipides, qui assurent la stabilité et les propriétés des membranes cellulaires (**Lazali *et al.*, 2019**).

Les microorganismes du sol sont parmi les êtres vivants les plus répandus dans la planète. Ils sont présents en très forte densité (par exemple, 10^9 bactéries et 10^6 champignons par gramme de sol). Ils jouent un rôle crucial dans de différentes fonctions, notamment ; dans la dynamique des matières organiques, certains cycles biogéochimiques, et dans la biodisponibilité des éléments nutritifs (**Terrat *et al.*, 2018**).

En agriculture, les engrais en excès par rapport aux besoins des cultures s'accumulent dans le sol. Cette accumulation, peut saturer la capacité de rétention du sol et peut constituer un risque majeur de nuisances environnementales (**Kang *et al.*, 2011**). Face à ces risques, il existe des solutions alternatives, tels que, les bactéries solubilisant le phosphate « BSP ». Ces microorganismes ont la capacité de convertir le phosphate insoluble, qu'il soit d'origine organique ou inorganique, en une forme dissoute facilement assimilable par les plantes (**Olanrewaju *et al.*, 2017**).

Les BSP appartiennent à un groupe très abondant de bactéries bénéfiques du sol, appelées PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (**Beauchamp, 2005**). Ces dernières, lorsqu'elles se développent en association avec une plante hôte, elles stimulent sa croissance par différents mécanismes. Certains sont directs (par l'apport de nutriments, comme la solubilisation du phosphore), d'autres indirects (amélioration de la croissance racinaire, aide à d'autres symbioses). Lorsque les PGPR sont utilisées spécifiquement pour améliorer la disponibilité et l'absorption des nutriments minéraux par les plantes, on les qualifie de biofertilisants (**Vessey, 2003**).

Pour maximiser l'efficacité des bactéries solubilisant le phosphate (BSP), l'optimisation des conditions de culture est essentielle. De fait, de nombreux facteurs peuvent influencer l'activité de ces microorganismes, et une compréhension approfondie de ces paramètres ainsi que de leurs interactions est nécessaire pour déterminer les conditions optimales permettant une

solubilisation maximale du phosphate. Cependant, les méthodes classiques fréquemment utilisées pour identifier et optimiser ces paramètres sont lentes, coûteuses et souvent insuffisantes. Afin de surmonter ces inconvénients, plusieurs approches statistiques basées sur des plans d'expériences sont utilisées, telles que la méthode des surfaces de réponse (**Goupy & Creighton, 2006**).

L'objectif principal de ce travail est d'étudier et d'évaluer l'influence de certaines conditions de culture sur la solubilisation du phosphate, d'optimiser ces conditions afin de maximiser la solubilisation du phosphate, de développer un modèle prédictif

Chapitre I :
Revue
bibliographique

I.1. Rhizosphère

I.1.1. Étymologie

Le terme scientifique « rhizosphère » a été introduit pour la première fois par un agronome et spécialiste allemand en microbiologie du sol ; Lorenz Hiltner en 1904 (**Hartmann *et al.*, 2008**). En étymologie ; « rhizo » désigne la racine de la plante et « sphère » ou sphaira signifie une balle, un ballon, un globe ou elle peut être définie comme un champ d'influence du système racinaire (**Monaco *et al.*, 2024**).

I.1.2. Définition

La rhizosphère est une fraction du sol qui peut être considérée comme une région particulièrement colonisée par des différents microorganismes. Cette partie du sol peut être définie comme la fine couche de sol de l'ordre de quelques millimètres, qui entoure la racine de plante, elle se caractérise par des interactions biologiques et écologiques extrême (**Bais *et al.*, 2006**). L'interface racine-plante est très riche en substances biologiques connues sous le nom des exsudats racinaires, ce qui favorise et stimulent la croissance microbienne (**Rovira, 1969**). La rhizosphère comporte trois parties distinctes (**Fig.1**) ; l'endorhizosphère, une partie colonisée par certains microorganismes endophytes; le rhizoplan qui désigne la surface de la racine; et l'ectorhizosphère qui décrit le sol qui entoure la racine (**Lynch, 1987**).

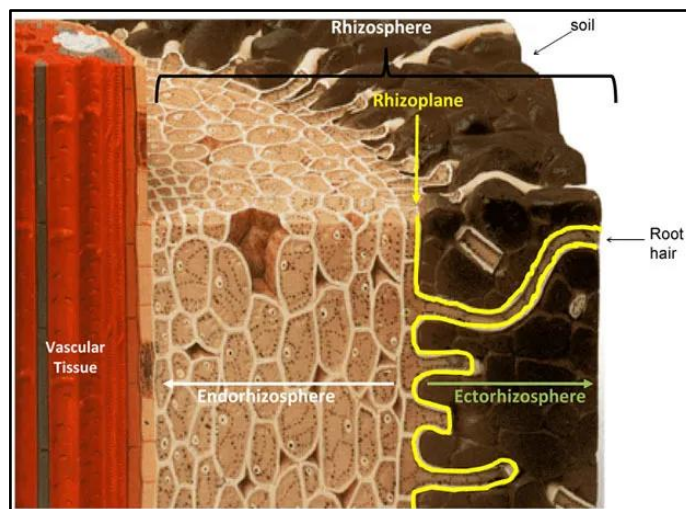


Figure 1 : Représentation schématique des zones de la rhizosphère selon **Lynch (1983)**.

I.2. Rhizobactéries

Dans la rhizosphère se développe un divers groupe de bactérie, connues sous le nom de rhizobactéries ou les bactéries rhizosphériques, elles se trouvent dans la partie du sol qui entoure les racines. Ces bactéries peuvent influencer cette portion du sol par leurs activités métaboliques

(Andrade *et al.*, 2023) ainsi que leur capacité de s'y multiplier et de compétitionner avec les autres microorganismes pour coloniser cette niche riche en nutriments. Ces bactéries, néfaste ou neutre, sont appelées les PGPR ; Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Beauchamp, 2005).

I.3. Bactéries promotrices de la croissance des plants (PGPR)

I.3.1. Définition

Kloepper et Schroth sont les premiers qui ont introduit le terme « PGPR » (Kloepper, 1978), un groupe qui désigne les bactéries bénéfiques pour la plante et colonisent les racines. Elles sont connues pour leur capacité à favoriser la croissance des plantes et à améliorer le rendement des cultures, donc elles peuvent être considérées comme des agents utiles en agriculture (Saharan & Nehra, 2011).

I.3.2. Mécanismes d'action des PGPR

La stimulation de la croissance par les PGPR repose sur deux types de mécanismes (Glick & Bashan, 1997); un mode direct qui sert à apporter des différents composés ou des métabolites de la bactérie et de fournir certains nutriments, tels que la production des phytohormones, la fixation d'azote (R. Kundan, 2015) et la solubilisation du phosphate (Olanrewaju *et al.*, 2017). Concernant le mode indirect, un effet bénéfique est exercé en prévenant les pathogènes par de nombreux mécanismes (Beauchamp, 2005), tels que la production des métabolites secondaires antagonistes comme les antibiotiques et le cyanure (HCN) (Fig.2).

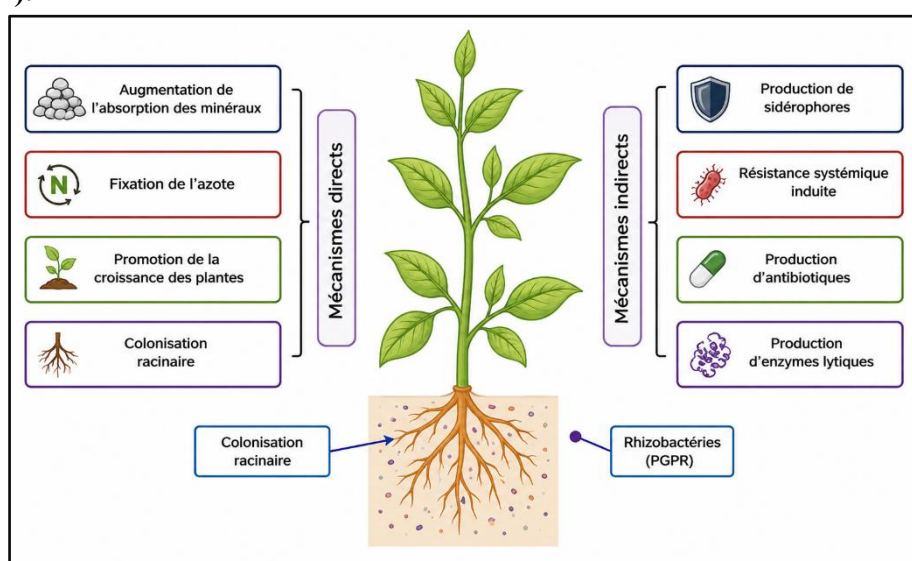


Figure 2 : Mécanismes d'action des PGPR (Ngoma *et al.*, 2012).

I.4. Généralités sur le phosphate

Le phosphate est un élément chimique non métallique largement répandu dans la nature (Beaudin, 2006), il représente un macronutriment indispensable à la nutrition des plantes (Yin *et al.*, 2015). Dans le sol, une grande partie du phosphate se trouve sous une forme insoluble : les phosphates minéraux comprennent la fluorapatite, l'hydroxyapatite, l'oxyapatite, la chlorapatite, la wavellite et la monétite, tandis que les phosphates organiques sont principalement des inositol phosphates. La faible mobilité du phosphate dans le sol peut entraîner un épuisement autour des racines (Lapeyrie *et al.*, 1991). Le phosphate joue un rôle important dans les cycles biologiques, bien que sa disponibilité dans le milieu représente un facteur limitant majeur pour les organismes vivants dans le sol, notamment pour les plantes (Plassard, 2015). Ceci peut être dû à l'assimilation d'une grande fraction du phosphate sous les deux formes ioniques HPO_4^{2-} et H_2PO_4^- (Beever & Burns, 1981).

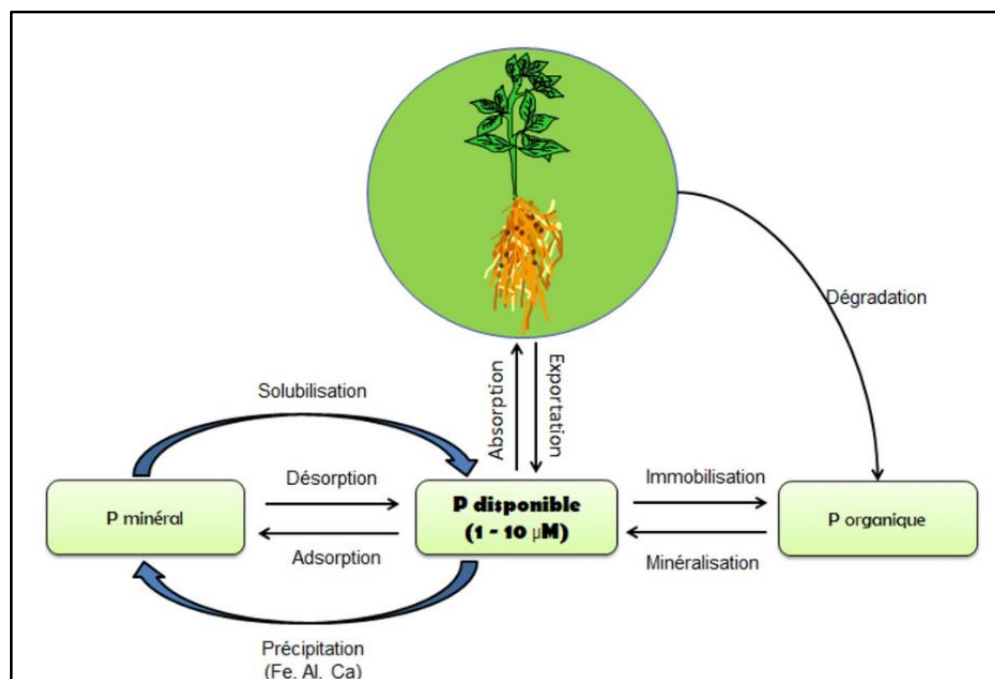


Figure 3 : Formes et disponibilité du phosphore dans le sol (Lazali *et al.*, 2019).

I.4.1. Formes du phosphate

La classification des différentes formes du phosphate dans le sol s'effectue selon plusieurs critères ; la nature des composés phosphorés, le fractionnement chimique et l'échange ionique. La nature des composés phosphorés constitue le critère de base permettant de différencier le phosphate organique du phosphate inorganique (Pereda Campos, 2008). Par ailleurs, le phosphate inorganique dans le sol est majoritairement fixé par le fer et l'aluminium dans les sols acides, et par le calcium dans les sols neutres et calcaires. Cette immobilisation

diminue sa solubilité et favorise les processus de précipitation et d'adsorption (**Gyaneshwar *et al.*, 2002**). Le phosphate organique comprend les inositol phosphates, les phospholipides, les acides nucléiques ainsi que divers autres esters phosphatés, tous issus de la minéralisation de la matière organique (**Marschner *et al.*, 2011**). Les formes du phosphore solubles dans le sol plantes sont les ions orthophosphates (H_2PO_4^- et HPO_4^{2-}) (**Beever & Burns, 1981**).

I.4.2. Mécanismes de solubilisation du phosphate

Les PSB sont capables de solubiliser le phosphate le phosphate en utilisant plusieurs mécanismes (**Fig.4**) :

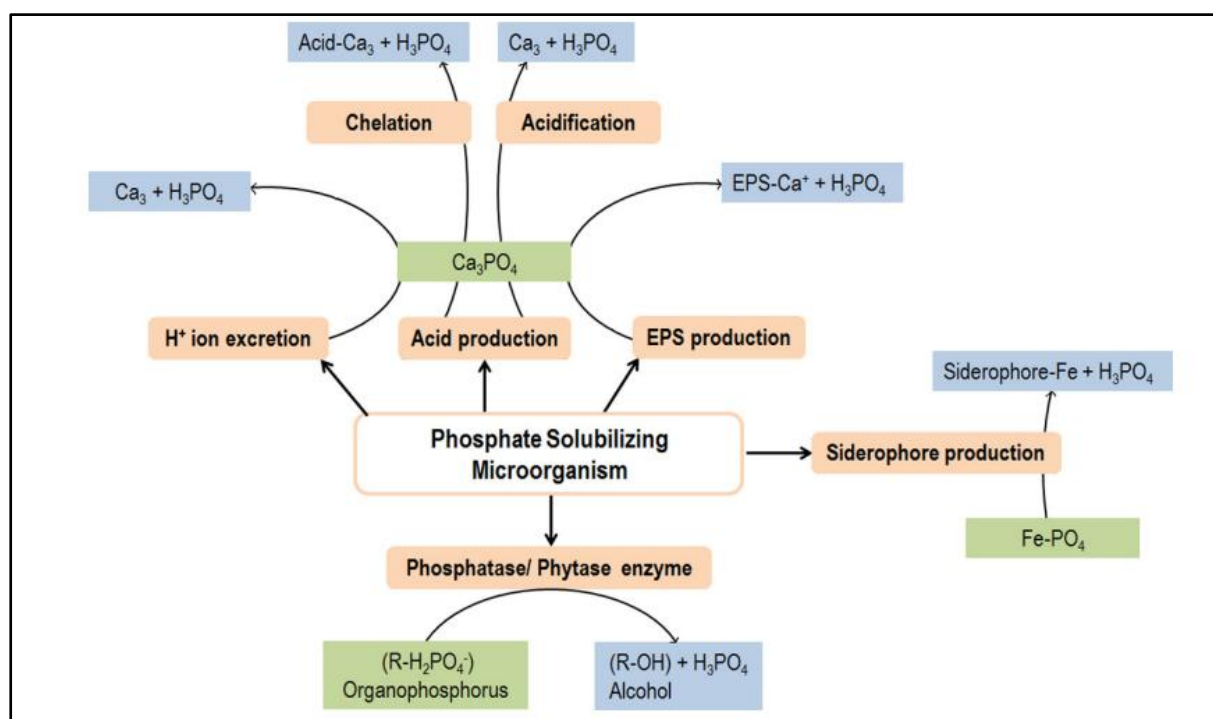


Figure 4 : Mécanisme de solubilisation des phosphates inorganique et organiques par les microorganismes (**Prabhu *et al.*, 2019**).

I.4.2.1 Solubilisation du phosphate inorganique

La solubilisation des complexes calcium-phosphate par les microorganismes solubilisant le phosphate (MSP) repose sur leur capacité à acidifier leur micro-environnement, que ce soit via la sécrétion d'acides organiques ou l'excrétion de protons. Les acides organiques produits agissent de deux manières ; d'une part, ils dissolvent directement le phosphate minéral par échange anionique (substitution de PO_4^{2-} par un anion acide) ; d'autre part, ils chélatent les ions fer et aluminium associés au phosphate (**Stevenson, 2005**).

Des différents acides organiques sont synthétisés par les BSP, incluant l'acétate, le lactate, l'oxalate, le tartrate, le succinate, le citrate, le gluconate, le céto gluconate et le glycolate

(Gyaneshwar *et al.*, 2002). La solubilisation du phosphate peut être assurée par la production des acides inorganiques ; les acides sulfurique, nitrique et carbonique, produits par les bactéries nitrifiantes et soufre-oxydantes, participent également à la solubilisation, bien que leur efficacité soit négligeable par rapport à celle des acides organiques (Prabhu *et al.*, 2019).

I.4.2.2. Solubilisation du phosphate organique

La solubilisation du phosphore organique dans le sol repose principalement sur l'action d'enzymes microbiennes tels que les Phosphatases, les Phytases et les Phosphonatases (Prabhu *et al.*, 2019).

I.4.3. Importance du phosphate pour les plantes

Le phosphate joue un rôle crucial dans la croissance et le développement des plantes. Il remplit plusieurs fonctions vitales (Prabhu *et al.*, 2019) ; il participe dans de nombreux processus physiologiques , notamment le métabolisme énergétique (synthèse d'ATP), la biosynthèse des composants structuraux de la cellule (membranes phospholipidiques, ADN et ARN), la respiration, la photosynthèse, la division et l'expansion cellulaires, ainsi que la croissance racinaire. Une déficience en phosphore se manifeste par une altération de la qualité des produits agricoles, un ralentissement de la croissance foliaire et des pousses, une sensibilité accrue aux maladies, un retard de maturation et une absorption réduite des nutriments.

I.4.4. Facteurs influençant la solubilisation du phosphate

La solubilisation du phosphate peut être influencée par des différents facteurs, tels que les interactions microbiennes, le type de végétation et de plante, la richesse nutritionnelle, les conditions écologique, y compris la température et l'humidité, la zone climatique (les climats chauds et humides peuvent influencés la solubilisation de manière progressive), ainsi que les propriétés physicochimiques du sol (Alori *et al.*, 2017).

Chapitre II :

Matériel et méthodes

II.1. Matériel et méthode

II.1.1. Cadre de l'étude

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire de recherche de microbiologie et de biologie végétale appartenant à l'Université « Abdelhamid Ibn Badis » de Mostaganem.

II.1.2. Isolats utilisés

L'isolat « LP1a », identifié comme étant *Pantoea agglomerans* et utilisée dans le cadre de ce travail a été obtenue à partir de la collection du laboratoire d'accueil. Cet isolat a été préalablement identifiée par l'analyse moléculaire basée sur le séquençage du gène codant pour l'ARNr16S.

II.1.3. Réactivation de l'isolat bactérien

Avant chaque test ou expérimentation, l'isolat utilisée a été réactivé par ensemencement en stries sur milieu de GN (**Annexe I**) préalablement coulé dans des boîtes de Petri. Les boîtes ont été incubées à une température de 30°C pendant 24h, afin d'obtenir une culture bactérienne fraîche et active. Cette réactivation a été suivie par la préparation d'un inoculum ajusté à 0,5 McFarland (**Fig.10**).

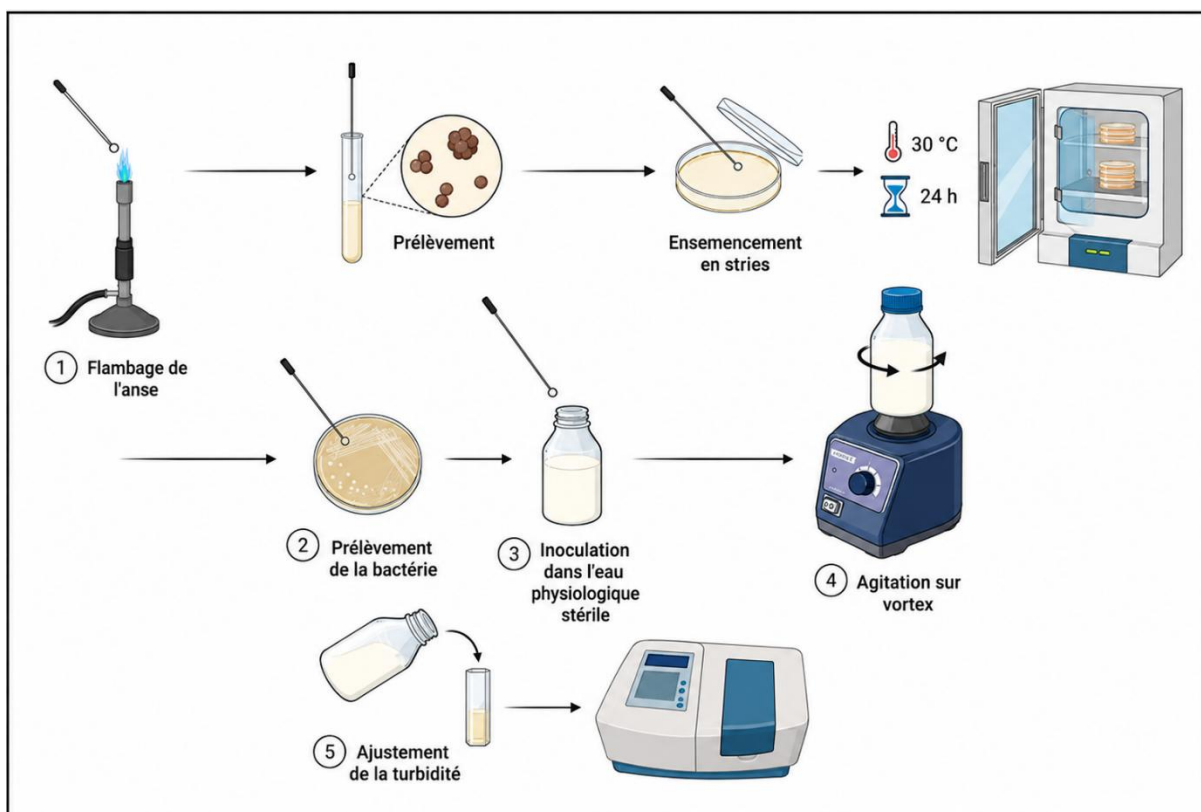


Figure 10 : Schéma représentatif de la réactivation et de la préparation d'inoculum.

II.2. Evaluation du potentiel de solubilisation du P par l'isolat « LP1a »

II.2.1. Estimation qualitative

Le pouvoir solubilisant de la bactérie a été estimé qualitativement en ensemençant un milieu de gélosé de Pikovskaya (**Pikovskaya, 1948**) (**Annexe I**) contenant le TCP comme l'unique source de phosphate insoluble. L'ensemencement a été réalisé par un spot de la culture pure au centre du milieu. La boîte a ensuite été incubée à 30°C pendant 7 jours. La capacité de solubiliser le phosphate a été révélée par l'apparition d'un halo transparent autour de la colonie (**Fig.11**). Le diamètre de la colonie ainsi que celui du halo ont été mesurés, l'indice de solubilisation (IS) a été calculé selon la formule suivante (**Edi Premono, 1996**) ;

$$\text{Indice de solubilisation} = \frac{\text{diamètre de la colonie} + \text{diamètre de l'halo}}{\text{diamètre de la colonie}}$$

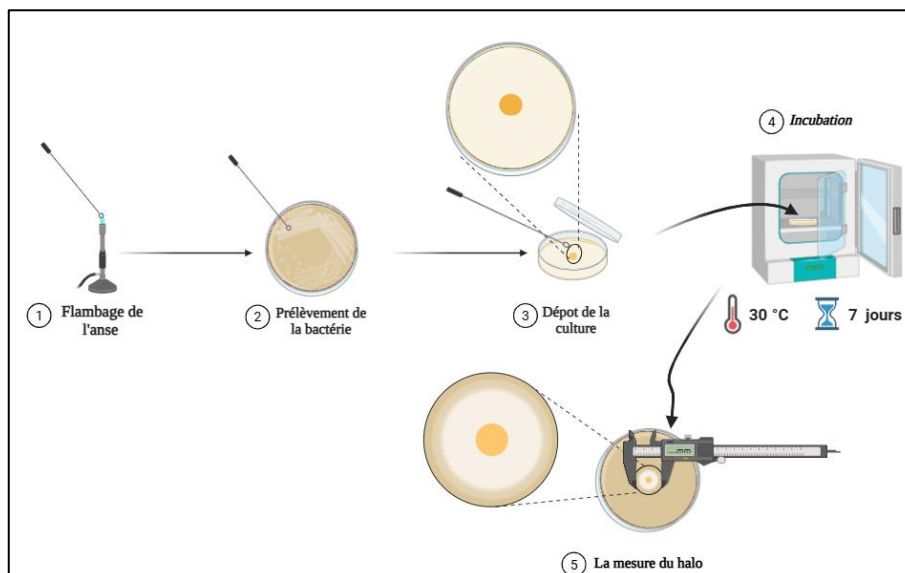


Figure 11 :Schéma représentatif de l'estimation qualitative de la solubilisation du phosphate.

II.2.2. Estimation quantitative

Le pouvoir solubilisant de la bactérie a été estimé qualitativement en utilisant le milieu NBRIP liquide (National Botanical Research Institute's phosphate Growth medium) ; (**Nautiyal, 1999**) (**Annexe I**). Pour cela, un erlenmeyer contenant 50 mL de milieu NBRIP a été ensemencé avec 1 mL d'inoculum bactérien, préalablement ajusté à une turbidité de 0,5 McFarland. La culture a ensuite été incubée à 30 °C et placée sous agitation constante à 160 rpm, pendant 7 jours. Au terme de l'incubation, la culture a été centrifugée à 6000 rpm pendant 20 minutes.

Cette quantification a été réalisée selon une méthode colorimétrique de jaune vanado-molybdate (**Jackson, 1958**) afin de déterminer la quantité du phosphate soluble, un volume de 1 mL de surnageant soigneusement prélevé a été introduit dans une fiole jaugée de 50 mL , puis mélangé avec 2,5 mL du réactif de Barton (**Annexe II**). Le volume du mélange a été complété à 50 mL avec de l'eau distillée. Après un temps de réaction de 10 minutes à une température ambiante, permettant le développement de la coloration jaune, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible « *JENWAY 6715* » (**Fig.12**). La teneur en phosphate solubilisé a été exprimée en $\mu\text{g/mL}$ à partir de l'équation de régression linéaire obtenue par une courbe d'étalonnage (**Annexe III**).

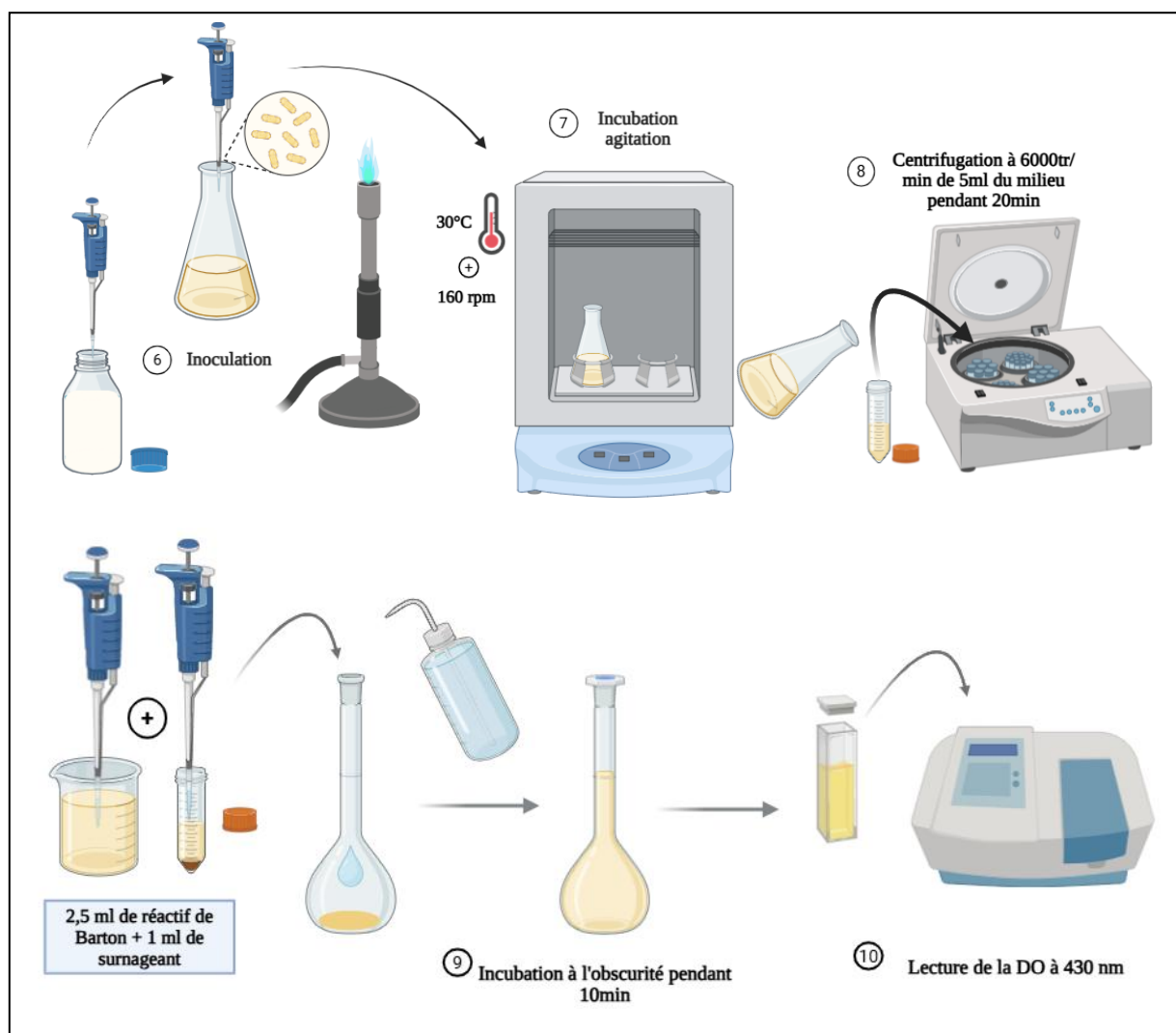


Figure 12 : Schéma illustratif de l'estimation quantitative de la solubilisation.

II.3. Optimisation de la solubilisation du phosphate

II.3.1. Plan de Plackett-Burman

Un criblage par le plan de Plackett-Burman (**Plackett & Burman, 1946**) a été réalisé afin d'identifier les facteurs influençant significativement la solubilisation du phosphate par l'isolat « LP1a ». Chaque variable a été étudiée à deux niveaux codés ; un niveau bas (-1) et un niveau haut (+1),

Chapitre III :

Résultat et discussion

III.1. Evaluation du potentiel de solubilisation du phosphate par l'isolat LP1a

III.1.1. Estimation qualitative

La capacité à solubiliser le phosphate par l'isolat « LP1a » a été évaluée par l'apparition d'un halo clair et transparent autour de la colonie, observé après 7 jours d'incubation à 30°C et par la mesure de l'indice de solubilisation en fonction du diamètre du halo.

L'isolat bactérienne a montré une capacité de solubilisation du phosphate sur milieu PVK, caractérisée par la formation d'un halo clair autour de la colonie (**Fig.14**).



Figure 14 : Test qualitatif sur milieu PVK.

Le test qualitatif a mis en évidence la capacité de l'isolat étudié à solubiliser le phosphate insoluble, avec un indice de solubilisation de 4,4. Cette valeur est nettement supérieure à celles rapportée par plusieurs auteurs. **Soliman *et al.* (2025)** ont obtenu une IS = 1,6 tandis que, **Amri *et al.* (2023)** a rapporté des valeurs de IS comprises entre 2,14 à 3,51.

III.1.2. Estimation quantitative

La capacité de solubilisation du phosphate par l'isolat a été évaluée quantitativement par la méthode de jaune de vanado-molybdate dans le milieu NBRIP (**Fig.15**).

Après incubation à 30°C pendant 7 jours, la quantité de phosphate soluble libérée a été déterminée par la spectrométrie à l'aide d'une courbe d'étalonnage.



Figure 15 : Test qualitatif sur milieu NBRIP.

L'évaluation quantitative de la solubilisation en milieu liquide NBRIP a révélé une concentration élevée de phosphate soluble atteignant 250 $\mu\text{g/mL}$. **Lebrazi *et al.* (2020)** ont enregistré une valeur maximale de 782 $\mu\text{g/mL}$, supérieure à celle obtenue par *Pantoea agglomerans*. De plus, ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés en milieu PVK liquide avec une valeur de 280 $\mu\text{g/mL}$ pour *Pseudomonas* sp et supérieurs à la valeur 136 $\mu\text{g/mL}$ pour *Enterobacter* sp, indiquant une activité plus modérée de ses souches **Suleman *et al.* (2018)**. Par ailleurs, **K.S. Baig (2010)** a marqué une large gamme de solubilisation allant de 0 à 753 $\mu\text{g/mL}$, les valeurs basses étant considérées comme une faible capacité de solubilisation, ce qui classe notre résultat dans la catégorie des souches peu performantes.

III.2. Criblage des facteurs affectant la solubilisation de phosphate

III.2.1. Plan de Plackett-Burman

L'effet de 8 facteurs sur la solubilisation du phosphate a été étudié et criblé par un plan statistique de Plackett-Burman. Ce plan est couramment utilisé pour le criblage des facteurs influençant la production des différents métabolites, tels que la production de lipase (**Vasiee *et al.*, 2016**). Dans cette étude, 12 essais avec 3 répétitions ont été réalisés afin d'évaluer l'effet des 8 facteurs sur la solubilisation de P. les résultats obtenus sont présentés dans le tableau correspondant (**Tab.3**), ainsi que les essais en variables codées sont mentionnés en Annexe IV.

Parmi les huit facteurs étudiés, 3 facteurs (glucose, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pH) ont montré un effet significatif sur la solubilisation du phosphate, tandis que d'autres n'influencent que faiblement

cette réponse. Ce qui est confirmé par l'analyse statistique basée sur l'équation de régression ainsi que l'analyse de la variance (ANOVA). Le tableau 4 a permis d'identifier et de classer les facteurs significatifs

Conclusion

Conclusion

Les bactéries solubilisant le phosphate (PSB) jouent un rôle majeur dans la mobilisation du phosphate dans le sol et représentent une alternative biologique prometteuse pour améliorer la fertilité des sols et réduire l'utilisation des engrais chimiques. Dans ce contexte, le présent travail s'est intéressé à l'évaluation et à l'optimisation de l'activité de solubilisation d'un isolat bactérien déjà identifié par le laboratoire.

Dans un premier temps, des tests qualitatifs et quantitatifs ont permis de confirmer la capacité de cet isolat à solubiliser le phosphate tricalcique (TCP) en milieu solide et liquide. Afin d'améliorer cette activité, une démarche d'optimisation a été mise en œuvre. Pour cela, un plan de plackett Burman a été utilisé pour cribler 8 facteurs expérimentaux et identifier ceux ayant un effet significatif sur la réponse. Cette méthode a permis de retenir trois paramètres les plus influents (glucose, le pH avec un effet négatif sur la solubilisation et le sulfate d'ammonium avec un effet positif). Par la suite, la méthode du Steepest Ascent a été utilisée afin de déterminer la direction d'amélioration de la réponse et de se rapprocher de la région optimale des conditions expérimentales.

À la suite de l'identification des facteurs et de la région optimale, une méthode plus précise a été réalisée. La méthodologie est basée sur un plan composite permettant de modéliser les interactions entre les facteurs et de déterminer un domaine optimal pour la solubilisation du phosphate. Les résultats ont montré que la réponse est principalement influencée par effets quadratiques.

Dans l'ensemble, cette étude met en évidence l'efficacité des approches statistiques et de l'intelligence artificielle pour l'optimisation des conditions de cultures et la compréhension des mécanismes de solubilisation du phosphate par les bactéries rhizosphériques.

Malgré les résultats encourageants obtenus, certaines limites doivent être prises en considération. Ces résultats restent principalement basés sur des conditions *in vitro*, qui ne reproduisent pas entièrement les interactions complexes présentes dans l'environnement naturel. De plus, la variabilité des performances des performances microbiennes en conditions réelles peut affecter la stabilité et la reproductibilité de la solubilisation. Pour cela, il serait intéressant d'évaluer les performances de cet isolat en conditions contrôlées puis en conditions de champ afin de valider son efficacité *in vivo*. Des études complémentaires pourraient également être envisagées pour approfondir les mécanismes moléculaires impliqués dans la

solubilisation du phosphate et comprendre davantage les interactions entre la bactérie et la plante hôte. Par ailleurs, l'élargissement du criblage à d'autres souches rhizosphériques pourrait permettre d'identifier des souches plus performantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Agatonovic-Kustrin, S., & Beresford, R. (2000). Basic concepts of artificial neural network (ANN) modeling and its application in pharmaceutical research. In *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (Vol. 22). www.elsevier.com/locate/jpba

Aklilu, E. G. (2021). Modeling and optimization of pectin extraction from banana peel using artificial neural networks (ANNs) and response surface methodology (RSM). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(3), 2759–2773. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00852-7>

Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 8, Number JUN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>

Amri, M., Rjeibi, M. R., Gatrouni, M., Mateus, D. M. R., Asses, N., Pinho, H. J. O., & Abbas, C. (2023). Isolation, Identification, and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacteria from Tunisian Soils. *Microorganisms*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030783>

Andrade, L. A., Santos, C. H. B., Frezarin, E. T., Sales, L. R., & Rigobelo, E. C. (2023). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production. In *Microorganisms* (Vol. 11, Number 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>

B

Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. In *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 57, pp. 233–266). <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>

- Beauchamp, C. J. (2005a).** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 74(1), 19–27. <https://doi.org/10.7202/706033ar>
- Beaudin, I. (2006).** Revue de littérature La mobilité du phosphore Version finale. *Pour le comité ad hoc Groupe mobilité phosphore. Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec (CRAAQ).*
- Beever, R. E., & Burns, D. J. W. (1981).** Phosphorus uptake, storage and utilization by fungi. In *Advances in botanical research* (Vol. 8, pp. 127-219). Academic Press.
- Bourquin, J., Schmidli, H., Van Hoogevest, P., & Leuenberger, H. (1997).** Basic Concepts of Artificial Neural Networks (ANN) Modeling in the Application to Pharmaceutical Development. In *Pharmaceutical Development and Technology* (Vol. 2, Number 2).
- Box, G. E. P., & W. K. B. (1951).** Series b (methodological). *Journal of the Royal Statistical Society*, 13, 1–45.

C

- Chassagnon, G., Vakalopoulou, M., Paragios, N., & Revel, M. P. (2020).** Deep learning: definition and perspectives for thoracic imaging. In *European Radiology* (Vol. 30, Number 4, pp. 2021–2030). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00330-019-06564-3>
- Cupul, W. C., Barrera, D. G. J., Gutiérrez, R. L., Sánchez, E. R., Zamora, O. P., Nava, M. T. B., & Manzo-Sánchez, G. (2019).** Screening of nutritional factors through a Plackett-Burman experimental design during the solubilization of tricalcium phosphate by *Penicillium hispanicum*. *Acta Agronomica*, 68(2), 151–159. <https://doi.org/10.15446/ACAG.V68N2.61862>

D

- Dalia El-Sayed El-Badan, D.-M. A.-Z. H. M. H. S. A. S. (2016).** Statistical Optimization of Phosphate Solubilization by *Erwinia* sp. hdds3fr (Optimisation statistique de la solubilisation du phosphate par *Erwinia* sp. hdds3fr). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 10, 905–914.

E

- Edi Premono, M. , M. A. M. , & V. P. L. G. (1996).** Effect of phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. 13-23.

F

- Fan D, X, L. Z., P, M., & L, H. L. (2011).** Optimization of culture conditions for phosphate solubilizing by *Acinetobacter calcoaceticus* YC-5a using response surface methodology. *African Journal of Microbiology Research*, 5(20), 3327–3333. <https://doi.org/10.5897/ajmr11.655>
- Fan, S. K. S., & Huang, K. N. (2011).** A new search procedure of steepest ascent in response surface exploration. *Journal of Statistical Computation and Simulation*, 81(6), 661–678. <https://doi.org/10.1080/00949650903463558>
- Fang, K.-T. , L. R. , & S. A. (2006).** *Computer Science and Data Analysis Series Design and Modeling for Computer Experiments.*
- Fletcher & Reeves. (1964).** Downloaded from. <http://comjnl.oxfordjournals.org/>
- Frédéric Gillon. (1997).** *Modélisation et optimisation par plans d'expériences d'un moteur à commutations électroniques* (Doctoral dissertation, Université des Sciences et Technologie de Lille-Lille I).

G

- Glick, B. R., & Bashan, Y. (1997).** Genetic Manipulation Of Plant Growth-Promoting Bacteria To Enhance Biocontrol Of Phytopathogens. In *Biotechnology Advances* (Vol. 15, Number 2). ELSEVIER.
- Goupy, J., & Creighton, L. (2006).** Introduction aux plans d'expériences—3e édition. Technique et ingénierie, série conception. *L'usine nouvelle-Dunod*, 179-206.
- Goupy, J. L. (1990).** Étude comparative de divers plans d'expériences *Revue de statistique appliquée*, tome 38, no 4 (1990), p. 5-44

Gyaneshwar, P., Naresh Kumar, G., Parekh, L. J., & Poole, P. S. (2002). Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. In *Plant and Soil* (Vol. 245).

H

HAMOUM, H. (2017). *Screening des diazotrophes non symbiotiques associés aux plantes des zones salines de l'ouest algérien: effet phyto-stimulateur sur la croissance du blé* (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis).

Hartmann, A., Rothballer, M., & Schmid, M. (2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil*, 312(1–2), 7–14. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9514-z>

J

Jackson, M. L. (1958). *oil Chemical Analysis*. Prentice Hall of Englewood cliffs, New Jersey, USA. 500p..

K

Kang, J., Amoozegar, A., Hesterberg, D., & Osmond, D. L. (2011). Phosphorus leaching in a sandy soil as affected by organic and inorganic fertilizer sources. *Geoderma*, 161(3–4), 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.12.019>

Kloepper, J. W. (1978). Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes (I. *Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologie*, Ed.; Vol. 2).

K.S. Baig¹, M. A. Z. A. Z. and M. A. C. (2010). Comparative efficacy of qualitative and quantitative methods for rock phosphate solubilization with phosphate solubilizing rhizobacteria. *Soil & Environ.*, 82–86.

L

Lapeyrie, F., Ranger, J., & Vairelles, D. (1991). Phosphate-solubilizing activity of ectomycorrhizal fungi in vitro. *Canadian Journal of Botany*, 69(2), 342–346.

LAZALI, M., BRAHIMI, S., BENADIS, C., & DREVON, J. J. (2020). Stratégies et mécanismes d'adaptation des légumineuses à la faible disponibilité des sols en phosphore. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 8(3).

Lebrazi, S., Niehaus, K., Bednarz, H., Fadil, M., Chraibi, M., & Fikri-Benbrahim, K. (2020). Screening and optimization of indole-3-acetic acid production and phosphate solubilization by rhizobacterial strains isolated from *Acacia cyanophylla* root nodules and their effects on its plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 71.

<https://doi.org/10.1186/s43141-020-00090-2>

Lynch, J. M. (1987). the Japanese Society of Soil Microbiology NII-Electronic Library Service the Japanese Society of Soil Microbiology L AFRC Microbial Interactions in the Rhizosphere. 30, 33-41.

M

Marschner, P., Crowley, D., & Rengel, Z. (2011). Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis - model and research methods. In *Soil Biology and Biochemistry* (Vol. 43, Number 5, pp. 883–894). <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.01.005>

Monaco, P., Baldoni, A., Naclerio, G., Scippa, G. S., & Bucci, A. (2024). Impact of Plant–Microbe Interactions with a Focus on Poorly Investigated Urban Ecosystems—A Review. In *Microorganisms* (Vol. 12, Number 7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071276>

N

Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS microbiology Letters*, 170(1), 265-270..

Ngoma, L., Babalola, O. O., & Ahmad, F. (2012). Ecophysiology of plant growth promoting bacteria. *Scientific Research and Essays*, 7(47), 4003–4013. <https://doi.org/10.5897/SRE12.646>

Nguyen, C., Yan, W., Le Tacon, F., & Lapeyrie, F. (1992). Genetic variability of phosphate solubilizing activity by monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) PD Orton. *Plant and Soil*, 143(2), 193-199.).

Nielsen, M. A. (2015). *Neural networks and deep learning* (Vol. 25, pp. 15-24). San Francisco, CA, USA: Determination press.
<http://neuralnetworksanddeeplearning.com>

O

Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>

P

Padmavathi, T. (2015). Optimization of phosphate solubilization by *Aspergillus niger* using plackett-burman and response surface methodology. *Journal of soil science and plant nutrition*, 15(3), 781-793.

Pallanca, O., & Read, J. (2021). Principes généraux et définitions en intelligence artificielle. *Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux-Pratique*, 2021(294), 3-10.

Pereda Campos, M. V. (2008). Contribution à l'étude des transporteurs de phosphate de la famille PHT1 chez le Peuplier (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray) et le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* (Maire) PD Orton.

Plackett, R. L., & Burman, J. P. (1946). The design of optimum multifactorial experiments. *Biometrika*, 33(4), 305-325.

Plassard, C., Robin, A., Le Cadre, E., Marsden, C., Trap, J., Herrmann, L., ... & Hinsinger, P. (2015). Améliorer la biodisponibilité du phosphore: comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol. *Innovations Agronomiques*, 43, 115-138.

Prabhu, N., Borkar, S., & Garg, S. (2019). Phosphate solubilization by microorganisms: overview, mechanisms, applications and advances. *Advances*

in biological science research, 161-176.. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817497-5.00011-2>

R

Agrawal, P. K., Kundan, R., Jadon, N., & Pant, G. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria: mechanism and current prospective. *Journal of Fertilizers & Pesticides (J Fertil Pestic)*, 6, 9.

Rashmi Sharma, S. C. A. C. and C. K. S. (2015). Enhanced Phosphorus Solubilization by *Bacillus licheniformis* CKA1 Using Central Composite Design and Response Surface Methodology. *JOURNAL OF PURE AND APPLIED MICROBIOLOGY*, 9, 3131–3141.

Rovira, A. D. (1969). Plant root exudates. *The botanical review*, 35(1), 35-57.

S

Sadri Moghaddam, S., Alavi Moghaddam, M. R., & Arami, M. (2010). Coagulation/flocculation process for dye removal using sludge from water treatment plant: Optimization through response surface methodology. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1–3), 651–657.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.058>

Saharan, B. S., & Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sci Med Res*, 21(1), 30. <http://astonjournals.com/lsmr>

Soliman, E. R. S., Ali, A. M., & Hamada, M. A. (2025). Characterization of Phosphate-Solubilizing *Pseudomonas lurida* OR400772, and Potential Application in Tricalcium Phosphate Contaminated Soil to Alter *Vicia faba* Growth, and Gene Expression Patterns. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 25(3), 7890–7908. <https://doi.org/10.1007/s42729-025-02639-x>

Stefanoni Rubio, P. J., Godoy, M. S., Della Mónica, I. F., Pettinari, M. J., Godeas, A. M., & Scervino, J. M. (2016). Carbon and Nitrogen Sources Influence Tricalcium Phosphate Solubilization and Extracellular Phosphatase Activity by *Talaromyces flavus*. *Current Microbiology*, 72(1), 41–47. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0914-7>

Stevenson. (2005). *Cycles of soils: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients.* John Wiley & Sons.

Su, S. N., Nie, H. L., Zhu, L. M., & Chen, T. X. (2009). Optimization of adsorption conditions of papain on dye affinity membrane using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 100(8), 2336–2340. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.048>

Suleman, M., Yasmin, S., Rasul, M., Yahya, M., Atta, B. M., & Mirza, M. S. (2018). Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PLoS ONE*, 13(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204408>

T

Terrat, S., Karimi, B., Dequiedt, S., Chemidlin Prévost-Bouré, N., Horrigue, W., Djemiel, C., Ranjard, L., & La, al. (2018). La caractérisation des communautés microbiennes du sol à l'échelle de la France pour évaluer l'effet de l'usage des sols. *Innovations Agronomiques*, 69. <https://doi.org/10.15454/IO3VXY>

Touzet, C. (1992). *les réseaux de neurones artificiels, introduction au connexionnisme.* Ec2.

V

Vasiee, A., Behbahani, B. A., Yazdi, F. T., & Moradi, S. (2016). Optimization of the production conditions of the lipase produced by *Bacillus cereus* from rice flour through Plackett-Burman Design (PBD) and response surface methodology (RSM). *Microbial Pathogenesis*, 101, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.10.020>

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 255(2), 571-586.

W

Waday, Y. A., Aklilu, E. G., Bultum, M. S., & Ancha, V. R. (2022). Optimization of soluble phosphate and IAA production using response surface methodology and ANN approach. *Heliyon*, 8(12).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12224>

Wang, S. C. (2003). Artificial neural network. In *Interdisciplinary computing in java programming* (pp. 81-100). Boston, MA: Springer US.

Y

Yin, Z., Shi, F., Jiang, H., Roberts, D. P., Chen, S., & Fan, B. (2015). Phosphate solubilization and promotion of maize growth by penicillium oxalicum P4 and aspergillus niger P85 in a calcareous soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 61(12), 913–923. <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0358>

Z

Zhang, Z. (2018). Artificial Neural Network. In *Multivariate Time Series Analysis in Climate and Environmental Research* (pp. 1–35). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-67340-0_1

Zupan, J. (1994). Introduction to artificial neural network (ANN) methods: what they are and how to use them. *Acta Chimica Slovenica*, 41(3), 327.

Annexes

Annexe I

Composition des milieux de culture

➤ **Milieu Gélose nutritive(GN)**

Peptone.....10g

Extrait de viande 3g

Extrait de levure 3g

NaCl 5g

Agar.....20g

Eau distillée..... 1000mL

PH =7,0 + 0,2

Stérilisation à 121°C pendant 20 min.

➤ **Milieu Pikovskaya (PVK) (Pikovskaya, 1948)**

Glucose..... ..10g

Extrait de levure 0,5 g

KCl 0,2g

NaCl 0,2g

(NH₄)₂ .SO₄..... 0,5g

MgSO₄.7H₂O.....0,1g

MnSO₄.H₂O.....0,002g

FeSO₄..... 0,002g

Ca₃(PO₄).....5g

Agar.....20g

Eau distillée..... 1000mL

PH =7,0

Stérilisation à 121°C pendant 20 min.

➤ **Milieu NBRIP (National Botanical Research Institut's Phosphate medium)**
(Nautiyal, 1999)

Glucose.....10 g

MgCl₂, 6H₂O..... 5 g

Ca₃ (PO₄)..... 5 g

MgSO₄, 7H₂O.....0,25 g

KCl..... 0,2 g

(NH₄)₂ SO₄.....0,1g

Eau distillée..... 1000 mL

pH= 7

Stérilisation 120°C pendant 20 minutes.